

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.»

*На правах рукописи*



Захаров Александр Алексеевич

**СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНОГО  
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ,  
БИОМОЛЕКУЛ И НАНОЧАСТИЦ**

Специальность 1.3.6. – Оптика

**Диссертация**

на соискание учёной степени  
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:  
д.ф.-м.н., профессор Пластун И.Л.

Саратов 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. РАСЧЁТ ЭЛЕКТРОННОЙ СТРУКТУРЫ СИСТЕМЫ ЧАСТИЦ ПО МЕТОДАМ ТЕОРИИ ФУНКЦИОНАЛА ПЛОТНОСТИ. АНАЛИЗ ВОДОРОДНОГО СВЯЗЫВАНИЯ .....	13
1.1 Молекулярное моделирование .....	13
1.2 Общие характеристики комплексов с водородной связью.....	15
1.3 Спектральные характеристики водородной связи.....	17
1.4 Расчеты систем с водородной связью .....	21
1.4.1 Квантово-механические расчеты характеристик комплексов с водородной связью .....	22
1.4.2 Теория функционала плотности .....	23
1.4.3 Энергия связи комплекса .....	25
1.5 Выводы.....	26
ГЛАВА 2. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЛАГЕЛЛИНА С СОЛЯМИ МЕТАЛЛОВ В ХОДЕ ОБРАЗОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ СУЛЬФИДА СЕРЕБРА МЕТОДОМ БАКТЕРИАЛЬНОГО СИНТЕЗА.....	28
2.1 Наночастицы сульфида серебра и способы их получения .....	28
2.2 Объекты исследования .....	31
2.4 Выводы.....	44
ГЛАВА 3. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КАПСУЛ С МИТОКСАНТРОНОМ .....	46
3.1 Полиэлектролитные капсулы как контейнеры адресной доставки лекарств.....	46
3.2 Молекулярное моделирование .....	49
3.3 Результаты молекулярного моделирования взаимодействия митоксантрона с составными элементами полиэлектролитной капсулы	51
3.4 Выводы.....	57
ГЛАВА 4. РОЛЬ МАЛЕИМИДА В БИОКОНЬЮГИРОВАНИИ. МОДИФИКАЦИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КАПСУЛ МАЛЕИМИДОМ.....	59
4.1 Роль малеимида в биоконьюгировании.....	59

4.2 Модификация полиэлектролитных капсул малеимидом. Взаимодействие малеимида с азотсодержащими аминокислотами .....	61
4.3 Выводы.....	74
<b>ГЛАВА 5. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ КОНФОРМАЦИОННОГО ПОЛИМОРФИЗМА И ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО ОКРУЖЕНИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ .....</b>	<b>76</b>
5.1 Янтарная кислота и полиморфизм дикарбоновых кислот.....	76
5.2 Экспериментальное исследование получения модифицированной янтарной кислоты.....	80
5.3 Молекулярное моделирование и анализ конформеров янтарной кислоты.....	85
5.4 Молекулярное моделирование и анализ влияния водного окружения на изменение свойств янтарной кислоты .....	89
5.5 Выводы.....	96
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>98</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>100</b>

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность работы.**

В связи с развитием множества прикладных исследований в области биофизики, биохимии, молекулярной биологии и медицины всё большее внимание исследователей привлекает анализ межмолекулярного взаимодействия и комплексообразования на основе механизмов водородного связывания [1-6]. Являясь одним из средств выявления закономерностей образования мультикомпонентных смесей с новыми физико-химическими свойствами, имеющими большое значение для создания улучшенных модификаций лекарственных и диагностических средств, используемых в современной фармакологии, оптике живых систем и медицине, анализ спектральных характеристик и параметров образующихся в смесях водородных связей может дать убедительное обоснование многим экспериментально выявляемым закономерностям и механизмам физико-химических и биологических процессов.

Одним из ключевых методов исследования межмолекулярного взаимодействия является ИК спектроскопия [7-12], которая на протяжении многих лет остается актуальной и активно развивающейся областью научных исследований. Традиционная молекулярная спектроскопия, основанная на экспериментальных измерениях и теоретических расчётах спектров одиночных изолированных молекул, в реальных системах (газы, жидкости, растворы, твердые тела, кристаллы), где объектами исследования являются ансамбли взаимодействующих молекул, может служить только основой для построения аппроксимационных качественных моделей, поскольку фазовые переходы и взаимодействие с окружающей средой приводят к существенному изменению спектров реальных систем по сравнению с изолированными молекулами.

Исследования в области спектроскопии молекулярных ансамблей, основанных на водородном связывании, проводятся достаточно давно, с момента открытия водородных связей (см., например, обзоры и монографии

[2, 9-12] и ссылки в них). Одними из ключевых достижений в этой области являются разработка теории молекулярных спектров и спектроскопия молекулярных комплексов. Подъём интереса к межмолекулярному взаимодействию произошёл около двадцати лет назад, с появлением работ по супрамолекулярному взаимодействию [13-15] и с интенсивным развитием компьютерных технологий, в результате чего появились новые квантовохимические подходы, и в первую очередь – теория функционала плотности [16], на основе которой были разработаны расчётные методы [17,18] и программные комплексы (подробный обзор возможностей и перспектив квантовохимического моделирования дан, например, в [19]). Благодаря этому появилась возможность расчёта сложных молекулярных структур, их ИК спектров и комплексов. Недавние исследования показывают, что супрамолекулярные системы, связанные водородными связями, могут быть характеризованы в растворе при помощи ЯМР анализа. Однако, обнаружение водородных связей, особенно в сложных многокомпонентных смесях, с помощью обычных экспериментов 2D ЯМР является трудной задачей, поэтому существует необходимость в создании методик, упрощающих подобный анализ [20].

Схожие проблемы, вызванные малыми размерами объектов, возникают и при наблюдении структуры сетей водородных связей в нанокристаллах и микрокристаллах. Для решения данной проблемы авторы работы [21] предлагают метод, который комбинирует вращательную электронную дифракцию, твердотельную ядерную магнитную резонансную спектроскопию и квантовые вычисления, что упрощает идентификацию водородных связей в нанокристаллах и микрокристаллах.

В статье [22] показано кристаллическое поведение водородно-связанных молекул воды. Используя современные методы было доказано пространственное упорядочение молекул воды с водородными связями при комнатной температуре. В [23] рассматривают определение сильных водородных связей на основе экспериментальных данных для важных классов

соединений, таких как -дикетоненолы, -тиоккетоненолы, протонные губки, N-оксиды хинолина и анионы двухосновной кислоты.

На данный момент актуальной задачей является определение структуры белков. Один из таких подходов основан на использовании масс-спектрометрии, которая позволяет различать гетерогенность белков с учетом модификаций и комплексообразования [24]. Ионные жидкости — это сравнительно новый класс жидкостей, который обладает уникальными свойствами, включая высокую термическую и электрическую стабильность. В отличие от водородных связей в воде, ионные жидкости с водородными связями, такие как протонные ионные жидкости, обладают необычными свойствами, связанными со сложным взаимодействием различных электростатических, поляризационных и дисперсионных сил в объеме [25]. Динамический структурный характер фрагментов водородных связей позволяет использовать их для создания самовосстанавливающихся и перерабатываемых супрамолекулярных материалов [26]. В [27] рассматривается связь между молекулярной структурой и прочностью водородных связей, которые являются основой для супрамолекулярного дизайна. Также в работе выделяются и рассматриваются электронные эффекты, влияющие на водородные связи.

Водородные связи представляют собой сложное взаимодействие между различными энергетическими компонентами, и их природа до сих пор является предметом постоянных дискуссий. В [28] был произведен обзор некоторых видов энергетических взаимодействий, составляющих природу водородной связи. Было продемонстрировано, насколько важны эти факторы для правильного описания водородной связи, и обсуждены несколько примеров систем, энергетические и геометрические характеристики которых не охвачены простыми в использовании прогностическими моделями.

Таким образом, можно сказать, что в настоящее время существует высокая потребность в исследовании методами ИК спектроскопии и молекулярного моделирования механизмов межмолекулярного

взаимодействия и комплексообразования на основе водородного связывания в различных задачах биофизики и биохимии, имеющих большое прикладное значение в сфере медицины, фармакологии и материаловедения.

**Целью диссертации** является выявление спектральных проявлений особенностей межмолекулярного взаимодействия, основанного на водородном связывании, лекарственных препаратов, биомолекул, наночастиц и их комплексов методами ИК спектроскопии и молекулярного моделирования, а также определение степени устойчивости образующихся молекулярных комплексов с целью повышения эффективности терапии и диагностики.

Для достижения этой цели требуется выполнить следующие **основные задачи**:

1) Методами квантовохимического молекулярного моделирования с последующим анализом рассчитанных ИК спектров и параметров водородных связей исследовать механизмы комплексообразования веществ, применяемых при получении наночастиц сульфида серебра с использованием метода бактериального синтеза на основе бактерий *Bacillus subtilis 168*.

2) Оценить степень взаимодействия лекарственного препарата митоксантрон со слоями полиэлектролитных капсул адресной доставки при помощи методов молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности, включающими анализ рассчитанных ИК спектров и параметров водородных связей.

3) Методами квантовохимического молекулярного моделирования с последующим анализом рассчитанных ИК спектров и параметров водородных связей исследовать возможности малеимида как вещества, усиливающего межмолекулярное взаимодействие в белковых структурах, на примере азотсодержащих аминокислот и полиэлектролитных капсул адресной доставки.

4) Методами ИК спектроскопии и молекулярного моделирования выявить причины изменения физико-химических свойств янтарной кислоты в результате процедуры перекристаллизации.

**Научная новизна результатов диссертационного исследования** состоит как в обнаружении ранее не исследовавшихся оптических и квантовохимических свойств рассмотренных двух- и трёхкомпонентных смесей, молекулярных систем и комплексов, так и в использовании новых объектов для модельных представлений и аппроксимационных приёмов, позволяющих реализовать компьютерное моделирование многоатомных соединений:

1) Методами теории функционала плотности впервые рассчитаны равновесные геометрические конфигурации и ИК спектры молекулярных комплексов метиллизина с солями рабочего раствора - нитратом серебра  $\text{AgNO}_3$  и тиосульфатом натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , образующихся при бактериальном синтезе наночастиц сульфида серебра с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168. На основе анализа ИК спектров и параметров образующихся водородных связей установлено, что между солями металлов и метиллизином происходит достаточно сильное межмолекулярное взаимодействие. Выявлено особое влияние процесса метилизации лизина при межмолекулярном взаимодействии в составе белка флагеллина.

2) Методами теории функционала плотности впервые рассчитаны равновесные геометрические конфигурации и ИК спектры молекулярных комплексов противоопухолевого лекарственного препарата митоксантрон с веществами, входящими в состав полиэлектролитной капсулы адресной доставки, - полиаргинином и декстран сульфатом. На основе анализа ИК спектров и параметров образующихся водородных связей установлены молекулярные механизмы адресной доставки лекарственных препаратов полиэлектролитными капсулами. Выявлено, что ведущую роль в доставке лекарств играет полиаргинин, обладающий достаточно сильным уровнем взаимодействия, чтобы удерживать лекарство в капсуле. Декстран сульфат,



обладающий слабым уровнем водородного связывания, выполняет роль буферного вещества, обеспечивающего равномерное высвобождение лекарства в ходе распространения.

3) Методами теории функционала плотности впервые рассчитаны равновесные геометрические конфигурации и ИК спектры молекулярных комплексов малеимида с азотсодержащими аминокислотами. На основе анализа ИК спектров и параметров образующихся водородных связей были установлены механизмы комплексообразования малеимида с азотсодержащими аминокислотами на основе водородного связывания. Выявлена роль малеимида как вещества, усиливающего межмолекулярное взаимодействие аминокислот.

4) Методами ИК спектроскопии и молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности были выявлены квантовохимические механизмы изменения физико-химических свойств янтарной кислоты в результате процедуры перекристаллизации. Путём сравнения экспериментально измеренных и рассчитанных ИК спектров и анализа параметров образующихся водородных связей установлено влияние водного окружения на изменение физико-химических свойств янтарной кислоты в ходе её модификации.

**Методы исследования.** Решение поставленных задач производилось при помощи молекулярного моделирования на основе методов теории функционала плотности. Использовался гибридный функционал B3LYP с базисными наборами 6-31G(d), LANL2DZ. Производилось сравнение рассчитанных и экспериментально измеренных ИК спектров.

Молекулярное моделирование проводилось при помощи программного комплекса Gaussian. Все структуры молекул и молекулярных комплексов создавались с использованием программ Avogadro и GaussView.

#### **Практическая значимость:**

Полученные в диссертации результаты дают теоретическое обоснование механизмов адресной доставки противоопухолевых лекарственных

препаратов полиэлектролитными капсулами на основе полиаргинина и декстран сульфата, что приводит к возможности усовершенствования механизмов таргетной терапии. Рассмотренная в диссертации процедура модификации полиэлектролитной капсулы функциональной группой малеимида усиливает удержание капсулы в пораженной ткани до полного высвобождения лекарственного препарата и позволяет повысить эффективность лечения.

Полученные в диссертации результаты выявляют роль метилизации лизина при межмолекулярном взаимодействии в составе флагеллина в ходе бактериального синтеза наночастиц сульфида серебра с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis 168*, что даёт возможность усовершенствования механизмов бактериального синтеза наночастиц.

В ходе диссертационного исследования установлено влияние водного окружения на изменение физико-химических свойств янтарной кислоты в ходе её модификации путём перекристаллизации. Это даёт более точное понимание механизмов повышения степени растворимости и биодоступности модифицированной янтарной кислоты.

**Степень достоверности полученных результатов** обеспечивается использованием ранее апробированных во множестве исследований методов молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности, реализованных в широко применяемом программном комплексе Gaussian.

Достоверность методов исследования подтверждается качественным совпадением расчетных и экспериментальных данных для рассматриваемых молекулярных комплексов.

**На защиту выносятся следующие положения и выводы:**

1. В основе образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза при помощи бактерий *Bacillus subtilis 168* лежит межмолекулярное взаимодействие на основе водородного связывания между метиллизином, входящим в состав флагеллина, и солями рабочего раствора.

2. Ведущую роль в доставке лекарств с помощью полиэлектролитных капсул играет полиаргинин, обладающий достаточно сильным уровнем взаимодействия, чтобы удерживать митоксантрон в капсуле. Данное свойство хорошо заметно по образовавшимся многочисленным средним и сильным водородным связям в комплексе аргинина с митоксантроном.

3. Наличие малеимида приводит к усилению водородных связей между азотсодержащими аминокислотами, что может способствовать увеличению терапевтической активности капсул адресной доставки, строящихся на основе белковых структур, при их модификации малеимидом.

4. Методами ИК спектроскопии и молекулярного моделирования было выявлено, что в процессе модификации янтарной кислоты путём перекристаллизации остаются единичные молекулы воды, влияние которых способствует более сильному водородному связыванию модифицированной янтарной кислоты, что приводит к изменению физико-химических свойств, выражающемся в существенном повышении растворимости и биодоступности янтарной кислоты.

**Апробация работы.** Результаты работы докладывались и обсуждались на: международных симпозиумах и международных молодежных научных школах Saratov Fall Meeting (Саратов, 2019, 2020, 2021, 2022), International conference Advanced Carbon Nanostructures (Saint Petersburg, 2019), международной научно-технической конференции «Актуальные проблемы электронного приборостроения (АПЭП)» (Саратов, 2020), XVIII Международной конференции имени А.Ф. Терпугова «Информационные технологии и математическое моделирование» (Саратов, 2019), 27 международной конференции «Математика. Компьютер. Образование». Симпозиум «Биофизика сложных систем. Вычислительная и системная биология. Молекулярное моделирование» (Дубна, 2020), международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии» (Севастополь, 2021), VII съезде биофизиков России (Краснодар, 2023), всероссийской молодежной школе-конференции «Квантово-химические

расчеты: структура и реакционная способность органических и неорганических молекул» (Иваново, 2022), всероссийских молодежных научно-инновационных школах «Математика и математическое моделирование» (Саров, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023), всероссийских научных школах-семинарах «Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами» (Саратов, 2019, 2021, 2022), всероссийских школах-семинарах «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине» (Саратов, 2019, 2020, 2021, 2022), всероссийской научной конференции молодых ученых «Наноэлектроника, нанофотоника и нелинейная физика» (Саратов, 2021).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 27 печатных работ (из них 6 статей в изданиях из перечня ВАК РФ и изданиях, входящих в базу цитирования Scopus).

**Личный вклад автора.** Все исходные модели рассматриваемых в работе молекулярных комплексов создавались с использованием программ Avogadro и GaussView лично автором. Все процедуры расчёта молекулярных комплексов и их колебательных спектров с использованием программного комплекса Gaussian, предварительная обработка и визуализация результатов расчётов проводились лично автором.

Постановка задач, выбор программного обеспечения для молекулярного моделирования, обсуждение концепции исследования и анализ полученных результатов проводились совместно с научным руководителем.

Экспериментальные измерения ИК спектров модифицированной янтарной кислоты производились заведующим лабораторией полиморфизма и супрамолекулярных систем компании «Научный центр РТА» (Инновационный центр «Сколково») к.х.н. Яковлевым Р.Ю.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы.

# ГЛАВА 1. РАСЧЁТ ЭЛЕКТРОННОЙ СТРУКТУРЫ СИСТЕМЫ ЧАСТИЦ ПО МЕТОДАМ ТЕОРИИ ФУНКЦИОНАЛА ПЛОТНОСТИ. АНАЛИЗ ВОДОРОДНОГО СВЯЗЫВАНИЯ

## 1.1 Молекулярное моделирование

В настоящее время существует широкий спектр методов исследования структуры вещества и его взаимодействия с другими веществами, каждый из которых обладает своими достоинствами и ограничениями. Среди данных методов особое место занимает молекулярное моделирование.

Молекулярное моделирование — это метод исследования химических соединений и материалов на молекулярном уровне, используя компьютерные программы и алгоритмы. Оно играет важную роль в современном мире, ведь моделирование помогает предсказывать свойства новых материалов, прогнозировать химические реакции и разрабатывать новые лекарства и материалы.

Моделирование молекул является необходимым дополнением к экспериментальным исследованиям. В экспериментах мы можем получить данные, но не всегда понимаем, как они связаны с молекулярными процессами [24]. Моделирование позволяет объяснить экспериментальные данные, а также предсказать новые свойства и явления, которые не могут быть обнаружены экспериментально.

Существуют различные методы моделирования молекул, которые используются в зависимости от целей исследования. Например, методы квантовой механики позволяют рассчитывать энергии и структуры молекул с высокой точностью, но требуют большой вычислительной мощности [21]. Методы молекулярной динамики позволяют моделировать движение молекул во времени, что полезно для изучения реакций и термодинамики [24]. Одним из важных аспектов моделирования молекул является проверка корректности моделирования с помощью экспериментальных данных.

Моделирование должно быть валидировано и проверено на соответствие с реальными свойствами молекул. Также важно учитывать ограничения методов моделирования и понимать, что моделирование не может заменить эксперименты, но может служить дополнительным инструментом для изучения молекулярных процессов.

Квантово-химическое моделирование [19] — это одна из техник молекулярного моделирования, которая использует квантово-механические методы для расчета структуры и свойств молекул и материалов. Она является наиболее точной и надежной методикой для расчета химических свойств молекул, таких как энергия связи, оптические свойства и реакционная способность.

Роль квантовохимического моделирования в науке и технологиях огромна. В фармацевтической и косметической промышленности [29], например, оно используется для проектирования новых лекарств и косметических продуктов [30]. В электронной промышленности его применяют для разработки новых материалов для электронных устройств, таких как полупроводники и квантовые точки [31,32]. Квантовохимическое моделирование также используется в катализе и синтезе [33], где оно помогает предсказать эффективность и стабильность катализаторов, а также оптимизировать условия синтеза.

Одним из основных преимуществ квантовохимического моделирования является возможность проведения расчетов с высокой точностью и низкой стоимостью по сравнению с экспериментальными методами [34]. Кроме того, моделирование позволяет изучать процессы, которые не могут быть наблюдаемы в эксперименте, такие как механизмы реакций на уровне молекул [35].

Квантовохимическое моделирование широко используется в химии, физике, биологии и материаловедении для изучения и прогнозирования свойств молекул и материалов на основе их внутренней структуры и

взаимодействия [36]. Оно позволяет проводить расчеты на разных уровнях теории, от простых методов до высокоточных и сложных [37].

Одним из наиболее популярных программных пакетов для квантово-химического моделирования является Gaussian [38]. Этот пакет содержит множество методов расчета, от простых методов Хартри-Фока [39] до более сложных методов MP2, CCSD(T) и DFT [40]. Gaussian также позволяет проводить расчеты различных свойств молекул, таких как энергия связи, структура, спектры, реакционная способность [41] и многое другое.

Квантовохимическое моделирование также используется для изучения молекулярных процессов в живых системах, таких как белки и ДНК [42]. Это позволяет лучше понимать механизмы биологических процессов и разрабатывать новые лекарства [43].

## **1.2 Общие характеристики комплексов с водородной связью**

Большое количество работ Полинга [44] привело к широкому использованию термина «водородная связь». Он описывает слабое взаимодействие между атомами, которое менее прочно, чем ковалентная связь. Водородные связи [45] образуются между атомом водорода, уже вовлеченным в ковалентную связь, и другим атомом, присоединенным к свободному или третьему атому. Обозначается это взаимодействие как A-H...B, где A и B - определенные атомы. Обычно связь A-H является умеренно полярной и содержит атом водорода, отдающий протоны, в то время как другой атом или группа (B) принимает протоны. Атомы A и B более электроотрицательны, чем атомы водорода.

Водородные связи могут быть внутримолекулярными или межмолекулярными. В последнем случае они способны образовывать комплексы на основе водородных связей, которые могут быть свободными или располагаться в элементарной ячейке молекулярного кристалла [21].

Энергия комплексов, образованных водородной связью [25,28], варьирует в широком диапазоне - от очень слабых, которые почти не отличаются от ван-дер-ваальсовых молекул (энергия составляет доли

ккал/моль), до очень сильных [23], энергия которых достигает десятков ккал/моль и практически неотличима от обычной химической связи.

Обычно группы А-Н и В имеют заполненные электронные оболочки, поэтому причины возникновения водородных связей неочевидны. Механизм образования этих связей стал более понятным с появлением различных схем, описывающих энергию межмолекулярного взаимодействия. Например, схема Морокумы [46], предложенная в 1977 году и до сих пор актуальная, представляет энергию взаимодействия двух молекул как сумму нескольких компонентов, таких как электростатическая энергия, поляризационная энергия (вызванная поляризацией одной молекулы в присутствии другой), энергия переноса заряда и т.д. Эта схема дала понять, что электростатическая энергия и энергия переноса заряда являются основными компонентами энергии водородного связывания. Тем не менее, более подробная природа водородных связей до сих пор остается предметом обсуждения.

Можно условно разделить все водородные связи на несколько групп в зависимости от величины энергии, длины связи и относительного сдвига ИК-колебаний (таблица 1.1) [14].

Таблица 1.1. Параметры силы взаимодействия на основе водородного связывания [14]

Параметры		Водородное взаимодействие		
		сильное	среднее	слабое
Взаимодействие А-Н...В		преимущественно ковалентное	преимущественно электростатическое	электростатическое
Энергия связи, кДж/моль		60-120	16-60	<12
Длина связи, Å	Н...В	1,2-1,5	1,5-2,2	2,2-3,2
	А-Н...В	2,2-2,5	2,5-3,2	3,2-4,0
Относительный сдвиг ИК-колебаний (валентный симметричный тип, см <sup>-1</sup> ), %		>25 (от 900 см <sup>-1</sup> )	10-25 (от 100 до 900см <sup>-1</sup> )	<10 (менее 100 см <sup>-1</sup> )



Существуют корреляционные соотношения между энергией комплекса и спектральными характеристиками Н-связи, которые могут использоваться для оценки энергии комплекса. Этот подход привлекает внимание многих исследователей, поскольку он не является чрезмерно трудоемким. Например, можно рассмотреть низкочастотный сдвиг  $\Delta\nu$  полосы валентного колебания  $\nu(\text{АН})$ , который легко связать с энергией комплекса:  $\Delta H = \text{const} \cdot \Delta\nu$  [47].

Необходимо отметить, что измерение низкочастотного сдвига  $\Delta\nu$  является важным вопросом, особенно для широких полос в газовой и жидкой средах. Однако, использование корреляционной зависимости возможно только при независимом измерении энергии ряда комплексов [47]. Кроме того, наклон линейной зависимости будет отличаться для различных доноров протона, таких как FH, СН, ОН и другие. Иными словами, использование простых корреляционных соотношений для измерения энергии требует проведения отдельных экспериментов.

Максимальная степень самоассоциации наблюдается у воды, где каждая молекула формирует четыре связи, две из которых действуют как доноры протона, а две - как акцепторы. Присутствие водородных связей значительно влияет на макроскопические свойства многих веществ.

Факт существования водородных связей и их влияние на структуру и свойства веществ широко признаны. В живых организмах водородные связи играют важную роль в формировании структуры белков и двойной спирали нуклеиновых кислот. Кроме того, водородная связь существенно влияет на физические и химические свойства воды - самого важного вещества на Земле.

### **1.3 Спектральные характеристики водородной связи.**

Инфракрасная спектроскопия является основным способом изучения водородной связи. Это хорошо известно благодаря многочисленным публикациям, включая книги, посвященные водородному связыванию [48-50], обзорные статьи [51-55] и научные работы.

Одна из основных характеристик водородной связи является изменение частоты колебания протонодонорной группы. Так, частота валентных

колебаний протонодонорной группы А–Н обычно снижается при увеличении прочности внутримолекулярной или межмолекулярной водородной связи, что приводит к смещению соответствующей полосы в спектре в красную область (уменьшается). В то же время, частота деформационного колебания увеличивается, а также возникают новые низкочастотные колебания водородной связи, которые связаны с перемещением донорной и акцепторной групп относительно друг друга. Эти изменения также приводят к увеличению интенсивности и ширины полосы валентных колебаний группы А–Н [56, 57].

Если в качестве примера рассмотреть димеры карбоновых кислот, то их довольно характерным признаком будет являться наличие очень широкой и интенсивной полосы валентных колебаний связи О–Н в диапазоне 3300–2000  $\text{cm}^{-1}$ . Тонкая структура, которая наблюдается у низкочастотного края этой широкой полосы О–Н, связана с обертонами и составными частотами основных полос, которые проявляются при более низких частотах.

При образовании очень прочных водородных связей [57], частоты валентных колебаний групп -ОН и -NH, которые участвуют в формировании этих связей, заметно изменяются. Они располагаются в диапазоне 3200–3700  $\text{cm}^{-1}$  и сдвигаются в диапазон 3000–2000  $\text{cm}^{-1}$ .

Работа [58] демонстрирует, что частоты (силовые постоянные) низкочастотных колебаний полос связаны с прочностью соответствующих комплексов. Кроме того, частоты деформационных колебаний водородной связи взаимосвязаны с ее геометрией [59].

Акцептор водородной связи оказывает влияние на прочность связи и положение колебательных полос (как показано на примере колебательной частоты группы OD на Рис. 1.1). Чем слабее акцептор, то есть чем длиннее водородная связь, тем выше частота валентного колебания протонодонорной группы и наоборот [60,61].

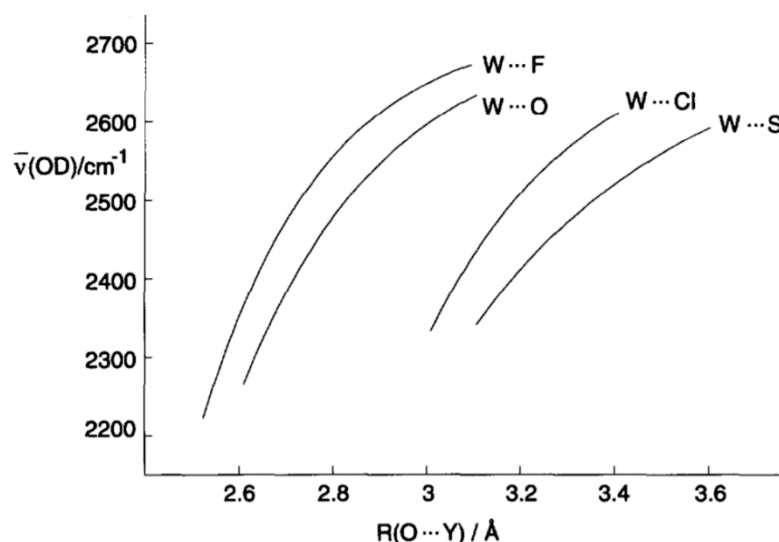


Рисунок 1.1. Связь между частотой валентных колебаний группы OD и длиной водородной связи для акцепторов протона различных типов. [61].

В исследовании, описанном в статье [62], были исследованы таутомеры карбоновых кислот, которые представляют собой водородносвязанные комплексы в равновесии с ионными парами. Было установлено, что частота продольных колебаний группы C=O зависит от наличия водородной связи, при переходе от водородносвязанного комплекса к ионной паре происходит смещение полосы поглощения в сторону более длинных волн.

ИК спектроскопия может быть использована для изучения комплексообразования и самоассоциации фосфиновых кислот. В работах [63,64] изучались самоассоциаты фосфиновых кислот при разных условиях: в газовой фазе при температурах от 400 до 650 К и в кристаллической форме при температурах от 90 до 300 К. В обоих случаях была обнаружена широкая полоса поглощения в диапазоне  $3600-900\text{ cm}^{-1}$ , которая относится к валентным колебаниям  $\nu(\text{OH})$  циклического димера с ABC-структурой. Исследователи оценили энергии водородных связей путем измерения констант равновесия димеризации и определения относительных интенсивностей полос мономеров и самоассоциатов кислоты. Для фосфиновых кислот  $(\text{CH}_2\text{Cl})_2\text{POOH}$  и  $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{POOH}$  были получены значения энергии в диапазоне от 25 до 50 kkal/mol на димер. При переходе от кристаллической формы к газовой фазе было обнаружено перераспределение интенсивности в колебательной полосе

ОН от низкочастотной области к высокочастотной, но структура полосы осталась прежней, что интерпретировалось как сохранение структуры циклических димеров как в кристалле, так и в газовой фазе.

Также необходимо отметить, что экспериментальные и теоретически рассчитанные значения частот являются одними из наиболее часто сравниваемых параметров в химических исследованиях. Большинство квантово-механических программ, включая пост-Хартри-Фока и DFT методы, могут рассчитывать частоты в гармоническом приближении. Однако, различия между экспериментальными и рассчитанными частотами обычно гораздо больше, чем различия между экспериментальными и теоретически рассчитанными значениями энергии. В частности, это связано с тем, что точность экспериментального определения частот (обычно лучше 0.1%) выше, чем точность определения энергии комплексов (10-20%), но также и с тем, что учет ангармоничности необходим при расчете частот.

Рассчитанные частоты обычно определяются в результате вычисления вторых производных потенциальной энергии в точке минимума. Как указывается в работе [65], аналитические методы могут использоваться для вычисления вторых производных как в пост-Хартри-Фока, так и в DFT методах. Интересно отметить, что некоторые исследования [66] показывают, что расчеты с бедным базисом могут давать более точные значения частот, близкие к экспериментальным. Точность расчетов повышается при увеличении базиса, однако, это может привести к увеличению расхождения между рассчитанными и экспериментальными значениями. В связи с этим, иногда проводят расчеты с более простыми базисами, чтобы сэкономить время и получить более согласованные результаты с экспериментом.

Одним из методов учета ангармонизма при расчете спектров поглощения или комбинационного рассеяния является умножение вычисленных гармонических частот на множитель, который подбирается отдельно для различных базисов. Этот подход позволяет оценить частоты

фундаментальных переходов, но не может использоваться для анализа частот обертонов, комбинационных переходов и резонансов Ферми.

Однако, при изучении комплексов с водородной связью необходимо учитывать наличие большого числа низкочастотных межмолекулярных колебаний, которые взаимодействуют с колебаниями молекул партнеров, в особенности с колебанием  $\nu(\text{АН})$ . Это взаимодействие является определяющим при формировании полос поглощения комплексов и по этой причине требует использования ангармонических расчетов.

Для расчета спектров поглощения или комбинационного рассеяния необходимо также вычислить интенсивности переходов между энергетическими уровнями, используя полученные волновые функции и функцию дипольного момента [67]. Это позволяет получить спектр поглощения или функцию поляризуемости при построении спектров комбинационного рассеяния.

Современные программы квантово-механических расчетов включают вычисление ангармонических частот и энергии нулевых колебаний с учетом ангармоничности в свои алгоритмы [37]. Однако, для расчета комплексов с водородной связью, учет только второго порядка теории может быть недостаточным. В таких случаях рассчитывают производные более высоких порядков, используя теорию возмущений более высоких порядков. При реконструкции полосы  $\nu(\text{АН})$ , переходы с уровней низкочастотных межмолекулярных колебаний на уровни с участием колебания  $\nu(\text{АН})$  рассматриваются в рамках модели, подобной модели Франка-Кондона [68] при рассмотрении электронно-колебательных переходов. Однако, для межмолекулярных мод, которые имеют большие амплитуды колебаний, вариационные методы являются более подходящими, чем теории возмущений.

#### **1.4 Расчеты систем с водородной связью**

Ранее предполагалось, что Н-связь происходит благодаря электростатическому притяжению между атомом водорода, имеющему слабый положительный заряд, и электроотрицательным атомом, который

имеет небольшой отрицательный заряд. Однако, сегодня многие исследователи склоняются к мысли, что водородная связь, особенно более или менее прочная, может быть частично ковалентной. То есть, при ее образовании происходит некоторое (незначительное) обобщение электронов водорода и второго атома, образующего связь.

В настоящее время, все более популярным становится применение неэмпирических квантовых расчетов для изучения изолированных комплексов с водородной связью, а также исследование влияния среды на свойства этих комплексов и проведение расчетов на различных системах - от простых до сложных ассоциатов.

