

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені В. Н. Каразіна

**Кафедра неорганічної хімії**

УДК 544.77.032.1

*До захисту допускаю*



В.о. завідувача кафедри  
к.х.н., доц. М.М. Волобуєв

«16» травня 2025 р.

**БУДОВА ТА КОНФОРМАЦІЙНА ДИНАМІКА ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ  
БАРВНИКІВ НА ПОВЕРХНІ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА:  
МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ**

Кваліфікаційна робота магістра  
II курсу хімічного факультету  
**ПРУДЯ МИКИТИ ВАСИЛЬОВИЧА**

Науковий керівник

д.х.н., с.н.с.



О.В. Кириченко

ХАРКІВ 2025

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота складається з 54 сторінок, 31 рисунка, 2 таблиць та 49 літературних посилань.

Функціоналізація поверхні наночастинок золота (НЧЗ) за допомогою біологічно активних макромолекул є актуальною задачею нанохімії, фармацевтичній хімії та медицини. Експериментальне дослідження таких гібридних органо-неорганічних наноматеріалів є досить складним і потребує розробки відповідних теоретичних методів передбачення їхньої будови.

**Метою роботи** є розробка силового поля та валідація молекулярно-динамічних моделей для системи НЧЗ-глутатіон та НЧЗ-глутатіон-барвник у водному розчині та вивчення структурно-динамічних характеристик моношару лігандів, адсорбованих на поверхні наночастинок.

**Об'єктами досліджень** є наночастинок золота розміром 2 нм, поверхнево-функціоналізовані біологічно активним трипептидом – глутатіоном з додатковою функціоналізацією флуоресцентним барвником AlexaFluor 647.

З використанням методів квантової хімії та молекулярно-динамічного моделювання досліджено вплив концентрації глутатіону та рН на мікроскопічну структуру та динаміку функціональної НЧЗ та **встановлено наступне**: (1) розроблено повноатомну МД модель НЧЗ поверхнево-функціоналізованої глутатіоном; (2) розроблено повноатомну OPLS-AA МД модель НЧЗ поверхнево-функціоналізованої глутатіоном з додатковою функціоналізацією барвником; (3) досліджено вплив концентрації глутатіону та рН на мікроскопічну структуру та динаміку ковалентно зв'язаного з НЧЗ глутатіону; (4) показано, що при низьких концентраціях нейтральні ліганди глутатіону зв'язуються з поверхнею золота за допомогою численних контактів і утворюють тонкий лігандний моношар; (5) продемонстровано, що структурно-динамічні властивості глутатіону, адсорбованого на наночастинку золота можуть контролюватися за допомогою концентрації ліганду та рН середовища; (6) продемонстровано вплив рН на будову та конформаційну динаміку барвника на поверхні НЧЗ.

**Ключові слова**: нанохімія, глутатіон, мд моделювання, квантово-хімічні розрахунки, AlexaFluor 647.

## ABSTRACT

The MSc thesis consists of 54 pages, 31 figures, 2 tables, and 49 references

Functionalizing the surface of gold nanoparticles (GNPs) with biologically active macromolecules is an urgent task in nanochemistry, pharmaceutical chemistry, and medicine. The experimental study of such hybrid organic-inorganic nanomaterials is quite complex and requires the development of appropriate theoretical methods for predicting their structure.

**The work aims** to develop a force field and validate molecular dynamics models for the system of NPs-glutathione and NPs-glutathione-dye in aqueous solution and to study the structural and dynamic characteristics of the ligand monolayer adsorbed on the surface of the nanoparticle.

**The research objects** are small gold nanoparticles of 2 nm size surface-functionalized with a biologically active tripeptide, glutathione and additional functionalization with Alexa Fluor 647 fluorescent dye.

The influence of glutathione concentration and pH on the microscopic structure and dynamics of the functional NPs was studied using quantum chemistry and molecular dynamics modeling and the following **was found**: (1) an all-atom MD model of GNPs surface-functionalized with glutathione was developed; (2) an all-atom OPLS-AA MD model of GNPs surface-functionalized with glutathione with additional dye functionalization was developed; (3) the effect of glutathione concentration and pH on the microscopic structure and dynamics of covalently bound glutathione to GNPs was investigated; (4) at low concentrations, neutral glutathione ligands bind to the gold surface through numerous contacts and form a thin ligand monolayer; (5) the structural and dynamic properties of glutathione adsorbed on a gold nanoparticle can be controlled by the ligand concentration and pH of the medium; (6) the effect of pH on the structure and conformational dynamics of the dye on the surface of the NPs was demonstrated.

**Keywords:** nanochemistry, glutathione, MD modelling, quantum chemical calculations, AlexaFluor 647.

## ЗМІСТ

ВСТУП	5
1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	6
1.1 Наночастинки золота в сучасній науці та технології	6
1.2 Флуоресцентні барвники у сучасні науці та технологіях	7
1.3 Молекулярно-динамічне моделювання наночастинок золота	8
1.4 Молекулярно-динамічне моделювання флуоресцентних барвників	18
1.5 Флуоресценція: основні принципи	22
2. РОЗРАХУНКОВА ЧАСТИНА	22
2.1 Основні положення молекулярно-динамічного моделювання	22
2.2 Параметризація силового поля лігандів	26
3. МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	33
3.1. Вплив густини заповнення поверхні наночастинки на конформацію глутатіона	33
3.2. Вплив рН середовища на конформаційну поведінку глутатіона	36
3.3. Вплив рН середовища на конформаційну поведінку барвника	40
ВИСНОВКИ	49
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	50

## ВСТУП

Наночастинки (НЧ) металів мають дуже велику кількість застосувань у сучасній науці та технології [1]. Одним з них є застосування у медичній діагностиці [2]. Завдяки своїй хімічній інертності та невеликим розмірам наночастинки можуть проникати в тканини організму. Окреме місце посідають гібридні органо-неорганічні наночастинки, які являють собою комбінацію наночастинки неорганічного походження поверхнево-функціоналізованої органічним фармакофором чи іншим органічним лігандом [3-4].

В нещодавніх роботах було запропоновано метод функціоналізації поверхні НЧ золота за допомогою біологічно активного трипептиду – L-глутатіону (L- $\gamma$ -глутаміл-L-цистеїніл-гліцин), який було виявлено майже у всіх організмах тваринного походження [5]. Через наявність тіольної групи молекула глутатіону може бути ковалентно «прикріплена» до наночастинки золота, після чого аміногрупа ліганду може бути перетворена на азидну. Така функціоналізація дозволяє у подальшому пристикувати до НЧ безліч сполук, використовуючи методи клік-хімії, як, наприклад, органічні флуорофори для флуоресцентних досліджень [6] або фармакофори для технології доставання ліків. Експериментальне дослідження таких гібридних органо-неорганічних наноматеріалів є досить складним і тому потребує розробки теоретичних методів передбачення їхньої будови.

*Об'єктом досліджень* було обрано наночастинки золота розмірами 2 нм, що поверхнево-функціоналізовані біологічно активним трипептидом – глутатіоном. Наночастинки з заданими параметрами були нещодавно синтезовані та була досліджена їх будова [5]. Однак, використані спектральні методи не дозволили встановити молекулярні аспекти розташування та пакування лігандів на поверхні золота. Тому, *метою роботи* були розробка силового поля та валідація молекулярно-динамічної моделі для системи НЧ-глутатіон-барвник у водному розчині.

З використанням квантово-хімічних розрахунків, було проведено параметризацію молекули глутатіону та молекули барвника AlexaFluor647; проведено молекулярно-динамічне моделювання фізико-хімічних властивостей системи НЧ3-глутатіон-барвник-вода при різній концентрації ліганду та рН розчину.

## РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1 Наночастинки золота в сучасній науці та технології

Золото є одним з перших елементів знайомих людині у чистому вигляді. Це в першу чергу пов'язано з його хімічною інертністю в наслідок чого золото зустрічається у природі у вільному вигляді. З давніх давен людина почала освоювати золото. Через ефектний вигляд та малу розповсюдженість у природі із золота почали виготовляти прикраси, а згодом й стали використовувати його в якості платіжних засобів. Тривалий час використання золота обмежувалось фінансовою та декоративною сферами. З приходом індустріалізації та з розвитком технологій золото почали застосовувати в електроніці. Подальший активний розвиток технологій призвів до того, що стало можливим використовувати золото в багатьох сферах людської діяльності.

Загальновідомим фактом є те, що властивості речовин у звичайному та колоїдному стані відрізняються. Золото у цьому плані винятком не стало. Золото в колоїдному вигляді почали отримувати ще 200-300 років тому й вже тоді вчені помітили, що його властивості кардинально відрізняються від властивостей елементарного золота. Подальший розвиток сфер застосування власне й пов'язаний з колоїдним станом золота.

На сьогодні наночастинки золота знаходять широкого застосування в різних сферах науки та техніки – від фармації та медицини до аналітичної хімії [7-9].

Наноструктури золота використовуються в аналітичній сфері в досить широкому діапазоні, наприклад їх застосовують для виготовлення модифікованих електродів, що дозволяють визначати вміст фосфорорганічних пестицидів [10] або дофаміну і рибофлавіну [11].

Через свої малі розміри ( $>2$  нм) наночастинки золота в поєднанні з різноманітними барвниками знаходять застосування в медичній діагностиці, адже вони можуть бути закріплені на поверхні антитіл, а органічні ліганди, зафіксовані на їх поверхні, дозволяють відстежувати мічене антитіло [12-13].

Окрім маркування антитіл, наночастинки золота високоякісно зарекомендували себе в мічені ракових клітин навіть в порівнянні з іншими наноструктурами, про що свідчать останні дослідження [14].

Також нанозолото застосовують в гучній останнім часом сфері – вірусології. Існують роботи, в котрих вчені демонструють методи візуального та ультрачутливого визначення коронавірусів [15-16].

Тож, можна впевнитись, що тематика дослідження наноструктур золота є актуальною, про що свідчить кількість та частота видання наукових публікацій, в яких вони є об'єктами дослідження.

## **1.2 Флуоресцентні барвники у сучасній науці та технологіях**

Останні досягнення у сфері флуоресцентних наноматеріалів відкривають широкі перспективи для їхнього застосування в біомедичних дослідженнях, включаючи біовізуалізацію, біодетекцію, цільову доставку ліків та фотодинамічну терапію. Висока квантова ефективність, біосумісність і можливість точного контролю флуоресцентних властивостей роблять ці матеріали ключовими для розробки новітніх технологій у діагностиці та терапії. У зв'язку з цим активно досліджуються різні типи функціональних наноматеріалів, зокрема квантові точки, вуглецеві точки, графенові наноструктури, наночастинки металів і кремнію, а також органічні мережі. Велика увага приділяється вдосконаленню методів синтезу та функціоналізації, що спрямовані на покращення стабільності, біосумісності та фотофізичних характеристик цих матеріалів. Однак залишаються певні технічні виклики, зокрема нерівномірний розподіл частинок, їх агрегація, зниження інтенсивності світіння та вплив середовища. Подальші дослідження спрямовані на подолання цих обмежень і розширення можливостей функціональних наноматеріалів для практичного застосування в медицині[17].

Окрім цього, активно розвивається напрямок створення флуоресцентних барвників, чутливих до змін в'язкості мікросередовища. Розроблено серію геміціанінових барвників, які демонструють високу фотостабільність та значне підсилення флуоресценції зі збільшенням в'язкості. Це відкриває можливість застосування таких барвників для дослідження реологічних властивостей клітинних мембран у живих клітинах за допомогою конфокальної мікроскопії. Важливо, що ці барвники проявляють низьку цитотоксичність і високу біосумісність, однак їхній емісійний спектр поки що не досягає ближнього інфрачервоного діапазону, що

обмежує використання в глибоких тканинах живих організмів [18].

Перспективним є також використання флуоресцентних барвників у розробці сенсорних технологій. Одним із прикладів є створення паперового ДНК-сенсора для виявлення вірусу гепатиту С на основі специфічного зонда з піролідинілової пептидної нуклеїнової кислоти. У цій системі зонд іммобілізований на частково окисненій целюлозі, а детекція здійснюється через флуоресцентний барвник, що зв'язується з односторонніми ділянками ДНК-мішені. Використання смартфона зі спеціальною флуоресцентною камерою забезпечує високу чутливість аналізу (межа виявлення – 5 пмоль) та високу специфічність до комплементарних ДНК-послідовностей. Це робить даний сенсор перспективним для точкової діагностики, особливо в умовах обмеженого доступу до лабораторного обладнання [19].

Отже, сучасні флуоресцентні барвники відіграють ключову роль у розвитку біомедичних технологій, забезпечуючи високоточну візуалізацію та функціональний аналіз біологічних об'єктів. Особливий інтерес викликають флуорофори з контрольованими фотохімічними властивостями, а також флуоресцентні сенсори, які дозволяють проводити точкову діагностику та структурний аналіз біомолекул. Серед таких барвників особливо перспективним є AlexaFluor 647, який демонструє виняткову стабільність і ефективність у різних спектроскопічних методах, що підтверджує його цінність у сучасних біофізичних дослідженнях.

### **1.3 Молекулярно-динамічне моделювання наночастинок золота**

Розвиток комп'ютерних технологій та підвищення доступності потужних розрахункових машин зробило можливим заміну вартісного «живого» експерименту на проведення комп'ютерної симуляції. Перші роботи такого характеру почали з'являтися ще в 50-х роках ХХ століття. Порівняно широким масам такі дослідження стали доступні лише в кінці 80 – початку 90 років. Саме тоді й почали з'являтися перші роботи щодо моделювання нанокластерів золота. Згодом, ближче до 2000-х років дослідникам стали доступні більш потужні комп'ютерні ресурси, що й призвело до розвитку моделювання як нанокластерів, так і більших за розмірами наночастинок.

Однією з перших робіт в цій галузі стала робота під назвою «Властивості змочування пасивованих металевих нанокристалів на межі розділу рідина-пар: дослідження за допомогою комп'ютерного моделювання» [20]. Тут моделювання молекулярної динаміки було застосоване для визначення контактних кутів алкілтіолів на поверхні нанокристалів золота, що його пасивують. Моделювання проводилось з використанням наночастинок пасивованих бутан-, додекан- і октадекантіолом. Дослідники показали, що довжина ланцюга алкілтіолу може суттєво впливати на змочування цих наночастинок. Також було встановлено, що всі частинки є стабільним на межі розподілу вода-повітря. Всі розрахунки були проведені в системному пакеті DLPOLY 2.0 за допомогою методу гладкої сітки частинок Евальда (SPME).

Наступна робота, в якій було застосовано таку ж модель золота - «Зв'язок між структурою, ентропією та енергією сольватації нанорозмірних розчинених речовин: застосування до дисперсій наночастинок золота» [21]. В цій роботі молекулярно-динамічне моделювання наночастинок золота пасивованих алкілтіолами відбувалось в середовищі етана в широкому діапазоні густин, близьких до критичної ізотерми. Ентропійні зміни, пов'язані з реорганізацією розчинника навколо пасивованої наночастинок були оцінені за допомогою кореляційної функції пари наночастинок-молекула розчинника, тоді як ентропія лігандної оболонки оцінювалась за коваріацією позиційних флуктуацій атомів лігандів. Було показано, що ентропія лігандної оболонки є малочутливою до варіації густини розчинника в діапазоні від вакууму до подвоєної критичної густини. Поєднуючи ентропійні оцінки з енергіями взаємодії наночастинок з розчинником, було показано, що вільна енергія сольватації зменшується з густиною після перетину критичної точки таким чином, що якісно відповідає наявним експериментальним даним. Результати свідчать про те, що такий підхід до отримання структурних уявлень про термодинаміку сольватації пасивованих наночастинок може бути корисним для розуміння стабільності дисперсій наночастинок із різними хімічними складами. Це дослідження також демонструє, що теоретичний аналіз сольватації та самоорганізації, розроблений у контексті біомолекулярної гідратації, може бути дуже корисно розширений для розуміння поведінки дисперсій неорганічних наночастинок.

