

адаптивных возможностей. Динамическое исследование также позволит говорить о причинах, ведущих к нарушениям функций этих систем и снижению уровня физической готовности организма студентов, а, следовательно, внедрять профилактические меры, направленные на улучшение физической работоспособности, умственной и как следствие к хорошей успеваемости студентов.

### Литература

1. Апоян, С. А. Распространённость факторов риска хронических неинфекционных заболеваний среди студентов медицинского университета с различным уровнем физической активности / С. А. Апоян, М. С. Гурьянов, А. Н. Поздеева // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2020. – Т. 16, № 4. – С. 940–943.
2. Двигательная активность как фактор формирования здорового образа жизни студенческой молодежи / Л. Г. Климацкая, А. И. Шпаков, С. Ласкене [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2011. – № 1. – С. 61–67.
3. Мандриков, В. Б. Комплексная оценка морфофункционального состояния организма: учебное пособие / В. Б. Мандриков, М. П. Мицулина. – Волгоградский государственный медицинский университет, 2023. – С. 51–53.
4. Николаевский, Е. Н. Табакокурение: причины и последствия / Е. Н. Николаевский // Новая аптека. – 2014. – № 10. – С. 75–78.
5. Проскуракова, Л. А. Программа формирования мотивации к здоровому образу жизни в молодежной среде / Л. А. Проскуракова, М. Ф. Савченков // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 98–102.
6. Функциональные пробы как оптимальный индикатор оценки функционального состояния целостности резервов организма в практике врачебного контроля : учебно-методическое пособие / М. В. Панюков, Л. Б. Андропова, Б. Б. Поляев [и др.]. – Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, 2022. – С. 5–26.

## **ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМИИ ОРГАНИЧЕСКИХ, ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

### **ИЗУЧЕНИЕ РАСТВОРОВ ГЛЮКОНАТА КАЛЬЦИЯ И ХЛОРГЕКСИДИНА БИГЛЮКОНАТА МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ**

Лукашов Р. И.<sup>1</sup>, Бондаренко А. В.<sup>2</sup>, Беляцкий В. Н.<sup>1</sup>, Бурко А. А.<sup>2</sup>,  
Шепелевич М. Д.<sup>1</sup>, Федосик В. Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет,  
г. Минск Республика Беларусь

r\_lukashov@mail.ru, vbelyatsky@mail.ru

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники (БГУИР), Лаборатория «Прикладная плазмоника», г. Минск, Республика Беларусь  
h.bandarenka@bsuir.by

**Аннотация.** В работе изучались спектры комбинационного рассеяния и усиленного поверхностью комбинационного рассеяния (SERS) кальция глюконата и хлоргексидина биглюконата. Регистрация SERS-спектров указанных химических соединений производилась после их нанесения на SERS-активные подложки на основе наночастиц серебра. По положению колебательных полос в спектрах было установлено, какие химические связи характерны для исследованных образцов, в результате чего были сделаны выводы о типе адсорбции глюконат-аниона на SERS-активной подложке и объяснено увеличение растворимости хлоргексидина в присутствии глюконат-иона.

**Ключевые слова:** комбинационное рассеяние, усиленное поверхностью комбинационное рассеяние, кальция глюконат, хлоргексидина биглюконат.

## STUDY OF CALCIUM GLUCONATE AND CHLORHEXIDINE BIGLUCONATE SOLUTIONS BY RAMAN SPECTROSCOPY

Lukashov R. I.<sup>1</sup>, Bandarenka H. V.<sup>2</sup>, Belyatsky V. N.<sup>1</sup>, Burko A. A.<sup>2</sup>,  
Shapialevich M. D.<sup>1</sup>, Fedosik V. U.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

r\_lukashov@mail.ru, vbelyatsky@mail.ru

<sup>2</sup>*Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Laboratory of Applied Plasmonics, Minsk, Republic of Belarus*  
h.bandarenka@bsuir.by

**Abstract.** Raman and surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectra of calcium gluconate and chlorhexidine bigluconate were studied. SERS-spectra of the chemical compounds were collected after their adsorption on the SERS-active substrates based on silver nanoparticles. Chemical bonds characteristic of the samples studied were found out from the vibrational band positions in the spectra. As a result, conclusions on an adsorption type of gluconate anion on the SERS-active substrate were made and an increase in the solubility of chlorhexidine in the presence of gluconate ion was explained.