#### **1.4.1 Квантово-механические расчеты характеристик комплексов с водородной связью**

Основными целями квантово-механических расчетов систем с водородной связью являются: построение функции потенциальной энергии комплекса на основе межмолекулярных и внутримолекулярных координат, определение глобального минимума этой функции для определения равновесной конфигурации, вычисление экспериментально измеряемых характеристик комплексов, включая энергию, структуру, дипольный момент и спектральные характеристики (ИК, КР, УФ, ЯМР). Кроме того, важным является развитие понимания природы водородной связи.

Для определения электронной структуры молекулы или комплекса используется стационарное уравнение Шредингера [19], однако точное его решение даже для простых комплексов невозможно из-за необходимости учитывать спиновые и пространственные координаты всех ядер и электронов. В связи с этим применяются различные приближения, прежде всего адиабатическое приближение [39] (приближение Борна — Оппенгеймера). При таком подходе движения электронов и ядер разделяются, и волновая функция системы выражается в виде произведения электронной и ядерной волновых функций.

Современный подход к квантово-механическим расчетам основан на использовании одноэлектронного приближения, при котором каждый электрон в системе рассматривается как квази-независимый и движется по молекулярным одноэлектронным орбиталям, описываемым своей волновой функцией.

#### **1.4.2 Теория функционала плотности**

Ранее для расчета электронной структуры молекул и материалов широко использовался метод Хартри-Фока [19]. Однако, этот метод на основе *ab initio* расчетов имеет свой недостаток - сложность применения в больших системах. С увеличением количества атомов необходимо учитывать большее число базисных функций, что приводит к увеличению времени, необходимого для расчета интегралов, и к увеличению требуемой памяти для хранения результатов расчетов. Согласно оценкам, на сегодняшний день количество атомов, которое можно рассчитать с помощью неэмпирических методов на основе модели Хартри-Фока за разумное время, составляет от 20 до 50.

Для расчета более сложных систем, необходимо применять полуэмпирические модели, которые отбрасывают некоторые интегралы или заменяют их значения на эмпирические данные, полученные из эксперимента. В настоящее время одним из наиболее распространенных методов стало применение теории функционала плотности [69] (DFT, density functional theory), которая позволяет эффективно моделировать сложные системы.

Теория функционала плотности является методом, основанным на предположении, что фундаментальные свойства систем взаимодействующих частиц могут быть описаны трехмерной скалярной функцией, такой как электронная плотность, которая содержит всю необходимую информацию об основном состоянии и спектре возбуждения [70, 71]. Кон и Хоэнберг доказали существование такого функционала для многоэлектронной системы при нулевой температуре, а Мермин распространил это доказательство на системы при произвольной температуре. Однако конкретный способ построения такого

функционала не был предложен до работы Кона и Шэма (the Kohn-Sham ansatz), который описывает практический подход к построению функционала плотности.

Теория функционала плотности отличается от метода Хартри-Фока в том, что она использует электронную плотность, функцию только пространственных координат, для систем в основном электронном состоянии, вместо использования волновых функций многих переменных. Благодаря этому подходу, было выполнено множество расчетов физических систем, основанных на построении функционала плотности.

Функция электронной плотности задается следующим образом [19]:

$$\rho(r) = N \int \dots \int |\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N)|^2 ds_1 dx_2 \dots dx_N \quad (1)$$

функция электронной плотности отражает вероятность обнаружения одного из  $N$  электронов в системе, у которых спин не определен, внутри очень маленького объема. Это происходит в случае, если остальные  $N-1$  электронов имеют определенное положение и спин, который описывается этой функцией.

Теория функционала плотности основывается на работах Томаса и Ферми [71], где полная энергия системы атомов, взаимодействующих друг с другом, описывается с помощью электронной плотности. В [72] были предложены различные модификации этой теории. Выражение для кинетической энергии электронов было получено на основе модели однородного электронного газа, где электронная плотность является постоянной, а эффекты корреляции и обменное взаимодействие не учитывались. Эта теория была применена только для расчета энергии атомов с небольшим числом электронов.

Хоэнберг и Кон [73] в 1964 году внесли значительный вклад в развитие теории функционала плотности и сформулировали две теоремы. В первой теореме говорится о том, что электронная плотность системы, в которой взаимодействуют электроны, может быть использована для определения ее внешнего потенциала. Иными словами, электронная плотность, характеризующая основное состояние системы, является определяющим



фактором для гамильтониана, который в свою очередь определяет все возможные состояния системы.

### 1.4.3 Энергия связи комплекса

Одной из важнейших характеристик комплекса является его энергия связи, обозначаемая как  $\Delta E$ . Эта энергия определяется как работа, которую необходимо совершить, чтобы развести молекулы, составляющие комплекс, до бесконечного расстояния друг от друга. Для расчета  $\Delta E$  применяются два подхода.

Первый подход к расчету энергии связи комплекса заключается в рассмотрении межмолекулярной связи как возмущения к энергии молекул, образующих комплекс. Однако основными недостатками этого подхода являются сложность учета всех взаимодействий, которые влияют на молекулы, а также трудности в разработке универсальной модели, способной описывать все типы комплексов.

Во втором подходе, который наиболее распространен, комплекс рассматривается как целостный объект, т.е. супермолекула, и вычисляется его энергия  $E^{AB}$ . Затем рассчитываются энергии молекул-партнеров по отдельности ( $E^A$  и  $E^B$ ), либо энергии невзаимодействующих молекул в системе, где молекулы находятся на расстоянии, на котором они не взаимодействуют. После этого из суммы энергий молекул (или энергий невзаимодействующих молекул) вычитается энергия комплекса, что позволяет определить энергию связи комплекса [12] (2). Основным преимуществом этого подхода является возможность более точно учитывать все взаимодействия, которые изменяют молекулы, а также использовать универсальные модели для описания различных типов комплексов.

$$-\Delta E(R, r) = E^A(r, f) + E^B(rf) - E^{AB}(R, r) \quad (2)$$

Здесь символ  $R$  обозначает координаты равновесных колебаний между молекулами (которых может быть шесть), в то время как  $r$  обозначает координаты колебаний внутри комплекса молекул, а  $rf$  обозначает координаты

колебаний в свободных молекулах. Важно отметить, что значения  $r$  и  $rf$  могут отличаться друг от друга.

Во втором подходе для расчетов применяются стандартные программы, что позволяет проводить вычисления в рамках единого подхода. Однако, во-первых, необходимо рассчитывать весь комплекс и каждую из молекул одним и тем же методом и в одном и том же базисе. Во-вторых, энергия связи комплекса значительно меньше энергии молекул-компонентов, что требует высокой точности расчетов.

### 1.5 Выводы

В современном мире существует множество методов исследования структуры вещества и его взаимодействия с другими веществами. Одним из наиболее эффективных и перспективных методов является молекулярное моделирование. Этот метод позволяет изучать химические соединения и материалы на молекулярном уровне, что играет важную роль в изучении их природы.

Существуют различные методы моделирования молекул, которые используются в зависимости от целей исследования, такие как квантовая механика и молекулярная динамика. Одним из наиболее точных методов является квантово-химическое моделирование, использующее квантово-механические методы для расчета структуры и свойств молекул. Также важно учитывать ограничения методов моделирования и проверять их на соответствие с реальными свойствами молекул.

Квантово-химическое моделирование имеет множество применений в различных отраслях промышленности, таких как фармацевтика, косметика и электроника, а также в катализе и синтезе.

Водородное связывание — это один из наиболее важных типов межмолекулярных взаимодействий, которое играет ключевую роль во многих биологических, химических и физических процессах. Это взаимодействие происходит между электроотрицательным атомом и атомом водорода, связанным с другой молекулой или той же молекулой с кратной связью.

Водородные связи обладают электростатическим характером и играют важную роль в стабильности и свойствах молекул.

Все более популярным становится применение неэмпирических квантовых расчетов для изучения изолированных комплексов с водородной связью и проведение расчетов на различных системах. Основными целями квантово-механических расчетов систем с водородной связью являются определение его равновесной конфигурации, вычисление экспериментально измеряемых характеристик комплексов и развитие понимания природы водородной связи.

Таким образом, исследование водородной связи и методы ее расчета являются актуальными задачами в научном сообществе, которые помогают углубить понимание ее природы и развить новые технологии в различных областях

## ГЛАВА 2. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЛАГЕЛЛИНА С СОЛЯМИ МЕТАЛЛОВ В ХОДЕ ОБРАЗОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ СУЛЬФИДА СЕРЕБРА МЕТОДОМ БАКТЕРИАЛЬНОГО СИНТЕЗА

### 2.1 Наночастицы сульфида серебра и способы их получения

Современные исследования в области биофизики и медицины активно направлены на использование наночастиц для диагностики и лечения различных заболеваний [74, 75]. Особый интерес представляет процесс создания наночастиц сульфидов металлов. Это связано с тем, что эти композитные наноматериалы обладают уникальными оптическими и электрическими свойствами, которые позволяют использовать их в различных областях [76]. В медицине такие наночастицы могут быть использованы в качестве биометок и точек фотолюминесценции для визуализации органов и тканей *in vivo*, а также для доставки лекарственных препаратов с точечной адресной доставкой. В наноэлектронике, оптоэлектронике и энергетике они могут служить сенсорами, датчиками, фотопроводниками и ИК-детекторами. Одним из самых распространенных и доступных материалов среди наночастиц является наноструктурированный моноклинный сульфид серебра  $Ag_2S$ .

Сульфид серебра может быть использован в медицине в виде наночастиц для доставки лекарств или как самостоятельный препарат для лечения различных заболеваний [77].

Одним из примеров использования частиц сульфида серебра является их применение в качестве антимикробного средства. Исследования показали, что частицы сульфида серебра могут убивать бактерии, грибки и вирусы, что делает их полезными для лечения инфекций, таких как грипп, гепатит и даже ВИЧ [78].

Кроме того, частицы сульфида серебра также могут быть использованы для лечения заболеваний, связанных с нервной системой, таких как болезнь

Паркинсона и болезнь Альцгеймера. Исследования показали, что частицы сульфида серебра могут проникать через гематоэнцефалический барьер и достигать мозга, где они могут препятствовать развитию нейродегенеративных заболеваний [79].

Частицы сульфида серебра также могут использоваться для лечения рака. Исследования показали, что они могут убивать опухолевые клетки и подавлять рост опухоли [80].

Подобные наночастицы с малым размером способны применяться в качестве квантовых точек [81, 82]. Данные квантовые точки могут быть использованы для визуализации органов и тканей *in vivo* [81], облегчая раннюю диагностику рака. Они также могут быть задействованы для адресной доставки лекарств [83].

Для получения наночастиц сульфида серебра существуют несколько методов, описанных ниже:

1) Метод химического осаждения. Используется для получения наночастиц сульфида серебра путем растворения серебра и сульфида натрия в растворе аммиака и смешивания двух растворов. В этом методе серебро и сульфид натрия растворяются в растворе аммиака, и оба раствора смешиваются с образованием осадка сульфида серебра, который затем промывается и сушится. [83]

2) Лазерная абляция [84]. В этом методе поверхность металла, погруженная в раствор сульфида натрия, испаряется лазерным лучом. В результате испарения образуется водяной пар, который конденсируется в наночастицы сульфида серебра.

3) Метод микроэмульсий [85] - данный метод основан на использовании эмульсии, содержащей воду, масло и эмульгатор. В раствор сульфида серебра добавляются масло и эмульгатор, после чего раствор смешивается с водой. В результате образуются наночастицы сульфида серебра, которые можно отделить центрифугированием.

4) Биосинтез наночастиц сульфида серебра из растворов серебра и сульфида натрия при помощи бактерий [86, 87]. Бактерии используют данные соединения в качестве источника питательных веществ для своего роста и размножения. В процессе метаболизма бактерии выделяют биомолекулы, такие как белки, которые могут действовать как биокатализаторы для химических реакций. Биомолекулы взаимодействуют с ионами серебра и сульфидом, образуя наночастицы сульфида серебра.

Сегодня чаще всего применяются химические методы для получения наночастиц сульфидов металлов. Однако такие методы обладают высокой стоимостью и могут представлять экологическую опасность. Кроме того, такие наночастицы имеют ограниченную совместимость с биологическими системами, что снижает их применимость. Поэтому сейчас идет активное изучение создания наночастиц с органической оболочкой, чтобы обеспечить стабильность и предотвратить их агрегацию и окисление. Биогенные наночастицы, синтезируемые в водных растворах с использованием микроорганизмов, обладают уникальным свойством - на их поверхности присутствуют белковые молекулы, структура и состав которых зависят от конкретной бактериальной культуры, используемой в процессе получения. Биосинтез наночастиц обладает рядом преимуществ перед химическими методами, таких как экологическая безопасность, биосовместимость, биodeградируемость, возможность получения наночастиц различных размеров и форм при комнатной температуре и атмосферном давлении, что делает этот процесс более экономически выгодным и масштабируемым.

Следовательно, использование бактериального биосинтеза для создания наночастиц сульфида серебра [86, 87] позволяет получить частицы с высокой степенью биосовместимости благодаря наличию белковой оболочки и их малому размеру. Это позволяет использовать их в биофизике и медицине для маркировки биологических процессов *in vivo* флуоресцентными метками и для адресной доставки лекарств.

## 2.2 Объекты исследования

В данной главе исследовалось взаимодействие между белковыми структурами и солями рабочего раствора, используемого для производства наночастиц сульфида серебра. Были изучены спектральные проявления бактериального белка флагеллина при взаимодействии с нитратом серебра  $\text{AgNO}_3$  и тиосульфатом натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , солями водного раствора. Флагеллин был выбран для исследования по нескольким причинам. Во-первых, он является единственным белком, который сорбируется на поверхности наночастиц сульфида серебра  $\text{Ag}_2\text{S}$ , как указано в исследовании [87]. Во-вторых, флагеллин играет важную роль в процессе бактериального синтеза наночастиц.

В исследовании [86] показаны ПЭМ и СЭМ изображения частиц сульфида серебра  $\text{Ag}_2\text{S}$ , полученных с использованием *Bacillus subtilis* 168. Данные изображения представлены на рисунке 2.1. В работе [87] проведено сравнение состава белковых оболочек наночастиц, синтезированных различными бактериями. Выяснилось, что наночастицы, полученные от других бактерий, либо не содержали флагеллина в своей оболочке, либо он присутствовал вместе с другими белками оболочки, при этом размер оболочки значительно меньше, чем в случае биосинтеза с помощью *Bacillus subtilis* 168, при сохранении размера наночастицы  $\text{Ag}_2\text{S}$  в 8-10 нм во всех случаях. Таким образом, из работы [87] следует, что флагеллин играет существенную роль в образовании белковой оболочки наночастиц, полученных с помощью *Bacillus subtilis* 168.

Флагеллин был впервые обнаружен в 1953 году американскими учеными Эрнестом Риндисбахером и Роджером Маклинтом [88]. Они исследовали двигательные структуры бактерий и выделили компоненты флагеллума, включая белок флагеллин. В последующие годы были проведены многочисленные исследования, направленные на изучение структуры и функций флагеллина. Было установлено, что флагеллин представляет собой

белковый компонент, образующий характерную спиральную нить в структуре флагеллума.

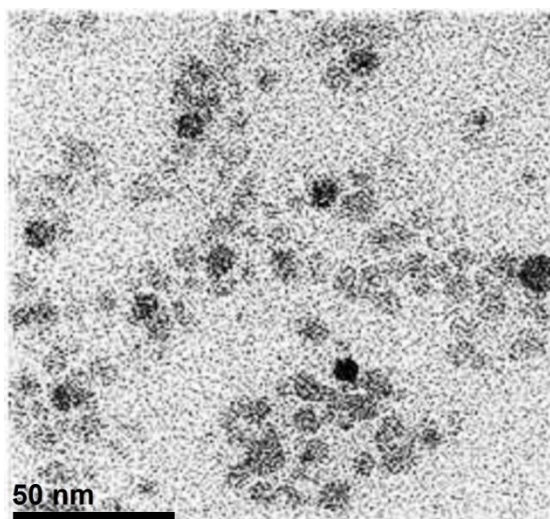
Кроме того, было обнаружено, что флагеллин является мощным иммуногеном, способным вызывать иммунный ответ у организмов, с которыми он контактирует [89]. Это свойство было использовано для разработки вакцин против некоторых бактериальных инфекций, содержащих данный белок.

Флагеллин образует жгутика бактерии [90], а также способен самоорганизовываться в полые цилиндрические структуры и действует как лиганд для *TLR5*, рецептора врожденной иммунной системы.

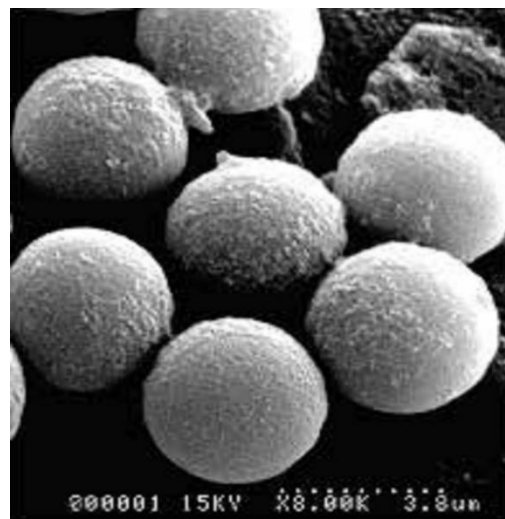
Последовательность аминокислот флагеллина продемонстрирована на рисунке 2.2а, включая метиллизин  $C_7H_{16}O_2N_2$ , нестандартную аминокислоту, которая, как отмечается в работах [90, 91], присутствует в составе флагеллина благодаря метилированию азотистых оснований ДНК при помощи специального модифицирующего фермента метилазы. Флагеллин в *Bacillus subtilis 168*, как указано в базе RCSB PDB [92], существует в комплексе с метиллазой. Дополнительные ферментативные реакции во время синтеза белков позволяют включать в состав белков нестандартные аминокислоты, такие как метиллизин, которые являются производными обычных аминокислот [90, 91].

Как указано в работе [90], процесс синтеза метиллизина происходит внутри молекулы флагеллина путем добавления метильной группы ( $-CH_3$ ) к лизину  $C_6H_{14}N_2O_2$ , замещая атом водорода. Метилированные остатки лизина располагаются на поверхности молекулы флагеллина. Возможно, биологическая значимость образования лизиновых производных заключается в повышении стойкости молекулы к воздействию внешних факторов [90].





(а)



(б)

Рисунок 2.1. Изображения наночастиц сульфида серебра  $\text{Ag}_2\text{S}$ , полученные в [86] с помощью электронной микроскопии: (а) ПЭМ-изображение с масштабной меткой 50 nm; (б) СЭМ-изображения полистирольных микросфер, модифицированных  $\text{Ag}_2\text{S}$

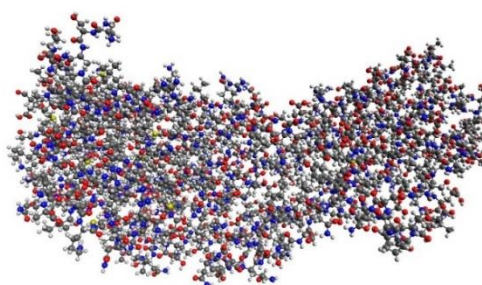
Примечательно, что метиллизин содержится в мышечном белке миозине, который играет важную роль в функционировании сократительной системы [93]. Из этого можно сделать вывод, что метиллизин способствует формированию более прочной и объемной белковой оболочки наночастиц и обеспечивает "обволакивающий" и "сгущающий" эффект, что подтверждено экспериментально [87]. Однако для подтверждения этого предположения необходимо исследовать взаимодействие метиллизина с компонентами рабочего раствора на молекулярном уровне.

Для оценки процессов формирования наночастиц и взаимодействия между компонентами был проведен анализ спектральных характеристик образующихся водородных связей, при соединении метиллизина с солями тиосульфата натрия ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) и нитрата серебра ( $\text{AgNO}_3$ ). Анализ основывался на расчетах молекулярных структур и их инфракрасных спектров. Ранее подобные численные оценки использовались для изучения взаимодействия модифицированных наноалмазов с биомолекулами и лекарственными препаратами [94], где оценивалась степень образования комплексов на основе

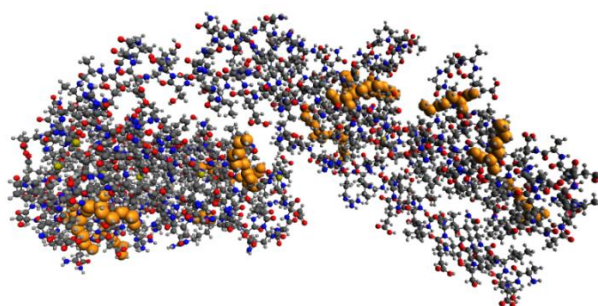
фрагментов больших молекулярных структур. Этот метод можно применить для решения других задач в науке и технике, учитывая хорошее соответствие результатов и экспериментальных данных [94].



(а)



(б)



(в)

Рисунок 2.2. Молекула флагеллина: (а) структура с метиллазой [92] (слева) и полная последовательность аминокислот [91] (справа), (б) рассчитанная молекулярная структура; (в) рассчитанная молекулярная структура с лизином, выделенным желтым

Для проведения моделирования структур и расчета спектров молекул и их комплексов в данном исследовании применялась теория функционала плотности [16] с использованием функционала *B3LYP* [18]. Для базисных

функций был выбран гауссовский тип функций в валентно-расщепленном базисном наборе. Для оптимизации геометрии молекулярных структур и расчета ИК спектров использовался базисный набор *6-31G(d)*.

Расчёты структур молекулярных комплексов с нитратом серебра  $\text{AgNO}_3$  и их ИК спектров произведены с использованием валентно-расщепленного базиса с эффективными потенциалами остова (ECP) *LANL2DZ* [95], который широко используется в квантовой химии для изучения соединений и кластеров, содержащих тяжелые элементы. Для молекулярного моделирования использовались программы *Gaussian 09* [96] и *Avogadro* [97]

Чтобы учесть ангармонизм и сократить расхождение между экспериментальными и вычисленными данными, применялись коэффициенты масштабирования для всех рассчитанных частот: 0.8742 для диапазона от 0 до  $1000 \text{ cm}^{-1}$ , 0.89 для диапазона от  $1000$  до  $2000 \text{ cm}^{-1}$  и 0.995 для частот выше  $2000 \text{ cm}^{-1}$ .

### **2.3 Расчёт и анализ ИК спектров элементов, участвующих в ходе синтеза наночастиц сульфида серебра**

В ходе исследования были выполнены расчеты структур и инфракрасных спектров следующих молекул: метиллизин, лизин, тиосульфат натрия ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) и нитрат серебра ( $\text{AgNO}_3$ ). Проанализированы спектральные характеристики молекулярных комплексов на основе метиллизина и каждой из указанных солей, а также с обеими солями одновременно.

На рисунке 2.2 показано полное изображение молекулы флагеллина из *Bacillus subtilis 168*, где выделен лизин. Рисунок 2.2а иллюстрирует структуру флагеллина с метилазой [92] и последовательность аминокислот [91], в то время как на рисунках 2.2б и 2.2в представлена рассчитанная и оптимизированная молекулярная структура флагеллина с отмеченным лизином.

На рисунках 2.3 и 2.4 приведены рассчитанные структуры и ИК спектры, а также экспериментальные ИК спектры отдельных компонентов исследуемой системы.

Рисунки 2.3 и 2.4 содержат вычисленные структуры и инфракрасные спектры, а также экспериментальные инфракрасные спектры.

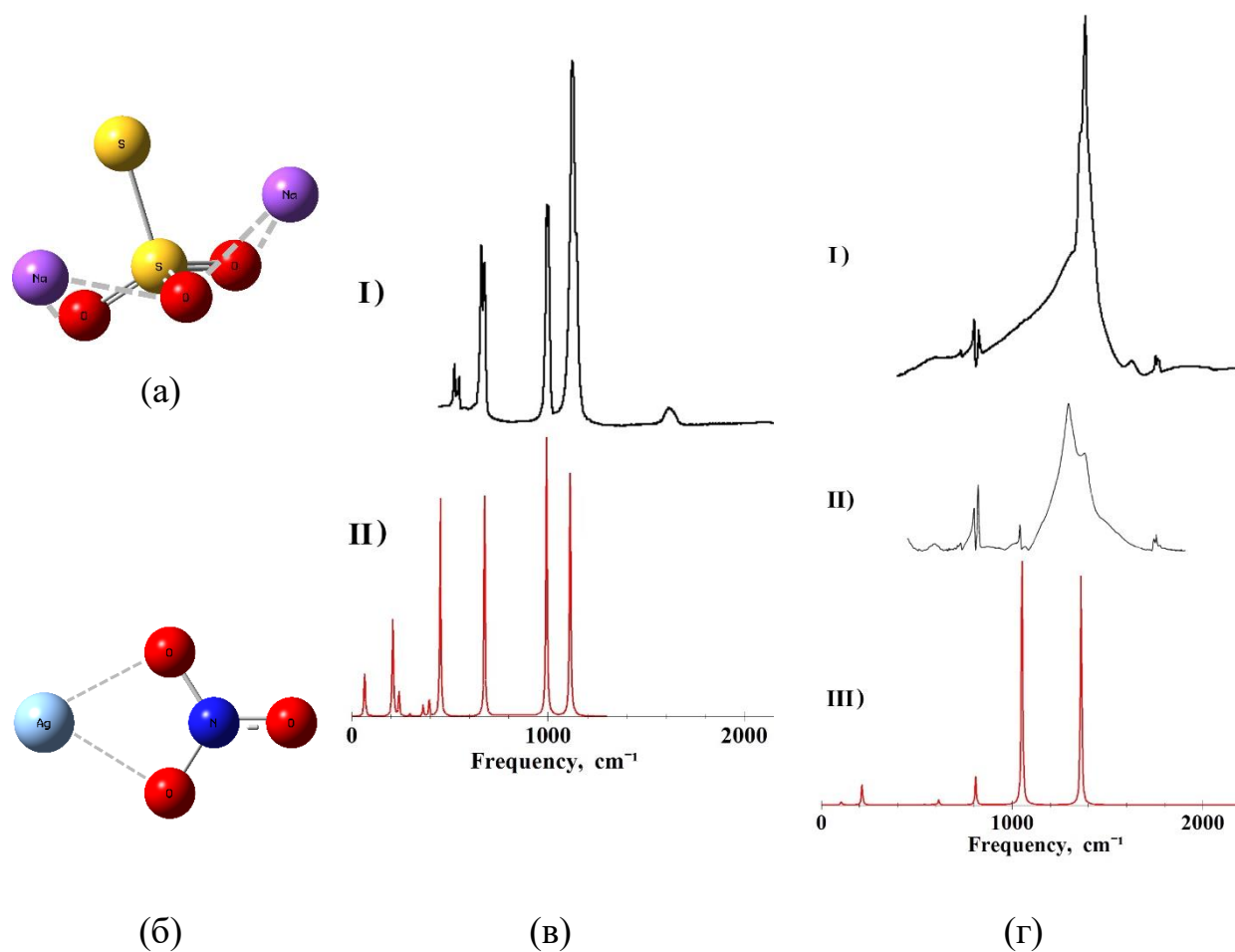
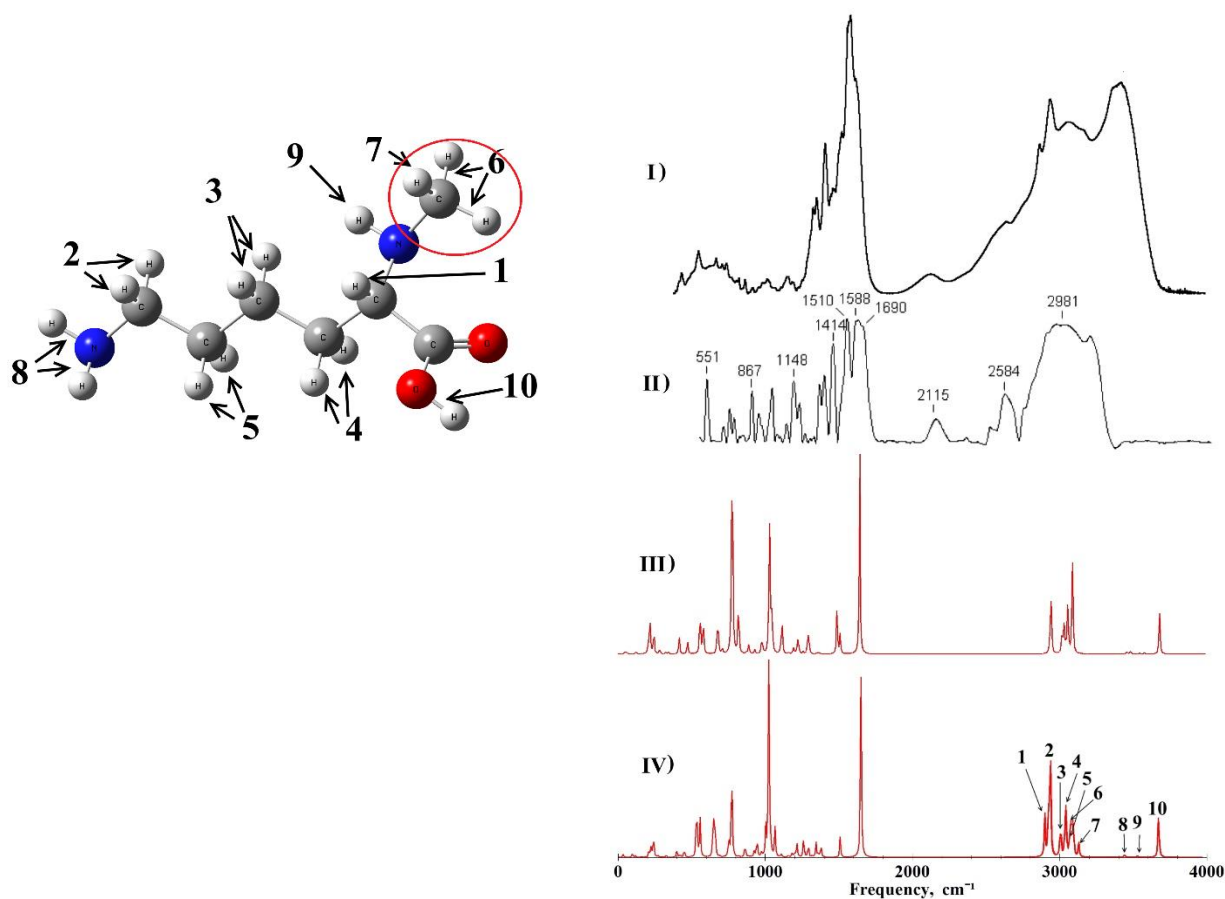


Рисунок 2.3. Рассчитанные структуры: тиосульфата натрия (а), нитрата серебра (б) и ИК спектры: тиосульфата натрия (в (I)[98] – экспериментальный, в (II) – рассчитанный), нитрата серебра (г (I)[99], (II)[100] – экспериментальные, г (III) – рассчитанный)



(a)

(б)

Рисунок 2.4. Рассчитанная структура метиллизина (а) и ИК спектры (б (III, IV)) молекул: лизина б(III), метиллизина с выделенной метильной группой -CH<sub>3</sub> (а, б (IV)) и экспериментальные ИК спектры лизина (б (I)[101], (II)[102])

ИК спектры тиосульфата натрия (рисунок 2.3в) и нитрата серебра (рисунок 3г) показывают, что спектральные полосы экспериментального и расчетного спектров соответствуют среднечастотной области ИК спектров тиосульфата натрия и нитрата серебра соответственно. В частности, частоты в диапазоне  $500-1200\text{ см}^{-1}$  для тиосульфата натрия и  $800-1600\text{ см}^{-1}$  для нитрата серебра находятся в этой области.

Так как исследование направлено на изучение характеристик взаимодействия между молекулами и образования комплексов на основе

водородных связей в смесях с несколькими компонентами, основной акцент делается на области ИК спектра, начиная с  $2000\text{ cm}^{-1}$  и выше.

В этой области спектра метиллизина можно заметить полосы (1-10 на рисунке 2.4б (IV)), соответствующие валентным колебаниям связей С-Н (1-7), N-H (8,9) и O-H (10). Частоты валентных колебаний связей составляют:  $\nu_1 = 2897\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_2 = 2937\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_3 = 3000\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_4 = 3040\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_5 = 3072\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_6 = 3080\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_7 = 3128\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_8 = 3518\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_9 = 3526\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_{10} = 3669\text{ cm}^{-1}$ . Все связи  $R_{C-H}$  имеют длину  $1.09\text{ \AA}$ , связь  $R_{O-H}$  имеет длину  $0.97\text{ \AA}$ , а связи  $R_{N-H}$  длину  $1.01\text{ \AA}$ . Полосы 1-5 соответствуют валентным колебаниям внутренних С-Н связей, которые не участвуют в процессе комплексообразования, а полосы 6 и 7 соответствуют антисимметричным и симметричным колебаниям связей С-Н метильной группы  $-CH_3$ , которая образуется в результате метилирования лизина  $C_6H_{14}N_2O_2$ . Сравнение рассчитанных ИК спектров лизина и метиллизина (рис. 2.4б (III, IV)) показывает, что присоединение метильной группы не вносит значительных изменений в расположение спектральных полос в интересующей нас области спектра, где наблюдаются только пики 6 и 7. В процессе комплексообразования наибольшую роль играют связи N-H (пики 8, 9) и O-H (пик 10), изменение спектральных полос которых отслеживается при последующем моделировании.

На рисунках 2.5, 2.6 и 2.7 представлены изображения структур и инфракрасных спектров построенных молекулярных комплексов. Оценка силы водородных связей производилась согласно классификации, описанной в [14]. Согласно этой классификации, водородные связи можно разделить на три типа: сильные (с энергией  $14.34-28.65\text{ kkal/mol}$  и длиной водородного мостика  $2.2-2.5\text{ \AA}$ ), средние (с энергией  $3.82-14.43\text{ kkal/mol}$  и длиной водородного мостика  $2.5-3.2\text{ \AA}$ ) и слабые (с энергией менее  $2.87\text{ kkal/mol}$  и длиной водородного мостика  $3.2-4.0\text{ \AA}$ ).