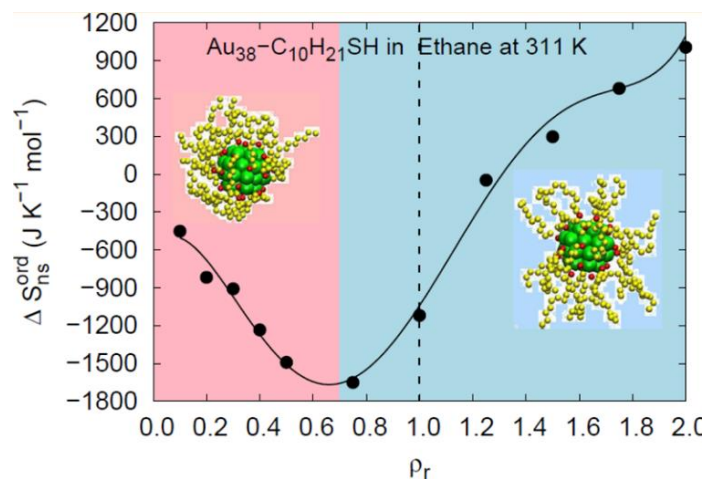


Рис.1.1 - Залежність зміни ентропії внаслідок реорганізації розчинника від густини розчинника [21].

Ця модель також була застосована в роботі «Взаємодія між функціональними наночастинками золота у фізіологічному розчині» [22]. В цій роботі було отримано потенціали середньої сили (PMF) для парних взаємодій між функціональними наночастинками золота у фізіологічному середовищі, що є мірою їх взаємодії. Ці результати ґрунтуються на основі експериментів *in silico* тривалістю більше 1000 нс з використанням повноатомних моделей у рівноважних і нерівноважних умовах. Було розглянуто 4 типи функціональованих частинок, що утворюються шляхом покриття кожного глобулярного кластера золота з 144 атомів 60 тіолвмісними лігандами: глутатіонат, тіофенол, цистеїніл, пара-амінотіофенол, які, відповідно, негативно заряджені, гідрофобні (нейтрально-неполярні), гідрофільні (нейтрально-полярні) і позитивно заряджені при нейтральному рН. Результати підтверджують очікувану поведінку нейтральних (гідрофільних або гідрофобних) частинок у розбавленому водному середовищі, однак криві PMF демонструють, що заряджені наночастинки взаємодіють один з одним унікальним способом — за допомогою молекул води та електроліту (Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>). У випадку двох глутатіонат-функціональованих наночастинок надлишок нейтралізуючих іонів Na<sup>+</sup> утворює рухливу (або «динамічну») хмару підвищеної концентрації між однаково зарядженими глутатіонат-функціональованими наночастинками, викликаючи помірне притягання між ними. Крім того, меншою мірою для пари пара-амінотіофенол – наночастинка золота надлишок нейтралізуючих іонів Cl<sup>-</sup> (менш

рухливі, ніж  $\text{Na}^+$ ) також утворює хмару вищої концентрації між двома однаково зарядженими кластерами, індукуючи слабші, але значні притягання (рис. 1.2). Розрахунки були реалізовані в силовому полі CHARMM36.

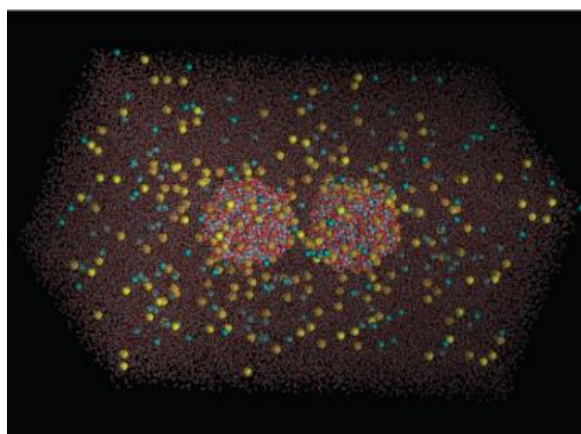


Рис.1.2 - Зображення *in silico* комірки з фізіологічним розчином із двома наночастинками золота, кожна з яких покрита 60 молекулами глутатіону [22].

Наступна модель вперше була опублікована у статті «Моделювання молекулярної динаміки для дослідження самоорганізованих моношарів алкілтіолових поверхнево-активних речовин на сферичних наночастинках золота» [23]. В ній моделювання атомістичної молекулярної динаміки було виконане з метою дослідження організації лігандної оболонки гомолігандних поверхнево-активних речовин на поверхні сферичних наночасточок золота як функція від температури, розміру наночастинок і довжини хвоста ліганду. Було продемонстровано, що при високій температурі ліганди орієнтуються випадковим чином відносно нормалі до поверхні наночастинки з невеликим кутом нахилу (рис. 1.3).



Рис.1.3 - Снапшот алкілтіолу  $\text{SH}-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3$  з симуляції при температурах 300 К (a) та 600 К (b) [23].

При нижчих температурах молекули лігандів упорядковуються й розташовуються під більшим кутом. Зазначено, що довжина алкілтіолового ланцюгу та розмір наночастинки також значно впливають на структуру самостійно упорядкованого шару поверхнево-активних речовин.

Та ж сама модель застосовувалась й в деяких пізніших роботах, наприклад - «Визначення енергії зв'язку та параметрів розчинності для функціоналізованих наночастинок золота методом молекулярно-динамічного моделювання» [24]. В цій роботі 2011 року енергія зв'язку, щільність і розчинність функціоналізованих наночастинок золота у вакуумі розраховувались за допомогою молекулярно-динамічного моделювання. В ході дослідження було визначено вплив численних параметрів, серед яких: густина покриття поверхні наночастинки, функціональна група, орієнтація наночастинок. Аналіз включав обчислення мінімальних відстаней та енергій зв'язку між частинками та аналіз механізмів, які можуть сприяти зміні потенційної енергії системи. Авторами було зафіксовано низку закономірних тенденцій, наприклад збільшення відстані зв'язування при підвищенні електронегативності кінцевої групи алкілтіолу.

Приблизно в той самий час почали з'являтися перші грубозернисті моделі, наприклад одна з них вперше була зафіксована в роботі «Імітаційне дослідження агрегації моношарово-захищених наночастинок золота в розчинниках» [25]. Для дослідження динаміки наночастинок золота розміром 2,2 нм, захищених моношаром, у розчинниках було проведено моделювання молекулярної динаміки методом крупнозернистої молекулярної динаміки з використанням силового поля MARTINI CG. Для моделювання взаємодії золото-сірка було використано потенціал Морзе, а для взаємодій сірка-сірка, сірка-алкіли та золото-алкіли потенціал Леннарда-Джонса. Було досліджено вплив довжини ліганду, хімічного складу терміналу ліганду, розчинників і температури. Виявлено, що наночастинки золота з немодифікованими алкілтіоловими лігандами утворюють стабільні агрегати у воді в часовому масштабі сотень наносекунд (8 наночастинок). У конкретному випадку наночастинки золота агрегувалися в нескінченний, одновимірний ланцюгоподібний агрегат замість кластерів агрегатів. Агрегати наночастинок золота з короткими лігандними хвостами мали аморфну форму, тоді як наночастинки з довгими хвостами агрегували у сферичний кластер. Властивості термінальних груп

ліганду мали домінуючий вплив на агрегаційну поведінку наночастинок. Збільшення полярності лігандних термінальних груп послаблювало тенденцію до агрегації у воді. Для наночастинок, модифікованих зарядженими на кінцях лігандами, агрегація не спостерігалась навіть за високої концентрації солі. Однак агрегаційна поведінка різко змінювалася при зміні властивостей розчинника. Підвищення температури значно прискорювало процес агрегації. Отримані результати свідчать про те, що динаміку захищених моношаром наночастинок золота можна контролювати за допомогою властивостей їхньої поверхні, а також властивостей розчинників.

Подібна модель була розроблена й вітчизняними дослідниками майже в той самий час. В роботі «Одержання, структура та модель молекулярної динаміки крупнозернистих наночастинок золота, стабілізованих додеканетіолом» [26] за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) автори дослідили середній лінійні розміри стабілізованих додекантїолом наночастинок золота ( $d=3,75 \pm 0,06$  нм). На основі цих експериментальних даних було розроблено нову крупнозернисту молекулярно-динамічну модель наночастинок золота (рис. 1.4). Модель було застосовано для вивчення самозбирання наночастинок золота на графітовій поверхні, що дозволило додатково з'ясувати структуру і пакування лігандної оболонки навколо сферичного ядра наночастинки. Моделювання було також здійснено з використанням силового поля MARTINI CG.

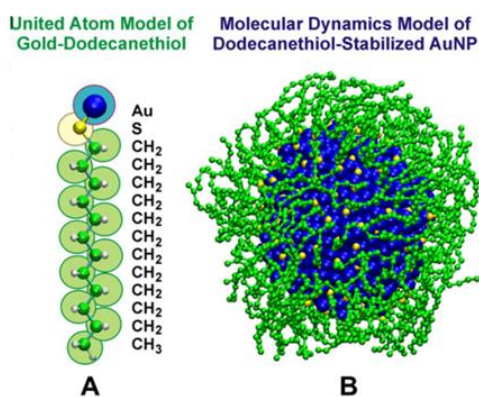


Рис.1.4 - (А) Модель об'єднаного атома залишків додеканетіолу, ковалентно приєднаних до атома золота ( $\text{Au-S-(CH}_2\text{)}_{11}\text{-CH}_3$ ). (В) Розрахована за допомогою МД структура наночастинки золота, стабілізованої додеканетіолом, з використанням розробленої грубозернистої моделі [26].

Наступним етапом розвитку молекулярного моделювання систем золота та алкілтіолів стало створення реактивних силових полів. Одна з перших таких робіт декларується серединою 2011 року, а саме – «Розробка міжатомних ReaxFF потенціалів для Au-S-C-H-систем» [27]. Група вчених представила повністю реактивні міжатомні потенціали для систем, що містять золото, сірку, вуглець і водень, використовуючи формалізм силового поля ReaxFF. Цей потенціал є першим повністю реактивний потенціал для сірки, де в параметризації враховані як малі молекули, так і об'ємні структури. Він спеціально розроблений для моделювання золототіольних систем, але також може бути застосований і за межами цієї сфери. Наявний потенціал дозволяє моделювати золототіольні системи без обмежень щодо реакційної здатності. Наприклад, він був успішно використаний для моделювання осадження кластерів золота на самозбірних молекулах додекантіолу. Такі симуляції, що вимагають розмірів систем від десяти тисяч атомів і точного моделювання реакційних процесів, досі були неможливі за допомогою атомістичних методів. Дещо пізніше, у 2013 році, ці ж автори уточнили цей потенціал [28].

Наступною віхою розвитку досліджуваної сфери молекулярного моделювання стало створення силового поля для нанокластерів золота. Робота «Біосумісне силове поле на основі зв'язності для нанокластерів тіольованого золота» [29] постулюють те, що тіольовані нанокластери золота, тобто частинки золота розміром менше 2 нм, мають безліч застосувань у біомедичній діагностиці та терапії, а також у промисловому каталізі, виробництві енергії та моніторингу забруднення довкілля. Комп'ютерне моделювання є цінним інструментом у з'ясуванні принципів дизайну для оптимізації фізико-хімічних властивостей для конкретних застосувань. Однак тіольовані нанокластери золота, захищені, кон'юговані та/або взаємодіючі з макромолекулами, часто перевищують межу обчислювальної спроможності сучасного програмного забезпечення з квантової хімії. Для полегшення теоретичних досліджень авторами було представлено молекулярно-механічне силове поле AuSBio, яке розумно відтворює і зберігає характерні структурні особливості, можливо, найбільш інтенсивно досліджуваного тіольованого нанокластеру - Au<sub>25</sub>L<sub>18</sub> (де L = алкілтіол), протягом 2 нс при моделюванні молекулярної динаміки при скінченній температурі. AuSBio було параметризовано в рамках силових полів для (біо)органічного моделювання з метою відтворення рівноважних структур і

коливальної густини станів для малих гомолептичних і більших тіольованих кластерів золота. AuSBio був додатково пробований здатністю відтворювати експериментальну структуру  $Au_{38}L_{24}$ , а також пакування довголанцюгових алкілтіолатних лігандів і нелінійну частотну модуляцію раманівської активної коливальної моди, що спостерігається експериментально для кластера  $Au_{25}$ . Автори передбачають, що їх силове поле AuSBio полегшить на практиці молекулярну механіку або гібридне квантово-молекулярне моделювання структури і динаміки тіольованих біокон'югатів нанокластерів золота.

Окрім малих наночастинок золота дослідниками були створені силові поля й для наночастинок золота більших розмірів. Так у роботі «Розмір і щільність покриття поверхні як основні фактори, що визначають характеристики модифікованих тіолом наночастинок золота» [30] було проведено моделювання молекулярної динаміки модифікованих тіолами великих наночастинок золота, щоб отримати уявлення на молекулярному рівні про дизайн кон'югованих наночастинок. Це дослідження показало, що завдяки значному покращенню конформаційного порядку та пакування тіольних ланцюгів, як розмір наночастинок, так і щільність тіольного покриття можуть бути використані для модифікації структурних властивостей тіол-модифікованих великих наночастинок (наприклад, відстань від кінця до кінця, фактор форми, кут нахилу тіольних ланцюгів). Ця стратегія має великий потенціал у розробці будь-яких носіїв на основі наночастинок (тіол-модифікованого золота) (наприклад, тих, що використовуються для пошуку та модифікації генів, пов'язаних із захворюваннями). Лінійні розміри модельованих наночастинок складали 5, 10 та 15 нм (рис. 1.5). Всі симуляції використовували силове поле CHARMM36 та силове поле INTERFACE, яке працює як розширення силового поля CHARMM для забезпечення сумісності між неорганічними, органічними та біомолекулярними структурами.

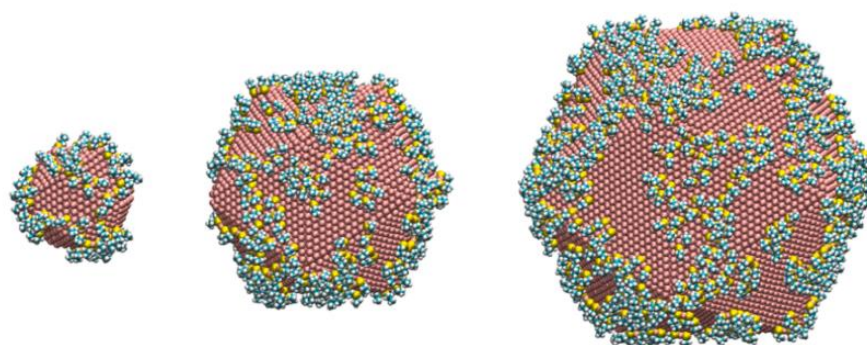


Рис.1.5 - Повноатомне зображення наночастинки золота з поверхнею, покритою тіолом. Зображення наночастинок золота розміром 5 нм (ліворуч), 10 нм (в центрі) і 15 нм (праворуч) [30].

Таблиця 1.1 Параметри Леннарда-Джонса для незв'язуючої взаємодії Au-Au для деяких моделей

Модель	$\epsilon$ , кДж*моль <sup>-1</sup>	$\sigma$ , Å
[20],[21]	3.2288	2.737
[22]	-0.4432	1.660
[23]	0.1633	2.935
[26]	13.6	2.600
[29]	20.0	1.350

Окрім теоретичних питань за допомогою молекулярного моделювання дослідники вирішують й прикладні задачі у цій сфері, розглянемо деякі з таких робіт.

«Зв'язування катіонних наночастинок золота з двошаровими ліпідами, подібними до плазмової мембрани: потенційний механізм спонтанного проникнення в клітини, виявлений за допомогою атомістичного моделювання» [31]. Незважаючи на те, що нанорозмірне золото є хімічно інертним як об'ємний матеріал, воно може мати шкідливі побічні ефекти для живих організмів. Зокрема, катіонні наночастинок золота ( $\text{AuNP}^+$ ) діаметром 2 нм або менше легко проникають через плазматичні мембрани та викликають загибель клітин. Дослідники повідомляють про атомістичне моделювання катіонних наночастинок золота, які взаємодіють з реалістичними мембранами та явним розчинником, використовуючи модельну систему, яка складається з двох клітинних відсіків, позаклітинного та цитозольного,

розділених двома асиметричними ліпідними подвійними шарами. Результати свідчать про те, що проникнення  $\text{AuNP}^+$  відбувається через утворення пори разом із частковою нейтралізацією/депротонуванням наночастинок, що призводить до руйнування мембрани при вищих концентраціях наночастинок. Дані також свідчать про потенційний механізм цитотоксичності, оскільки зв'язування  $\text{AuNP}^+$  з позаклітинним листком може викликати апоптоз через транслокацію фосфатидилсерину.

