

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.041

CƠ CHẾ HẤP PHỤ VÀ SỰ TĂNG CƯỜNG HÓA HỌC PHỔ SERS CỦA MERCAPTOPYRINE VÀ THIIOGUANINE TRÊN BỀ MẶT Au₆ CLUSTER

Nguyễn Thị Nhật Hằng¹, Nguyễn Thành Tiên², Dương Thị Huyền³, Nguyễn Thanh Sĩ³ và Phạm Vũ Nhật^{3*}

¹Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Thủ Dầu Một

²Bộ môn Vật lý, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

³Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phạm Vũ Nhật (email: nhat@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 30/09/2021

Ngày nhận bài sửa: 24/11/2021

Ngày duyệt đăng: 22/04/2022

Title:

Adsorption behaviours and SERS chemical enhancement mechanism of mercaptopurine and thioguanine adsorbed on the gold cluster Au₆

Từ khóa:

Au cluster, DFT, dẫn truyền thuốc, mercaptopurine, SERS, thioguanine

Keywords:

Au cluster, DFT, drug delivery, mercaptopurine, SERS, thioguanine

ABSTRACT

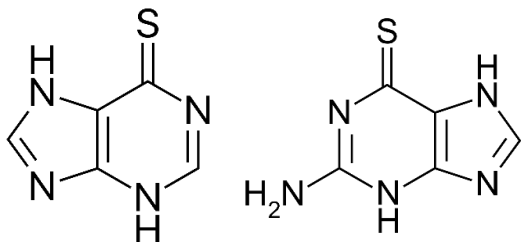
The density functional theory calculations are employed to elucidate the adsorption behaviours of mercaptopurine (MP) and thioguanine (TG) drugs on the gold surface, using Au₆ cluster as a model reactant. The PBE functional in combination with the effective core potential cc-pVTZ-PP basis set for gold atoms and cc-pVTZ basis set for nonmetals are used to investigated geometric structures, thermodynamic parameters and electronic properties of the obtained complexes. The IEF-PCM model with water solvent is applied to include the effect of biological environment on the interactions. The computed results show that the binding is dominated by a covalent bond Au–S and in part by electrostatic effects, namely a hydrogen bond contribution NH...Au. In addition, the drug binding to gold clusters is a reversible process and a drug release mechanism was also clarified. Accordingly, the drugs are willing to separate from the gold surface due to either a slight change of pH in tumor cells or the presence of cysteine residues in protein matrices. In particular, the surface-enhanced Raman scattering (SERS) phenomenon of these molecules adsorbed on the Au surfaces are also elucidated.

TÓM TẮT

Các phép tính DFT (lý thuyết hàm mật độ) được sử dụng để làm sáng tỏ bản chất của quá trình hấp phụ các phân tử thuốc mercaptopurine (MP) và thioguanine (TG) trên bề mặt vàng, sử dụng Au₆ cluster làm mô hình phản ứng. Phương pháp PBE kết hợp với bộ cơ sở cc-pVDZ-PP cho Au₆ và cc-pVTZ cho các phân tử thuốc được sử dụng để khảo sát cấu trúc hình học, các thông số nhiệt động và tính chất điện tử của các phức chất thu được. Mô hình IEF-PCM với dung môi nước được sử dụng để đánh giá sự ảnh hưởng của môi trường sinh học lên quá trình tương tác. Các kết quả tính toán cho thấy rằng liên kết được quyết định bởi liên kết cộng hóa trị Au–S và một phần bởi hiệu ứng tĩnh điện, cụ thể là liên kết hydro –NH...Au. Ngoài ra, sự hấp phụ là quá trình thuận nghịch và cơ chế giải phóng thuốc khỏi bề mặt Au₆ cũng được khảo sát. Theo đó, các phân tử thuốc dễ dàng tách khỏi Au₆ do sự thay đổi nhỏ của pH trong tế bào khối u hoặc sự hiện diện của cysteine trong protein. Đặc biệt, hiện tượng tán xạ Raman tăng cường bề mặt (SERS) của chúng trên bề mặt kim loại Au cũng được làm sáng tỏ.

1. GIỚI THIỆU

Mercaptopurine và thioguanine (Hình 1) có cấu trúc tương tự các nucleobase nhưng chứa một liên kết đôi C=S (thiocarbonyl/thione) và hoạt động như chất thay thế cho các dẫn xuất C=O tự nhiên. Chúng là những chất chống chuyển hóa thường được sử dụng để điều trị ung thư bằng cách can thiệp vào quá trình sao chép DNA (Parker, 2009). Mercaptopurine (MP) được bán dưới tên thương mại là purinethol và thioguanine (TG) còn được gọi là 6-thioguanine (6-TG), thường được sử dụng trong điều trị bệnh bạch cầu, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng (Parker, 2009; Sahasranaman et al., 2008; Scott & Njardarson, 2019). Cả hai đều thuộc nhóm thuốc an toàn và hiệu quả nhất, cần thiết trong hệ thống y tế và nằm trong Danh sách Thuốc thiết yếu của Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization, 2019). Tuy nhiên, việc sử dụng mercaptopurine và thioguanine có thể gây ra các tác dụng phụ nghiêm trọng như suy tủy xương, nhiễm độc gan, nôn mửa, viêm miệng và chán ăn (Ensafi & Karimi-Maleh, 2012; Yang et al., 2015). Vì thế, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để tìm ra phương pháp thích hợp nhằm giảm liều thuốc sử dụng và từ đó có thể hạn chế các phản ứng phụ của chúng. Ngoài ra, việc phát triển các thiết bị cảm biến đơn giản để phát hiện nhanh chóng, chọn lọc loại thuốc này cũng là chủ đề đang rất được quan tâm (Javarsineh et al., 2018).



Hình 1. Công thức cấu tạo của mercaptopurine (trái) và thioguanine (phải)

Nhìn chung, việc sử dụng hóa chất trong điều trị bệnh thường gây ra nhiều tác dụng không mong muốn (Eckhardt et al., 2013). Chính vì thế, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để tìm ra phương pháp điều trị thích hợp nhằm giảm thiểu liều thuốc sử dụng nhằm hạn chế tối đa các tác dụng phụ. Một trong những cách tiếp cận đó là phát triển các chất mang để dẫn truyền thuốc đến nơi cần thiết, giúp nâng cao hiệu quả điều trị. Gần đây, công nghệ nano đã được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán và điều trị bệnh (Akhter et al., 2013). Đáng lưu ý, các vật liệu nano có chứa vàng được quan tâm đặc biệt trong dẫn

truyền thuốc nhờ tính chất độc đáo của chúng như độ bền cao, dễ dàng tổng hợp và có thể được điều chế với nhiều hình dạng và kích thước khác nhau (Ajnai et al., 2014). Các hạt nano vàng có khả năng kết hợp với nhiều phân tử sinh học hoặc phân tử thuốc và thể hiện độc tính thấp (Hainfeld et al., 2005). Sự hiện diện của chúng trong thuốc giúp nâng cao hiệu quả điều trị của thuốc (Demurtas & Perry, 2014), cho phép dẫn truyền thuốc có hiệu quả nhờ vào hoạt động của chất mang hạt nano kim loại, có thể giải phóng thuốc khi cần thiết và tăng thời gian lưu dẫn điều trị trong vòng tuần hoàn (Austin et al., 2014; Torchilin, 2014). Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành để đánh giá vai trò của các hạt nano này trong điều trị bệnh, đặc biệt liên quan đến viêm nhiễm và khối u (Kalepu & Nekkanti, 2015). Các cấu trúc nano này còn được xem là những chất huỳnh quang (fluorophore) cao cấp so với các thuốc nhuộm hữu cơ hiện tại, đồng thời nhỏ hơn và ít độc hơn các chấm lượng tử (Choi et al., 2012; Gwinn et al., 2015; Obliosca et al., 2013), nên rất thích hợp cho các ứng dụng trong phát triển các thiết bị dò tìm và cảm biến sinh học.