В таблицах 2.1-2.3 представлены следующие характеристики водородных связей: тип связи, исходная длина Н-связи ( $R$  в ангстремах), длина водородного мостика N-H $\cdots$ O или O-H $\cdots$ O,  $R_b$  (в ангстремах) (в зависимости от типа связи),

интенсивность пика спектральной линии ( $I_{IR}$ ,  $km/mol$ ), сдвиг частоты валентных колебаний Н-связей в ИК спектрах молекулярного комплекса относительно ИК спектра отдельных молекул ( $\Delta\nu$  в  $cm^{-1}$ ).

Были произведены расчёты возможных вариантов комплексообразования с метиллизином и солями. По результатам расчётов было выявлено, что для тиосульфата натрия  $Na_2S_2O_3$  и нитрата серебра  $AgNO_3$  имеются несколько возможных вариантов присоединения к метиллизину.

Структуры и ИК спектры, полученные в результате расчётов, представлены на рисунках 2.5 и 2.6. В таблицах 1 и 2 приведены параметры водородных связей для каждого варианта. Результаты расчетов показывают, что не все варианты равнозначны. В случае тиосульфата натрия  $Na_2S_2O_3$  возможны три варианта комплексообразования, из которых только два образуют водородные связи средней силы (варианты 1 и 2).

На рисунке 2.5 представлены структуры и ИК спектры двух вариантов комплексов и параметры водородных связей, приведенные в таблице 2.1. В третьем комплексе образуются слабые водородные связи. Наиболее сильной среди рассмотренных вариантов является водородная связь O-H...O (вариант 2) с частотой валентных колебаний  $\nu = 2896 cm^{-1}$  (рисунок 2.5 в, г, вариант 2).

Таблица 2.1. Рассчитанные параметры водородных связей для трёх вариантов молекулярного комплекса тиосульфат натрия-метиллизин

Номер варианта	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , $cm^{-1}$	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , $cm^{-1}$	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность $I_{IR}$ , $km/mol$
1	N-H...O	1.01	2.83	3388	138	2.96	228
2	O-H...O	0.99	2.63	2896	773	8.12	3956
3	N-H...O	1.02	3.01	3451	67	1.55	118

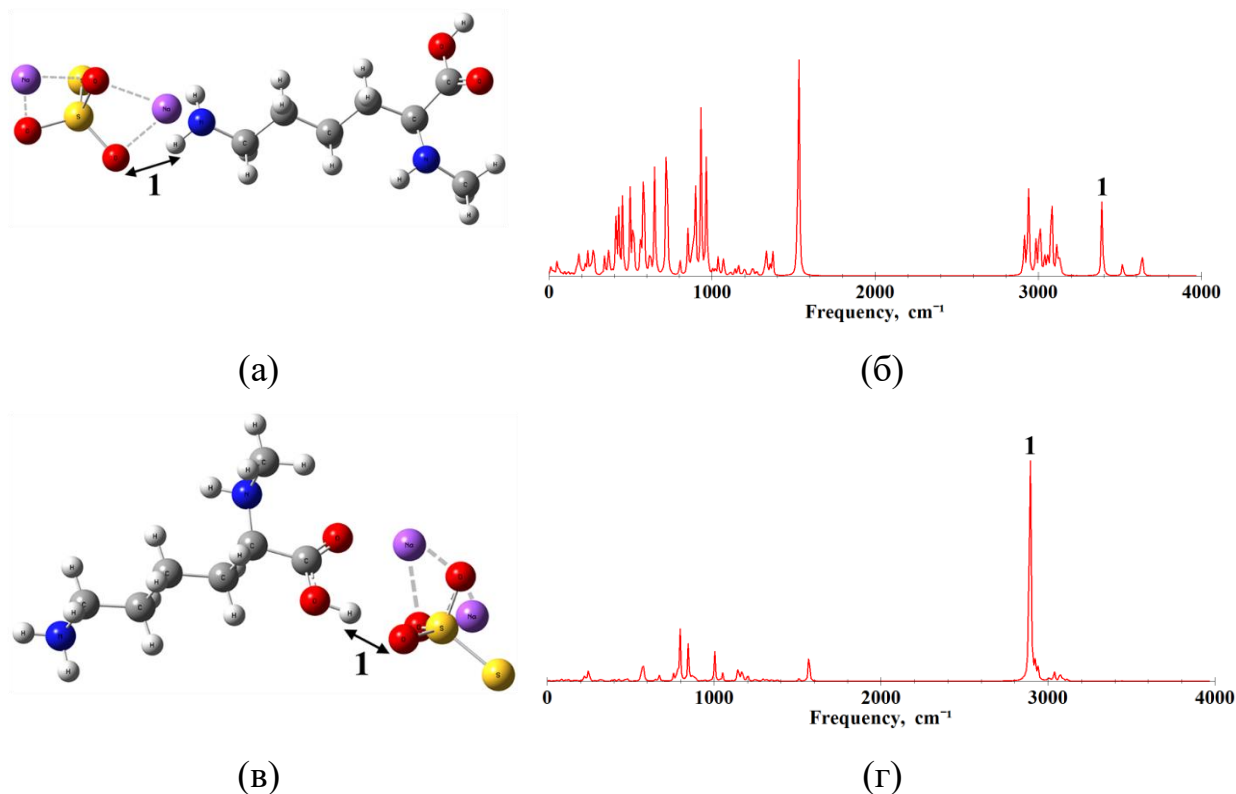
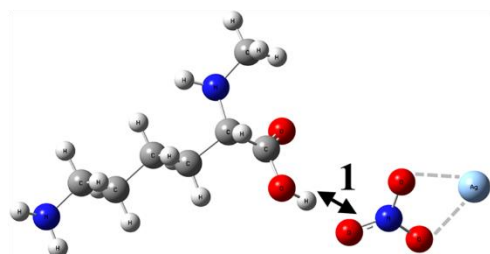


Рисунок 2.5. Рассчитанные структуры (а, в) и ИК спектры (б, г) для двух различных вариантов (1-а, б), (2-в, г) комплексообразования тиосульфата натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  с метиллизинном с обозначенными  $\text{O}\cdots\text{N}$  связями (1)

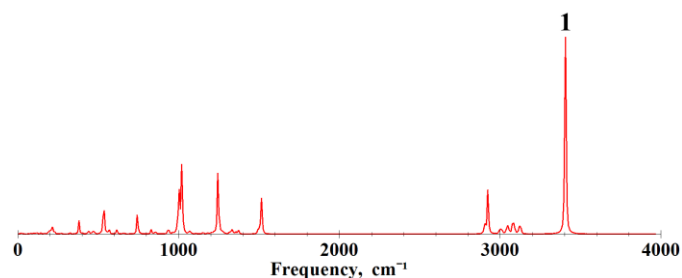
Во втором варианте комплекса (показан на рисунке 2.5 в, г) наблюдается значительный сдвиг полосы ИК спектра в высокочастотной области, что свидетельствует о образовании сильной водородной связи. Образование этой водородной связи приводит к частотному сдвигу в размере  $\Delta\nu = 773 \text{ cm}^{-1}$ , длина образовавшейся водородной связи составляет  $2.63 \text{ \AA}$ , интенсивность пика достаточно высока ( $I_{\text{IR}} = 3956 \text{ km/mol}$ ), а энергия данной водородной связи составляет  $-\Delta E = 8.12 \text{ kkal/mol}$ , что соответствует средней водородной связи, приближающейся к сильной и говорит о стабильности образовавшейся молекулярной структуры. В первом варианте комплексообразования наблюдается гораздо меньший сдвиг полос спектра, но характеристики образовавшейся связи (таблица 2.2, вариант 1) позволяют отнести её к связи средней силы.



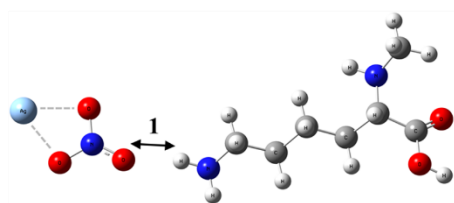
При изучении взаимодействия молекул метиллизина с нитратом серебра  $\text{AgNO}_3$  были также рассмотрены три различных способа присоединения (показаны на рисунке 2.6 и описаны в таблице 2.2).



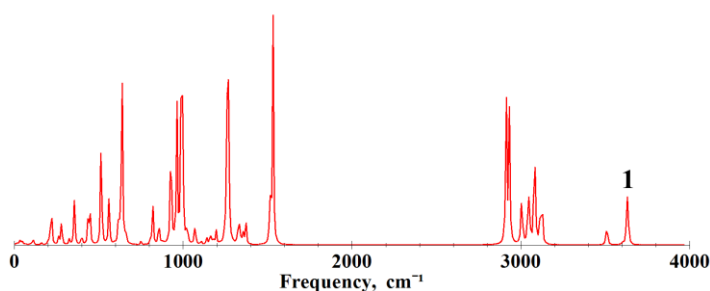
(а)



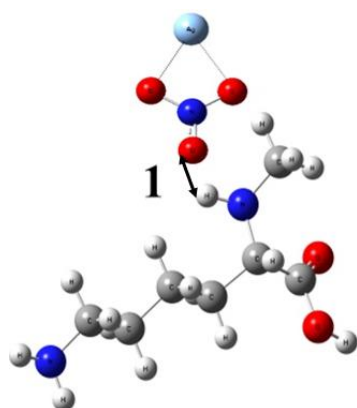
(б)



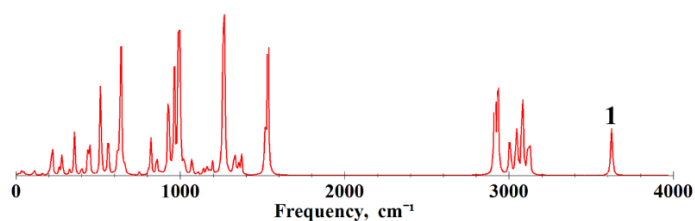
(в)



(г)



(д)



(е)

Рисунок 2.6. Рассчитанные структуры (а, в, д) и ИК спектры (б, г, е) для двух различных вариантов (1-а,б), (2-в,г) комплексообразования нитрата серебра  $\text{AgNO}_3$  с метиллизином с обозначенными  $\text{O}\cdots\text{H}$  связями (1)

Следует отметить, что наиболее сильное взаимодействие возникает при присоединении через группу О—Н (вариант 1). Образование водородной связи О-Н...О приводит к сдвигу спектральной полосы в длинноволновую область на величину  $\Delta\nu = 263 \text{ cm}^{-1}$ , а интенсивность пика составляет  $I_{IR}=1312 \text{ km/mol}$ . Энергия образовавшейся водородной связи равна  $-\Delta E = 4,37 \text{ kkal/mol}$ , что соответствует связи средней силы.

Таблица 2.2. Рассчитанные параметры водородных связей для трёх вариантов молекулярного комплекса нитрат серебра  $\text{AgNO}_3$  - метиллизин

Номер варианта	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	Энергия связи $-\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность $I_{IR}$ , km/mol
1	О-Н...О	0.99	2.79	3406	263	4.47	1312
2	N-Н...О	1.01	3.15	3630	104	2.4	49
3	N-Н...О	1.02	3.16	3603	85	2.01	49

В работах [89] и [90], посвященных биосинтезу наночастиц сульфида серебра с помощью *Bacillus subtilis 16*, использовалась смесь солей нитрата серебра и тиосульфата натрия в качестве рабочего раствора. В [90] отмечается, что биосинтез наночастиц  $\text{Ag}_2\text{S}$  проводили в 1 мМ водном растворе солей  $\text{AgNO}_3$  и  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$  в присутствии клеток бактерий в аэробных условиях. В связи с этим, в данном исследовании была исследована возможность образования молекулярного комплекса метиллизина с обеими солями одновременно.

На рисунке 2.7а,б представлен пример такого комплексообразования: структура и ИК спектр молекулярного комплекса нитрат серебра  $\text{AgNO}_3$  - метиллизин - тиосульфат натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Каждая соль образует с

метиллизином водородную связь средней силы. Параметры связей указаны в таблице 2.3.

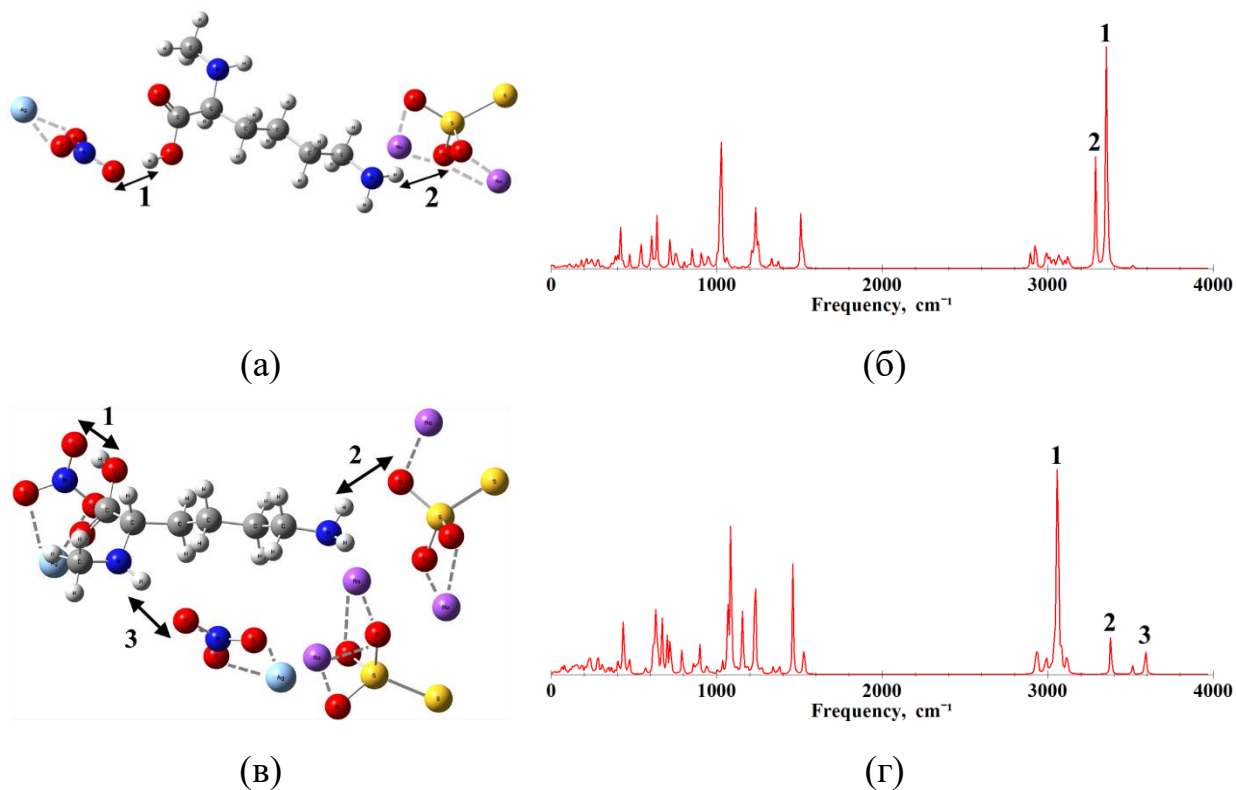


Рисунок 2.7. Рассчитанные структуры (а,в) и ИК спектры (б,г) для молекулярного комплекса метиллизина с нитратом серебра  $\text{AgNO}_3$  и тиосульфатом натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  с одиночными молекулами солей металлов(а,б) и с двумя молекулами каждой из солей металлов (в,г) с обозначенными Н- связями (1, 2, 3)

Из таблицы 2.3 можно заметить, что в первом варианте комплекса образуются водородные связи средней силы. Эти связи сопровождаются частотными сдвигами величиной  $\Delta\nu_1 = 316 \text{ cm}^{-1}$  и  $\Delta\nu_2 = 228 \text{ cm}^{-1}$ , а энергия образовавшихся водородных связей составляет  $-\Delta E = 4.98 \text{ kcal/mol}$  и  $-\Delta E = 4.11 \text{ kcal/mol}$  соответственно. Это свидетельствует о том, что молекулы трехкомпонентной смеси активно взаимодействуют друг с другом.

Таблица 2.3. Рассчитанные параметры водородных связей для двух вариантов молекулярного комплекса нитрат серебра  $\text{AgNO}_3$ - метиллизин - тиосульфат натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Номер варианта /номер связи	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность $I_{\text{IR}}$ , km/mol
1/1	O-H...O	0.99	2.77	3353	316	4.98	1265
1/2	N-H...O	1.01	3.03	3290	228	4.11	442
2/1	O-H...O	0.99	2.70	3057	612	7.17	1462
2/2	N-H...O	1.01	2.94	3380	146	3.08	172
2/3	N-H...O	1.02	3.11	3594	76	1.79	138

Также были рассчитаны структуры, ИК спектры и параметры водородных связей молекулярного комплекса, включающего в себя метиллизин, две молекулы  $\text{AgNO}_3$  и две молекулы  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Структура и ИК спектр данного комплекса представлены на рисунке 2.7 в, г. Аналогично предыдущему примеру, наиболее сильной является связь O-H...O, обнаружены частотные сдвиги  $\Delta\nu_1 = 612 \text{ cm}^{-1}$  и энергия водородной связи  $-\Delta E = 7.17 \text{ kcal/mol}$  (см. таблицу 2.3). Связи N-H...O были средней и слабой силы. Эти примеры являются лишь некоторыми из возможных трех-, четырех- и пятикомпонентных молекулярных комплексов, где сила образующихся водородных связей, как правило, является средней.

## 2.4 Выводы

Исследования методом молекулярного моделирования комплексообразования метиллизина с солями нитрата серебра  $\text{AgNO}_3$  и тиосульфата натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  показали, что возможно образование нескольких водородных связей средней силы, с энергиями от 2.96 до 8.12 kcal/mol, как при двойном, так и при тройном комплексообразовании. Это было установлено на

основе анализа изменения ИК спектров, вызванного сдвигами частот полос спектров. Также образования трехкомпонентного комплекса наблюдается резкое увеличение силы водородной связи между метиллизинном и нитратом серебра, в отличии от связей между тиосульфатом натрия и метиллизинном. Это может говорить о важной роли метиллизина в ходе образования наночастиц сульфида серебра.

Это позволяет заключить, что метиллизин способен формировать стабильные молекулярные комплексы с тиосульфатом натрия и нитратом серебра, что важно для процесса биосинтеза наночастиц сульфида серебра при участии грамположительных бактерий *Bacillus subtilis 168*. Органическая оболочка наночастиц, полученных при использовании этих бактерий, является более прочной и объемной, а размеры наночастиц составляют около  $10nm$ , что свидетельствует об эффективности синтеза наночастиц сульфида серебра с помощью *Bacillus subtilis 168*. Кроме того, стоит отметить важную роль метиллизина в межмолекулярном взаимодействии в составе флагеллина.

Результаты данной главы опубликованы в работах [164-166,176-182].

# ГЛАВА 3. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КАПСУЛ С МИТОКСАНТРОНОМ

## 3.1 Полиэлектrolитные капсулы как контейнеры адресной доставки лекарств

На ряду с частицами сульфида серебра особое внимание привлекают к себе биоразлагаемые полиэлектролитные капсулы, и хоть спектр применения данных капсул не такой широкий, но тем не менее они могут быть использованы в качестве контейнеров системы доставки диагностических и лекарственных препаратов [104-108, 113-118].

Способность улучшать растворимость и стабильность лекарственных препаратов является одним из основных преимуществ использования полиэлектролитных капсул. Полиэлектролитные капсулы представляют собой наночастицы, сформированные из полимеров с различными электрическими зарядами. Эти наночастицы широко используются для доставки лекарственных препаратов в организм, где они могут обеспечивать эффективность лечения при минимальных побочных эффектах. Капсулы, содержащие лекарственные вещества, способны легко проникать через клеточные мембраны и достигать целевых тканей, повышая тем самым эффективность лечения.

Согласно [104], направленная доставка лекарственных препаратов в контейнерах, в отличие от обычного введения, позволяет увеличить селективность действия лекарства, продлить его действие и снизить побочные эффекты. Обычно такие контейнеры создаются путем многослойной адсорбции [105] макромолекул, имеющих функциональные группы, способные к электролитической диссоциации. Это обеспечивает возможность контроля физических и химических свойств полиэлектролитных капсул [106] и расширяет их применение. Правильный выбор материала стенок полиэлектролитных капсул позволяет создавать биосовместимые и

биodeградируемые системы доставки, которые проявляют высокую эффективность как *in vitro*, так и *in vivo* [107].

Как отмечается в [104-108], в настоящее время многокомпонентные композитные капсулы, полученные методом послойной адсорбции, являются одними из наиболее популярных многофункциональных систем доставки лекарственных препаратов. В данной главе исследуются полиэлектролитные капсулы на основе полиаргинина (поликатион (+)) и декстран сульфата (полианион (-)) (рис. 3.1), которые также относятся к этому виду капсул. Использование таких капсул позволяет достигать более селективного воздействия лекарства, пролонгированного действия и снижения побочных эффектов благодаря управлению их физическими и химическими свойствами [104-106].

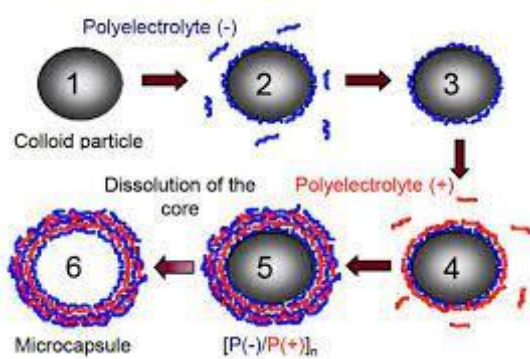


Рисунок 3.1. Схема формирования многослойной полиэлектролитной капсулы

Капсулы, полученные методом послойной адсорбции, представляют собой многофункциональные системы доставки лекарственных препаратов, которые имеют возможность варьирования скорости высвобождения лекарства и адаптации к каждому конкретному заболеванию, что позволяет снизить токсичность. Эти капсулы могут транспортировать большое количество лекарственных веществ и могут содержать флуоресцентные маркеры, что облегчает процедуры диагностики и мониторинга [108]. Кроме того, применение биodeградируемых материалов для создания оболочек

капсул позволяет обеспечить их безопасное выведение из организма. Химический состав капсул может меняться в зависимости от цели терапии [108], при этом степень токсичности определяется составом веществ капсулы. Полиаргинин, являющийся основным компонентом одной из исследуемых капсул, является полимером на основе аминокислоты аргинина [109], которая в свою очередь входит в состав альбумина [110], содержащегося в крови человека и животных [111]. В статье [112] можно ознакомиться с интерпретацией ИК и КР спектров водного раствора альбумина. Декстран сульфат представляет собой полисахарид. Благодаря этому составу капсулы на основе полиаргинина и декстран сульфата являются полностью биосовместимыми и нетоксичными. Декстран сульфат также широко используется в косметической промышленности в качестве эмульгатора, диспергатора, регенерирующего средства и стабилизатора вязкости.

В настоящее время полиэлектролитные капсулы находят все большее применение в медицине [113-116]. Исследования *in vivo* демонстрируют эффективность использования таких капсул в условиях доставки [113], а также их влияние на кровоток [114] и возможность раскрытия при помощи ультразвука [115]. Были проведены исследования, показавшие эффективность полиэлектролитных капсул в транспорте нейромидазы [113], фактора роста нервов [118] и в доставке высокотоксичных противоопухолевых препаратов [116,117], таких как доксорубицин и митоксантрон. Эти препараты широко применяются для лечения различных онкологических заболеваний и представляют значительный интерес для изучения возможностей снижения их побочных эффектов и повышения терапевтической активности.

Согласно исследованиям [118], одним из механизмов действия доксорубицина и митоксантрона является интеркаляция, при которой молекула лекарства встраивается между двумя нуклеотидами ДНК, что приводит к нарушению синтеза ДНК и гибели опухолевой клетки. Однако, при использовании этих препаратов могут возникать многочисленные и опасные побочные эффекты. Необходимо отметить, что и доксорубицин, и



митоксантрон, применяемые в лечении рака, подвержены оттоку из клеток благодаря активности АТФ-связывающих белков-переносчиков. Это приводит к возникновению резистентности опухолевых клеток к лекарству и ограничивает его клиническое применение [119]. Тем не менее, улучшение механизмов адресной доставки и удержания лекарства внутри опухолевых клеток может значительно повысить эффективность терапии, снизить негативные побочные эффекты и преодолеть химиорезистентность как для доксорубина, так и для митоксантрона.

Применение полиэлектролитных капсул с пролонгированным высвобождением лекарства в сочетании с локальной доставкой в нужную область тела может обеспечить постоянное местное воздействие на опухолевую ткань, минимизируя тем самым побочные эффекты на другие органы. Биodeградируемые материалы, использованные в оболочках капсул, позволяют эффективно очистить сосуды целевого органа в необходимый период времени.

До настоящего времени не проводились достаточно подробные исследования межмолекулярного и супрамолекулярного взаимодействия полиэлектролитных капсул с доставляемыми лекарственными веществами и биомолекулами организма, что является важной задачей. Изучение условий комплексообразования молекул лекарств с молекулами контейнеров и биомолекулами поможет определить механизмы взаимодействия и позволит более точно определить условия прохождения капсул по сосудам организма, такие как скорость и интенсивность высвобождения лекарства, время биodeградации каждого из слоев, время прохождения капсул по сосудам и другие параметры. Это позволит улучшить реализацию механизмов адресной доставки, включая регулирование количества слоев капсулы.

### **3.2 Молекулярное моделирование**

В данной главе исследуется взаимодействие митоксантрона, противоопухолевого лекарственного препарата, с полимерной

полиэлектролитной капсулой, состоящей из полиаргинина и декстран сульфата.

Структуры молекул и комплексов были рассчитаны методом теории функционала плотности (*DFT*) [16] с использованием функционала *B3LYP* и базисного набора *6-31G(d)* [18].

Для оптимизации молекулярных структур и расчёта ИК спектров использовался программный комплекс *Gaussian 09* [96]. Визуализацию молекулярных структур и создание молекулярных комплексов осуществлялось с помощью редактора и визуализатора *Avogadro* [97]. Для визуализации ИК спектров была использована авторская программа [120], строящая спектр по числовым значениям, полученным в *Gaussian 09*.

Чтобы учесть ангармонизм и сократить расхождение между экспериментальными и вычисленными данными, были применены масштабированные множители для всех рассчитанных частот: 0.98 для диапазона от 0 до  $1000\text{ cm}^{-1}$ , 0.97 для диапазона от  $1000$  до  $2000\text{ cm}^{-1}$  и 0.95 для частот свыше  $2000\text{ cm}^{-1}$ .

Из-за того, что полиаргинин содержит множество повторяющихся фрагментов, его расчет может занимать длительное время. Однако, при анализе квантово-химических механизмов взаимодействия полиаргинина, декстран сульфата и митоксантрона можно выделить лишь одну составляющую молекулы полиаргинина, которая играет основную роль во взаимодействии. Эта составляющая - аминокислота аргинин, образует водородные связи с декстран сульфатом и митоксантроном. Причина этого состоит в ограниченном количестве «точек присоединения» молекул при донорно-акцепторном взаимодействии. В связи с этим, в исследовании был применен модельный подход, основанный на рассмотрении одного повторяющегося фрагмента крупной молекулярной структуры, с целью упрощения вычислений без искажения картины взаимодействия. Ранее данный подход был использован при расчете молекулярной структуры и параметров комплексообразования митоксантрона и доксорубицина с

карбоксилированными наноалмазами [121] и показал хорошее согласие рассчитанных ИК спектров с экспериментальными результатами. В результате исследования было проанализировано межмолекулярное взаимодействие аргинина, который является основным звеном полиаргинина, с декстраном сульфатом и митоксантроном.

### 3.3 Результаты молекулярного моделирования взаимодействия митоксантрона с составными элементами полиэлектролитной капсулы

На рисунке 3.2 изображены рассчитанная структура митоксантрона и его ИК спектр, включая экспериментальный спектр, взятый из статьи [122], и рассчитанный. В митоксантроне валентные колебания связей, содержащих –NH и –OH группы, проявляются на частотах  $3597\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2б №1),  $3557\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2б №2,3),  $3573\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2б №4),  $3309\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2б №5),  $3290\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2б №6,7) и  $3311\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2б №8), что соответствует высокочастотной области спектра. В качестве активных точек потенциального образования водородных связей выступают связи с азотом N-H...O, N-H...N и кислородом O-H...O, O-H...N.

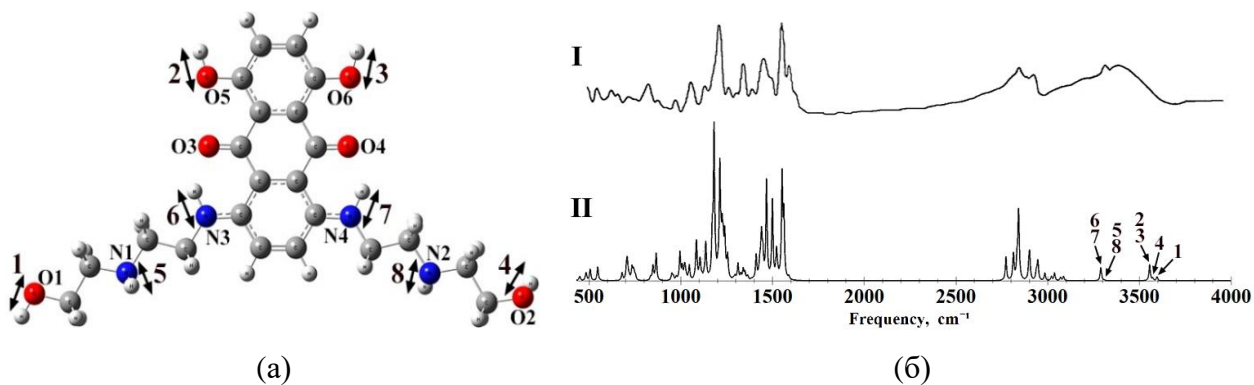


Рисунок 3.2. Рассчитанная структура (а) и ИК спектры митоксантрона (б (I) - экспериментальный [122], (II) - рассчитанный)

Рисунок 3.3 демонстрирует рассчитанную структуру аргинина и соответствующий ИК спектр, который включает экспериментальные данные, полученные из международной базы данных химических соединений и смесей PubChem [123], и расчётные данные.

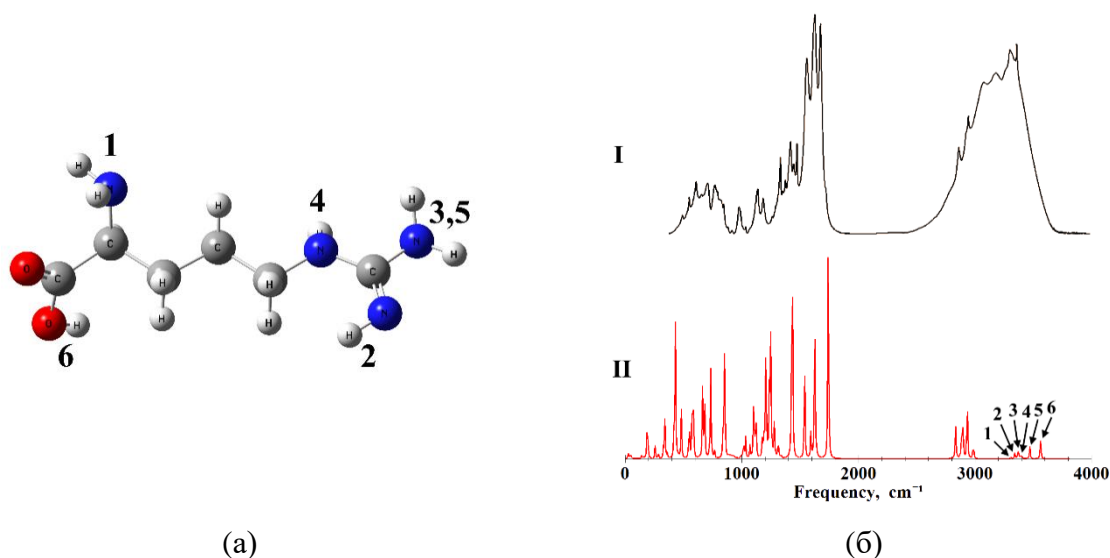


Рисунок 3.3. Рассчитанная структура (а) и ИК спектры аргинина (б (I) - рассчитанный, (II) - экспериментальный [123])

В высокочастотной области спектра аргинина на частотах  $3311\text{ cm}^{-1}$  и  $3372\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2 б №1,3 симметричные колебания),  $3342\text{ cm}^{-1}$ ,  $3403\text{ cm}^{-1}$ ,  $3563\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2 б №2,4,6 валентные колебания), и  $3472\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.2 б №5 антисимметричные колебания) наблюдаются колебания связей с участием -NH и -OH групп. Детали рассчитанной структуры аргинина и его ИК спектра представлены на рисунке 3.3. В экспериментальном спектре использованы данные из международной базы данных химических соединений и смесей PubChem [123].

Рассчитанная структура декстран сульфата и его ИК спектр (экспериментальный и рассчитанный) представлены на рисунке 3.4. Экспериментальный спектр также взят из международной базы данных химических соединений и смесей PubChem [124]. Колебания связей с участием -NH групп в декстран сульфате проявляются на частотах  $3411\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.4 б №1 симметричные колебания) и  $3502\text{ cm}^{-1}$  (рис. 3.4 б №2 антисимметричные колебания), также лежащих в высокочастотной области спектра.

