

На правах рукописи

Зозуля Александр Сергеевич

Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния света и квантово-химическое моделирование систем наночастица – метотрексат

1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Калининград – 2026

Работа выполнена в научно-образовательном центре «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника» образовательно-научного кластера «Институт высоких технологий» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»

Научный руководитель Доктор физико-математических наук, доцент
Зюбин Андрей Юрьевич

Официальные оппоненты **Пожаров Михаил Владимирович**
Кандидат химических наук, доцент кафедры общей и неорганической химии Института химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Семёнов Константин Николаевич
Доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и биорганической химии Научно-образовательного института биомедицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»

Защита состоится «15» октября 2026 г. в 14:00 на заседании диссертационного совета 24.2.392.03, созданного на базе ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, корп. I, Институт химии СГУ.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» (410012, г. Саратов, ул. Университетская, д. 42) и на сайте <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-03/kandidatskaya-dissertaciya-zozulya-s>

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
24.2.392.03, д.х.н., доцент



Т.Ю. Русанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы

Квантово-химическое моделирование представляет собой современный инструмент для интерпретации и уточнения экспериментальных данных, полученных от многокомпонентных сред, который используется для построения гипотетических моделей процессов, происходящих на поверхности наночастиц при регистрации спектров комбинационного рассеяния света (КРС) или гигантского комбинационного рассеяния света (ГКРС). На данный момент метод ГКРС активно развивается как функциональный аналитический подход, позволяющий обнаруживать отдельные соединения или их группы в различных средах. Анализ спектров комбинационного рассеяния света не является тривиальной задачей ввиду наличия большого набора спектральных полос. Квантово-химическое моделирование в данном контексте дает возможность уточнять полученные результаты, выделяя характерные моды колебаний для анализируемых соединений в общем сложном спектре. В фундаментальном плане, квантово-химическое моделирование способствует прояснению механизмов и путей взаимодействия молекул с поверхностью наночастиц, в том числе является эффективным инструментом в изучении процессов, приводящих к формированию сигнала ГКРС.

Настоящая диссертационная работа направлена на экспериментально-теоретическое определение термодинамических и электронных характеристик и параметров взаимодействия лекарственного препарата “метотрексат” в комплексе с наночастицей серебра с помощью подходов квантово-химического моделирования и экспериментальных данных ГКРС. В работе рассматриваются возможные пути, механизмы и модели адсорбции молекулы на поверхности серебряной наночастицы, их место в картине спектра КРС, выполнено соотнесение теоретических результатов с экспериментальными данными. В работе проведен детальный анализ зависимости характеристик системы от размера кластера серебра, рассматриваемого в качестве модели поверхности наночастицы. В работе выполнено исследование метотрексата в комплексах с треугольными наночастицами серебра (AgNT), ввиду наличия нескольких плазмонных мод, что обеспечивает реализацию настраиваемого плазмонного резонанса.

Гипотезой исследования ставилось проверить возможность применения спектроскопии ГКРС и квантово-химических подходов на базе теории функционала плотности для прояснения путей реализации химического механизма ГКРС в системе «молекула МТХ – серебро», посредством построения теоретических моделей «МТХ-кластер серебра», получения и количественной

оценки термодинамических и электронных характеристик таких моделей, их сопоставлением с экспериментальными спектрами систем МТХ-AgNT.

Цель диссертационной работы состояла в выявлении закономерностей и путей реализации химического механизма усиления ГКРС, оценке их вклада в результирующий спектр ГКРС в комплексе «МТХ-наночастица» на основе квантово-химических расчётов и экспериментальных данных.

Для достижения вышеуказанной цели ставились и были решены следующие **задачи**:

- Разработать и построить потенциальные модели взаимодействия метотрексата с поверхностью наночастицы, установить количественные термодинамические и электронные параметры межкомплексного взаимодействия, оказывающие влияние на спектр ГКРС, выполнить анализ МО и образующихся связей при комплексообразовании МТХ с AgNT.

- Выявить пути реализации усиления ГКРС по химическому механизму в моделях посредством анализа колебательных полос теоретических и экспериментальных спектров ГКРС, расчета энергии адсорбции МТХ на кластер серебра, установления наиболее термодинамически выгодной модели связывания.

- Установить качественные и количественные закономерности влияния размера кластера серебра на параметры моделей и интенсивность спектра ГКРС, выявить место локализации ВЗМО и НСМО в моделях.

- Экспериментально подтвердить теоретически установленные факт протекания и путь адсорбции МТХ на серебро посредством осуществления комплекса экспериментальных исследований физико-химических свойств AgNPs и AgNT и их смесей с МТХ спектральными методами.

Методы исследования. Для достижения целей и задач диссертации осуществляли двухэтапный синтез серебряных наночастиц треугольной формы. Регистрация спектров поглощения выполнялась на спектрофотометре Shimadzu UV-2600 (Shimadzu, Япония). Регистрация спектров ГКРС выполнялась с использованием КРС спектрометра Renishaw Virsa (Renishaw, Великобритания) с длиной волны лазера $\lambda=532$. Оценка размера и стабильности наночастиц осуществлялась методом динамического рассеяния света с использованием прибора Photocor Compact-Z (Фотокорп, Россия). Для анализа морфологии и размера наночастиц использовалась двулучевая электронно-ионная система сверхвысокого разрешения Cross Beam XB 540 (Carl Zeiss, Германия). Построение моделей и квантово-химическое моделирование осуществлялось в программе Gaussian 16 (США) и GaussView 6.1 (США) с использованием методов теории функционала плотности (DFT) и методов функционала плотности в зависимости от времени (TD-DFT) при использовании гибридных функционалов B3LYP и CAM-B3LYP с базисным набором 6-311g++(2d,2p) для молекулы МТХ и

Landl2Dz для кластера серебра соответственно. Для визуализации и оценки параметров взаимодействия между МТХ и кластером серебра в моделях использовалось программное обеспечение Multiwfn 3.8 и VMD 2.0.

Научная новизна исследования состоит в следующем:

- Получены новые экспериментальные и теоретические результаты о физико-химических свойствах комплексов из молекул метотрексата и серебряных кластеров варьируемого размера, рассчитаны количественные термодинамические и электронные характеристики внутрикомплексного взаимодействия.

- Предложены, на основе выполненных квантово-химических расчетов колебательных полос спектров КРС, термодинамических и электронных характеристик, теоретические модели связывания метотрексата с кластером серебра для оценки возможности усиления сигнала КРС по химическому механизму, при реализации ГКРС.

- Установлены, на основе анализа теоретических и экспериментальных спектров ГКРС, пути взаимодействия МТХ с поверхностью наночастицы через атомы азота птеридинового фрагмента метотрексата, атомы кислорода карбоксильных групп и атомы азота аминогрупп МТХ.

Практическая значимость работы:

- Теоретически обоснована возможность выделения характерных колебательных мод для количественного определения клинически значимых концентраций лекарственного препарата «метотрексат» в сыворотке.

- Прояснены термодинамические и электронные характеристики взаимодействия метотрексата с поверхностью наночастицы, что открывает перспективы для улучшения методики обнаружения данного соединения в сыворотке.

- Получены результаты квантово-химического моделирования, проясняющие путь усиления сигнала КРС по химическому механизму в регистрируемых сигналах ГКРС.

- Выработаны практические подходы для создания отечественных оптических сенсоров на базе плазмонного эффекта для определения метотрексата в сыворотке крови пациентов, проходящих лечение от ревматоидного артрита.

На защиту автор выносит:

1. Результаты экспериментально-теоретических исследований, определяющих колебательные моды ГКРС, отвечающие за связывание молекул метотрексата с серебром через карбоксильные группы.

2. Результаты квантово-химических расчетов, подтверждающие энергетически выгодные положения молекулы метотрексата при ее

взаимодействии с кластером серебра через атомы кислорода с образованием координационной связи.

3. Установленные количественные характеристики термодинамических и электронных параметров моделей «МТХ-кластер серебра», подтверждающие вклад химического механизма усиления в формирование спектра ГКРС молекул МТХ адсорбированных на AgNT.

4. Теоретические модели комплексов метотрексата с серебром: «МТХ-NH₂-Ag₄ (-2)», «МТХ-N-Ag₄ (-2)», «МТХ-Ph-Ag₄ (-2)» «МТХ-COO-Ag₄» и «МТХ-COO-Ag₄ (-2)», а также соответствующие им наборы количественных термодинамических и электронных параметров, позволяющие уточнять характеристики экспериментальных спектров ГКРС.