**Key words:** Raman spectroscopy, surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), calcium gluconate, chlorhexidine bigluconate.

**Введение.** С момента создания и до сегодняшних дней хлоргексидина биглюконат является наиболее часто используемым антисептическим средством

благодаря его эффективному действию на грамположительные и грамотрицательные бактерии, микробные споры, вирусы, грибы. Несмотря на ряд побочных эффектов (аллергические реакции, анафилактический шок, сухость кожи, дерматит), а также некоторые местные реакции, хлоргексидин, известный уже около 75 лет, остается популярным антисептическим средством. Хлоргексидин может оказывать как бактериостатическое действие, которое проявляется в концентрации 0,01% и менее, так и бактерицидное – в концентрации более 0,01% при температуре 22°C и воздействии в течение 1 мин. Кроме того, он демонстрирует фунгицидные свойства в концентрации 0,05% при температуре 22°C и воздействии в течение 10 минут, а также вирулицидное – в концентрации 0,01–1 % [1, 2].

Предполагается, что эффективный механизм действия на различные микроорганизмы обеспечивается взаимодействием хлоргексидина с фосфатными группами фосфолипидов на поверхности клетки, его медленным высвобождением и взаимодействием с клеткой-патогеном, вследствие чего возникает смещение осмотического равновесия, нарушение целостности мембраны патогенной клетки и её гибель [3, 6].

Структура образующихся соединений и состояние липидного бислоя, тем не менее, представляют интерес, особенно принимая во внимание возможное модифицирование хлоргексидина с целью увеличения его антисептических свойств.

Для получения более детальной информации о молекулярной структуре соединений активно используются современные физико-химические методы анализа. Например, спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) или рамановская спектроскопия имеет ряд преимуществ по сравнению с инфракрасной спектроскопией, к одному из которых относится то, что наличие воды практически не вносит вклад в спектр. Одним из вариантов КР-спектроскопии является спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) света [4] или усиленного поверхностью рамановского рассеяния (SERS), при котором анализируемое вещество наносится на поверхность наночастиц металлов. В результате возникновения плазмонных эффектов при воздействии на их поверхность лазером и происходит значительное (до  $10^6$ - $10^9$  раз) усиление рамановского сигнала от молекул аналита [4].

**Цель исследования.** Провести анализ хлоргексидина биглюконата и кальция глюконата методами спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) и усиленного поверхностью гигантского комбинационного рассеяния (ГКР, SERS).

**Задачи исследования.** На основании анализа спектров объяснить причины повышения растворимости хлоргексидина в присутствии глюконат-аниона.

**Материалы и методы.** Для проведения исследования были взяты таблетки кальция глюконата с содержанием активного вещества 500 мг. Таблетки растерли в ступке, взвесили на аналитических весах, внесли в колбу, растворили в воде и отфильтровали. При этом были удалены нерастворимые в

воде вспомогательные вещества (картофельный крахмал, тальк, магния стеарат, кремния диоксид коллоидный безводный). Фильтр высушили на воздухе, взвесили. Исходя из изменения массы сухого вещества, получили массу растворившегося глюконата кальция. Количество отфильтрованных вспомогательных веществ соответствовало значению их содержания в таблетке. Раствор соли наносился на стеклянную подложку, испарялся до полного высушивания, после чего регистрировался спектр КР. В случае записи усиленного поверхностью спектра КР в качестве подложки использовались кремниевые пластины с нанесенными наночастицами серебра, изготовленными по методике, описанной в [4]. В данном варианте регистрации спектров увеличение чувствительности КР-спектроскопии может достигать шести порядков.

Аптечный раствор хлоргексидина биглюконата был также полностью испарен на воздухе при комнатной температуре для получения равномерной пленки.

Регистрация спектров проводилась на 3D сканирующем лазерном конфокальном рамановском микроскопе-спектрометре Confotec NR500 (SOL Instruments, Беларусь) при возбуждении образцов лазерами с длинами волн  $\lambda=473$  нм,  $\lambda=633$  нм,  $\lambda=785$  нм. Время записи спектра составляло около 10 секунд. В случае попадания в так называемые «горячие точки» время записи уменьшали до 1 секунды, что позволяло предотвратить разложение аналита под воздействием лазера [4].

**Результаты и их обсуждение.** На рис.1 представлены спектры кальция глюконата, зарезервированные при различных длинах волн. Полосу, соответствующую  $1018\text{ см}^{-1}$ , можно отнести к колебаниям связи С-ОН в первичных спиртах (конечная или терминальная группа глюконовой кислоты), полосы  $1088, 1109\text{ см}^{-1}$  – к колебаниям связи С-ОН во вторичных спиртах, полосы  $1268, 1297\text{ см}^{-1}$  – к колебаниям связи С-ОН в карбоновых кислотах, полосу  $1332\text{ см}^{-1}$  – к деформационным колебаниям ОН группы, связанной водородными связями, полосы  $1366\text{ см}^{-1}$  – к колебаниям связи в спиртовых группах,  $1464\text{ см}^{-1}$  – к колебаниям карбоксилат-аниона, а полосу  $1623\text{ см}^{-1}$  – к колебаниям связи С=О в солях карбоновых кислот [7, 8].

Следует отметить, что наблюдалась зависимость относительной интенсивности пиков от частоты возбуждающего излучения, так при  $\lambda=633$  нм происходило увеличение интенсивности полосы  $1338\text{ см}^{-1}$  по сравнению с той же полосой, полученной при  $\lambda=785$  нм. Еще более резкое усиление интенсивности этой полосы наблюдалось при  $\lambda=473$  нм, также наблюдался рост полосы при  $1444\text{ см}^{-1}$ .

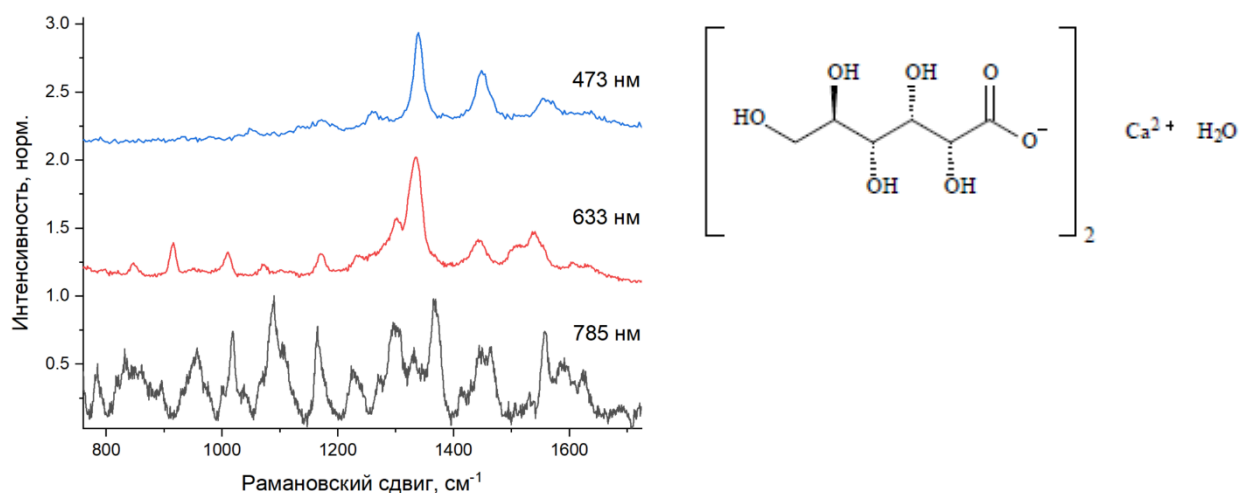


Рис. 1. Сравнение спектров глюконата кальция в зависимости от длины волны возбуждающего излучения.

