



Vilniaus universitetas
Fizikos fakultetas
Cheminės fizikos institutas

Žyginta Einorytė

**VAISTINIO JUNGINIO GLIBENKLAMIDO BMR PARAMETRŲ MODELIAVIMAS
VANDENINIUOSE BIOAKTYVIŲ JONINIŲ SKYSČIŲ TIRPALUOSE**

MAGISTRANTŪROS STUDIJŲ BAIGIAMASIS DARBAS

Gyvybės ir cheminės fizikos studijų programa

Studentas

Žyginta Einorytė

Leista ginti

2022-05-26

Darbo vadovas

doc. dr. Kęstutis Aidas

Cheminės fizikos instituto direktorius

prof. dr. (HP) Valdas Šablinskas

Vilnius 2022

Turinys

Santrumpos	4
Įvadas	5
1 Literatūros apžvalga	7
1.1 Glibenklamidas	7
1.1.1 Glibenklamido fizikinės ir cheminės savybės	7
1.1.2 Glibenklamido fiziologinis poveikis	7
1.1.3 Glibenklamido BMR matavimai	9
1.2 Joniniai skysčiai	10
1.2.1 Joninių skysčių fizikinės ir cheminės savybės	10
1.2.2 Joninių skysčių svarba biologinėse sistemose	11
1.3 Kompiuterinės chemijos pagrindai	12
1.3.1 Borno – Openheimerio artinys	12
1.3.2 Sleiterio determinantas	13
1.3.3 Hartrio – Foko modelis	14
1.3.4 Tankio funkcionalo teorija	15
1.4 Molekulinės dinamikos simuliacijos	16
1.4.1 Molekulinės mechanikos jėgų laukai	16
1.4.2 MD simuliacijos algoritmas	18
1.4.3 MD simuliacijų ansambliai	20
1.4.4 Periodinės kraštinės sąlygos	21
1.4.5 Radialinio pasiskirstymo funkcijos	22
1.5 Jungtiniai kvantinės mechanikos ir molekulinės mechanikos metodai	23
2 Tyrimo metodika	25
2.1 Molekulinės dinamikos simuliacijos	25
2.1.1 MD simuliacijų parametrai	25
2.1.2 MD simuliacijų vykdymas	25
2.2 Tautomerinės pusiausvyros konstantos apskaičiavimas	26
2.3 Magnetinio ekranavimo konstantų skaičiavimai	27
3 Rezultatai ir jų aptarimas	28
3.1 MD simuliacijos	28
3.2 ¹ H BMR parametrai	32
Išvados	34
Literatūra	35
Santrauka	40

Summary	41
Priedai	42
1 priedas	43

Santrumpos

ATP – adenzintrifosfatas

BMR – branduolių magnetinis rezonansas

Cho – cholino katijonas

DFT – tankio funkcionalo teorija (angl. *Density Functional Theory*)

DMSO – dimetilsulfoksidas

GAFF – jėgų laukas (angl. *General AMBER Force Field*)

Glb – glibenklamido anijonas

HF modelis – Hartrio – Foko modelis

JS – joninis skystis

K_{ATP} – adenzintrifostatui jautrus kalio jonų kanalas

LCAO – tiesinė atominių orbitalių kombinacija (angl. *Linear Combination of Atomic Orbitals*)

LJ – Lenardo – Džounso potencialas

MD simuliacijos – molekulinės dinamikos simuliacijos

MM – molekulinė mechanika

MO – molekulinė orbitalė

PBC – periodinės kraštinės sąlygos (angl. *Periodic Boundary Conditions*)

QM – kvantinė mechanika

QM/MM – hibridinis kvantinės mechanikos ir molekulinės mechanikos modelis

RDF – radialinio pasiskirstymo funkcija (angl. *Radial Distribution Function*)

RESP – riboto elektrostatinio potencialo (angl. *Restrained Electrostatic Potential*) metodas