Личный вклад автора. Автор диссертационной работы самостоятельно выполнял синтез наночастиц, производил съёмку спектров поглощения и дзета-потенциала. Самостоятельно осуществлялась разработка методики нанесения наночастиц на поверхность кварца. Квантово-химическое моделирование выполнялось самостоятельно. Автор участвовал в съёмке спектров ГКРС, которая осуществлялась совместно с техником НОЦ «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника», магистром направления «Физика» Евтифеевым Д.О. и младшим научным сотрудником НОЦ «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника» Демишкевич Е.А. Морфологические исследования НЧ выполнены совместно с научным сотрудником Международного научно-исследовательского центра «Когерентная рентгеновская оптика для установок MegaScience» Лятуном И.И. Автор работы участвовал в выдвижении и проверке гипотез исследования, обсуждении целей и задач диссертации, а также готовил материал к публикации и публиковал результаты диссертации.

Публикации. По результатам исследований в рамках темы диссертации опубликованы 10 исследовательских работ, из них 3 - статьи в изданиях, входящих в международные базы данных Web of Science/Scopus, Белый список, 7 - работ опубликовано в сборниках трудов международных и всероссийских научных конференций. Зарегистрирован один патент РФ на изобретение по теме диссертации.

Достоверность полученных результатов исследования подтверждается детальным планированием и организацией этапов экспериментов, осуществленных на современном исследовательском оборудовании. Достоверность подтверждается воспроизводимостью полученных экспериментальных и теоретических данных, публикациями в рецензируемых российских и зарубежных научных изданиях.

Апробация работы Основные результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на международных научно-технических конференциях и

симпозиумах: международная конференция «Клинические и теоретические аспекты современной медицины» (Москва 2022), конференция молодых ученых «ХИМБИОSEASONS 2023» (Калининград, 2023), Международный молодежный научный форум «ЛОМОНОСОВ-2025», (Москва, 2025), всероссийский симпозиум «XXXVII Симпозиум «Современная химическая физика» (Туапсе, 2025), международный симпозиум по биофотонике «XIX Symposium on Optics & Biophotonics» (Саратов, 2025), всероссийская конференция по комбинационному рассеянию света 8-й Сибирский семинар по комбинационному рассеянию света (Красноярск, 2025), международный симпозиум по биофотонике Photonics Asia» (Пекин, Китай, 2023, 2024).

Структура и объём работы Объём диссертационной работы составляет 150 страниц машинописного текста. Диссертация состоит из введения, шести глав и выводов, включая 12 таблиц и 77 рисунков. Библиографический список включает 129 наименований цитируемой литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность проведенных исследований, сформулированы основные цели и задачи, описана научная новизна и практическая значимость полученных результатов, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

В **Главе 1** представлен анализ литературных данных, посвящённых а) подходам к количественной регистрации МТХ в различных средах с использованием КРС, б) использованию в исследованиях метода ГКРС и квантово-химических расчётов на основе DFT для выявления факторов усиления химического механизма в спектрах КРС для молекул различной структуры. Обзор позволил выделить актуальное направление исследований, определить ключевые параметры для проведения квантово-химических расчётов, используемые функционалы и базисы для расчетов, выделить характеристики для оценки вклада химического механизма усиления в спектрах КРС, определить инструментарий для решения задач диссертации в целом. Настоящий литературный обзор опубликован в работе [1].

В **Главе 2** приведена информация об используемых реагентах, оборудовании и программном обеспечении, используемых для решения задач диссертации. Детально описан метод синтеза AgNPs и AgNT, используемые

¹ Zozulya, A. A review for DFT in chemical mechanism of SERS studies / A. Zozulya, A. Zyubin, I. Samusev // Royal Society Open Science. – 2025. – Т. 12. – № 6.

подходы для оценки физико-химических свойств наночастиц: спектрофотометрия, сканирующая электронная микроскопия, спектроскопия динамического рассеяния света и электрофоретического рассеяния света, ГКРС. Детально описан процесс построения моделей «МТХ-кластер серебра», приводится методология выполнения квантово-химических расчётов термодинамических и энергетических характеристик моделей их спектров КРС.

Глава 3 отражает результаты экспериментальных исследований морфологических, оптических свойств наноструктур и их комплексов с МТХ, выполненных для подтверждения плазмонной генерации вблизи поверхности НЧ, оценки стабильности НЧ, подтверждения протекания процесса адсорбции МТХ на поверхность AgNT в комплексах AgNT-MTX. Получены AgNPs со средним диаметром 10 нм (Рис. 1А) и максимумом поглощения на длине волны 397 нм (Рис.1Б). Определен коэффициент полидисперсности для AgNPs равный $PDI=0,149$. Значение дзета-потенциала, подтверждающее стабильность коллоидного раствора AgNPs составляло $-24 \pm 0,24$ мВ.

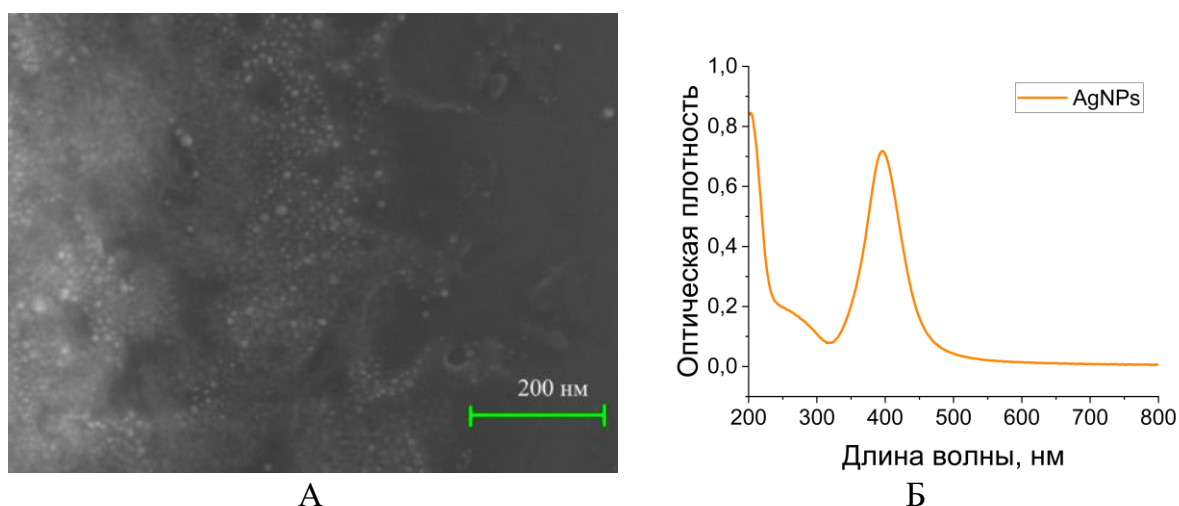


Рисунок 1. Изображение СЭМ (А) и спектр поглощения (Б) AgNPs.

По результатам синтеза AgNT установлено, что такие частицы характеризовались средним размером ребра 33 нм (Рис. 2А) и спектром поглощения, имеющим три максимума на длинах волн 340 нм, 410 нм и 520 нм, (Рис.2Б). Значение дзета-потенциала коллоидного раствора AgNT составляло $-32 \pm 0,53$ мВ и указывало на их стабильность. Значение полидисперсности для AgNT составляло $PDI = 0,236$. В работе регистрировались спектры поглощения МТХ концентрацией 10^{-4} М. В спектре выявлено наличие трех максимумов на длинах волн 255 нм, 305 нм и 368 нм (Рис. 2В). Значение рН полученного раствора составляло 10,65.

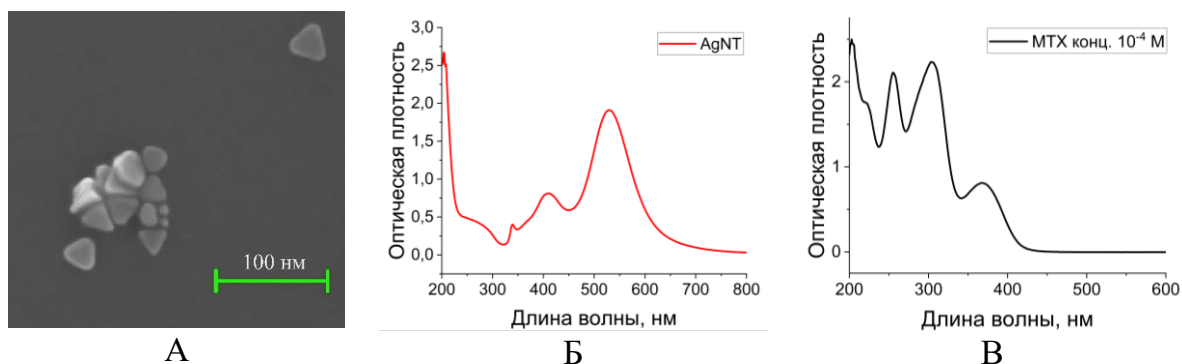


Рисунок 2. Изображение СЭМ AgNT (А), спектр поглощения AgNT (Б), спектр поглощения MTX (В)

Глава отражает результаты сравнительного анализа спектров поглощения растворов AgNT и MTX со спектрами поглощения смеси раствора MTX и золя AgNT. Перед осуществлением процесса регистрации спектров, смесь выдерживалась в течение 30 минут при комнатной температуре 22 °С, при значении рН=10,48. Концентрация MTX смеси составляла 10^{-4} М. На Рисунке 3 представлены полученные спектры исследуемых образцов.