«Атомістичне моделювання взаємодії аніонних наночастинок  $\text{Au}_{144}(\text{SR})_{60}$  з асиметричними модельними ліпідними мембранами» [32]. Експериментальні спостереження показують, що взаємодія наночастинок з ліпідними мембранами залежить від заряду наночастинок і хімічної природи їхніх захисних бічних груп. Група науковців представляє атомістичне моделювання взаємодії аніонної наночастинок  $\text{Au}$  ( $\text{AuNP}^-$ ) з мембранами, ліпідний склад і трансмембранний розподіл яких значною мірою відповідає реальним плазматичним мембранам еукаріотичних клітин. Для цього вони використали модельну систему, яка складається з двох клітинних сегментів - позаклітинного і цитозольного, розділених двома асиметричними ліпідними бiшарами. Моделювання чітко показало, що  $\text{AuNP}^-$  прикріплюється до поверхні позаклітинної мембрани протягом декількох десятків наносекунд, тоді як він ж уникає контакту з мембраною з боку цитозолу. Така поведінка зумовлена кількома факторами. По суті, коли наночастинка взаємодіє з ліпідами в позаклітинному сегменті, вона утворює відносно слабкі контакти з цвітеріонними головними групами (зокрема, холіном) фосфатидилхолінових ліпідів. Отже,  $\text{AuNP}^-$  не занурюється глибоко в клітину, що уможливорює, наприклад, латеральну дифузію наночастинок вздовж поверхні. З боку цитозолу  $\text{AuNP}^-$  залишається у водній фазі завдяки кулонівському відштовхуванню, яке виникає внаслідок взаємодії негативно заряджених фосфатидилсеринових ліпідів з  $\text{AuNP}^-$ .

«Ліпідні хвостові виступи, що опосередковують вбудовування наночастинок у мембрани модельних клітин» [33]. Нещодавні дослідження показали, що заряджені наночастинок золота, захищені амфіфільним органічним моношаром, можуть спонтанно вбудовуватися в ядро ліпідних шарів, щоб мінімізувати вплив води на гідрофобну поверхню. Однак кінетичний шлях досягнення термодинамічно стабільної трансмембранної конфігурації невідомий. У цій роботі було використано

неупереджене атомістичне моделювання, щоб показати шлях, яким наночастинки золота спонтанно вбудовуються в бішари, і підтвердити результати експериментально на підтримуваних ліпідних бішарах.

«Молекулярне розуміння проникнення функціоналізованих наночастинок золота в асиметричні мембрани» [34]. У цій роботі взаємодія між поверхнево функціоналізованими наночастинок золота та асиметричними мембранами і пов'язана з цим цитотоксичність досліджувалися за допомогою грубозернистого моделювання молекулярної динаміки. Результати моделювання показують, що поверхнева хімія наночастинок та асиметрія ліпідних мембран відіграють значну роль. Наночастинки з різними знаками зарядів спонтанно прилипають до поверхні мембрани або проникають в її серцевину. Крім того, асиметричний розподіл заряджених ліпідів у мембранах може сприяти проникненню катіонних наночастинок. Збільшення поверхневої густини заряду наночастинок може не тільки покращити ефективність проникнення, але й призвести до більшого руйнування структури мембрани. Більше того, під час транслокації з високою густиною заряду можна спостерігати перевертання заряджених ліпідів у внутрішній оболонці мембрани. Порушення мембранної асиметрії може перешкоджати клітинній інтерналізації н за механізмом прямого проникнення. Що ще важливіше, було продемонстровано, що гідрофобний контакт між виступаючими ліпідними хвостами, експонованими розчинником, і гідрофобними фрагментами лігандів може опосередковувати вбудовування AuNPs з низькою щільністю поверхневого заряду в клітинні мембрани, які будуть проявляти меншу цитотоксичність у більшості застосувань *in vivo*. Це може відкрити новий шлях до розробки наноносіїв з вищою ефективністю транслокації та меншою токсичністю для біомедичних застосувань.

З вищезгаданого матеріалу та дати його публікації (переважно останні 10 років) можна зробити висновок, що тема кваліфікаційної роботи є актуальною в сфері сучасної біомедицини, біології та нанохімії.

#### **1.4 Молекулярно-динамічне моделювання флуоресцентних барвників**

Флуоресцентні барвники мають безліч застосувань у науці та техніці. У біомедичних дослідженнях вони вже давно стали невід'ємною частиною

досліджень. Саме тому більшість наукових публікацій пов'язаних з молекулярно-динамічним моделюванням таких барвників у контексті біомедичного застосування почали виходити до друку разом з настанням епохи доступності молекулярно-динамічного моделювання широким колам дослідників.

У статті «Гасіння флуоресценції барвників триптофаном: взаємодія на атомарному рівні з поєднання експерименту та комп'ютерного моделювання» [35] досліджено механізм гасіння флуоресценції барвників триптофаном на атомарному рівні, використовуючи поєднання молекулярної динаміки та спектроскопічних методів. Автори проводять детальний аналіз міжмолекулярних взаємодій за допомогою МД-симуляцій, що дозволяє виявити ключові фактори, що визначають ефективність гасіння, зокрема  $\pi$ - $\pi$  стекінг і водневі зв'язки між триптофаном та флуорофорами. Отримані результати узгоджуються з експериментальними даними та підтверджують значну роль електростатичних і стеричних ефектів у формуванні стабільних комплексів. Розрахунки енергетичних профілів взаємодії дозволяють глибше зрозуміти механізми, що впливають на поведінку барвників у біологічному середовищі, та відкривають перспективи для дизайну нових флуоресцентних зондів із покращеними оптичними властивостями. Дослідження підкреслює ефективність молекулярної динаміки як інструменту для вивчення механізмів гасіння флуоресценції на молекулярному рівні, що має важливе значення для біофізичних та нанотехнологічних застосувань.

У статті «AMBER-барвники: Характеристика флуктуацій заряду і параметризація силових полів флуоресцентних барвників для моделювання молекулярної динаміки» [36] розглянуто параметризацію флуоресцентних барвників у контексті молекулярної динаміки, зокрема на основі моделі AMBER. Авторами здійснено детальну характеристику флуктуацій заряду та сили взаємодії для низки флуорофорів, що є ключовими для їх коректного моделювання у біологічних середовищах. Значна увага приділена визначенню часткового заряду атомів на основі квантово-хімічних розрахунків, що здійснювалися у рамках методології RESP (Restrained Electrostatic Potential). Це дозволяє підвищити точність відтворення електростатичних властивостей молекул, що критично важливо для моделювання процесів у водному середовищі та біополімерних системах. Авторами також проведено аналіз конформаційної динаміки флуорофорів, що дозволяє оцінити їхню

поведінку у різних розчинниках та у складі біомолекулярних комплексів. Методологічно стаття використовує комбіновані підходи класичної МД та квантово-механічних розрахунків, що сприяє підвищенню точності передбачень структурних і електростатичних характеристик досліджуваних систем. Важливим є також аналіз взаємодії флуоресцентних зондів з біологічними макромолекулами, що демонструє перспективність запропонованої параметризації для застосування в біофізичних дослідженнях. Узагальнюючи, робота забезпечує вагомий внесок у вдосконалення параметризації флуоресцентних зондів у молекулярній динаміці, що має суттєве значення для подальших досліджень у галузі молекулярного моделювання та біофізики.

У статті «Чисельні дослідження динаміки мембранних флуоресцентних барвників у основному та збудженому станах» [37] розглядається застосування молекулярної динаміки для дослідження структурних та динамічних властивостей біологічних макромолекул. Основний акцент зроблено на аналіз міжмолекулярних взаємодій, що визначають стабільність та функціональність білків і нуклеїнових кислот. Автор приділяє особливу увагу використанню різних параметризаційних схем у МД-симуляціях, включаючи порівняння різних силових полів, що застосовуються для опису електростатичних та ван-дер-ваальсових взаємодій. Проведено оцінку впливу параметризації на точність передбачення конформаційної динаміки макромолекул, а також їхньої взаємодії з розчинником. Особливо важливим є аналіз електростатичних ефектів, що відіграють ключову роль у стабілізації біологічних структур. Стаття використовує комбіновані підходи класичної МД та методів квантової механіки для деталізації енергетичних ландшафтів біомолекул. Це дозволяє дослідити тонкі механізми взаємодії між молекулами, включаючи утворення водневих зв'язків та їхній внесок у конформаційну гнучкість системи. Узагальнюючи, робота робить значний внесок у розуміння механізмів, що керують молекулярною стабільністю та функціональністю біополімерів, і демонструє важливість точного вибору параметрів МД для коректного опису біофізичних систем.

У статті «Динаміка флуоресцентних барвників, приєднаних до G-квадруплексної ДНК, та їх вплив на FRET-експерименти» [38] досліджено динаміку флуоресцентних барвників, що взаємодіють із G-квадруплексною ДНК, та їхній

вплив на експерименти з перенесення енергії флуоресцентного резонансу (FRET). Основну увагу приділено молекулярній динаміці для вивчення структурних змін і стабільності барвників у комплексі з ДНК. Автори застосовують класичні МД-симуляції для моделювання взаємодій барвників із G-квадруплексом, визначаючи ключові фактори, що впливають на їхню мобільність, зв'язування та вплив на FRET-сигнали. Аналіз міжмолекулярних взаємодій, таких як  $\pi$ - $\pi$  стекинг та водневі зв'язки, дозволяє розкрити механізми стабілізації барвників у біологічному середовищі. Отримані результати підкреслюють необхідність урахування динамічної поведінки зондів при інтерпретації FRET-експериментів, що має важливе значення для біофізичних досліджень структури та функції нуклеїнових кислот.

У статті «Дослідження флуоресцентних барвників на біоміметичних поверхнях за допомогою генерації другої гармоніки та молекулярної динаміки» [39] досліджено поведінку флуоресцентних барвників на біоміметичних поверхнях за допомогою методу другого гармонічного покоління та молекулярної динаміки. Основна увага приділена аналізу взаємодії барвників з поверхнями біологічних мембран, що має важливе значення для розуміння їхньої поведінки в біологічних системах. МД-симуляції у цій роботі використовуються для моделювання взаємодії флуорофорів із ліпідними мембранами та визначення впливу розчинника на їхню орієнтацію та динаміку. Зокрема, автори застосовують квантово-механічно скориговані силові поля для врахування електростатичних ефектів і поляризації, що дозволяє отримати більш точну картину молекулярних взаємодій. Дослідження показує, що положення та орієнтація флуоресцентних зондів суттєво залежать від хімічної природи мембрани та властивостей середовища. Стаття також демонструє ефективність комбінування експериментальних методів із МД-моделюванням для вивчення структурної організації молекул на межі розділу фаз. Висновки роботи підкреслюють важливість точного врахування молекулярних силових полів при дослідженні барвників у біологічно релевантних умовах. Узагальнюючи, дослідження сприяє глибшому розумінню механізмів взаємодії флуорофорів з біомембранами та підтверджує значення молекулярної динаміки як потужного інструменту для аналізу біомолекулярних систем.

Проте, не всі питання наразі є дослідженими. Прикладом того є наукові публікації, які й досі продовжують з'являтися.

Так, у статті «Взаємодія між родаміновими барвниками та модельними мембранними системами - висновки з моделювання молекулярної динаміки», опублікованій у журналі *Molecules* [40], розглянуто застосування молекулярної динаміки для дослідження структурних та динамічних властивостей біологічно значущих молекул. Основна увага приділена аналізу конформаційної гнучкості та стабільності молекулярних систем у розчині, що має критичне значення для розуміння механізмів їх функціонування. Автори використовують різні силові поля для моделювання міжмолекулярних взаємодій, включаючи електростатичні ефекти та водневі зв'язки, що відіграють ключову роль у стабілізації біомолекулярних комплексів. Аналіз проведено з використанням класичних методів МД, а також розширених підходів, таких як метадинаміка, що дозволяє досліджувати енергетичні бар'єри переходів між конформаційними станами. Стаття також розглядає вплив розчинника на структуру та динаміку молекул, використовуючи як явні, так і неявні моделі розчинника. Отримані результати демонструють значні відмінності у стабільності молекулярних комплексів залежно від обраного підходу до моделювання розчинного середовища. Узагальнюючи, робота робить важливий внесок у розуміння механізмів, що визначають молекулярну стабільність та функціональність, і підкреслює значення молекулярної динаміки як ефективного інструменту для моделювання біологічних систем.

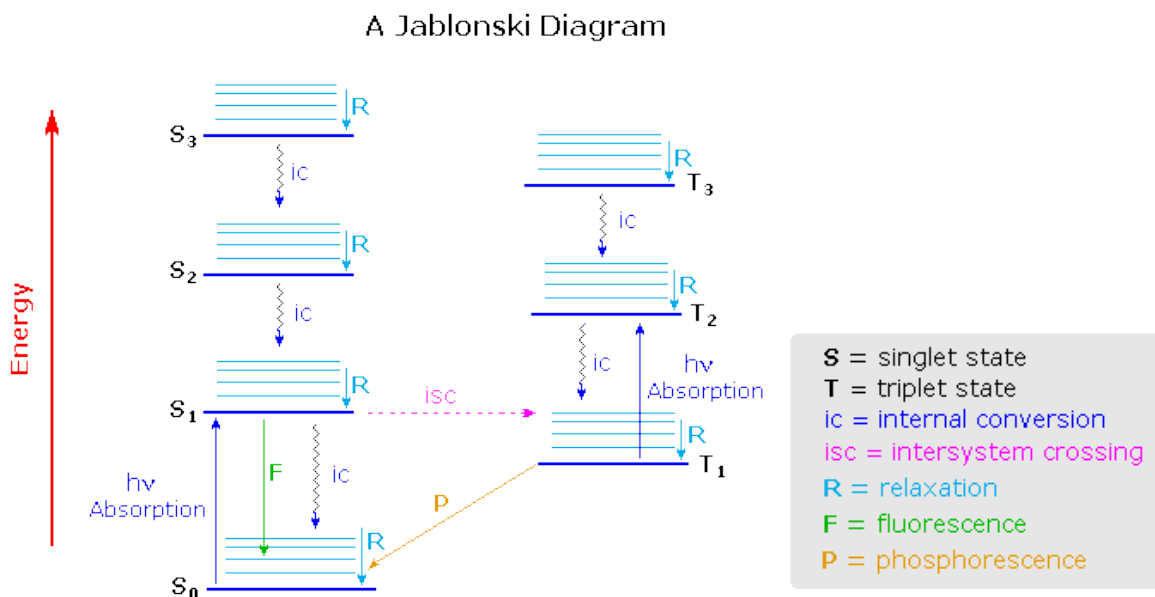
З урахуванням фактів, описаних вище, можна зробити висновок, що дослідження будови та конформаційної динаміки барвників потребує не тільки класичного МД-підходу, а ще й застосування квантово-хімічних розрахунків та створення на їх основі специфічних силових полей.

### **1.5 Флуоресценція: основні принципи**

Флуоресценція є одним із ключових видів люмінесценції, що полягає у випромінюванні світла речовиною після її збудження електромагнітним випромінюванням, зазвичай у короткохвильовій (ультрафіолетовій або синій) ділянці спектра. Механізм флуоресценції базується на квантових переходах електронів у молекулах або наноструктурах, що проходять через збуджені стани та повертаються до основного електронного рівня з вивільненням енергії у вигляді

фотона. Процес починається з поглинання фотону, внаслідок чого електрон переходить з основного електронного стану ( $S_0$ ) у збуджений синглетний стан ( $S_1$  або  $S_2$ ). Після цього відбувається внутрішня конверсія — безвипромінювальна релаксація до найнижчого збудженого синглетного рівня ( $S_1$ ), з якого й відбувається випромінювання фотона під час переходу назад до основного стану. Цей перехід супроводжується випромінюванням світла, яке має нижчу енергію (довшу довжину хвилі), ніж поглинене (рис. 1.6).

Різниця між максимумами поглинання та випромінювання відома як зсув Стокса і є характерною ознакою флуоресцентних процесів. Тривалість флуоресцентного випромінювання зазвичай становить від кількох до десятків наносекунд, що дає змогу відрізнити флуоресценцію від фосфоресценції, яка має значно довший час життя збудженого стану. Інтенсивність, спектральні характеристики та квантовий вихід флуоресценції значною мірою залежать від структури молекули, її електронної конфігурації, а також від зовнішніх факторів — зокрема, полярності середовища, рН, температури та наявності гасників.



У розчинах барвники можуть зазнавати агрегації. J-агрегати — це впорядковані супрамолекулярні структури, що формуються внаслідок самозбірки барвникових молекул у специфічну конфігурацію «голова до хвоста». Це явище було

вперше описане Е. Єллінеком у 1936 році і дало назву даному типу асоціатів (Jelley aggregates або J-aggregates).