Với các ứng dụng trên, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành để làm sáng tỏ cơ chế tương tác và các tính chất lý hóa liên quan. Để khảo sát kích thước và cấu trúc của hạt, hình thái bề mặt và sự tồn tại cấu trúc dạng keo, các phương pháp thực nghiệm thường được sử dụng. Những kỹ thuật như hiển vi điện tử truyền qua (transmission electron microscopy), hiển vi điện tử quét (scanning electron microscopy) và hiển vi lực nguyên tử (atomic force microscopy) có thể được sử dụng để đo kích thước hạt cũng như sự phân bố kích thước, hình dạng và hình thái bề mặt (Veronese & Pasut, 2005). Kích thước hạt cũng có thể được quan sát bằng cách sử dụng các kỹ thuật tán xạ ánh sáng như nhiễu xạ laser (laser diffraction) và tán xạ ánh sáng động (dynamic light scattering) (Brar & Verma, 2011). Phổ UV-Vis cũng đã được sử dụng để xác nhận sự hiện diện của liên kết disulfide (Kam et al., 2005), theo dõi vùng chuyển dịch điện tích từ kim loại sang phối tử (Achar & Puddephatt, 1994). Ngoài ra, kỹ thuật NMR có thể cung cấp nhiều thông tin về trật tự nguyên tử sắp xếp trong phân tử và trong thực tế có thể được sử dụng để xác định các liên kết hóa học và khoảng cách giữa các nguyên tử cụ thể (Sun et al., 2012). Bên cạnh những phương pháp thực nghiệm, các kỹ thuật tính toán ngày càng được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu sâu hơn các tính chất của các hạt nanocluster và sự tương tác của chúng với các phân tử sinh học (Petty et al., 2014; Sharma et al., 2012). Những nghiên cứu này có thể được

thực hiện ở nhiều mức lý thuyết khác nhau (Ramezanpour et al., 2016).

Trong nghiên cứu này, các phép tính dựa trên lý thuyết phiếm hàm mật độ (DFT) được thực hiện để khảo sát bản chất của sự tương tác và cơ chế tăng cường hóa học phổ Raman (SERS) của phân tử thuốc mercaptopurine và thioguanine lên bề mặt nano vàng bằng cách sử dụng Au₆ cluster làm mô hình phản ứng. Việc cố định các hợp chất hữu cơ và phân tử sinh học trên bề mặt kim loại (đặc biệt là vàng) là nền tảng của nhiều ứng dụng trong dẫn truyền thuốc và cảm biến sinh học. Kết quả nghiên cứu cung cấp những hiểu biết sâu hơn về quá trình chức năng hóa các nanocluster vàng và dự đoán khả năng ứng dụng của chúng trong việc thiết kế các hệ dẫn truyền thuốc nhằm mục tiêu, hỗ trợ thiết kế các vật liệu nano mới với hiệu quả vượt trội hơn.

2. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN

Tất cả các tính toán được thực hiện với sự hỗ trợ của gói chương trình Gaussian 16 (Frisch et al., 2016). Cấu trúc và năng lượng của các hệ nghiên cứu được tối ưu hóa trong khuôn khổ lý thuyết DFT với phiếm hàm tương quan – trao đổi Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) (Perdew et al., 1996). Bộ cơ sở cc-pVDZ-PP (Peterson & Puzzarini, 2005) với thế năng lõi hiệu dụng (effective core potential) được áp dụng cho Au₆, trong khi bộ cơ sở đầy đủ electron cc-pVTZ được sử dụng cho MP và TG. Cấu trúc ban đầu của phức hợp được xây dựng bằng cách gắn phân tử thuốc vào dạng bền nhất của Au₆ (Nhat et al., 2017), thông qua những vị trí giàu electron như S, N. Tần số dao động điều hòa cũng được tính tại cùng mức lý thuyết để xác định cấu trúc thu được là những cực tiểu địa phương (local minima) và để mô phỏng các đặc trưng dao động trên phổ Raman.

Biến thiên năng lượng tự do (ΔG^0) của quá trình hấp phụ các phân tử thuốc được tính dựa vào các biểu thức sau:

$$\Delta G^0(298) = \sum(\epsilon_0 + G_{corr})_{final} - \sum(\epsilon_0 + G_{corr})_{initial}$$

trong đó ($\epsilon_0 + G_{corr}$) là tổng năng lượng electron và nhiệt năng tự do. Các thông số nhiệt động này được tính toán trên cơ sở các sơ đồ nhiệt hóa do Gaussian cung cấp (Ochterski). Năng lượng tương tác E_b giữa Au₆ và các phân tử thuốc được xác định bởi:

$$E_b = (E_{Au_6} + E_{MP/TG}) - E_{Au_6 \cdot MP/TG}$$

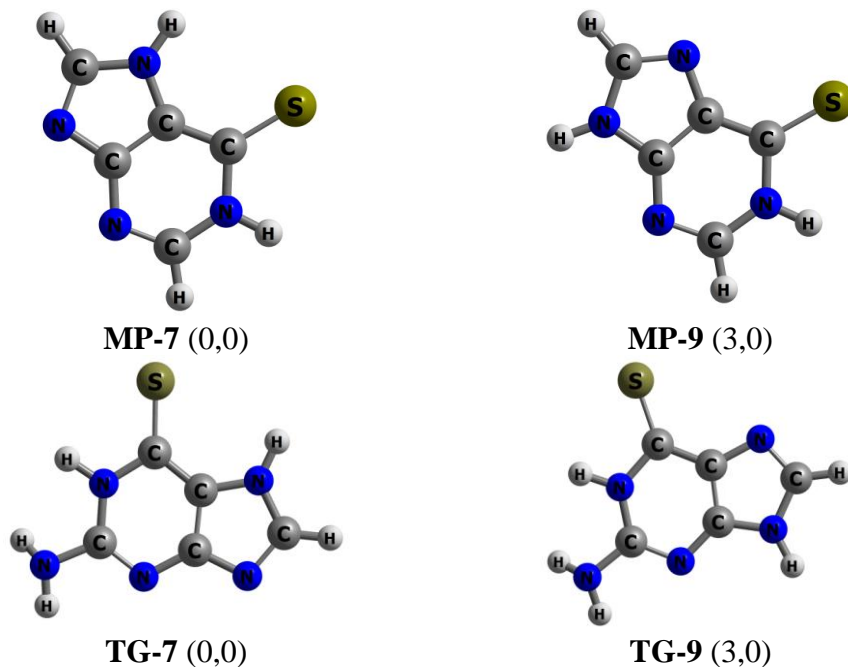
trong đó E_x là năng lượng tối ưu của cấu tử X. Năng lượng E_b càng dương, ái lực với Au₆ càng lớn, sự tương tác càng dễ xảy ra. Sự ảnh hưởng của dung môi (nước) được mô phỏng theo mô hình IEF-PCM (Tomasi et al., 2005) có sẵn trong Gaussian 16. Bản chất tương tác được làm sáng tỏ thông qua các chỉ số lượng tử như năng lượng các orbital biên HOMO (highest occupied molecular orbital), LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) và chênh lệch năng lượng HOMO-LUMO (E_g).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