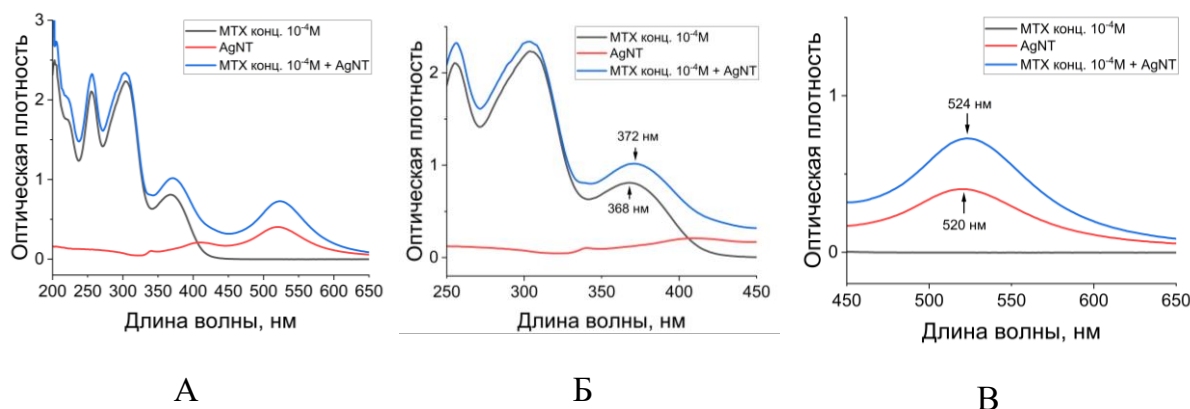


Рисунок. 3. Спектры поглощения MTX (черная линия), AgNT (красная линия), смеси MTX и AgNT (синяя линия) для диапазона 200 – 650 нм (А), диапазона 250-450 нм (Б), диапазона 450 – 650 нм.

В результате анализа спектров поглощения установлено смещение максимума MTX с 368 нм до 372 нм (Рис. 3Б) и смещение максимума поглощения AgNT с 520 нм до 524 нм (Рис. 3В). Сдвиг на 4 нм в красную область спектра поглощения смеси свидетельствует об адсорбции молекулы на поверхности

наночастицы [2,3] Регистрация спектра ГКРС МТХ концентрацией 10^{-5} М выполнялась с применением островковой пленки AgNT, нанесенной на оптически прозрачный кварц. Для исключения влияния фона от AgNT и гидроксида натрия на спектр ГКРС МТХ, проводилась регистрация спектров КРС фона AgNT и раствора гидроксида натрия концентрацией 0,2 М (Рис. 4А) по отдельности. В спектре фона (Рис. 4А) наблюдается ряд мод, перекрывающих спектр МТХ, однако не оказывающих существенного влияния на интерпретацию спектральных данных. Сопоставление спектров МТХ и гидроксида натрия показало, что NaOH не оказывал значимого влияния на общий спектр, поскольку его общая интенсивность являлась невысокой, за исключением спектральной полосы на частоте 1058 см^{-1} , которая также не препятствовала интерпретации полученных результатов.

Для исключения влияния процесса кристаллизации МТХ на связывание молекулы с наночастицей и спектр ГКРС, производилась регистрация спектра КРС смеси МТХ с золем AgNT и его качественное сравнение со спектром ГКРС МТХ (Рис. 4Б).

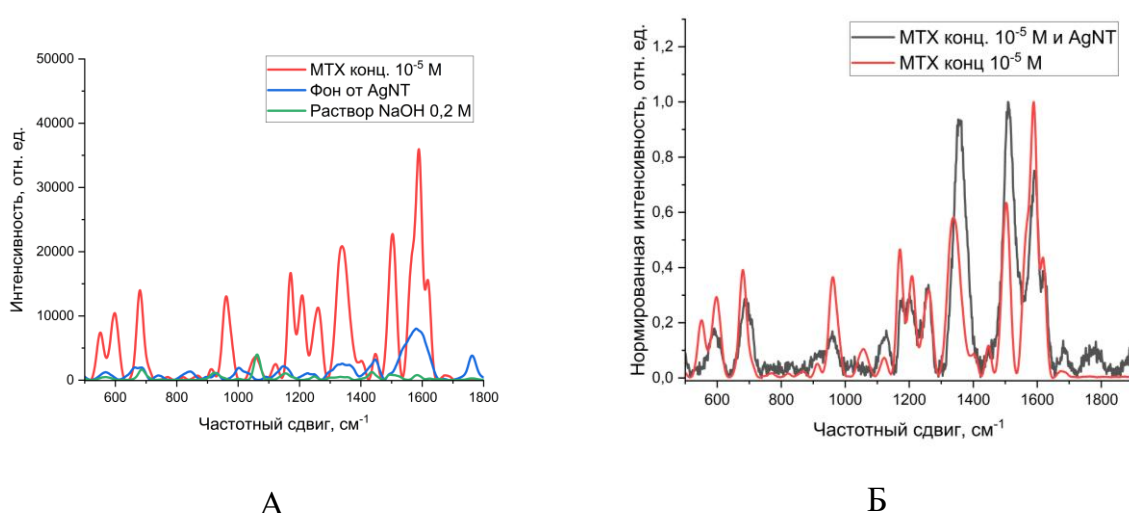


Рисунок 4. Спектры ГКРС МТХ (красная линия), фона AgNT (синяя линия), раствора NaOH (зеленая линия) (А) и спектры ГКРС МТХ (красная линия), смеси МТХ и AgNT (Б).

Установлено, что качественно спектры МТХ на поверхности островковой пленки и МТХ в смеси с золем AgNT не отличаются друг от друга (Рис 4А, 4Б).

² Koushki, E. Effect of conjugation with organic molecules on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles and application in optical biosensing / E. Koushki // RSC advances. – 2021. – Т. 11. – № 38. – С. 23390-23399.

³ Cheng, C.-S. Organic vapour sensing using localized surface plasmon resonance spectrum of metallic nanoparticles self assemble monolayer / C.-S. Cheng, Y.-Q. Chen, C.-J. Lu // Talanta. – 2007. – Т. 73. – № 2. – С. 358-365.

Выявлены сдвиги максимумов смеси: максимум на частоте 1503 см^{-1} МТХ у смеси смещен на частоту 1511 см^{-1} , максимум на частоте 1339 см^{-1} смещается на частоту 1352 см^{-1} , максимум 1210 см^{-1} смещается на частоту 1200 см^{-1} , максимум 1171 см^{-1} смещается на частоту 1176 см^{-1} , максимум 680 см^{-1} смещается на частоту 689 см^{-1} . Факт установления спектральных сдвигов в спектре ГКРС смеси МТХ-AgNT свидетельствует об адсорбции молекулы на поверхность AgNT. Произведена регистрация спектра ГКРС МТХ на поверхности и в растворе с AgNT, выявлены основные характеристические спектральные сдвиги МТХ: 1589 см^{-1} , 1503 см^{-1} , 1339 см^{-1} , 1261 см^{-1} , 1210 см^{-1} , 1171 см^{-1} , 960 см^{-1} , 680 см^{-1} , 598 см^{-1} и 552 см^{-1} , которые далее были использованы в работе с теоретическими спектрами КРС. Результаты главы опубликованы в работах [4,5].