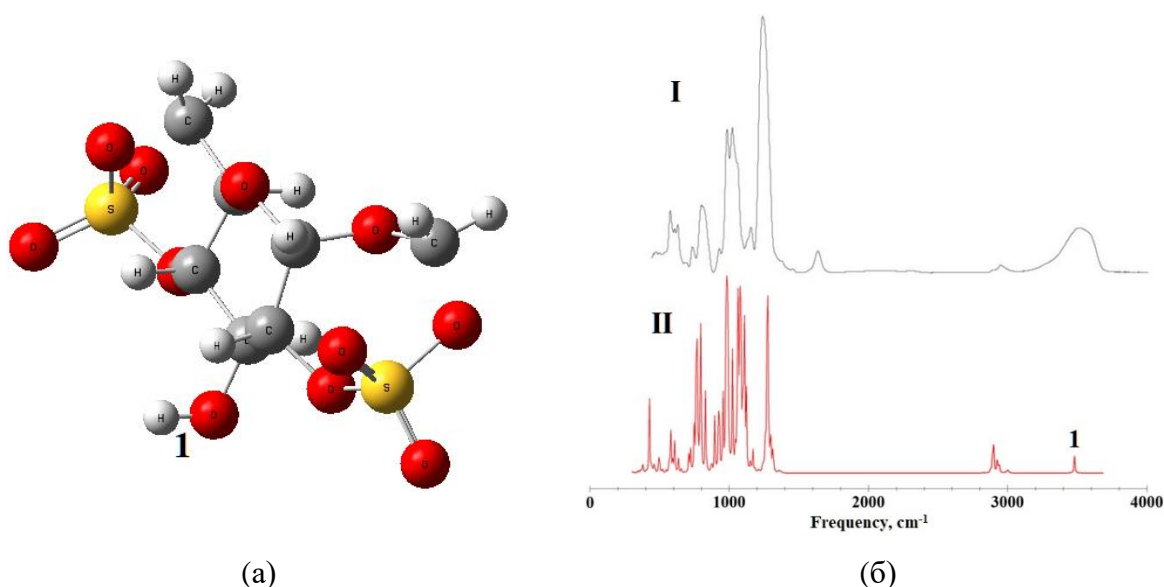
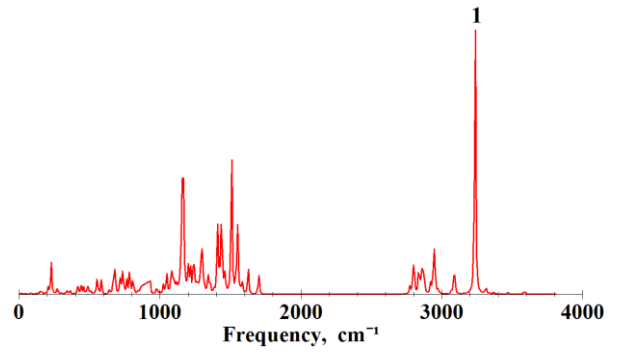
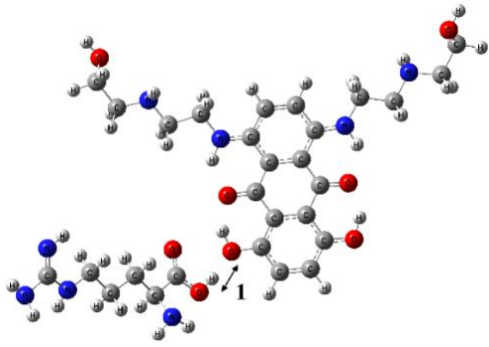


Рисунок 3.4. Рассчитанная структура (а) и ИК спектры декстран сульфата (б (I) - рассчитанный, (II) - экспериментальный [124])

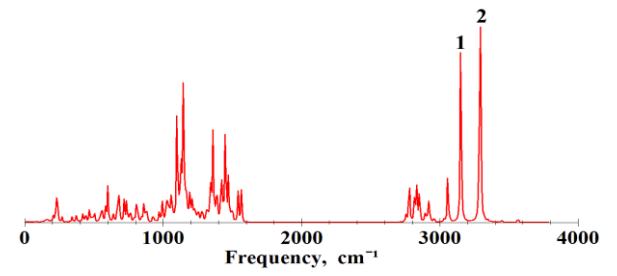
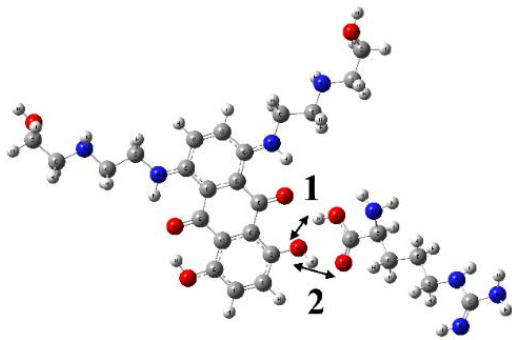
На рисунках 3.5, 3.6, 3.7 и 3.8 показаны рассчитанные структуры и ИК спектры образовавшихся молекулярных комплексов. Для оценки силы образовавшихся водородных связей использовались различные критерии, включая длину водородного мостика, сдвиг частоты валентных колебаний Н-связей в ИК спектрах молекулярного комплекса относительно ИК спектра отдельных молекул, а также энергию связи. В соответствии с классификацией, приведенной в [14], сильными водородными связями считаются связи с энергией  $14.34 - 28.65 \text{ kkal/mol}$  и длиной водородного мостика  $2.2-2.5 \text{ \AA}$ , средними связями - связи с энергией  $3.82 - 14.43 \text{ kkal/mol}$  и длиной водородного мостика  $2.5-3.2 \text{ \AA}$ , а слабыми связями - связи с энергией менее  $2.87 \text{ kkal/mol}$  и длиной водородного мостика  $3.2-4.0 \text{ \AA}$ .

Были рассмотрены различные варианты образования комплексов митоксантрона с элементами полиэлектролитной капсулы. Результаты расчетов показали, что как для аргинина, так и для декстрана сульфата существует несколько вариантов присоединения молекулы митоксантрона.

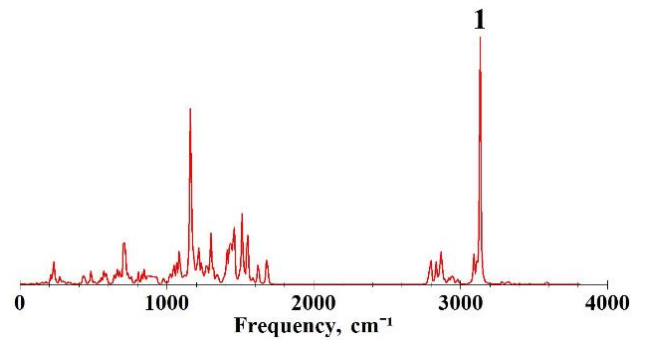
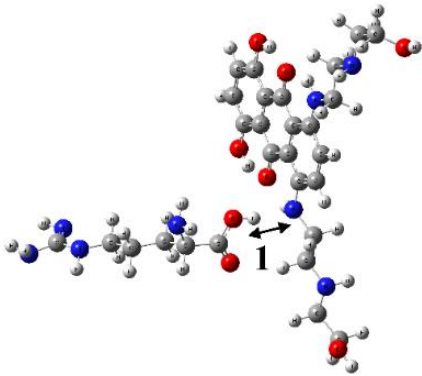
На рисунке 3.5 показаны рассчитанные структуры и ИК спектры вариантов молекулярного комплекса митоксантрон-аргинин, параметры водородных связей приведены в таблице 3.1.



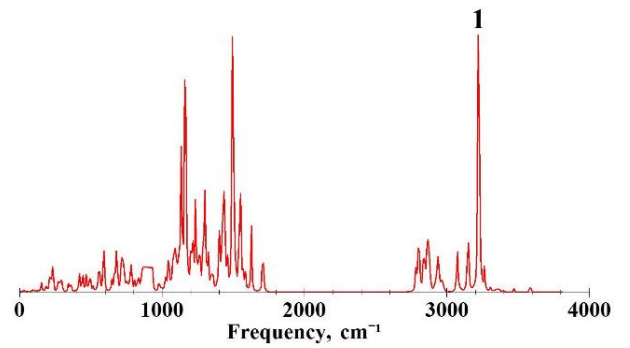
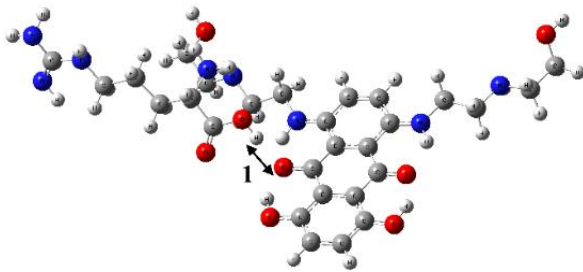
1



2



3



4

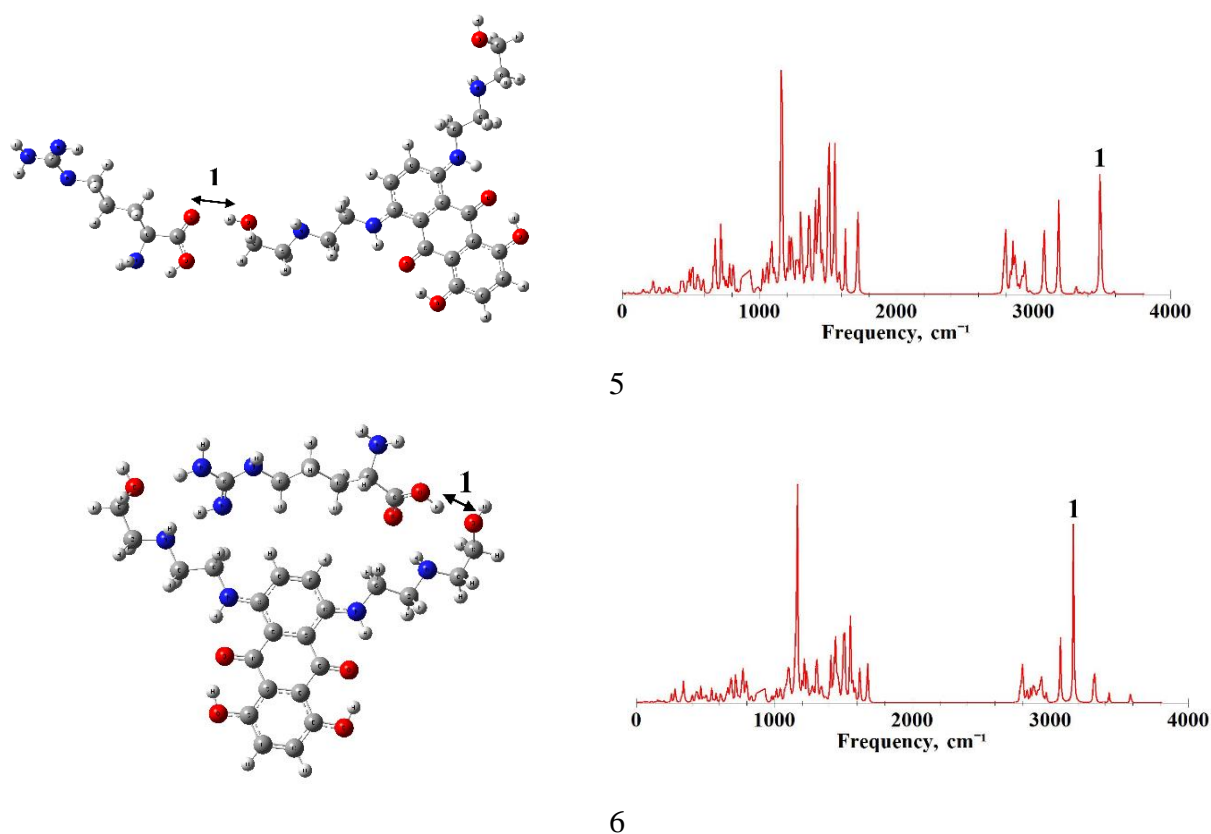


Рисунок 3.5. Структуры и ИК спектры молекулярного комплекса митоксантрон – аргинин в 6 вариантах

Таблица 3.1. Рассчитанные параметры водородных связей для шести вариантов молекулярного комплекса митоксантрон – аргинин

Номер варианта/ номер связи	Тип связи	Длина Н- связи R, Å	Длина водородн ого мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота ν, cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг Δν, cm <sup>-1</sup>	Энергия связи -ΔE, kcal/mol	Интенсивн ость I <sub>IR</sub> , km/mol
1\1	O-H...O	1.76	2.75	3238	325	5.06	2328
2\1	O-H...O	1.93	2.78	3150	413	5.79	1452
2\2	O-H...O	1.80	2.63	3295	262	4.46	2035
3\1	O-H...N	1.90	2.89	3135	428	5.90	1827
4\1	O-H...O	1.79	2.77	3221	342	5.21	1623
5\1	O-H...O	1.94	2.92	3488	109	2.49	732
6\1	O-H...O	1.78	2.75	3075	488	6.34	1173

Из шести возможных вариантов образования комплексов митоксантрона с аргинином, большинство вариантов приводили к образованию средних

водородных связей и близким к сильным что указывает на явное супрамолекулярное взаимодействие аргинина с митоксантроном.

На рисунке 3.6 и в таблице 3.2 продемонстрированы соответствующие структуры и параметры водородных связей для вариантов комплексообразования митоксантрона с декстран сульфатом.

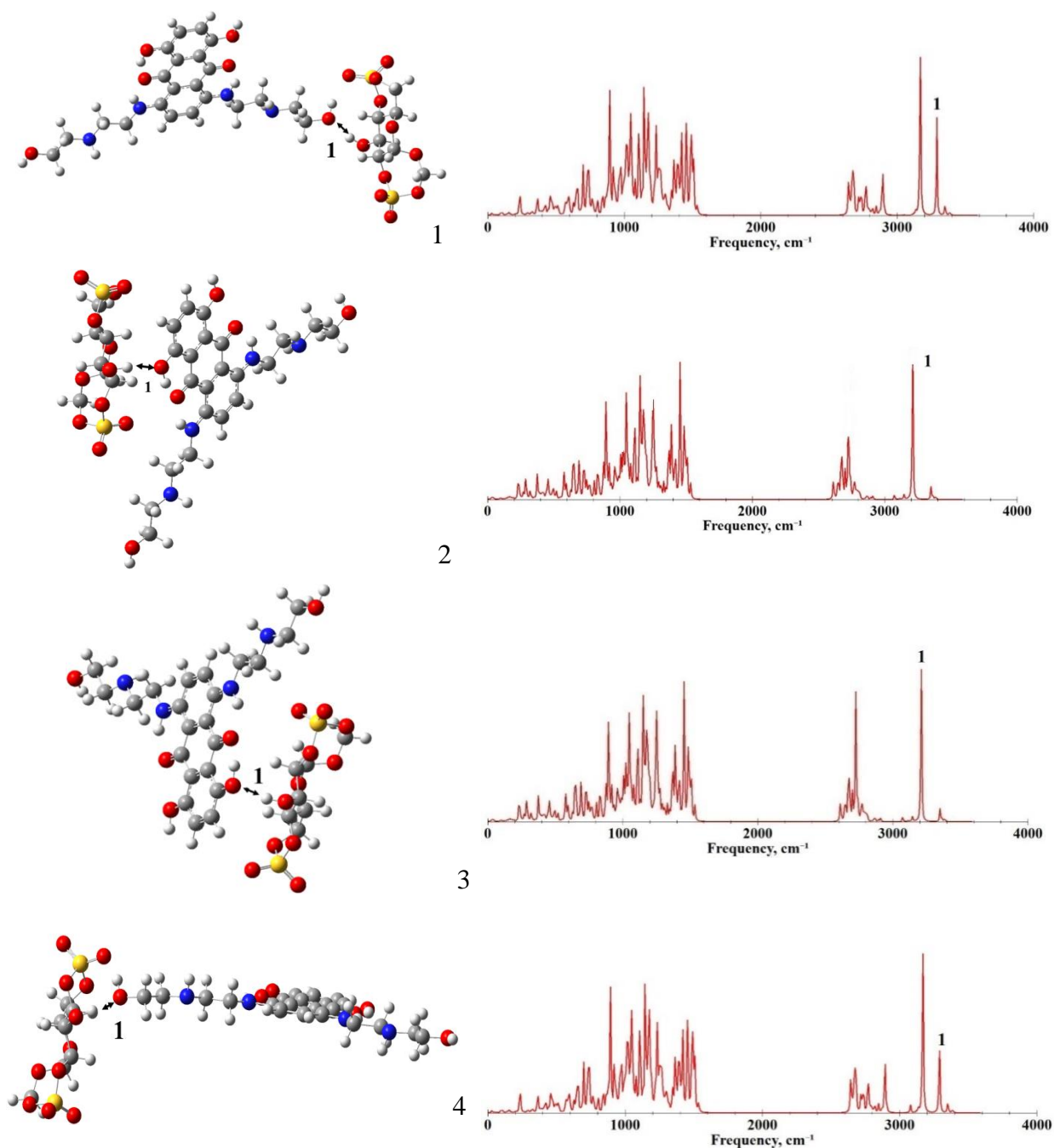


Рисунок 3.6. Структуры и ИК спектры молекулярного комплекса митоксантрон – декстран сульфат в 4 вариантах



Таблица 3.2. Рассчитанные параметры водородных связей для четырех вариантов молекулярного комплекса митоксантрон – декстран сульфат

Номер варианта	Тип связи	Длина Н- связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , см <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , см <sup>-1</sup>	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
1	O-H...O	1,94	2,92	3197	152	3,18	552
2	O-H...O	1,98	2,96	3204	145	3,07	586
3	O-H...O	1,98	2,96	3210	139	2,98	602
4	O-H...O	1,86	2,84	3170	179	3,54	663

В молекулярном комплексе митоксантрон - декстран сульфат наблюдается смещение полос в высокочастотной области ИК спектров, что свидетельствует о формировании водородных связей. Образующиеся водородные связи в основном являются средними, приближенными к слабым.

Полученные результаты указывают на то, что при взаимодействии митоксантрона с веществами, составляющими капсулу-носитель, с одной стороны, наблюдается сильное комплексообразование с аргинином (таблица 3.1), что способствует удержанию лекарственного препарата внутри капсулы. С другой стороны, взаимодействие митоксантрона с декстран сульфатом является слабым (таблица 3.2), что может привести к быстрому высвобождению лекарства при биодegradации полиаргининового слоя.

### 3.4 Выводы

Исследования, проведенные с использованием молекулярного моделирования на основе методов теории функционала плотности, позволяют сделать вывод о том, что полиаргинин играет важную роль в доставке митоксантрона при помощи полимерной капсулы.

Были проведены расчеты и исследованы различные варианты формирования молекулярных комплексов противоопухолевого препарата митоксантрон с веществами полиэлектролитной капсулы - носителя, содержащей полиаргинин и декстран сульфат.

Полиаргинин и митоксантрон образуют достаточно сильные водородные связи, что позволит удерживать митоксантрон внутри капсулы.

С другой стороны, декстран сульфат образует преимущественно слабые водородные связи как с митоксантроном. Это может объясняться тем, что декстран сульфат выполняет буферную функцию и не является активным участником доставки лекарства.

Таким образом, полиаргинин играет важную роль в доставке митоксантрона при помощи полимерной капсулы, образуя сильные связи с митоксантроном, а декстран сульфат обеспечивает буферную функцию и постепенное освобождение лекарства из капсулы в ходе распространения и растворения капсулы - носителя. Эти результаты могут иметь важное значение для разработки новых методов доставки лекарственных препаратов и улучшения их эффективности.

Результаты данной главы опубликованы в работах [167, 183, 189].

## **ГЛАВА 4. РОЛЬ МАЛЕИМИДА В БИОКОНЬЮГИРОВАНИИ. МОДИФИКАЦИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КАПСУЛ МАЛЕИМИДОМ.**

### **4.1 Роль малеимида в биоконъюгировании**

Малеимид — это функциональная группа, содержащая двойную связь, и малый аминокцикл, которая может быть использована в биоконъюгации [125, 126] и одномолекулярном секвенировании ДНК [127-129].

Малеимид, являясь функциональной группой широко применяется в химической модификации лекарственных препаратов для создания конъюгатов или изменения их свойств. Он может реагировать с амино- или сульфгидрильными группами на белках, антителах, ферментах и других молекулах в организме, образуя стабильные конъюгаты. Эти конъюгаты могут быть использованы для доставки лекарственных препаратов к определенным местам в организме или для увеличения их стабильности и продолжительности действия [126, 130].

Малеимид также используется для введения различных маркеров или светящихся групп в лекарственные препараты для мониторинга их действия в организме [131].

Благодаря возможности протекания реакции тиол-малеимид при физиологических условиях, полимерные материалы, нанокапсулы и липосомы, модифицированные функциональными группами малеимида, показывают высокую способность к адгезии к слизистым тканям [132-134].

Простая и быстрая реакция между тиолом и малеимидом с образованием тиосукцинимидного продукта в настоящее время является одним из самых популярных методов сайт-селективной модификации остатков цистеина в технологии биоконъюгации [126, 135]. Хотя тиоэфирная связь, образующаяся между сульфгидрильной и малеимидной группой медленно обратима при определенных условиях, сама малеимидная часть относительно устойчива к

деградации [126], что позволяет легко работать с малеимидом для получения желаемых конъюгатов.

Примером применения малеимида в биоконъюгировании может служить его использование для функционализации белков внутри клетки [136]. Этот метод основан на использовании наночастиц золота, модифицированных малеимидом, которые могут быть введены в клетки с помощью электропорации [137]. Затем малеимид-модифицированные белки могут быть конъюгированы с наночастицами золота, что позволяет визуализировать и изучать их функции внутри клетки.

Малеимид также используют для функционализации антител [137]. В этом случае малеимид связывают с карбодиимидами, которые в свою очередь могут быть использованы для конъюгирования аминовых групп антител с молекулами-маркерами или другими белками.

Еще одним примером использования малеимида в биоконъюгировании является функционализация ферментов для их использования в биотехнологических процессах [138]. В этом случае малеимид может быть использован для связывания ферментов с молекулами-носителями, такими как наночастицы или полимеры. Это позволяет улучшить стабильность и активность ферментов в биотехнологических процессах.

Также малеимид может быть использован для конъюгирования белков с различными молекулами-маркерами, такими как флуорофоры или радиоактивные метки, для визуализации и количественного анализа белков в различных биологических системах [139].

Существует также множество других методов биоконъюгирования с использованием малеимида, включая функционализацию белков для создания белковых микрочастиц, создание иммуносенсоров, конъюгирование белков с нанотрубками [140].

Исследования, описанные в статьях [132] и [139], подтверждают потенциал малеимида как инструмента для создания новых платформ доставки лекарств. Наногели, функционализированные малеимидом имеют

высокие мукоадгезивные свойства на ткани конъюнктивы *ex vivo* [133]. Аналогично, липосомы с малеимидными группами демонстрировали лучшее удержание *in vitro* на ткани мочевого пузыря, благодаря их способности образовывать связи с тиолами, присутствующими в слизистой ткани [132]. Эти результаты указывают на потенциал малеимида для создания более эффективных лекарственных препаратов.

#### **4.2 Модификация полиэлектролитных капсул малеимидом.**

##### **Взаимодействие малеимида с азотсодержащими аминокислотами**

В предыдущей главе было отмечено, что особое внимание уделяется биоразлагаемым и биосовместимым материалам, таким как полиэлектролитные капсулы [104-108]. Эти материалы могут использоваться в качестве контейнеров для доставки диагностических и лекарственных препаратов [104-108, 113-118].

Важно отметить, что способность удерживать капсулу или везикулу для контролируемого высвобождения препарата играет важную роль в доставке лекарственных препаратов. Один из способов достижения этой задачи — это модификация наноконтейнеров малеимидом.

В процессе исследования были проведены расчеты структур и получены ИК спектры молекул малеимида (см. рисунок 4.1), аргинина и декстранасульфата.

Также были получены молекулярные комплексы малеимид-аргинин и малеимид-декстран сульфат, и были проанализированы спектральные проявления образующихся водородных связей.

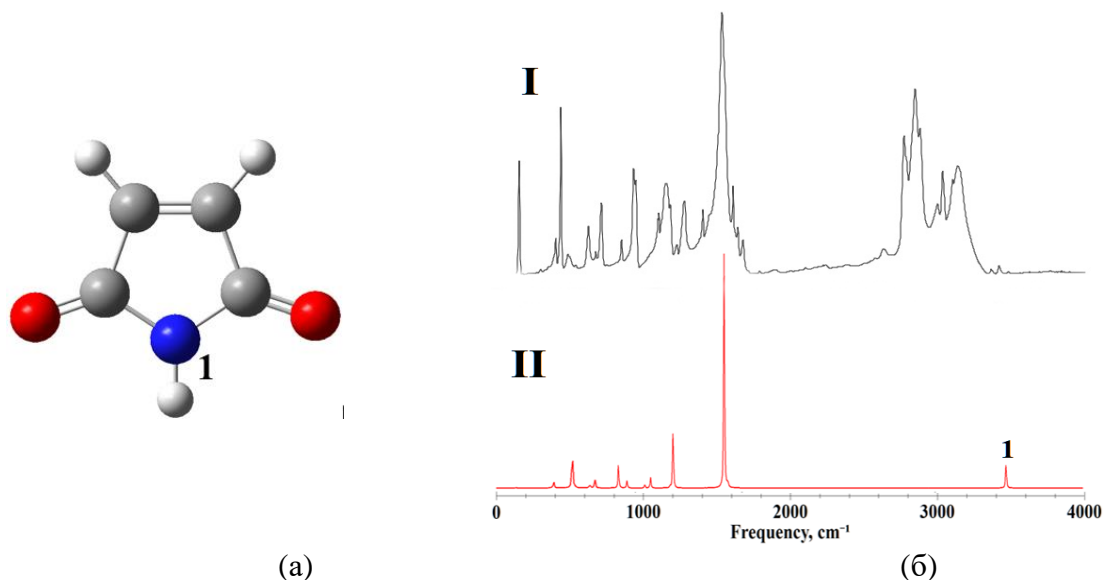


Рисунок. 4.1. Рассчитанная структура (а) и ИК спектры малеимида (б) (I - экспериментальный [141], II – рассчитанный)

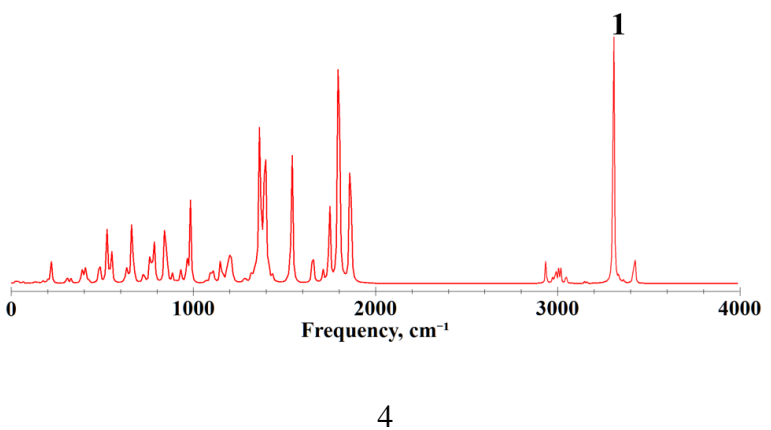
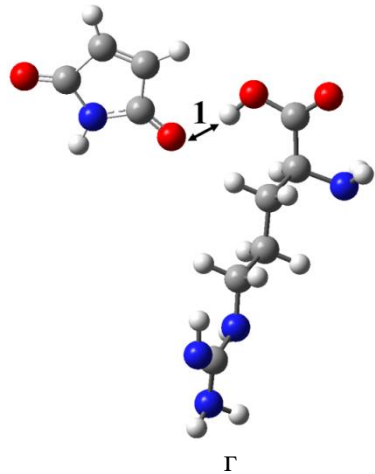
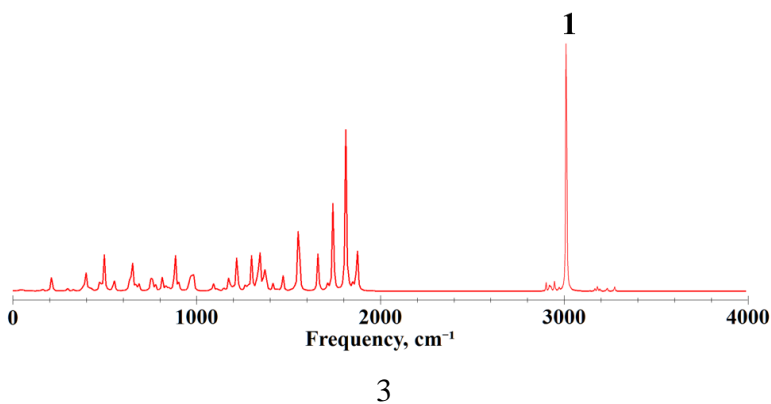
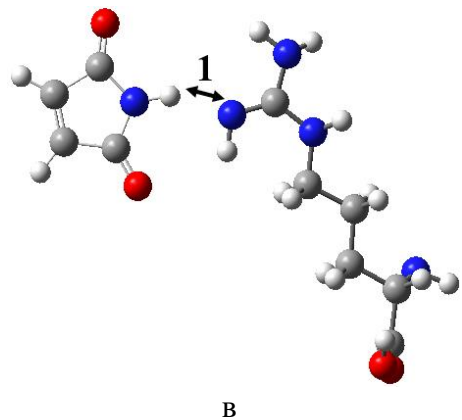
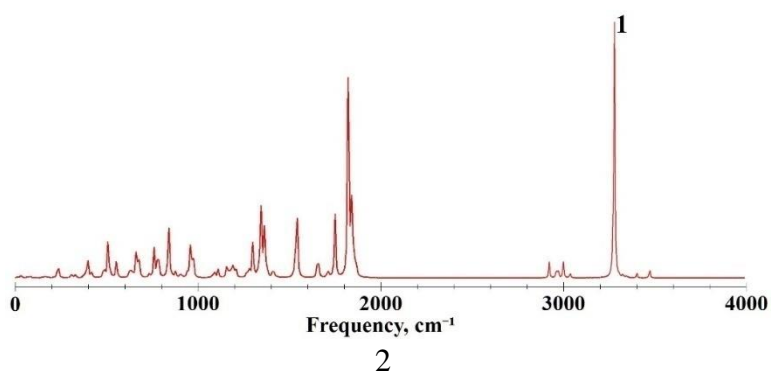
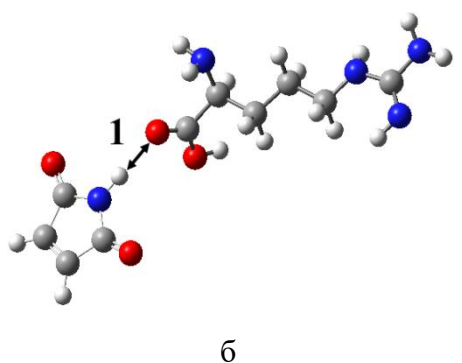
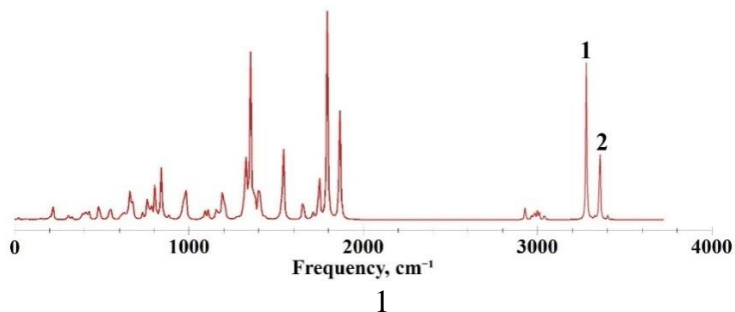
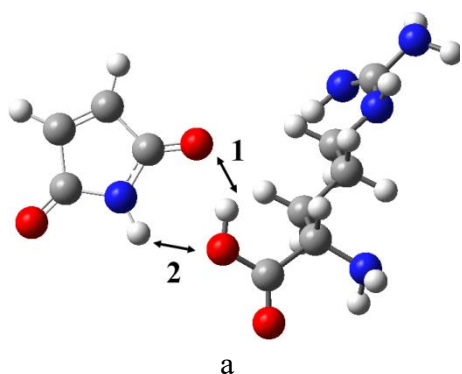
Рассмотрим взаимодействие между слоями полиэлектролитной капсулы, состоящей из полиаргинина и декстрана сульфата, с малеимидом.

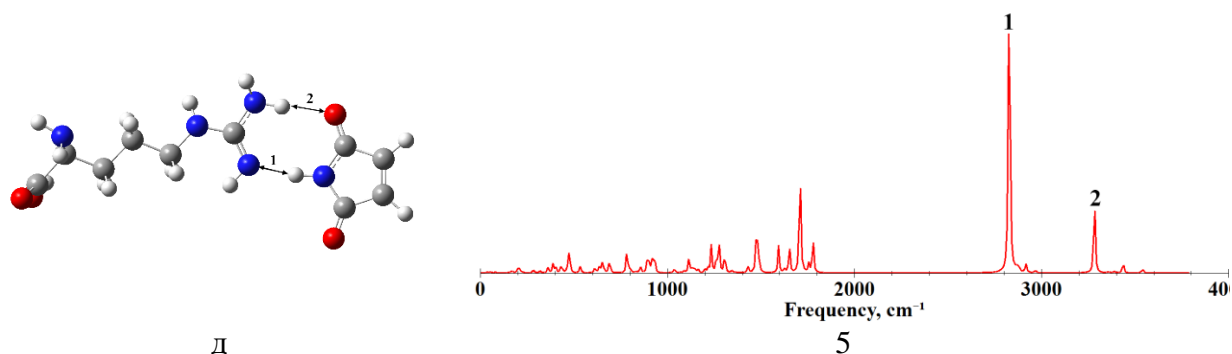
Для того чтобы изучить влияние малеимида на взаимодействие между молекулами, было проведено численное моделирование комплексообразования аргинина и декстрана сульфата с малеимидом, а также вычислены параметры образующихся связей (см. таблицы 4.1 и 4.2). Результаты моделирования представлены на рисунках 4.2 и 4.3.

Далее рассмотрим несколько вариантов соединения малеимида с веществами, составляющими полиэлектролитную капсулу. В случае с аргинином существует пять возможных варианта соединения: 1) соединение через группу -ОН аргинина с образованием двух связей с группами -NH и C=O малеимида, 2) соединение через группу -COOH аргинина и -NH группу малеимида, 3) соединение через -NH группу малеимида и аргинина, 4) соединение через группу -ОН аргинина и C=O малеимида, 5) соединение через группы -NH аргинина и малеимида, а также соединение через -NH<sub>2</sub> группу аргинина и C=O малеимида.

