

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ФУЛЛЕРЕНОВ C_{60}/C_{70} И ПЕПТИДНОГО ДЕНДРИМЕРА С ГИСТИДИНОВЫМИ СПЕЙСЕРАМИ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

© 2025 г. В. В. Безродный^{a, *}, С. Е. Михтанюк^b, О. В. Шавыкин^{a, b, c}, И. М. Неелов^{a, b, d}, Н. Н. Шевелева^a, Д. А. Маркелов^a

^a Санкт-Петербургский государственный университет 199034 Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

^b Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики (Университет ИТМО) 197101 Санкт-Петербург, Кронверкский пр. 49

^c Тверской государственный университет, 170102 Тверь, Садовый пер., 35

^d Филиал Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра “Курчатовский институт” — Институт высокомолекулярных соединений 199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31

*e-mail: v.v.bezrodniy@mail.ru

Поступила в редакцию 11.12.2024 г.

После доработки 03.03.2025 г.

Принята к публикации 01.04.2025 г.

Методами молекулярной динамики впервые изучено образование и структура комплекса, состоящего из фуллере́на (C_{60} или C_{70}) и лизинового дендримера второго поколения с гистидиновыми спейсерами между точками ветвления, в водном растворе при нормальном рН. Также исследована частичная деинкапсуляция фуллере́на после уменьшения рН среды. Обнаружено, что при нормальном рН образуются стабильные комплексы с обоими типами фуллере́на. При этом фуллерен C_{70} оказывается в самом центре дендримера, вытесняя атомы последнего на периферию, а C_{60} также проникает внутрь дендримера, но на меньшую глубину. Установлено, что при последующем уменьшении рН (и связанном с ним изменении заряда всех гистидинов с 0 на +1) образовавшиеся комплексы набухают, что приводит к ослаблению взаимодействия фуллере́на с дендримером и частичной деинкапсуляции обоих типов фуллеренов.

DOI: 10.31857/S2308112025010013, EDN: KSMEGC

ВВЕДЕНИЕ

Дендримеры — это регулярные гиперразветвленные молекулы. Классические формы этих молекул состоят из одного центрального ядра, многочисленных повторяющихся разветвленных единиц и большого количества концевых групп, которые могут быть функционализированы. Дендримеры применяются во многих промышленных, биомедицинских и фармацевтических приложениях благодаря своим уникальным свойствам [1]. Начиная с самых первых работ по дендримерам, было предложено использовать их как наноконтейнеры для доставки лекарств и генов, поскольку они могут образовывать комплексы с различными биоактивными молекулами [2, 3]. Дендримеры с разной химической структурой, например полиэтилениминовые (ПЭИ), полиамидоаминные (ПАМАМ)

и карбосилановые дендримеры, были синтезированы еще в 70–90-х годах XX века [3–9]. Благодаря своим уникальным свойствам они используются во многих промышленных и биомедицинских приложениях [10–19, 20].

Лизиновые дендримеры (состоящие только из аминокислотных остатков лизина) были синтезированы в начале 80-х годов [21]. Их свойства и применение изучались во многих работах [22–29]. Были разработаны различные типы модификации дендримеров [30, 31], например заменой их многочисленных концевых групп с помощью ПЭГилирования [32], ацетилирования [33] и добавлением аминокислот или коротких пептидов [34, 35]. В результате этих исследований были синтезированы более сложные пептидные дендримеры, состоящие из различных аминокислотных остатков [36, 37]. Они

используются в качестве множественных антигенных пептидов [37] и во многих других приложениях, включая доставку лекарств и генов [38–44]. Свойства таких дендримеров интенсивно исследуются методами молекулярной динамики, например в ряде работ авторов [26–29] [45–50]. Другие (непептидные) дендримеры с концевыми аминокислотными остатками (например, аргинином или гистидином) также часто называют пептидными дендримерами [51–53].

Новые пептидные дендримеры на основе лизина с дополнительными дипептидными (2Gly, 2Lys, 2Arg и 2His) спейсерами между лизиновыми точками ветвления были изучены нами ранее с помощью молекулярно-динамического моделирования [54–56]. Нами и нашими коллегами были проанализированы возможности использования таких дендримеров для доставки siRNA [57, 58]. Эти дендримеры также были исследованы методом ЯМР [59–62]. Сравнение локальной подвижности в дендримерах с повторяющимся элементом, состоящим из трех аминокислотных остатков, например, Lys-2Lys и Lys-2Arg показало, что в дендримере Lys-2Lys подвижность боковых групп $\text{CH}_2\text{-(N)}$, расположенных в боковых спейсерах, близка к подвижности концевых групп $\text{CH}_2\text{-(NH}_3^+)$. Однако для дендримера Lys-2Arg было обнаружено, что подвижность боковых групп близка к подвижности внутренних групп основной цепи [60]. Авторы предположили, что последний результат был обусловлен эффектом образования устойчивого взаимодействия между двумя гуанидиновыми группами в остатках Arg (эффект “пейринга”) [63, 64]. Однако в более поздней статье [55] было показано, что эффект парных взаимодействий (пейринга) гуанидиновых групп аргининовых спейсеров для дендримера Lys-2Arg невелик, а наблюдаемое различие в подвижности боковых групп в дендримерах Lys-2Lys и Lys-2Arg возникает из-за эффекта жесткости боковых групп аргинина на изгиб, связанного с различной топологической удаленностью групп $\text{CH}_2\text{-(N)}$ от основной пептидной цепи. Эффект пейринга проявляется гораздо сильнее в дендримере Lys-2His [56]. При исследовании внутримолекулярных характеристик дендримера Lys-2His было показано, что при повышении pH (уменьшении заряда гистидинов) в дендримере образуются устойчивые пары имидазольных групп, что заметно увеличивает плотность внутренней части дендримера. Этот факт может приводить к существенному изменению взаимодействия дендримера с переносимыми им гидрофобными биоактивными молекулами, однако работ по изучению влияния эффекта пейринга на взаимодействие дендримера с гостевыми молекулами до настоящего времени не было.

Одной из биоактивных молекул, биомедицинское применение которой ограничено ее низкой

растворимостью в воде, является фуллерен [65]. С момента открытия фуллеренов [66] исследуются возможности их использования в биомедицине [67, 68]. Фуллерены рассматриваются как перспективные системы доставки лекарств; однако их клинические испытания только начались [69].

Для улучшения растворимости фуллерена наиболее часто используется метод получения его водорастворимых производных путем присоединения к ним множественных гидрофильных, например гидроксильных, карбоксильных или аминогрупп [70, 71]. Исследования показали, что связывание фуллеренов с циклодекстринами [72], пептидами [73], гидрофильными этиленгликолевыми спейсерами [74] значительно увеличивает их растворимость [75, 76]. Также предлагалось инкапсулировать их в углеродные нанотрубки [77, 78] и липосомы [79]. В попытках объединить полезные свойства дендримеров и фуллеренов были синтезированы конъюгаты фуллеренов и некоторых дендримеров [80].

В то же время комплексы фуллеренов с дендримерами мало представлены в литературе [81]. Возможно, это связано с трудностями достижения стабильной инкапсуляции фуллеренов в молекулу дендримера. Ранее нами была исследована возможность создания комплексов фуллеренов с лизиновыми дендримерами (поколений G2 и G3) и дендримером G2, содержащим спейсеры из двух аминокислотных остатков глицина, т.е. с дендримером, имеющим повторяющийся элемент, состоящий из трех аминокислотных остатков: Lys-2Gly [82]. Исследования подтвердили, что при взаимодействии образуется стабильный комплекс между этими дендримерами (G2, G3 и Lys-2Gly) и фуллеренами C_{60} и C_{70} . Цель данной работы — исследование образования и структуры комплекса между лизиновым дендримером с двойными аминокислотными остатками гистидина в спейсерах (т.е. с повторяющимся элементом, состоящим из трех аминокислотных остатков Lys-2His) и фуллереном (C_{60} или C_{70}), а также изучение влияния эффекта пейринга между имидазольными группами на комплексообразование и структуру образовавшегося комплекса.

МОДЕЛЬ И МЕТОД

В настоящей работе методом молекулярной динамики исследовали комплексы Lys-2His- C_{60} и Lys-2His- C_{70} . Дендример состоял из ядра, содержащего аминокислотный остаток аланина, незаряженных разветвленных аминокислотных остатков лизина (Lys), двойных аминокислотных остатков гистидина (нейтральных His или протонированных Hisp) в линейных спейсерах между лизиновыми точками ветвления и положительно