В Главе 4 приведены результаты экспериментально-теоретической оценки параметров взаимодействия МТХ в комплексе с кластером серебра. Расчёты проводились методом DFT с использованием функционала B3LYP и базисного набора 6-311G++(2d,2p) для атомов H, C, O, N и Lanl2Dz для атомов серебра. Построено и исследовано две оптимизированных модели МТХ: в вакууме с протонированными карбоксильными группами и в воде с депротонированными карбоксильными группами. Выполнена визуализация распределения электростатического потенциала оптимизированных моделей МТХ. Установлены пути взаимодействия молекулы с кластером серебра через карбоксильные группы и атомы азота в птеридине. Рассмотрен путь адсорбции молекулы через атомы азота аминогрупп, поскольку наночастицы серебра склонны к образованию координационной связи с первичными аминами. Дополнительно в главе рассмотрен путь взаимодействия молекулы с наночастицей серебра через фрагмент бензольного кольца МТХ, который выбирался для анализа изменений в спектре КРС в зависимости от расположения молекулы МТХ относительно поверхности AgNT. Для каждой среды создано по четыре модели, которые демонстрировали различные варианты взаимодействия молекулы МТХ с поверхностью серебряной наночастицы. Тетраэдрический кластер серебра, состоящий из четырех атомов, выступал в качестве модели поверхности наночастицы [6], в которых:

⁴ Sers-based methodology for nanomolar methotrexate concentration detection for clinics /E. A. Demishkevich, S. A. Stefanova, A. Y. Zyubin [и др.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2025. – Т. 331. – С. 125801.

⁵ Experimental and DFT approaches to the physico-chemical properties of methotrexate silver clusters / A. S. Zozulya, A. Y. Zyubin, E. A. Demishkevich, I. G. Samusev // New Journal of Chemistry. – 2026.

⁶ Firoozi, A. Effects of geometry and size of noble metal nanoparticles on enhanced refractive index sensitivity / A. Firoozi, R. Khordad, H. Rastegar Sedehi // Applied Physics A. – 2022. – Т. 128. – № 12. – С. 1074.

1. Связывание осуществлялось через аминогруппы «MTX-NH₂-Ag₄ (в)» в вакууме и «MTX-NH₂-Ag₄ (-2)» в водном растворе.
2. Связывание осуществлялось через атомы азота птеридина «MTX-N-Ag₄ (в)» в вакууме и «MTX-N-Ag₄ (-2)» в водном растворе.
3. Связывание осуществлялось через карбоксильные группы «MTX-COO-Ag₄ (в)» в вакууме и «MTX-COO-Ag₄» в водном растворе.
4. Модель взаимодействия молекулы и кластера серебра реализовалась через ароматическое кольцо «MTX-Ph-Ag₄ (в)» в вакууме и «MTX-Ph-Ag₄ (-2)» в водном растворе.

В ходе сравнительного анализа теоретических спектров КРС с экспериментальными выявлено, что теоретическая модель «MTX-COO-Ag₄» является наиболее вероятной моделью взаимодействия MTX с поверхностью наночастицы. На это указывает выявленная интенсивная полоса частотного сдвига на 1598 см⁻¹, которая в других спектрах не наблюдалась (Рис. 5А). Спектры моделей, при расчёте параметров которых учитывалось влияние растворителя, оказывались наиболее близкими по значениям максимумов к экспериментальным спектрам. Дополнительно в главе вводилась новая модель «MTX-COO-Ag₄ (-2)», характеризующая взаимодействие MTX через карбоксильные группы, но с отрицательным зарядом системы «2-». Сравнение теоретического спектра КРС с экспериментальным (Рис. 5Б), показало, что модель «MTX-COO-Ag₄ (-2)» также является потенциальной моделью взаимодействия молекулы MTX с наночастицей.

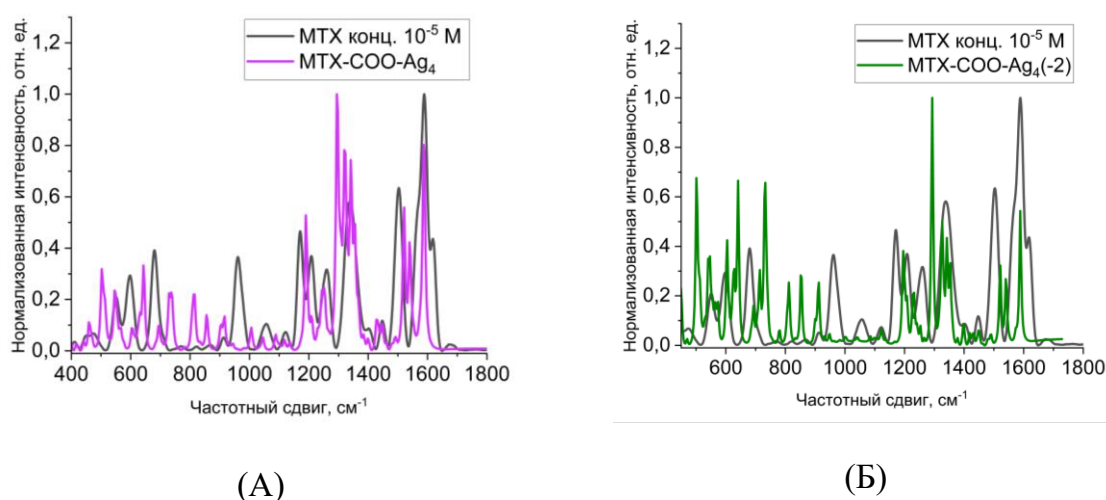


Рисунок 5. Теоретические КРС спектры системы «MTX-COO-Ag₄» (фиолетовый) (А), «MTX-COO-Ag₄ (-2)» (зеленый) (Б) и экспериментальный ГКРС спектр MTX (черный)

Анализ теоретических спектров КРС моделей выявил влияние ориентации молекулы МТХ на количество мод в спектре, их интенсивность, положение максимумов. Установлено различие между теоретическими спектрами КРС моделей в вакууме и в воде. На основе сравнения экспериментальных ГКРС-спектров МТХ и теоретических спектров КРС моделей, полученных в условиях статической поляризуемости, установлено, что адсорбция молекулы МТХ на поверхность наночастицы протекает через карбоксильные группы. На это указывает теоретическое и экспериментальное совпадение сдвига на частоте 1589 см^{-1} , характеризующее колебание бензольного кольца молекулы МТХ. По результатам анализа спектров КРС с учётом длины волны возбуждения $\lambda=532\text{ нм}$ выделена ещё одна модель «МТХ-N-Ag₄ (-2)», как потенциальная модель взаимодействия МТХ с поверхностью AgNT. Показано, что в зависимости от ориентации молекулы метотрексата относительно кластера серебра меняется теоретический спектр КРС. В спектрах теоретических моделей при условии статической поляризуемости выявлено, что при адсорбции через аминогруппы повышается интенсивность мод от 400 см^{-1} до 600 см^{-1} , а в спектрах адсорбции через карбоксильные группы проявляется мода на 1589 см^{-1} . Результаты главы опубликованы в работе [5].

В Главе 5 приведены результаты теоретической оценки термодинамических и электронных характеристик МТХ в комплексе с кластером серебра (Таблица 1). Значение энергии адсорбции у рассматриваемых моделей, кроме «МТХ-NH₂-Ag₄ (-2)», принимает отрицательное значение, что свидетельствует о том, что процесс комплексообразования протекает самопроизвольно. Наиболее термодинамически выгодными моделями определены модели «МТХ-COO-Ag₄» и «МТХ-COO-Ag₄ (-2)», со значением $\Delta E_{\text{адс}}$ равным -320 кДж/моль и -296 кДж/моль соответственно. У рассматриваемых моделей, кроме модели «МТХ-NH₂-Ag₄ (-2)», значение изменения энтальпии отрицательное, что свидетельствует об экзотермичности реакции. При образовании связей МТХ с кластером серебра наблюдается увеличение поляризуемости, которое приводит к реализации химического механизма усиления в спектре ГКРС. Анализ полученных термодинамических параметров подтверждает образование химической связи между гетероатомами молекулы МТХ и кластером серебра.

Таблица 1. Расчетные значения энергии адсорбции, изменения энтальпии и поляризуемости МТХ и его комплексов с кластером серебра

Модель	Энергия адсорбции $\Delta E_{\text{адс}}$, кДж/моль	Энтальпия $\Delta H_{\text{адс}}$, кДж/моль	Поляризуемость, $\text{Кл}^2 \cdot \text{м}^2 \cdot \text{Дж}^{-1}$
МТХ (-2)	-	-	$7,01 \cdot 10^{-39}$
МТХ-COO-Ag ₄	-320	-382	$1,14 \cdot 10^{-38}$
МТХ-N-Ag ₄ (-2)	-283	-355	$1,95 \cdot 10^{-38}$
МТХ-NH ₂ -Ag ₄ (-2)	222	141	$2,42 \cdot 10^{-38}$
МТХ-Ph-Ag ₄ (-2)	-275	-344	$2,05 \cdot 10^{-38}$
МТХ-COO-Ag ₄ (-2)	-296	-364	$1,95 \cdot 10^{-38}$

Анализ взаимодействия между молекулой МТХ и кластером серебра проводился методами топологического анализа на основе квантовой теории атомов в молекуле, анализа функции локализации электронов, индекса локализации орбиталей, нековалентного взаимодействия. На Рисунке 6 представлены результаты анализа на примере модели «МТХ-COO-Ag₄». Установлено, что взаимодействие во всех исследуемых моделях между кластером серебра и МТХ осуществляется через атомы азота и кислорода, имеет нековалентный характер и характеризуется как координационное.