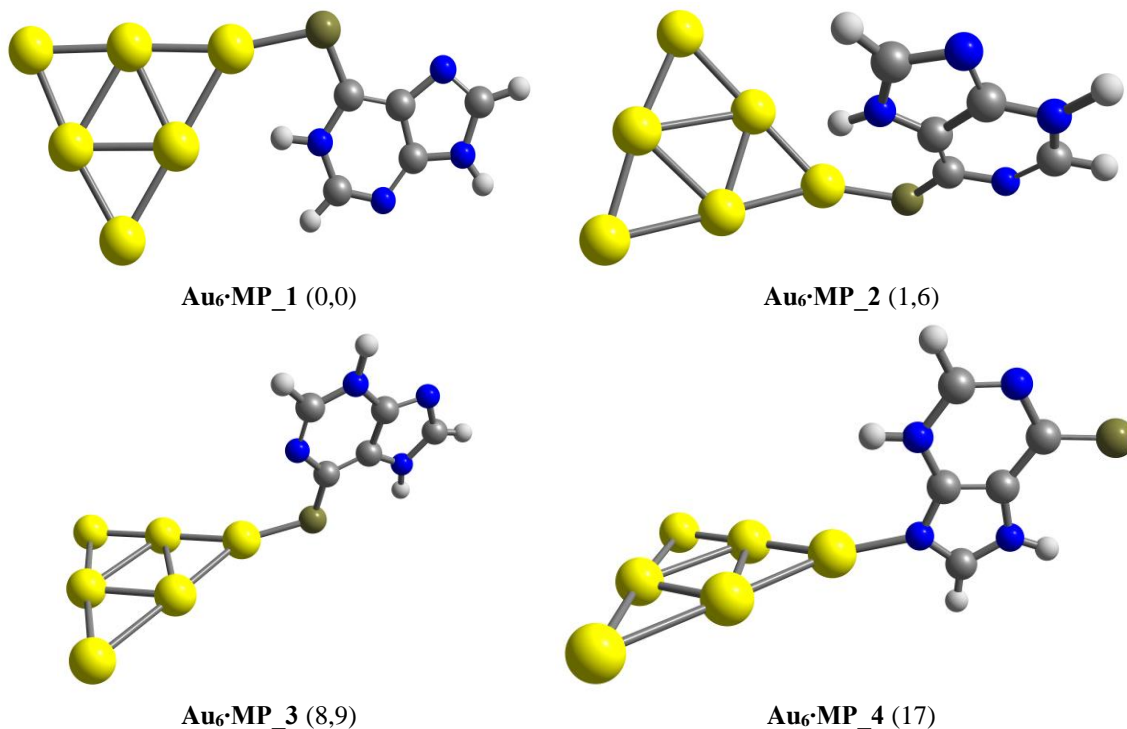
3.1. Tối ưu hóa cấu trúc

Mercaptopurine và thioguanine có cấu trúc tương tự adenine và guanine. Tuy nhiên, trong các phân tử thuốc nguyên tử O ở vị trí số 6 của vòng pyrimidine được thay thế bằng nguyên tử S. Đặc biệt, các nguyên tử hydrogen (H) gắn trên nitrogen (N) của vòng purine có thể tạo thành nhiều dạng hồ biến (tautomer) khác nhau (Bao-Zong, 2004; Suresh Kumar et al., 2015). Trong đó, hai đồng phân **MP-7** và **MP-9** (Hình 2) được xác định là bền nhất (Bao-Zong, 2004; Pazderski et al., 2006; Ren et al., 2019). Trong pha khí, **MP-9** kém bền hơn **MP-7** khoảng 3 kcal/mol. Sự chênh lệch năng lượng giữa **MP-7** và **MP-9** giảm xuống đáng kể trong dung dịch nước, chỉ còn ~1 kcal/mol (PBE/cc-pVTZ). Đối với TG, hai dạng bền nhất có chênh lệch năng lượng từ 0,2 kcal/mol (nước) đến 3 kcal/mol (pha khí). Những dạng hồ biến trên Hình 2 sẽ được xem xét cho tất cả các tính toán và thảo luận trong nghiên cứu này.

Các phân tử thuốc có thể tạo liên kết với Au₆ thông qua nguyên tử S hoặc nguyên tử N không liên kết với H. Trong quá trình hấp phụ, một số loại tương tác sau giữa MP/TG và Au₆ bao gồm (a) sự chuyển điện tích từ cặp không liên kết của chúng qua LUMO của Au₆, (b) sự phối trí π ngược từ HOMO của Au₆ sang orbital phản liên kết π^* của các phân tử thuốc, (c) tương tác tĩnh điện thông qua liên kết yếu Au...H-N, trong đó electron được chuyển từ cặp vàng duy nhất sang các orbital phản liên kết $\sigma^*(NH)$ (Pakiari & Jamshidi, 2007). Phân tích điện tích NBO cho thấy trong Au₆ cluster nguyên tử Au ở góc mang điện tích dương nên dễ bị tấn công bởi các cặp electron tự do hơn (Nhat et al., 2020).



Hình 2. Các dạng hỗ biến của mercaptopurine (trên) và thioguanine (dưới). Giá trị trong dấu ngoặc đơn là năng lượng tương đối của chúng trong pha khí



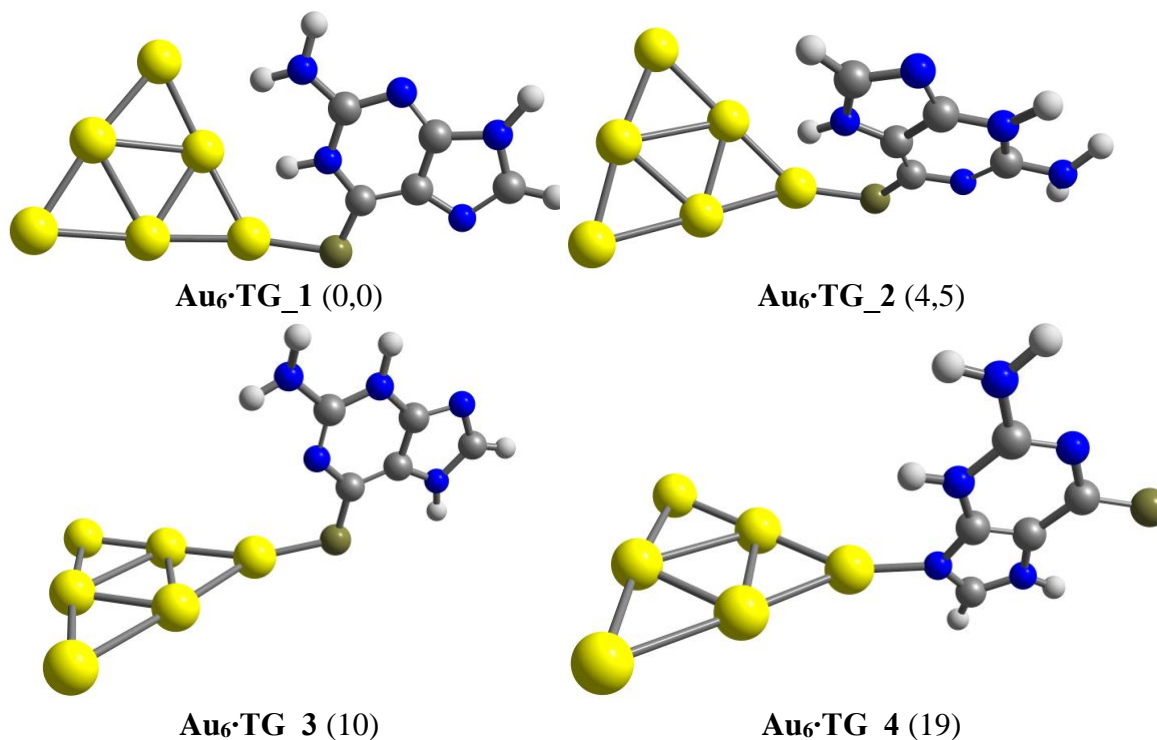
Hình 3. Các cấu trúc năng lượng thấp của Au₆MP. Giá trị trong dấu ngoặc đơn là năng lượng tương đối (kcal/mol) của chúng tính tại mức PBE/cc-pVTZ/cc-pVDZ-PP

Cấu trúc có năng lượng thấp của các phức hợp Au₆X được thể hiện trên Hình 3 và 4. Chúng được ký hiệu lần lượt là Au₆X_N, trong đó X = MP, TG;

N = 1, 2, 3 ... tương ứng với năng lượng tương đối tăng dần. Nhìn chung, vị trí gắn kết ưa thích của cluster Au₆ với MP được xác định là nguyên tử S,

sinh ra cấu trúc **Au₆·MP_1** bền nhất (Hình 3). Cấu trúc bền tiếp theo **Au₆·MP_2** có năng lượng cao hơn **Au₆·MP_1** khoảng 2 kcal/mol. Hai cấu trúc còn lại, **Au₆·MP_3** và **Au₆·MP_4**, có năng lượng cao hơn 9

– 17 kcal/mol (so với phức bền nhất **Au₆·MP_1**). Cả **Au₆·MP_1** và **Au₆·MP_2** đều xuất hiện liên kết hydro Au··H–N nên được ổn định tương đối so với **Au₆·MP_3** và **Au₆·MP_4**.



Hình 4. Các cấu trúc năng lượng thấp của **Au₆·TG**. Giá trị trong dấu ngoặc đơn là năng lượng tương đối (kcal/mol) của chúng tính tại mức PBE/cc-pVTZ/cc-pVDZ-PP

Tương tự, đối với sự tương tác giữa cluster **Au₆** và **TG**, vị trí gắn kết được ưa thích nhất cũng là giữa nguyên tử S (**TG**) và nguyên tử Au nằm ở góc, tạo thành dạng bền nhất **Au₆·TG_1** (Hình 4). Dạng này được ổn định hơn nhờ xuất hiện các tương tác Au··H–N. Cấu trúc bền tiếp theo **Au₆·TG_2** có năng lượng cao hơn **Au₆·TG_1** khoảng 4,5 kcal/mol. Những cấu trúc còn lại, **Au₆·TG_3** và **Au₆·TG_4** có năng lượng cao hơn **Au₆·TG_1** từ 10 đến 19 kcal/mol. Do không tạo được liên kết hydrogen Au··H–N nên **Au₆·TG_3** và **Au₆·TG_4** tương đối kém bền.