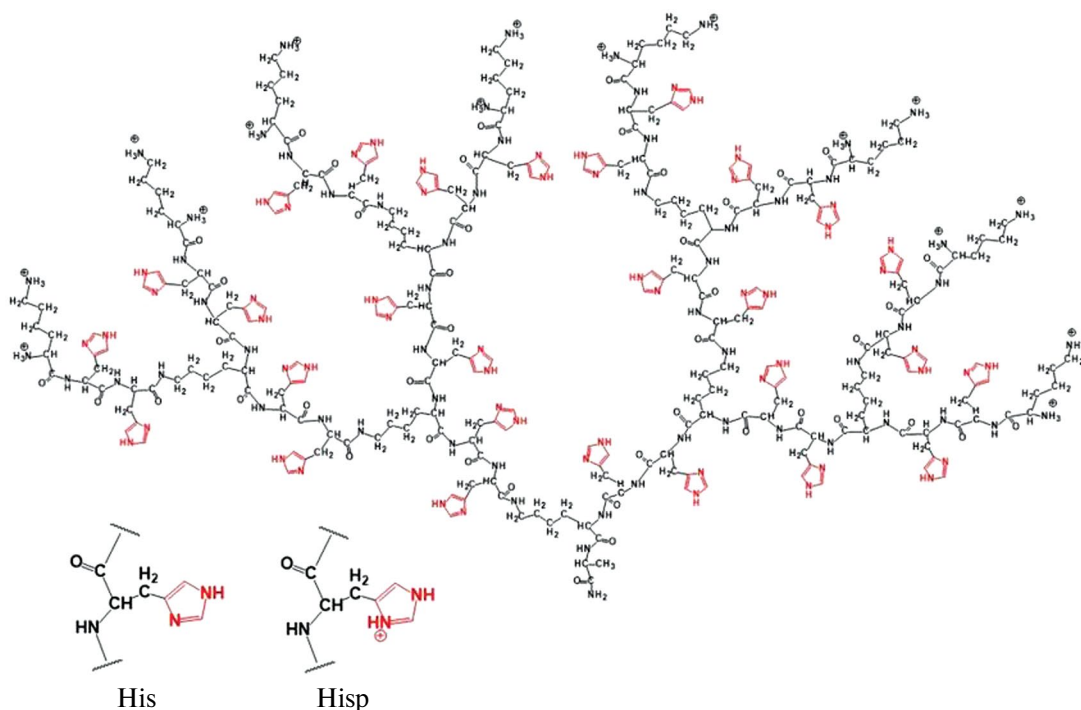


Рис. 1. Химическая структура дендримера Lys-2His с двойными нейтральными гистидинами (имидазольные кольца в боковых группах гистидина отмечены красным цветом) в спейсере между соседними точками ветвления дендримера (CH), а также сравнение структуры одного аминокислотного остатка нейтрального гистидина (His) с протонированным (Hisp), в имидазольном кольце которого имеется дополнительный протон. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

заряженных концевых групп лизина (рис. 1). В расчетах использовали потенциалы фуллеренов, имеющиеся для данных молекул на широко известном ресурсе Automated Topology Builder (ATB) and Repository (которые были получены по стандартной методике с использованием квантово-химических пакетов) [83, 84].

Молекулярно-динамическое моделирование было проведено с помощью пакета Gromacs [85] и силового поля AMBER99SB-ILDN [86]. Сначала исследовали молекулу Lys-2His с незаряженными гистидинами, которую помещали в центр периодической ячейки моделирования размером 9 нм. Центр фуллерена (C_{60} или C_{70}) помещали в точки на середине расстояния между центром дендримера и серединой одной из трех граней кубической ячейки моделирования, например лицевой, левой или нижней, которые соответствовали трем разным начальным условиям, обозначенным в дальнейшем тексте как var1, var2 и var3 соответственно. Ячейка была заполнена молекулами воды (модель TIP3P) с добавлением 16 контрионов хлора для нейтрализации положительного заряда молекулы дендримера Lys-2His при нормальном pH. Предварительное уравнивание системы выполняли в NVT-ансамбле при $T = 300$ K, а затем в NPT-ансамбле при $T = 300$ K и $P = 1$ бар. После предварительного

уравнивания при одних тех же внешних условиях проводили первую и вторую части основного моделирования (с термостатом Nosé–Hoover [87] и баростатом Parrinello–Rahman [88]). Первую часть моделирования длительностью 250 нс использовали для исследования установления равновесия в системе, связанного с возможным процессом инкапсуляции фуллерена внутрь дендримера. Вторая часть моделирования, также продолжительностью 250 нс, служила для вычисления равновесных (после выхода на плато) характеристик комплекса, содержащего незаряженный дендример Lys-2His и инкапсулированный в него фуллерен (C_{60} или C_{70}). Эта общая схема моделирования при нормальном значении pH использовалась для двух систем (Lys-2His- C_{60} и Lys-2His- C_{70} с незаряженными гистидинами) и повторялась для каждой из них три раза из разных начальных условий. Последние отличались начальным положением фуллерена (var1, var2 и var3) относительно дендримера (центр фуллерена смещали относительно центра инерции дендримера на одинаковое расстояние вдоль 1-й, 2-й или 3-й оси декартовой системы координат с центром, расположенным в центре инерции фуллерена, и осями, параллельными ребрам периодической ячейки моделирования).

Таблица 1. Характеристики дендримеров Lys-2His и Lys-2Hisp

Дендример	M_d	$Q_{bare}(e)$	N_{end}	$Q_{end}(e)$	N_{ins}	$Q_{ins}(e)$
Lys-2His	5918.018	+16	16	+16	28	0
Lys-2Hisp	5946.242	+44	16	+16	28	+28

Примечание. M_d — молекулярная масса, $Q_{bare}(e)$ — заряд, N_{end} — число положительно заряженных концевых групп NH_3^+ , $Q_{end}(e)$ — общий заряд концевых групп NH_3^+ , N_{ins} — общее число аминокислотных остатков в боковых спейсерах, $Q_{ins}(e)$ — общий заряд аминокислотных остатков в боковых спейсерах.

После окончания расчетов для дендримера Lys-2His с незаряженными гистидинами и получения комплекса дендример–фуллерен с инкапсулированными в дендример фуллеренами (C_{60} или C_{70}) задавалось скачкообразное увеличение заряда каждого из 28 гистидинов дендримера с 0 до +1 (т.е. проводилось протонирование гистидинов, соответствующее изменению значения pH среды с нормального на низкое). Так как в этом случае общий заряд дендримера увеличивался на +28, в систему добавлялось дополнительно 28 отрицательных контрионов хлора (см. табл. 1). Затем для двух систем, содержащих сильно заряженный дендример Lys-2Hisp с протонированными гистидинами (Hisp) и общим зарядом +44, проводились первая и вторая части основного моделирования дендримера вместе с одной молекулой фуллерена (C_{60} или C_{70}).

Первая часть расчета, длительностью 250 нс, выполнялась для установления равновесия и исследования возможности деинкапсуляции фуллерена из сильно заряженного Lys-2Hisp дендримера после изменения pH среды. Вторая часть расчета проводилась также в течение 250 нс и использовалась для расчета равновесных характеристик систем с измененным pH после выхода всех характеристик системы на плато.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Образование комплекса дендример–фуллерен при нормальных pH

Для иллюстрации взаимного расположения дендримера и фуллерена, на рис. 2 представлены мгновенные снимки комплексов в конце первых 250 нс моделирования. Системам Lys-2His- C_{60} и Lys-2His- C_{70} при нормальном pH соответствуют рис. 2а и рис. 2б, которые демонстрируют образование комплекса дендримера с обоими типами фуллеренов (C_{60} и C_{70}). Хорошо видно, что оба фуллерена глубоко проникают внутрь дендримера Lys-2His, т.е. инкапсулируются дендримером. На рис. 2в и рис. 2г приведены конформации более сильно заряженного дендримера Lys-2Hisp

и положение фуллерена (C_{60} или C_{70}) после скачка заряда гистидинов и релаксации в течение 250 нс. Увеличение заряда дендримера приводит к смещению фуллерена из центра дендримера на его периферию, что можно предварительно (на основании рис. 2в и рис. 2г) назвать частичной деинкапсуляцией обоих типов фуллерена.

Чтобы сделать окончательный вывод об инкапсуляции фуллерена в первых двух системах и его последующей частичной деинкапсуляции, необходимо рассмотреть характеристики, усредненные по равновесной части траектории от 250 до 500 нс, что будет сделано ниже.

Для численной характеристики размеров молекул, образующих комплекс, и самого комплекса можно использовать радиус инерции макромолекул и подсистемы дендример–фуллерен R_g :

$$R_g(t) = \sqrt{\frac{\sum_i^{N_{tot}} m_i \cdot r_i^2(t)}{\sum_i^{N_{tot}} m_i}}, \quad (1)$$

где m_i и r_i — масса и радиус-вектор i -го атома дендримера или комплекса дендример–фуллерен, N_{tot} — число атомов в молекулах или в комплексе дендример–фуллерен.

С помощью временной зависимости R_g для подсистемы дендример–фуллерен можно изучать процесс образования комплекса. Как следует из рис. 3, начальное значение R_g для подсистемы Lys-2His- C_{60} велико для всех трех кривых, отвечающих различным начальным положениям фуллерена (var1, var2 и var3) относительно дендримера, так как фуллерен находится далеко от дендримера. Затем после некоторого спада R_g выходит на плато и колеблется около равновесного значения (см. табл. 2), характерного для комплекса Lys-2His- C_{60} .

Для фуллерена C_{70} процесс образования комплекса с дендримером Lys-2His имеет аналогичный характер (рис. 3б), но флуктуации R_g , в процессе образования комплекса с начальными условиями var1 и var2 несколько меньше. В то же

