

*Псевдо-імунологічна специфічність штучного рецептора на меламін досліджена методом теорії функціонала густини на рівні теорії  $R\omega B97XD/6-31G(d)$ . Акриламід-2-метил-1-пропансульфонова кислота (АМПК), а також ітаконова та акрилова кислоти розглядалися як найкращі з потенційних функціональних мономерів. Значення розрахованих енергій взаємодії мономер: меламін (для передполімеризаційних комплексів 1:1), порівнювалися із енергіями взаємодій для комплексів мономер: атразин та мономер: пеніцилін*

*Ключові слова: штучний рецептор, молекулярний імпринтинг, меламін, метод теорії функціонала щільності, псевдо-імунологічна специфічність*

*Псевдо-иммунологическая специфичность искусственного рецептора на меламин исследована методом теории функционала плотности на уровне теории  $R\omega 97XD/6-31G(d)$ . Акриламид-2-метил-1-пропансульфоновокислота (АМПК), а также итаконовая и акриловая кислоты рассматривались как наилучшие из потенциальных функциональных мономеров. Значение рассчитанных энергий взаимодействия мономер: меламин (для передполимеризационных комплексов 1:1), сравнивались с энергиями взаимодействий для комплексов мономер: атразин и мономер: пеницилин*

*Ключевые слова: искусственный рецептор, молекулярный импринтинг, меламин, метод теории функционала плотности, псевдо-иммунологическая специфичность*

УДК 66.66.08  
DOI: 10.15587/1729-4061.2014.27658

# МЕТОД ТЕОРІЇ ФУНКЦІОНАЛА ГУСТИНИ У ДОСЛІДЖЕННІ ПСЕВДО- ІММУНОЛОГІЧНОЇ СПЕЦИФІЧНОСТІ ШТУЧНОГО РЕЦЕПТОРА НА МЕЛАМІН

**К. М. Музика**

Кандидат технічних наук,  
старший науковий співробітник  
Кафедра біомедичної інженерії  
Харківський національний університет  
радіоелектроніки  
пр. Леніна, 14, м. Харків, Україна, 61166  
E-mail: mkm@kture.kharkov.ua

## 1. Вступ

Однією з фундаментальних проблем сучасного приладобудування є необхідність дослідження нових та уточнення відомих закономірностей фізико-хімічних процесів у нових функціональних матеріалах, які є вихідним положенням для проектування та виробництва нових сенсорних приладів контролю та визначення складу речовин з покращеними метрологічними та аналітичними характеристиками. Часто нові відкриття відбуваються після проведення аналогії з тим, що вже створено природою. Наприклад, багато біохімічних процесів протікають з утворенням комплексів біологічно активних речовин різної природи (лігандами) зі специфічними рецепторами. На ліганд-рецепторній взаємодії засновані ферментативні реакції, внутрішньоклітинний транспорт, регуляція клітинної активності тощо [1]. Реакцію взаємодії антиген - антитіло можна розглядати як окремий випадок зв'язування лігандів з макромолекулярними рецепторами. Однак, далеко не всі молекули мають свої природні рецептори. Аналіз із використанням молекулярно імпринтованих полімерів (МІПів), який також називають псевдоімуноаналізом або молекулярно імпринтованим аналізом, є дешевою альтернативою природним антитілам [2]. До безсумнівних

переваг МІПів у порівнянні із природними антитілами належать:

- методична простота отримання «штучних рецепторів» на низькомолекулярні сполуки;
- стабільність МІПів у широкому діапазоні температур і рН;
- висока відтворюваність синтезів, тоді як властивості антитіл в істотною мірою залежать від індивідуальних особливостей тварини;
- оперативність отримання МІПів – кілька годин, а не місяців, як у випадку антитіл;
- відсутність необхідності роботи із тваринами;
- відсутність обмежень для імпринтування високотоксичних сполук;
- можливість проведення МІП-аналізу в органічних середовищах.

Процес молекулярного імпринтування починається з утворення передполімеризаційних комплексів між шаблоном і функціональним мономером, заснованого на ковалентній або нековалентній взаємодії їхніх функціональних груп [3]. При полімеризації в присутності зшиваючого компонента, комплекси мономерів із шаблонами фіксуються в певних позиціях твердої полімерної структури. Наступне видалення шаблону шляхом екстракції органічним розчинником або хімічним руйнуванням зв'язків призводить до

появи в полімері молекулярних відбитків – порожнин, комплементарних шаблону за розміром, формою і розташуванням функціональних груп. Завдяки «молекулярній пам'яті», закладеній у полімерній решітці, ці ділянки здатні до повторної високоспецифічної взаємодії з шаблоном.