Однією з ключових особливостей J-агрегатів є кооперативна взаємодія електронних збуджених станів окремих молекул, що приводить до унікальних оптичних властивостей. Зокрема, спектр поглинання таких агрегатів зазнає батохромного (в червону область) зсуву порівняно з мономерною формою барвника. При цьому спостерігається посилена флуоресценція з високою інтенсивністю, малою шириною смуги та незначним Стоксовим зсувом. Утворення J-агрегатів є високочутливим до умов середовища, зокрема до рН, іонної сили, полярності розчинника та температури. Це робить їх перспективними для використання у якості сенсорних платформ.

На противагу цьому, H-агрегати (що формуються за паралельної орієнтації барвникових молекул) характеризуються гіпсохромним зсувом спектру поглинання (у синю область), часто супроводжуються гасінням флуоресценції та меншою фотостабільністю.

У контексті цього, фіксація барвника на поверхні наночастинки золота може бути консенсусним підходом у контексті експериментального дослідження складних біологічних систем, що зменшує ймовірність утворення небажаних агрегатів.

## РОЗДІЛ 2 РОЗРАХУНКОВА ЧАСТИНА

### 2.1 Основні положення молекулярно-динамічного моделювання

В основі молекулярно-динамічного моделювання є чисельне розв'язання рівнянь руху Ньютона для системи з  $N$  взаємодіючих атомів (частинок) (2.1):

$$\frac{dr_i(t)}{dt} = v_i(t), \frac{dv_i(t)}{dt} = \frac{1}{m_i} F_i(t) = a_i(t), i = 1, \dots, N \quad (2.1)$$

Сили, які діють між атомами, визначаються як від'ємні похідні від потенціалів (2.2):

$$F_i(t) = -\frac{\partial V(r_1, r_2, \dots, r_N)}{\partial r_i} \quad (2.2)$$

Рівняння руху розв'язуються чисельно з використанням малих значень часового кроку одночасно для всіх  $N$  частинок. Сукупність координат і швидкостей усіх частинок утворює траєкторію системи у фазовому просторі. Після ініціалізації система мимовільно приходить у стан термодинамічної рівноваги. Усередненням мікроскопічних динамічних змінних уздовж певної фазової траєкторії отримують властивості системи (структурні, енергетичні, динамічні). Розв'язуючи його можна отримати аналітичні вирази для знаходження безмежної кількості фізичних величин, що цікавлять науковців [41].

Потенціальна енергія системи складається з двох загальних компонент: потенціальної енергії внутрішньомолекулярної взаємодії та потенціальної енергії міжмолекулярної взаємодії. Загальним чином в найпростішому вигляді потенціальну енергію системи можна виразити у вигляді суми відповідних потенціалів (2.3-2.5):

$$U(r_1, r_2, \dots, r_N) = \sum U_{intra} + \sum U_{inter} \quad (2.3)$$

$$\sum U_{intra} = \sum_{i_{bond}=1}^{N_{bond}} U_{bond}(i_{bond}, r_a, r_b) + \sum_{i_{angle}=1}^{N_{angle}} U_{angle}(i_{angle}, r_a, r_b, r_c) + \sum_{i_{dihed}=1}^{N_{dihed}} U_{dihed}(i_{dihed}, r_a, r_b, r_c, r_d) \quad (2.4)$$

$$\sum U_{inter} = \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>1}^N U_{pair}(i, j, |r_i - r_j|) \quad (2.5)$$

Хімічні ковалентні зв'язки описуються потенціалом або гармонічним законом (2.6):

$$U(r_{ij}) = \frac{1}{2}k(r_{ij} - r_0)^2 \quad (2.6)$$

де  $r_{ij}$  – відстань між двома атомами в системі, що встановилася в ході теплового руху,  $r_0$  – довжина ковалентного зв'язку взята з рентгенографічних даних або отримана іншим дослідницьким шляхом, величина постійна. Таким чином за допомогою цього потенціалу стає можливим задати молекулі або іншій сполуці первинну хімічну властивість – довжину хімічного зв'язку та підтримувати її сталою протягом моделювання. Завдяки цьому частинка лишається неподільною.

Зміна величини валентного кута описується потенціалом (2.7):

$$U(\theta_{ijk}) = \frac{1}{2}k(\theta_{ijk} - \theta_0)^2 \quad (2.7)$$

де  $\theta_{ijk}$  – величина кута, що встановилася між трьома атомами в результаті руху атомів один відносно іншого;  $\theta_0$  – стале значення куту між заданими атомами, яке є експериментальною величиною. Цей потенціал робить можливим підтримання вторинної хімічної структури часток.

Для конформаційно лабільних молекул, зміна параметрів двогранних кутів описує енергію обертання навколо одинарного зв'язку (2.8):

$$U_{dihed} = \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\varphi - \delta)]^2 \quad (2.8)$$

де  $V_n$  – силова константа;  $n$  – періодичність;  $\delta$  – фаза ( $0^\circ$  або  $180^\circ$ ).

Міжатомні взаємодії можуть включати в себе взаємодії нековалентного характеру, вони описуються електростатичною складовою (2.9):

$$\sum \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2.9)$$

де  $q_i$  та  $q_j$  заряди на атомах  $i$  та  $j$  що перебувають на відстані  $r_{ij}$  один від одного та зазнають електростатичної взаємодії.

Ван-дер-Ваальсові ж взаємодії описують за допомогою потенціалу Леннарда-Джонса (2.10):

$$U_{LJ}(r_{ij}) = 4\varepsilon_{ij} \left( \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right) \quad (2.10)$$

Параметри  $\varepsilon$  та  $\sigma$ , відповідно, розраховуються за правилом Лоренца-Бертло (2.11):

$$\varepsilon_{ij} = \sqrt{\varepsilon_i - \varepsilon_j}, \sigma_{ij} = \frac{\sigma_i + \sigma_j}{2} \quad (2.11)$$

## 2.2 Параметризація силового поля лігандів

До складу молекули глутатіону входять карбоксильні (COOH) та аміно (NH<sub>2</sub>) групи, тому, в залежності від кислотності середовища глутатіон може перебувати в розчині в різних кислотно-основних формах [42]. На рис. 2.1 показані основні кислото-основні рівноваги глутатіону. У сильнокислому середовищі у результаті приєднання протона до аміногрупи глутамінового фрагменту молекула глутатіону набуває позитивного заряду, таку форму умовно назвемо катіонною. В нейтральному та слабокислому середовищі глутатіон перебуває в цвітеріонній формі. При відщепленні протона від молекули ліганду, яке відбувається при переході в лужне середовище, він може існувати у декількох формах – в аніонній формі з нейтральним глутаміновим фрагментом та в аніонній формі з цвітеріонним глутаміновим фрагментом (рис. 2.1). Було показано, що домінуючою формою є саме цвітеріонна [42].

Окрім кислотно-основних форм глутатіону, описаних вище, існує ще щонайменше 10 [43]. Проте більшість з них не є домінуючими у будь-якому діапазоні рН. Найбільш важливими, тобто домінуючими, формами є представлені на рис. 2.2 Таким чином, кислотно-основні форми, обрані нами для дослідження репрезентують форми, що відповідають діапазону рН до 9 (нейтральна, катіонна та аніонна, рис.2.1). Саме такий діапазон значень рН відповідає інтересам дослідження, адже сильно лужні середовища не є властивими для біологічних систем.

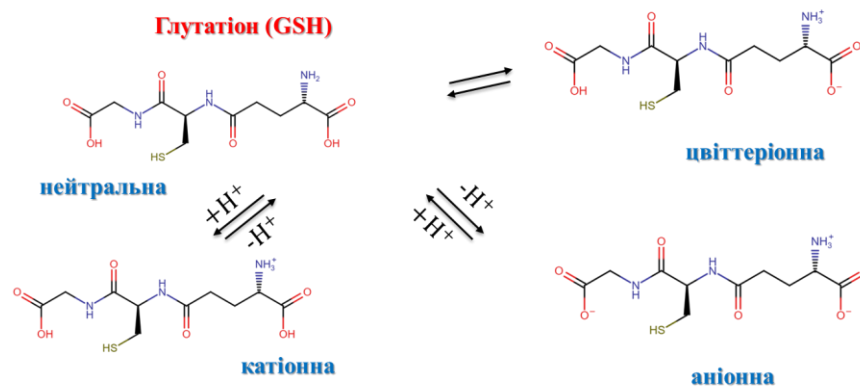


Рис. 2.1 - Кислотно-основні рівноваги глутатіону.

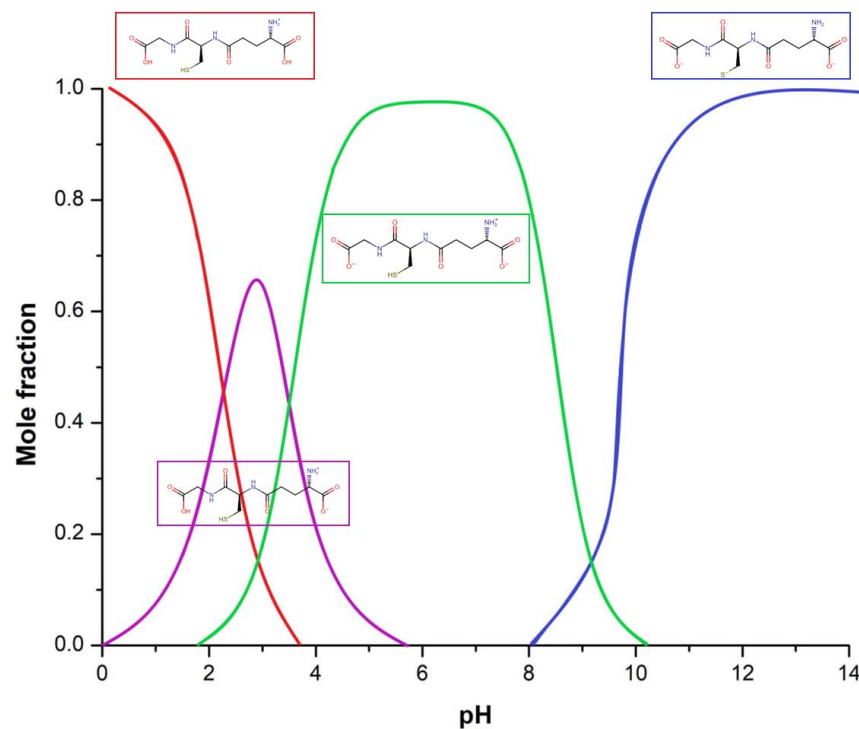


Рис.2.2 - Домінуючі кислотно-основні форми глутатіону та діапазони рН, що відповідають їх домінуванню.

Першим кроком до параметризації силового поля агрегату Au-глутатіон у нейтральній, аніонній та катіонній формах було створення топології, або повного набору параметрів ковалентної та нековалентної взаємодії, наночастинки золота поверхнево-функціоналізованої лігандами: глутатіон у нейтральній формі (сумарний заряд молекули рівний нулю) (рис.2.3); глутатіон у аніонній формі (сумарний заряд молекули рівний мінус одному); глутатіон у катіонній формі (сумарний заряд молекули рівний плюс одному).

Маючи функціональні групи, здатні до дисоціації, флуоресцентний барвник AlexaFluor647, аналогічно глутатіону, може мати декілька кислотно основних форм. Проте завдяки їх одноманітності, природі та симетричній структурі молекули відокремити домінуючу форму дещо простіше. Похідні сульфатної кислоти, сильної кислоти, зазнають дисоціації вже при нейтральних значеннях рН. Молекула барвника AlexaFluor647, у структурі котрої міститься 4 сульфогрупи, таким чином має домінуючу кислотно-основну форму при якій усі вони є дисоційованими. Саме тому у наших дослідженнях ми використовували дві моделі барвника, а саме його заряджену форму (усі сульфогрупи дисоційовані) (рис.2.5) та форму, де дисоційованою є тільки ароматична сульфогрупа другої ароматичної системи (умовно назвемо частково дисоційованою формою) (рис.2.4).

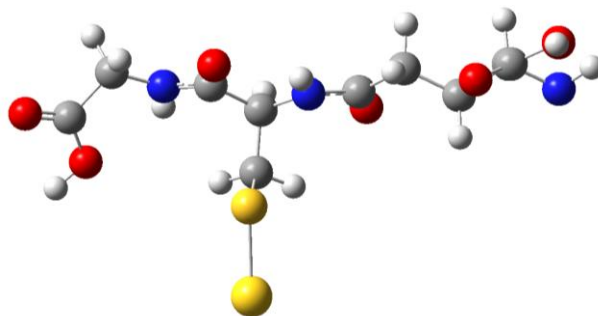


Рис. 2.3 - Оптимізована геометрія кон'югату Au-глутатіон у нейтральній формі, оптимізована методом B3PW91/cc-pVDZ/Lan12dz.

Відповідно до експериментальних даних, до складу наночастинки золота заданого діаметру 2 нм входить 249 атомів золота [44]. Квазисферична наночастинка золота була побудована використовуючи кристалографічні параметри золота гранецентрованої ґратки (ГЦГ). Глутатіон зв'язується з поверхнею золота за рахунок хемосорбції, при якій утворюється ковалентний зв'язок S-Au [45].

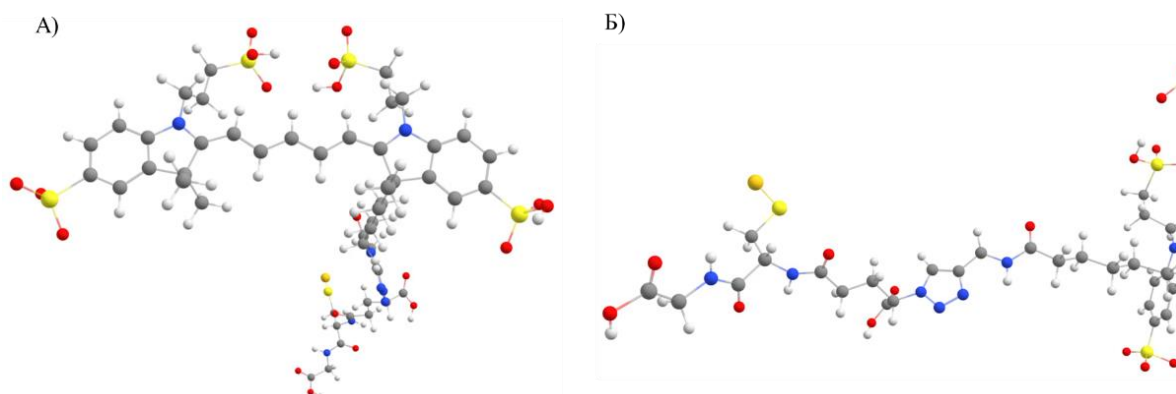


Рис. 2.4 - Геометрія кон'югату Au-глутатіон-барвник у частково дисоційованій формі, оптимізована методом B3PW91/cc-pVDZ/Lan12dz.

Геометричні параметри та уточнення зарядів було виконано для кон'югатів Au-глутатіон та Au-глутатіон-барвник за допомогою квантово-хімічних розрахунків методом DFT, з використанням комбінації функціоналу B3PW91 та базису cc-pVDZ для ліганду. Для атома золота використовувався псевдопотенціал Lan12dz.

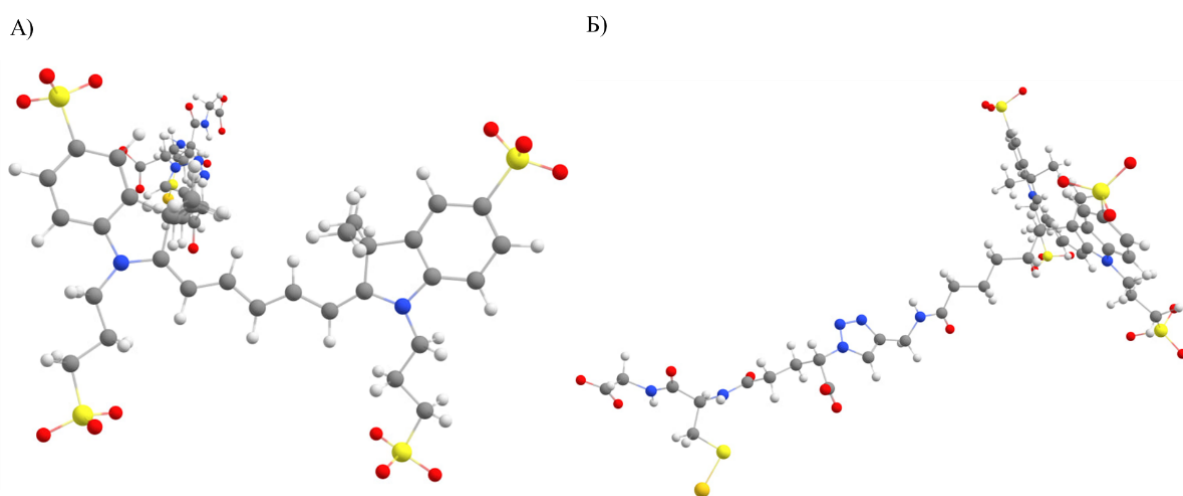


Рис. 2.5 - Геометрія кон'югату Au-глутатіон-барвник у частково зарядженій формі, оптимізована методом B3PW91/cc-pVDZ/Lan12dz.