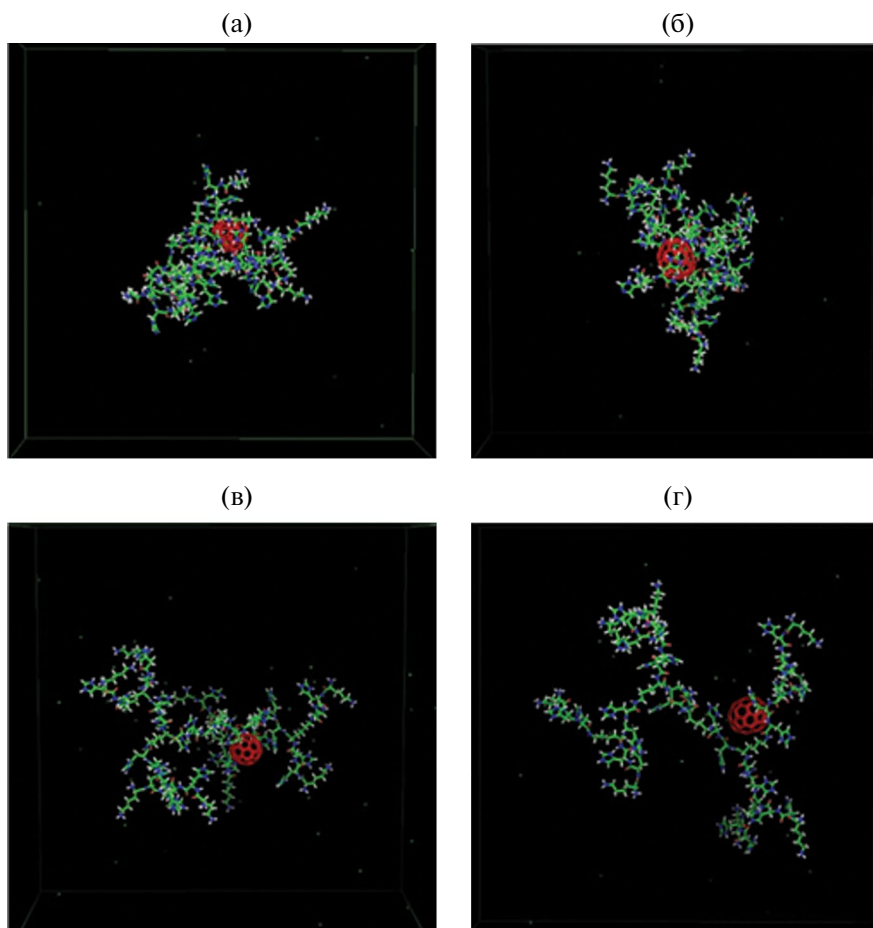


Рис. 2. Мгновенные снимки комплекса дендример—фуллерен для систем с незаряженными гистидинами в дендримере (при нормальном pH) Lys-2His + C₆₀ (а) и Lys-2His + C₇₀ (б) и систем с протонированными гистидинами в дендримере (при низких pH) Lys-2His + C₆₀ (в) и Lys-2His + C₇₀ (г), в которых происходит частичная деинкапсуляция фуллерена из дендримера.

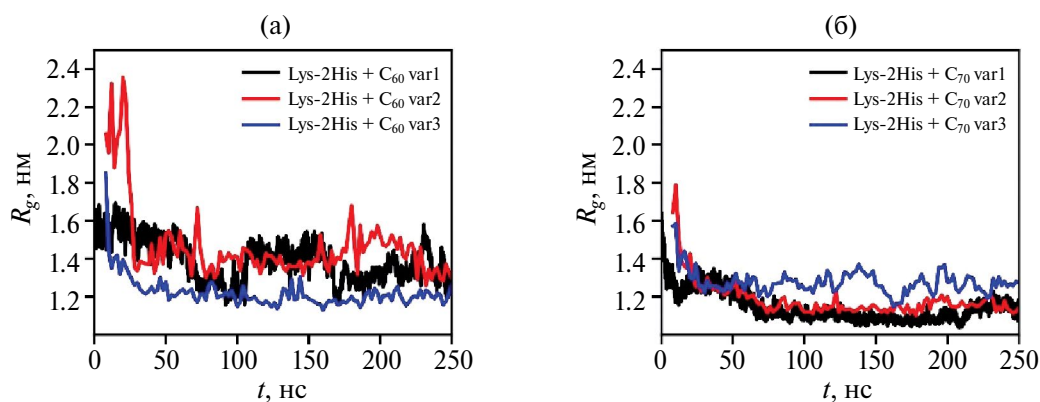


Рис. 3. Временная зависимость R_g для комплексов Lys-2His-C₆₀ (а) и Lys-2His-C₇₀ (б) с незаряженными гистидинами для первых 250 нс моделирования, стадия инкапсуляции фуллерена в дендример. Начальные условия var1, var2 и var3 отвечают трем разным начальным вариантам расположения фуллерена (см. раздел “Материалы и методы”).

время в третьем варианте начальных условий (рис. 3б, для начальных условий var3, синяя кривая) наблюдаются более явно выраженные флуктуации R_g на первой части траектории (от 0 до 250 нс)

по сравнению с вариантами расчета var1 и var2 для C₇₀. Однако в начале второй части траектории (от 250 до 500 нс) различия значений R_g уменьшаются. При этом среднее значение R_g за время от

Таблица 2. Характеристики равновесной системы дендример–фуллерен

Система	Вариант	Радиус инерции R_g , нм		α^*	d^{**} , нм	ζ -потенциал, мВ
		дендример	комплекс			
Lys-2His	—	1.30 ± 0.20	—	0.008	—	17.6
Lys-2His- C_{60}	var1	1.33 ± 0.05	1.29 ± 0.05	0.012	0.74	25.4
	var2	1.37 ± 0.07	1.33 ± 0.07	0.017	0.93	29.8
	var3	1.21 ± 0.04	1.17 ± 0.04	0.008	0.71	43.4
	ср.	1.30 ± 0.05	1.26 ± 0.05	0.012	0.79	32.9
Lys-2His- C_{70}	var1	1.17 ± 0.04	1.11 ± 0.04	0.009	0.31	38.8
	var2	1.20 ± 0.03	1.14 ± 0.03	0.004	0.25	42.8
	var3	1.20 ± 0.03	1.13 ± 0.03	0.003	0.17	42.3
	ср.	1.19 ± 0.03	1.13 ± 0.03	0.005	0.24	41.3
Lys-2His _p	—	2.1 ± 0.1	—	0.02	—	11.2
Lys-2His _p - C_{60}	—	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1	0.019	1.28	19.8
Lys-2His _p - C_{70}	—	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1	0.025	1.67	21.1

Примечание. Здесь и в табл. 3 var1, var2, var3 отвечают трем разным начальным вариантам расположения фуллерена (центр фуллерена смещен по 1-й, 2-й или 3-й оси координат относительно центра дендримера). Ср. — среднее по вариантам.

* Анизотропия формы. ** Расстояние от центра масс дендримера до центра масс фуллерена.

250 до 500 нс становится близким к результатам других расчетов (см. табл. 2). Полученные для R_g результаты подтверждают факт образования стабильного комплекса дендример–фуллерен, а также тот факт, что комплекс Lys-2His + C_{70} имеет в среднем большую компактность и, соответственно, плотность по сравнению с комплексом Lys-2His + C_{60} .

Другой характеристикой образования комплекса дендример–фуллерен являются временные зависимости расстояния $d(t)$ между центрами масс фуллерена C_{60} или C_{70} и дендримера Lys-2His, которые представлены на рис. 4 для трех разных положений фуллерена (var1, var2 и var3) относительно центра дендримера. Начальное значение расстояния во всех случаях велико, так как фуллерен вначале находится далеко от дендримера. Зависимости $d(t)$ показывают, что для комплексов с Lys-2His дендримером во всех случаях происходит резкое уменьшение d в течение первых 10–40 нс. Далее $d(t)$ флуктуирует в течение первых 50–250 нс расчета между 1 и 2 нм, но практически не меняется с временем на второй половине (250–500 нс) расчета, где $d(t) < 1$ для всех рассмотренных систем (см. табл. 2). Это означает, что в последнем случае фуллерен постоянно находится внутри дендримера недалеко от его центра масс. Полученные результаты подтверждают, что дендример Lys-2His с незаряженными гистидинами во всех рассмотренных случаях образует

стабильный устойчивый комплекс и с фуллереном C_{60} , и с фуллереном C_{70} .

На основе временных зависимостей R_g и d , представленных на рис. 3 и 4, можно заключить, что для образования стабильного комплекса Lys-2His_p с фуллеренами C_{60} или C_{70} в большинстве (5 из 6) рассмотренных систем требуется примерно 50–70 нс. В следующем разделе будут рассмотрены средние значения размеров и других характеристик полученных комплексов.

Анализ структуры и свойств устойчивого комплекса дендример–фуллерен при нормальных рН

После установления равновесия в комплексах дендример–фуллерен (в течение первых 250 нс МД траектории) на основе следующих 250 нс моделирования были рассчитаны установившиеся средние значения структурных характеристик комплексов (см. табл. 2). Как видно из табл. 2, характеристики комплексов фуллеренов C_{60} и C_{70} с дендримером Lys-2His существенно различаются. Для комплекса с фуллереном C_{60} радиус инерции R_g комплекса практически совпадает с таковым для дендримера без фуллерена, а для комплекса с C_{70} значение R_g меньше, чем для дендримера без фуллерена, как для комплекса в целом, так и для дендримера в комплексе.

Аналогичное различие между двумя комплексами при нормальных рН наблюдается и для

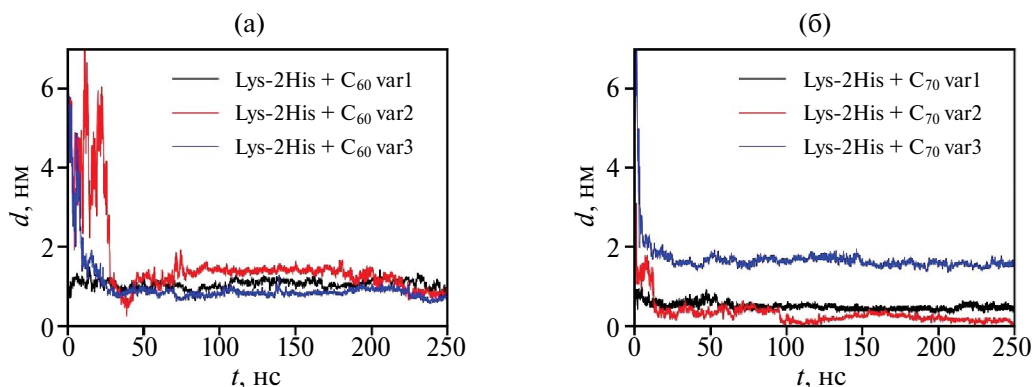


Рис. 4. Временная зависимость расстояния от центра инерции дендримера до центра инерции фуллерена в комплексах дендример-фуллерен Lys-2His- C_{60} (а) и Lys-2His- C_{70} (б) с незаряженными гистидинами в трех вариантах расчета с разными начальными положениями гистидина, var1, var2 и var3.