На рисунке 4.2 представлены структуры и соответствующие им ИК-спектры для всех возможных вариантов присоединения малеимида к

аргинину. В таблице 4.1 приведены параметры образовавшихся водородных связей.





д  
Рисунок 4.2. 6 вариантов рассчитанных структур (а, б, в, г, д) и соответствующих им ИК спектров молекулярного комплекса малеимид-аргинин (1, 2, 3, 4, 5)

Таблица 4.1. Рассчитанные параметры водородных связей молекулярного комплекса аргинин-малеимид

Номер варианта	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
1	O-H...O	1.84	2.83	3300	263	4.48	540
	N-H...O	2.17	3.19	3369	80	1.9	328
2	N-H...O	1.94	2.96	3268	181	3.56	996
3	N-H...N	1.86	2.89	3027	422	5.86	1797
4	O-H...O	1.83	2.82	3331	232	4.16	804
5	N-H...N	1.80	2.85	2829	620	7.2	2193
	N-H...O	2.01	3.03	3284	64	1.5	542

В результате первого варианта присоединения образуется две водородные связи, которые приводят к смещениям частот полос в  $263 \text{ cm}^{-1}$  и  $80 \text{ cm}^{-1}$  с интенсивностями  $540$  и  $328 \text{ km/mol}$  соответственно. Согласно классификации [14], эти водородные связи имеют среднюю и слабую силу.



Во втором и четвертом вариантах также возникают водородные связи средней силы, в то время как в третьем и пятом вариантах образуются более сильные водородная связь. Эти связи приводят к частотному сдвигу в  $422\text{ cm}^{-1}$ , и  $620\text{ cm}^{-1}$  соответственно. Из этого можно сделать вывод, что аргинин сильно взаимодействует с малеимидом и образует устойчивые молекулярные комплексы.

Рассмотрим возможные варианты образования комплекса между малеимидом и декстраном сульфатом. Результаты расчётов показали наличие двух вариантов присоединения: первый - через -ОН группу декстран сульфата и группу C=O малеимида, второй - через -ОН группу декстран сульфата и -NH малеимида (см. рисунок 4.3 и таблицу 4.2).

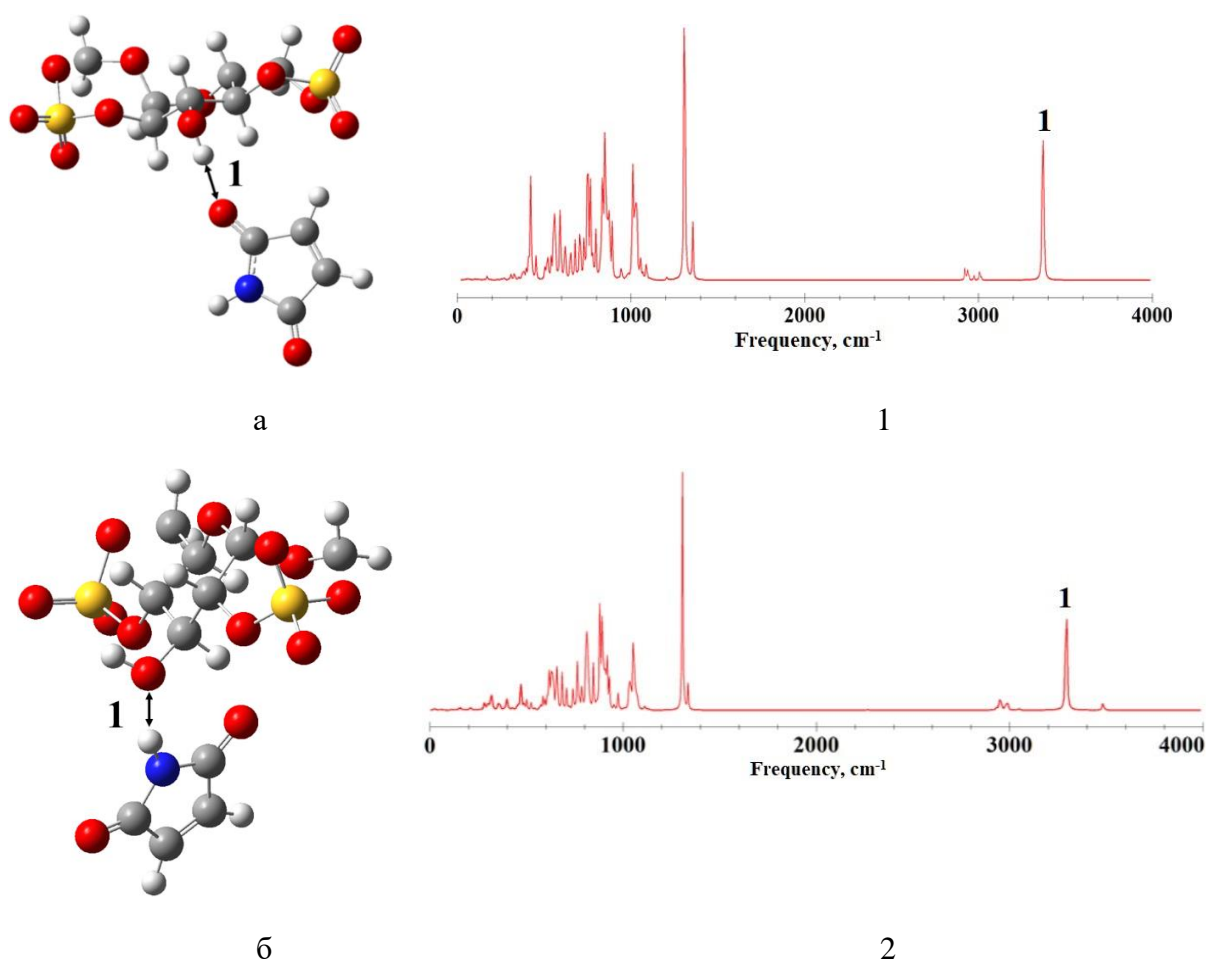


Рисунок 4.3. Рассчитанные структуры (а, б) и ИК спектры молекулярного комплекса малеимид-декстран сульфат (1, 2)

Таблица 4.2. Рассчитанные параметры водородных связей молекулярного комплекса декстран сульфат-малеимид

Номер варианта	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Энергия связи -ΔE, kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
1	O-H...O	1.93	2.91	3389	79	1.87	484
2	N-H...O	1.98	3	3300	149	3.13	497

В процессе взаимодействия малеимида и декстран сульфата образуется две водородные связи - слабая O-H...O и средней силы N-H...O (согласно таблице 4.2). Это указывает на более слабое комплексообразование между малеимидом и декстран сульфатом по сравнению с аргинином, что требует использования полиаргинина в качестве внешней оболочки капсулы.

Далее рассмотрим взаимодействие вещества слизистой оболочки с внешним слоем капсулы (полиаргинина), модифицированным малеимидом, на примере аминокислоты глутамина.

Глутамин входит в состав белковых тканей, таких как мышечная ткань [142]. Он также может быть найден в других тканях организма, в нервной ткани и кишечнике [143]. Глутамин образуется изглутаминовой кислоты [109], в результате прямого аминирования. В свою очередь, глутаминовая кислота играет важную роль в биохимических процессах, таких как синтез нуклеотидов и углеводов [144] и также, как и аргинин, входит в состав альбумина [112].

На рисунках 4.4 и 4.5 и в таблицах 4.3 и 4.4 показано влияние присоединения малеимида на молекулярный комплекс аргинин-глутамин. Рисунок 4.4 демонстрирует структуру и ИК спектр рассчитанного молекулярного комплекса аргинин-глутамин, в то время как рисунок 3.11

отображает этот же молекулярный комплекс после внедрения малеимида. В таблицах 3.5 и 3.6 указаны параметры водородных связей между компонентами комплексов аргинин-глутамин (таблица 4.3) и аргинин-глутамин-малеимида (таблица 4.3).

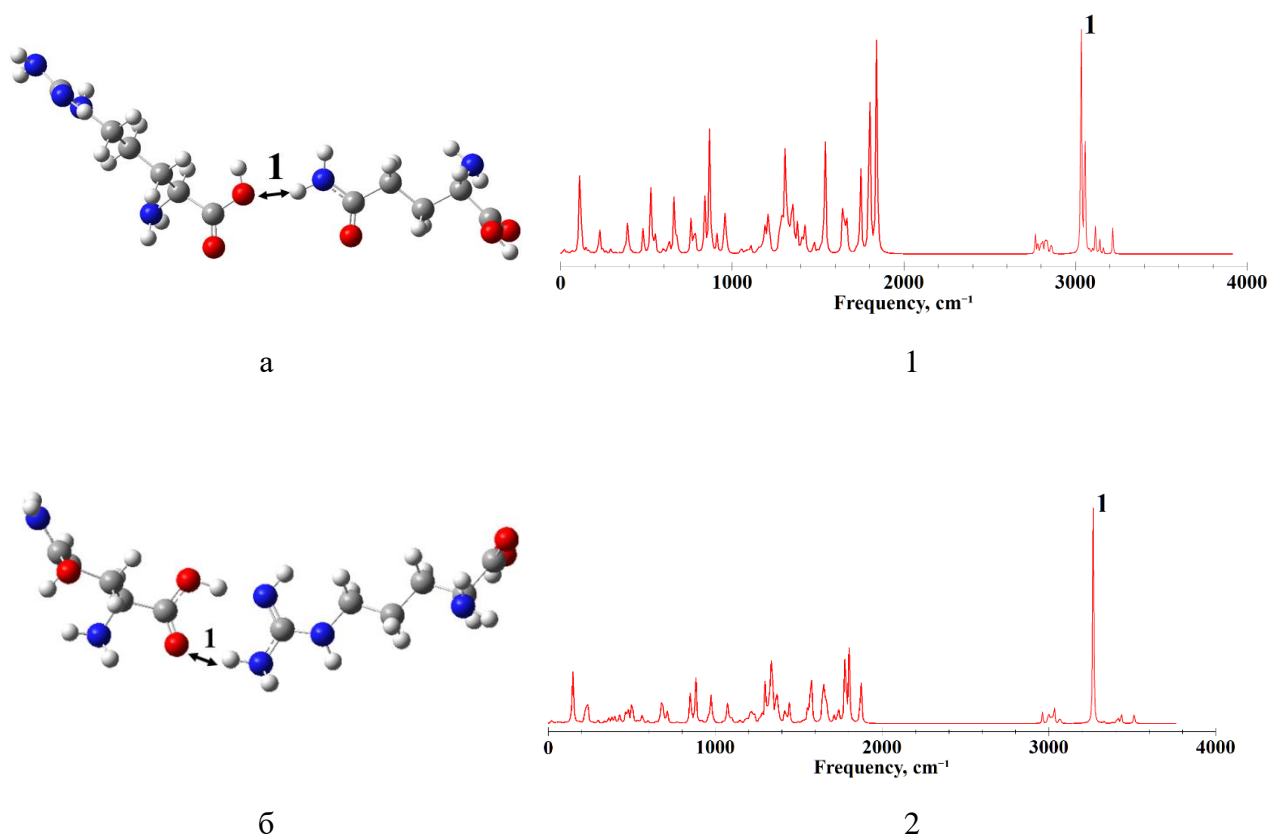


Рисунок 4.4. Рассчитанные структуры (а, б) и ИК спектры молекулярного комплекса глутамин-аргинин (1, 2) в 2 вариантах

Как показали расчёты, глутамин и аргинин имеют два наиболее оптимальных варианта присоединения: 1) через  $-NH_2$  группу аргинина и  $-OH$  группу глутамин и 2) через  $-NH_2$  группу аргинина и  $C=O$  группу глутамин. Параметры водородных связей приведены в таблице 4.3. На рис. 4.4 цифрой 1 обозначены спектральные пики, соответствующие образующейся связи.

Таблица 4.3. Рассчитанные параметры водородных связей молекулярного комплекса глутамин-аргинин

Номер варианта	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , см <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , см <sup>-1</sup>	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
1	O-H...O	1.78	2.76	3062	242	4.3	790
2	N-H...O	1.9	2.91	3242	130	2.85	900

В результате анализа параметров водородных связей было установлено, что при взаимодействии аргинина с глутамином образуются связи средней силы, энергии которых составляют 2.85 и 4.3 kkal/mol.

Добавление малеимида к молекулярному комплексу приводит к появлению дополнительного пика в ИК-спектре (см. рис. 4.5). Из анализа структуры и ИК-спектра можно установить, что существует два способа образования тройного молекулярного комплекса: 1) через аминогруппу глутамина и иминогруппу малеимида с С=О группой малеимида и -ОН группой аргинина соответственно, 2) через -NH группу аргинина и малеимида и группу С=О малеимида и -ОН глутамина. Таблица 4.4 содержит параметры образующихся водородных связей.

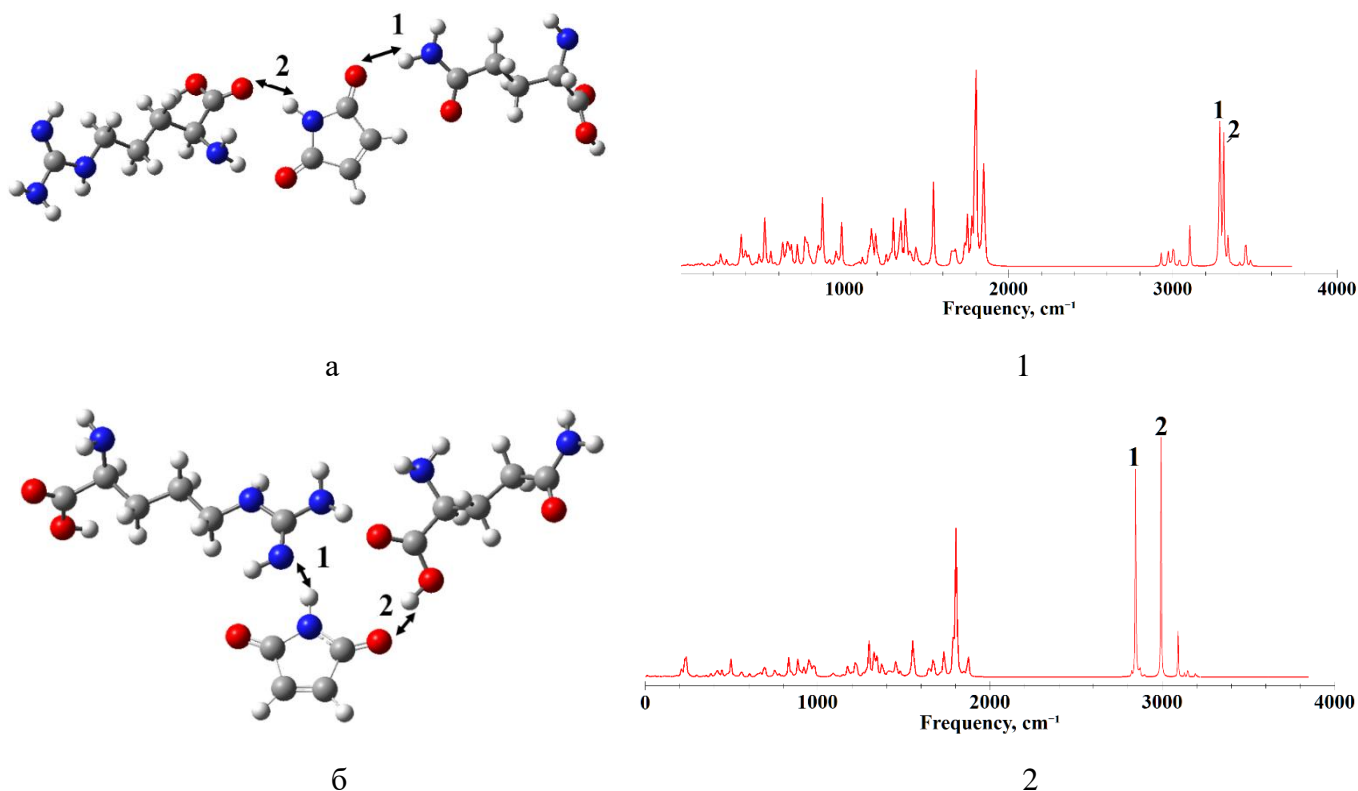


Рисунок 4.5. Рассчитанные структуры (а, б) и ИК спектры молекулярного комплекса глутамин-аргинин-малеимид (1, 2) в 2 вариантах

Таблица 4.4. Рассчитанные параметры водородных связей молекулярного комплекса глутамин-аргинин-малеимид

Номер варианта /номер связи	Тип связи	Длина Н- связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
1/1	N-H...O	1.98	2.99	3265	120	2.7	835
1/2	N-H...O	1.92	2.93	3301	148	3.12	602
2/1	N-H...N	1.83	2.84	2854	595	7	1311
2/2	O-H...O	1.74	2.72	2976	328	5	1782

Как показано в таблице 4.4, введение малеимида в молекулярный комплекс глутамин-аргинина приводит к значительному увеличению параметров водородной связи между по сравнению с комплексом глутамин-аргинина без малеимида.

Стоит отметить, что водородное связывание более сильно проявляется в случае соединения двух аминогрупп и при соединении групп –ОН с С=О. Наиболее сильными оказались связи, обуславливающие частотные сдвиги в  $595\text{ см}^{-1}$  и  $328\text{ см}^{-1}$  полос энергиями  $7\text{ kkal/mol}$  и  $5\text{ kkal/mol}$ , относящиеся к средним связям, близким к сильным и к связям средней силы, соответственно, как показано в [14].

Сравнение параметров водородных связей комплексов глутамин-аргинина и глутамин-аргинина-малеимида показывает, что введение малеимида усиливает водородное связывание между аргинином и глутамином.

Как уже отмечалось, малеимид используется для модификации наногелей [133]. Поскольку наногели часто основаны на белковых структурах, состоящих из аминокислот, причем азотсодержащие аминокислоты играют важную роль в образовании комплексов, важно изучить взаимодействие малеимида с азотсодержащими кислотами. Далее представлены структуры и инфракрасные спектры двухкомпонентных (см. рисунок 4.6, таблица 4.5) и трехкомпонентных (см. рисунок 4.7, таблица 4.6) молекулярных комплексов малеимида с аминокислотами (М – малеимид, А – аргинин, L – лизин, Р – пролин, G – глутамин).

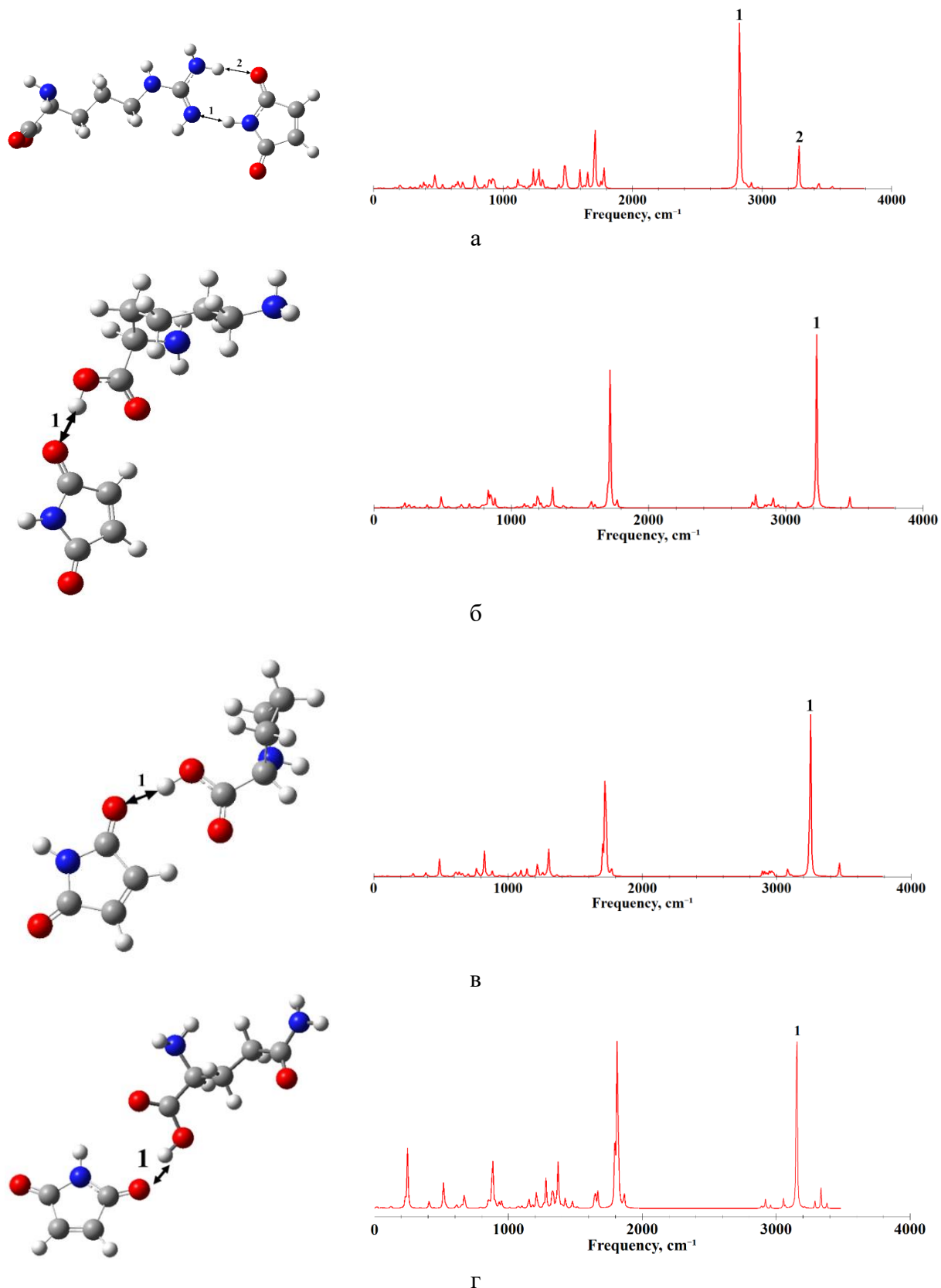


Рисунок 4.6. Структуры и ИК спектры соединения аргинина и малеимида (а), лизина и малеимида (б), пролина и малеимида (в), глутамина и малеимида (г)

При взаимодействии малеимида с аргинином образуется сильная водородная связь через аминогруппу N-H...N. В случае, когда малеимид присоединяется к пролину, лизину и глутамину, связь образуется через группу -ОН. Во всех вариантах возникают водородные связи средней силы.

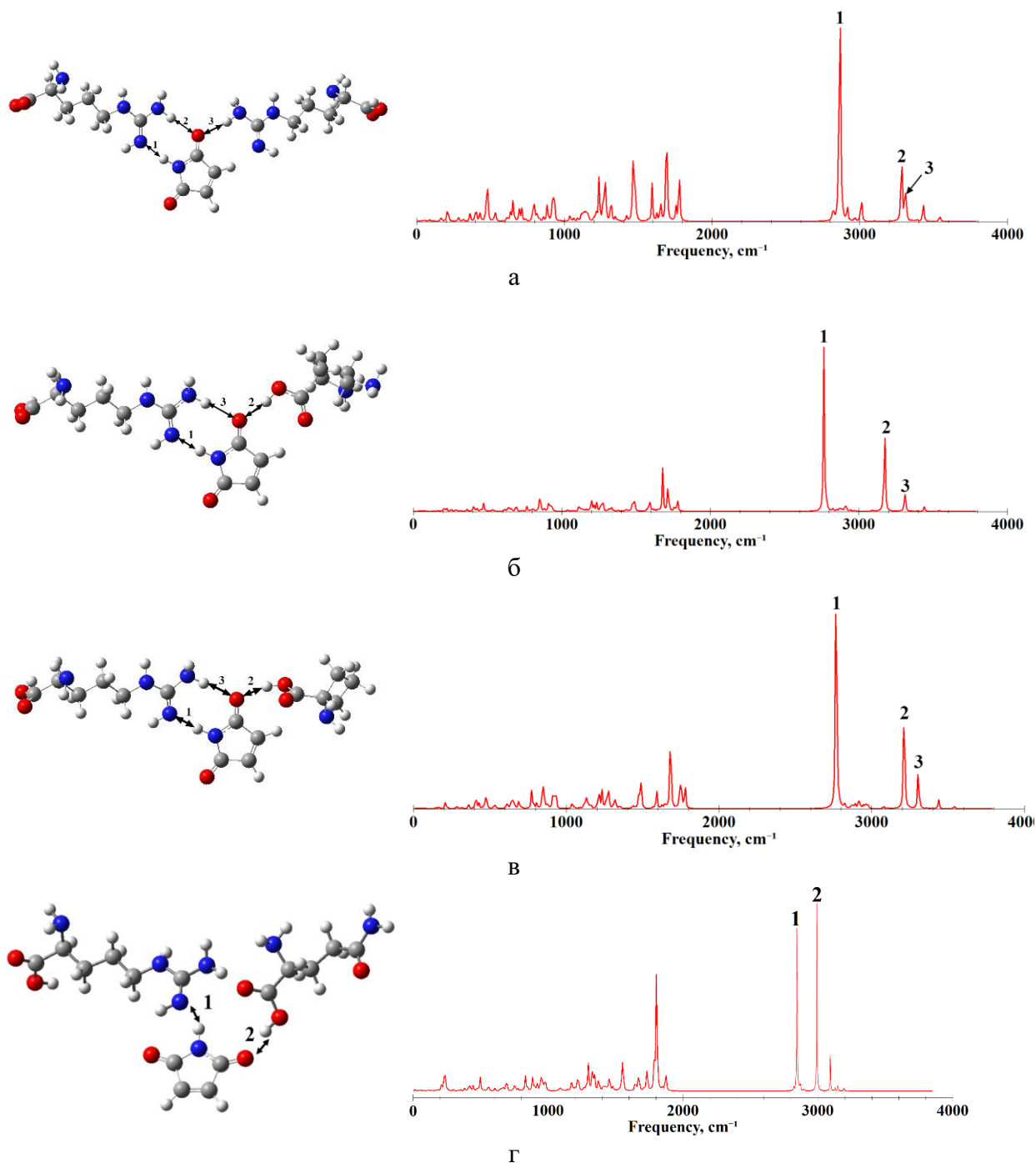


Рисунок 4.7. Рассчитанные структуры и ИК спектры молекулярных комплексов аргинин-малеимид-аргинин (а), аргинин-малеимид-лизин (б), аргинин-малеимид-пролин (в), аргинин-малеимид-глутамин (г)



Таблица 4.5. Рассчитанные параметры водородных связей, образующихся в двухкомпонентных комплексах малеимида и аминокислот

Комплекс	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Энергия связи -ΔE, kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
A+M	<b>N-H...N</b>	<b>1.80</b>	<b>2.85</b>	<b>2829</b>	<b>620</b>	<b>7.2</b>	<b>2193</b>
	N-H...O	2.01	3.03	3284	64	1.5	542
M+L	O-H...O	1.80	2.79	3226	200	3.8	1318
M+P	O-H...O	1.82	2.81	3250	254	4.4	1344
M+G	O-H...O	1.80	2.78	3155	268	4.5	1432

Таблица 4.6. Рассчитанные параметры водородных связей, образующихся в трехкомпонентных комплексах малеимида и аминокислот

Комплекс	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Энергия связи -ΔE, kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
A+M+A	<b>N-H...N</b>	<b>1.81</b>	<b>2.86</b>	<b>2864</b>	<b>585</b>	<b>7.0</b>	<b>1493</b>
	N-H...O	2.02	3.04	3283	65	1.5	659
A+M+L	<b>N-H...N</b>	<b>1.77</b>	<b>2.82</b>	<b>2765</b>	<b>684</b>	<b>7.6</b>	<b>2636</b>
	O-H...O	1.77	2.76	3173	253	4.4	1682
A+M+P	<b>N-H...N</b>	<b>1.78</b>	<b>2.83</b>	<b>2770</b>	<b>679</b>	<b>7.6</b>	<b>2711</b>
	O-H...O	1.79	2.78	3214	290	4.7	1204
A+M+G	<b>N-H...N</b>	<b>1.83</b>	<b>2.84</b>	<b>2854</b>	<b>595</b>	<b>7.0</b>	<b>1311</b>
	O-H...O	1.74	2.72	2976	328	5.0	1782

После анализа полученных результатов (см. таблицы 4.5, 4.6) можно сделать вывод, что при соединении азотсодержащих аминокислот через малеимид происходит усиление средних водородных связей  $O-H\cdots O$  и средних связей  $N-H\cdots N$ , близких к сильным. Усиление связей  $N-H\cdots N$  наблюдается только при соединении разных аминокислот. В случае с одинаковыми аминокислотами связь ослабевает. Образовавшаяся  $N-H\cdots O$  не изменяется.

### 4.3 Выводы

По результатам исследования было выявлено, что малеимид может образовывать водородные связи как с элементами полиэлектролитной капсулы, так и с азотсодержащими аминокислотами. В контексте взаимодействия малеимида с декстран сульфатом были рассмотрены все возможные варианты комплексообразования, при которых образовалась одна водородная связь средней силы и одна слабая связь. В то же время, взаимодействие малеимида с аргинином приводило к образованию трех водородных связей средней силы, одной слабой связи и одной сильной водородной связи.

Следовательно, можно заключить, что малеимид образует более прочные комплексы на основе водородного связывания с аргинином, чем с декстраном сульфатом. Из этого следует, что при модификации капсул с использованием малеимида необходимо создавать структуру полиэлектролитных капсул с внешним слоем из полиаргинина, чтобы обеспечить лучшее удержание малеимида на поверхности капсулы.

При взаимодействии молекул аргинина и глутамин формируются водородные связи слабой и средней энергии. Однако при добавлении малеимида в молекулярный комплекс аргинин-глутамин наблюдается образование водородных связей средней силы. Это позволяет заключить, что модификация капсул малеимидом будет способствовать лучшему удержанию капсулы в пораженной ткани.

При использовании малеимида для связывания азотсодержащих аминокислот происходит усиление средних водородных связей  $O-H\cdots O$  и средних связей  $N-H\cdots N$ , близких к сильным.

Это усиление связей  $N-H\cdots N$  возникает только при соединении азотсодержащих аминокислот разных типов.

Результаты данной главы опубликованы в работах [169, 170-175, 188].

## ГЛАВА 5. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ КОНФОРМАЦИОННОГО ПОЛИМОРФИЗМА И ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО ОКРУЖЕНИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ

### 5.1 Янтарная кислота и полиморфизм дикарбоновых кислот

Как указано в [10], бутандиовая кислота ( $C_4H_6O_4$ ), также известная как янтарная кислота, относится к гомологическому ряду дикарбоновых кислот с общей формулой  $HOOC(CH_2)_{n-2}COOH$  (обозначаемый как  $kC_nk$ , где  $n$  - количество атомов углерода в молекуле, а  $k$  - карбоксильная группа  $COOH$ ). В кристаллическом состоянии молекулы дикарбоновых кислот образуют бесконечные цепочки за счет водородных связей между концевыми карбоксильными группами (см. рисунок 5.1).

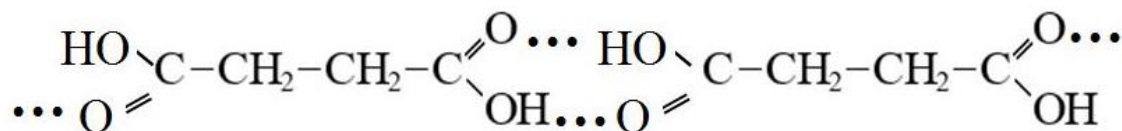


Рисунок 5.1. Фрагмент цепочечного ассоциата янтарной кислоты

Наличие подобных связей в молекулах дикарбоновых кислот приводит к появлению новых физико-химических свойств, отличающихся от свойств кристаллов монокрбоновых кислот. К таким свойствам относится, например, высокая температура плавления, особенно характерная для гомологов с небольшим числом углеродных атомов в молекуле, включая янтарную кислоту [145].

При использовании дикарбоновых кислот в качестве основы для создания полимерных материалов, следует учитывать их полиморфизм [146], который является важным фактором для определения механических и термических свойств этих материалов [147]. Полиморфизм дикарбоновых кислот

обусловлен различными способами упаковки цепей молекул, имеющих одинаковую конфигурацию (упаковочный полиморфизм) [148].

Янтарная кислота является составной частью растительных и животных тканей, широко используется в медицине [149, 150]. Она применяется в терапии различных заболеваний, таких как кардиологические, неврологические и эндокринные, а также в токсикологии. Янтарная кислота является компонентом многих лекарственных препаратов. Например, в эксперименте, описанном в статье [151], было исследовано взаимодействие янтарной кислоты и ирбесартана в организме крысы. Результаты эксперимента показали, что янтарная кислота повышала метаболическую стабильность и скорость клиренса белка.

Сегодня в фармакологии одной из актуальных задач является увеличение биодоступности и растворимости лекарственных препаратов, так как это может привести к повышению их терапевтического эффекта.

Существует несколько подходов для улучшения терапевтического действия лекарственных препаратов, сохраняя при этом их химический состав. Среди таких подходов можно выделить адресную доставку, мультикомпонентные смеси и использование устойчивых конформеров. Кроме того, разработка полиморфных модификаций является одним из перспективных направлений в этой области, поскольку такие модификации могут усилить лечебный эффект лекарственных средств. Важными свойствами полиморфных модификаций являются изменения морфологии кристаллов, их кристаллографических параметров, размера частиц, а также растворимости и скорости растворения каждой структуры [152].

Необходим контроль над физико-химическими свойствами исходного вещества, а также перечисленных параметров для суспензий и дисперсий, включающих полиморфные модификации [152]. При синтезе полиморфных модификаций существуют два варианта: доминирование термодинамических изменений, что приводит к образованию стабильных структур с наименьшей свободной энергией, и доминирование кинетики, что приводит к образованию

метастабильных полиморфных структур с большей свободной энергией. В связи с этим, контроль термодинамических и кинетических параметров необходим при синтезе полиморфного соединения как для фундаментальных, так и для прикладных исследований. Однако, сложность в использовании полиморфных структур заключается в отсутствии информации о форме и параметрах элементарной ячейки для многих из них. Другой важный фактор, который нужно учитывать при работе с полиморфными соединениями - различие в их физических свойствах, включая морфологические свойства, температуру плавления, энтальпию, поведение при растворении и др.