SMD – solvatacijos modelis, pagrįstas elektroniniu tankiu (angl. *Solvation Model based on Density*)

TMS – tetrametilsilanas

Trp – triptofano anijonas

Įvadas

Glibenklamidas, dar vadinamas gliburidu, yra sulfonilkarbamidų klasės vaistinis preparatas, naudojamas II tipo cukriniam diabetui gydyti. Šis junginys veikia kepenų ląstelių membranišius adenzintrifosfatui (ATP) jautrius kalio jonų kanalus (K_{ATP}), taip padėdamas valdyti gliukozės kiekį kraujyje, veikiant insulino sekreciją [1]. Šis vaistinis junginys naudojamas nuo XX a. 9-ojo dešimtmečio, o pastaruoju metu jis vėl ima dominti tyrėjus dėl randamų naujų potencialių farmacinio panaudojimo būdų, tokių kaip galvos skausmo, uždegimų slopinimas, kurie remiasi jo savybe blokuoti minėtuosius kalio kanalus [2, 3].

Deja, glibenklamidas pasižymi prastu tirpumu vandenyje (15-24 $\mu\text{g/mL}$) [4, 5], o tai ap sunkina jo farmacinį panaudojimą. Norint padidinti glibenklamido tirpumą vandenyje, mokslininkai naudoja tokius metodus kaip nanodaleles [6] ar joninius skysčius, tiksliau joninį skystį iš biomolekulių – cholino katijonų ir triptofano anijonų [7]. Joninių skysčių naudojimas biologinėse sistemose yra sparčiai vystoma sritis, nes joninių skysčių savybės gali būti pritaikomos norimai sistemai, parenkant tam tikrus katijonus ir anijonus, o naudojant biomolekules šie skysčiai gali būti ir bioskaidūs bei biosuderinami. Cholino-triptofanato joninio skysčio ir vandens mišiniuose (joninio skysčio 0,0195 – 1,25 masės %), glibenklamido tirpumas padidėjo iki 27 mg/mL – net 130-600 kartų palyginus su tirpumu gryname vandenyje [7]. Išsiaiškinus, kokios tarpmolekulinės sąveikos nulemia šiuos tirpumo pokyčius, būtų galima nustatyti, kokios joninio skysčio ypatybės padidina glibenklamido tirpumą, ar tai vienintelis joninis skystis, tinkamas šios klasės junginių tirpumo vandenyje didinimui, kaip jį būtų galima panaudoti farmaciniais tikslais.

Vienas pagrindinių metodų, leidžiančių tirti įvairias tarpmolekulinės sąveikas, taip pat ir tarp tirpinio ir tirpiklio molekulių, yra branduolių magnetinio rezonanso (BMR) spektroskopija. ^1H BMR cheminiai poslinkiai yra jautrūs aplinkai, todėl keičiantis artimai molekulinei aplinkai, kinta ir signalai. Lyginant ^1H BMR cheminius poslinkius skirtingose sistemose, galima išsiaiškinti kokie struktūriniai pokyčiai vyksta tirpale ir kaip tai veikia junginių savybes, įskaitant ir tirpumą.

Šiame darbe pasirinkta tirti glibenklamidą dviejose sistemose: vandeninėje aplinkoje (Glb_{aq}) ir joninio skysčio mišinyje su vandeniu ($\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$) bei lyginant rezultatus nustatyti, kokios sąveikos lemia padidėjusį glibenklamido tirpumą vandenyje. Tam naudoti kompiuterinio modeliavimo metodai, leidžiantys apskaičiuoti glibenklamido vandenilio atomų ^1H BMR parametrus. Dėl mažo tirpumo vandenyje, eksperimentiniai glibenklamido BMR matavimai atlikti tirpiklyje dimetilsulfoksido [7], kuriame tarpmolekulinės sąveikos nebūtinai atitinka esančias vandeninėje organizmo terpėje. Tuo tarpu naudodami kompiuterinius metodus, galime ištirti pageidaujamas specifines sistemas, todėl glibenklamidas tirtas vandeniniuose tirpaluose.