## 2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми

До сьогодні опублікована велика кількість робіт, присвячених питанням молекулярного імпринтингу. Зокрема, в [3] представлено огляд 3779 посилань, що охоплює розвиток молекулярного імпринтингу у контексті науки і техніки з 2004 по 2011 рр. Відмічено, що незважаючи на безсумнівні успіхи в молекулярному імпринтингу, пов'язані з розширенням і появою нових областей застосування МППів, а також з використанням нових шаблонів, мономерів і форматів полімеризації, менше зусиль було спрямовано на розуміння фізико-хімічних механізмів формування МПП та молекулярного розпізнавання МППами. Необхідність розуміння даних механізмів зумовлена пошуком шляхів вирішення однієї з головних проблем використання на практиці штучних рецепторів, а саме – гетерогенності ділянок зв'язування у МПП за афінністю та специфічністю [4]. Тобто, з огляду на подальше успішне використання «штучних рецепторів» у хімічних сенсорах, необхідною умовою для досягнення високої селективності аналізу має бути ліганд-селективність «штучних рецепторів» до речовин, які будуть визначатись. Це й ініціює необхідність проведення теоретичних досліджень щодо прогнозування ліганд-селективності МППів, є важливим етапом, який має передувати стадії синтезу «штучного рецептора». Оскільки в основі первинної взаємодії «функціональний мономер-шаблон» лежать загальні принципи біомолекулярної реакції, продуктом якої є комплекс «шаблон-мономер», то для прогнозування ліганд-селективності доцільно досліджувати термодинамічні параметри, які описуватимуть саме процес комплексоутворення. Враховуючи, що експериментальне обладнання для проведення подібних досліджень не завжди доступне, то використання обчислювальних підходів може бути його альтернативою при вивченні процесів комплексоутворення. Так, на сьогоднішній день дослідження МПП-систем базується на кількох групах розрахункових методів: молекулярної механіки; молекулярної динаміки (МД); та емпіричних і напівемпіричних квантово-механічних методах (КММ) [5]. Методи КММ є найточнішими. В свою чергу для дослідження багатоелектронних систем, якими є і МПП-системи, точне рішення рівняння Шредінгера практично неможливе, тому для розрахунку енергій основного та збуджених станів доцільно застосовувати DFT-методи, в яких замість хвильових функцій при розрахунках використовують електронні щільності.

## 3. Ціль та задачі дослідження

Ціллю даної роботи є розробка обчислювального підходу з використанням КММ DFT для дослідження ліганд-селективності МПП-рецептора на меламін, як передумови раціонального вибору функціонального

мономеру, сила взаємодії якого з шаблоном буде значно більша, ніж з іншими речовинами, навіть, подібними за будовою. На практиці раціональний вибір функціонального мономера дасть можливість розробити сенсор з високою селективністю детектування, за рахунок високої ліганд-специфічності штучних МПП-рецепторів до шаблону, що буде визначатись. У даній роботі вибір меламіну в якості шаблону обумовлено актуальністю його визначення, наприклад, беручи до уваги сумнозвісний «меламіновий скандал» у Китаї [6, 7].

Для досягнення мети роботи необхідно вирішити низку задач:

- відібрати мономер (базуючись на попередніх дослідженнях), які формують найбільш енергетично вигідні комплекси з меламіном;
- обрати речовину з того ж хімічного класу, що й меламін, та речовину, що належить до іншого хімічного класу;
- розрахувати енергії взаємодії обраних мономерів з обраними іншими шаблонами;
- порівняти значення отриманих енергій взаємодій у комплексах з меламіном та іншими шаблонами та надати рекомендації щодо вибору функціонального мономера, з найбільшою ліганд-селективністю до меламіну.