Комбінація B3PW91/cc-pVDZ/Lan12dz є досить популярною в квантово-хімічних розрахунках, оскільки ця комбінація параметрів дозволяє достатньо точно розраховувати молекулярні властивості, такі як геометрію, енергії, спектроскопічні характеристики та інші. Базис cc-pVDZ дозволяє збільшити точність розрахунків у порівнянні з меншими базисами, такими як STO-3G, за рахунок врахування більшої

кількості електронних орбіталей. Водночас, використання більш складних базисів, таких як  $ss-pVTZ$  або  $ss-pVQZ$ , може призвести до збільшення обчислювальної складності та часу розрахунків.  $Lan12dz$  - це частковий базис з псевдопотенціалами для металів та їхніх сполук, який може зменшити обчислювальну складність розрахунків за рахунок спрощення врахування внутрішньоатомних кореляційних ефектів в металічних комплексах.  $B3PW91$  - це гібридний функціонал щільності, який поєднує переваги локального щільнісного функціоналу та нелокального функціоналу, забезпечуючи достатню точність в описі не тільки нелокальних, але й дисперсійних взаємодій. Розрахунки виконувались в програмному комплексі Gaussian, версії 16 [46].

Наступним кроком за допомогою програмного пакету GROMACS та силового поля OPLS-AA нами було проведено урівноваження отриманих конфігурацій та запущено молекулярно-динамічне моделювання на невеликому часовому проміжку (50 пс). Відповідна процедура була проведена для кожної густини заповнення поверхні наночастинки перед переходом до більшої густини.

Після отримання рівноважної геометрії функціоналізованих наночастинок для подальшого дослідження нами було обрано 3 густини заповнення поверхні для кожної з систем Au-глутатіон – 25, 50 та максимально можлива кількість лігандів для відповідної моделі. Система з 50 лігандами на поверхні була обрана тому, що саме 50 лігандів попередньо було визначено нами як гранична густина заповнення поверхні, при якій ліганд утворює моношар. Подальші дослідження продемонстрували, що є можливість вмістити на поверхню більше лігандів (для різних форм ліганду – різна кількість). Система з 25 лігандами, відповідно попередньо, була обрана для моделювання напівзаповненої поверхні.

Також варто зазначити, що при спробах помістити на поверхню НЧ якомога більше лігандів нами були реалізовані спроби модифікувати потенціал міжчастинкової нековалентної взаємодії золото-золото шляхом модифікації параметру  $\epsilon$ . Проте подальші результати продемонстрували, що відповідні спроби мають низьку раціональність, тобто отриманий успіх (незначний) компенсується значно більшими ризиками. Проте використання модифікованого потенціалу може бути доцільним при моделюванні НЧЗ функціоналізованих глутатіоном з додатковою функціоналізацією барвником.

Кожна з вищеписаних систем надалі була сольватована молекулами води (модель TIP3P [47]). У випадку заряджених лігандів, в систему було додано відповідна кількість протиіонів (катионів натрію або хлорид-аніонів) і, таким чином, загальний заряд системи дорівнював нулю. Конфігурація усіх системи була урівноважена, після чого виконано продуктивний прогон молекулярно-динамічного моделювання у часовому інтервалі 0 – 2,5 нс.

Попередній аналіз результатів показав, що модельовані системи залишалися стабільними, ліганди не залишали поверхню золота та рівномірно розташовувалися навколо наночастинки, як показано на рис. 2.6. Таким чином, це дозволило перейти до продуктивного МД моделювання та аналізу фізико-хімічних властивостей цих систем.

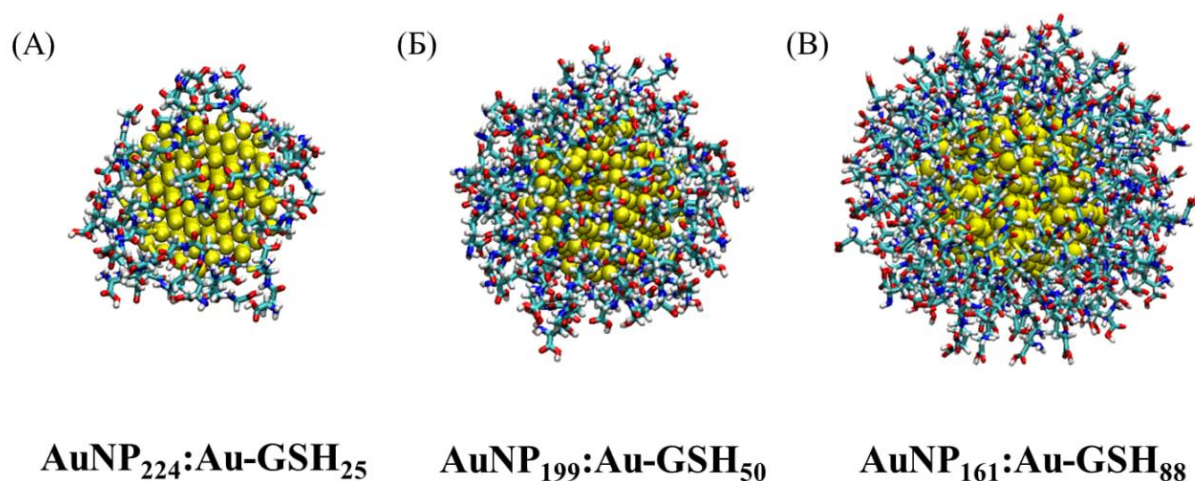


Рис. 2.6 - Миттєві МД конфігурації наночастинок золота, поверхнево-функціоналізованих нейтральним глутатіоном із співвідношенням золото-ліганд 224:25, 199:50 та 161:88.

Для систем Au-глутатіон-барвник, враховуючи розміри молекули барвника, було обрано тільки одну густину заповнення – 5 молекул барвника (рис.2.7). Подальша підготовка систем була виконана аналогічно системам Au-глутатіон.

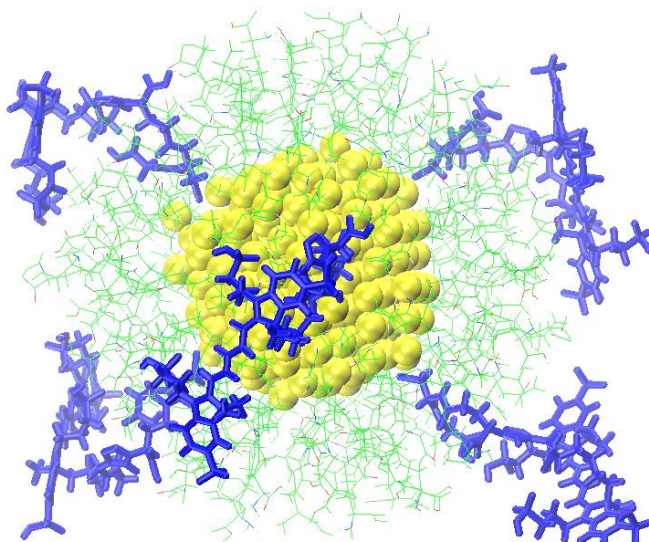


Рис. 2.7 - Миттєвий знімок наночастинки золота функціоналізованої 98 молекулами глутатіону до 5 з яких приєднаний барвник AlexaFluor647 (нейтральна форма) після 100 нс моделювання у розчині.

Для валідації моделей систем Au-глутатіон-барвник було виконано тестовий МД прогон тривалістю 10 нс, котрий продемонстрував гнучкість полієнового ланцюга барвника. З метою уникнення цього небажаного фактору силові константи, які відповідають простим та дігедральним кутам атомів, що утворюють полієновий ланцюг було збільшено.

### РОЗДІЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМІЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

#### 3.1 Вплив густини заповнення поверхні наночастинки на конформацію глутатіона

Для кількісного аналізу впливу густини лігандів, адсорбованих на поверхні золота, на їхню рівноважну будову, нами були розраховані функції радіального розподілу (ФРР) (3.1) між атомами золота та гетероатомами ліганду, де у якості гетероатому було обрано 3 атоми – атом кисню гліцинового фрагменту, атом кисню глутамінового фрагменту та сусідній до нього атом нітрогену (рис. 3.1).

$$g_{ij} = \frac{\langle \rho_j(r) \rangle}{\langle \rho_j \rangle} = \frac{V}{N} \frac{n_j(r)}{4\pi r^2 \Delta r} \quad (3.1)$$

де  $N$  – об'єм системи;  $N$  – кількість частинок типу  $j$ ;  $n_j(r)$  – гістограма залежності числа частинок, що потрапили в сферу радіуса  $r$  від цього радіуса.

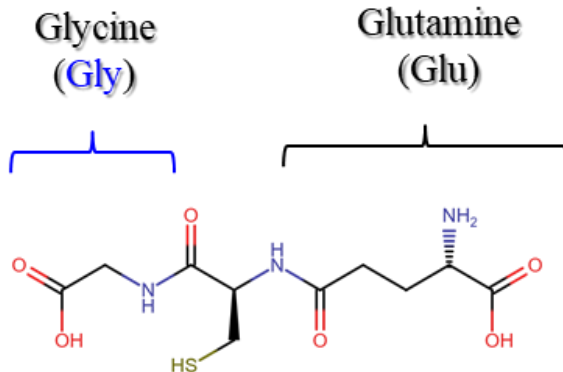


Рис. 3.1 Фрагменти молекули, що є ключовими у зв'язуванні з поверхнею

На рис. 3.2 показані розраховані ФРР для нейтрального глутатіону для різної густини заповнення лігандом поверхні золота. По перше одразу можна помітити, що при переході до більшої густини заповнення поверхні кількість контактів золото-гетероатом зменшується у 5-6 разів, що може свідчити про те, що при високій концентрації молекули глутатіону, починають в меншій мірі контактувати з наночастинкою. При цьому в обох випадках найбільша кількість контактів з наночастинкою припадає на атом кисню гліцинового фрагменту (рис. 3.1).

При цьому присутній менш помітний фактор – при високій густині заповнення поверхні спостерігається зміщення максимуму першого піку на кривих ФРР у область більших значень відстані, що може свідчити про більш впорядковану орієнтацію глутатіону з переважним розташуванням карбоксильних груп -COOH у водну фазу.

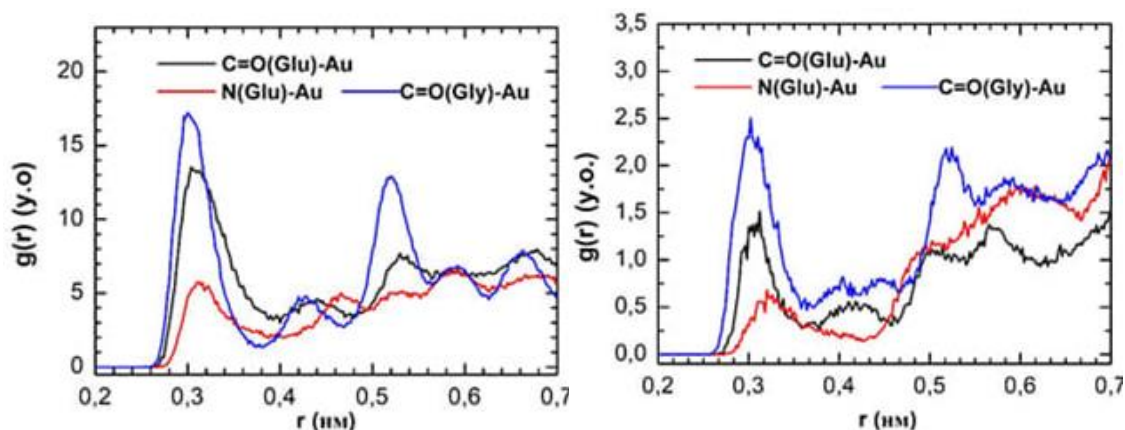


Рис. 3.2 - ФРР гетероатом ліганду - золото для нейтального глутатіону при малій (зліва) та високій (справа) густині заповнення поверхні золота.

Типове розташування нейтрального ліганду на поверхні золота показано для деяких лігандів на рис. 3.3. Видно, що ліганд приймає таку конфірмацію, у якій він щільно зв'язується з поверхнею додатковими контактами термінальних груп.

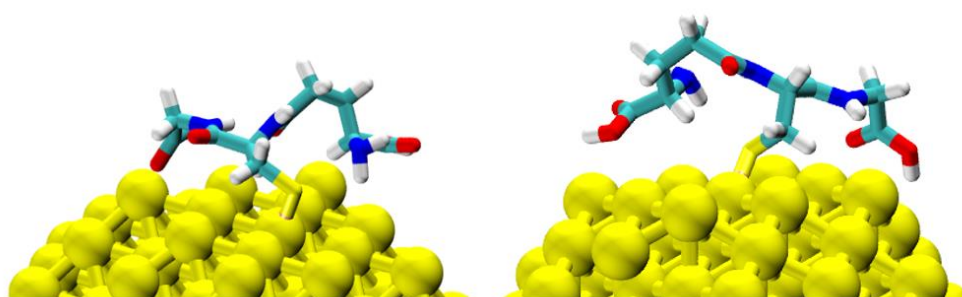


Рис. 3.3 - Типове розташування та конфігурація молекули глутатіону адсорбованої на поверхні золота у нейтральній формі.

Максимум вдалося вмістити на поверхню 93 нейтральних ліганди. Всього на поверхні НЧ наявні 106 «вакансій» для лігандів.

### 3.2 Вплив рН середовища на конформаційну поведінку глутатіона

При переході в лужне середовище, як вже згадувалося вище, глутатіон переходить в аніонну форму [42]. Проведені МД розрахунки показують, що кардинальні зміни структури розташування лігандів помітні візуально, як представлено на рис. 3.4.

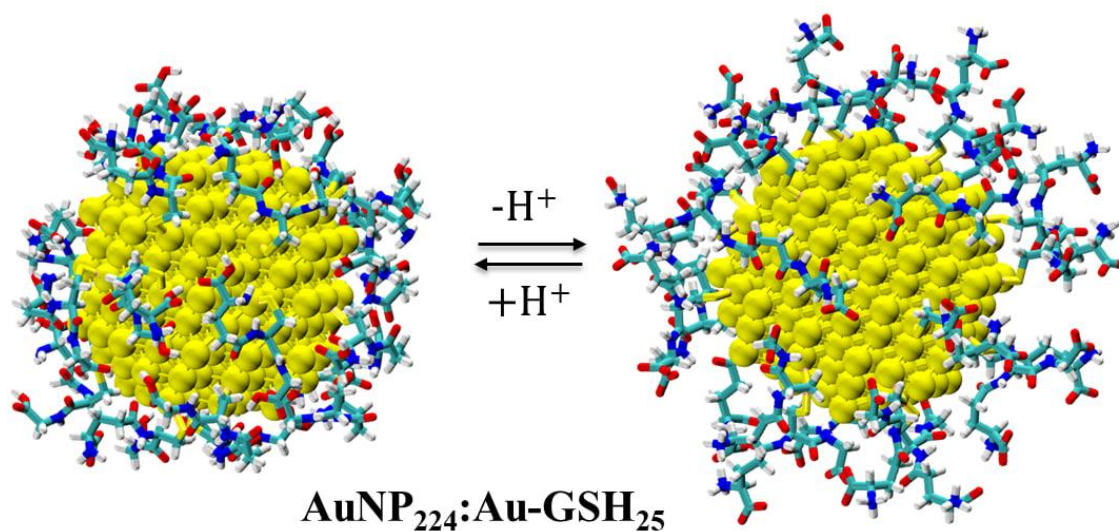


Рис. 3.4 - Кисотно-основна рівновага глутатіону закріпленого на поверхні НЧ та її вплив на структуру покриття.