Darbo tikslas:

Įvardinti padidėjusio glibenklamido tirpumo vandens ir cholino-triptofanato joninio skysčio mišiniuose priežastis molekuliniam lygmenyje, taikant molekulinės dinamikos (MD) simuliacijas ir ^1H BMR spektrų skaičiavimus kvantinės mechanikos/molekulinės mechanikos (QM/MM) metodus.

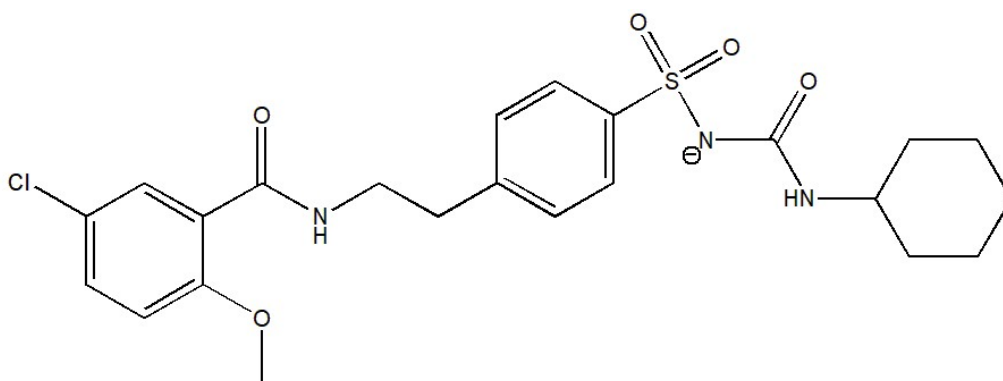
Darbo uždaviniai:

1. Naudojantis tankio funkcionalo teorija ir termodinaminiais ciklais, apskaičiuoti glibenklamido jonų tautomerų pusiausvyros konstantas pK_T ir rasti stabiliausią tautomerą vandeninėje aplinkoje.
2. Atlikti glibenklamido MD simuliacijas vandeninėje (Glb_{aq}) ir joninio skysčio mišinio su vandeniu sistemose ($Glb_{IL/aq}$).
3. Apskaičiuoti glibenklamido protonų magnetinio ekranavimo konstantas Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$ sistemose, naudojant QM/MM skaičiavimus.
4. Įvertinti tirpiklio tarpmolekulinę struktūrą artimoje glibenklamidui aplinkoje bei glibenklamido protonų magnetinio ekranavimo konstantų skirtumus Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$ sistemose.

1 Literatūros apžvalga

1.1 Glibenklamidas

Glibenklamidas ($C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, IUPAC: 5-chlor-N-[2-[4-(cikloheksilkarbamoilsulfamoil)fenil]etil]-2-metoksibenzamidas) (1.1 pav.) dar žinomas kaip gliburidas, yra naudojamas kaip anti-diabetinis preparatas II tipo cukriniam diabetui gydyti. Jis susintetintas 1969-aisiais, nuo XX a. 9-o dešimtmečio patvirtintas jo medicininis naudojimas. Pastaruoju metu šis junginys vėl tiriamas dėl potencialių naujų farmacinio panaudojimo būdų, paremtų jo savybe uždaryti membraninius adenozintrifosfatui (ATP) jautrius kalio kanalus (K_{ATP}) [4, 5].



1.1 pav. Glibenklamido anijono molekulinė formulė.