3.2. Các tính chất về năng lượng, điện tử

Khả năng tương tác giữa cluster vàng **Au₆** và các phân tử thuốc được đánh giá thông qua các thông số nhiệt động như năng lượng liên kết, biến thiên enthalpy và năng lượng Gibbs. Bên cạnh đó, sự ảnh

hưởng của dung môi nước cũng được xem xét. Kết quả tính toán được tóm tắt trong Bảng 1. Trong pha khí, năng lượng liên kết (E_b) giữa **Au₆** với **MP** nằm trong khoảng 19 – 31 kcal/mol và với **TG** là 21 – 36 kcal/mol. Trong khi đó, biến thiên enthalpy thay đổi từ –18 kcal/mol đến –30 kcal/mol đối với **Au₆·MP** và từ đến –20 kcal/mol đến –35 kcal/mol đối với **Au₆·TG**. Tuy nhiên, năng lượng tự do Gibbs của chúng thay đổi ít hơn rất nhiều. Ví dụ, năng lượng Gibbs của phức **Au₆·MP_2** là $\Delta G^{298} = -24$ kcal/mol, so với biến thiên enthalpy tương ứng $\Delta H^{298} = -34$ kcal/mol. Điều này có thể được giải thích là do các quá trình hấp phụ có xu hướng giảm entropy (hiệu ứng entropy). Nhìn chung, cluster **Au₆** có xu hướng liên kết mạnh với **TG** hơn **MP**. Điều này có thể là do ảnh hưởng của nhóm –NH₂ làm tăng mật độ electron trên nguyên tử S của **TG**.

Bảng 1. Năng lượng liên kết E_b , biến thiên enthalpy ΔH° và năng lượng tự do Gibbs ΔG° (kcal/mol) của quá trình hấp phụ MP và TG lên Au_6

Cấu tử	E_b	ΔH°	ΔG°	Cấu tử	E_b	ΔH°	ΔG°
Au_6 -MP_1	31,1	-30,4	-21,3	Au_6 -TG_1	35,4	-34,8	-25,1
Au_6 -MP_2	34,3	-33,7	-24,0	Au_6 -TG_2	35,5	-34,9	-25,2
Au_6 -MP_3	27,0	-26,3	-18,9	Au_6 -TG_3	29,9	-29,1	-20,8
Au_6 -MP_4	18,9	-18,1	-9,52	Au_6 -TG_4	20,9	-20,0	-10,3

Dưới sự ảnh hưởng của dung môi nước, liên kết giữa các kim loại vàng với phân tử thuốc trở nên kém bền vững hơn. Tuy nhiên, xu hướng biến thiên của các giá trị E_b , ΔH^{298} và ΔG^{298} nhìn chung vẫn tương tự như trong pha khí. Ví dụ, năng lượng tương tác, biến thiên enthalpy và năng lượng tự do Gibbs của Au_6 -TG_2 trong nước lần lượt là 29, -28 và -19 kcal/mol, so với các giá trị trong pha khí tương ứng là 36, -35 và -25 kcal/mol. Nhìn chung, sự tương tác giữa MP và TG với Au_6 trong dung môi nước cũng được dự đoán là có thể tự diễn ra vì đều là quá trình giảm năng lượng tự do ($\Delta G < 0$).

Khi bị kích thích bởi nhiệt độ hoặc ánh sáng, các phân tử thuốc có thể trải qua quá trình giải hấp phụ khỏi bề mặt vàng. Để hiểu sâu hơn về vấn đề này, thời gian hồi phục của Au_6 cluster được khảo sát. Theo thuyết trạng thái chuyển tiếp, năng lượng tương tác càng lớn thời gian hồi phục càng dài (Peng et al., 2004). Cụ thể, thời gian hồi phục τ tỉ lệ thuận với năng lượng tương tác E_b qua phương trình sau:

$$\tau = \frac{1}{\nu} e^{E_b/kT}$$

Trong đó, ν là tần số thử, T là nhiệt độ của hệ, k là hằng số Boltzman. Thời gian hồi phục tính cho các tương tác bền nhất được liệt kê trong Bảng 2.

Bảng 2. Thời gian hồi phục τ (giây) của quá trình hấp phụ MP, TG trên bề mặt Au_6 (400 K) trong pha khí và môi trường nước (giá trị trong dấu ngoặc đơn)

	E_b	Tần số ánh sáng (Hz)		
		$3,0 \times 10^{16}$	$7,5 \times 10^{14}$	$4,3 \times 10^{14}$
Au_6 -MP	34,3 (27,8)	$1,86 \times 10^2$ ($5,21 \times 10^{-2}$)	$7,43 \times 10^3$ (2,08)	$1,30 \times 10^4$ (3,64)
Au_6 -TG	35,5 (29,2)	$8,41 \times 10^2$ (0,3)	$3,36 \times 10^4$ ($1,21 \times 10^1$)	$5,88 \times 10^4$ ($2,12 \times 10^1$)

Với năng lượng tương tác ~ 34 kcal/mol, Au_6 -MP có thời gian hồi phục lên đến 2 giờ trong pha khí và giảm xuống chỉ còn khoảng 2 giây, nếu sử dụng ánh sáng có bước sóng $\lambda = 7,5 \times 10^{14}$ Hz, tại nhiệt độ $T = 400$ K. Tương tự, thời gian phục hồi sẽ nằm trong khoảng từ 9 giờ (trong pha khí) đến 12 giây (trong nước) đối với các phân tử TG. Do đó, các hạt nanocluster vàng là vật liệu rất tiềm năng để phát triển thiết bị cảm biến phát hiện chọn lọc MP và TG.

Để đánh giá độ nhạy của Au_6 với sự hiện diện của các phân tử MP và TG, sự thay đổi năng lượng vùng cấm được tiến hành phân tích. Chỉ số lượng tử này được xác định như sau:

$$\Delta E_g = \frac{|E_{g2} - E_{g1}|}{E_{g1}} \times 100\%$$

trong đó E_{g1} là chênh lệch năng lượng giữa các orbital biên (HOMO - LUMO) hay năng lượng vùng cấm của Au_6 và các phức hợp Au_6 -MP/TG.

Bảng 3. Năng lượng (eV) của các orbital biên (HOMO, LUMO), năng lượng vùng cấm E_g và sự thay đổi năng lượng vùng cấm ΔE_g (%)

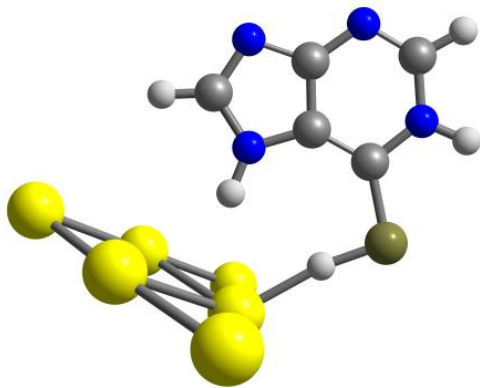
Cấu tử	E_{HOMO}	E_{LUMO}	E_g	ΔE_g	HOMO	LUMO	E_g	ΔE_g
	Trong pha khí				Trong nước			
Au_6	-8,80	-1,29	7,51	-	-8,34	-0,48	7,87	-
MP	-8,59	-0,27	8,32	-	-8,87	-0,14	8,73	-
TG	-8,55	-0,38	8,17	-	-8,80	-0,54	8,26	-
Au_6 -MP	-7,80	-0,92	6,89	8,3%	-7,82	-0,62	7,20	8,5%
Au_6 -TG	-7,64	-0,58	7,06	5,9%	-7,80	-0,48	7,31	7,1%

Năng lượng vùng cấm E_g của Au_6 trong pha khí là 7,5 eV và trong nước là 7,9 eV. Như liệt kê trong Bảng 3, giá trị E_g của Au_6 thay đổi đáng kể khi hấp phụ MP. Năng lượng vùng cấm của Au_6 giảm khoảng 8,3% (trong pha khí) đến 8,5 % trong nước. Đối với quá trình hấp phụ TG, sự thay đổi này dường như ít hơn nhưng vẫn đáng chú ý, cụ thể giảm khoảng 5,9% (trong pha khí) và 7,1% (trong nước). Sự suy giảm năng lượng vùng cấm E_g làm cho khả năng dẫn điện của cluster tăng lên, gây ra tín hiệu điện có thể giúp phát hiện các phân tử thuốc.