## 4. Матеріали та методи дослідження енергетичних параметрів комплексів мономер:шаблон

За результатами, отриманими нами раніше [8], з тринадцяти розглянутих мономерів, найміцніші передполімеризаційні комплекси з меламіном утворюють акриламід-2-метил-1-пропансульфонова кислота (АМПК), ітаконова та акрилова кислоти. У даній роботі проводиться їх подальше дослідження щодо псевдо-імунологічної специфічності (ліганд-селективності) по відношенню до меламіну (1,3,5-Триазин-2,4,6-триамін). В якості шаблонів для порівняння енергій взаємодії обрано подібний до меламіну атразин, який також належить до триазинового класу, та пеніцилін (N-фенілацетамід 6-амінопеніцилінова кислота), що є гетероциклічною сполукою, яка складається з чотиричленного  $\beta$ -лактамного та п'ятичленного тiazолідинового кілець.

Розрахунки здійснювались неемпіричним методом функціонала густини (функціонал  $RwB97XD$ ) з використанням квантово-хімічної програми GAUSSIAN 09, версії A01. Візуалізація результатів здійснювалась у програмі GaussView 5.0. Вибір функціоналу  $RwB97XD$  обумовлений можливістю опису системи з водневими зв'язками, а також  $\pi$ - $\pi$  стековими взаємодіями, які можуть приймати участь у формуванні передполімеризаційних комплексів шаблон-мономер. В якості базисного набору для оцінки геометрії використовували базис 6-31G(d), який враховує d-орбітали на атомах другого періоду. Всі розрахунки проводились у режимі повної оптимізації геометричного положення кожного атома досліджуваної системи. Для всіх структур, що одержані в результаті завершення роботи процедури оптимізації геометрії, розраховувались матриці других похідних (Гессіани). Для аналізу результатів розрахунку ми приймали до уваги тільки ті структури, які мають Гессіани з усіма

позитивними значеннями. Суперпозиційну помилку базисного набору (BSSE) враховували методом противаг [9]. Вплив водного середовища та ацетонітрилу враховували за допомогою моделі поляризованого континууму CPCM [10].

**5. Результати досліджень «псевдо-імунологічної» специфічності штучного рецептора на меламін у передполімеризаційній фазі**

Для перевірки «псевдо-імунологічної» специфічності трьох функціональних мономерів (АМПК, ітаконової та акрилової кислот) по відношенню до меламіну (рис. 1, а), були розраховані енергії взаємодії ( $E_{binding}$ ) даних мономерів з атразином (рис. 1, б) та з пеніциліном (рис. 1, в).

$E_{binding}$  у комплексах мономер : шаблон (1:1) у передполімеризаційній фазі розраховували, за формулою (1):

$$E_{binding} = E_{Counterpoise\ corrected\ energy} - (E_{total\ of\ monomer} + E_{total\ of\ template}), \quad (1)$$

де  $E_{Counterpoise\ corrected\ energy}$  – повна енергія комплексу з врахуванням суперпозиційної помилки базисного набору (СППБН);  $E_{total\ of\ monomer}$  – повна енергія мономера;  $E_{total\ of\ template}$  – повна енергія шаблону.

Розрахункові значення енергій взаємодій найбільш енергетично вигідних передполімеризаційних комплексів мономер-шаблон, які були досліджені у даній роботі у базисі 6-31G (d), представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Розрахункові значення енергій взаємодій найбільш енергетично вигідних передполімеризаційних комплексів мономер-шаблон

Назва комплексу (1:1)	Енергія взаємодії	
	у воді	у ацетонітрилі
	ккал/моль	ккал/моль
АМПК : Меламін	-36,18	-36,22
АМПК : Пеніцилін	-19,92	-19,77
АМПК : Атразин	-16,01	-16,11
Ітаконова кислота : Меламін	-13,48	-13,56
Ітаконова кислота : Атразин	-12,08	-12,05
Ітаконова кислота : Пеніцилін	-9,90	-9,99
Акрилова кислота : Меламін	-12,27	-12,35
Акрилова кислота : Пеніцилін	-11,51	-11,62
Акрилова кислота : Атразин	-11,26	-11,22

Різниця у значеннях енергій взаємодій передполімеризаційних комплексів мономерів з меламіном та з іншими шаблонами, наведена у табл. 2.

На основі аналізу розрахункових значень  $E_{binding}$ , наведених у табл. 2, можна записати наступний вираз:

$$E_{\text{меламін : мономер}} < E_{\text{атразин : мономер}} < E_{\text{пеніцилін : мономер}}.$$

де  $E_{\text{меламін : мономер}}$  – енергія взаємодії між молекулами меламіну і розглянутих мономерів у співвідношенні (1:1);  $E_{\text{атразин : мономер}}$  – енергія взаємодії між молекулами атразину і розглянутих мономерів у співвідношенні (1:1);  $E_{\text{пеніцилін : мономер}}$  – енергія взаємодії між молекулами пеніциліну і розглянутих мономерів у співвідношенні (1:1).