1.1.1 Glibenklamido fizikinės ir cheminės savybės

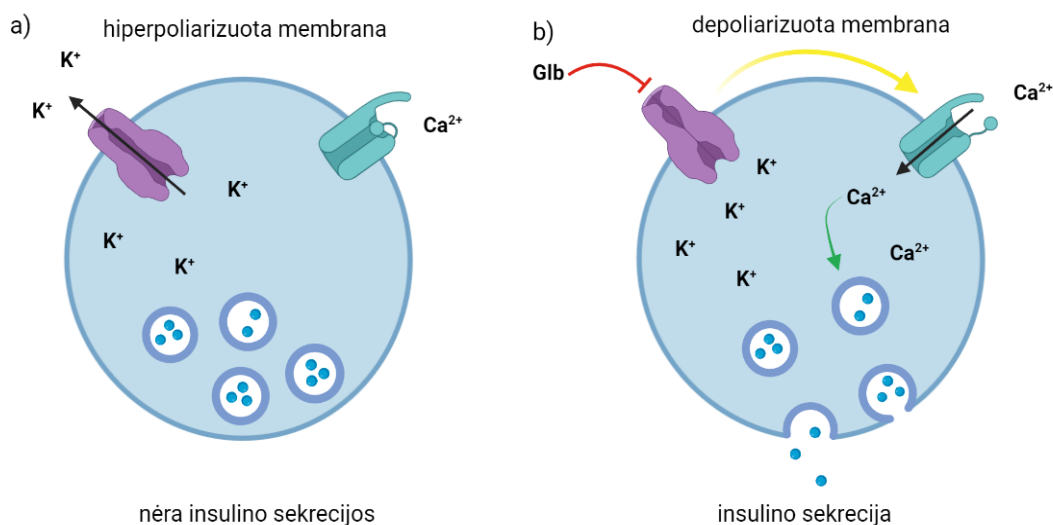
Glibenklamidas kambario temperatūroje yra kietos būsenos, baltos spalvos kristalai. Junginio molekulinė masė 494 g/mol, lydymosi temperatūra 173-175 °C. Jis mažai tirpus vandenyje, labiau etanolyje (5 mg/mL), dimetilsulfoksido (25 mg/mL), chloroforme, metanolyje ar dimetilfluoride. Glibenklamidas turi cikloheksano žiedą ir du aromatinius benzeno žiedus, kurių vienas priklauso benzensulfonamidinei grupei. Šios funkcinės grupės pK_a 25°C temperatūroje yra 5,5 [8], todėl neutralioje vandeninėje terpėje šis junginys yra deprotonuotas.

1.1.2 Glibenklamido fiziologinis poveikis

Glibenklamidas priskiriamas antrosios kartos sulfonilkarbamidiniam preparatams, naudojamiems II tipo (nuo insulino nepriklausomam) cukriniam diabetui gydyti. II tipo diabetu sergančių žmonių organizme sutrikęs insulino išsiskyrimas arba susilpnėjęs jo poveikis, todėl preparatai padeda kepenims išskirti daugiau insulino. Glibenklamidas padeda valdyti gliukozės kiekį kraujyje, veikdamas insulino sekreciją ir veikimą.

Žinomas ir glibenklamido veikimo mechanizmas – molekulė prisijungia prie kepenų β -ląstelių paviršiaus ir sumažina ATP jautrių K^+ kanalų pralaidumą. Sumažėjęs K^+ jonų išnešimas iš ląstelės sukelia membranos depoliarizaciją ir įtampai jautrių Ca^{2+} kanalų atsidarymą. Pro juos