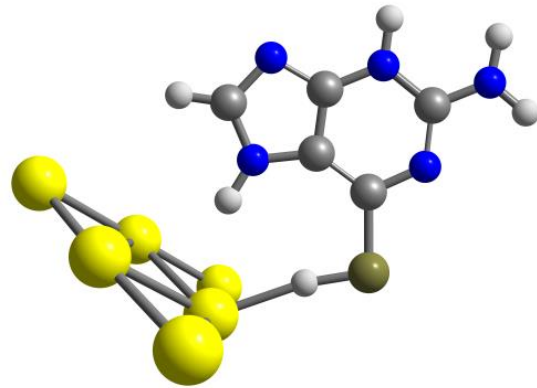
3.3. Sự phóng thích thuốc

Khả năng giải phóng thuốc khỏi chất mang trong tế bào là một trong những giai đoạn quan trọng nhất

trong quá trình dẫn truyền thuốc. Để tách thuốc khỏi chất mang, ta có thể sử dụng các kích thích bên ngoài hoặc kích thích bên trong thông qua việc kiểm soát sinh học như sự thay đổi độ pH hoặc các amino acid như cysteine (Ghosh et al., 2008). Nhìn chung, các tế bào khối u thường có độ pH < 6 so với máu (pH ≈ 7,35–7,45) bởi sự tạo thành quá mức lactic acid (Swietach et al., 2014). Chính vì vậy, nồng độ ion H^+ có ảnh hưởng lớn đến khả năng gắn kết của các phân tử thuốc lên bề mặt Au. Trong môi trường acid, sự tương tác giữa MP/TG đã proton hóa (MPH^+/TGH^+) và cluster vàng trở nên kém bền hơn, bản chất của tương tác được quyết định bởi các liên kết hydrogen như trong Hình 5, thay vì liên kết cộng hóa trị khi thuốc chưa bị proton hóa (Hình 3 và 4).



Au_6-MPH^+ (10)



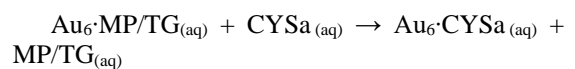
Au_6-TGH^+ (9,4)

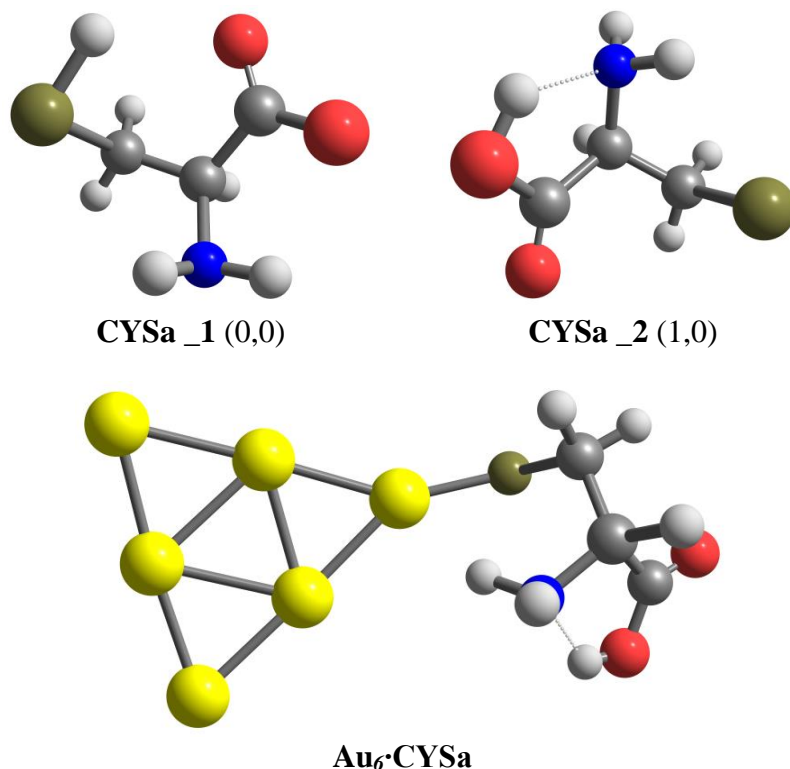
Hình 5. Cấu trúc tối ưu của hệ $Au_6 \cdot MPH^+/TGH^+$. Giá trị trong dấu ngoặc đơn là năng lượng liên kết (kcal/mol) của cluster Au_N và thuốc MP/TG bị proton hóa

Trong môi trường acid, khả năng gắn kết giữa Au_6 và các phân tử thuốc rất kém với năng lượng liên kết giảm xuống còn 9,4 – 10 kcal/mol so với 28 – 29 kcal/mol trong môi trường trung tính. Như vậy, với sự hiện diện của ion H^+ , sự liên kết giữa MP/TG với kim loại vàng dễ dàng bị phá vỡ và các phân tử thuốc nhanh chóng phóng thích khỏi bề mặt chất mang.

Bên cạnh sự ảnh hưởng của pH, một yếu tố khác cũng góp phần tạo điều kiện cho sự phóng thích thuốc đó là sự tương tác của chất mang thuốc với protein, cụ thể là các amino acid. Cysteine là một trong những amino acid có ái lực khá mạnh với kim

loại Au (Eckhardt et al., 2013; Le Guével et al., 2011). Ở pH sinh lý, cysteine, với các hằng số acid $pK_{a1} = 1,7$; $pK_{a2} = 8,3$, chủ yếu tồn tại dưới dạng anion bởi sự tách proton nhóm carboxyl hoặc thiol (O'Neil, 2013). Như minh họa trên Hình 6, hai cấu trúc bền của cysteine trong nước là **CYSa_1** và **CYSa_2** với chênh lệch năng lượng chỉ ~1,0 kcal/mol. Tuy nhiên, cluster vàng liên kết bền hơn với **CYSa_2** do tạo được liên kết hydrogen $-NH \cdots Au$. Khả năng giải phóng thuốc từ các hạt nano vàng trong môi trường nội bào có thể được khảo sát vào quá trình trao đổi phối tử sau:





Hình 6. Cấu trúc tối ưu của cysteine trong nước và phức Au₆-CYSA

Nghiên cứu gần đây về sự tương tác của cluster vàng với cysteine cho thấy với nhóm thiolate của cysteine là vị trí tương tác được ưu tiên nhất giữa Au₆ và CYSa trong môi trường nước với năng lượng liên kết ~38 kcal/mol (Nhat et al., 2020). Cấu trúc tối ưu của phức hợp Au₆-CYS được thể hiện trên **Hình 6**. Trong môi trường nước, năng lượng tương tác giữa Au₆ với anion CYSa là ~38 kcal/mol. Trong khi đó, năng lượng tương tác giữa Au₆ với MP và TG là khoảng 28 – 29 kcal/mol. Như vậy, ái lực của vàng với cysteine mạnh hơn so với các phân tử thuốc nên sự trao đổi phối tử có thể xảy ra dễ dàng. Năng lượng tự do của phản ứng trao đổi phối tử được dự đoán vào khoảng -8 kcal/mol đối với MP và -6 kcal/mol đối với TG, chứng tỏ sự phóng thích thuốc trong nội bào do tương tác với protein là quá trình tự diễn biến.