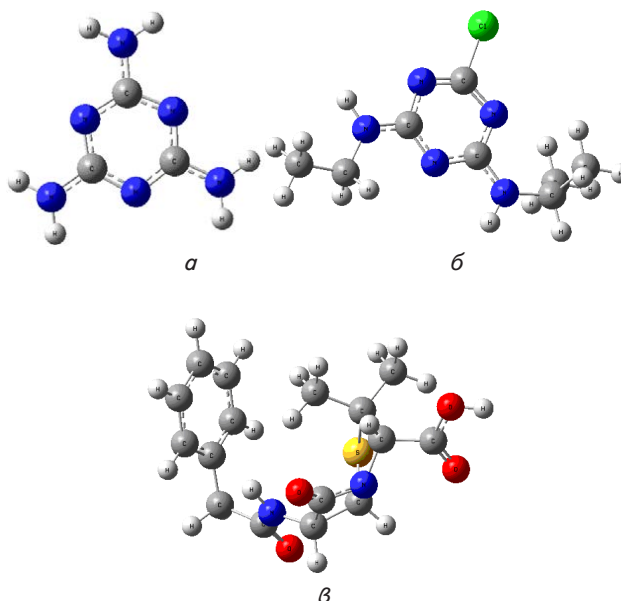


Рис. 1. Структури молекул шаблонів (з оптимізованим геометричним положенням кожного атома): а – меламіну; б – атразину; в – пеніциліну

Тобто, для всіх трьох мономерів, що розглядалися у даній роботі, зберігається дана послідовність, при чому як для водного середовища, так і для ацетонітрилу. З табл. 2 видно, що АМПК формує найміцніші комплекси з меламіном, у порівнянні з іншими шаблонами.

Таблиця 2

Значення різниці енергій взаємодій обраних мономерів з меламіном та іншими шаблонами, що досліджувались у даній роботі

Мономер	Середовище	$\Delta = E_{\text{меламін:мономер}} - E_{\text{атразин:мономер}}$	$\Delta = E_{\text{меламін:мономер}} - E_{\text{пеніцилін:мономер}}$
		ккал/моль	ккал/моль
АМПК	Вода	-16,26	-20,18
	Ацетонітрил	-16,45	-20,10
Ітаконова кислота	Вода	-1,40	-3,57
	Ацетонітрил	-1,51	-3,57
Акрилова кислота	Вода	-1,01	-0,76
	Ацетонітрил	-1,01	-0,73

Хімічні структури найбільш енергетично вигідних передполімеризаційних комплексів (1:1) АМПК: шаблон наведені на рис. 2.