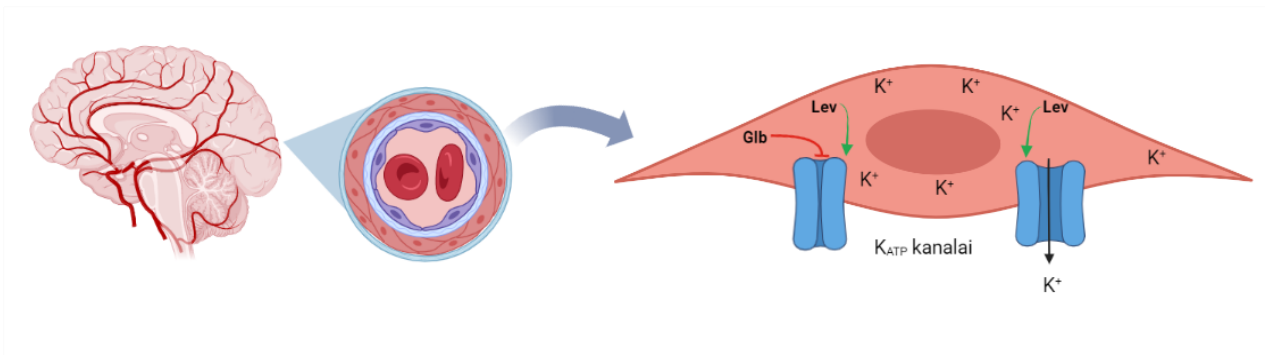
į ląstelę patekę Ca^{2+} jonai skatina insulino sekreciją (1.2 pav.). Glibenklamidas veikia nedideliame plazmos koncentracijų intervale (50-200nM), todėl jo veiksmingos dozės yra gana nedidelės (vartojant per burną <10 mg) [1].



1.2 pav. Glibenklamido veikimas kepenų β ląstelėse.

- a) II tipo cukriniu diabetu sergančių žmonių kepenų ląstelėse sutrikusi insulino sekrecija.
- b) Sulfonilkarbamidiniai preparatai, kaip glibenklamidas, sumažina K_{ATP} kanalų pralaidumą taip depolarizuodami ląstelės membraną. Tai sukelia įtampai jautrių Ca^{2+} kanalų atsidarymą, o į ląstelę patekę Ca^{2+} jonai skatina insulino sekreciją.

Glibenklamido veikimas neapsiriboja vien kepenų ląstelėmis, K_{ATP} kanalai randami ir smegenų arterijų lygiųjų raumenų ląstelėse. Neseniai rasta, kad K_{ATP} kanalai yra svarbūs faktoriai migrenos patofiziologijoje, todėl juos blokuojantys junginiai turi potencialo tapti naujais priešmigreniniais preparatais [2]. Šio tyrimo metu pastebėta, kad kalio kanalus atidarantis junginys levkromakalimas sveikiems savanoriams sukelia galvos skausmus, o sergantiems migrena – migrenos priepuolius. Tikslus mechanizmas kodėl K_{ATP} kanalų atidarymas sukelia migreną nėra aiškus, bet išsiaiškinta, kad levkromakalimas išplečia smegenų arterijas ir tai sukelia galvos skausmą. K_{ATP} kanalų aktyvacijos sukelta vazodilatacija (kraujagyslių išsiplėtimas) turi įtakos migrenai, tačiau neaišku, ar jų susitraukimas padėtų nuslopinti galvos skausmą. Kelių atliktų tyrimų duomenys rodo, kad glibenklamidas selektyviai mažina levkromakalimo ir kitų K_{ATP} veikimu paremtų vazodilatatorių sukeltą kraujagyslių išsiplėtimą, neveikdamas bazinio kraujagyslių tonuso (1.3 pav.). Todėl šis preparatas yra tinkamas tolesniems tyrimams kaip potenciali priemonė galvos skausmo ir migrenos slopinimui [2].



1.3 pav. Levromakalimo (Lev) ir glibenklamido (Glb) poveikis smegenų kraujagyslių lygiesiems raumenims. Lev atveria K_{ATP} kanalus, K^+ jonai palieka ląstelę taip sukeldami hiperpoliarizaciją ir kraujagyslių plėtimąsi. *In vivo* ir *in vitro* Glb blokuoja K_{ATP} kanalus taip slopindamas Lev indukuotą vazodilaciją. Adaptuota iš [2].