Существует технология полиморфного модифицирования органических веществ путем перекристаллизации, которая является одним из способов получения новых форм лекарственных препаратов с улучшенными физико-химическими свойствами и более выраженным терапевтическим эффектом [153]. Перекристаллизация приводит к изменению растворимости, текучести, смачиваемости, температуры плавления, скорости растворения и, как следствие, повышению биодоступности модифицированных лекарственных форм по сравнению с их основными формами [153].

Технология модификации янтарной кислоты на основе перекристаллизации, разработанная лабораторией полиморфизма и супрамолекулярных систем компании «Научный центр РТА» (Инновационный центр «Сколково»), позволила получить модифицированные кристаллы янтарной кислоты с более высокой растворимостью и биодоступностью. В биологических экспериментах было показано, что полив растений водой, содержащей модифицированную янтарную кислоту, способствует ускорению роста и увеличению размеров надземной части растений.

Разработанная технология перекристаллизации фармацевтических субстанций не требует химического синтеза, а заключается в изменении кристаллической структуры уже имеющейся субстанции с целью придания ей новых свойств, таких как улучшение растворимости и биодоступности.

Технология перекристаллизации фармацевтических субстанций основана на теории относительной стабильности кристаллических модификаций одного и того же соединения, известной как правило ступеней Оствальда [154]. Согласно этой теории, при кристаллизации вещества происходит последовательное образование твердых фаз: от фазы с высокой энергией к фазе с меньшей свободной энергией через метастабильные состояния. В процессе перекристаллизации происходит изменение физико-химических свойств вещества, таких как растворимость, текучесть, смачиваемость, температура плавления и скорость растворения, что в свою очередь приводит к повышению биодоступности модифицированных лекарственных форм [155]. Важной особенностью этой технологии является изменение морфологии кристаллов вещества после модификации [152].

Создаваемые полиморфные модификации обладают рядом особенностей, таких как ускорение скорости растворения, возможность снижения дозировки и сокращения токсического и побочного действия [156]. С использованием разработанной технологии можно получать физически устойчивые метастабильные кристаллические и аморфные формы веществ, которые имеют сверхвысокую скорость растворения. Молекулы в таких кристаллах получают высокоэнергетическую конформацию, что приводит к их самосборке в кинетически устойчивые супрамеры в растворе [157].

Таким образом, исследование изменений морфологии и спектральных свойств янтарной кислоты в результате ее модификации, а также установление связи между спектральными характеристиками, структурой и свойствами модифицированной янтарной кислоты и анализ влияния водного окружения на ее физико-химические свойства и спектральные характеристики представляют интерес для исследований.

Для изучения энергетических характеристик и физико-химических свойств янтарной кислоты в процессе перекристаллизации и их связи с конформационной подвижностью и водородным связыванием [158], были использованы различные методы в данном исследовании. С помощью

сканирующей электронной микроскопии были получены изображения и проанализированы морфологические характеристики модифицированной янтарной кислоты. Также были проведены экспериментальные измерения ИК спектров. С использованием методов теории функционала плотности были рассчитаны структуры и ИК спектры мономеров, Н-комплексов, представленных фрагментом цепочечного ассоциата и моделей конформеров янтарной кислоты. Были исследованы параметры водородных связей, возникающих при наличии водного окружения у мономера и фрагмента цепочечного ассоциата янтарной кислоты.

## **5.2 Экспериментальное исследование получения модифицированной янтарной кислоты**

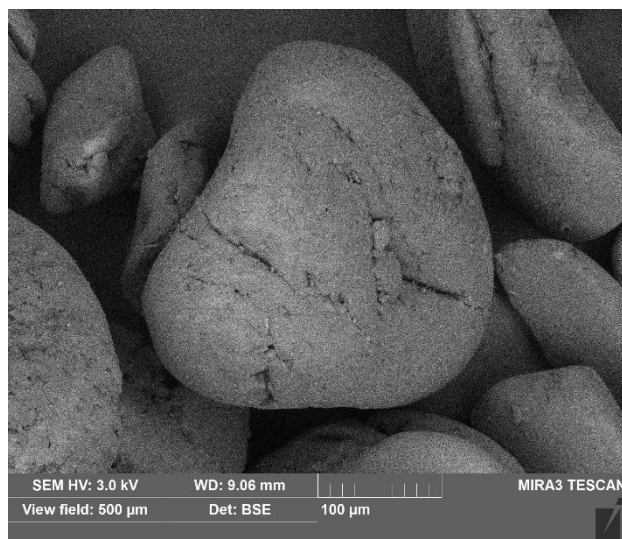
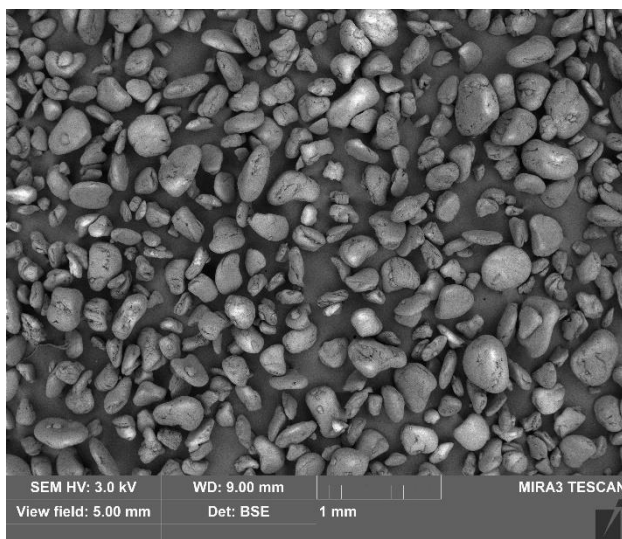
Разработанная лабораторией полиморфизма и супрамолекулярных систем компании «Научный центр РТА» (Инновационный центр «Сколково») технология криохимической перекристаллизации органических веществ, используемая для получения модифицированной формы янтарной кислоты, включает несколько важных этапов. Первым этапом является растворение лекарственного вещества, доводя его до состояния истинного раствора. Затем, при помощи лазерного или ультрафиолетового излучения, молекулы приводятся в высокоэнергетические конформации. Для закрепления этого состояния происходит охлаждение/заморозка раствора, после чего проводится лиофильная сушка.

Для получения конечной формы кристаллов янтарной кислоты был использован процесс растворения в воде, замораживание производилось при помощи жидкого азота. Конечный этап включал лиофильное высушивание на сублиматоре Zibrus 30 EKS-R при давлении 0,2 мбар и температуре 20°C.

Из проведенных экспериментальных исследований в лаборатории полиморфизма и супрамолекулярных систем компании «Научный центр РТА» следует, что модификация приводит к заметному изменению морфологии кристаллов янтарной кислоты (см. рисунок 5.2).



### До модификации



### После модификации

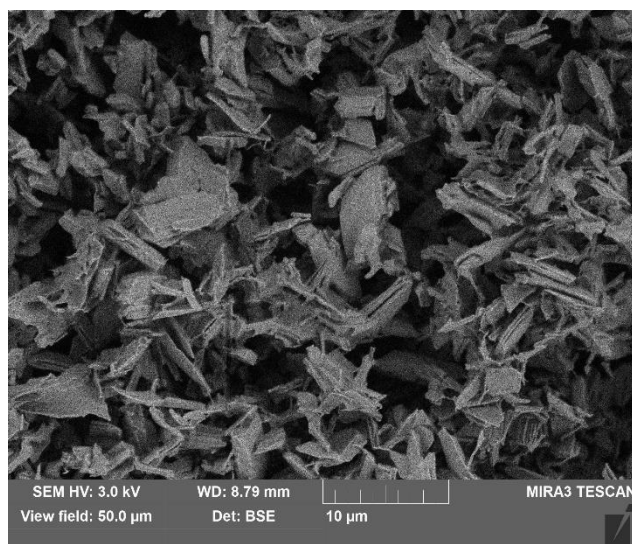
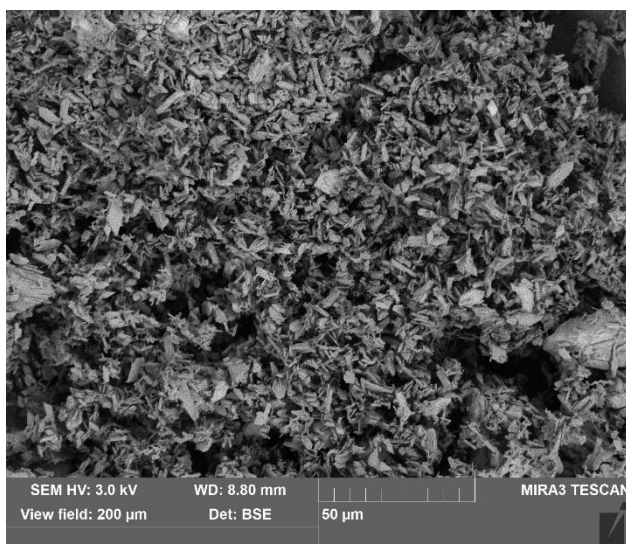


Рисунок 5.2. Изображения кристаллов янтарной кислоты до и после модификации, полученные методом сканирующей электронной микроскопии

Для анализа морфологических характеристик использовался сканирующий электронный микроскоп TESCAN MIRA3 (Чехия) с детектором BSE и разрешением до 5 мкм (3,0 kV). Минимальное поле обзора составляло 20 мкм, а максимальное - 200 мкм.

После проведения модификации было замечено значительное увеличение удельной поверхности кристаллов янтарной кислоты с 1,28 м<sup>2</sup>/г до 4,54 м<sup>2</sup>/г. Это было хорошо видно на фотографиях, полученных с помощью

сканирующего электронного микроскопа (рис. 5.2). На этих фотографиях можно заметить произошедшие в результате модификации изменения, проявляющиеся в том, что наночастицы кристаллов янтарной кислоты были раздроблены на более мелкие формы и фактически перестроены.

Согласно [159], морфология кристаллов янтарной кислоты зависит от вещества-растворителя и температуры кристаллизации, при которой получают различные полиморфные модификации.

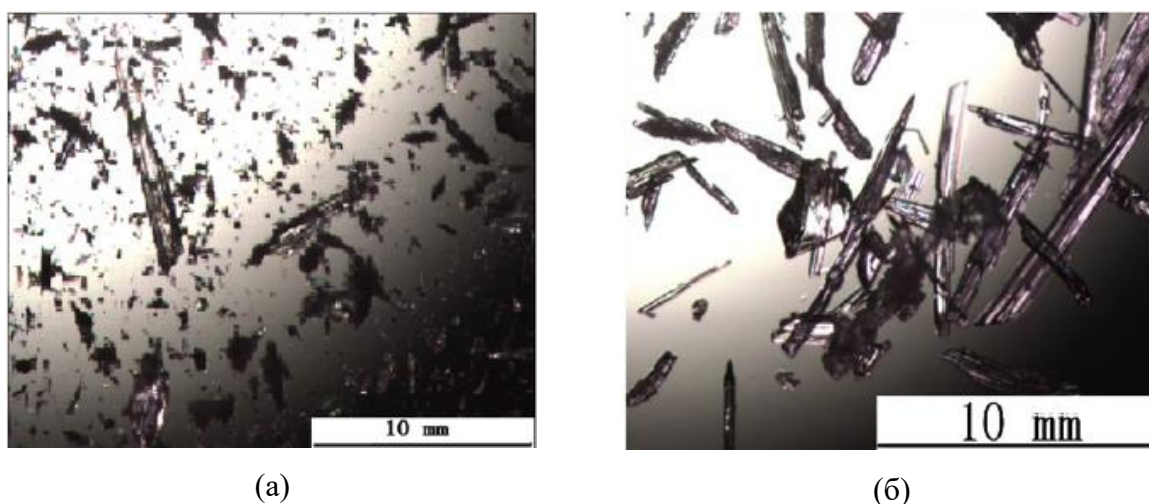


Рисунок 5.3. Оптические микрофотографии кристаллов, выращенных в присутствии воды при  $T_C=180^\circ\text{C}$ : (а)  $T_K=40^\circ\text{C}$  и (б)  $T_K=95^\circ\text{C}$ , полученные в [159] ( $T_C$  – температура сублимации,  $T_K$  – температура кристаллизации)

В соответствии с результатами исследований, проведенных в [159], морфология кристаллов янтарной кислоты зависит от вещества-растворителя и температуры кристаллизации. В частности, при выращивании кристаллов в водном растворе при контроле температуры кристаллизации в  $95^\circ\text{C}$ , были обнаружены крупные игольчатые кристаллы, в то время как при более низкой температуре кристаллизации ( $40^\circ\text{C}$ ) были получены более мелкие игольчатые кристаллы см. рис. 5.3 в ([159]). Похожие результаты получены в другом исследовании [160].

После проведения модификации, ИК-спектр янтарной кислоты показал небольшие смещения в характерных максимумах полос колебаний связей (см.

рис. 5.4). Для более детального анализа полученных результатов, был применен расчет ИК-спектра янтарной кислоты с помощью методов теории функционала плотности.

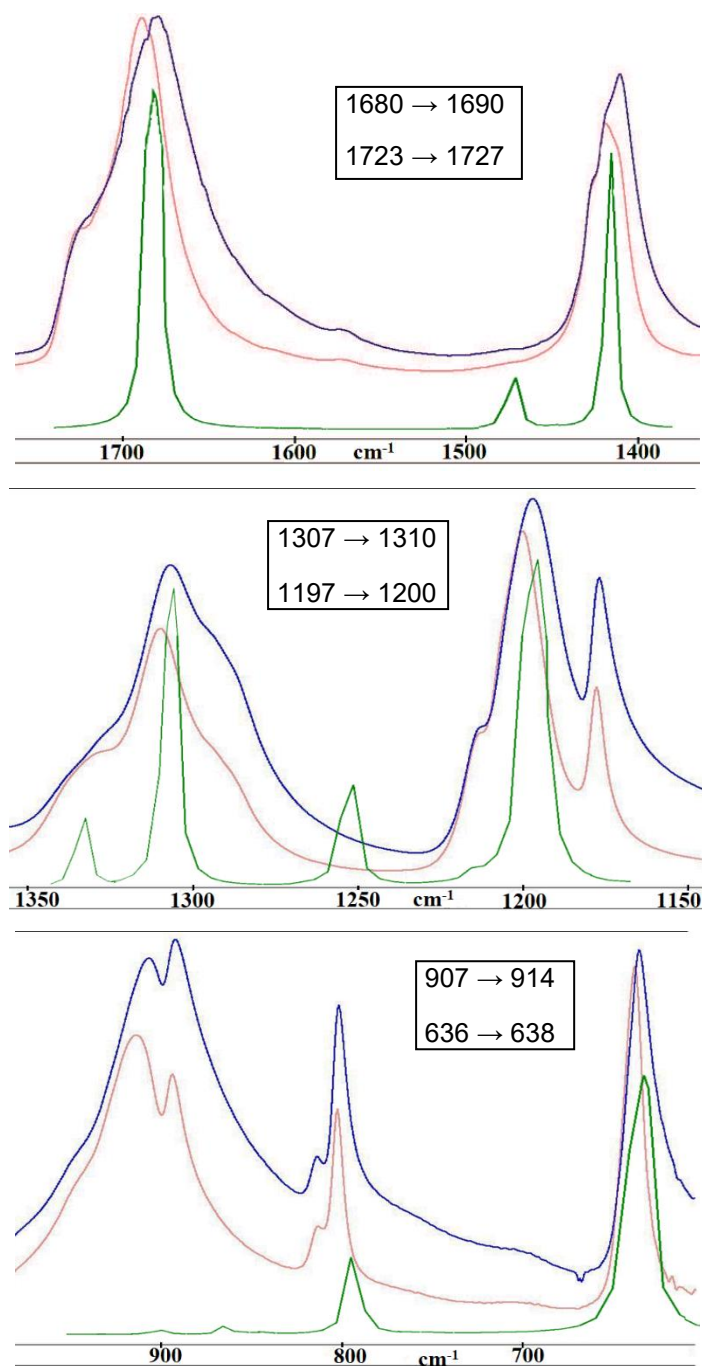


Рисунок 5.4. Рассчитанный (зелёный) и экспериментальные ИК спектры янтарной кислоты (синий – основной, красный – модифицированный) с показателями изменяемых частот при модификации

Для выявления изменений колебаний молекулярных групп в центре молекулы янтарной кислоты, частоты колебаний которых лежат в низкой и средней областях спектра, в исследовании было проведено сравнение рассчитанных и экспериментально полученных данных с известными частотами колебаний молекулярных групп янтарной кислоты, как это было описано в [161]. Однако, было выявлено, что некоторые спектральные данные, приведённые в этом исследовании, не соответствуют действительности. Вместо этого, для сравнения были использованы более достоверные данные, приведённые в [10].

Таблица 5.1 представляет собой соотнесение частот колебаний центральных молекулярных групп янтарной кислоты, которые были описаны в статье [10], с экспериментально измеренными и рассчитанными частотами колебаний этих же групп.

Таблица 5.1. Соотнесение частот колебаний, приведенных в [10], с полученными экспериментальными и рассчитанными значениями

Форма колебания и группа	$\nu_{\text{изм}}, \text{cm}^{-1}$ [10]	$\nu_{\text{эсп}}, \text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{расч}}, \text{cm}^{-1}$
Q(C=O)	1720	1723	1715
Q(C=O)	1690	1680	
$\beta$ (COH)	1420	1419	1410
$\chi$ (CH <sub>2</sub> )	1294	1307	1285
$\chi$ (CH <sub>2</sub> )	1200	1197	1198
$\rho$ (OH)	905	907	915
$\gamma$ (OCO)	640	636	647

Q – валентные колебания;  $\beta$ ,  $\gamma$  – плоские деформационные колебания,  $\rho$  – неплоские деформационные и  $\chi$  – крутильные колебания.

На рисунке 5.4 представлен сравнительный анализ экспериментальных данных и рассчитанного ИК спектра янтарной кислоты. Из графика видно, что

модификация янтарной кислоты приводит к незначительному смещению частот колебаний молекулы (значения этих частот и их изменения указаны на рисунке), что свидетельствует о незначительных изменениях энергии молекулы при её модификации.

Рассчитанные и экспериментальные данные в таблице 5.1 показывают хорошее согласование между собой и с ранее известными значениями частот колебаний. Это позволяет использовать методы расчёта для моделирования межмолекулярного взаимодействия янтарной кислоты с водой во время её модификации, а также для анализа её конформационного полиморфизма.

### **5.3 Молекулярное моделирование и анализ конформеров янтарной кислоты**

Для моделирования структуры и расчёта спектров молекул и их комплексов был использован метод теории функционала плотности (*DFT*) [16] с функционалом *B3LYP* и базисным набором *6-31G(d)* [18]. Все этапы молекулярного моделирования, включая оптимизацию молекулярных структур и расчёт ИК спектров, были проведены с помощью программного комплекса *Gaussian 09* [96] и редактора-визуализатора молекулярных структур *Avogadro* [97].

Чтобы учесть ангармонизм и сократить расхождение между экспериментальными и вычисленными данными, были применены масштабированные множители для всех рассчитанных частот: 0.98 для диапазона от 0 до 1000  $\text{cm}^{-1}$ , 0.97 для диапазона от 1000 до 2000  $\text{cm}^{-1}$  и 0.94 для частот свыше 2000  $\text{cm}^{-1}$ .

С использованием методов молекулярного моделирования были получены оптимальные структуры мономеров янтарной кислоты и фрагмента цепочечного ассоциата, а также были рассчитаны соответствующие им ИК спектры (см. рисунок 5.5). Далее были проведены расчёты структур и ИК спектров конформеров изолированной молекулы янтарной кислоты и конформеров фрагмента цепочечного ассоциата, у которых углы поворота плоскости углеродного скелета относительно карбоксильных групп были

различны. Изображения структур и соответствующие им ИК спектры конформеров представлены на рисунке 5.6.

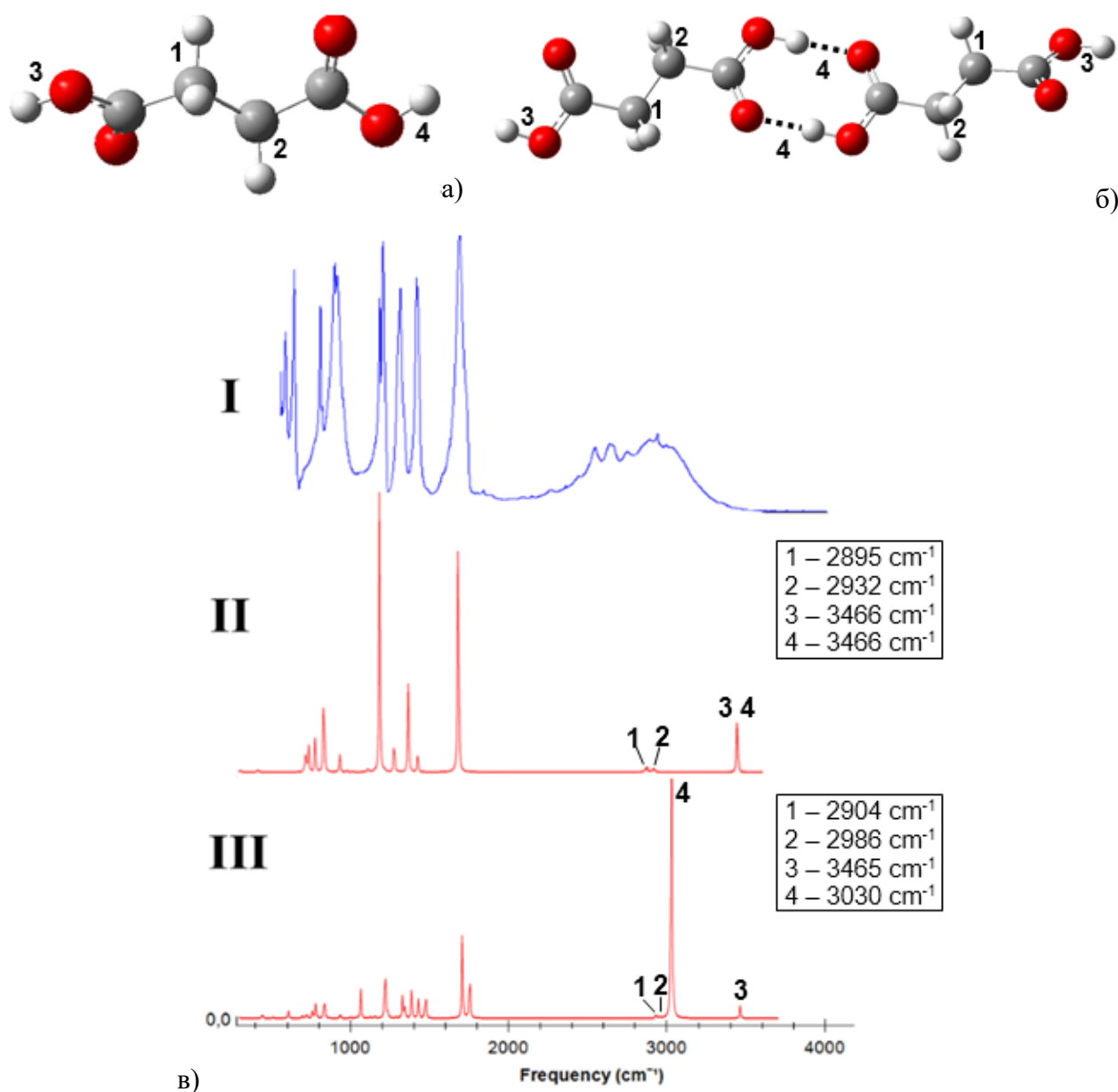


Рисунок 5.5. Рассчитанная структура (а) мономера, (б) фрагмента цепочечного ассоциата и ИК спектры янтарной кислоты (в (I) экспериментальный, (II) рассчитанный спектр мономера, (III) рассчитанный спектр фрагмента цепочечного ассоциата)

В исходном состоянии (основной конформер) (Рис. 5.5а), молекула янтарной кислоты имеет симметрию  $C_{2h}$ , где карбоксильные группы и

углеродные атомы находятся в одной плоскости. В других конформерах карбоксильные группы повернуты на угол  $6^\circ$  относительно углеродного скелета, что снижает симметрию молекулы до  $C_i$ . Выбранное значение угла в пределах  $\pm(9^\circ - 3^\circ)$  определяется методами рентгенографии для стабильной формы ( $\beta$ -формы) дикарбоновых кислот с четным  $n$  [10], что позволяет утверждать, что конфигурация конформеров близка к исходной.

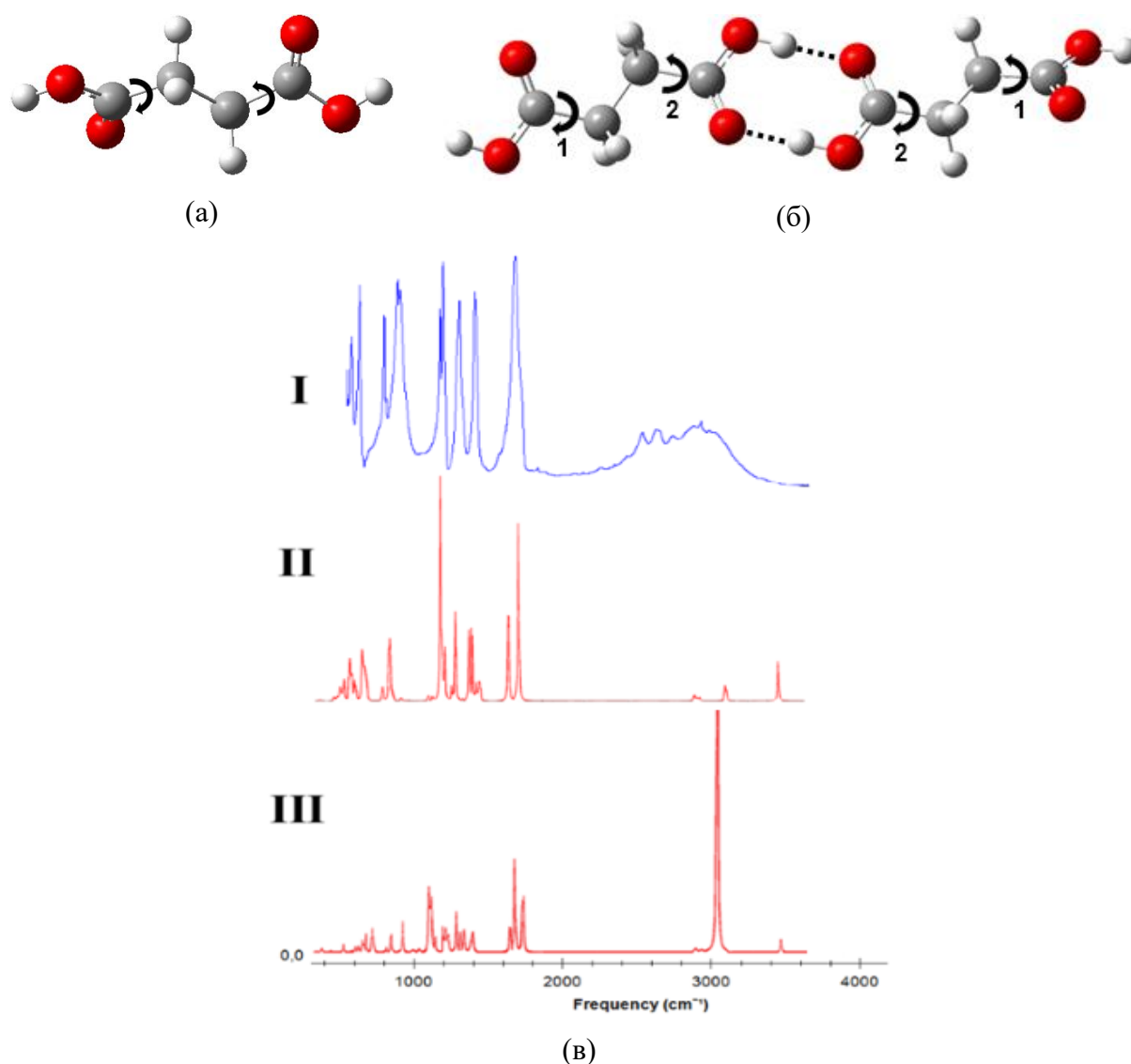


Рисунок 5.6. Рассчитанная структура мономера(а), фрагмента цепочечного ассоциата(б) с двумя схемами поворота и ИК спектры (в) янтарной кислоты (I - экспериментальный, II - рассчитанный комбинированный спектр конформеров мономера, III - рассчитанный комбинированный спектр конформеров фрагмента цепочечного ассоциата)

На рис. 5.5б представлен фрагмент цепочечного ассоциата янтарной кислоты в исходном состоянии. Для моделирования его конформеров были рассмотрены два варианта: в первом варианте концевые карбоксильные группы повернуты на угол  $6^\circ$  относительно углеродных плоскостей (обозначен как 1 на рис. 5.5б), а во втором варианте – на угол  $6^\circ$  относительно димерного кольца оставшихся фрагментов молекулы (обозначен как 2 на рис. 5.6б).

В таблице 5.2 представлены энергетические и частотные характеристики полученных конформеров. Указанные частоты в таблице 5.2 соответствуют валентным колебаниям С-Н и О-Н связей. Для оценки стабильности конформационной структуры использовалась энергия молекулы, при этом более стабильными считаются варианты с низкими энергетическими показателями. Из таблицы 5.2 можно выделить три наиболее устойчивых варианта поворотных конформеров.

Так как модифицированная янтарная кислота может иметь различные конформеры, ИК спектр этой кислоты будет содержать все спектральные особенности, свойственные каждому конформеру. Поэтому очень важно создать комбинированный спектр, который представляет собой суперпозицию спектров всех конформеров. На рисунке 5.6б (II) показан такой комбинированный спектр, который получен путем наложения ИК спектров трех поворотных конформеров и основного конформера янтарной кислоты. На рисунке 5.6б (I) представлен экспериментально полученный ИК спектр.

Экспериментально полученный ИК спектр на рисунке 5.6б (I) показывает хорошее совпадение с рассчитанными спектрами, включая область высоких частот, где происходят колебания водородных связей с частотами  $\nu_1$ ,  $\nu_2, \nu_3$ ,  $\nu_4$ , показанными на рисунке 5.6а как 1, 2, 3, 4.



Таблица 5.2. Значения энергий и частот валентных колебаний водородных связей конформеров янтарной кислоты

№ конформера	Энергия – а.у.	Частота $\nu_1, \text{cm}^{-1}$	Частота $\nu_2, \text{cm}^{-1}$	Частота $\nu_3, \text{cm}^{-1}$	Частота $\nu_4, \text{cm}^{-1}$	Разности энергий конформеров, $\text{cm}^{-1}$
<b>0.</b>	<b>-456.962174417</b>	<b>2894,8</b>	<b>2932,4</b>	<b>3465,6</b>	<b>3465,6</b>	
1.	-456.959116648	2894	2931,6	3139,5	3465,2	671
2.	-456.957441633	2894	2931	3139	3464,8	1039
3.	-456.953204710	2893,6	2930,3	3133	3463	1968

1 a.u. = 27.21162 eV = 1 Hartree = 219470,418  $\text{cm}^{-1}$

Проведенный анализ рассчитанных ИК спектров конформеров показал, что они практически неотличимы друг от друга в спектральном отношении, как для мономерной молекулы (см. таблицу 5.2), так и для фрагмента цепочечного ассоциата.

#### **5.4 Молекулярное моделирование и анализ влияния водного окружения на изменение свойств янтарной кислоты**

Для понимания причин изменения физико-химических свойств модифицированной янтарной кислоты необходимо учитывать процесс её модификации, который включает создание истинного раствора, растворение кристаллов в воде и последующую заморозку при низкой температуре [162]. Однако, важно учитывать влияние молекул воды, даже после процедуры лиофильной сушки, на физико-химические свойства модифицированной кислоты [162]. Также следует проанализировать влияние водородного связывания на молекулы мономера и фрагмента цепочечного ассоциата янтарной кислоты для выяснения механизмов изменения их свойств [163].

Проведено моделирование структуры и ИК спектра молекулярного комплекса янтарной кислоты с водой, в ходе которого были последовательно добавлены молекулы воды к мономеру и фрагменту цепочечного ассоциата янтарной кислоты.

Результаты моделирования структуры и ИК спектра мономера и фрагмента цепочечного ассоциата янтарной кислоты с 1 и 2 молекулами воды соответственно, показаны на рисунках 5.7 и 5.8.