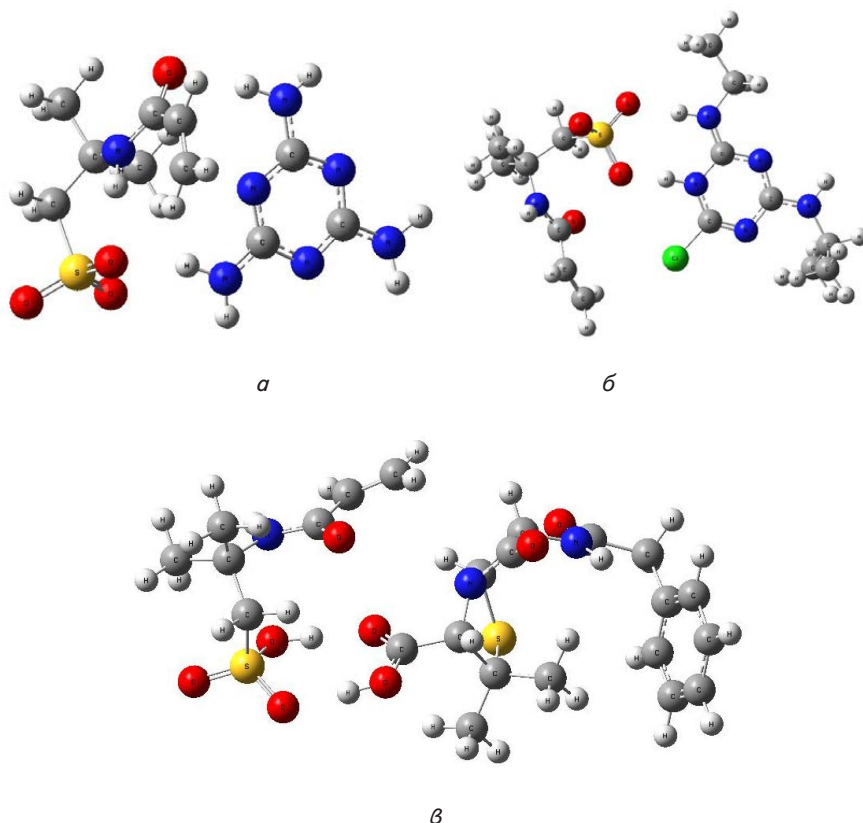


Рис. 2. Хімічні структури найбільш енергетично вигідних передполімеризаційних комплексів (1:1) АМПК з:  
 а – меламіном; б – атразином; в – пеніциліном

## 6. Висновки

Таким чином, у даній роботі з використанням DFT-методу було розроблено обчислювальний підхід, який дав змогу дослідити ліганд-селективність (т. з. псевдо-імуноспецифічність) трьох функціональних мономерів (АМПК, ітаконова та акрилова кислоти) по відношенню до молекули меламіну. Обчислювальний підхід включав наступні етапи:

– вибір речовини того ж хімічного класу, що й меламін, наприклад, атразин, та речовини іншої хімічної будови, наприклад, пеніцилін;

– розрахунок енергії взаємодій ( $E_{\text{binding}}$ ) мономерів, що формують найбільш сильні комплекси з меламіном (АМПК, ітаконова та акрилова кислоти), а також тих же мономерів, однак з шаблонами, вибраними у попередньому пункті;

– порівняння  $E_{\text{binding}}$  даних мономерів з меламіном у передполімеризаційних комплексах (1:1), та  $E_{\text{binding}}$  мономерів з атразином і пеніциліном.

Результати проведеного обчислювального експерименту показують, що серед розглянутих мономерів (АМПК, ітаконова та акрилова кислоти), саме АМПК найбільш придатна для подальшого синтезу «штучного рецептора» на меламін. Це пояснюється тим, що серед усіх розглянутих комплексів, дана кислота утворює найміцніший комплекс з меламіном. Найміцніші комплекси у даному випадку стали можливими завдяки особливостям просторової будови молекули АМПК, в якій фосфатна та карбонільні групи розташовані таким чином, що є можливість без стеричних перешкод утворювати водневі зв'язки з функціональними групами молекули меламіна, атразина чи пеніциліна. Різниця у енергіях взаємодії для передполімеризаційного комплексу меламін:АМПК та схожим за будовою атразином з АМПК становить біля  $-16,26$  ккал/моль, як у воді, так і в ацетонітрилі, а для комплексів пеніцилін:АМПК – біля  $20$  ккал/моль відповідно. Для комплексів з іншими мономерами, така різниця в енергіях не суттєва (біля  $1$  ккал/моль),

що свідчить про можливість неспецифічної взаємодії даних мономерів з іншими шаблонами.

Проведене теоретичне дослідження може бути підґрунтям для розробки сенсора на меламін, у якому за рахунок наявності «штучних рецепторів» з АМПК буде забезпечуватись висока селективність детектування.

## Подяки

Автор висловлює подяку Ільченку М. М. (Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, м. Київ) за консультації під час проведення обчислювального експерименту та проф. Дж. Лецинському (Державний університет м. Джексон, штат Міссісіпі, США) за надання можливості проведення розрахунків за допомогою програми Gaussian 09 та візуалізації результатів програмою GaussView 5.0.

## Література

1. Muzyka, K. Current Trends in the Development of the Electrochemiluminescent Immunosensors [Text] / K. Muzyka // Biosensors and Bioelectronics. – 2014. – Vol. 54. – P. 393–407. doi: 10.1016/j.bios.2013.11.011.
2. Moreno-Bondí, M. C. Immuno-like assays and biomimetic microchips [Text] / M. C. Moreno-Bondí, M. E. Benito-Peña, J. L. Urraca, G. Orellana // Top Curr Chem. – 2012. – Vol. 325. – P. 111–164. doi: 10.1007/128\_2010\_94
3. Whitcombe, M. J. Molecular imprinting science and technology: A survey of the literature for the years 2004–2011 [Text] / M. J. Whitcombe, N. Kirsch, I. A. Nicholls // J. of Mol. Rec. – 2014. – Vol. 27. – P. 297–401. doi: 10.1002/jmr.2347