Neseniai ištirta, kad jungdamasis prie K_{ATP} kanalų glibenklamidas slopina uždegimus centrinėje nervų sistemoje (CNS) [9]. Jis sumažina neurouždegiminius ir elgesio sutrikimus po CNS traumų, taip pat veikia antiuždegimiškai kvėpavimo [10, 11], virškinimo [12], širdies ir kraujagyslių sistemoms [13], septinio šokio atvejais [14]. Junginys veikia sumažindamas prouždegiminių citokinų ir reaktyvių deguonies formų gamybą ląstelėse bei slopina uždegiminių ląstelių migraciją iš uždegimo vietos. Be visų kitų galimų panaudojimo sričių, glibenklamidas taip pat yra ir potencialus priešuždegiminis agentas, kurio tolesni tyrimai galėtų vesti iki naujo klinikinio jo pritaikymo [3].

1.1.3 Glibenklamido BMR matavimai

Vieni pirmųjų glibenklamido BMR matavimo rezultatų publikuoti 9-ajame XX a. dešimtmetyje, kai preparatas buvo išleidžiamas į farmacijos rinką [15], jų pagrindinis tikslas buvo išmatuoti grynos medžiagos ^1H BMR spektrą. Vėliau glibenklamido ^1H BMR matavimai naudoti tiriant jo molekulinę struktūrą eksperimentiniais [16] bei teoriniais metodais [17, 18] ir bandant padidinti šio junginio tirpumą vandenyje [7].

Eksperimentiniais tyrimais rasta, kad glibenklamido tirpumas vandens ir cholino-triptofano joninio skysčio mišiniuose ženkliai padidėja [7]. ^1H BMR signalai jautrūs aplinkos pokyčiams, todėl šis metodas yra puikus norint išsiaiškinti ne tik molekulos struktūrą, bet ir jos sudaromus tarp molekulinis ryšius. Remiantis ^1H BMR spektrų matavimais bandyta išsiaiškinti, kokios joninio skysčio jonų ir glibenklamido sąveikos lemia tokį tirpumo padidėjimą. Buvo matuoti tik glibenklamido bei glibenklamido ir joninio skysčio molekulių ^1H BMR spektrai deuteruotame dimetilsulfoksido (DMSO). Didžiausi glibenklamido ^1H BMR signalų pokyčiai stebėti šalia sulfonamidinės grupės esančio NH grupės protono signale, taip pat benzonsulfonamidinės grupės aromatinio žiedo protonų signaluose bei triptofano jono protonų signaluose. Tai leidžia daryti prielaidą, kad būtent tos jonų vietos aktyviausiai dalyvauja tarp molekulinėse sąveikose, leidžiančiose glibenklamidui ištirpti vandenyje. Dėl BMR matavimo sąlygų apribojimų, šie matavimai atlikti DMSO tirpale, tačiau matavimai DMSO nebūtinai atspindi tarp molekulinės sąveikas, padidinančias glibenklamido tirpumą vandeniniame tirpale. Šiame darbe glibenklamidas tirtas vandeniniame terpėje,

siekiant atkurti kuo artimesnę organizmui aplinką ir kuo geriau išsiaiškinti glibenklamido tirpumo padidėjimo priežastis. BMR cheminiai poslinkiai gali nusakyti jonų susigrupavimą, pvz. joninių porų formavimą vandeniniuose tirpaluose [19]. Tokie matavimai buvo atlikti ir šiame darbe tiriamo cholino-triptofanato joninio skysčio mišiniams su vandeniu. Išsiaiškinta, kad mišinyje esant daugiau nei 1,5 masės procento joninio skysčio, jau formuojamos joninės poros. Tai svarbu, nes jei dėl vaistinių preparatų tirpumo didinimo savybių šis joninis skystis būtų naudojamas farmacijoje, nekiltų rūpesčių dėl jo saugumo organizmui, nes mažose koncentracijose jis disocijuotų į organizme natūraliai randamas biomolekules – triptofanatą ir choliną [7].