Анализ граничащих молекулярных орбиталей (ГМО) показал, что ГМО в модели «МТХ-COO-Ag₄» локализованы на молекуле МТХ, (Рис. 7Б). ВЗМО расположена вокруг бензола, а НСМО – вокруг птеридина. Установлено, что для данного комплекса характерна низкая реакционная способность по сравнению с другими системами, что следует из значения разности между ГМО, которая для этой модели составляла 5,76 эВ. В остальных комплексах, имеющих заряд «2-», ВЗМО расположена на кластере серебра, при этом НСМО локализована на птеридиновом фрагменте молекулы МТХ. Такое расположение ГМО делает возможным перенос заряда от кластера серебра к МТХ. Однако, для модели «МТХ-COO-Ag₄(-2)» перенос между ГМО не является возможным. Согласно результатам расчётов методом TD-DFT, сила осциллятора данного перехода равна нулю. Однако установлено, что перенос электрона между кластером и молекулой в модели «МТХ-COO-Ag₄(-2)» возможен. При возбуждении комплекса на длине волны 448 нм, и силой осциллятора $f=1,03$ осуществляется переход с ВЗМО на НСМО+7, НСМО+8 и НСМО+9, вероятность осуществления каждого из которых равна 29%, 35% и 11% соответственно (Рис. 8). При переходе электрона на НСМО+7 наблюдается его локализация не только вокруг кластера, но также и на карбоксильных группах.

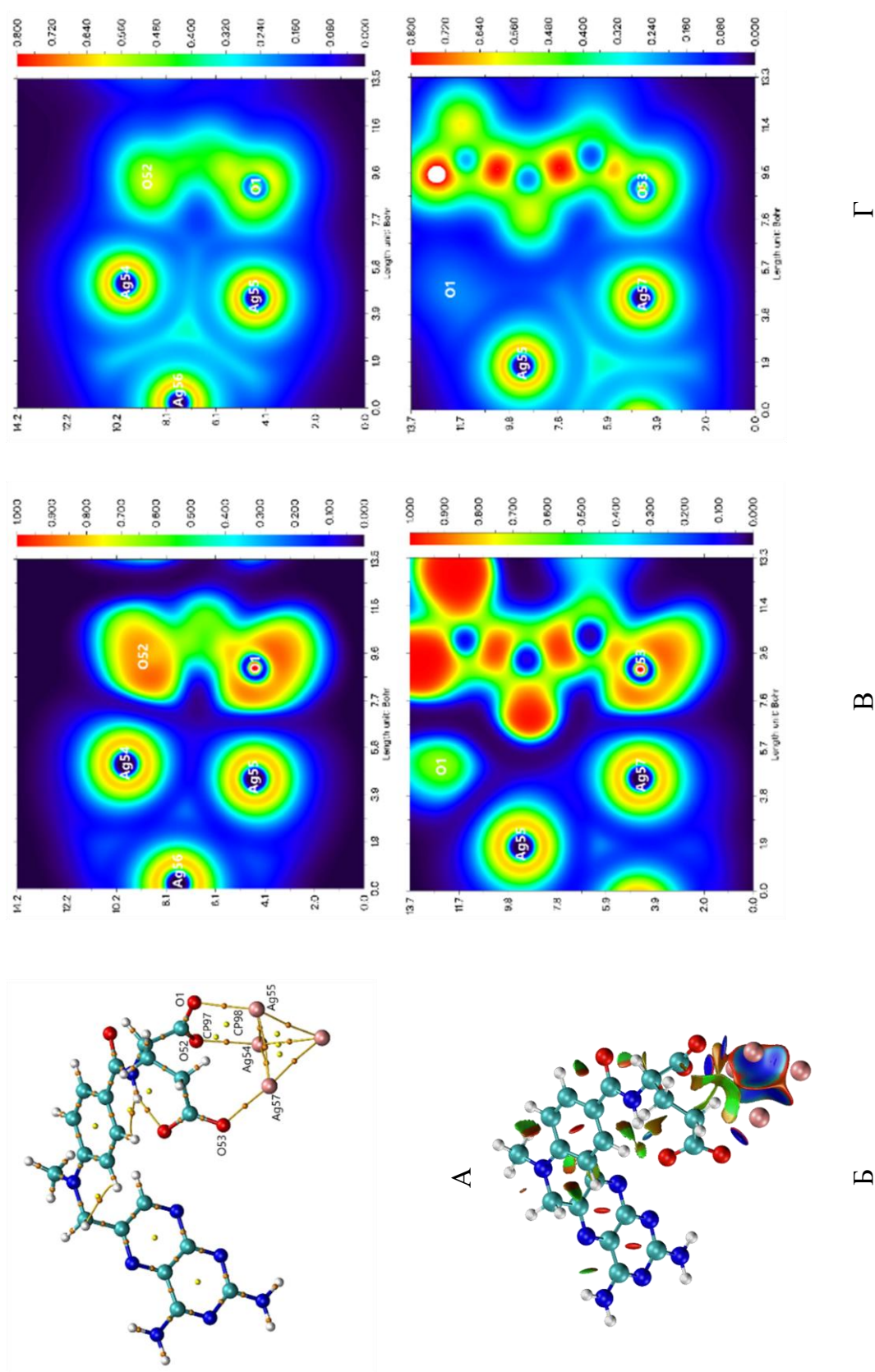


Рисунок 6. Критические точки (А), визуализация нековалентного взаимодействия (Б), распределение функции локализации электронов (В) распределение индекса локализации орбиталей (Г) на примере комплекса «MTX-COO-Ag»

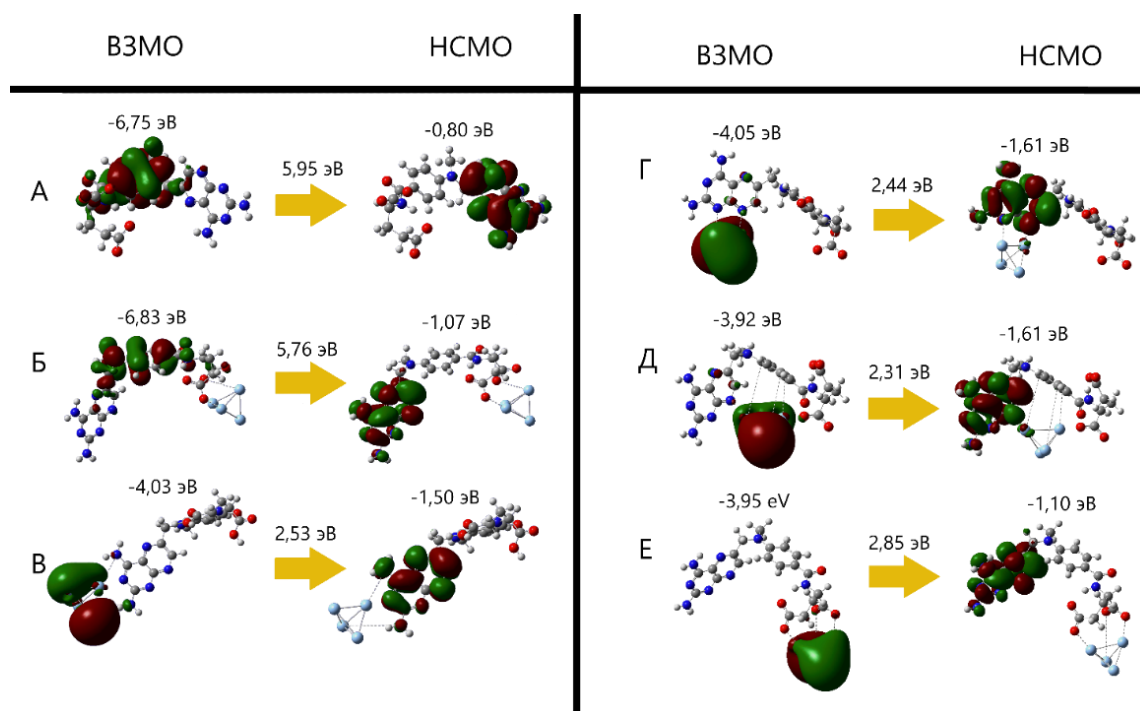


Рисунок. 7. ВЗМО и НСМО для моделей «MTX» и «MTX - кластер серебра»