среднеквадратичных расстояний d между центрами инерций дендримера и фуллерена. Для комплекса с C_{60} расстояние $d = 0.79$ нм, в то время как для комплекса с C_{70} оно значительно меньше: $d = 0.24$ нм. Для проверки анизотропии формы можно использовать приближение дендримера как трехмерного эллипсоида с полуосями, соответствующими собственным значениям тензоров инерции I_x , I_y и I_z . Главные оси тензора позволяют вычислить параметр асферичности α как

$$\alpha = 1 - 3 \frac{IxIy + IxIz + IyIz}{(Ix + Iy + Iz)^2}.$$

Значение α находится между 0 (для сферы) и 1 (крайне вытянутый эллипсоид).

Асферичность комплекса по сравнению с асферичностью отдельного дендримера Lys-2His больше для комплекса дендримера с C_{60} и меньше для комплекса дендримера с C_{70} .

В дополнение к структурным свойствам был рассчитан ζ -потенциал. Значения ζ -потенциала рассчитывали способом, аналогичным изложенному в работе [91], на основе вычисления поверхностной плотности заряда дендримера или соответствующего комплекса. Применение этого метода для расчета ζ -потенциала сходных лизинового дендримеров с двойными лизиновыми или глициновыми вставками описано в работе [54].

Как видно из табл. 2, для обоих фуллеренов ζ -потенциал комплекса примерно в два раза выше, чем у отдельного дендримера, причем для комплекса Lys-2His- C_{70} с фуллереном C_{70} он больше, чем для комплекса Lys-2His- C_{60} с фуллереном C_{60} .

Полученные характеристики указывают на более компактную структуру комплекса Lys-2His- C_{70} по сравнению с Lys-2His- C_{60} . Более наглядно

внутреннюю структуру комплексов (усредненную по трем траекториям с различным начальным расположением фуллеренов по отношению к центру инерции дендримера) при нормальных рН можно продемонстрировать с помощью радиальной функции распределения плотности атомов дендримера и фуллеренов в комплексах

$$\rho(r) = \frac{M(r)}{V(r)}, \quad (2)$$

где $\rho(r)$ — усредненная плотность в сферическом слое на расстоянии r от центра масс дендримера, $V(r)$ — объем сферического слоя.

Как следует из рис. 5б (красная кривая), в комплексе Lys-2His + C_{70} происходит проникновение фуллерена в самый центр дендримера, и он располагается на расстояниях от $r = 0$ до $r = 0.8$ нм с максимумом при $r = 0$ нм. В то же время в комплексе Lys-2His- C_{60} фуллерен после установления равновесия не проникает в самый центр дендримера и расположен между его центром и внешней поверхностью дендримерной молекулы на расстояниях от $r = 0.3$ до 1.2 нм от ее центра с максимумом при 0.6 нм (рис. 5а, красная кривая).

Таким образом, можно заключить, что оба фуллерена и C_{60} , и C_{70} инкапсулируются дендримером Lys-2His, однако фуллерен C_{70} располагается практически в самом центре инерции дендримера, в то время как фуллерен C_{60} смещен относительно центра инерции дендримера и находится где-то посередине между центром и внешней поверхностью дендримера.

Для дополнительного подтверждения данного вывода на рис. 6 приведено 2D-секторально-радиальное распределение масс дендримера, рассчитанное от центра масс дендримера в исследуемых комплексах (подробное описание данной функции см. в Приложении). Пониженная

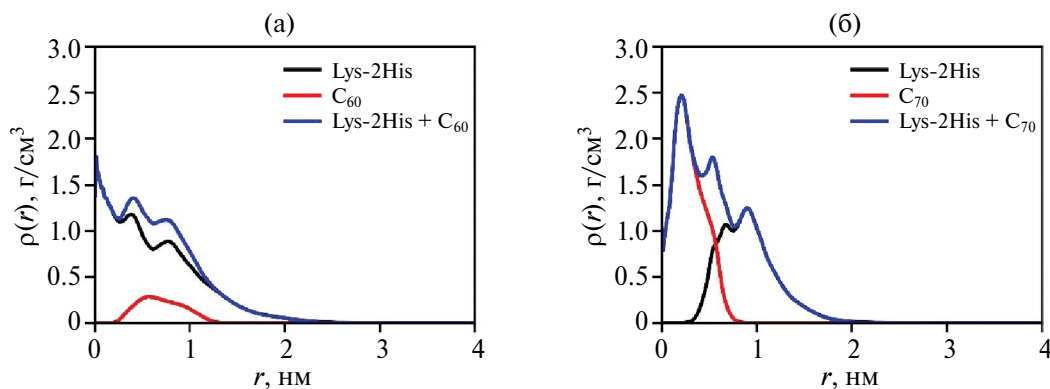


Рис. 5. Распределение плотности для дендримера (1), фуллерена (2) и комплекса дендример–фуллерен (3) для систем Lys-2His + C₆₀ (а) и Lys-2His + C₇₀ (б). Результаты усреднены по трем разным МД-расчетам, соответствующим трем различным начальным расположениям фуллерена.

плотность (полость в дендримере), соответствующая темно-синей области вблизи центра инерции дендримера на рис. 6а, 6б и 6в для комплекса с C₆₀ и в самом центре инерции дендримера на рис. 6г, 6д, и 6е в комплексе с C₇₀, соответствует местоположению фуллерена. На рис. 6а, 6б и 6в видно, что во всех трех траекториях с разными начальными положениями фуллерена (var1, var2 и var3) фуллерен C₆₀ смещен относительно центра масс дендримера, в то время как фуллерен C₇₀ на рис. 6а, 6б и 6в расположен практически в самом центре масс дендримера. На рис. 6г, 6д и 6е хорошо видно, что атомы дендримера (две области темно-желтого цвета, соответствующие наибольшей плотности дендримера вокруг фуллерена) довольно плотно, хотя и не полностью, окружают фуллерен C₇₀, что демонстрирует образование “капсулы” из атомов дендримера вокруг фуллерена. Для фуллерена C₆₀ наблюдается сходная картина (рис. 6а, 6б и 6в), но дендример окружает фуллерен не так равномерно: две области высокой плотности желтого цвета имеют в середине меньшую толщину (перемычки на рис. 6а и рис. 6в) или даже распадаются на 4 отдельные области (рис. 6б).

Интересно, что в случае исследованного нами ранее дендримера Lys2Gly (содержащего двойные глициновые спейсеры вместо двойных гистидиновых спейсеров в Lys2His) фуллерены C₆₀, напротив, располагаются ближе к центру комплекса на основе Lys2Gly, чем фуллерены C₇₀. Возникает вопрос, в чем причина такого различия? Мы полагаем, что различие может быть связано с тем, что в дендримере Lys2Gly двойные глициновые спейсеры являются гидрофобными. В связи с этим вся внутренняя часть данного дендримера также является довольно гидрофобной. Поскольку фуллерен C₆₀ также гидрофобный, он легко проникает внутрь дендримера Lys2Gly. В то же время дендример, рассмотренный в данной статье, имеет гистидиновые остатки, которые

являются полярными, а фуллерен C₇₀ имеет асимметричную форму и дипольный момент. Поэтому он имеет большее сродство с гистидиновыми остатками дендримера Lys2His, чем C₆₀, и легче проникает внутрь него.

Следует также отметить, что в системах с отдельными непротонированными молекулами гистидина или в непротонированном полигистидине существуют сильные парные взаимодействия имидазольных колец, приводящие к образованию из них устойчивых пар (эффект пейринга) [89]. В нашей работе [90] недавно было показано, что эффект пейринга присутствует и в дендримере Lys-2His, где он приводит к эффективному “сшиванию” соседних ветвей дендримера и его коллапсу при нормальных pH. Возможно, такое сшивание больше затрудняет проникновение сферического фуллерена C₆₀ в дендример. При этом проникновение анизотропного фуллерена C₇₀, имеющего меньшее поперечное сечение, может быть менее затруднено в такой “сетке”.

Для дополнительного подтверждения выдвинутых гипотез были рассмотрены радиальные функции плотности атомов имидазольных групп дендримера относительно центра масс фуллерена (рис. 7). Для всех рассмотренных случаев наблюдается большой пик на расстоянии около 0.7 нм. Поскольку радиус фуллерена близок к 0.5 нм, данный пик свидетельствует об образовании пар между ароматическими кольцами фуллерена и имидазольными группами. Как видно на рис. 7, высота пика существенно больше для комплекса с C₇₀, чем для комплекса с C₆₀. Это означает, что данный фуллерен сильнее взаимодействует с имидазольными группами дендримера.