3.4. Hiện tượng tán xạ Raman tăng cường bề mặt (SERS)

Việc phân tích các đặc trưng dao động và phổ SERS của các phân tử thuốc là rất quan trọng vì từ đó chúng ta có thể thu được nhiều thông tin quan trọng về đặc điểm liên kết và cơ chế tương tác. Về nguyên tắc, phổ Raman phản ánh các kiểu dao động của từng nhóm chức trong phân tử. Tuy nhiên,

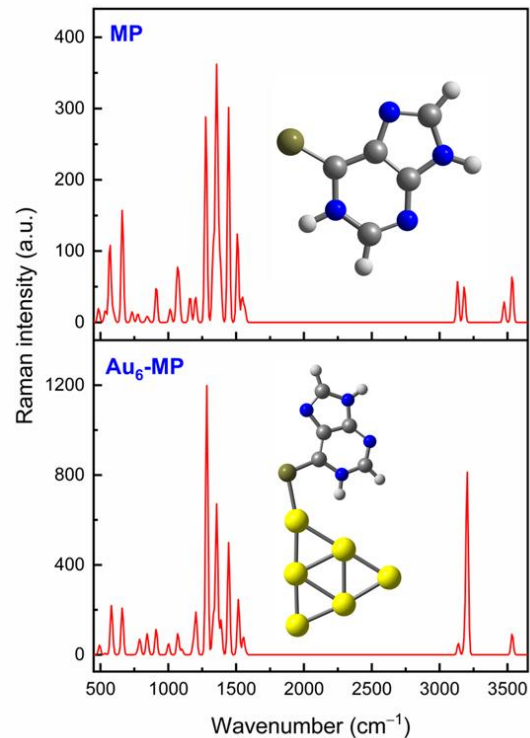
phương pháp này khó thực hiện khi các phân tử ở nồng độ thấp do cường độ Raman thường rất yếu. Vì vậy, kỹ thuật tán xạ Raman tăng cường bề mặt (SERS) thường được sử dụng để khuếch đại cường độ dao động (Mohammadi et al., 2018). Trong số các phương pháp quang phổ được xây dựng để phát hiện các hợp chất hữu cơ, kỹ thuật SERS hiện thu hút sự quan tâm đặc biệt và được áp dụng rộng rãi trong cảm biến sinh học (Bauman et al., 2017; Cordero et al., 2017). Khi nghiên cứu hiện tượng SERS, có hai cơ chế quan trọng thường được xem xét, đó là sự tăng cường hóa học và điện từ (Cialla et al., 2014). Thật vậy, một số dao động của phân tử ở gần bề mặt kim loại sẽ được tăng cường đáng kể bởi vì cường độ Raman tỉ lệ thuận với trường điện từ tại đó. Hơn nữa, ánh sáng phân tán Raman cũng gây ra sự tăng cường bổ sung khi các đặc trưng dao động kết hợp với sự cộng hưởng plasmon (Itoh et al., 2007). Ngược lại, cơ chế tăng cường hóa học chủ yếu liên quan đến sự tương tác hóa học hoặc do sự dịch chuyển điện tích giữa các phân tử và bề mặt kim loại (Jensen et al., 2008).

Gần đây, các phép tính hóa học lượng tử thường sử dụng để mô tả và giải thích hiện tượng SERS bao gồm các tín hiệu hoạt động Raman và nhiều thông tin quan trọng về vị trí tương tác cũng như cơ chế

liên kết giữa các phân tử bị hấp phụ và bề mặt kim loại (Yao & Huang, 2018). Ví dụ, sự tăng cường phổ Raman của pyridine trên điện cực Ag đã được ghi nhận và phân tích với sự hỗ trợ của các phép tính DFT trên cơ sở sử dụng cluster Ag_n làm mô hình đại diện cho các hạt nano bạc (Jeanmaire & Van Duyne, 1977). Tương tự, mô hình cluster vàng cũng được sử dụng để phân tích phổ SERS của pramipexole hấp phụ trên bề mặt hạt nano vàng (Si et al., 2021). Các đặc trưng Raman của MP cũng như phổ SERS của nó trên bề mặt hạt nano vàng có thể được tìm thấy trong một số nghiên cứu trước đây (Pannico & Musto, 2021; Vivoni et al., 2001; Yang et al., 2005). Phân tử này rất thích hợp để phát hiện bằng kỹ thuật SERS, do có ái lực cao đối với cơ chất Ag/Au. Quan trọng hơn, các nghiên cứu trước đây trên MP cũng như các dẫn xuất của nó cho thấy nhiều giả thuyết được đưa ra mâu thuẫn với nhau và cần những khảo sát sâu hơn để giải quyết các hiện tượng ghi nhận được.

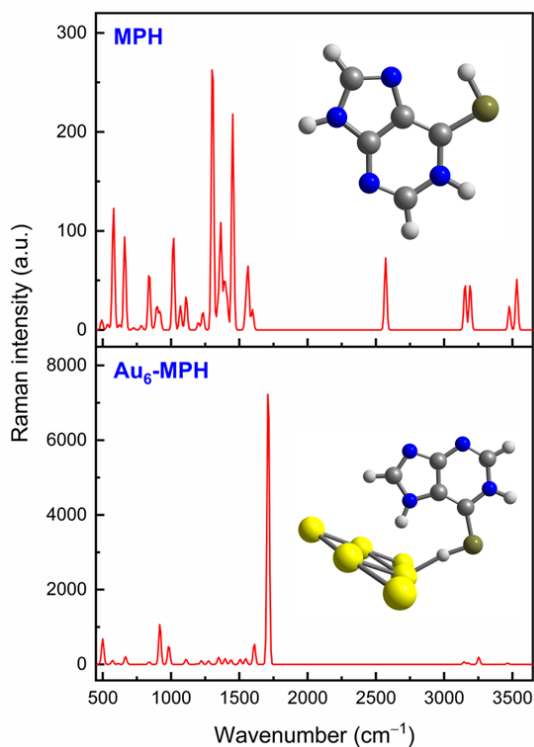
Phổ Raman thường của phân tử MP tự do và phổ SERS của nó hấp phụ trên bề mặt Au₆ trong vùng 400 đến 4000 cm⁻¹ được thể hiện trên Hình 7. Phù hợp với kết quả thực nghiệm (Suresh Kumar et al., 2015), một số tín hiệu phổ Raman quan trọng của MP xuất hiện trong vùng trên 3000 cm⁻¹ và dưới 1600 cm⁻¹. Cụ thể, mũi co giãn N-H của vòng imidazole tại 3532 cm⁻¹ có thể được qui kết cho tín hiệu được quan sát tại 3541 cm⁻¹ trên phổ thực nghiệm. Tuy nhiên, mũi co giãn N-H của vòng pyrimidine tại 3482 cm⁻¹ không được ghi nhận trên phổ thực nghiệm. Kiểu co giãn C-H của vòng imidazole và pyrimidine được dự đoán xuất hiện lần lượt tại 3185 và 3124 cm⁻¹, có thể qui kết cho mũi thực nghiệm tại 3104 cm⁻¹. Trong khi đó, khá khó để xác định một cách rõ ràng các tín hiệu trong vùng năng lượng 1200 – 1600 cm⁻¹ vì chúng là sự kết hợp của một số dao động bao gồm co giãn C-X và biến dạng X-H (X = S, N, C). Ví dụ, các đỉnh hấp thụ mạnh tại 1360 và 1500 cm⁻¹ có khả năng là kết quả của sự kết hợp giữa các kiểu co giãn vòng trong mặt phẳng với các dao động biến dạng X-H và C-H trong mặt phẳng. Trên phổ thực nghiệm, các dao động này được ghi nhận tại 1376 và 1540 cm⁻¹ (Suresh Kumar et al., 2015). Ngoài ra, một số dải cường độ yếu trong vùng năng lượng thấp hơn liên quan đến sự co giãn vòng kết hợp với các dao động uốn N-H và C-H ngoài mặt phẳng. Các đặc trưng trên phổ Raman của MP trong dung dịch acid (dạng thiol) cũng phù hợp khá tốt với dữ liệu thực nghiệm thu được trong dung dịch HCl (Yang et al., 2005). Một số tín hiệu mạnh trong vùng vân tay (fingerprint) tại 578, 662, 1017, 1304, 1364 và 1450

cm⁻¹ có thể qui kết cho các giá trị thực nghiệm được nhìn thấy tại 588, 675, 1023, 1330, 1377 và 1449 cm⁻¹. Đặc biệt là sự xuất hiện của dải gần 2600 cm⁻¹ do sự co giãn của nhóm thiol (S-H) (Bazylewski et al., 2017).



Hình 7. Phổ Raman của MP (trên) và phổ SERS của nó trên bề mặt Au₆ (dưới) trong môi trường trung tính

Trong môi trường trung tính, sự liên kết giữa MP với các kim loại Au thông qua đầu S thể hiện sự đóng góp chính vào hiện tượng SERS. Từ phổ mô phỏng, chúng ta có thể thấy sự tăng cường bất thường của các dao động trong vùng năng lượng từ 1250 đến 1500 cm⁻¹. Đặc biệt, mũi được tăng cường mạnh nhất ở ~1280 cm⁻¹ chủ yếu xuất phát từ kiểu dao động uốn N-H kết hợp với biến dạng C-H và co giãn vòng. Trên phổ SERS thực nghiệm của MP trong dung dịch KCl và hạt nano vàng (Yang et al., 2005), một tín hiệu rất mạnh gần 1260 cm⁻¹ cũng được ghi nhận. Một điểm đáng lưu ý khác là sự xuất hiện của một dải khá cao gần 3200 cm⁻¹ liên quan đến sự co giãn N-H. Trên phổ Raman thường của MP, kiểu dao động này xuất hiện ở vùng năng lượng cao hơn (3500 cm⁻¹) và có cường độ yếu hơn rất nhiều.