4. Muzyka, K. Chap. 5 in Handbook of Molecularly Imprinted Polymers [Text] / K. Muzyka, S. Piletsky, M. Rozhitskii; Eds. C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro. – A Smither Group Company, UK, 2013. – P. 197–228.
5. Nicholls, I. A. Computational strategies for the design and study of molecularly imprinted materials [Text] / I. A. Nicholls, B. C. G. Karlsson, G. D. Olsson, A. M. Rosengren // Industrial and Engineering Chemistry Research. – 2013. – Vol. 52. – P. 13900–13909. doi: 10.1021/ie3033119
6. Chu, C. Y. Toxicity of melamine: the public health concern [Text] / C. Y. Chu, C. C. Wang // J. of environmental science and health, Part C: Environmental carcinogenesis and ecotoxicology reviews. – 2013. – Vol. 31. – P.342-386. doi: 10.1080/10590501.2013.844758
7. Sharma, K. The melamine adulteration scandal (Review) [Text] / K. Sharma, M. Paradakar // Food Security. – 2010. – Vol. 2. – P. 97-107. doi: 10.1007/s12571-009-0048-5
8. Музика, К. М. Обчислювальний експеримент в обґрунтуванні вибору функціонального мономера для «штучного рецептора» на меламін [Текст] / К. М. Музика // Сенсорна електроніка та мікросистемні технології. – 2014. – Т. 11, № 1. – С. 33–41.
9. Simon, S. How does basis set superposition error change the potential surfaces for hydrogen bonded dimers? [Text] / S. Simon, M. Duran, J. J. Dannenberg // J. Chem. Phys. 1996. – Vol. 105. – P. 11024–11031. doi: 10.1063/1.472902
10. Cossi, M. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model [Text] / M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, V. Barone // J. Comp. Chem. – 2003. – Vol. 24. – P. 669–681. doi: 10.1002/jcc.10189

*Механізм дифузії молекул розчинника в полімерній мембрані складається з двох складових: дифузії через термічну активацію системи і дифузії, що протікає за допомогою вільного об'єму. Швидкість термічно активованої дифузії набагато більше і спостерігається на початку процесу перовпарації, а дифузія за моделлю вільного об'єму починає проявлятися в середині процесу і проходить повільніше, проте є джерелом переносу більшої частини молекул розчинника*

*Ключові слова: полімер, мембрана, перовпарація, термічна активація, вільний об'єм, дифузія, порожнини, стрибок, технологія*

*Механизм диффузии молекул растворителя в полимерной мембране состоит из двух составляющих: диффузии через термическую активацию системы и диффузии, протекающей с помощью свободного объема. Скорость термически активированной диффузии гораздо больше и наблюдается в начале процесса перовпарации, а диффузия по модели свободного объема начинает проявляться в середине процесса и проходит медленней, однако является источником переноса большей части молекул растворителя*

*Ключевые слова: полимер, мембрана, перовпарация, термическая активация, свободный объем, диффузия, пустоты, скачок, технология*

УДК 628.316.12

DOI: 10.15587/1729-4061.2014.27661

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОЗМОЖНЫХ МОДЕЛЕЙ ДИФФУЗИИ ВО ВРЕМЯ ПЕРВАПОРАЦИОННОГО ПРОЦЕССА В ПОЛИМЕРНЫХ МЕМБРАНАХ

И. А. Буртная

Кандидат технических наук, доцент  
Кафедра биотехники и инженерии факультета  
биотехнологии и биотехники  
Национальный технический университет Украины  
«Киевский политехнический институт»  
пр. Победы, 37, г. Киев, Украина, 03056  
E-mail: inot-1961@yandex.ru

О. О. Гачечиладзе

Директор  
ДП «Грузино-украинский дом»  
пер. Музейный, 10, г. Киев, Украина, 01001  
E-mail: geometec@gmail.com

### 1. Введение

Ранее авторами были рассмотрены некоторые термодинамические и кинетические процессы, протекаю-

щие в полимерных мембранах во время их применения в качестве «полупроницаемых наночастиц» для разделения двух или многокомпонентных органических смесей жидких углеводородов в том числе: