

## МОДЕЛИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ ПРОЦЕССА ВЫСВОБОЖДЕНИЯ АМИНОФЕНИЛМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ЖЕЛАТИНА

Ю.А. Полковникова<sup>1</sup>, А.И. Сливкин<sup>1</sup>, А.А. Глушко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»  
<sup>2</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал  
ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

Поступила в редакцию 15.12.2022 г.

**Аннотация.** В настоящее время микрокапсулы, в состав которых входят соответствующие вспомогательные вещества и полимеры, представляют собой многообещающие системы инкапсуляции для защиты лекарственного средства, повышения его стабильности, обеспечения повышенного отношения поверхности к объему для высвобождения вещества и его абсорбции в желудочно-кишечном тракте, уменьшая побочные эффекты и, следовательно, улучшая биодоступность. Одним из наиболее важных свойств микрокапсул является способность медленно высвобождать вещества в течение продолжительных периодов времени. При разработке микрокапсулированных форм наиболее важной задачей является моделирование высвобождения инкапсулированных веществ. Для этих целей может быть применен метод моделирования молекулярной динамики, хорошо зарекомендовавший себя при изучении высвобождения веществ из различных материалов.

**Цель:** моделирование методом молекулярной динамики процесса высвобождения аминифенилмасляной кислоты из желатина в растворителе: вода, 0,01 М раствор кислоты хлористоводородной.

Для моделирования высвобождения аминифенилмасляной кислоты из полимерных носителей был использован метод молекулярной динамики в силовом поле GROMOS 54a7 с использованием программы Gromacs 2019. Модели молекул компонентов моделируемых систем были построены с помощью программы Nupur Chem 8.0.1, а также получены из базы данных rcsb.org. По результатам моделирования молекулярной динамики рассчитывались энергии ван-дер-ваальсова взаимодействия аминифенилмасляной кислоты с коллагеном и с растворителями в пересчете на 1 молекулу вещества.

По результатам проведенных вычислительных экспериментов были рассчитаны средние значения ван-дер-ваальсовых энергий связывания аминифенилмасляной кислоты с коллагеном и с растворителем, а также средняя доля молекул аминифенилмасляной кислоты, не связанных с носителем. Полученные в ходе вычислительного эксперимента данные показали, что средняя энергия ван-дер-ваальсова взаимодействия аминифенилмасляной кислоты с коллагеном составляет  $-39.83 \pm 2.55$  кДж/моль (рН = 6.8),  $-36.48 \pm 3.52$  кДж/моль (рН = 2.0). Средняя энергия ван-дер-ваальсова взаимодействия аминифенилмасляной кислоты с растворителем составляет  $7.77 \pm 3.71$  кДж/моль (рН = 6.8),  $9.88 \pm 3.74$  кДж/моль (рН = 2.0).

Эффективное высвобождение аминифенилмасляной кислоты из коллагена происходит в водной среде при рН 2.0 ( $29.85 \pm 6.36$  %). При этом аминифенилмасляная кислота в достаточно большом количестве высвобождается в воду и при рН 6.8 ( $18.57 \pm 5.08$  %).

**Ключевые слова:** аминифенилмасляная кислота, микрокапсулы, молекулярная динамика, желатин

За последние несколько десятилетий развитие современной фармацевтической технологии и стремительный рост индустрии биотехнологии произвели революцию в подходах к разработке лекарственных средств [1-3]. Перспективным направлением исследований является инкапсулиро-

вание лекарственных средств [4-7]. Многие методы микрокапсулирования включают одно из двух условий (контакт с органическим растворителем и/или тепловой контакт во время обработки), что обычно является проблемой, особенно при включении в состав биоматериалов [8-10]. При разработке микрокапсулированных форм наиболее важной задачей является моделирование высво-

бождения инкапсулированных веществ. Для этих целей может быть применен метод моделирования молекулярной динамики (МД), хорошо зарекомендовавший себя при изучении высвобождения веществ из различных материалов [11-14].

Сосудистая энцефалопатия занимает второе место в структуре смертности от болезней системы кровообращения [15]. Ежегодная смертность от инсульта является одной из самых высоких в мире.

Следует отметить важную физиологическую роль гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) в регуляции функциональной активности центральной нервной системы при данных видах заболеваний [16-18]. В настоящее время весьма актуальным является создание новых лекарственных форм такого производного ГАМК, как гидрохлорид  $\gamma$ -амино- $\beta$ -фенилмасляной кислоты (АФМК), характеризующихся пролонгированным действием [19].

Цель исследования: моделирование методом МД процесса высвобождения АФМК из альгината натрия, желатина и смеси альгината натрия с хитозаном в растворителе: вода, 0,01 М водный раствор кислоты хлористоводородной.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для моделирования высвобождения АФМК из полимерных носителей был использован метод МД в силовом поле GROMOS 54a7 с использованием программы Gromacs 2019 [20]. Моделирование молекулярной динамики проводилось в два этапа:

Моделирование процесса сплавления АФМК с желатином в нейтральной среде, с желатином в кислой среде.

Моделирование высвобождения АФМК из исследуемых носителей в водную среду.

Модели молекул компонентов моделируемых систем были построены с помощью программы Nupur Chem 8.0.1, а также получены из базы данных rcsb.org (коллаген). Параметризация моделей производилась с помощью интернет-сервиса Automated Topology Builder (ATB) (<http://atb.uq.edu.au/>) [21]. Для построения моделей молекул полимеров использована программа Assemble! [22].

Сборка моделируемых систем производилась с использованием программы Gromacs 2019. В состав моделируемой системы были включены молекулы АФМК в форме цвиттер-иона, либо его катионы (рисунок 1), фрагменты молекулы коллагена при pH 6.8 (рисунок 2А) длиной 21 аминокислот-

ный остаток с молекулярной массой 2.0 кДа и при pH 2,0 длиной 21 аминокислотный остаток с молекулярной массой 2,0 кДа (рисунок 2Б) [22], а также ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ .

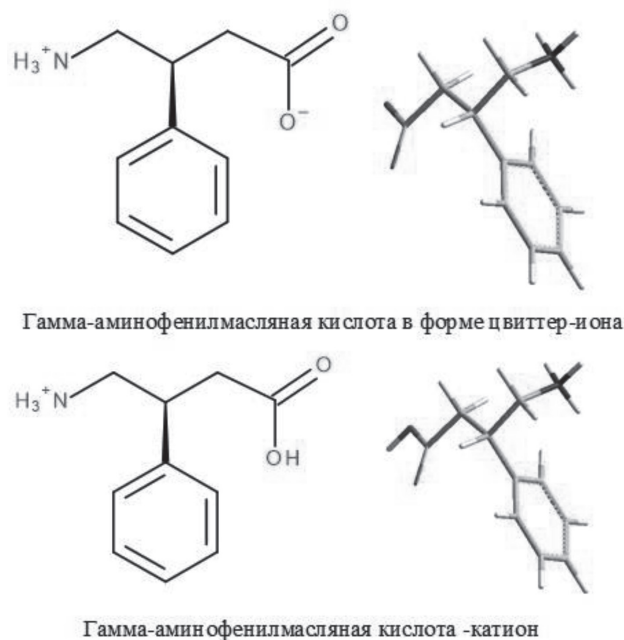


Рис. 1. Химическая структура и пространственное строение АФМК в форме цвиттер-иона и АФМК -катиона

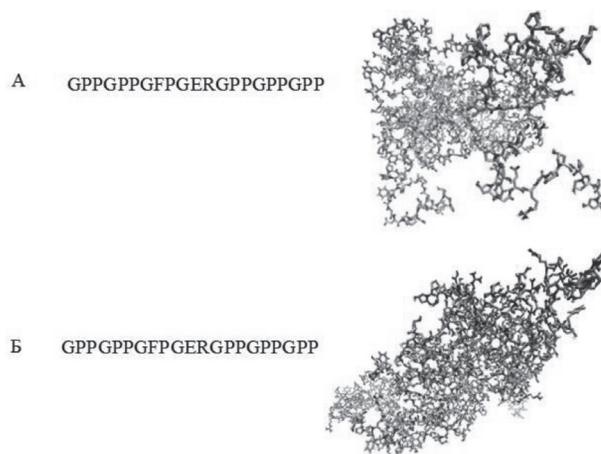


Рис. 2. Аминокислотная последовательность и пространственное строение фрагмента молекулы коллагена при pH 6.8 (А) и при pH 2.0 (Б).

Для изучения высвобождения АФМК из микрокапсул были построены модели сплавов исследуемого вещества с коллагеном. Для смесей АФМК с полимерами производилось моделирование МД с использованием термостатирования (термостат Берендсена, 700 К) и баростатирования (баростат Берендсена, 1 атм.) [23] с шагом 1 фс в течение 20 нс. После термодинамического

уравновешивания полученных систем к ним добавлялись растворители и были получены системы для изучения высвобождения АФМК.

Геометрии систем с растворителями были оптимизированы градиентным методом, после чего производилось моделирование МД с целью термодинамического уравновешивания. После этого производилось основное моделирование МД в течение 100 нс (термостат Ноэ-Гувера 310 К, константа 0,5 фс, изотропный баростат Парринелло-Рамана 1 атм. С константой 5 фс, шаг интегрирования 0,5 фс). В процессе моделирования были использованы периодические граничные условия по всем осям координат.

По результатам моделирования МД рассчитывались энергии ван-дер-ваальсова взаимодействия (ЭВДВ) АФМК с коллагеном и с растворителями в пересчете на 1 молекулу вещества [24-26]. Также рассчитывались доли молекул АФМК, потерявших связь с полимерами. В качестве критерия потери связи с полимером использовалось межатомное расстояние с порогом 0,5 нм для всех атомов АФМК и полимера. Далее рассчитывались средние значения полученных параметров и их стандартные отклонения.

Молекулярные составы моделируемых систем приведены в таблице 1.

Таблица 1

*Количества молекул компонентов моделируемых систем при изучении высвобождения АФМК в водную среду из системы «коллаген - АФМК»*

Вещество	Коллаген рН 6,8 - вода	Коллаген рН 2,0 - вода
АФМК	30	-
АФМК -катион	-	30
Ион Cl <sup>-</sup>	-	90
Ион Na <sup>+</sup>	-	-
Коллаген рН 6,8	30	-
Коллаген рН 2,0	-	30
Вода	19922	19884

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе моделирования МД процесса высвобождения АФМК из коллагена при рН 6.8 наблюдался частичный переход молекул вещества в водную среду. ЭВДВ между АФМК и водой, а также между АФМК и коллагеном остается стабильной в течение 100 нс, что говорит об установившемся равновесии в процессе высвобождения (рисунок 3).

При моделировании высвобождения АФМК из коллагена в воду наблюдается частичный переход вещества в среду растворителя, однако при

этом наблюдаются существенные конформационные изменения в структуре коллагена (рисунок 4).

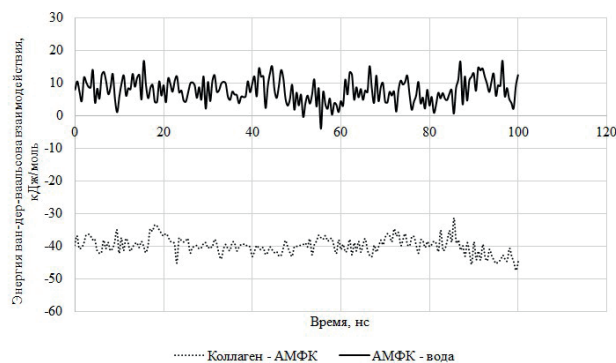


Рис. 3. Энергия ван-дер-ваальсова взаимодействия АФМК с коллагеном рН 6.8 и с растворителем (водой) в пересчете на одну молекулу АФМК

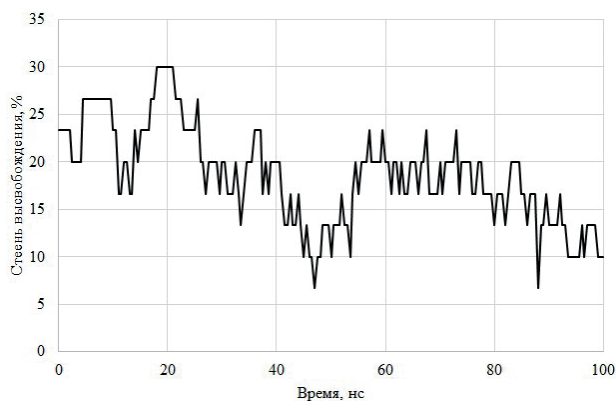


Рис. 4. Оценка доли молекул АФМК, не связанных с коллагеном рН 6.8 в воде

При моделировании высвобождения АФМК из коллагена в кислой среде при рН 2.0 так же наблюдается частичный выход молекул вещества в воду. При этом существенной конформационной перестройки белка не наблюдается.

ЭВДВ АФМК с коллагеном рН 2.0 и с растворителем (водой) незначительно изменяется в процессе моделирования (рисунок 5).

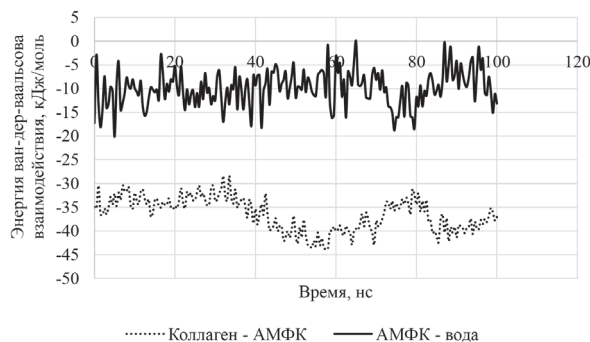


Рис. 5. ЭВДВ АФМК с коллагеном рН 2.0 и с растворителем (водой) в пересчете на одну молекулу АФМК

Доля молекул ГАФМК, высвободившихся из коллагена в воду при pH 2.0 достигает 40 % (рис. 6).

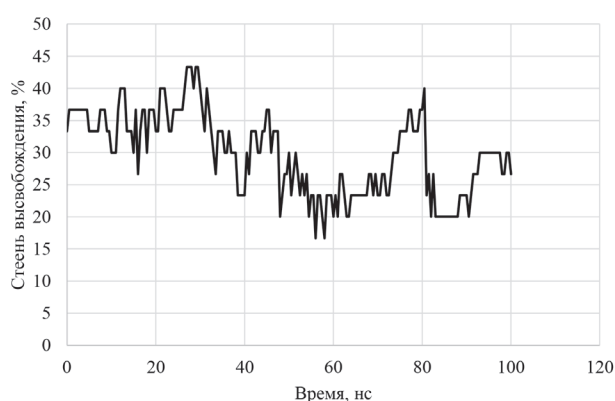


Рис. 6. Оценка доли молекул АФМК, не связанных с коллагеном pH 2.0

По результатам проведенных вычислительных экспериментов были рассчитаны средние значения ЭВДВВ АФМК с коллагеном и с растворителем, а также средняя доля молекул АФМК, не связанных с носителем (таблица 2).

Таблица 2

Средние значения параметров высвобождения АФМК из исследуемых комплексов с коллагеном

Система	Средняя ЭВДВВ АФМК с коллагеном, кДж/моль	Средняя ЭВДВВ АФМК с растворителем, кДж/моль	Средняя доля молекул АФМК, не связанных с коллагеном, %
Коллаген - АФМК - вода (pH = 6.8)	-39.83 ± 2.55	7.77 ± 3.71	18.57 ± 5.08
Коллаген - АФМК - катион - вода (pH = 2.0)	-36.48 ± 3.52	-9.88 ± 3.74	29.85 ± 6.36

Полученные в ходе вычислительного эксперимента данные показывают, что наиболее эффективное высвобождение АФМК из коллагена происходит в водной среде при pH 2.0 (29.85 ± 6.36 %). При этом АФМК в достаточно большом количестве высвобождается в воду и при pH 6.8.

## ВЫВОДЫ

Из коллагена эффективное высвобождение АФМК происходит в водной среде при pH 2.0 (29.85 ± 6.36 %). При этом ГАФМК в достаточно большом количестве высвобождается в воду и при pH 6,8 (18.57 ± 5.08 %).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shu X.Z., Zhu K.J. // Journal of Microencapsulation. 2001. Vol. 18. № 2, pp. 237–245.
2. Li X.Y., Chen X.G., Cha D.S., Park H.J., Liu C.S. // Journal of Microencapsulation. 2009. Vol. 26. №4, pp. 315-24.
3. Fauzi M., Pudjiastuti P., Wibowo A.C., Hendradi E. // Polymers (Basel). 2021. Vol. 3. №16, pp. 2666.
4. Wang L., Li T., Xin B., Liu Y., Zhang F. // Journal of Microencapsulation. 2020. Vol. 37. №4, pp. 324-331.
5. Alipour M., Firouzi N., Aghazadeh Z., Samiei M., Montazersaheb S., Khoshfetrat A.B., Aghazadeh M. // BMC Biotechnology. 2021. Vol. 21. №1, pp. 6.
6. Gullapalli R.P., Mazzitelli C.L. // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017. Vol. 106. №6, pp. 1453-1465.
7. Hojjati M., Razavi S.H., Rezaei K., Gilani K. // Food Science and Biotechnology. 2011. Vol. 20, pp. 63-9.
8. Fuensanta M., Grau A., Romero-Sánchez M.D., Guillem C., López-Buendía M.Á. // Polymer Bulletin. 2013. Vol.70, pp. 3055-74.
9. Mano J.F. // Advanced Engineering Materials. 2008. Vol. 10, pp. 515–27.
10. Xie J., Wang C.H. // Journal of Colloid and Interface Science. 2007. Vol. 312, pp. 247–255.
11. Arroyo S.T., Sansón Martín J.A., Hidalgo García A. // Chemical Physics. 2006. Vol. 327, pp. 187-192.
12. Полковникова Ю.А., Глушко А.А., Михайловская И.Ю., Кариева Е.С. // Фармация и фармакология. 2017. Т. 5, № 4. С. 344-367.
13. Полковникова Ю.А., Глушко А.А. // Фармация и фармакология. 2018. Т. 6, № 2. С. 197-210.
14. Полковникова Ю.А., Леньшин А.С., Середин П.В., Минаков Д.А., Третьякова Е.В. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2016. № 3. С. 120-125.
15. Giordano C., Viscomi C., Orlandi M., Papoff P., Spalice A., Burlina A., Di Meo I., Tiranti V., Leuzzi V., Amati G., Zeviani M. // Journal of Inherited Metabolic Disease. 2012. Vol. 35, pp. 451-58.
16. Rivera-Ingraham G.A., Espinosa F., Krock B. // Journal of Chemical Ecology. 2015. Vol. 41, pp. 501-4.
17. Yu H.H., Choi J.H., Kang K.M. // Food Science and Biotechnology. 2017. Vol. 26, pp.1333-1341.
18. Zavadenko N.N., Suvorinova N.Y. // Neuroscience and Behavioral Physiology. 2016. Vol. 46, pp. 354-359.



19. Polkovnikova Y.A., Slivkin A.I., Tul'skaya U.A., Koryanova K.N., Senchenko S.P. // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018. Vol. 52. № 9, pp. 803-807.
20. Liang X., Xie L., Zhang Q., Wang G., Zhang S., Jiang M., Zhang R., Yang T., Hu X., Yang Z., Tian W. // *Acta Biomaterialia*. 2022. Vol. 144, pp. 242-257.
21. Berendsen H.J.C., Postma J. P. M., van Gunsteren W. F. // *The Journal of Chemical Physics*. 1984. Vol. 81. No 8, pp. 3684-90.
22. Emsley J., Knight C.G., Farndale R.W., Barnes M.J. // *Journal of Molecular Biology*. 2004. Vol. 335, pp. 1019-1028.
23. Degiacomi M.T., Erastova V., Wilson M.R. // *Computer Physics Communications*. 2016. Vol. 202, pp. 304-309.
24. Meng Y., Nicol E., Nicolai T. // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2022. Vol. 617, pp. 65-72.
25. Malde A.K., Zuo L., Breeze M. // *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2011. Vol. 7, pp. 4026-4037.
26. Schmid N., Eichenberger A.P., Choutko A. // *European Biophysics Journal*. 2011. Vol. 40, pp. 843-56.

*Воронежский государственный университет  
Полковникова Ю.А., к. фармацевт. н., доцент  
кафедры фармацевтической химии и фармацев-  
тической технологии,  
E-mail: juli-polk@mail.ru*

*Сливкин А.И., д.фармацевт. н.; профессор,  
зав. кафедрой фармацевтической химии и фарма-  
цевтической технологии  
E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru*

*Пятигорский медико-фармацевтический ин-  
ститут – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздра-  
ва России  
Глушко А.А., к. фармацевт. н., доцент кафе-  
дры неорганической, физической и коллоидной хи-  
мии  
E-mail: alexander.glushko@lcmmp.ru*

*Voronezh State University, Voronezh  
Polkovnikova Yu. A., PhD., Associate Professor  
of the department of pharmaceutical chemistry and  
pharmaceutical technology  
E-mail: juli-polk@mail.ru*

*Slivkin A.I., PhD., DSci., Full Professor, head.  
department of pharmaceutical chemistry and  
pharmaceutical technology  
E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru*

*Pyatigorsky Medical and Pharmaceutical  
Institute - branch of FGBOU in VolgGMU Ministry  
of Health of Russia  
Glushko A.A. – Associate Professor of the  
department of pharmaceutical chemistry and  
pharmaceutical technology, PhD;  
e-mail: alexander.glushko@lcmmp.ru*

## **SIMULATION OF THE MOLECULAR DYNAMICS OF THE RELEASE OF GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID FROM GELATIN**

**Yu.A. Polkovnikova<sup>1</sup>, A.I. Slivkin<sup>1</sup>, A.A. Glushko<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Voronezh State University*

<sup>2</sup>*Pyatigorsky Medical and Pharmaceutical Institute - branch  
of FGBOU in VolgGMU Ministry of Health of Russia*

**Abstract.** Introduction. Currently, microcapsules, formulated with appropriate excipients and polymers, are promising encapsulation systems for drug protection, enhancing drug stability, providing an increased surface to volume ratio for drug release and absorption in the gastrointestinal tract, reducing side effects. and hence improving bioavailability. One of the most important properties of microcapsules is the ability to slowly release substances over extended periods of time. When developing microencapsulated forms, the most important task is to model the release of encapsulated substances. For these purposes, the method

of modeling molecular dynamics can be applied, which has proven itself in the study of the release of substances from various materials.

Purpose: molecular dynamics modeling of the release of gamma-aminophenylbutyric acid from gelatin into solvents: water, 0.01 M hydrochloric acid solution.

Materials and methods. To simulate the release of gamma-aminophenylbutyric acid from polymer carriers, the GROMOS 54a7 force field molecular dynamics method was used using the Gromacs 2019 program. Molecular models of the components of the simulated systems were built using the Hyper Chem 8.0.1 program and also obtained from the rcsb database. org. Based on the results of molecular dynamics modeling, the energies of the van der Waals interaction of gamma-aminophenylbutyric acid with collagen and solvents were calculated in terms of 1 molecule of the substance.

Results Based on the results of the computational experiments, the average values of the van der Waals energies of binding gamma-aminobutyric acid with collagen and solvent, as well as the average fraction of gamma-aminobutyric acid molecules not bound to the carrier, were calculated. The data obtained during the computational experiment show that the most effective release of gamma-aminophenylbutyric acid from collagen occurs in an aqueous medium at pH 2.0 ( $29.85 \pm 6.36\%$ ). In this case, gamma-aminophenylbutyric acid is released into water in a sufficiently large amount even at pH 6.8.

Conclusion. The most effective release of gamma-aminophenylbutyric acid from collagen occurs in an aqueous medium at pH 2.0 ( $29.85 \pm 6.36\%$ ). At the same time, gamma-aminophenylbutyric acid is released into water in a sufficiently large amount even at pH 6.8 ( $18.57 \pm 5.08\%$ ).

**Keywords:** gamma-aminobutyric acid, microcapsules, molecular dynamics, gelatin

## REFERENCES

1. Shu X.Z., Zhu K.J. Journal of Microencapsulation, 2001, Vol. 18, No 2, pp. 237–245.
2. Li X.Y., Chen X.G., Cha D.S., Park H.J., Liu C.S. Journal of Microencapsulation, 2009, Vol. 26, No 4, pp. 315–24. DOI: 10.1080/02652040802328685.
3. Fauzi M., Pudjiastuti P., Wibowo A.C., Hendradi E. Polymers (Basel), 2021, Vol. 3, No 16, pp. 2666. DOI:10.3390/polym13162666.
4. Wang L., Li T., Xin B., Liu Y., Zhang F. Journal of Microencapsulation, 2020, Vol. 37, No 4, pp. 324–331. DOI:10.1080/02652048.2020.
5. Alipour M., Firouzi N., Aghazadeh Z., Samiei M., Montazersaheb S., Khoshfetrat A.B., Aghazadeh M. BMC Biotechnology, 2021, Vol. 21, No 1, pp. 6. DOI:10.1186/s12896-020-00666-3.
6. Gullapalli R.P., Mazzitelli C.L. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, Vol. 106, No 6, pp. 1453–1465. DOI:10.1016/j.xphs.2017.02.006.
7. Hojjati M., Razavi S.H., Rezaei K., Gilani K. Food Science and Biotechnology, 2011, Vol. 20, pp. 63–9. DOI:10.1007/s10068-011-0009-6.
8. Fuensanta M., Grau A., Romero-Sánchez M.D., Guillem C., López-Buendía M.Á. Polymer Bulletin, 2013, Vol.70, pp. 3055–74. DOI:10.1007/s00289-013-1007-z.
9. Mano J.F. Advanced Engineering Materials, 2008, Vol. 10, pp. 515–27.
10. Xie J., Wang C.H. Journal of Colloid and Interface Science, 2007, Vol. 312, pp. 247–255. DOI:10.1016/j.jcis.2007.04.023.
11. Arroyo S.T., Sansón Martín J.A., Hidalgo García A. Chemical Physics, 2006, Vol. 327, pp. 187–192.
12. Polkovnikova Yu.A., Glushko A.A., Mikhailovskaya I.Yu., Kariyeva E.S. Pharmacy and pharmacology, 2017, Vol. 5, No. 4, pp. 344–367.
13. Polkovnikova Yu.A., Glushko A.A. Pharmacy and pharmacology, 2018, Vol. 6, No. 2, pp. 197–210.
14. Polkovnikova Yu.A., Lenshin A.S., Seredin P.V., Minakov D.A., Tretyakova E.V. Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy, 2016, No. 3, pp. 120–125.
15. Giordano C., Viscomi C., Orlandi M., P.Papoff, A. Spalice, A. Burlina, I. Di Meo, V. Tiranti, V. Leuzzi, G. Amati, M. Zeviani. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2012, Vol. 35, pp. 451–58. DOI:10.1007/s10545-011-9408-3.
16. Rivera-Ingraham G.A., Espinosa F., Krock B. Journal of Chemical Ecology, 2015, Vol. 41, pp. 501–4. DOI:10.1007/s10886-015-0579-5.
17. Yu H.H., Choi J.H., Kang K.M. Food Science and Biotechnology, 2017, Vol. 26, pp. 1333–1341. DOI:10.1007/s10068-017-0161-8
18. Zavadenko N.N., Suvorinova N.Y. Neuroscience and Behavioral Physiology, 2016, Vol. 46, pp. 354–359. DOI:10.1007/s11055-016-0241-x.
19. Polkovnikova Y.A., Slivkin A.I., Tul'skaya U.A., Koryanova K.N., Senchenko S.P. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2018, Vol. 52, № 9, pp. 803–807.
20. Liang X., Xie L., Zhang Q., Wang G., Zhang S., Jiang M., Zhang R., Yang T., Hu X., Yang Z., Tian W. Acta Biomaterialia, 2022, Vol. 144, pp. 242–257. DOI: 10.1016/j.actbio.2022.03.045.

21. Berendsen H.J.C., Postma J. P. M., van Gunsteren W. F. *The Journal of Chemical Physics*, 1984, Vol. 81, No 8, pp. 3684–90.
22. Emsley J., Knight C.G., Farndale R.W., Barnes M.J. *Journal of Molecular Biology*, 2004, Vol. 335, pp. 1019-1028.
23. Degiacomi M.T., Erastova V., Wilson M.R. *Computer Physics Communications*, 2016, Vol. 202, pp. 304-309.
24. Meng Y., Nicol E., Nicolai T. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2022, Vol. 617, pp. 65-72. DOI: 10.1016/j.jcis.2022.02.
25. Malde A.K., Zuo L., Breeze M. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2011, Vol. 7, pp. 4026–4037.
26. Schmid N., Eichenberger A. P., Choutko A. *European Biophysics Journal*, 2011, Vol. 40, pp. 843-56.