Необходимо отметить, что наличие взаимодействия между имидазольными группами и фуллереном не препятствует существованию в дендримере пейринга между имидазольными

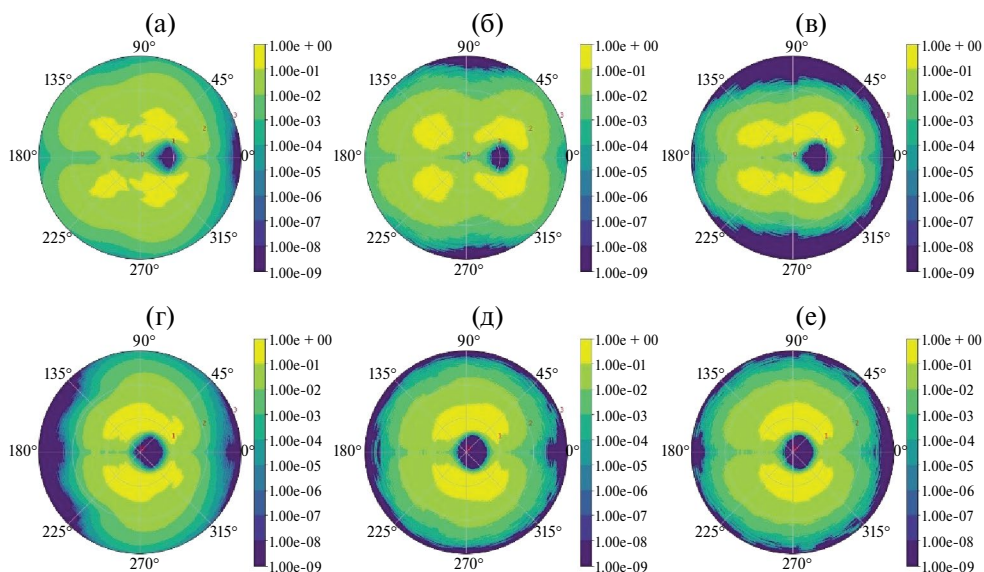


Рис. 6. 2D-секторально-радиальное распределение масс дендримера относительно центра масс для Lys-2His + C₆₀ (var1) (а), Lys-2His + C₆₀ (var2) (б), Lys-2His + C₆₀ (var3) (в), Lys-2His + C₇₀ (var1) (г), Lys-2His + C₇₀ (var2) (д), и Lys-2His + C₇₀ (var3) (е). var1, var2, var3 отвечают трем разным начальным вариантам расположения фуллерена.

группами, но меняет его характеристики. В частности, рассчитанные нами числа пар имидазольных групп (табл. 3) показывают, что пейринг имидазольных групп дендримера в комплексе с фуллереном отличается от пейринга в дендримере в отсутствие фуллерена как по общему числу пар, так и по структуре пейринга, т.е. по соотношению числа пар соседних (находящихся внутри одного спейсера) и несоседних (принадлежащих разным спейсерам) имидазольных групп. Так, общее число устойчивых пар имидазольных колец в комплексе Lys-2His + C₆₀ меньше, а в Lys-2His + C₇₀ немного больше, чем в отдельном дендримере Lys-2His. При этом при образовании комплекса Lys2His + C₆₀ число пар между соседними группами увеличивается с 1.3 до 1.7, а для несоседних групп уменьшается с 16.0 до 14.0. При образовании комплекса Lys-2His + C₇₀, напротив, число соседних имидазольных пар уменьшается по сравнению с таковым в отдельном дендримере Lys2His с 1.3 до 0.9, а число несоседних имидазольных пар увеличивается с 16.0 до 16.6.

Таким образом, оказывается, что оба типа фуллеренов стремятся находиться около имидазольных групп дендримера, причем тип фуллерена влияет на число пар имидазольных групп в комплексе, находящихся в контакте: C₆₀ уменьшает число таких пар, а C₇₀ немного увеличивает.

Деинкапсуляция фуллерена из центра дендримера после падения рН

Конечные координаты всех атомов в системах Lys-2His-C₆₀ и Lys-2His-C₇₀, содержащих

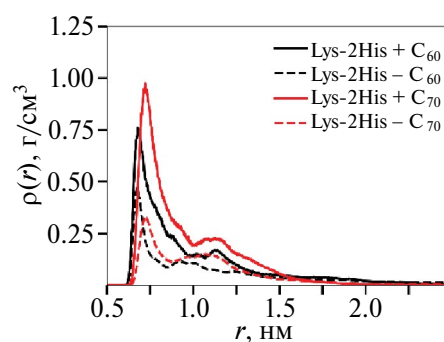
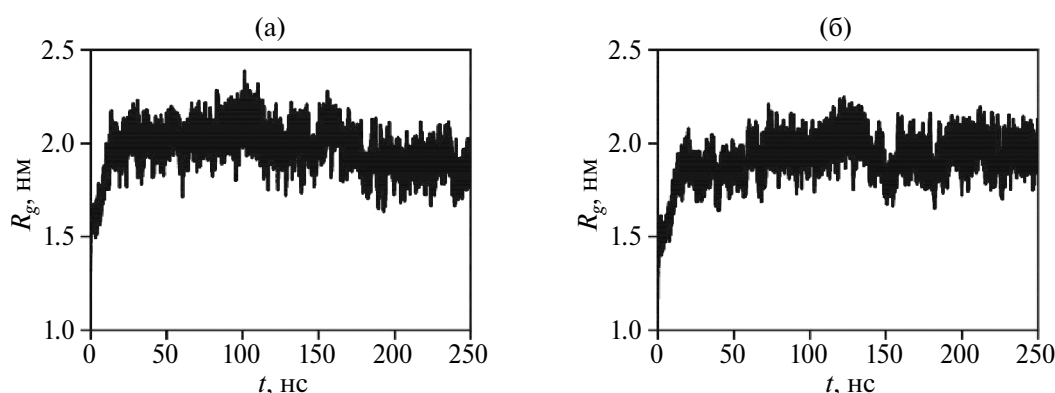


Рис. 7. Распределение плотности имидазольных групп относительно центра масс фуллерена для дендримеров Lys-2His (1, 3) и Lys-2Hisр (2, 4) с фуллереном C₆₀ (1, 2) и фуллереном C₇₀ (3, 4). Результаты усреднены по трем МД-расчетам, соответствующим трем различным начальным положениям фуллерена.

дендример с незаряженными гистидинами (His), использовались как начальные координаты для систем Lys-2Hisр-C₆₀ и Lys-2Hisр-C₇₀ с протонированными гистидинами (Hisр). Вначале в течение первых 250 нс исследовали процесс установления равновесия в последних двух системах (после скачкообразного увеличения заряда каждого из 28 гистидинов в дендримере с 0 до +1, соответствующего скачкообразному изменению значения рН среды с нормального на пониженное). Кроме того, изучали возможность деинкапсуляции фуллерена (C₆₀ или C₇₀) из более сильно заряженного (за счет заряда протонированных гистидинов) дендримера Lys-2Hisр. Следующие 250 нс моделирования использовали для вычисления средних значений величин и функций,

Таблица 3. Среднее число пар N_{pairs} имидазольных групп при $T = 300$ К для соседних и несоседних групп

Система	Вариант	N_{pairs}		
		всего	в соседних группах	не в соседних группах
Lys-2His	—	17.3	1.3	16
Lys-2His + C ₆₀	var1	14.2	2.6	11.6
	var2	18.1	1.4	16.8
	var3	14.8	1.1	13.7
	ср.	15.7	1.7	14.0
Lys-2His + C ₇₀	var1	18.5	1	17.5
	var2	17.1	0.9	16.2
	var3	17.0	0.8	16.1
	ср.	17.5	0.9	16.6
Lys-2His _p	—	2.4	1.02	1.38
Lys-2His _p + C ₆₀	—	1.05	0.21	0.84
Lys-2His _p + C ₇₀	—	1.37	0.33	1.04

**Рис. 8.** Временная зависимость R_g после протонирования всех гистидинов дендримера в момент времени $t = 0$ для комплексов Lys-2His_p + C₆₀ (а) и Lys-2His_p + C₇₀ (б). Показаны первые 250 нс моделирования, т.е. стадия деинкапсуляции фуллерена из дендримера.

характеризующих системы, содержащие дендример с протонированными гистидинами.

Временная зависимость радиуса инерции системы R_g применялась для исследования установления равновесия в системе после скачка рН. Было получено (рис. 8), что радиус инерции подсистемы дендример–фуллерен при пониженном рН действительно быстро увеличивается в первые 30–40 нс после скачка заряда гистидинов и связанного с ним усиления электростатического отталкивания между гистидинами и заряженными группами концевых лизинов. Затем происходит более медленное повышение R_g (примерно до 100–120 нс), после чего происходит некоторое уменьшение (при 100–150 нс) и выход R_g на плато в районе 150–170 нс. В дальнейшем радиус

инерции сильно флуктуирует, но его среднее значение почти не меняется со временем.

Другой важной характеристикой процесса деинкапсуляции фуллерена C₆₀ или C₇₀ является временная зависимость расстояния d между центрами инерции фуллерена и дендримера после протонирования гистидинов в дендримере.

После протонирования гистидинов в дендримере расстояние d между дендримером и фуллереном в обеих системах вначале быстро растет, достигая максимума примерно через 100 нс моделирования для системы с фуллереном C₆₀ и через 130 нс для системы с C₇₀. После этого расстояние немного уменьшается и выходит на плато через 150 нс для первой системы и через 170 нс для второй системы. Из сравнения результатов рис. 8

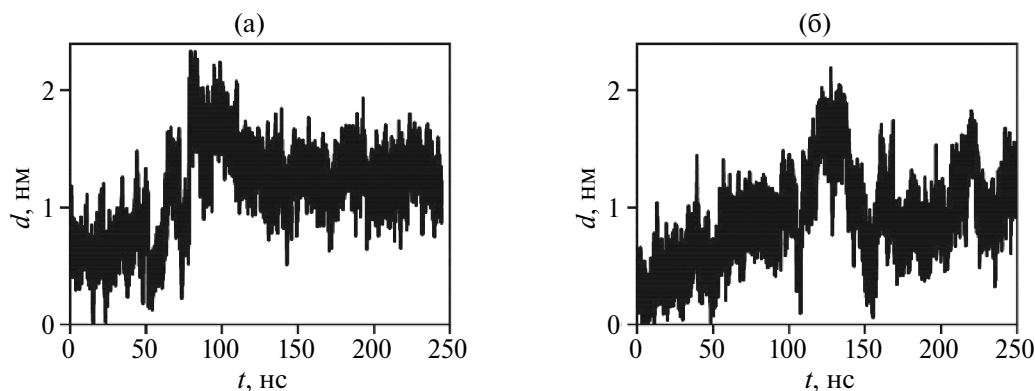


Рис. 9. Временная зависимость расстояния d от центра инерции дендримера до центра фуллера после протонирования гистидинов в дендримере в момент времени $t = 0$ для комплексов дендример–фуллерен Lys-2His- C_{60} (а) и Lys-2His- C_{70} (б).

и рис. 9 с мгновенными снимками системы с заряженными гистидинами в конце моделирования (рис. 2в и рис. 2г) можно сделать вывод, что фуллерены в конце моделирования все еще связаны с дендримером, но они смещены на периферию дендримера и не окружены ветвями дендримера, т.е. имеют меньшее число контактов с атомами дендримера, что можно назвать частичной деинкапсуляцией фуллеренов.

Анализ структуры и равновесных свойств комплексов дендример–фуллерен при пониженном pH

Уменьшение pH должно приводить к набуханию дендримера и комплекса в целом как из-за дополнительного электростатического расталкивания протонированных гистидинов, так и из-за проникновения молекул воды внутрь дендримера. Набухание (т.е. увеличение R_g) отдельного дендримера Lys-2His при низких pH в водном растворе было продемонстрировано нами ранее экспериментально [61, 90] и с помощью МД-моделирования.

Информацию о размерах и внутренней структуре комплексов после протонирования гистидинов для систем Lys-2His- C_{60} и Lys-2His- C_{70} можно получить из анализа второй (равновесной) части МД-траектории после скачка заряда в дендримере. Из найденных в данной работе средних размеров дендримера и размера комплекса в целом расстояния между дендримером и фуллереном в комплексе, а также радиального распределения плотности в нем (табл. 2) следует, что и дендример, и его комплексы с фуллеренами действительно набухают при протонировании гистидинов. Так, R_g комплекса резко увеличивается с 1.3 нм для C_{60} и 1.2 нм для C_{70} при нормальных pH до 2.0 нм для обеих систем при низких pH (табл. 2) и становится близким к значению $R_g = 2.1$ нм для отдельного дендримера Lys-2His в водном растворе при низких pH.

Расстояние d между дендримером и фуллереном в обеих системах при понижении pH также резко увеличивается с 0.79 нм для C_{60} и 0.24 нм для C_{70} при нормальных pH до 1.28 нм для C_{60} и 1.67 нм для C_{70} (табл. 2). При этом асферичность комплекса дендримера с фуллереном растет от 0.012 до 0.019 для C_{60} и от 0.005 до 0.025 для C_{70} , а ζ -потенциал комплекса резко падает с 32.9 нм для комплекса с C_{60} и 41.3 нм для комплекса с C_{70} до 19.8 нм для C_{60} и 21.2 нм для C_{70} (табл. 2).

Информацию о внутренней структуре комплекса после скачка заряда гистидинов в дендримере можно получить с помощью функции распределения радиальной плотности атомов дендримера и фуллера, а также всех атомов подсистемы дендример–фуллерен в установившемся режиме (рис. 10). На рис. 10 показаны радиальные распределения плотности атомов дендримера, фуллера и всего комплекса, соответствующие низкому pH среды, т.е. дендримеру с протонированными гистидинами. В целом в комплексе с дендримером Lys-2His с заряженными гистидинами ширина радиальной области, в которой могут находиться фуллерены, существенно больше (рис. 10а для C_{60} и рис. 10б для C_{70}), чем в комплексе с дендримером с незаряженными гистидинами Lys-2His (рис. 5а для C_{60} и рис. 5б для C_{70}). Наблюдаются также различия в положениях фуллеренов в комплексе с дендримером Lys-2His. Это отражается в большей локализации плотности дендримера для C_{70} в интервале радиальных расстояний до центра дендримера r от 0 до 1.4 нм (рис. 10б). Радиальная плотность для C_{70} имеет максимум при $r = 0$ и почти линейно снижается с увеличением r до 0.4 нм. Для C_{60} в комплексе с Lys-2His (рис. 10а) радиальная функция $\rho(r)$ распределена в существенно более широком интервале (от $r = 0$ до 2.0 нм) почти равномерно, что указывает на возможность локализации этого фуллера практически везде, начиная от самого центра дендримера до его внешней поверхности.

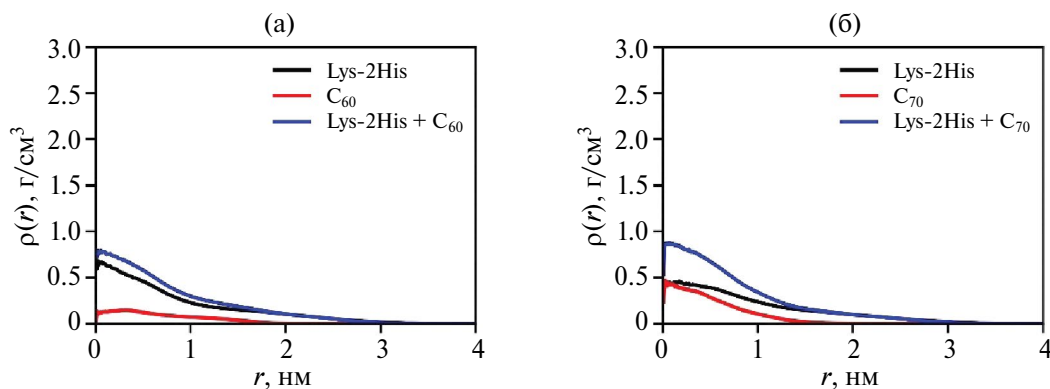


Рис. 10. Радиальное распределение плотности атомов дендримера (1), фуллерена (2) и всего комплекса дендример–фуллерен (3) в системах, содержащих дендример Lys-2His и фуллерен C_{60} (а) и C_{70} (б).

По всей видимости, такое различие в поведении C_{60} и C_{70} обусловлено большей гидрофобностью C_{60} и наличием дипольного момента у фуллерена C_{70} . Таким образом, понижение pH приводит к набуханию дендримера и большей делокализации радиального расположения фуллерена C_{60} в дендримере с заряженными гистидинами по сравнению с C_{70} . Данный факт наглядно проиллюстрирован на рис. 2, где показаны мгновенные снимки комплекса после 250 нс уравнивания для системы Lys-2His- C_{60} (рис. 2в) и Lys-2His- C_{70} (рис. 2г).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фуллерены C_{60} и C_{70} представляют большой интерес для использования в биомедицинских приложениях, однако их применение ограничивается агрегацией фуллеренов (с образованием частиц размером от 100 нм) и относительно высокой токсичностью. Инкапсуляция фуллерена в дендример может повысить эффективность его доставки.

В данной работе рассмотрены комплексы Lys-2His + C_{60} и Lys-2His + C_{70} с незаряженными двойными аминокислотными остатками гистидина в спейсерах, что соответствует нормальному pH раствора. Каждая система была промоделирована три раза с различными начальными взаимными положениями дендримера и фуллерена в ячейке. Для всех систем был смоделирован процесс образования комплекса дендример–фуллерен и установлены усредненные характеристики (размеры, форма и внутренняя структура) комплекса. Показано, что фуллерен C_{70} лучше, чем фуллерен C_{60} , инкапсулируется в дендример с незаряженными гистидинами, так как он глубже проникает в его центральную часть, вытесняя из нее атомы дендримера. По всей видимости, данное различие обусловлено тем, что фуллерен C_{70} анизотропен и обладает

дипольным моментом, благодаря чему он имеет большее сродство с имидазольными кольцами гистидиновых спейсеров дендримера, также имеющими дипольный момент. Возможно также, что эффект пейринга имидазольных колец меньше препятствует инкапсуляции фуллерена C_{70} , чем более гидрофобного фуллерена C_{60} . Также стоит отметить, что фуллерены в рассмотренных комплексах с дендримером, имеющим двойные гистидиновые вставки, не препятствуют существованию эффекта пейринга, но меняют его характеристики, изменяя общее число образованных пар и их структуру.

При низких pH (когда имидазольные группы в гистидиновых спейсерах дендримера протонируются) наблюдается увеличение размера дендримера в комплексе и самого комплекса за счет дополнительного электростатического отталкивания гистидинов. Это приводит к увеличению области радиальных расстояний относительно центра дендримера, на которых может находиться дендример, и возможности, по крайней мере частичной, деинкапсуляции инкапсулированного ранее (при нормальных значениях pH среды) фуллерена при понижении pH внешней среды.

Моделирование выполнено с использованием оборудования научно-исследовательского комплекса коллективного пользования высокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова и Межведомственного суперкомпьютерного центра РАН, а также с использованием вычислительного ресурсного центра Санкт-Петербургского Государственного Университета.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-13-00144). Моделирование проводилось с использованием компьютерных ресурсов вычислительного ресурсного центра Санкт-Петербургского государственного университета.

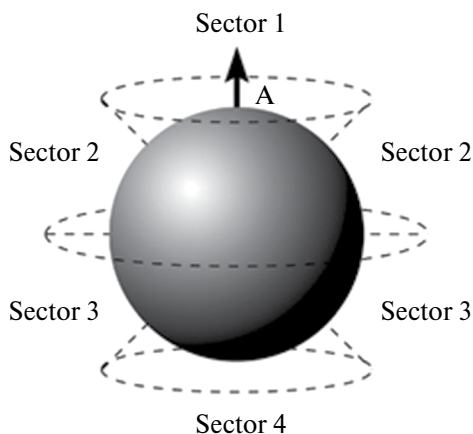


Рис. 11. Деление пространства вокруг центра масс на сферические сектора, основанное на углах секторов 45° и исходящее из вектора А. Рисунок предоставлен с разрешения авторов [92]: Benjamin P. Roberts, Molecular Dynamics of Poly(l-lysine) Dendrimers with Naphthalene Disulfonate Caps, Benjamin P. Roberts, Martin J. Scanlon, Guy Y. Krippner, David K. Chalmers <http://doi/10.1021/ma802154e> © 2025 Американское химическое общество.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Секторально-радиальное распределение массы

2D-секторально-радиальное распределение масс отличается от радиального распределения масс (см. уравнение (2) и рис. 6) своей зависимостью не только от расстояния от центра масс дендримера r , но и от секторального угла α . Оно может быть представлено в виде следующей функции:

$$M(r, \alpha) = \left\langle \sum_{i=1}^N \int_0^\infty dx \int_0^{360^\circ} da \, m_i \cdot \delta(\alpha - a) \cdot \delta(r - x) \right\rangle, \quad (\text{П1})$$

где r – радиальное расстояние до центра инерции дендримера, α – секторальный угол, N – число атомов в дендримере, m_i – масса i -го атома.