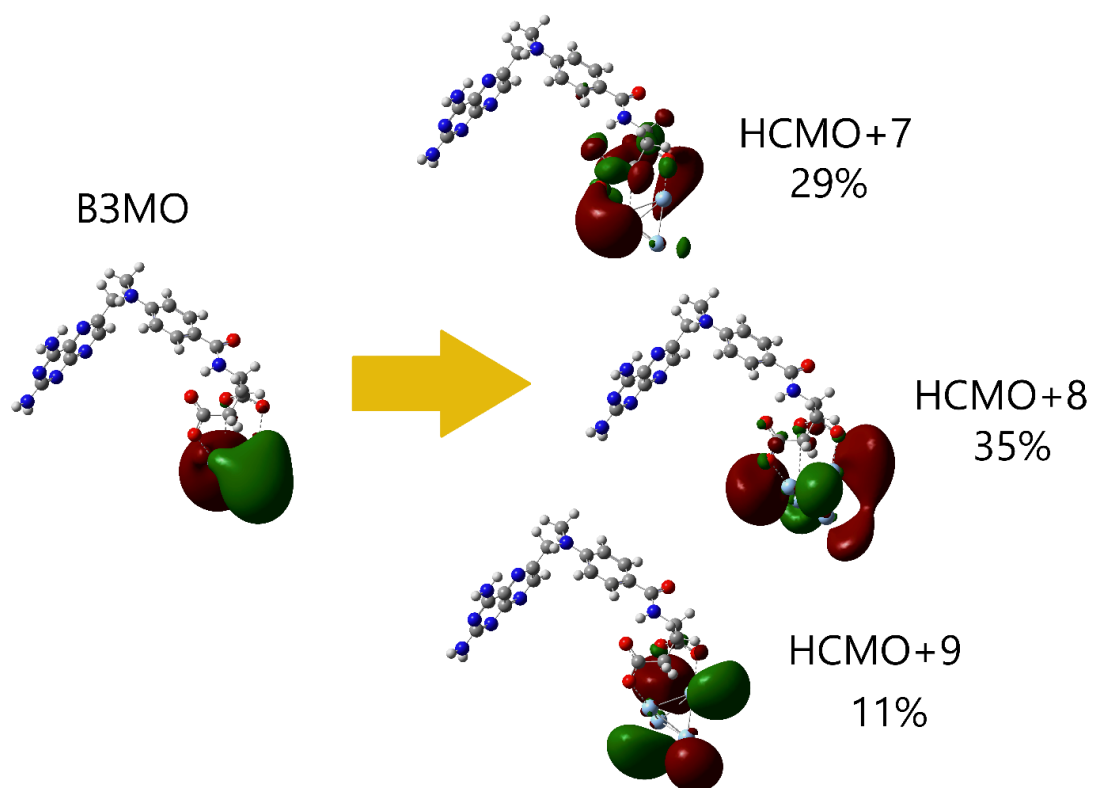


Рисунок 8. Визуализация МО модели «MTX-COO-Ag₄(-2)» при длине волны возбуждения $\lambda=448$ нм.

Установлено, что при возбуждении системы на длине волны 565 нм происходит переход с ВЗМО на НСМО+5. При этом локализации МО остаются на кластере серебра, поэтому перенос заряда при данной длине волны возбуждения не происходит.

Выявлено, что адсорбция МТХ на серебро протекает через карбоксильные группы. На это указывает количественный расчет термодинамических параметров модели «МТХ-СОО- Ag_4 », наиболее энергетически выгодной модели. Кроме этого, значения энергии адсорбции и энтальпии указывали на процесс хемосорбции на кластер серебра. Модель «МТХ-СОО- $\text{Ag}_4(-2)$ » находится на втором месте по величине значения энергии адсорбции. Установлено, что для данной модели ВЗМО локализуется на кластере серебра, а НСМО на МТХ. При этом, согласно результатам моделирования методом TD-DFT, перенос заряда между ГМО не реализуется в модели «МТХ-СОО- $\text{Ag}_4(-2)$ ». В этом случае, переход электрона между кластером серебра и молекулой осуществляется при длине волны возбуждения 448 нм.

В **Главе 6** приведены результаты оценки влияния размера кластера серебра на термодинамические и электронные характеристики моделей и интенсивность спектра ГКС. В качестве поверхности наночастицы предложены четыре структуры, содержащие 4, 8, 12 и 16 атомов серебра. Построенные модели делились на две группы: нейтральные и заряженные (Рис. 9). С увеличением размера кластера серебра в системах наблюдалось изменение конформации молекулы МТХ и её ориентации относительно самого кластера серебра. Это оказывало влияние на форму теоретических спектров КРС. Установлено, что с увеличением размера кластера интенсивность спектральных полос, находящихся в диапазоне $400 - 1000 \text{ см}^{-1}$ возрастала. Анализ взаимодействия между молекулой МТХ и кластером серебра показал наличие нековалентного взаимодействия между атомами кислорода карбоксильных групп с атомами серебра с образованием координационной связи. В комплексе с 16 атомами серебра взаимодействие между атомом азота и кластером серебра характеризуется как Ван-дер-Ваальсово. Анализ ГМО показал, что, начиная с систем с Ag_8 , ВЗМО и НСМО локализируются на кластере серебра, что не позволяет осуществить перенос заряда между этими МО.

Дальнейший анализ термодинамических величин выявил отсутствие выраженных зависимостей изменения параметров. Отмечен факт линейного роста поляризуемости у всех моделей с увеличением размера кластера серебра.