Нейтральні ліганди адсорбуються на поверхні золота за рахунок декількох центрів зв'язування, що призводить до формування компактної структури НЧ-ліганд. При дисоціації глутатіону, та утворення аніонної форми, електростатична взаємодія з полярними молекулами води призводить до переорієнтації лігандів від поверхні золота у розчин. На додаток, відштовхування між однойменно зарядженими карбоксильними групами  $-\text{COO}^-$  призводять до більш рівномірного розподілу лігандів навколо золотого ядра.

Типове розташування ліганду у аніонній формі на поверхні золота показано для деяких лігандів на рис. 3.5. Видно, що ліганд зв'язується з поверхнею золота тільки за рахунок зв'язку Au-S. Інша частина молекули переорієнтовується у напрямки водного розчину. Всього на поверхню вдалося помістити 50 аніонних лігандів.

Аналогічним чином кардинальні зміни відбувають коли ліганди потрапляють

в кисле середовище. Аміногрупа зазнає протонування, що при високому ступені заповнення призводить до електростатичного відштовхування між лігандами. Всього на поверхню вдалося помістити 65 катіонних лігандів.

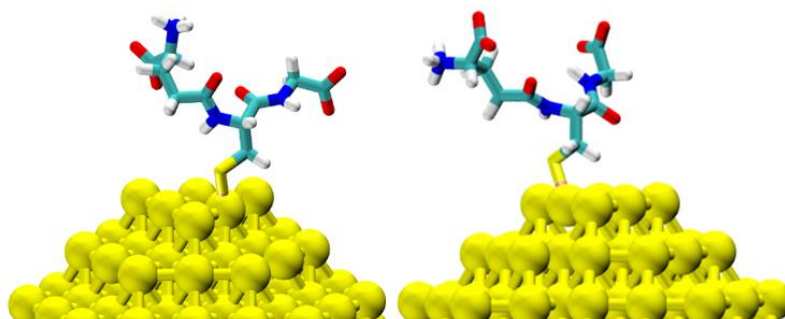


Рис. 3.5 - Типове розташування та конфігурація молекули глутатіону адсорбованої на поверхні золота у аніонній формі.

На рис. 3.6 показано порівняння ФРР для нейтрального, аніонного та катіонного ліганду (25 лігандів на поверхні НЧ). Порівняння положення та інтенсивності піків ФРР для нейтральної та аніонної форми ліганду показує різкі зміни.

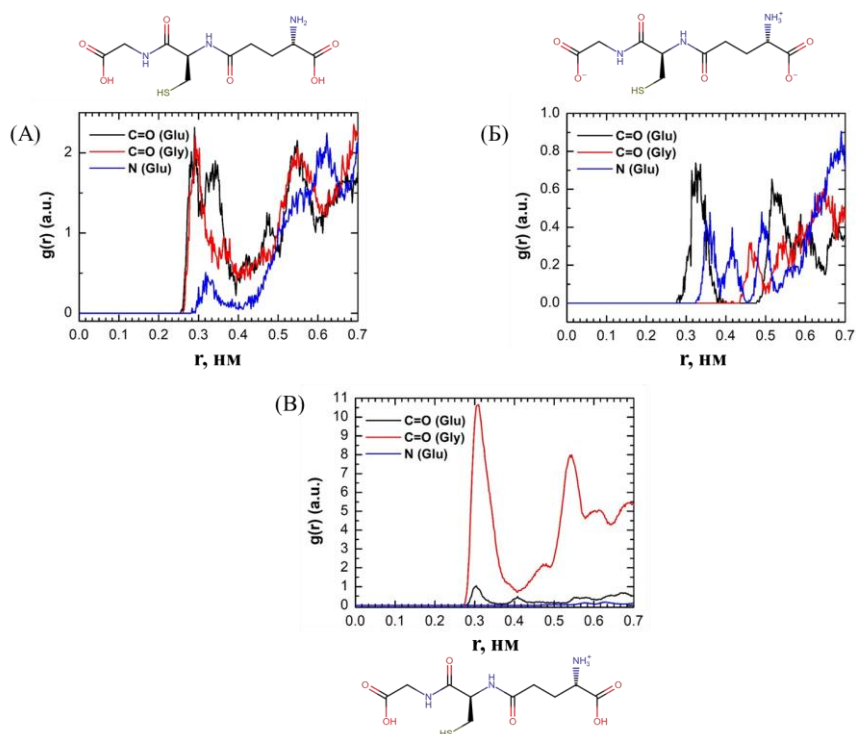


Рис. 3.6 - ФРР гетероатом ліганду - золото для (А) нейтральної, (Б) аніонної та (В) катіонної форми глутатіону (50 лігандів).

Найпомітніші зміни стосуються катіонної системи. Видно, що з трьох основних центрів зв'язування, які були актуальними для нейтрального ліганда, актуальним лишається тільки один – С=О група гліцинового фрагменту ліганда. Інші два майже не перебувають у контакті з ядром. Підтвердженням цієї кількісної характеристики слугує миттєвий знімок одного з лігандів на поверхні НЧ (рис.3.8). Чітко видно, що протонована аміногрупа глутамінового фрагменту, а отже і С=О група глутамінового фрагменту, у значній мірі орієнтовані у водне середовище. При цьому гліциновий фрагмент розташовується ближче до ядра з геометричних причин.

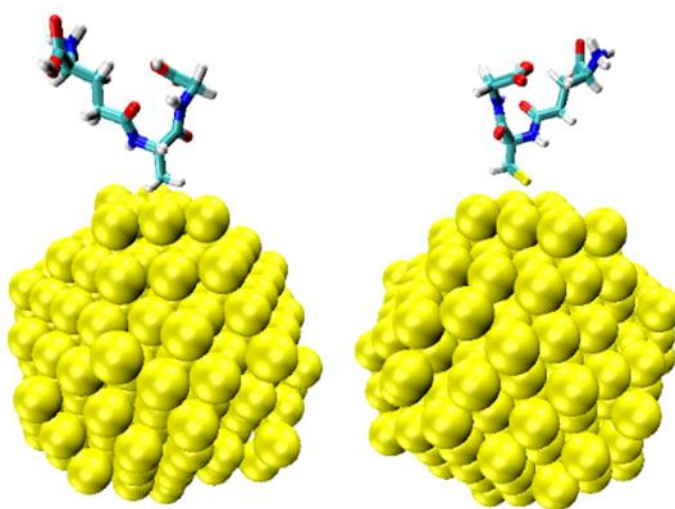


Рис. 3.8 – Типове розташування та конфігурація молекули глутатіону адсорбованої на поверхні золота у катіонній формі.

При порівнянні нейтральної та аніонної систем видно, що максимум першого піку зміщується на 0.9-1.0 нм у більшу відстань. Це може підтверджувати спостереження про те, що в аніонній формі ліганд починає орієнтуватись хвостовою частиною в розчин. При цьому пік атому нітрогену глутамінового фрагменту, який до цього знаходився далі, ніж усі інші починає координуватись не останнім.

За допомогою розрахунку масової густини розподілу окремих частин наночастинки навколо її центру нами було визначено як змінюється розмір наночастинки при переході з нейтрального середовища в кисле або лужне (рис. 3.9). Оцінка розмірів була виконана за допомогою розрахунку повної ширини кривої на половині висоти.

Розміри наночастинки покритої нейтральним лігандом становить приблизно 3,0 нм. У випадку ж з катіонною формою розмір наночастинки становить 2.8 нм. При переході до аніонної форми ліганду загальні розміри наночастинки в порівнянні з «голою» наночастинкою майже не змінюються і становлять 2.14 нм. Такі відносно малі зміни розмірів пояснюються тим, що при високій густині заповнення поверхні електростатичне відштовхування між лігандами відіграє другорядну роль, адже навіть в нейтральній формі ліганди орієнтовані переважно від поверхні золота до водного розчину. Наведені факти справедливі для систем з максимальним насиченням поверхні (нейтральна система – 93 ліганди, катіонна – 65, аніонна - 50).

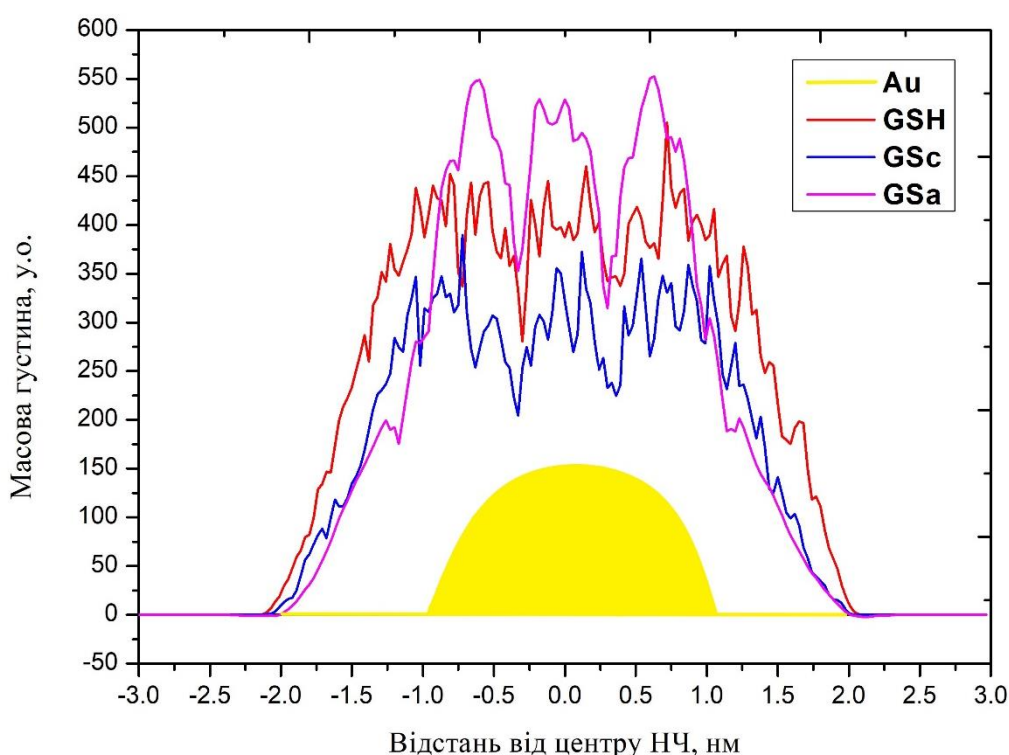


Рис. 3.9 - 2D-проекція радіального масового розподілу густини глутатіону навколо золотого ядра для нейтральної, аніонної та катіонної форм (максимальна густина).

Іншим важливим фактом, на який варто звернути увагу є те, що для різних форм лігандів навіть у симуляції максимальна кількість лігандів на поверхні є різною, що свідчить про суттєвий вплив рН середовища на розміри наночастинки.

Результати МД моделювання в цілому свідчать про те, що щільність пакування і товщина моношару глутатіону, можуть контролюватися за допомогою концентрації та рН середовища.

Розроблена МД модель наночастинки золота, поверхнево-функціоналізованої глутатионом є основою для оптимізації експериментальних умов синтезу наночастинок золота та їхньої подальшої функціоналізації за допомогою флуоресцентних барвників та біологічно активних кон'югатів [5].

### **3.3 Вплив рН середовища на конформаційну поведінку барвника**

Загалом система НЧ-глутатіон-барвник є занадто складною і містить незліченну кількість змінних, тому найоптимальнішим підходом на даному етапі є створення «усередненої» моделі, яка у певній мірі репрезентує усі кислотно-основні форми глутатіону. Система з частково зарядженим барвником (5 молекул) та нейтральним глутатіоном (93 молекули) – узагальнена «середня» модель, адже як продемонстрували попередні результати, на конформаційну поведінку глутатіонового шару у більшій мірі впливає концентрація, в той час, як та чи інша кислотно-основна форма просто унеможливіє посадку барвника на НЧ. Проте, на противагу цьому, нами також була розроблена модель, що містить повністю дисоційований барвник (5 молекул) та аніонний глутатіон (75 молекул), що несе у собі більш «фізичний», близький до реального зміст.

Для усіх досліджуваних систем було розраховано щонайменше 100 нс молекулярної динаміки. Система з частково зарядженим барвником містила 249 атомів золота, 93 молекули глутатіону, 5 молекул барвника та 22 347 молекул води. Система з повністю зарядженим барвником містила 249 атомів золота, 75 молекул глутатіону, 5 молекул барвника, 22 387 молекул води та 100 катіонів натрію.

Аналіз густини розподілу компонентів МД системи відносно центру мас наночастинки був виконаний з метою відстеження динаміки барвника на поверхні НЧ і її кількісної характеристики. З першого погляду графіки для системи після 10 нс моделювання (рис.3.10) та після 100 нс (рис.3.11) майже не відрізняються. Проте при детальному аналізі, можна помітити, що після 10 нс загальний розмір комплексної НЧ складає 4.4 нм, тоді як після 100 нс – 4.0 нм. Проте, якщо порівнювати стартову геометрію комплексу з фінальною (рис.3.12), то зміна розмірів стає очевидною з першого погляду. На основі цього можна зробити висновок, що основні зміни відбуваються протягом перших 10 нс моделювання,

після чого система починає релаксувати зі значно меншим градієнтом конформаційних змін.

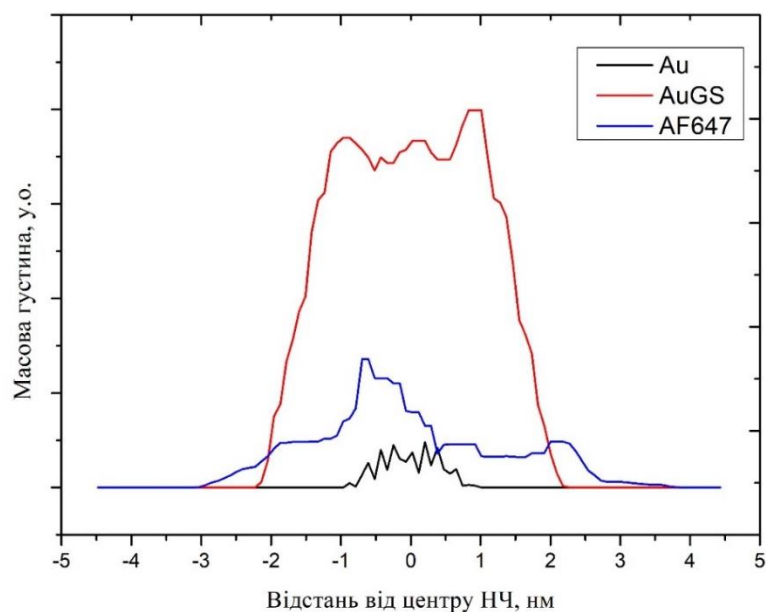


Рис. 3.10 - 2D-проекція радіального масового розподілу після 10 нс моделювання (нейтральна форма).

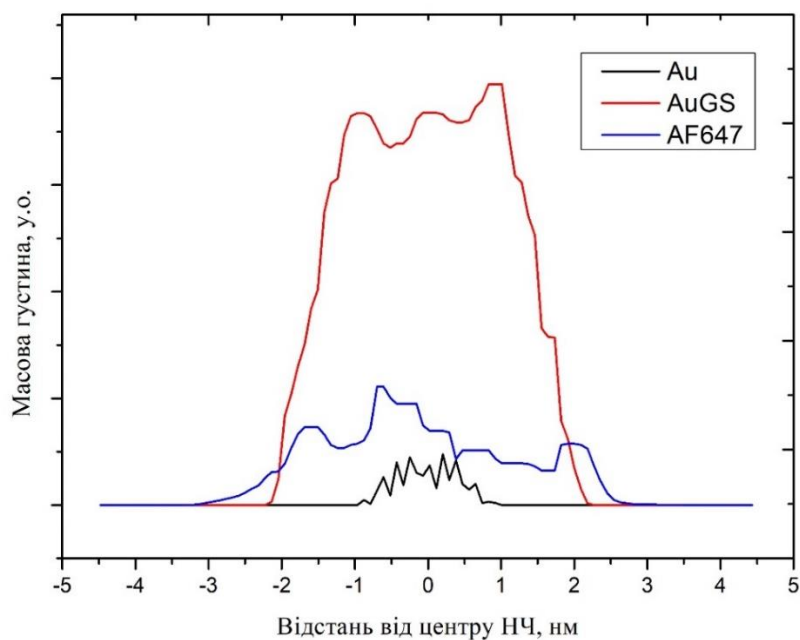


Рис. 3.11 - 2D-проекція радіального масового розподілу після 100 нс моделювання (нейтральна форма).