Hình 8. Phổ Raman của MP (trên) và phổ SERS của nó trên bề mặt Au₆ (dưới) trong môi trường acid

So sánh phổ SERS trong các môi trường trung tính và acid, chúng ta có thể nhận ra sự thay đổi về cường độ và vị trí của các tín hiệu đặc trưng do định hướng hấp phụ khác nhau. Sự tăng cường hóa học phổ SERS của MP trong dung dịch acid mạnh hơn nhiều so với trong môi trường trung tính. Ngoài ra, chúng ta dễ dàng nhận ra sự biến mất của mũi dao động S-H gần 2600 cm⁻¹ trên phổ SERS của MP vì nhóm thiol hướng trực tiếp vào bề mặt kim loại (Hình 8). Thay vào đó, cường độ mũi cao nhất tại 1700 cm⁻¹ và sự tương tác Au...H-S chính là yếu tố chính gây ra sự tăng cường SERS của MP trên bề mặt Au₆. Sự xuất hiện của liên kết hydrogen này dẫn đến sự phân bố lại điện tích và gây ra sự tăng cường hóa học SERS cùng với sự dịch chuyển về vùng năng lượng thấp của dao động S-H. Đặc biệt, chúng

ta hầu như không nhìn thấy các tín hiệu trong vùng 3000 – 4000 cm⁻¹ trên phổ SERS của MP trong môi trường acid.

4. KẾT LUẬN

Các phép tính DFT được thực hiện để khảo sát bản chất của sự tương tác giữa các phân tử thuốc MP, TG với các hạt nano vàng sử dụng cluster Au₆ làm mô hình phản ứng. Sự ảnh hưởng của dung môi nước được mô phỏng bởi phương pháp IEF-PCM. Nhìn chung, cả MP và TG đều có xu hướng gắn kết lên bề mặt vàng thông qua nguyên tử S. Điều này được giải thích theo thuyết acid-base cứng-mềm (HSAB) (Pearson, 1963). Theo đó, sulfur là một base mềm hơn nitrogen nên tương tác với vàng mạnh hơn vì Au cũng là một acid mềm. Độ bền của các phức hợp còn được ổn định thêm nhờ vào sự hiện diện liên kết hydrogen Au...H-N giữa cluster vàng và phân tử MP/TG. Tuy nhiên trong acid, khi MP và TG chủ yếu tồn tại dưới dạng thiol, bản chất của tương tác được quyết định bởi liên kết hydrogen Au...H-S, thay vì liên kết cộng hóa trị như trong môi trường trung tính.

Năng lượng liên kết của hệ Au₆MP khoảng 34 kcal/mol trong pha khí và giảm xuống còn 28 kcal/mol trong môi trường nước. Giá trị này đối với hệ Au₆TG là 36 kcal/mol trong pha khí và 29 kcal/mol trong nước. Trong cả hai môi trường được khảo sát, các quá trình hấp phụ đều có thể tự xảy ra do có biến thiên năng lượng tự do Gibbs âm. Sau khi tương tác với các phân tử thuốc, giá trị năng lượng vùng cấm E_g của Au₆ cluster giảm đáng kể trong các phức hợp Au₆MP/TG và có thể được chuyển hóa thành tín hiệu điện trong các thiết bị cảm biến sinh hóa. Đối với khả năng dẫn truyền thuốc, các yếu tố pH và protein đã được làm sáng tỏ trong nghiên cứu này. Theo đó, chất mang có thể dễ dàng giải phóng thuốc trong cơ thể nhờ các yếu tố như pH thấp ở tế bào bệnh và sự hiện diện của nhóm thiol trong protein.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Thủ Dầu Một.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Achar, S., & Puddephatt, R. J. (1994). Organoplatinum dendrimers formed by oxidative addition. *Angewandte Chemie International Edition*, 33(8), 847-849.

Ajnai, G., Chiu, A., Kan, T., Cheng, C. C., Tsai, T. H., & Chang, J. (2014). Trends of gold nanoparticle-based drug delivery system in

cancer therapy. *Journal of Experimental & Clinical Medicine*, 6(6), 172-178.

Akhter, S., Ahmad, I., Ahmad, M. Z., Ramazani, F., Singh, A., Rahman, Z., & Kok, R. J. (2013). Nanomedicines as cancer therapeutics: Current status. *Current Cancer Drug Targets*, 13(4), 362-378.

- Austin, L. A., Mackey, M. A., Dreaden, E. C., & El-Sayed, M. A. (2014). The optical, photothermal, and facile surface chemical properties of gold and silver nanoparticles in biodiagnostics, therapy, and drug delivery. *Archives of Toxicology*, 88(7), 1391-1417.
- Bao-Zong, L. (2004). DFT calculations on 6-thiopurine tautomers. *Acta Chimica Sinica*, 62(11), 1075-1079.
- Bauman, S. J., Brawley, Z. T., Darweesh, A. A., & Herzog, J. B. (2017). Substrate oxide layer thickness optimization for a dual-width plasmonic grating for surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) biosensor applications. *Sensors*, 17(7), 1530.
- Bazylewski, P., Divigalpitiya, R., & Fanchini, G. (2017). In situ Raman spectroscopy distinguishes between reversible and irreversible thiol modifications in L-cysteine. *RSC Advances*, 7(5), 2964-2970.
- Brar, S. K., & Verma, M. (2011). Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *Trends in Analytical Chemistry*, 30(1), 4-17.
- Choi, S., Dickson, R. M., & Yu, J. (2012). Developing luminescent silver nanodots for biological applications. *Chemical Society Reviews*, 41(5), 1867-1891. doi:10.1039/c1cs15226b
- Cialla, D., Pollok, S., Steinbrücker, C., Weber, K., & Popp, J. (2014). SERS-based detection of biomolecules. *Nanophotonics*, 3(6), 383-411.
- Cordero, E., Korinth, F., Stiebing, C., Krafft, C., Schie, I. W., & Popp, J. (2017). Evaluation of shifted excitation Raman difference spectroscopy and comparison to computational background correction methods applied to biochemical Raman spectra. *Sensors*, 17(8), 1724.
- Demurtas, M., & Perry, C. C. (2014). Facile one-pot synthesis of amoxicillin-coated gold nanoparticles and their antimicrobial activity. *Gold bulletin*, 47, 103-107.
- Eckhardt, S., Brunetto, P. S., Gagnon, J., Priebe, M., Giese, B., & Fromm, K. M. (2013). Nanobio silver: its interactions with peptides and bacteria, and its uses in medicine. *Chemical Reviews*, 113(7), 4708-4754. doi:https://doi.org/10.1021/cr300288v
- Ensafi, A. A., & Karimi-Maleh, H. (2012). Determination of 6-mercaptopurine in the presence of uric acid using modified multiwall carbon nanotubes-TiO₂ as a voltammetric sensor. *Drug Testing and Analysis*, 4(12), 970-977.
- 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. (2016). Gaussian 16 Rev. B.01. Wallingford, CT.
- Ghosh, P., Han, G., De, M., Kim, C. K., & Rotello, V. M. (2008). Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(11), 1307-1315.
- Gwinn, E., Schultz, D., Copp, S. M., & Swasey, S. (2015). DNA-protected silver clusters for nanophotonics. *Nanomaterials (Basel)*, 5(1), 180-207. doi:10.3390/nano5010180
- Hainfeld, J. F., Slatkin, D. N., Focella, T. M., & Smilowitz, H. M. (2005). Gold nanoparticles: A new X-ray contrast agent. *British Journal of Radiology*, 79, 248-253.
- Itoh, T., Yoshida, K., Biju, V., Kikkawa, Y., Ishikawa, M., & Ozaki, Y. (2007). Second enhancement in surface-enhanced resonance Raman scattering revealed by an analysis of anti-Stokes and Stokes Raman spectra. *Physical Review B*, 76(8), 085405.
- Javarsineh, S., Vessally, E., Bekhradnia, A., Hosseinian, A., & Ahmadi, S. (2018). A computational study on the purinethol drug adsorption on the AlN nanocone and nanocluster. *Journal of Cluster Science*, 29(4), 767-775.
- Jeanmaire, D. L., & Van Duyne, R. P. (1977). Surface Raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 84(1), 1-20.
- Jensen, L., Aikens, C. M., & Schatz, G. C. (2008). Electronic structure methods for studying surface-enhanced Raman scattering. *Chemical Society Reviews*, 37(5), 1061-1073.
- Kalepu, S., & Nekkanti, V. (2015). Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(5), 442-453.