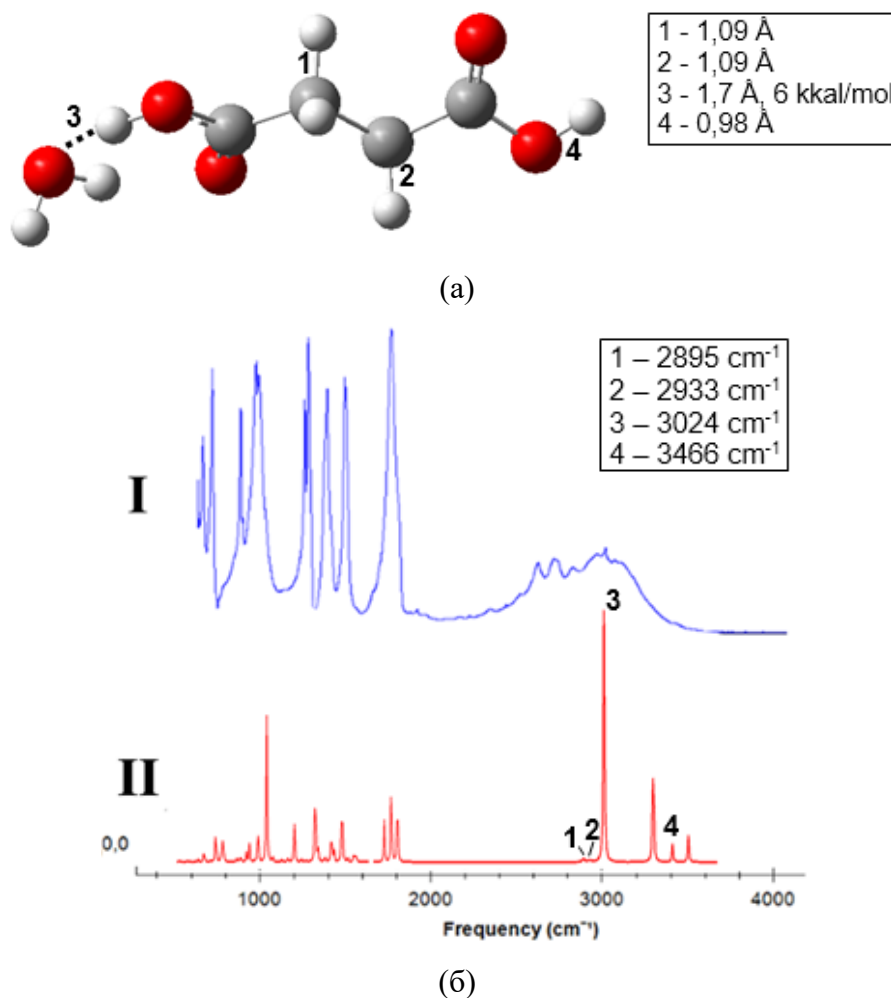
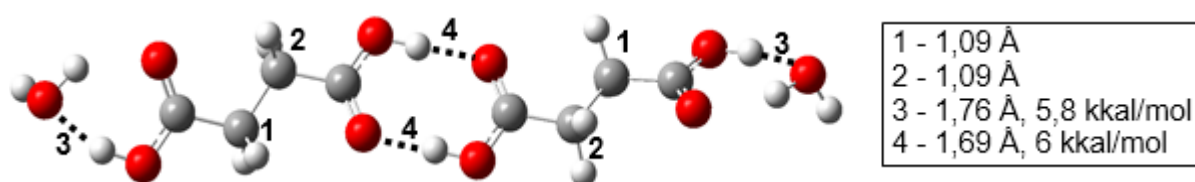
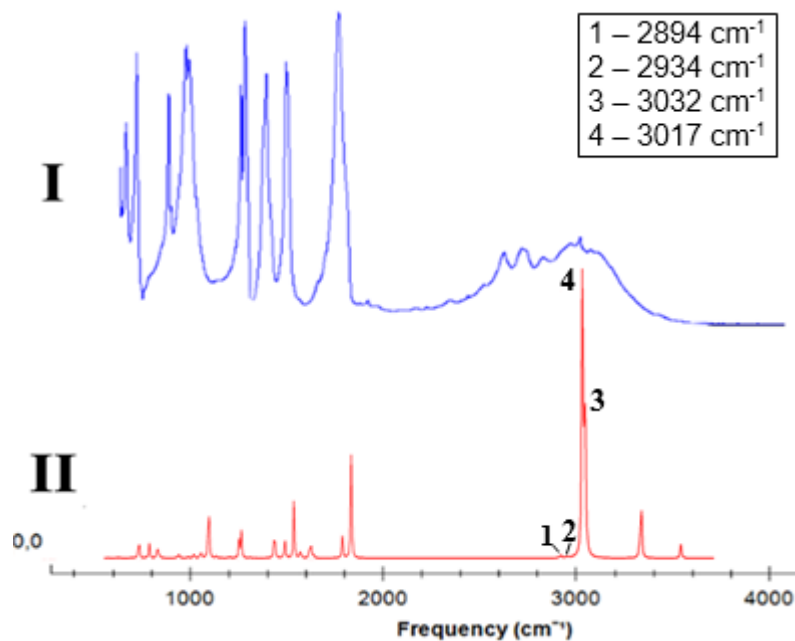


Рисунок 5.7. Рассчитанная структура (а) и ИК спектр (б) молекулярного комплекса  $C_4H_6O_4 - H_2O$  (I - экспериментальный, II – рассчитанный)

Для оценки силы образующихся водородных связей использовались такие характеристики, как длина водородного мостика, частотный сдвиг валентных колебаний Н-связей в ИК спектрах молекулярного комплекса в сравнении с ИК спектрами отдельных молекул, а также энергия связи.



(a)



(б)

Рисунок 5.8. Рассчитанная структура (а) и ИК спектр (б) молекулярного комплекса  $(C_4H_6O_4)_2 - (H_2O)_2$  (I - экспериментальный, II – рассчитанный)

Структура и ИК спектр молекулярного комплекса  $C_4H_6O_4 - (H_2O)_8$  (молекула янтарной кислоты в окружении восьми молекул воды) представлены на рис. 5.9. На рис. 5.10 показаны структура и ИК спектр фрагмента цепочечного ассоциата янтарной кислоты в окружении двенадцати молекул воды  $(C_4H_6O_4)_2 - (H_2O)_{12}$ . Оценка силы образующихся водородных связей производилась по нескольким характеристикам, включая длину водородного мостика, частотный сдвиг валентных колебаний Н-связей в ИК спектрах молекулярного комплекса относительно ИК спектра отдельных молекул, а также энергию связи.

Таблица 5.3. Рассчитанные параметры водородных связей мономера

Номер связи	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
Янтарная кислота. E = -456.9621 а.у.; d = 0,474 debye							
1	C-H	1,09		2895			11
2	C-H	1,09		2932			7
3	O-H	0,98		3466			95
4	O-H	0,98		3466			95
Янтарная кислота с 1 молекулой воды. E = -533,3951 а.у.; d = 2,266 debye							
1	C-H	1,09		2895			14
2	C-H	1,09		2933			7
3	O-H...O	1,70	2,7	3024	442	6	723
4	O-H	0,98		3466			47
Янтарная кислота с 3 молекулами воды. E = -686,2340 а.у.; d = 3,935 debye							
1	C-H	1,09		2876			25
2	C-H	1,09		2929			9
3	O-H...O	1,67	2,67	2970	496	6,4	881
4	O-H	0,98		3466			46
5	O-H...O	1,93	2,91	3435	71	1,67	198
Янтарная кислота с 8 молекулами воды. E = -1068,3832 а.у.; d = 2,171 debye							
1	C-H	1,71	2,8	2783	111		129
2	C-H	1,71	2,8	2823	110		137
3	O-H...O	1,70	2,7	3196	270	5	324
4	O-H	0,98		3454			60
5	O-H...O	1,70	2,8	3366	140	3,46	294

Таблица 5.4. Рассчитанные параметры водородных связей фрагмента цепочечного ассоциата

Номер связи	Тип связи	Длина Н-связи R, Å	Длина водородного мостика R <sub>b</sub> , Å	Частота $\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , cm <sup>-1</sup>	Энергия связи - $\Delta E$ , kkal/mol	Интенсивность I <sub>IR</sub> , km/mol
Фрагмент цепочечного ассоциата. E = -913,955 a.u.; d = 1,2819 debye							
1	C-H	1,09		2904			31
2	C-H	1,09		2986			10
3	O-H	0,98		3465			96
4	O-H...O	1,69	2,7	3030	436	5,97	3470
Фрагмент цепочечного ассоциата с 2 молекулами воды. E = -1066,8210 a.u.; d = 2,442 debye							
1	C-H	1,09		2894			43
2	C-H	1,09		2934			11
3	O-H...O	1,76	2,76	3032	432	5,8	1285
4	O-H...O	1,69	2,69	3017	449	6	3819
Фрагмент цепочечного ассоциата с 6 молекулами воды. E = -1372,4986 a.u.; d = 1,516 debye							
1	C-H	1,09		2874			106
2	C-H	1,09		2931			9
3	O-H...O	1,68	2,68	2971	493	6,38	2434
4	O-H...O	1,66	2,66	3027	439	5,99	3130
5	O-H...O	1,98	2,96	3436	69	1,61	168
Фрагмент цепочечного ассоциата с 12 молекулами воды. E = -1831,0700 a.u.; d = 1,970 debye							
1	C-H	1,09		2862	42		16
2	C-H	1,09		2896	90		175
3	O-H...O	1,70	2,7	3182	283	5,14	105
4	O-H...O	1,43	2,43	3019	420	5,85	4165
5	O-H...O	1,72	2,8	3352	153	3,5	186

Таблица 5.3 содержит вычисленные параметры водородных связей для молекулярных комплексов янтарной кислоты с молекулами воды, а таблица 5.4 – для молекулярных комплексов фрагмента цепочечного ассоциата янтарной кислоты с молекулами воды. В обеих таблицах приведены значения энергии молекулярного комплекса ( $E$ ) и дипольного момента ( $d$ ).

Проанализируем динамику нескольких водородных связей, которые были обозначены на рисунках 5.7-5.10 и в таблицах 5.3 и 5.4. На рисунке числами 1 и 2 отмечены связи С-Н группы  $-\text{CH}_2$  в центре молекулы янтарной кислоты, связь 3 – это О-Н связь группы на краю молекулы янтарной кислоты, к которой может присоединяться молекула воды через кислород, связь 4 – это ее симметричная связь на другом конце молекулы. В фрагменте цепочечного ассоциата, на основе связи 3, образуется димерное кольцо. Связь 5 образуется от присоединения молекулы воды к группе  $\text{C}=\text{O}$  через водород.

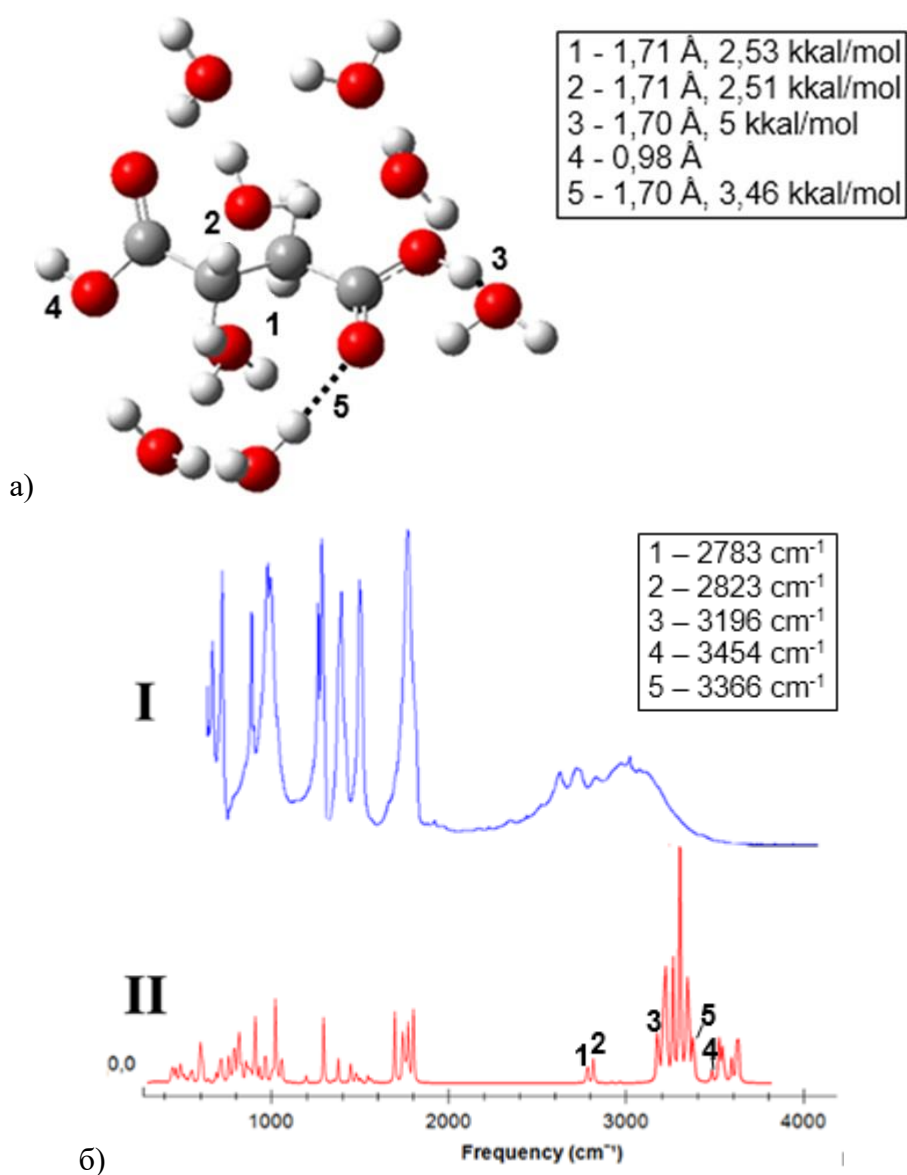
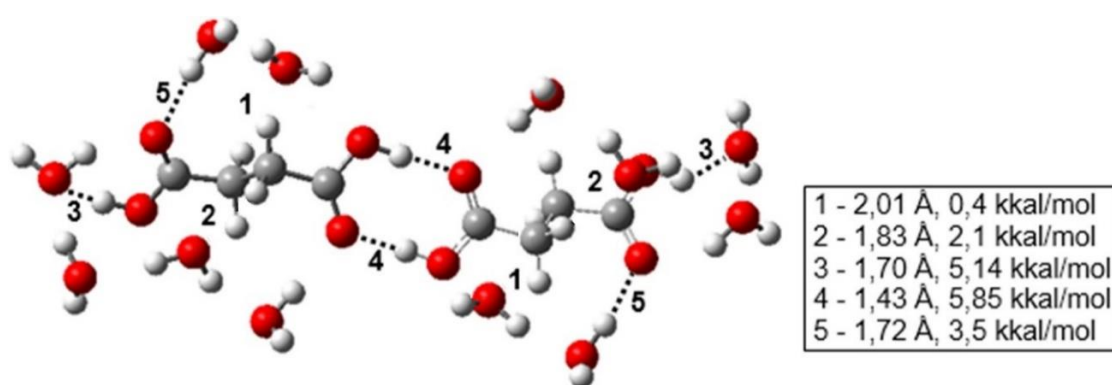
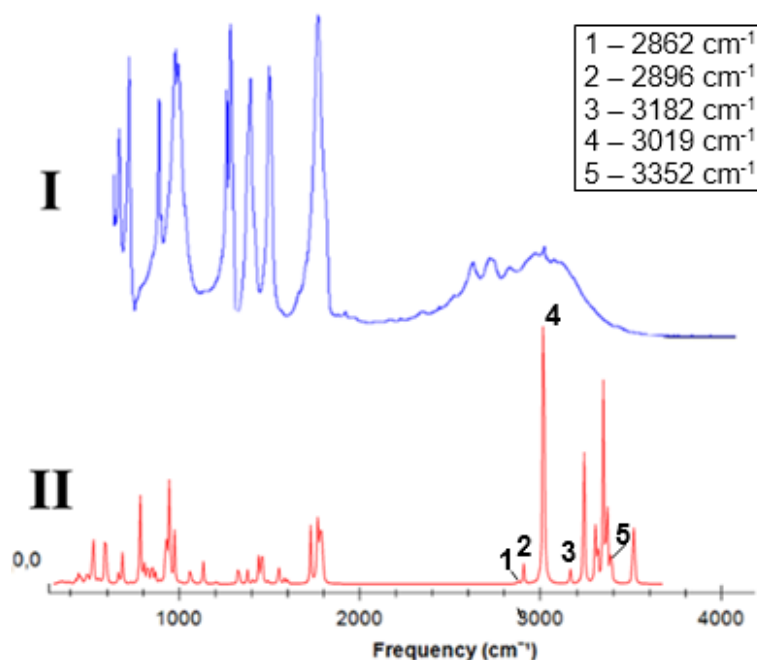


Рисунок 5.9. Рассчитанная структура (а) и ИК спектр (б) молекулярного комплекса  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4 - (\text{H}_2\text{O})_8$  (I - экспериментальный, II – рассчитанный)

Как показано в таблицах 5.2 и 5.3, энергия связи O-H...O и интенсивность увеличиваются при увеличении количества присоединенных молекул воды. В частности, для мономера (связь 3) энергия связи увеличивается с 6 до 6,4 *kcal/mol*, а интенсивность с 723 до 881 *km/mol*. Аналогично, для фрагмента цепочечного ассоциата (связь 3) энергия связи увеличивается с 5,8 до 6,38 *kcal/mol*, а интенсивность с 1285 до 2434 *km/mol*. Согласно [14], образовавшиеся водородные связи могут быть отнесены к связям средней силы.



(а)



(б)

Рисунок 5.10. Рассчитанная структура (а) и ИК спектр (б) молекулярного комплекса  $(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4)_2 - (\text{H}_2\text{O})_{12}$  (I - экспериментальный, II – рассчитанный)

Однако, при дальнейшем увеличении количества молекул воды был обнаружен сдвиг спектральных линий С-Н связей в группах  $-CH_2$  (связи 1 и 2 в таблицах 5.3 и 5.4), но связь 3 ослабла, как для мономера, так и для фрагмента цепочечного ассоциата. Сдвиг спектральных линий С-Н связей у мономера янтарной кислоты проявляются более ярко, особенно при увеличении количества молекул воды. Эти пики наглядно представлены как на экспериментальном, так и рассчитанном спектре (пики 1 и 2 на рисунках 5.7б, 5.8б и 5.9б), что указывает на присутствие как мономеров, так и фрагментов цепочечного ассоциата в измененной янтарной кислоте.

На экспериментальном ИК спектре модифицированной янтарной кислоты наблюдается выраженный пик в диапазоне  $3020-3030\text{ cm}^{-1}$ , который указывает на наличие фрагментов цепочечного ассоциата и образование водородной связи в димерном кольце. Этой связи соответствует пик с максимальной интенсивностью на спектрах (пик 4 на рис.5.8б II и на рис.5.10б II). В зависимости от количества молекул воды, интенсивность данного пика сначала уменьшается, а затем вновь возрастает (см. связь 4 в табл. 5.4), что может объясняться влиянием симметрии молекулярного комплекса: связь в димерном кольце усиливается для более симметричных комплексов.

Рассчитанные ИК спектры хорошо соответствуют экспериментальным измерениям, что позволяет заключить, что модифицированная янтарная кислота содержит не только цепочечные ассоциаты, но и мономеры. Это говорит о том, что процедура перекристаллизации может приводить к разрыву связей в цепочках. Сравнение рассчитанного и экспериментального ИК спектров также подтверждает наличие воды и ее влияние на физико-химические свойства модифицированной янтарной кислоты.

## 5.5 Выводы

При изучении модифицированной янтарной кислоты, полученной методом перекристаллизации, были обнаружены изменения морфологии кристаллов, подтвержденные результатами сканирующей электронной микроскопии. Несмотря на предположения о возможном влиянии



конформеров на физико-химические свойства, расчеты ИК спектров и структур конформеров изолированной молекулы и фрагмента цепочечного ассоциата янтарной кислоты показали их спектральную близость и отсутствие значительного вклада в изменение свойств.

Молекулы воды, находящиеся в структуре модифицированного молекулярного комплекса, оказывают значительное влияние на спектральные характеристики янтарной кислоты, как показало сравнение экспериментальных и рассчитанных ИК спектров. При добавлении молекул воды к конформерам изолированной молекулы и фрагменту цепочечного ассоциата янтарной кислоты, наблюдается смещение характерных пиков высокочастотной области спектра, которые соответствуют валентным колебаниям связи О-Н гидроксильной группы янтарной кислоты, что свидетельствует о образовании водородных связей.

Из анализа взаимодействия янтарной кислоты с молекулами воды следует, что в процессе получения полиморфных модификаций и последующей лиофильной сушки в модифицированной янтарной кислоте обнаруживаются молекулы воды. Это взаимодействие также способствует более сильному водородному связыванию, что изменяет физико-химические свойства янтарной кислоты.

Результаты данной главы опубликованы в работах [168, 184-187, 190].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Методами квантовохимического молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности были рассчитаны молекулярные структуры и ИК спектры для различных вариантов комплексообразования метиллизина с солями нитрата серебра и тиосульфата натрия, входящими в состав рабочего раствора процесса биосинтеза наночастиц сульфида серебра с помощью грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 168. На основе анализа параметров образующихся водородных связей выявлена возможность образования достаточно сильного межмолекулярного взаимодействия между метиллизином и солями рабочего раствора. Это свидетельствует о том, что процесс метилизации лизина способствует образованию более прочной органической оболочки синтезируемых наночастиц и играет важную роль в процессе биосинтеза наночастиц сульфида серебра.

2. С использованием методов теории функционала плотности были проведены расчеты и исследованы различные варианты формирования молекулярных комплексов противоопухолевого препарата митоксантрон с веществами полиэлектrolитной капсулы - носителя, содержащей полиаргинин и декстран сульфат. После анализа рассчитанных структур и ИК спектров полученных молекулярных комплексов было обнаружено, что важную роль в доставке лекарства играет полиаргинин, благодаря сильному уровню взаимодействия с митоксантроном, что позволяет удерживать его внутри капсулы. Это свойство проявляется в образовании множества водородных связей средней силы между аргинином и митоксантроном в молекулярном комплексе. В отличие от полиаргинина, декстран сульфат, в основном, образует слабые водородные связи с митоксантроном и полиаргинином. Такая особенность говорит о том, что декстран сульфат является буферным веществом, которое обеспечивает равномерное высвобождение лекарства по мере распространения и постепенного растворения капсулы - носителя.

3. Методами молекулярного моделирования на основе теории функционала плотности было выявлено, что малеимид усиливает водородное

связывание между азотсодержащими аминокислотами. Обладая высокой способностью к комплексообразованию, малеимид может быть использован как эффективный биоконъюгат для повышения терапевтической активности нанокапсул и наногелей на основе белковых структур, используемых в таргетной терапии.

4. Методами ИК спектроскопии, электронной микроскопии и квантовохимического молекулярного моделирования были обнаружены существенные изменения физико-химических свойств модифицированной янтарной кислоты, полученной путём перекристаллизации. Было выявлено, что после процедуры модификации в составе янтарной кислоты остаются единичные молекулы воды, способствующие более сильному водородному связыванию, что отражается в изменениях ИК спектра и приводит к значительному повышению растворимости и биодоступности янтарной кислоты.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каплан И.Г. Введение в теорию межмолекулярных взаимодействий. –М.: Наука, 1982. -311с.
2. Каплан И.Г. Межмолекулярные взаимодействия. Физическая интерпретация, компьютерные расчеты и модельные потенциалы. – 4-е изд.–М.: Лаборатория знаний, 2023. -397с.
3. Пиментел Дж., Мак-Клеллан О. Водородная связь. –М.: Мир, 1964. -462с.
4. Водородная связь. под ред. Соколова Н.Д. –М.: Наука, 1981. -298с.
5. Гурьянова Е.И., Гольдштейн И.П., Перепелкова Т.И. Полярность и прочность межмолекулярной водородной связи //Успехи химии, 1976, т. XLV, вып.9, с.1568-1593
6. Грагеров И.П., Погорелый В.К., Франчук И.Ф. Водородная связь и быстрый протонный обмен. –Киев: Наукова думка, 1978. -216с.
7. Смит А. Прикладная ИК- спектроскопия. –М.: Мир, 1982. -328с.
8. Егорочкин А.И., Скобелева С.Е. ИК- спектроскопия водородной связи как метод изучения внутримолекулярных взаимодействий //Успехи химии, 1979, т. XLVIII, вып.12, с.2216 -2239.
9. Бахшиев Н.Г. Спектроскопия межмолекулярных взаимодействий. – Ленинград: Наука, 1972. -265с.
10. Бабков Л.М., Пучковская Г.А., Макаренко С.П., Гаврилко Т.А. ИК спектроскопия молекулярных кристаллов с водородными связями. -Киев: Наукова думка, 1989. -160 с.
11. Горбацевич С.Н. Спектроскопия межмолекулярных взаимодействий. – Минск: Издательство БГУ, 2020, -150с.
12. Тохадзе К.Г., Тохадзе И.К., Асфин Р.Е. Спектроскопия молекулярных комплексов. — СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2019. — 188 с.
13. Лен Ж.-М. Супрамолекулярная химия: Концепции и перспективы. – Новосибирск: Наука, 1998. -334с.
14. Стив Дж.В., Этвуд Дж.Л. Супрамолекулярная химия. -М.: Академкнига, 2007. -479 с.

15. М.В.Алфимов, С.П.Громов, А.К.Чибисов, В.Г.Авакян, А.И.Ведерников, В.А.Лившиц, В.Б.Назаров, Н.Х.Петров, Е.Н.Ушаков. Супрамолекулярные системы. Структура, самоорганизация, фотоника, стр.64-195. В книге «Центр Фотохимии РАН. Фундаментальные и прикладные исследования. Итоги и перспективы. 1996 - 2013. Часть 2. Фундаментальные исследования. Фотоника супрамолекулярных систем и наноструктур. 1996– 2013гг.»<http://www.photonics.ru/common/kniga.aspx>
16. Кон В. Электронная структура вещества – волновые функции и функционалы плотности // Успехи физических наук. 2002. Т.172, № 3. С. 336–348.
17. Попл Дж. А. Квантово-химические модели //Успехи физических наук, 2002, т.172, №3. с..349-356
18. Becke A.D. Density functional thermochemistry. III. The role of exact exchange // Journal of Chemical Physics. 1993. Vol. 98. № 7. P. 5648-5652.
19. Цирельсон В.Г. Квантовая химия. Молекулы, молекулярные системы и твёрдые тела: учебное пособие для вузов / В.Г. Цирельсон. – 3-е изд., испр. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 496 с.
20. Jinks M.A., Howard M., Rizzi F., Goldup S.M., Burnett A.D., Wilson A.J. Direct Detection of Hydrogen Bonds in Supramolecular Systems Using  $1\text{H}$ - $15\text{N}$  Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy // J Am Chem Soc. 2022. Vol. 144. Issue 50. P. 23127-23133. doi: 10.1021/jacs.2c10742.
21. Guzmán-Afonso C., Hong Y., Colaux H., Iijima H., Saitow A., Fukumura T., Nishiyama Y. Understanding hydrogen-bonding structures of molecular crystals via electron and NMR nanocrystallography // Nature Communications. 2019. Vol. 10. Issue 1. doi:10.1038/s41467-019-11469-2.
22. Bae J., Park S.H., Moon D. et al. Crystalline hydrogen bonding of water molecules confined in a metal-organic framework // Communications Chemistry. 2022. Issue 5. P. 51.

23. Hansen P.E., Spanget-Larsen J. NMR and IR Investigations of Strong Intramolecular Hydrogen Bonds // *Molecules*. 2017. Vol. 22. Issue. 4. doi: 10.3390/molecules22040552.
24. Morrison L.J., Chai W., Rosenberg J.A., Henkelman G., Brodbelt J.S. Characterization of hydrogen bonding motifs in proteins: hydrogen elimination monitoring by ultraviolet photodissociation mass spectrometry // *Phys Chem Chem Phys*. 2017. Vol. 19. Issue 30. P. 20057-20074. doi: 10.1039/c7cp04073c.
25. Low K., Tan S.Y.S., Izgorodina E.I. An ab initio Study of the Structure and Energetics of Hydrogen Bonding in Ionic Liquids // *Front Chem*. 2019. Apr Vol. 7, 208. doi: 10.3389/fchem.2019.00208.
26. Lugger S.J.D., Houben S.J.A., Foelen Y., Debije M.G., Schenning A.P.H.J., Mulder D.J. Hydrogen-Bonded Supramolecular Liquid Crystal Polymers: Smart Materials with Stimuli-Responsive, Self-Healing, and Recyclable Properties // *Chem Rev*. 2022. Vol. 122. Issue 5. P. 4946-4975. doi: 10.1021/acs.chemrev.1c00330.
27. Karas L. J., Wu C., Das R., & Wu J. I. Hydrogen bond design principles // *WIREs Computational Molecular Science*. 2020. Vol. 10. Issue 6. e1477. doi: 10.1002/wcms.1477.
28. Van der Lubbe S. C. C., Fonseca Guerra C. The Nature of Hydrogen Bonds: A Delineation of the Role of Different Energy Components on Hydrogen Bond Strengths and Lengths // *Chemistry - An Asian Journal*. 2019. Vol. 14. Issue 16. P. 2670-2679. doi:10.1002/asia.201900717.
29. Welsch M. E., Snyder S. A., Stockwell B. R. Privileged scaffolds for library design and drug discovery // *Current Opinion in Chemical Biology*. 2010. Vol. 14. Issue. 3. P. 347-361.
30. Palermo G., De Vivo M. (2015). Computational Chemistry for Drug Discovery. In *Encyclopedia of Nanotechnology* (pp. 1-15). Springer Dordrecht.
31. Burke K. Perspective on density functional theory // *The Journal of Chemical Physics*. 2012. Vol. 136. Issue 15. 150901.

32. Mittelstädt A., Schliwa A. Klenovský P. Modeling electronic and optical properties of III–V quantum dots—selected recent developments // *Light Sci Appl.* 2022. Vol. 11. Issue 17. doi:10.1038/s41377-021-00700-9
33. Cundari T. R., Deng J., Fu W., Klinckman T. R., Yoshikawa A. Molecular Modeling of Catalysts and Catalytic Reactions // *Journal of Chemical Information and Computer Sciences.* 1998. Vol. 38. Issue 6. P. 941–948. doi:10.1021/ci9802171
34. Lewars E.G. *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*, 2nd ed, 2010. – 669 p.
35. Foresman J.B., Frisch E. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods.* Gaussian, Inc, 1995. – 335 p.
36. Saenz-Méndez P., Genheden S., Reymer A., Eriksson L.A. (2017). *Computational Chemistry and Molecular Modelling Basics. Computational Tools for Chemical Biology* (pp.1-38). Royal Society of Chemistry.
37. A. Szabo and N. S. Ostlund *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory.* Dover Publications, 1996. – 480 p.
38. Gaussian, Inc. (2023). *Gaussian 16, Revision A.03.* Gaussian, Inc.
39. Минкин В.И., Симкин Б.Я., Миняев Р.М. *Теория строения молекул.* - Ростов-на-Дону: Феникс. 1997. 560с.
40. Бабаян В.И., Березин В.И. *Квантовохимическая теория строения и скоростей химических реакций. Ч.1. Методы расчета электронной структуры и строения молекул.* Изд-во Сарат. ун-та, 1987. 115 с.
41. Grimme S., Antony J., Ehrlich S., Krieg H. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu // *The Journal of Chemical Physics.* 2010. Vol. 132. Issue 15. 154104.
42. Warshel A., Levitt M. Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme // *Journal of Molecular Biology.* 1976. Vol. 103. Issue 2. P. 227-249.

43. Ye N, Yang Z, Liu Y. Applications of density functional theory in COVID-19 drug modeling // Drug Discov Today. 2022. Vol. 27. Issue. 5. P.1411-1419. doi: 10.1016/j.drudis.2021.12.017.
44. Pauling L. The nature of the chemical bond. application of results obtained from the quantum mechanics and from a theory of paramagnetic susceptibility to the structure of molecules. // J. Am. Chem. Soc. 1931. Vol. 53 Issue 4. P. 1367 1400.
45. Эпштейн Л.М, Шубина Е.С. Многоликая водородная связь // «Природа». 2003.№ 6. С. 127-133.
46. Morokuma K. Molecular Orbital Studies of Hydrogen Bonds. III. C=O...H-O Hydrogen Bond in H<sub>2</sub>CO...H<sub>2</sub>O and H<sub>2</sub>CO...2H<sub>2</sub>O / K. Morokuma // J. Chem.Phys. 1971. Vol. 55. Issue 3. P. 1236–1244.
47. Han K., Sun Y. Hydrogen Bonding and Transfer in the Excited State. John Wiley & Sons, 2010. – 948 p.
48. Чулановский В.М. – В кн.: Водородная связь/ под ред. Н.Д. Соколова, В.М. Чулановского. М.: Наука, 1964, с. 154-164.
49. Hadzi D., Bratos S. – In: The hydrogen bond/Ed. P. Schuster et al. Amsterdam: North-Holland, 1976, p. 567-611.
50. Wood J.L. – In: Spectroscopy and structure of molecular complex/Ed. Yarwood J. London; N.Y.: Plenum Press, 1973, ch. 4, p. 303 – 385.
51. Соколов Н.Д. – Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева, 1972, т. 17, №3, с. 299 – 308.
52. Murthy A.S.N., Rao C.N.R. – Appl. Spectrosc. Revs, 1968, v. 2, N1, p. 69 – 191.
53. Pimentel G.C., McClellan A.L. – Ann. Rev. Phys. Chem., 1971, v. 22, p. 347 – 385.
54. Иогансен А.В. Инфракрасная спектроскопия и спектральное определение энергии водородной связи. // Водородная связь / отв. ред. Н. Д. Соколов. М.: Наука, 1981. С.112-155.



55. Перельгин И.С. – В кн.: Термодинамика и строение растворов. Иваново: Ивановский химико-технологический институт, 1976, №3, с. 83 – 101.
56. Rundle R. E., Parasol M. O-H stretching frequencies in very short and possibly symmetrical hydrogen bonds // *J. Chem. Phys.* 1952. Vol. 20. P. 1487–88.
57. Melikova S. M., Rutkowski K. S., Gurinov A. A., Denisov G. S., Rospenk M., Shenderovich I. G. FTIR study of the hydrogen bond symmetry in protonated homodimers of pyridine and collidine in solution // *Journal of Molecular Structure.* 2012. Vol. 1018. Issue 1. P. 39-44.
58. A.C. Legon A reduced radial potential energy function for the halogen bond and the hydrogen bond in complexes  $B \cdots XY$  and  $B \cdots HX$ , where X and Y are halogen atoms // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2014. Vol. 16. Issue 45. doi: 10.1039/c4cp01444h.
59. Howard J., Tomkinson J., Eckert J., Goldstone J.A. Taylor, A.D. J. Inelastic neutron scattering studies of some intramolecular hydrogen bonded complexes: A new correlation of  $\gamma(OHO)$  vs  $R(OO)$  // *Chem. Phys.* 1983. Vol. 78. Issue P. 3150-3155. doi:10.1063/1.445230.
60. Libowitzky E. Correlation of O-H stretching frequencies and O-H $\cdots$ O hydrogen bond lengths in minerals // *Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly.* 1999. Vol. 130. P. 1047-1059. doi:10.1007/BF03354882
61. Mikenda W., Steinbiick S. Stretching frequency versus bond distance correlation of O-D(H) $\cdots$ F hydrogen bonds in solid hydrates. *Journal of molecular structure* // *Journal of Molecular Structure.* 1994. Vol. 326. P. 123-130. doi:10.1016/0022-2860(94)08339-8
62. Barrow G.M. The nature of hydrogen bonded ion pairs: the reaction of pyridine and carboxylic acids in chloroform // *Journal of the American Chemical Society.* 1956. V.78. P. 5802 - 5806.
63. Asfin R. E., Denisov G. S., Tokhadze K. G. The infrared spectra and enthalpies of strongly bound dimers of phosphinic acids in the gas phase.