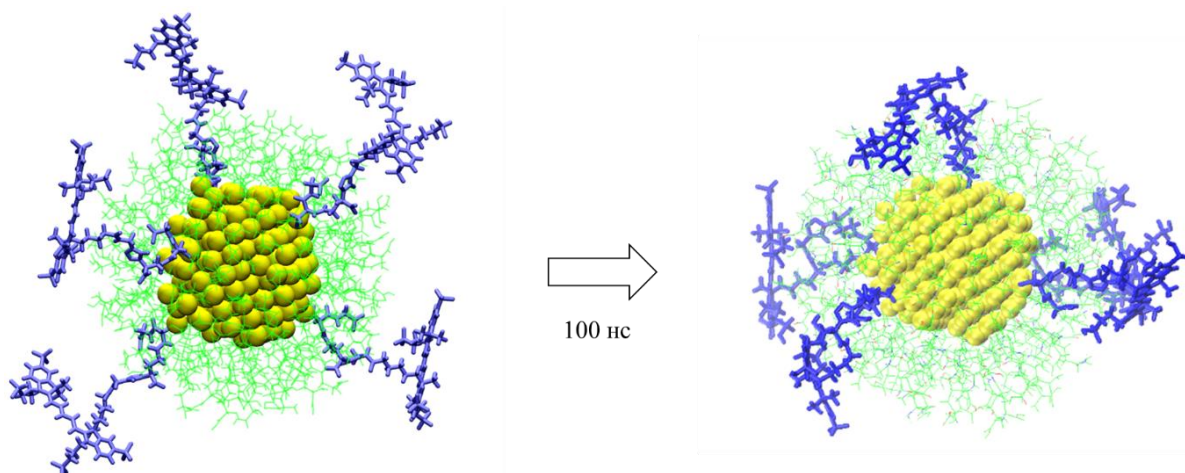


Рис. 3.12 - Початкова та фінальна структура функціоналізованої НЧЗ після 100 нс моделювання.

Відповідну еволюцію системи можна пояснити класичними уявленнями про полярність. У цьому випадку барвник є слабозарядженим (мала молекулярна полярна поверхня) по відношенню до загальних розмірів молекули. Тому більш вигідним є його агрегація з такими ж незарядженими молекулами глутатіону, що розташовуються на поверхні НЧ, що у результаті призводить до зменшення розмірів комплексної НЧ.

Більш точно еволюцію систему можна описати за допомогою залежності час – кількість контактів між лігандами та розчинником (рис.3.13).

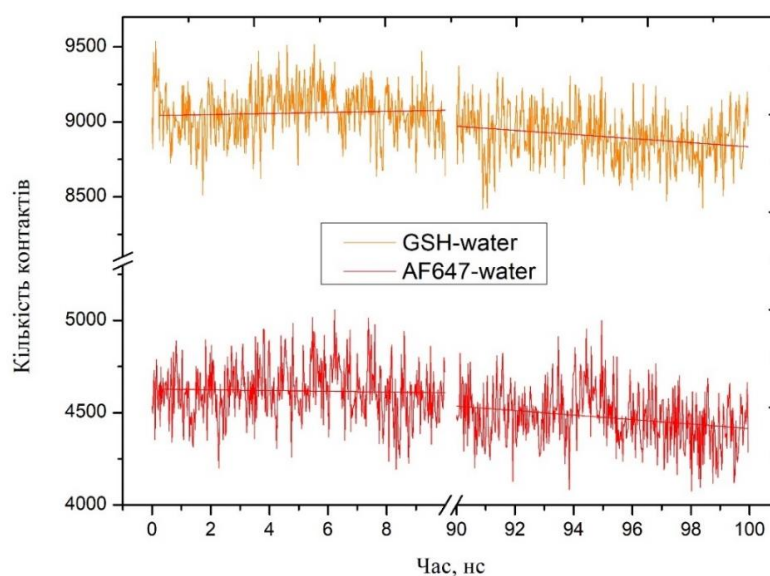


Рис.3.13 - Кількість контактів глутатіон-вода та барвник-вода у залежності від часу моделювання.

Для цього нами було побудовано дві залежності: час – кількість контактів глутатіон-вода та час – кількість контактів барвник-вода. Критерієм наявності контакту було зближення молекули ліганду та молекули води на відстань менше 0.4 нм.

При аналізі перших 10 нс можна побачити, що апроксимувати кількість контактів на цій часовій ділянці можна за наступними рівняннями (табл.3.1):

Таблиця 3.1 Результати аналізу залежності кількість контактів – час моделювання для різних систем

Система	Глутатіон-вода	Барвник-вода
Нейтральна, 10 нс	$y = 9041 \pm 18 + 3.5 \pm 3 x$	$y = 4627 \pm 16 - 2 \pm 3 x$
Нейтральна, 100 нс	$y = 10200 \pm 280 - 14 \pm 3 x$	$y = 5630 \pm 250 - 12 \pm 3 x$
Нейтральна, 150 нс	$y = 5100 \pm 400 + 26 \pm 3 x$	$y = 2100 \pm 390 + 17 \pm 3 x$
Заряджена, 10 нс	$y = 11813 \pm 9 + 15.5 \pm 1.6 x$	$y = 6586 \pm 8 - 4.7 \pm 1.3 x$
Заряджена, 100 нс	$y = 11750 \pm 140 - 1.8 \pm 1.5 x$	$y = 5310 \pm 130 + 12.9 \pm 1.4 x$

Загалом, покладаючись на відповідні рівняннями лінії тренду, можна зробити висновок, що барвник має тенденцію до зменшення кількості контактів з водою, що може свідчити або про самоагрегацію (що мало ймовірно) або про утворення контактів з глутатіоном. Проте стандартне відхилення кутового коефіцієнту має абсолютне значення, більше за сам кутовий коефіцієнт, що свідчить про нерівноважну динаміку процесу агрегації.

Аналізуючи часовий проміжок 90-100 нс бачимо, що загалом абсолютне значення вільного члена рівняння лінії тренду значно збільшилось, проте зросла й його відносна похибка, що все ще свідчить про високу динаміку процесу агрегації-деагрегації. Проте, значення коефіцієнтів куту нахилу має помітну тенденцію до зменшення при приблизно тих самих значеннях стандартного відхилення, що може свідчити про рівноважну динаміку відповідного процесу.

З метою більш детального дослідження динаміки цього процесу нами було виконано моделювання додаткових 50 нс. У ході аналізу бачимо статистичну картину, аналогічну попередній, проте кількість контактів з водою для обох лігандів змінилась кардинально (рис. 3.14). Таким чином робимо висновок, що у часовому

проміжку 100-140 нс система перебувала у стані з мінімальною кількістю контактів лігандів з водою і тепер починає процес зворотної еволюції.

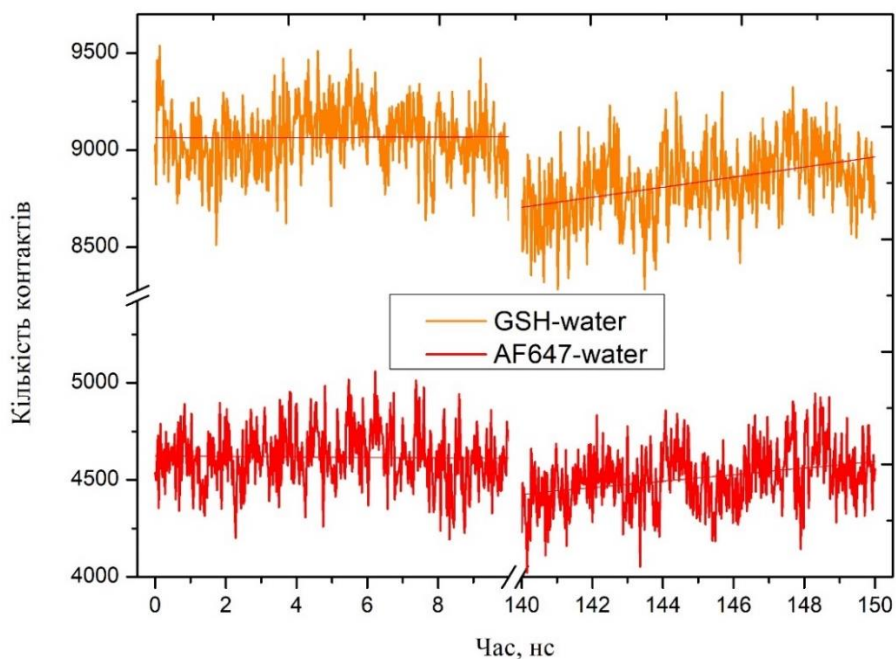


Рис. 3.14 - Кількість контактів глутатіон-вода та барвник-вода у залежності від часу моделювання (додатковий порівняльний розрахунок).

Цими результатами ми демонструємо, що хоча й у відповідності до загальних уявлень, частково заряджений барвник і починає агрегацію з глутатіоновим моношаром, проте їх агрегати є динамічними і з часом починають процес зворотної еволюції.

Переходячи до аналізу системи з зарядженим барвником, яка містить 75 аніонних молекул глутатіону та 5 молекул барвника, навіть на перших етапах моделювання можна помітити суттєві відмінності (рис.3.15). Так, у випадку з системою з нейтральним барвником візуально можемо помітити, що молекули барвника орієнтуються паралельно поверхні НЧ (рис.3.12), в той час як система з зарядженим барвником демонструє іншу поведінку – молекули барвника орієнтовані перпендикулярно поверхні, що може свідчити про їх прагнення до орієнтації у полярне середовище розчинника.

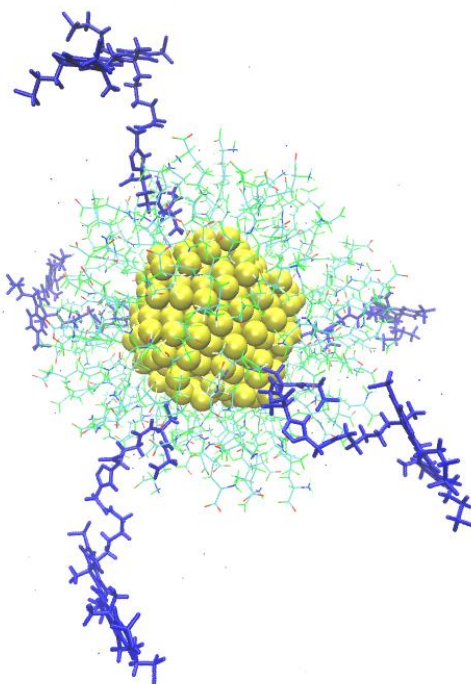


Рис.3.15 - Будова системи з зарядженим барвником після 10 нс моделювання.

Аналізуючи масовий розподіл у цій системі чисельно можемо підтвердити попередні спостереження – розміри комплексної частинки є більшими у порівнянні з нейтральною системою, а саме 6.0 нм (відповідні розміри зберігаються при подальшому моделюванні) (рис.3.16, 3.18).

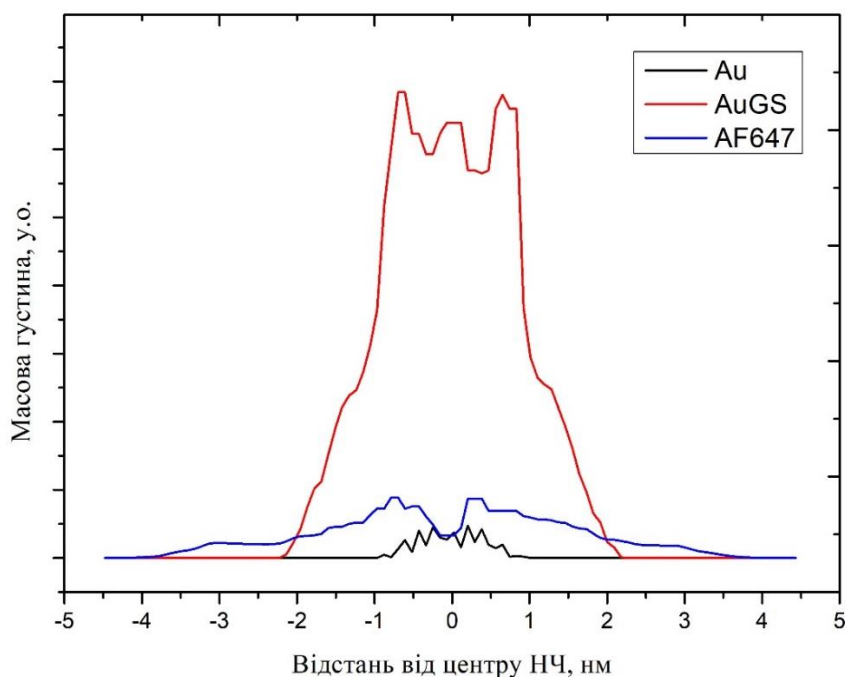


Рис.3.16 - 2D-проекція радіального масового розподілу після 10 нс моделювання (заряджена форма)

Аналізуючи фінальні кадри 100 нс прогону більше детально (рис.3.19), можемо побачити, що кількість контактів глутатіону з водою у певній мірі зменшилась, в той час, як для барвника помітних змін не фіксуємо. Це приводить до думки, що глутатіон починає контактувати з ще одним компонентом МД системи – катіонами натрію. Для підтвердження цієї гіпотези нами було додатково розраховано масовий розподіл катіонів натрію у системі (рис. 3.18). Дійсно, фіксуємо, що більшість катіонів натрію сорбувались у негативно заряджений глутатіоновий моношар наночастинки.

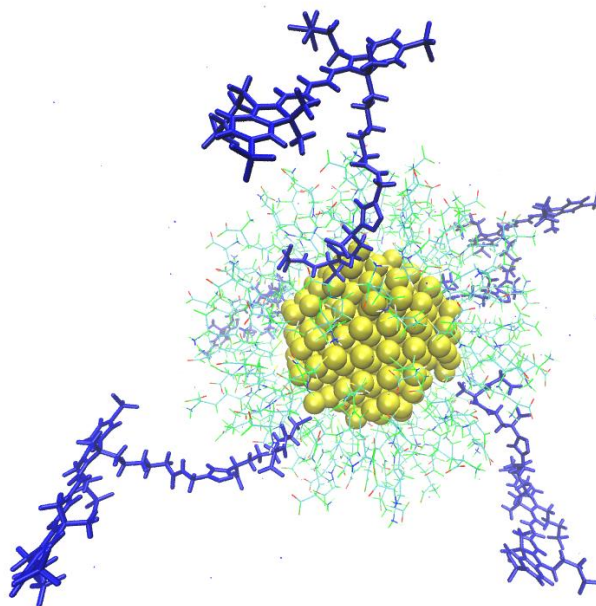


Рис. 3.17 - Будова системи з зарядженим барвником після 100 нс моделювання.

Вищезгадані спостереження демонструють значну відмінність у поведінці двох досліджених систем, що у свою чергу підтверджує значний вплив рН на стабільність та фізико-хімічні властивості НЧЗ, міченої барвником.

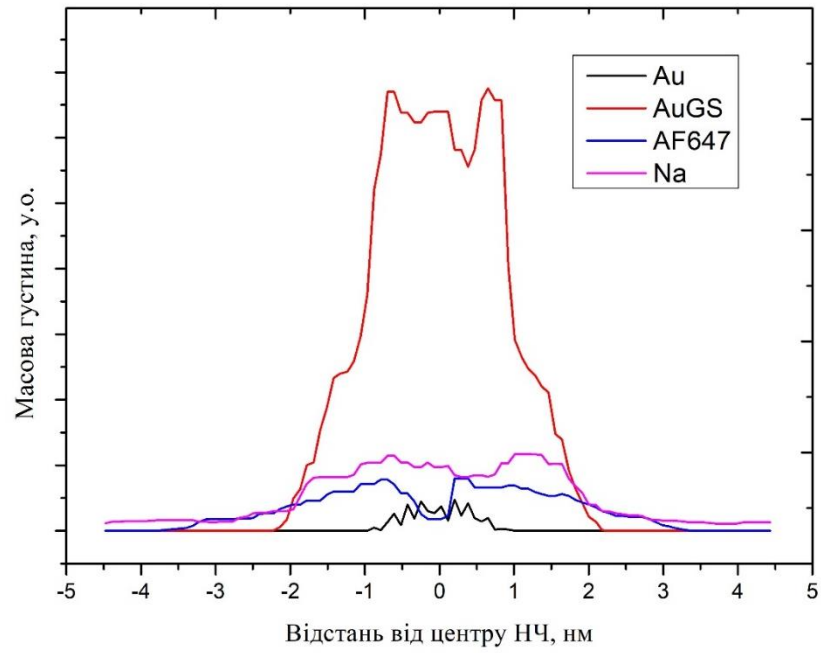


Рис.3.18 - 2D-проекція радіального масового розподілу після 100 нс моделювання (заряджена форма).