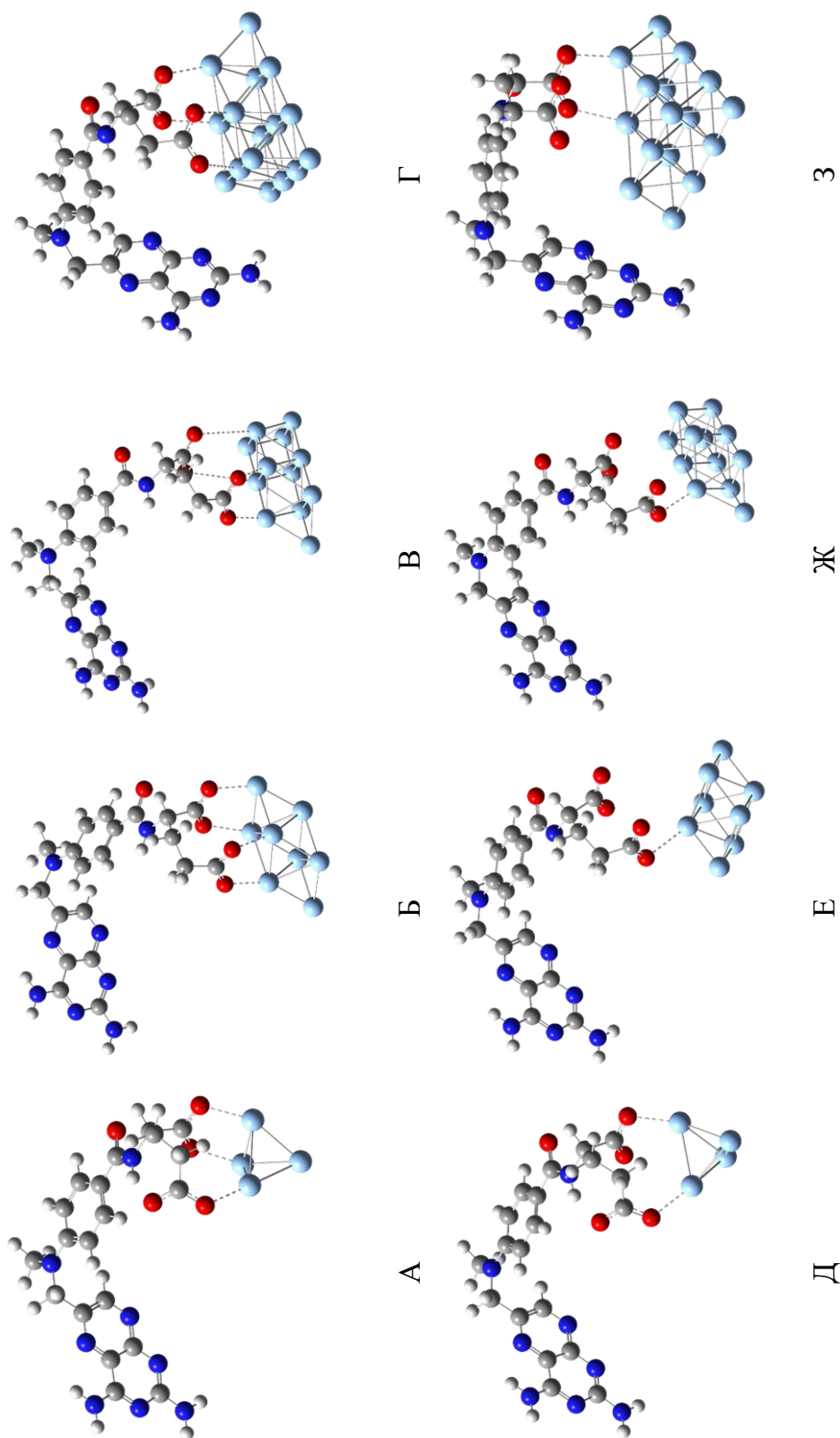


Рисунок 9. Комплексы $MTX-ClO-Ag_4$ (A), $MTX-ClO-Ag_8$ (B), $MTX-ClO-Ag_{12}$ (E), $MTX-ClO-Ag_{16}$ (Ж), $MTX-ClO-Ag_4$ (-2) (Д), $MTX-ClO-Ag_8$ (-2) (E), $MTX-ClO-Ag_{12}$ (-2) (Ж), $MTX-ClO-Ag_{16}$ (-2) (З)

Результаты сравнительного анализа значений поляризуемости от размера кластера серебра в моделях представлены на Рисунке 10. Установлено, что зависимость между этими параметрами являлась линейной. С увеличением размера кластера на Ag_4 в нейтральных моделях поляризуемость увеличивалась на $9,92 \cdot 10^{-39} \text{ Кл}^2 \cdot \text{м}^2 \cdot \text{Дж}^{-1}$ ($2,48 \cdot 10^{-39}$ на 1 атом серебра), а в заряженных моделях на $1,14 \cdot 10^{-38} \text{ Кл}^2 \cdot \text{м}^2 \cdot \text{Дж}^{-1}$ ($2,84 \cdot 10^{-39}$ на 1 атом серебра).

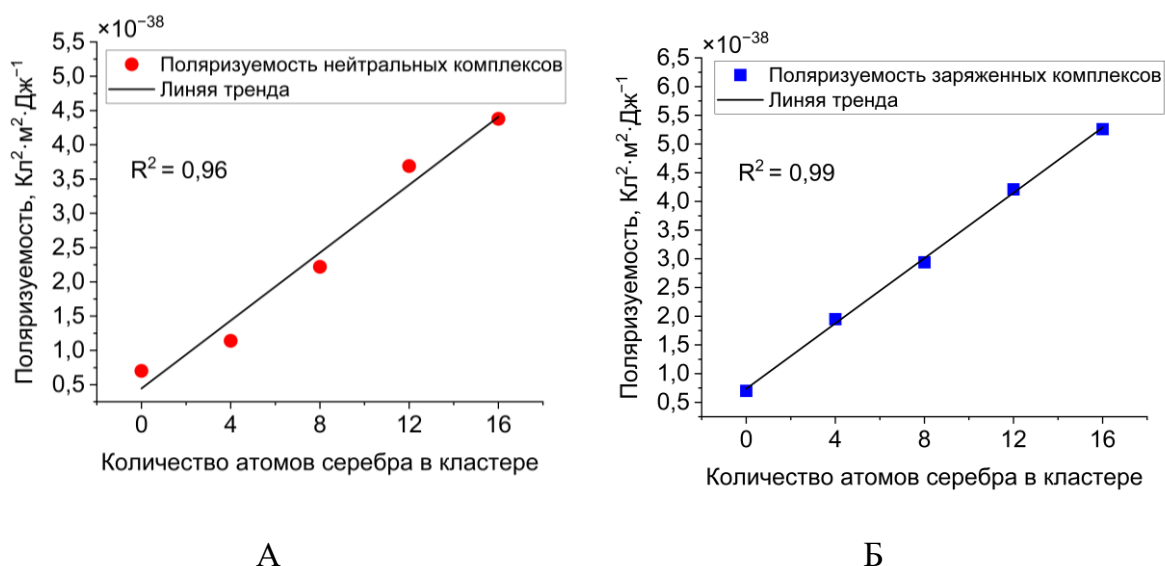


Рисунок 10. Графики зависимости значений поляризуемости от количества атомов серебра в кластере для моделей MTX-COO-Ag_n , где $n=4, 8, 12, 16$ для нейтральных (А) и заряженных (Б) систем.

Далее, для прояснения влияния поляризуемости на интенсивность спектра КРС в соответствии с [7] рассчитывалось значение кросс-секции спектра комбинационного рассеяния света $\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)$, $\text{см}^2/\text{ср}$ (ср – стерadian) при условии статической поляризуемости для моделей в соответствии с формулами 1, 2:

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right) = \frac{(2\pi)^4}{45} \cdot \frac{h}{8\pi^2 c v_i} \cdot \frac{(v_0 - v_i)^4}{1 - \exp(-h c v_i / kT)} \cdot S_i \quad (1)$$

$$S_i = 45 \left(\frac{d\alpha}{dQ_i}\right)^2 + 7 \left(\frac{d\gamma}{dQ_i}\right)^2 \quad (2)$$

⁷ A DFT Investigation of Surface-Enhanced Raman Scattering of Adenine and 2'-Deoxyadenosine 5'-Monophosphate on Ag_{20} Nanoclusters / X. Lang, P. Yin, T. You [и др.] // ChemPhysChem. – 2011. – Т. 12. – № 13. – С. 2468-2475.

Где S_i — рамановская активность моды, автоматически рассчитанная в программе Gaussian 16W, ν_0 — волновое число возбуждающего лазера, 532 нм или 18797 см^{-1} , ν_i — волновое число вибрации моды (см^{-1}), T — температура, 298 К, c — скорость света, h — постоянная Планка, k — постоянная Больцмана.

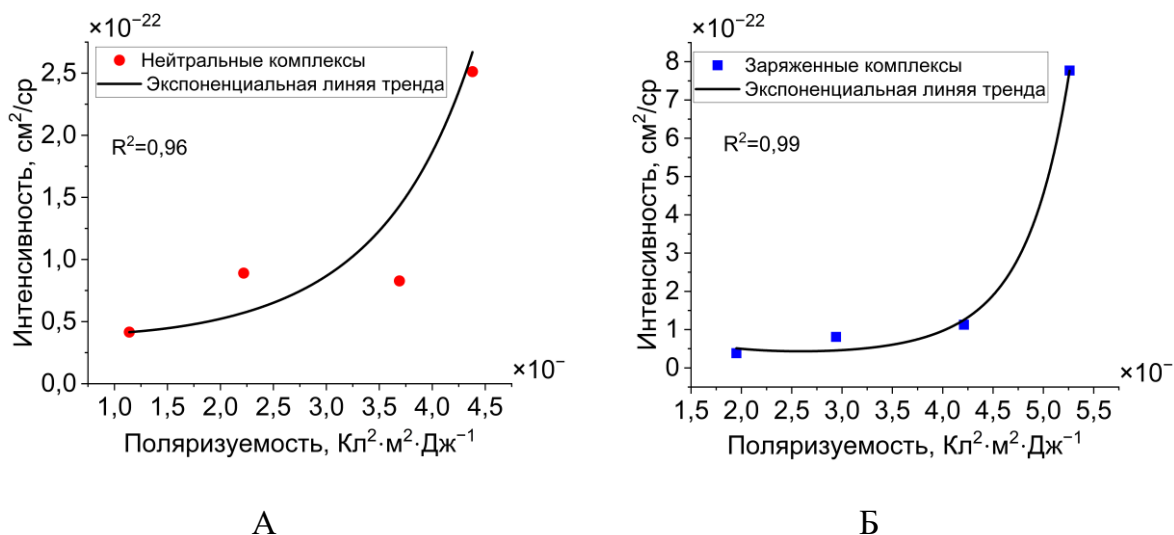


Рисунок 11. Кривые зависимости величины кросс-секции спектра КРС от значения поляризуемости нейтральных (А) и заряженных (Б) систем.