В случае одномерного радиального распределения масс $M(r)$ трехмерное пространство представляется как система, состоящая из последовательно помещенных друг в друга сфер [92]. Это приводит к определению сферического слоя как пространства между поверхностями соседних сфер, а также радиального расстояния r .

Для расчета 2D-распределения масс $M(r, \alpha)$ каждую сферу следует представить в виде системы

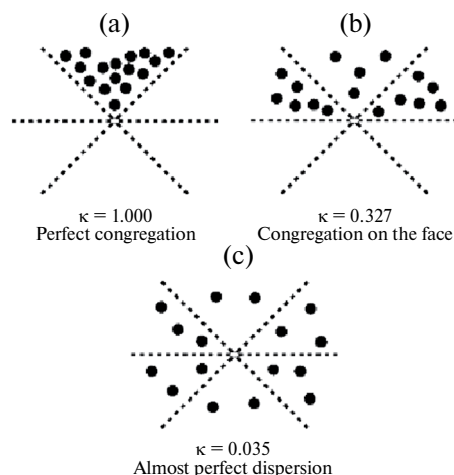


Рис. 12. Теоретические распределения 16 атомов вокруг центра масс системы и их коэффициенты конгрегации. а – все атомы расположены в секторе 1 (идеальная конгрегация); б – атомы почти равномерно распределены по секторам 1 и 2, покрывая одну грань дендримера; в – атомы почти равномерно распределены по всем частям дендримера. Очевидные различия в концентрации атомов между заполненными секторами в (б) и (в) отражают двумерное представление сферы. Рисунок предоставлен с разрешения авторов [92]: Benjamin P. Roberts, Molecular Dynamics of Poly(l-lysine) Dendrimers with Naphthalene Disulfonate Caps, Benjamin P. Roberts, Martin J. Scanlon, Guy Y. Krippner, David K. Chalmers <http://doi/10.1021/ma802154e> © 2025 Американское химическое общество.

вложенных друг в друга сферических конусов (наибольший конус совпадает со всей сферой). Затем каждый сферический слой делится на последовательность секторов. Центром системы, как и в случае одномерного распределения $M(r)$, является центр масс дендримера. Вектор, направленный от центра масс дендримера к центру масс фуллереона, рассматривается как главная ось сферического конуса, т.е. определение нулевого угла ($\alpha = 0$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. González Corrales D., Fernández Rojas, N.; Solís Vindas, G., Santamaría Muñoz, M., Chavarría Rojas, M., Matarrita Brenes, D., Rojas Salas, M. F., Madrigal Redondo, G. // J. Drug Deliv. Ther. 2022. 12(1-s). С. 151.
2. Ziemba B., Borowiec M., Franiak-Pietryga I. // Drug Chem. Toxicol. 2022. V. 45. № 5. P. 2169.
3. Buhleier E., Wehner W., Vogtle F. // Synthesis-Stuttgart. 1978. № 2. P. 155.
4. Tomalia D. A., Baker H., Dewald, J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P. // Polym. J. 1985. V. 17. № 1. P.117.
5. Hawker C J., Frechet J.M.J. // Macromolecules. 1990. V. 23. № 21. P.4726.

6. Yemul O., Imae T. // *Colloid Polym. Sci.* 2008. V. 286. № 6–7. P. 747.
7. Seyferth D., Kugita, T., Rheingold A.L., Yap, G.P.A. // *Organometallics*. 1995. V.14. № 11. P. 5362.
8. Serenko O.A., Roldugin V.I., Novozhilova N.A., Soldatov M.A., Nikiforova G.G., Mironova M.V., Ilyin S.O., Kulichikhin V.G., Muzafarov A.M. // *Polymer Science A*. 2015. V. 57. № 5. P.586.
9. Muzafarov A.M., Rebrov E.A. // *J. Polym. Sci., Polym. Chem.* 2008. V. 46. № 15.
10. Abbasi E., Aval S. F., Akbarzadeh A., Milani M., Nasrabadi H.T., Joo S. W., Hanifehpour Y., Nejati-Koshki K., Pashaei-Asl R. // *Nanoscale Res. Lett.* 2014. V. 9. № 1. P. 247.
11. Yamamoto K., Imaoka T., Tanabe M., Kambe T. // *Chem. Rev.* 2020. V. 120. № 2. P. 1397.
12. Sherje A.P., Jadhav M., Dravyakar B.R., Kadam D. // *Int. J. Pharm.* 2018. V. 548. № 1. P. 707.
13. Madaan K., Kumar S., Poonia N., Lather V., Pandita D. // *J. Pharm. Bioallied. Sci.* 2014. V. 6. № 3. P. 139.
14. Dutta T., Jain N.K., McMillan N.A.J., Parekh H.S // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biol. Med.* 2010. V. 6. № 1. P. 25.
15. Ionov M., Lazniewska J., Dzmitruk V., Halets I., Loznikova S., Novopashina D., Apartsin E., Krashechinina O., Venyaminova A., Milowska K., Nowacka O., Gomez-Ramirez R., de la Mata F. J., Majoral J.-P., Shcharbin D., Bryszewska M. // *Int. J. Pharm.* 2015. V. 485. № 1–2. P. 261.
16. Rabiee N., Ahmadvand S., Ahmadi S., Fatahi Y., Dinavand R., Bagherzadeh M., Rabiee M., Tahriri M., Tayebi L., Hamblin M.R // *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020. V. 59. Art. 101879.
17. Yin H., Kanasty R.L., Eltoukhy A.A., Vegas A.J., Dorkin J.R., Anderson D.G. // *Nat. Rev. Genet.* 2014. V. 15. № 8. P. 541.
18. Jiang D., Wang M., Wang T., Zhang B., Liu C., Zhang N // *Int. J. Nanomedicine*. 2017. V. 12. P. 8681.
19. Biswas S., Torchilin V. // *Pharmaceuticals*. 2013. V. 6. № 2. P. 161.
20. Karande P., Trasatti J.P., Chandra D. // *Novel Approaches and Strategies for Biologics, Vaccines and Cancer Therapies*. 2015. P. 59.
21. Denkwalter R.G., Kolc J., Lukasavage W.J. // *Pat.* 4289872 USA. 1981.
22. Aharoni S.M., Crosby C.R., Walsh E.K. // *Macromolecules*. 1982. V. 15. № 4. P. 1093.
23. Aharoni S.M., Murthy N.S. // *Polym. Commun.* 1983. V. 24. № 5. P. 132.
24. Vlasov G.P., Pavlov G.M., Bayanova N.V., Korneeva E.V., Ebel C., Khodorkovskii M.A., Artamonova T.O. // *Dokl. Phys. Chem.* 2004. V. 399. № 1–3. P. 290.
25. Roberts B.P., Scanlon M.J., Krippner G.Y., Chalmers D.K. // *Macromolecules*. 2009. V. 42. № 7. P. 2775.
26. Neelov I.M., Falkovich S., Markelov D., Paci E., Darinskii A., Tenhu H. // *Dendrimers in Biomedical Applications*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2013. P. 99.
27. Neelov I.M., Markelov D.A., Falkovich S.G., Ilyash M.Y., Okrugin B.M., Darinskii A.A. // *Polymer Science C*. 2013. V. 55. № 1. P. 154.
28. Falkovich S., Markelov D., Neelov I., Darinskii A. // *J. Chem. Phys.* 2013, V. 139. № 6. P. 064903.
29. Markelov D.A., Falkovich, S.G., Neelov I.M., Ilyash M.Y., Matveev V.V., Lähderanta E., Ingman P., Darinskii A.A. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015. V. 17. № 5. P. 3214.
30. Janaszewska A., Lazniewska J., Trzepiński P., Marcinkowska M., Klajnert-Maculewicz B. // *Biomolecules*. 2019. V. 9. № 8. P. 330.
31. Chis A.A., Dobrea C., Morgovan C., Arseniu A. M., Rus L L., Butuca A., Juncan A.M., Totan M., Vonica-Tincu A.L., Cormos G., Muntean A.C., Muresan M L., Gligor F.G., Frum A. // *Molecules*. 2020. V. 25. № 17. P. 3982.
32. Luong D., Kesharwani P., Deshmukh R., Mohd Amin M.C.I., Gupta U., Greish K., Iyer A.K. // *Acta Biomater.* 2016. V. 43. P. 14.
33. Kolhatkar R.B., Kitchens K.M., Swaan P.W., Ghandehari H. // *Bioconjug. Chem.* 2007. V. 18. № 6. P. 2054.
34. Carvalho M.R., Carvalho C.R., Maia F.R., Caballero D., Kundu S.C., Reis R.L., Oliveira J.M. // *Adv. Ther.* 2019. V. 2. № 11.
35. Kharwade R., More S., Warokar A., Agrawal P., Mahajan N. // *Arab. J. Chem.* 2020. V. 13. № 7. P. 6009.
36. Rao C., Tam J.P. // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. V. 116. № 15. P. 6975.
37. Tam J.P. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1988. V. 85 (August). P. 5409.
38. Vlasov G.P., Korol'kov V.I., Pankova G.A., Tarasenko I.I., Baranov A.N., Glazkov P.B., Kiselev A.V., Ostapenko O.V., Lesina E.A., Baranov V.S. // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2004. V. 30. № 1. P. 12.
39. Luo K., Li C., Wang G., Nie Y., He B., Wu Y., Gu Z. // *J. Control. Release*. 2011. V. 155. № 1. P. 77.
40. Kwok A., Eggimann G.A., Reymond J.-L.L., Darbre T., Hollfelder F. // *ACS Nano*. 2013. V. 7. № 5. P. 4668.
41. Filipe L., Machuqueiro M., Darbre T., Baptista A.M. // *J. Phys. Chem. B*. 2016. V. 120. № 43. P. 11323.