Резкий рост интенсивности полосы при  $1338 \text{ см}^{-1}$  (обусловленный деформационными колебаниями ОН групп, связанных водородными связями) и рост полосы при  $1446 \text{ см}^{-1}$  (отнесенный к колебаниям карбоксильной группы аниона соли) при возбуждении лазером с длинами волн  $\lambda = 473 \text{ нм}$  и  $\lambda = 633 \text{ нм}$  сравнению с  $\lambda = 785 \text{ нм}$  может говорить о хемосорбции глюконат-аниона на частицах Ag преимущественно кислородсодержащими группами, увеличение интенсивности полос, обусловленных колебаниями спиртовых групп может говорить о нахождении молекул на поверхности наночастицы в предположении адсорбционно-химического механизма усиления сигнала в SERS. Данный факт может говорить о механизме усиления сигнала в SERS [4].

Запись спектра хлоргексидина биглюконата производилась для предварительно высушенного на воздухе 0,05% раствора аптечного препарата.

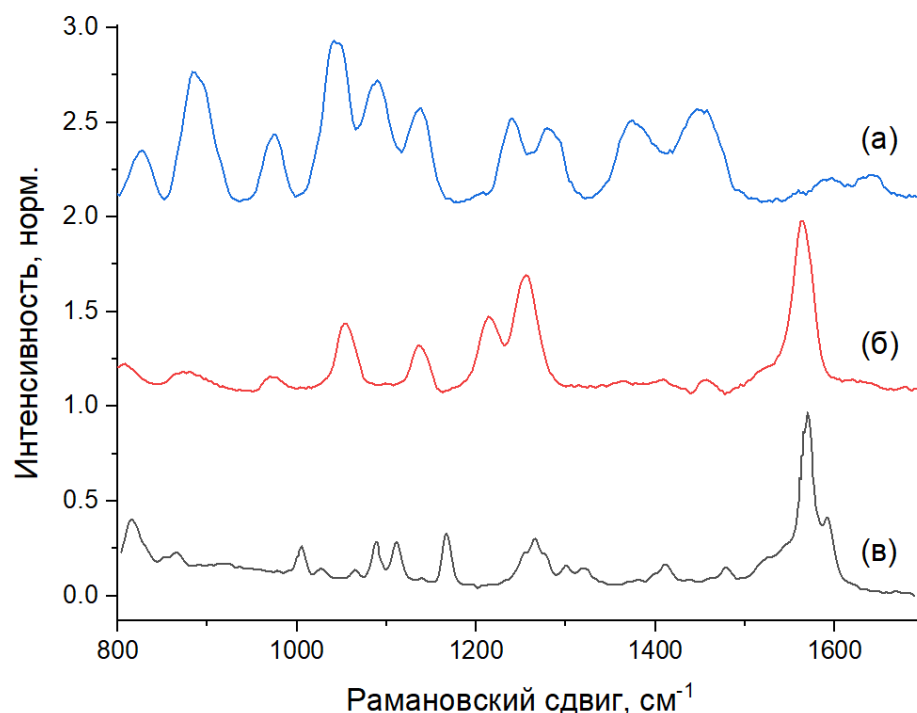


Рис. 2. Сравнение спектров глюконата кальция (а), хлоргексидина биглюконата (б) с литературными данными по спектрам хлоргексидина (в) [5].

Как видно из рис. 2, в спектре хлоргексидина биглюконата наблюдается интенсивный пик  $1565\text{ см}^{-1}$ , который можно отнести к бигуанидиновому фрагменту [7,8]. Аналогичная ситуация была описана в статье Джонса с соавт. [5], которые проводили протонирование хлоргексидина уксусной кислотой различной концентрации. При этом рядом с полосой  $1564\text{ см}^{-1}$  появлялась полоса с максимумом на  $1608\text{ см}^{-1}$ , интенсивность которой возрастала при увеличении концентрации кислоты.