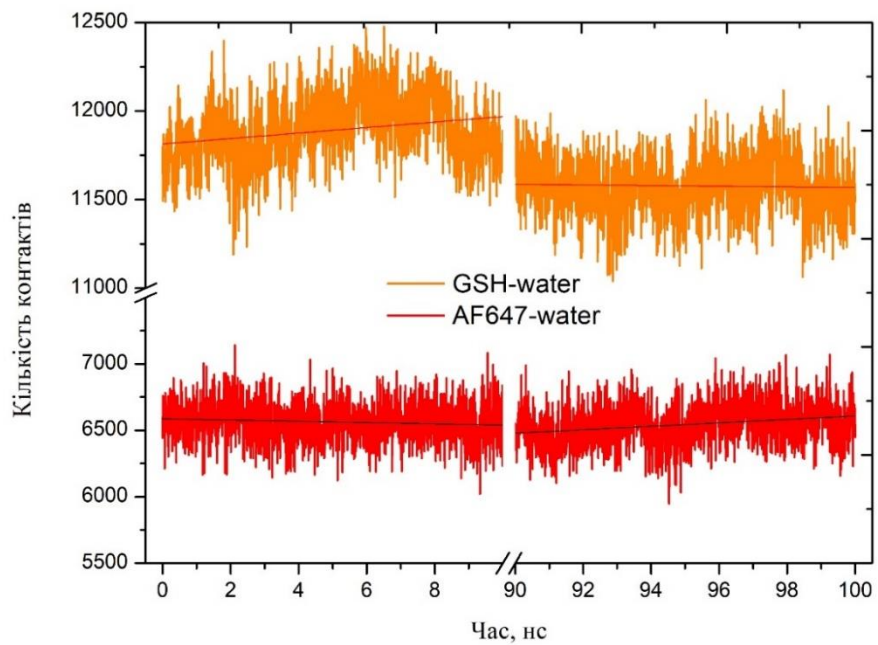


Рис.3.19 - Кількість контактів глутатіон-вода та барвник-вода у залежності від часу моделювання (заряджена система)

За результатами МД моделювання можна зробити висновок, що система з барвником AlexaFluor647, у якому всі сульфогрупи заряджені, є більш фізично обґрунтованою і репрезентує поведінку НЧ в умовах фізіологічного середовища, є більш стабільною (відсутня тенденція до самоагрегування компонентів системи), у тому числі за рахунок додаткової стабілізації протиіонами натрію; демонструє більший потенціал застосування у флуоресцентних дослідженнях (відсутність агрегації флуорофорного фрагменту з іншими компонентами системи).

Відповідно, барвник-функціоналізована НЧЗ, домінування якої відповідає значно меншим значенням рН демонструє протилежну поведінку – можливість агрегації барвника на поверхні наночастинки, що може погіршити флуоресцентні характеристики нанокон'югату.

## ВИСНОВКИ

З використанням методів квантової хімії та молекулярно-динамічного моделювання досліджено вплив концентрації глутатіону та рН на мікроскопічну структуру та динаміку функціональної НЧЗ, вивчено будову барвника AlexaFluor647 на поверхні наночастинки та встановлено наступне:

- розроблено силове поле на основі параметрів OPLS-AA та валідовано молекулярно-динамічні моделі систем наночастинка золота (2 нм) – глутатіон та наночастинка золота – глутатіон – барвник у водному розчині, що забезпечило можливість вивчення структурно-динамічних характеристик лігандного моношару, адсорбованого на поверхні наночастинки.

- встановлено, що щільність пакування глутатіону на поверхні наночастинки збільшується зі збільшенням концентрації лігандів та досягає 90-95 лігандів. При низьких концентраціях ліганди формують щільний компактний моношар із численними контактами з поверхнею наночастинки.

- розглянуто вплив рН середовища на кислотно-основну рівновагу в молекулі глутатіону та показано, що молекула ліганду змінює свою конформацію у лужному середовищі за рахунок орієнтації заряджених груп у водний розчин.

- показано, що протонування/депротонування сульфогруп барвника AlexaFluor 647 змінює його розташування та відстань від ядра наночастинки, що має потенційний вплив на флуоресцентні характеристики нанокон'югата.

На основі проведених досліджень та враховуючи актуальні напрямки у сфері біосенсорики й наномедицини, результати цієї роботи можуть слугувати основою для створення флуоресцентних нанозондів з контрольованими оптичними властивостями. Зокрема, моделювання впливу рН на протонування лігандів і барвника узгоджується з сучасними підходами до дизайну систем на основі наночастинок золота для FRET-аналізу та внутрішньоклітинного рН-детектування, що підтверджується нещодавніми дослідженнями [48,49]. Надалі така модельна платформа може бути адаптована для створення мультифункціональних нанокон'югатів для біомаркування, цільової доставки та моніторингу біохімічних параметрів у живих системах.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Shnoudeh A. J., Hamad I., Abdo R. W., Qadumii L., Jaber A. Y., Surchi H. S., Alkelany S. Z. Synthesis, characterization, and applications of metal nanoparticles. In *Biomaterials and bionanotechnology*, **2019**; pp 527-612.
2. Darabdhara G., Das M. R., Singh S. P., Rengan A. K., Szunerits S., Boukherroub R. Ag and au nanoparticles/reduced graphene oxide composite materials: Synthesis and application in diagnostics and therapeutics. **2019**, *271* 101991.
3. Mottaghitlab F., Farokhi M., Fatahi Y., Atyabi F., Dinarvand R. New insights into designing hybrid nanoparticles for lung cancer: Diagnosis and treatment. **2019**, *295* 250-267.
4. Liu F., Liu A., Tao W., Yang Y. Preparation of uv curable organic/inorganic hybrid coatings-a review. **2020**, *145*.
5. Klein K., Loza K., Heggen M., Epple M. An efficient method for covalent surface functionalization of ultrasmall metallic nanoparticles by surface azidation followed by copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (click chemistry). **2021**, *7* (12), 1330-1339.
6. Sokolova V., Ebel J. F., Kollenda S., Klein K., Kruse B., Veltkamp C., Lange C. M., Westendorf A. M., Epple M. Uptake of functional ultrasmall gold nanoparticles in 3d gut cell models. **2022**, *18* (31), e2201167.
7. Chansuvarn W., Tuntulani T., Imyim A. Colorimetric detection of mercury(ii) based on gold nanoparticles, fluorescent gold nanoclusters and other gold-based nanomaterials. **2015**, *65* 83-96.
8. James J. Z., Lucas D., Koshland C. P. Gold nanoparticle films as sensitive and reusable elemental mercury sensors. **2012**, *46* (17), 9557-62.
9. Xie Y. Colorimetric determination of hg(ii) via the gold amalgam induced deaggregation of gold nanoparticles. **2018**, *185* (7), 351.
10. Chang H.-W., Chen C.-L., Chen Y.-H., Chang Y.-M., Liu F.-J., Tsai Y.-C. Electrochemical organophosphorus pesticide detection using nanostructured gold-modified electrodes. **2022**, *22* (24).
11. Chelly S., Chelly M., Zribi R., Gdoura R., Bouaziz-Ketata H., Neri G. Electrochemical detection of dopamine and riboflavine on a screen-printed carbon

- electrode modified by aunps derived from rhanterium suaveolens plant extract. **2021**, *6* (37), 23666-23675.
12. Berg E. A., Fishman J. B. Labeling antibodies using colloidal gold. **2020**, *2020* (4).
  13. Zhang L., Mazouzi Y., Salmain M., Liedberg B., Boujday S. Antibody-gold nanoparticle bioconjugates for biosensors: Synthesis, characterization and selected applications. **2020**, *165* 112370.
  14. Albarwary S. A., Kibarer A. G., Mustapha M. T., Hamdan H., Ozsahin D. U. The efficiency of aunps in cancer cell targeting compared to other nanomedicine technologies using fuzzy promethee. **2021**, *2021* 1566834.
  15. Qian X., Shen Y., Yuan J., Yang C.-T., Zhou X. Visual and ultrasensitive detection of a coronavirus using a gold nanorod probe under dark field. **2022**, *12* (12).
  16. Wang J., Drelich A. J., Hopkins C. M., Mecozzi S., Li L., Kwon G., Hong S. Gold nanoparticles in virus detection: Recent advances and potential considerations for sars-cov-2 testing development. **2022**, *14* (1), e1754.
  17. Xiao D., Qi H., Teng Y., Pierre D., Kutoka P. T., Liu D. Advances and challenges of fluorescent nanomaterials for synthesis and biomedical applications. **2021**, *16* (1), 167.
  18. Wang Y.-N., Xu B., Qiu L.-H., Sun R., Xu Y.-J., Ge J.-F. Viscosity sensitive fluorescent dyes with excellent photostability based on hemicyanine dyes for targeting cell membrane. **2021**, 337.
  19. Teengam P., Nisab N., Chuaypen N., Tangkijvanich P., Vilaivan T., Chailapakul O. Fluorescent paper-based DNA sensor using pyrrolidinyl peptide nucleic acids for hepatitis c virus detection. **2021**, *189* 113381.
  20. Tay K. A., Bresme F. Wetting properties of passivated metal nanocrystals at liquid-vapor interfaces: A computer simulation study. **2006**, *128* 14166-14175.
  21. Nayar D., Yadav H. O., Jabes B. S., Chakravarty C. Relating structure, entropy, and energy of solvation of nanoscale solutes: Application to gold nanoparticle dispersions. **2012**, *116* (43), 13124-32.
  22. Alsharif S. A., Chen L. Y., Tlahuice-Flores A., Whetten R. L., Yacaman M. J. Interaction between functionalized gold nanoparticles in physiological saline. **2014**, *16* (9), 3909-13.

23. Ghora P. K., Glotzer S. C. Molecular dynamics simulation study of self-assembled monolayers of alkanethiol surfactants on spherical gold nanoparticles. **2007**, *111* 15857-15862.
24. Henz B. J., Chung P. W., Andzelm J. W., Chantawansri T. L., Lenhart J. L., Beyer F. L. Determination of binding energy and solubility parameters for functionalized gold nanoparticles by molecular dynamics simulation. **2011**, *27* (12), 7836-42.
25. Lin J.-Q., Zhang H.-W., Chen Z., Zheng Y.-G., Zhang Z.-Q., Ye H.-F. Simulation study of aggregations of monolayer-protected gold nanoparticles in solvents. **2011**, *115* (39), 18991-18998.
26. Kyrychenko A., Karpushina G. V., Bogatyrenko S. I., Kryshchal A. P., Doroshenko A. O. Preparation, structure, and a coarse-grained molecular dynamics model for dodecanethiol-stabilized gold nanoparticles. **2011**, *977* (1-3), 34-39.
27. Jarvi T. T., van Duin A. C., Nordlund K., Goddard W. A., 3rd. Development of interatomic reaxff potentials for au-s-c-h systems. **2011**, *115* (37), 10315-22.
28. Bae G. T., Aikens C. M. Improved reaxff force field parameters for au-s-c-h systems. **2013**, *117* (40), 10438-46.
29. Guberman-Pfeffer M. J., Ulcickas J., Gascón J. A. Connectivity-based biocompatible force field for thiolated gold nanoclusters. **2015**, *119* (49), 27804-27812.
30. Farcas A., Janosi L., Astilean S. Size and surface coverage density are major factors in determining thiol modified gold nanoparticles characteristics. **2022**, *1209*.
31. Heikkilä E., Martinez-Seara H., Gurtovenko A. A., Javanainen M., Häkkinen H., Vattulainen I., Akola J. Cationic au nanoparticle binding with plasma membrane-like lipid bilayers: Potential mechanism for spontaneous permeation to cells revealed by atomistic simulations. **2014**, *118* (20), 11131-11141.
32. Heikkilä E., Martinez-Seara H., Gurtovenko A. A., Vattulainen I., Akola J. Atomistic simulations of anionic au<sub>144</sub>(sr)<sub>60</sub> nanoparticles interacting with asymmetric model lipid membranes. **2014**, *1838* (11), 2852-60.
33. Reid C. Van Lehn M. R., Paulo H.J. Silva, Patrizia Andreozzi, Javier Reguera, Kislun Voi'tchovsky, Francesco Stellacci, Alfredo Alexander-Katz. Lipid tail

- protrusions mediate the insertion of nanoparticles into model cell membranes. **2014**, *5* (4482).
34. Xuebo Quan C. P., Daohui Zhao, Libo Li, Jun Fan, Jian Zhou. Molecular understanding of the penetration of functionalized gold nanoparticles into asymmetric membranes. **2017**, (33), 361–371.
  35. Andrea C. Vaiana H. N., Andreas Schulz, Juergen Wolfrum,§ Markus Sauer, and Jeremy C. Smith. Fluorescence quenching of dyes by tryptophan: Interactions at atomic detail from combination of experiment and computer simulation. **2003**, *125* 14564-14572.
  36. Graen T., Hoefling M., Grubmuller H. Amber-dyes: Characterization of charge fluctuations and force field parameterization of fluorescent dyes for molecular dynamics simulations. **2014**, *10* (12), 5505-12.
  37. Barucha-Kraszewska J., Kraszewski S., Jurkiewicz P., Ramseyer C., Hof M. Numerical studies of the membrane fluorescent dyes dynamics in ground and excited states. **2010**, *1798* (9), 1724-34.
  38. Sondergaard S., Aznauryan M., Hastrup E. K., Schiott B., Birkedal V., Corry B. Dynamics of fluorescent dyes attached to g-quadruplex DNA and their effect on fret experiments. **2015**, *16* (12), 2562-70.
  39. Licari G., Cwiklik L., Jungwirth P., Vauthey E. Exploring fluorescent dyes at biomimetic interfaces with second harmonic generation and molecular dynamics. **2017**, *33* (14), 3373-3383.
  40. Magalhaes N., Simoes G. M., Ramos C., Samelo J., Oliveira A. C., Filipe H. A. L., Ramalho J. P. P., Moreno M. J., Loura L. M. S. Interactions between rhodamine dyes and model membrane systems-insights from molecular dynamics simulations. **2022**, *27* (4).
  41. Michael P. Allen D. J. T. *Computer simulation of liquids: Second edition*. Oxford University Press: Oxford **2017**.
  42. Burgi M. B. a. T. L-glutathione chemisorption on gold and acid/base induced structural changes: A pm-irras and time-resolved in situ atr-ir spectroscopic study. **2005**, *21* 1354-1363.
  43. Mirzahosseini A., Somlyay M., Noszál B. The comprehensive acid–base characterization of glutathione. **2015**, *622* 50-56.

44. Khavani M., Izadyar M., Housaindokht M. R. A molecular approach on the ability of functionalized gold nanoparticles for selective sensing of hg<sup>2+</sup>. **2019**, 292.
45. Xue Y., Li X., Li H., Zhang W. Quantifying thiol-gold interactions towards the efficient strength control. **2014**, 5 4348.
46. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Petersson G. A., Nakatsuji H., Li X., Caricato M., Marenich A. V., Bloino J., Janesko B. G., Gomperts R., Mennucci B., Hratchian H. P., Ortiz J. V., Izmaylov A. F., Sonnenberg J. L., Williams, Ding F., Lipparini F., Egidi F., Goings J., Peng B., Petrone A., Henderson T., Ranasinghe D., Zakrzewski V. G., Gao J., Rega N., Zheng G., Liang W., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Throssell K., Montgomery Jr. J. A., Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M. J., Heyd J. J., Brothers E. N., Kudin K. N., Staroverov V. N., Keith T. A., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A. P., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Millam J. M., Klene M., Adamo C., Cammi R., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Farkas O., Foresman J. B., Fox D. J. *Gaussian 16 rev. C.01*, Wallingford, CT, **2016**.
47. Jorgensen W. L., Chandrasekhar J., Madura J. D., Impey R. W., Klein M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **1983**, 79 (2), 926-935.
48. Liu X., Luo Y., Zhang Y., Xie Z., Xu C. Gold nanoparticle-mediated fluorescence resonance energy transfer for analytical applications in the fields of life health and safety // *Talanta*. **2024**. P. 127023.
49. Hulkko E., Lahtinen T., Marjomäki V., Pohjolainen E., Saarnio V., Sokolowska K., Ajitha A., Kuisma M., Lehtovaara L., Groenhof G., Häkkinen H., Pettersson M. Covalent and non-covalent coupling of a Au<sub>102</sub> nanocluster with a fluorophore: Energy transfer, quenching and intracellular ph sensing // *Nanoscale Adv.* **2021**. V. 3, № 23. P. 6649-6658.