Сравнительный анализ нейтральных и зараженных систем выявил экспоненциальную зависимость интенсивности спектра КРС от значения поляризуемости. При этом, увеличение количества атомов серебра в кластере приводило к увеличению значения поляризуемости в моделях (Рис. 11) и к увеличению интенсивности в спектрах КРС в моделях. Установлено, что размер кластера серебра влияет на конформацию молекулы метотрексата и её ориентацию относительно поверхности кластера. Это выражается в количестве атомов кислорода, участвующих во взаимодействии с кластером серебра. Выявлен факт нековалентного взаимодействия, возникающего между атомами азота птеридина и аминогруппы с атомами серебра для нейтральной системы и атомами азота аминогруппы с атомами серебра для зараженной системы соответственно. Такие взаимодействия можно отнести к Ван-дер-Ваальсовым. Показано, что ориентация молекулы МТХ вблизи кластера серебра отражается на форме теоретических спектрах КРС. С увеличением размера кластера интенсивность спектральных полос, находящихся в диапазоне $400 - 1000\text{ см}^{-1}$ возрастала. Это выражено для кластеров с двенадцатью и шестнадцатью атомами серебра. Установлено отсутствие корреляций между изменением размера кластера и энергией адсорбции, значениями изменения энтропии и энтальпии. Была установлена зависимость между значениями размера кластера и

поляризуемостью. По результатам сравнения ГМО, установлено, что для моделей с восьмью, двенадцатью, шестнадцатью атомами серебра ВЗМО и НСМО локализуются на кластере серебра, что не позволяет осуществить перенос заряда между этими МО. Установлено, что для систем с восьмью, двенадцатью и шестнадцатью атомами серебра вероятность переходов между занятыми МО, локализованными на кластерах серебра, и свободными МО на молекуле МТХ не превышала 10%. Для систем МТХ-СОО- Ag_8 (-2) и МТХ-СОО- Ag_{12} переход не осуществляется из-за вероятности перехода меньше 1%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработаны и построены потенциальные модели взаимодействия метотрексата с поверхностью наночастицы. Определены параметры, подтверждающие реализацию химического механизма усиления ГКРС и влияющие на формирование спектра ГКРС в моделях МТХ-кластер серебра. Выявлен факт изменения спектра ГКРС в зависимости от ориентации молекулы метотрексата при ее связывании с кластером серебра; установлен факт увеличения поляризуемости системы при связывании МТХ с кластером серебра; установлено, что значения энергии адсорбции, изменение энтальпии, а также результаты анализа критических точек, LOL, ELF, NCI и IRI указывают на процесс хемосорбции МТХ на серебро и демонстрируют наличие нековалентного координационного взаимодействия; установлена возможность переноса заряда между МО в системах «МТХ-кластер серебра».
2. Выявлены пути реализации химического механизма ГКРС через взаимодействие МТХ с AgNT на основе сравнения теоретических спектров КРС с экспериментальными спектрами ГКРС, а также на основе полученных теоретических значений энергии адсорбции МТХ на кластер серебра в моделях. Установлено, что взаимодействие в моделях «МТХ-СОО- Ag_4 »/«МТХ-СОО- Ag_4 (-2)» происходит через карбоксильные группы молекулы МТХ. Показано, что такое взаимодействие вносит вклад в результирующий спектр ГКРС в виде полосы на частоте обратного сдвига на 1589 см^{-1} . Установлено, что модели связывания через карбоксильные группы являются наиболее термодинамически выгодными.
3. Установлены закономерности влияния размера кластера серебра на параметры моделей и формирование спектра ГКРС. Установлено, что с увеличением количества атомов серебра в модели увеличивается интенсивность регистрируемых частотных сдвигов в области $400\text{--}1000\text{ см}^{-1}$. Показано отсутствие корреляций между изменением размера кластера и значениями энергии адсорбции, изменением энтропии, энтальпии. Установлено, что с ростом размера кластера экспоненциально увеличивается

значение поляризуемости моделей. Показано, что для систем Ag₈, Ag₁₂, Ag₁₆ ВЗМО и НСМО локализируются на кластере серебра, что не позволяет осуществить перенос заряда между этими МО.

4. Экспериментально подтверждены полученные теоретические результаты адсорбции МТХ на поверхность AgNT путем регистрации красного сдвига в спектре поглощения смеси AgNT и МТХ на 4 нм. По данным экспериментального спектра ГКРС выявлена полоса характеристического сдвига частоты 1589 см⁻¹, подтверждающая путь связывания МТХ с AgNT через карбоксильные группы.

Список публикаций по теме диссертации

1. **Zozulya, A.** Zyubin, E. Demishkevich, I. Samusev «Experimental and DFT approaches to the physico-chemical properties of methotrexate silver clusters» // RCS New Journal Chemistry – 2026. **K1**
2. **Zozulya A.**, Zyubin A., Samusev I. A review for DFT in chemical mechanism of SERS studies //Royal Society Open Science. – 2025. – Т. 12. – №. 6. – С. 242000. **K1**
3. Demishkevich E., Stefanova S., Zyubin A., Rafalskiy V., **Zozulya A.**, Evtifeev D., Kundalevich A., Tatarinova A., Anoshin A., Lyatun I., Samusev I. SERS-based methodology for nanomolar methotrexate concentration detection for clinics //Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2025. – Т. 331. – С. 125801. **K1**

Патенты

1. Патент на изобретение РФ № RU 2 829 593 C1. Зюбин А. Ю., Зозуля А.С., Рафальский В.В., Докторова С.А., Демишкевич Е.А., Евтифеев Д.О. Планарный наноструктурированный сенсор на основе поверхностного плазмонного резонанса для определения метотрексата в плазме крови человека // Патент России № 2829593. 2024. Бюл. № 31. 2024

Тезисы конференций

1. Докторова С.А. Возможность использования метода гигантского комбинационного рассеяния света для персонализации терапии метотрексатом / С. А. Докторова, Я. Д. Белоусова, А. С. Зозуля, Д. О. Евтифеев // Клинические и теоретические аспекты современной медицины - 16 декабря 2022 г., г. Москва, - 2023. – С. 35-36.

2. Докторова С. А. Возможности персонализации терапии метотрексатом у пациентов с ревматоидным артритом с использованием метода гигантского комбинационного рассеяния света / Докторова С.А., Рафальский В.В., Демишкевич Е.А., **Зозуля А.С.**, Евтифеев Д.О., Самусев И.Г. // ХимБиоSeasons 2023, 20–22 апреля 2023 года. – г. Калининград - 2023. – С. 123.
3. **Зозуля А.С.** Физико-химические свойства плазмонных ресоров на основе нанотреугольников для регистрации микромолярных концентраций метотрексата / **Зозуля А.С.**, Демишкевич Е.А. Евтифеев Д.О., Зюбин А.Ю. //«ЛОМОНОСОВ-2025», 11-25 апреля 2025 года – г. Москва – 2025.
4. Демишкевич Е.А. Определение клинической концентрации лекарственного препарата метотрексата в сыворотке пациентов методом комбинационного рассеяния света/ Демишкевич Е.А., Зюбин А.Ю., Евтефеев Д.О., **Зозуля А.С.**, Стефанова С.А., Рафальский В.В., Самусев И.Г.// «XXXVII Симпозиум «Современная химическая физика», 15-25 Сентября 2025 года, г. Туапсе – 2025 – С. 64
5. Демишкевич Е.А. Регистрация микромолярных концентраций лекарственного препарата метотрексат в сыворотке крови человека методом гигантского комбинационного рассеяния света / Демишкевич Е.А., Зюбин А.Ю., Евтефеев Д.О., **Зозуля А.С.**, Стефанова С.А., Рафальский В.В., Самусев И.Г.// Российская конференция по комбинационному рассеянию света 8-й Сибирский семинар по комбинационному рассеянию света 22-26 сентября 2025 года, г. Красноярск – 2025 – С. 81
6. Demishkevich E. Application of SERS method for detection of methotrexate molecules in human plasma/ Demishkevich E., Zyubin A., Rafalskiy V., Doktorova S., Kundalevich A., **Zozulya A.**, Evtifeev D., Samusev I. //Plasmonics VII. – SPIE, 2023. – Т. 12774. – С. 9-11
7. Demishkevich E. A. Detection of methotrexate molecules in human plasma by SERS method/ Demishkevich E.A., Doktorova S., Zyubin A., Rafalskiy V., **Zozulya A.**, Kundalevich A., Evtifeev D., Lyatun I., Samusev I.G. //Optics in Health Care and Biomedical Optics XIV. – SPIE, 2024. – Т. 13242. – С. 146-150