42. Rewatkar P.V., Sester D.P., Parekh H.S., Parat M.-O. // ACS Biomater. Sci. Eng. 2016. V. 2. № 3. P. 438.
43. Santos S.S., Gonzaga R.V., Silva J.V., Savino D.F., Prieto D., Shikay, J.M., Silva R.S., Paulo L.H.A., Ferreira E.I., Giarolla J. // Can. J. Chem. 2017, V. 95. № 9. P. 907.
44. Heitz M., Zamolo S., Javor S., Reymond J.-L. // Bioconjug. Chem. 2020. V. 31. № 6. P. 1671.
45. Mikhailov I.V., Darinskii A.A. // Polymer Science A. 2014. V. 56. № 4. P. 534.
46. Shavykin O.V., Neelov I.M., Darinskii A.A. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2016. V. 18. № 35. P. 24307.
47. Shavykin O.V., Mikhailov I.V., Darinskii A.A., Neelov I.M., Leermakers F.A.M. // Polymer (Guildf). 2018. V. 146. P. 256.
48. Okrugin B.M., Neelov I.M., Leermakers F.A.M., Borisov O.V. // Polymer (Guildf). 2017. V. 125 (Suppl. C). P. 292.
49. Shavykin O.V., Leermakers F.A.M., Neelov I.M., Darinskii A.A. // Langmuir. 2018. V. 34. № 4. P. 1613.
50. Shavykin O.V., Neelov I.M., Borisov O.V., Darinskii A.A., Leermakers F.A.M. // Macromolecules. 2020. V. 53. № 17. P. 7298.
51. Okuda T., Sugiyama A., Niidome T., Aoyagi H. // Biomaterials. 2004. V. 25. № 3. P. 537.
52. Lee H., Choi J.S., Larson R.G. // Macromolecules. 2011. V. 44. № 21. P. 8681.
53. Sheikhi Mehrabadi F., Zeng H., Johnson M., Schlesener C., Guan Z., Haag R. // Beilstein J. Org. Chem. 2015. V. 11. P. 763.
54. Mikhtaniuk S., Bezrodnyi V., Shavykin O., Neelov I., Sheveleva N., Penkova A., Markelov D. // Polymers (Basel). 2020. V. 12. № 8. P. 1657.
55. Bezrodnyi V.V., Shavykin O.V., Mikhtaniuk S.E., Neelov I.M., Sheveleva N.N., Markelov D.A. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 24. P. 9749.
56. Bezrodnyi V.V., Mikhtaniuk S.E., Shavykin O.V., Neelov I.M., Sheveleva N.N., Markelov D.A. // Molecules. 2021. V. 26. № 21. P. 6552.
57. Gorzkiewicz M., Konopka M., Janaszewska A., Tarasenko I.I., Sheveleva, N.N., Gajek A., Neelov I.M., Klajnert-Maculewicz B. // Bioorg. Chem. 2020. V. 95. P. 103504.
58. Gorzkiewicz M., Konopka M., Janaszewska A., Tarasenko I.I., Sheveleva, N.N., Gajek A., Neelov I.M., Klajnert-Maculewicz B. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 9. P. 3138.
59. Sheveleva N.N., Markelov D.A., Vovk M.A., Mikhailova M.E., Tarasenko I.I., Neelov I.M., Lähderanta E. // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 8916.
60. Sheveleva N.N., Markelov D.A., Vovk M.A., Mikhailova M.E., Tarasenko I.I., Tolstoy P.M., Neelov I.M., Lähderanta E. // RSC Adv. 2019. V. 9. № 31. P. 18018.
61. Sheveleva N.N., Bezrodnyi V.V., Mikhtaniuk S.E., Shavykin O.V., Neelov I.M., Tarasenko I.I., Vovk M.A., Mikhailova M.E., Penkova A.V., Markelov D.A. // Macromolecules. 2021. V. 54. № 23. P. 11083.
62. Sheveleva N.N., Markelov D.A., Vovk M.A., Tarasenko I.I., Mikhailova M.E., Ilyash M.Y., Neelov I.M., Lähderanta E. // Molecules. 2019. V. 24. № 13. P. 2481.
63. Lee D., Lee J., Seok C. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2013. V. 15. № 16. P. 5844.
64. Vondrášek J., Mason P.E., Heyda J., Collins K.D., Jungwirth P. // J. Phys. Chem. B 2009. V. 113. № 27. P. 9041.
65. Chawla P., Chawla V., Maheshwari R., A. Saraf S., K. Saraf S. // Mini-Reviews Med. Chem. 2010. V. 10. № 8. P. 662.
66. Kroto H.W., Heath J.R., O'Brien S.C., Curl R.F., Smalley R.E. // Nature. 1985. V. 318. № 6042. P. 162.
67. Torres V.M., Srdjenovic B. // Handbook on Fullerene: Synthesis, Properties and Applications. 2011. P. 199.
68. Moussa F. // Nanobiomaterials. Elsevier, 2018. P. 113.
69. Kazemzadeh H., Mozafari M. // Drug Discov. Today 2019. V. 24. № 3. P. 898.
70. Kokubo K., Matsubayashi K., Tategaki H., Takada H., Oshima T. // ACS Nano. 2008. V. 2. № 2. P. 327.
71. Anilkumar P., Lu F., Cao L., G. Luo P., Liu J.-H., Sahu S., N. Tackett II. K., Wang Y., Sun Y.-P. // Curr. Med. Chem. 2011. V. 18. № 14. P. 2045.
72. Giacalone F., Giacalone F., D'Anna F., Giacalone R., Gruttadauria M., Riela S., Noto R. // Tetrahedron Lett. 2006. V. 47. № 46. P. 8105.
73. Zhang L.W., Yang J., Barron A.R., Monteiro-Riviere N.A. // Toxicol. Lett. 2009. V. 191. № 2–3. P. 149.
74. Lu F., Haque S.A., Yang S.-T., Luo P.G., Gu L., Kitaygorodskiy A., Li H., Lacher S., Sun Y.-P. // J. Phys. Chem. C. 2009. V. 113. № 41. P. 17768.
75. Yang X., Ebrahimi A., Li J., Cui Q. // Int. J. Nanomedicine. 2014. V. 9. P. 77.
76. Biswas R., Batista Da Rocha C., Bennick R.A., Zhang J. // ChemMedChem. 2023.
77. Smith B.W., Monthieux M., Luzzi D.E. // Nature. 1998. V. 396. № 6709. P. 323.
78. Simon F., Peterlik H., Pfeiffer R., Bernardi J., Kuzmany H. // Chem. Phys. Lett. 2007. V. 445. № 4–6. P. 288.

79. Zhou Z. // *Pharmaceutics*. 2013. V. 5. № 4. P. 525.
80. Hahn U., Vögtle F., Nierengarten J.-F. // *Polymers* (Basel). 2012. V. 4. № 1. P. 501.
81. Eckert J.-F., Byrne D., Nicoud J.-F., Oswald L., Nierengarten J.-F., Numata M., Ikeda A., Shinkai S., Armaroli N. // *New J. Chem.* 2000. V. 24. № 10. P. 749.
82. Bezrodnyi V.V., Mikhtaniuk S.E., Shavykin O.V., Sheveleva N.N., Markelov D.A., Neelov I.M. // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25. № 2. P. 691.
83. Stroet M., Caron B., Visscher K.M., Geerke D.P., Malde A.K., Mark A.E. // *J. Chem. Theory Comput.* 2018. V. 14. № 11. P. 5834.
84. Malde A.K., Zuo L., Breeze M., Stroet M., Poger D., Nair P.C., Oostenbrink C., Mark A.E. // *J. Chem. Theory Comput.* 2011. V. 7. № 12. P. 4026.
85. Abraham M.J., Murtola, T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B. Lindahl E. // *SoftwareX*. 2015. V. 1–2. P. 19.
86. Lindorff-Larsen, K., Piana S., Palmo K., Maragakis P., Klepeis J.L., Dror R.O., Shaw D.E. // *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 2010. V. 78. № 8.
87. Evans D.J., Holian B.L. // *J. Chem. Phys.* 1985. V. 83. № 8. P. 4069.
88. Parrinello M., Rahman A. // *J. Appl. Phys.* 1981. V. 52. № 12. P. 7182.
89. Heyda J., Mason P.E., Jungwirth P. // *J. Phys. Chem. B*. 2010. P. 8744.
90. Sheveleva N.N., Konarev P.V., Boyko K.M., Tarasenko I.I., Mikhailova M.E., Bezrodnyi V.V., Shavykin O.V., Neelov I.M., Markelov D.A. // *J. Chem. Phys.* 2024. V. 161. № 19.
91. Ohshima H. // *Electrokinetics in Microfluidics*. Cambridge: Acad. Press, 2006. V. 12. P. 473.
92. Benjamin P. Roberts, Martin J. Scanlon, Guy Y. Krippler, David K. Chalmers // *Macromolecules*. 2009. V. 42. № 7. P. 2775.