- (CH<sub>2</sub>Cl)<sub>2</sub>POOH and (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>POOH // *Journal of Molecular Structure*. 2002. Vol. 608. Issue 2-3. P. 161-168. doi:10.1016/S0022-2860(01)00925-5.
64. Asfin R.E., Denisov G.S., Poplevchenkov D.N. IR ν(OH) band and Dimerization of Phosphorus Acids in the Gas Phase and Solid State // *Pol. J. Chem.* 2002. Vol. 76. N. 9. P. 1223–1231.
65. Boys S. F., Bernardi, F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies // *Molecular Physics*. 1970. Vol. 19. Issue 4. P. 553-566.
66. Piskorz P., Jensen P., Krygowski T. M. Ab initio calculations of vibrational spectra of hydrogen-bonded systems // *Chemical Reviews*. 1995. Vol. 95. Issue. 3. P. 741-760.
67. P. Atkins and J. de Paula *Physical Chemistry*, 9th ed. Oxford University Press, 2010. – 1085 p.
68. Pimentel G.C. Hydrogen Bonding and Electronic Transitions: The Role of the Franck-Condon Principle // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. Vol. 79. Issue 13. P. 3323-3326.
69. Eschrig, H. *The fundamentals of density functional theory*. B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart- Leipzig. 1996. 204 p.
70. Thomas L. H. The calculation of atomic fields. // *Proc. Cambridge Phil. Soc.* 1927. Vol. 23. P. 542-548.
71. Fermi E. Un metodo statistico per la determinazione di alcune priorieta dell'atome // *Rend. Acad. Naz. Lincei*. 1927. Vol. 6. P. 602-607.
72. Elliott H. Lieb. Thomas-Fermi and related theories of atoms and molecules // *Rev. Mod. Phys.* 1981. Vol. 53. Issue 4. P. 603-641.
73. Hohenberg P. and Kohn W. Inhomogeneous electron gas. // *Phys. Rev.* 1964. Vol. 136. Issue 3B. P. B864-B871.
74. Деев С.М., Лебедеенко Е.Н. Адресные бифункциональные белки и гибридные наноструктуры для диагностики и лечения рака // *Молекулярная биология*. 2017. Т.51. №6. С. 907-926. doi: 10.7868/S0026898417060040

75. Бражник К.И., Барышникова М.А., Соколова З.А., Набиев И.Р., Суханова А.В. // Российский биотерапевтический журнал. 2013. Т.12. № 3. С. 12.
76. Dolez P.I. Nanomaterials. Definition, classification and application in Nanoengineering: global approaches to health and safety issues. Amsterdam: Elsevier, 2015, P. 3.
77. Реджепов Д.Т., Водяшкин А.А., Сергородцева А.В., Станишевский Я.М. Биомедицинское применение наночастиц серебра // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10, №3. С. 176-187. doi: 10.33380/2305-2066-2021-10-3-176-187
78. Lara HH, Ayala-Nuñez NV, Ixtepan-Turrent L, Rodriguez-Padilla C. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1 // J Nanobiotechnology. 2010. Vol. 8. Issue 1. doi: 10.1186/1477-3155-8-1. PMID: 20145735; PMCID: PMC2818642.
79. Gonzalez-Carter D., Leo B., Ruenraroengsak P. Silver nanoparticles reduce brain inflammation and related neurotoxicity through induction of H<sub>2</sub>S-synthesizing enzymes // Scientific Reports. 2017. Vol. 7. Issue 1. P. 42871. doi:10.1038/srep42871
80. Kovács D, Igaz N, Gopisetty MK, Kiricsi M. Cancer Therapy by Silver Nanoparticles: Fiction or Reality? Int J Mol Sci. 2022. Vol. 23. Issue 2. P. 1031-1034. doi: 10.3390/ijms23020839
81. Bouccara S., Sitbon G., Fragola A., Lorette V., Lequeny N., Pons T. // Current Opinion in Biotechnology. 2015. Vol. 34. P. 65. doi: 10.1016/j.copbio.2014.11.018
82. Билан Р.С., Бражник , Шамс П., Д. Бати , И.Р. Набиев, А.В. Суханова // Российский биотерапевтический журнал. 2014. Т.14. № 4. С. 11.
83. Martínez-Castañón G.A., Sánchez-Loredo M.G., Dorantes H.J., Martínez-Mendoza J.R, Ortega-Zarzosa G., Facundo Ruiz Characterization of silver sulfide nanoparticles synthesized by a simple precipitation method // Materials Letters. 2005. Vol. 59. Issue 4. P. 529-534.

84. Siti Machmudah, Takayuki Sato, Wahyudiono, Mitsuru Sasaki, Motonobu Goto Silver nanoparticles generated by pulsed laser ablation in supercritical CO<sub>2</sub> medium // HighPressure Research. 2012. Vol. 32. P. 1-7. doi:10.1080/08957959.2011.649277
85. Malik Maqsood Ahmad, Wani Mohammad, Younus Hashim Mohd Ali Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials: 1st Nano Update // Arabian Journal of Chemistry. 2012. Vol. 5. Issue 4. P. 397-417.
86. Журавлева О.А., Воейкова Т.А., Кедик С.А., Грицкова И.А., Гусев С.А., Ретивов В.М., Кожухова Е.И., Дебабов В.Г. //Тонкие химические технологии. 2019. Т. 14. № 3. С. 50. doi: 10.32362/2410-6593-2019-14-3-50-59.
87. Воейкова Т.А., Журавлева О.А., Булушова Н.В., Вейко В.П., Исмагулова Т.Т., Лупанова Т.Н., Шайтан К.В., Дебабов В.Г. // Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. 2017. Т. 35. № 4. С. 151. doi: 10.18821/0208-0613-2017-35-4-151–156.
88. Rindisbacher E. A., Macnab R. B. Identification of the flagellar protein flagellin in Escherichia coli. // Journal of Bacteriology. 1953. Vol. 66. Issue. 4. P. 389-397.
89. Murtaza A., Afzal H., Doan T.-D., Ke, G.-M., Cheng L.-T. Flagellin Improves the Immune Response of an Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) Subunit Vaccine. // Vaccines. 2022. Vol. 10. Issue 11. P.1780.
90. Метлина А.Л. // Успехи биологической химии. 2001. Т.41. С. 229.
91. Delange R. J., Chang J. Y., Shaper J.H., Glaser A.N. // Journal of Biological Chemistry. 1976. Vol.251, Issue 3, P. 705.
92. RCSB Protein Data Bank. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://www.rcsb.org/3d-view/6GOW> doi: 10.2210/pdb6GOW/pdb (Дата обращения: 10.10.2021).
93. Leninger A.L. Principles of biochemistry. Published by Worth Publishers, Inc. 1982; Ленинджер А. Основы биохимии: в 3-х т. Т.1. Пер. с англ. М.: Мир, 1985, 367с.

94. Бокарев А. Н., Пластун И. Л. Межмолекулярное взаимодействие в двухкомпонентных смесях наноалмазов и доксорубицина // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Физика. 2018. Т. 18, вып. 3. С. 177-188. doi: 10.18500/1817-3020-2018-18-3-177-188
95. Chiodo S., Russo N., Sicilia E. // Journal of Chemical Physics. 2006. Vol. 125. Issue 10. P. 104107. doi: 10.1063/1.2345197
96. Frisch M.J., Trucks G.W., Cheeseman J.R., Scalmani G., Caricato M., Hratchian H.P., Li X., Barone V., Bloino J., Zheng G. et al. Gaussian 09, Revision A.02. Wallingford CT: Gaussian Inc., 2009
97. Avogadro – Free cross-platform molecular editor – Avogadro. Funding for the Avogadro manual was provided by the University of Pittsburgh Department of Chemistry. Pittsburgh, Pennsylvania, 2015. Режим доступа <https://avogadro.cc/> (Дата обращения: 10.12.2021).
98. Free Spectral Database [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/7ROZTVrsbdM>
99. Free Spectral Database [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/8u9s5tkSShZ> (Дата обращения: 10.10.2021).
100. Rogachev A.A., Yarmolenko M.A., Rogachou A.V., Tapalski D.V., Liu X., Gorbachev D.L. // RSC Advances. 2013. Vol. 3. P. 11226. doi: 10.1039/c3ra23284k
101. Free Spectral Database [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/7kr7mSoNW0L> (Дата обращения: 10.10.2021).
102. Carneiro J., Döll-Boscardin P.M., Fiorin B.C., Nadal J.M., Farago P.V., de Paula J.P. // Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016. Vol. 52, Issue 4, P.645. doi: 10.1590/S1984-82502016000400008
103. Jeffrey G. A. An introduction to hydrogen bonding. New York: Oxford university press, 1997, 303 p.
104. Трушина Д. Б., Бурова А. С., Бородина Т. Н., Солдатов М. А., Ключко Т. Ю., Букреева Т. В. Термоиндуцированное сжатие капсул из комплекса «сульфат декстрана/полиаргинин» с магнитными наночастицами в составе оболочки // Коллоидный журнал. 2018. Т. 80, № 6, с. 738–744.

105. Sergeeva A.S., Gorin D.A., Volodkin D.V. Polyelectrolyte Microcapsule Arrayes: Preparation and Biomedical Applications // *BioNanoScience*. 2014. Vol. 4. P. 1-14.
106. Antipina M. N., Kiryukhin M. V., Skirtach A. G., Sukhorukov G. B. Micropackaging via Layer-by-Layer assembly: microcapsules and microchamber arrays. // *Int. Mater. Rev.* 2014. Vol. 59. P. 224–244.
107. Liu W., Wang X., Bai K., Lin M., Sukhorukov G. B., Wang W. Microcapsules functionalized with neuraminidase can enter vascular endothelial cells in vitro // *J.R.Soc.Interface*. 2014. Vol. 11. P. 20141027. doi: 10.1098/rsif.2014.1027
108. Kim B. S., Park S. W., Hammond P. T. Hydrogen-bonding layer-by-layer-assembled biodegradable polymeric micelles as drug delivery vehicles from surfaces // *ACS nano*. 2008. Vol. 2. Issue 2. P. 386-392. doi: 10.1021/nn700408z
109. Колебательные спектры основных аминокислот в разных фазовых состояниях : монография / Г.Н. Тен. – Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2017. – 188 с.
110. Peters T. Jr. All About Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. Academic Press, 1996. – 432 p.
111. Peters T. Jr. Serum Albumin // *Advances in Protein Chemistry*. 1985. Vol. 37. P. 161-245.
112. Тен Г. Н., Герасименко А. Ю., Щербакова Н. Е., Баранов В. И. Интерпретация ИК и КР спектров альбумина // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика*. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 43-57. doi: 10.18500/1817-3020-2019-19-1-43-57
113. Shchukin D.G. Patel A.A., Sukhorukov G.B., Lvov Y.M. Nanoassembly of biodegradable microcapsules for DNA encasing // *Journal of the American Chemical Society*. 2004. Vol. 126. Issue 11. P. 3374-3375. doi: 10.1021/ja036952x
114. Navolokin N.A., German S.V., Bucharskaya A.B., Godage O.S., Zuev V.V., Maslyakova G.N., Pyataev N.A., Zamyshliaev P.S., Zharkov M.N., Terentyuk G.S., Gorin D.A., Sukhorukov G.B. Systemic Administration of Polyelectrolyte

- Microcapsules: Where Do They Accumulate and When? In Vivo and Ex Vivo Study. // *Nanomaterials*. 2018. Vol. 8. Issue 10. P.812. doi: 10.3390/nano8100812
115. Sindeeva O.A., Verkhovskii R.A., Abdurashitov A.S., Voronin D.V., Gusliakova O.I., Kozlova A.A. Effect of Systemic Polyelectrolyte Microcapsule Administration on the Blood Flow Dynamics of Vital Organs // *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2020. Vol. 6. Issue 1. P.389–397 doi: 10.1021/acsbomaterials.9b01669
116. Inozemtseva O.A., Voronin D.V., Petrov A.V., Petrov V.V., Lapin S.A., Kozlova A.A., et al. Disruption of Polymer and Composite Microcapsule Shells under High-Intensity Focused Ultrasound. // *Colloid Journal*. 2018. Vol. 80. Issue 6. P. 771–782. doi:10.1134/S1061933X19010071
117. Kopach O., Pavlov A.M., Sindeeva O.A., Sukhorukov G.B., Rusakov D.A. Biodegradable Microcapsules Loaded with Nerve Growth Factor Enable Neurite Guidance and Synapse Formation. // *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13. P. 25. doi: 10.3390/pharmaceutics13010025
118. Prikhozhenko E.S., Gusliakova O.I., Kulikov O.A., Mayorova O.A., Shushunova N.A., Abdurashitov A.S., Bratashov D.N., Pyataev N.A., Tuchin V.V., Gorin D.A., Sukhorukov G.B., Sindeeva O.A. Target delivery of drug carriers in mice kidney glomeruli via renal artery. Balance between efficiency and safety // *Journal of Controlled Release*. 2021. Vol. 329. P. 175-190. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.11.051.
119. Nieth C., Lage H. Induction of the ABC-Transporters Mdr1/P-gp (Abcb1), Mrp1 (Abcc1), and Bcrp (Abcg2) during establishment of multidrug resistance following exposure to mitoxantrone // *Journal of Chemotherapy*. 2005. Vol. 17. Issue 2. P. 215–223. doi: 10.1179/joc.2005.17.2.215
120. Бокарев А.Н., Пластун И.Л. Программа графической визуализации результатов численного моделирования на основе методов квантовой механики // Свидетельство Роспатента о государственной регистрации программы для ЭВМ №2015616290 от 05.06.2015

121. Plastun I.L., Bokarev A.N., Zakharov A.A., Naumov A.A. Supramolecular interaction of modified nanodiamonds, biomolecules and drugs: molecular modeling // *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures*. 2020. Vol. 28. Issue. 3. P.183. doi: 10.1080/1536383X.2019.1686618
122. Toh T.B., Lee D.-K., Hou W., Abdullah L.N., Nguyen J., Ho D., Chow E. K.-H. Nanodiamond–Mitoxantrone Complexes Enhance Drug Retention in Chemoresistant Breast Cancer Cells // *Molecular Pharmaceutics*. 2014. Vol. 11. Issue 8. P. 2683–2691. doi: 10.1021/mp5001108.
123. FreeSpectralDatabase [Электронныйресурс]. Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/1at2yD3X1YB> (Дата обращения: 26.08.2021)
124. FreeSpectralDatabase [Электронныйресурс]. Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/1E2d4WwETI5> (Дата обращения: 26.08.2021)
125. Leiro V., Parreira P., Freitas S. C., Martins M. C. L., Pêgo A.P. Chapter 2 - Conjugation Chemistry Principles and Surface Functionalization of Nanomaterials. In *Micro and Nano Technologies, Biomedical Applications of Functionalized Nanomaterials*. Elsevier, 2018. P. 35-66.
126. Hermanson G. *Bioconjugate Techniques*. N.-Y.: Academic Press, 2008. – 1003 p.
127. Fuller C. W., Kumar Sh, Porel M., Chien M., Bibillo A., Stranges P. B., Dorwart M., Tao Ch., Li Z., Guo W., Shi Sh., Korenblum D., Trans A., Aguirre A., Liu E., Harada E. T., Pollard J., Bhat A., Cech C., Yang A., Arnold C., Palla M., Hovis J., Chen R., Morozova I., Kalachikov S., Russo J. J.; Kasianowicz J. J., Davis R., Roeber S., Church G. M., Ju J. Real-time single-molecule electronic DNA sequencing by synthesis using polymer-tagged nucleotides on a nanopore array // *PNAS*. 2016. Vol. 113. Issue 19. P. 5233-5238. doi:10.1073/pnas.1601782113.
128. Senavirathne G., Jaszczur M., Auerbach P. A., Upton T. G., Chelico L., Goodman M. F., Rueda D. Single-stranded DNA Scanning and Deamination by APOBEC3G Cytidine Deaminase at Single Molecule Resolution // *Journal of*



- Biological Chemistry. 2012. Vol. 287. Issue.19. P.15826–15835.  
doi:10.1074/jbc.m112.342790
129. Lee CY, Nguyen PC, Grainger DW, Gamble LJ, Castner DG. Structure and DNA hybridization properties of mixed nucleic acid/maleimide-ethylene glycol monolayers // Analytical Chemistry. 2007. Vol.79. Issue.12. P.4390-400. doi: 10.1021/ac0703395.
130. Koniev O., Wagner A. Developments and recent advancements in the field of endogenous amino acid selective bond forming reactions for bioconjugation // Chem. Soc. Rev.: journal. 2015. Vol. 44. Issue 15. P. 5495 - 5551.  
doi:10.1039/C5CS00048C.
131. Rice A. M., Waggoner N. M., Kopeček D. J. Tracking the fate of polymer therapeutics with maleimide-thiol coupling // Bioconjug. Chem. 2018. Vol. 29. Issue 1. P. 28-36. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.7b00538.
132. Kaldybekov D.B., Tonglairoum P., Opanasopitb P., Khutoryanskiy V.V Mucoadhesive maleimide-functionalised liposomes for drug delivery to urinary bladder // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2018. V. 111. P. 83–90. DOI: 10.1016/j.ejps.2017.09.039.
133. Tonglairoum P., Brannigan R.P., Opanasopit P, Khutoryanskiy, V.V. Maleimide-bearing nanogels as novel mucoadhesive materials for drug delivery // Journal of Materials Chemistry B. 2016. Vol. 4. P. 6581- 6587.
134. Cava M. P., Deana A. A., Muth K., Mitchell M. J. N-Phenylmaleimide // Organic Syntheses, Coll. 1973. V.5. - P. 944.
135. Gois P. M.P., Ravasco J., Faustino H., Trindade A. Bioconjugation with Maleimides: A useful Tool for Chemical Biology // Chemistry - A European Journal. 2018. Vol. 25. doi:10.1002/chem.201803174
136. Gessner, I., Neundorf, I. Nanoparticles Modified with Cell-Penetrating Peptides: Conjugation Mechanisms, Physicochemical Properties, and Application in Cancer Diagnosis and Therapy // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21. Issue 7. P. 2536. doi:10.3390/ijms21072536

137. Park J., Chariou, P. L., Steinmetz N. F. Site-Specific Antibody Conjugation Strategy to Functionalize Virus-Based Nanoparticles // *Bioconjugate Chemistry*. 2020. Vol.31. Issue 5. P. 1408-1416. doi:10.1021/acs.bioconjchem.0c00118.
138. Sardar M., Perwez M., Ahmad R., Mukherjee, J., & Gupta M. (2018). Immobilization of Enzymes on Magnetic Nanoparticles.
139. Sapsford K. & Algar W., Berti L., Gemmill K., Casey B., Oh E., Stewart M., Medintz I. Functionalizing Nanoparticles with Biological Molecules: Developing Chemistries that Facilitate Nanotechnology // *Chemical reviews*. 2013. Vol. 113. Issue. 3. P. 1904–2074. doi:10.1021/cr300143v.
140. Zhu J., Avakyan N., Kakkis A., Hoffnagle A.M., Han K., Li Y., Zhang Z., Choi T.S., Na Y., Yu C.J., Tezcan F.A. Protein Assembly by Design // *Chem Rev*. 2021. Vol. 121. Issue 22. P. 13701-13796. doi: 10.1021/acs.chemrev.1c00308.
141. Электронный ресурс. Режим доступа: <https://spectrabase.com/spectrum/65a1OxSTojV>
142. Cruzat V.F., Rogero M.M., Tirapegui J. Effects of supplementation with free glutamine and the dipeptide alanyl-glutamine on parameters of muscle damage and inflammation in rats submitted to prolonged exercise. *Cell Biochem Funct*. 2010 Nov;28(8):24-30. doi: 10.1002/cbf.1736. PMID: 20878670.
143. Cluntun A.A., Lukey M.J., Cerione R.A., Locasale J.W. Glutamine Metabolism in Cancer: Understanding the Heterogeneity // *Trends Cancer*. 2017. Vol. 3. Issue 3. P. 169-180. doi: 10.1016/j.trecan.2017.01.005.
144. Тен Г. Н., Щербакова Н. Е., Баранов В.И. Теоретический анализ структуры и колебательных спектров КР аспарагиновой и глутаминовой аминокислот в воде при разных рН // *Естественные науки*. 2017. № 3(60). С. 94–107.
145. Katsuki H. (2005). Solid-State Properties of Dicarboxylic Acids. In *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry* (pp. 947-952). Taylor & Francis.
146. Corradini P., Frasci A., & Martuscelli E. Conformational polymorphism of unsaturated dicarboxylic acids // *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications*. 1969. Issue 14. P. 778-780.

147. MacGillivray L. R., Atwood J. L. Stereoselective organic reactions in molecular hosts: molecular recognition and chirality amplification // *Chemical reviews*. 1997. Vol. 97. Issue. 6. P.1713-1730.
148. Bernstein, J. (2002). *Polymorphism in molecular crystals*. Oxford University Press.
149. Смирнов А.В., Нестерова О.Б., Голубев Р.В. Янтарная кислота и ее применение в медицине. Часть I. янтарная кислота: метаболит и регулятор метаболизма организма человека // *Нефрология*. 2014 Т. 18, №. 2, С. 33-41.
150. Смирнов А.В., Нестерова О.Б., Голубев Р.В. Янтарная кислота и ее применение в медицине. Часть II. Применение янтарной кислоты в медицине // *Нефрология*. 2014 Т. 18, №. 4, С. 12-24.
151. Wang Y, Rui R, Zhang X, Sun B. Pharmacokinetic study on the interaction between succinic acid and irbesartan in rats and its potential mechanism. // *Pharm Biol*. 2021. Vol. 59. Issue 1. P.1619-1622. doi: 10.1080/13880209.2021.2002370
152. Chistyakov D., Sergeev G. The Polymorphism of Drugs: New Approaches to the Synthesis of Nanostructured Polymorphs // *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12. Issue 1. Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1999-4923/12/1/34> (Дата обращения: 01.05.2022).
153. Javadzadeh S. Y., Dizaj M. D., Vazifehasl Z., Mokhtarpour M. Recrystallization of Drugs — Effect on Dissolution Rate // *Recrystallization in Materials Processing*. London, United Kingdom: IntechOpen. 2015. P. 191-211.
154. Фольмер М. Кинетика образования новой фазы. Пер. с нем./Под ред. К. М. Горбуновой и А. А. Чернова. — М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1986. - 208 с.
155. Ainurofiq A., Dinda K.E., Pangestika M.W., Himawati U., Wardhani W.D., Sipahutar Y.T. The effect of polymorphism on active pharmaceutical ingredients: A review // *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2020. Vol. Issue 11. P. 1621-1630.

156. Chang R.K., Guo J.W., Liang Y.C. Preparation of Crystalline Form of Imatinib by Modified Antisolvent Precipitation Process // *J. Chem. Eng. Data*. 2015. Vol. 60. P. 2212-2219.
157. Ticehurst M.D., White A.D., Hillier I.H. (2017). Characterisation of Polymorphs and Metastable Phases. In *Handbook of Crystal Growth* (2nd Edition), Vol. 1, Elsevier, 359-386.
158. McCoy L. L. The Geometry of Intramolecular Hydrogen Bonding in 1,2-Dicarboxylic Acids // *Journal of the American Chemical Society*. 1967. Vol. 89. Issue 7. P. 1673–1677. doi: 10.1021/ja00983a024
159. Yu Q., Dang L., Black S., Wei H., Huang, X. Crystallization of the polymorphs of succinic acid via sublimation at different temperatures in the presence or absence of water and isopropanol vapor // *Journal of Crystal Growth*. 2012. Vol. 340. Issue 1. P. 209-215.
160. Elly van der Voort. The morphology of succinic acid crystals: The role of solvent interaction // *Journal of Crystal Growth*. 1991. Vol 110. Issue 4. P. 662–668. doi: 10.1016/0022-0248(91)90621-B
161. Селеменев В.Ф., Рудаков О.Б., Мироненко Н.В., Карпов С.И., Семенов В.Н., Беланова Н.А., Синяева Л.А., Лукин А.Н. Гидратация и межмолекулярные взаимодействия в карбоновых кислотах // *Конденсированные среды и межфазные границы*. 2020 Т. 22, №. 3, С. 373-387.
162. Werner J., Julin J., Dalirian M., Prisle N. L., Öhrwall G., Persson I., Riipinen I. Succinic acid in aqueous solution: connecting microscopic surface composition and macroscopic surface tension // *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2014. Vol. 16. iss. 39 P. 21486–21495. doi: 10.1039/c4cp02776k
163. Chen C., Wang X., Binder K., Ghahremanpour M. M., van der Spoel, D., Pöschl U., Su H., and Cheng Y. Energetic analysis of succinic acid in water droplets: insight into the size-dependent solubility of atmospheric nanoparticles // *Atmospheric Chemistry and Physics Discuss* [preprint]. 2021. doi:10.5194/acp-2020-1329.

**Публикации по теме диссертации в изданиях из перечня ВАК РФ и изданиях, входящих в базу цитирования Scopus**

164. Plastun I.L., **Zakharov A.A.**, Naumov A.A. Features of Silver Sulfide Nanoparticles Bacterial Synthesis: Molecular Modeling // IEEEExplore. Actual Problems of Electron Devices Engineering (APEDE), 2020 International Conference. 2020. P. 318-322. DOI: 10.1109/APEDE48864.2020.9255570.
165. Plastun I.L., **Zakharov A.A.**, Naumov A.A. Molecular mechanisms of metal nanoparticles formation by bacterial synthesis // Proceedings of SPIE. Saratov Fall Meeting 2020: Laser Physics, Photonic Technologies, and Molecular Modeling. 2021. Vol. 11846. P. 1184617. DOI: 10.1117/12.2590081.
166. Пластун И. Л., **Захаров А.А.**, Наумов А. А., Жулидин П.А., Филин П.Д. Спектральные проявления молекулярных механизмов образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза // Оптика и спектроскопия (Optics and spectroscopy). 2021. Т. 129, вып. 6. С. 717-726. DOI: 0.21883/OS.2021.06.50982.1k-21.
167. Пластун И.Л., Наумов А.А., **Захаров А.А.** Механизмы межмолекулярного взаимодействия митоксантрона с полиэлектролитными капсулами адресной доставки // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Физика. 2021. Т. 21, вып. 4. С. 329-342. DOI: 10.18500/1817-3020-2021-21-4-329-342
168. Пластун И. Л., **Захаров А. А.**, Бабков Л. М., Яковлев Р. Ю. Проявления полиморфизма и влияние водного окружения на физико-химические свойства модифицированной янтарной кислоты // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2022. Т. 22, вып. 3. С. 229-243. DOI: 10.18500/1817-3020-2022-22-3-229-243
169. Пластун И. Л., **Захаров А.А.**, Наумов А. А. Спектральные проявления механизмов межмолекулярного взаимодействия модифицированных малеимидом полиэлектролитных капсул, используемых в таргетной терапии // Оптика и спектроскопия (Optics and spectroscopy). 2023. Т.131, вып. 6. С.117-128.

### Публикации по теме диссертации в других изданиях

170. **Захаров А.А.,** Пластун И.Л., Наумов А.А. Моделирование взаимодействия элементов буферного раствора с ДНК-полимеразой РНІ29 в процессе ДНК-секвенирования / Математика и математическое моделирование. Сборник материалов XIII Всероссийской молодежной научно-инновационной школы. –Саров: Интерконтакт. 2019. С.248-251.
171. **Захаров А.А.,** Пластун И.Л., Наумов А.А. Параметры межмолекулярного взаимодействия элементов, участвующих в процессе ДНК-секвенирования на основе полимеразы РНІ29 / Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами. Сборник статей шестой Всероссийской научной школы-семинара – Саратов: Саратовский источник. 2019. С. 133-136.
172. **Захаров А.А.,** Пластун И.Л., Наумов А.А. Компьютерное моделирование межмолекулярного взаимодействия элементов, участвующих в процессе одномолекулярного секвенирования ДНК / Информационные технологии и математическое моделирование (ИТММ-2019). Материалы XVIII Международной конференции имени А.Ф. Терпугова – Часть 1. – Томск: НТЛ. 2019. С. 225-229.
173. **Захаров А.А.,** Пластун И.Л., Наумов А.А. Моделирование межмолекулярного взаимодействия элементов, участвующих в процессе одномолекулярного ДНК-секвенирования на основе полимеразы РНІ29 / Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2019. Материалы Всероссийской школы-семинара. – Саратов: Саратовский источник. 2019. С.121-124.
174. **Zakharov A.A.,** Plastun I.L., Naumov A.A. Intermolecular interaction of phi29 DNA polymerase with carbon nanostructures and buffer solution in process of single-molecular DNA sequencing: molecular modeling // Book of Abstracts 14th International conference Advanced Carbon Nanostructures (ACNS'2019). — St. Petersburg, Russia. 2019. P. 312.

175. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л. Моделирование межмолекулярного взаимодействия компонент ДНК- секвенирования в реальном времени / Математика и математическое моделирование. Сборник материалов XIV Всероссийской молодежной научно-инновационной школы. –Саров: Интерконтакт. 2020. С.52-53.
176. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л. Наумов А.А. Молекулярное моделирование взаимодействия солей металлов и флагеллина при образовании наночастиц сульфида серебра / Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2020. Материалы Всероссийской школы-семинара – Саратов: Саратовский источник. 2020. С. 130-133.
177. Пластун И.Л. **Захаров А.А.**, Наумов А.А. Моделирование межмолекулярного взаимодействия флагеллина и солей металлов в ходе образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2020. Т. 5, №3. С. 467–473.
178. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Наумов А.А. Роль метиллизина в процессе образования наночастиц сульфида серебра методом бактериального синтеза: квантовохимический анализ / Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами. Сборник статей восьмой Всероссийской научной школы-семинара – Саратов: Саратовский источник. 2021. С. 134-138.
179. Наумов А.А., Пластун И.Л., Бокарев А.Н., **Захаров А.А.** Моделирование межмолекулярного взаимодействия белковых структур с солями металлов в водном окружении /Математика и математическое моделирование. Сборник материалов XV Всероссийской молодежной научно-инновационной школы. – Саров: Интерконтакт. 2021. С.116-117.
180. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Наумов А.А. Моделирование межмолекулярного взаимодействия флагеллина с солями металлов при бактериальном синтезе наночастиц /Математика и математическое

моделирование. Сборник материалов XV Всероссийской молодежной научно-инновационной школы. –Саров: Интерконтакт. 2021. С.127-128.

181. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Наумов А.А. Моделирование взаимодействия солей металлов и флагеллина в процессе бактериального синтеза наночастиц сульфида цинка / Нанoeлектроника, нанофотоника и нелинейная физика: Сборник трудов XVI Всероссийской конференции молодых учёных –Саратов: ТехноДекор. 2021. С.50-51.

182. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Наумов А.А. Сравнительный анализ взаимодействия метиллизина и солей рабочего раствора в ходе биосинтеза наночастиц сульфида цинка и сульфида серебра: молекулярное моделирование / Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2021. Материалы XVI международной научной конференции – Севастополь. 2021. С.67-68.

183. Наумов А.А., Пластун И.Л., **Захаров А.А.** Анализ механизмов межмолекулярного взаимодействия полиэлектролитных капсул с митоксантроном в ходе его адресной доставки /Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами. Сборник статей восьмой Всероссийской научной школы-семинара – Саратов: Саратовский источник. 2021. С. 130-133.

184. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л. Исследование конформационного полиморфизма янтарной кислоты путём анализа структур конформеров: молекулярное моделирование / Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2021. Материалы Всероссийской школы-семинара – Саратов: Саратовский источник. 2021. С.177-180.

185. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Наумов А.А. Анализ конформационного полиморфизма янтарной кислоты методами квантовохимического моделирования /Математика и математическое моделирование. Сборник материалов XVI Всероссийской молодежной научно-инновационной школы. –Саров: Интерконтакт. 2022. С.129-130.



186. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Наумов А.А. Исследование межмолекулярного взаимодействия иполиморфизма янтарной кислоты методами теории функционала плотности // Квантово-химические расчёты: структура и реакционная способность органических и неорганических молекул. X Всероссийская молодежная школа-конференция. Сборник научных статей. –Иваново: Иван. гос. ун-т. 2022. С.157-159.
187. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Наумов А.А. Анализ конформеров и влияние водного окружения при получении полиморфных модификаций янтарной кислоты: молекулярное моделирование /Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами. Сборник статей девятой Всероссийской научной школы-семинара – Саратов: Саратовский источник. 2022. С. 265-268.
188. **Захаров А.А.**, Пластун И.Л. Анализ механизмов межмолекулярного взаимодействия полиэлектролитных капсул с малеимидом: молекулярное моделирование /Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2022. Материалы Всероссийской школы-семинара – Саратов: Саратовский источник. 2022. С.130-134.
189. Пластун И.Л., **Захаров А.А.**, Жулидин П.А., Брыксин К.А., Назарьев Е.В. Роль водородного связывания в межмолекулярном взаимодействии лекарственных препаратов и биомолекул /Математика и математическое моделирование. Сборник материалов XVII Всероссийской молодежной научно-инновационной школы. –Саров: Интерконтакт. 2023. С.129-130.
190. Жулидин П.А., Филин П.Д., **Захаров А.А.**, Пластун И.Л., Яковлев Р.Ю. Влияние процедуры перекристаллизации на физико-химические характеристики глицина и янтарной кислоты: эксперимент и квантовохимическое моделирование /Сборник научных трудов VII съезда биофизиков России: в 2 томах, том 1 – Краснодар: Типография ФГБОУ ВО «КубГТУ», 2023, С. 280-281.