Таблица

Положение максимумов колебательных полос в спектре хлоргексидина биглюконата и соответствующие им химические связи

Положение полос, $\text{см}^{-1}$	Химические связи
1053	Связь $\text{Aryl-Cl}$ в хлорзамещенных ароматических фрагментах
1138	Структура $\text{C-C-C}$ во фрагменте гексана
1213	$\text{O-C=O}$ в глюконовой кислоте?
1255	$\text{C-O}$ в глюконовой кислоте?
1565	Связь $\text{C=N}$ во фрагменте бигуанидина
2847	$\text{CH}_2$ в алифатической цепи гексана
2905	$\text{N}^+$ во фрагменте бигуанидина?

В данной работе также наблюдалось появление полосы  $1608\text{ см}^{-1}$ , но меньшей интенсивности. Очевидно, степень протонирования была меньшей, чем при взаимодействии с уксусной кислотой, что тем не менее, позволяло получить водорастворимый состав. Пики в области  $1200\text{--}1300\text{ см}^{-1}$  были отнесены, как и в

работе [5], к-структурным группам хлоргексидина. Отнесение основных полос в спектре хлоргексидина биглюконата приведено в таблице.

### **Выводы:**

1. Показано, что при регистрации SERS-спектров кальция глюконата на подложках, содержащих наночастицы серебра, наблюдается зависимость относительной интенсивности пиков от длины волны возбуждающего излучения: с возрастанием его энергии происходит усиление интенсивности полос, соответствующих карбоксильной и спиртовым группам глюконовой кислоты. Сделан вывод о преимущественно горизонтальной ориентации молекул на поверхности наночастиц серебра.

2. Показано, что происходит химическое взаимодействие аниона глюконовой кислоты с хлоргексидином, что проявляется в возникновении рядом с полосой  $1564\text{ см}^{-1}$  полосы  $1608\text{ см}^{-1}$ . Этот эффект объясняет увеличение растворимости хлоргексидина в присутствии анионов глюконовой кислоты.

### **Литература**

1. Багин, В. А. Применение хлоргексидина для профилактики госпитальных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии: современное состояние проблемы / В. А. Багин, В. А. Руднов, М. Н. Астафьева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 30–38. – DOI 10.36488/смас.2020.1.30-38. – EDN TUIKVE.

2. Зверьков, А. В. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков / А. В. Зверьков, А. П. Зузова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 279–285. – EDN ROXOHJ.

3. Аляутдин, Р. Н. Фармакология : учебник / Р. Н. Аляутдин. – 2-е издание, переработанное и дополненное. – Москва : Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2024. – 320 с. – ISBN 978-5-9704-8493-7. – DOI 10.33029/9704-8493-7-PHS-2024-1-320. – EDN EYSEFIG.

4. Мосунов, А. А. / Исследование комплексообразования биологически активных веществ на SERS-подложках методами комбинационного рассеяния / А. А. Мосунов, А. А. Елецкая, А. В. Бондаренко // Russian Journal of Biological Physics and Chemistry. – 2018. – V. 3, №. 2. – P. 285–289.

5. Jones, D. S. Examination of the physical state of chlorhexidine within viscoelastic, bioadhesive semisolids using Raman spectroscopy / D. S. Jones, A. F. Brown, A. D. Woolfson [et al.] // J. of Pharmaceutical Sci –2000. – V. 89, №5/ – P. 563–571.

6. Katzung, B. G. Basic and clinical pharmacology / B. G. Katzung, S. B. Masrers, A. J. Trevor // Mc Graw Hill Large. – 2012. – 1245 p.

7. Larkin P. L. IR and Raman Spectroscopy. Principles and Spectral Interpretation / P. L. Larkin, Elsevier, 2011. – 239 p.

8. Socrates. G. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies / G. Socrates // John Wiley & Sons Ltd. – 2004. – P.362.