- Kam, N. W. S., Liu, Z., & Dai, H. (2005). Functionalization of carbon nanotubes via cleavable disulfide bonds for efficient intracellular delivery of siRNA and potent gene silencing. *Journal of the American Chemical Society*, 127(136), 12492-12493.
- Le Guével, X., Hötzer, B., Jung, G., Hollemeyer, K., Trouillet, V., & Schneider, M. (2011). Formation of fluorescent metal (Au, Ag) nanoclusters capped in bovine serum albumin followed by fluorescence and spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry C*, 115(22), 10955-10963. doi:https://doi.org/10.1021/jp111820b
- Mohammadi, A., Nicholls, D. L., & Docolis, A. (2018). Improving the surface-enhanced Raman scattering performance of silver nanodendritic substrates with sprayed-on graphene-based coatings. *Sensors*, 18(10), 3404.
- Nhat, P. V., Nguyen, P. T. N., & Si, N. T. (2020). A computational study of thiol-containing cysteine amino acid binding to Au₆ and Au₈ gold clusters. *Journal of Molecular Modeling*, 26(3), 1-8.
- Nhat, P. V., Si, N. T., Leszczynski, J., & Nguyen, M. T. (2017). Another look at structure of gold clusters Au_n from perspective of phenomenological shell model. *Chemical Physics*, 493, 140-148.
- O'Neil, M. J. (2013). *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*: RSC Publishing.
- Obliosca, J. M., Liu, C., & Yeh, H.-C. (2013). Fluorescent silver nanoclusters as DNA probes. *Nanoscale*, 5(18), 8443-8461. doi:10.1039/C3NR01601C
- Ochterski, J. W. Thermochemistry in Gaussian. See: help@gaussian.com.
- Pakiari, A. H., & Jamshidi, Z. (2007). Interaction of amino acids with gold and silver clusters. *Journal of Physical Chemistry A*, 111, 4391-4396.
- Pannico, M., & Musto, P. (2021). SERS spectroscopy for the therapeutic drug monitoring of the anticancer drug 6-Mercaptopurine: Molecular and kinetic studies. *Applied Surface Science*, 539, 148225.
- Parker, W. B. (2009). Enzymology of purine and pyrimidine antimetabolites used in the treatment of cancer. *Chemical Reviews*, 109(7), 2880-2893.
- Pazderski, L., Łakomska, I., Wojtczak, A., Szłyk, E., Sitkowski, J., Kozerski, L., Kamiński, B., Koźmiński, W., Tousek, J., & Marek, R. (2006). The studies of tautomerism in 6-mercaptopurine derivatives by ¹H-¹³C, ¹H-¹⁵N NMR and ¹³C, ¹⁵N CPMAS-experimental and quantum chemical approach. *Journal of Molecular Structure*, 785(1), 205-215. doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.10.011
- Pearson, R. G. (1963). Hard and Soft Acids and Bases. *Journal of the American Chemical Society*, 85(22), 3533-3539. doi:10.1021/ja00905a001
- Peng, S., Cho, K., Qi, P., & Dai, H. (2004). Ab initio study of CNT NO₂ gas sensor. *Chemical Physics Letters*, 387(4), 271-276.
- Perdew, J. P., Burke, K., & Ernzerhof, M. (1996). Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.*, 77(18), 3865. doi:10.1103/PhysRevLett.77.3865
- Peterson, K. A., & Puzzarini, C. (2005). Systematically convergent basis sets for transition metals. II. Pseudopotential-based correlation consistent basis sets for the group 11 (Cu, Ag, Au) and 12 (Zn, Cd, Hg) elements. *Theoretical Chemistry Accounts*, 114(4), 283-296.
- Petty, J. T., Nicholson, D. A., Sergev, O. O., & Graham, S. K. (2014). Near-infrared silver cluster optically signaling oligonucleotide hybridization and assembling two DNA hosts. *Analytical Chemistry*, 86(18), 9220-9228. doi:10.1021/ac502192w
- Ramezanpour, M., Leung, S., Delgado-Magnero, K., Bashe, B., Thewalt, J., & Tieleman, D. (2016). Computational and experimental approaches for investigating nanoparticle-based drug delivery systems. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1858(7), 1688-1709.
- Ren, H., Chen, F., Li, X., & He, Y. (2019). A new insight of structures, bonding and electronic properties for 6-mercaptopurine and Ag 8 clusters configurations: a theoretical perspective. *BMC chemistry*, 13(1), 1-10.
- Sahasranaman, S., Howard, D., & Roy, S. (2008). Clinical pharmacology and pharmacogenetics of thiopurines. *European journal of clinical pharmacology*, 64(8), 753-767.
- Scott, K. A., & Njardarson, J. T. (2019). Analysis of US FDA-approved drugs containing sulfur atoms. *Sulfur Chemistry*, 1-34.
- Sharma, J., Rocha, R. C., Phipps, M. L., Yeh, H.-C., Balatsky, K. A., Vu, D. M., Shreve, A. P., Werner, J. H., & Martinez, J. S. (2012). A DNA-templated fluorescent silver nanocluster with enhanced stability. *Nanoscale*, 4(14), 4107-4110. doi:10.1039/C2NR30662J
- Si, N. T., Nhung, N. T. A., Bui, T. Q., Nguyen, M. T., & Nhat, P. V. (2021). Gold nanoclusters as prospective carriers and detectors of pramipexole. *RSC Advances*, 11(27), 16619-16632. doi:10.1039/D1RA02172A
- Sun, T., Guo, Q., Zhang, C., Hao, J., Xing, P., Su, J., Li, S., Hao, A., & Liu, G. (2012). Self-assembled vesicles prepared from amphiphilic cyclodextrins as drug carriers. *Langmuir*, 28(23), 8625-8636.

- Suresh Kumar, S., Athimoolam, S., & Sridhar, B. (2015). XRD, vibrational spectra and quantum chemical studies of an anticancer drug: 6-Mercaptopurine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 146, 204-213. doi:https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.02.104
- Swietach, P., Vaughan-Jones, R. D., Harris, A. L., & Hulikova, A. (2014). The chemistry, physiology and pathology of pH in cancer. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 369(1638), 20130099. doi:10.1098/rstb.2013.0099
- Tomasi, J., Mennucci, B., & Cammi, R. (2005). Quantum mechanical continuum solvation models. *Chemical Reviews*, 105(8), 2999-3094. doi:10.1021/cr9904009
- Torchilin, V. P. (2014). Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(11), 813-827.
- Veronese, F. M., & Pasut, G. (2005). PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discovery Today*, 10(21), 1451-1458.
- Vivoni, A., Chen, S. P., Ejeh, D., & Hosten, C. M. (2001). Normal-mode analysis of the Raman-active modes of the anti-tumor agent 6-mercaptopurine. *Journal of Raman Spectroscopy*, 32(1), 1-8.
- World Health Organization. (2019). Executive Summary. The selection and use of essential medicines 2019. Report of the 22nd WHO expert committee on the selection and use of essential medicines, 1-5 April 2019. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Yang, H., Liu, Y., Liu, Z., Yang, Y., Jiang, J., Zhang, Z., Shen, G., & Yu, R. (2005). Raman mapping and in situ SERS spectroelectrochemical studies of 6-mercaptopurine SAMs on the gold electrode. *Journal of Physical Chemistry B*, 109(7), 2739-2744. doi:10.1021/jp0460821
- Yang, J. J., Landier, W., Yang, W., Liu, C., Hageman, L., Cheng, C., Pei, D., Chen, Y., Crews, K. R., & Kornegay, N. (2015). Inherited NUDT15 variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia. *International Journal of Clinical Oncology*, 33(11), 1235.
- Yao, G., & Huang, Q. (2018). DFT and SERS study of L-Cysteine adsorption on the surface of gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, 122(27), 15241-15251.