1.2 Joniniai skysčiai

Joniniai skysčiai (JS) yra druskos iš organinių katijonų ir organinių ar neorganinių anijonų, kurių lydymosi temperatūra žemesnė už 100 °C, idealiai – žemesnė nei kambario. Jų itin mažas sočiųjų garų slėgis ir degumas daro juos puikia draugiška aplinkai alternatyva įprastiems organiniams tirpikliams. Kadangi joniniams skysčiams dažnai naudojamos organinės medžiagos, galima pasirinkti iš daugelio anijonų ir katijonų šeimų su skirtingais pakaitais ir kurti joninius skysčius su pageidaujamomis fizikocheminėmis savybėmis.

1.2.1 Joninių skysčių fizikinės ir cheminės savybės

Vystantis mokslui, technologijoms ir ieškant kuo daugiau naujų medžiagų pritaikymo būdų išlaikant kuo mažesnę žalą aplinkai, joniniai skysčiai yra viena iš aktyviausiai nagrinėjamų ir didelį potencialą turinčių sričių tarp "žaliųjų" medžiagų. JS dažnai vadinami "modifikuojamais" (angl. *tunable*), nes jų chemines ir fizikines savybes galima modifikuoti pasirenkant juos sudarančius jonus. Tai itin vertinga savybė, leidusi mokslininkams iki šiol sukurti net keturias joninių skysčių kartas.

JS sritis išsiplėtė 8-9-ame XX a. dešimtmečiuose, kai buvo sukurta pirmoji mažo lankumo, didelio terminio stabilumo joninių skysčių karta. Jie buvo pripažinti idealiais tirpikliais bei terpe ir elektrochemijoje, ir besivystančioje žaliojoje chemijoje. Šie skysčiai dažniausiai buvo sudaryti iš dialkilimidazolo ir alkilpiridinio katijonų su halogenidų anijonais ir labiausiai vertinti dėl savo fizikinių savybių [20]. Antroji JS karta sukurta apie 1992 m., atrastos ir kitos naudingos šių skysčių savybės kaip chiraliskumas, cheminis aktyvumas, antiuždegiminis poveikis [21]. Be anksčiau naudotų katijonų, imti naudoti amonio, fosfonio metilimidazolio (EtMeim⁺) katijonai, NO₃⁻, NO₂⁻, BF₄⁻, MeCO₂⁻ anijonai. Dėl minėtų savybių šie JS buvo pritaikyti tiek fizikoje, tiek chemijoje, tačiau buvo gana didelio toksiškumo ir mažo bioskaidumo (angl. *biodegradability*) [22]. XXI a. pradžioje naudojant bioskaidžius ir natūralius jonus sukurta ir trečia JS karta, turinti mažą toksiškumą ir didelį bioskaidumą. Čia naudojami cholino, aminorūgščių bei kiti biologinį aktyvumą turintys jonai. Naudojant specifinius jonus, gali būti sukurti JS, skirti konkrečiai užduočiai (angl. *task-specific ionic liquids*). Trečiosios kartos JS gali būti naudojami kaip antibakterinės ir antigrybelinės medžiagos, biomolekuliniai stabilizatoriai, taip pat galimos panaudojimo sritys yra farmacija ir biomedicina [20]. Pati naujausia, dar besivystanti, JS skysčių karta yra JS tirpalai

ar mišiniai su molekuliniais skysčiais. Šie skysčiai laikomi įdomiais tyrimų objektais dėl nenuspėjamų savybių, kintančių priklausomai nuo jonų ir tirpiklio santykio [20, 21].

JS skystoje fazėje savaime persitvarko į amfifilines nanostruktūras, kas yra neįprasta daugumai molekulių tirpiklių, formuojančių tvarkingas struktūras nebent su kaimyninėmis molekulėmis. Tokia vidinė tvarka suteikia JS unikalias savybes, o kadangi galima pasirinkti daug įvairių jonų, JS pritaikymo būdų taip pat gali būti neįtikėtinais daug. Atlikti JS mikrostruktūros eksperimentinius tyrimus dažnai yra itin sudėtinga, todėl dauguma duomenų apie jas yra gauti teoriniais metodais kaip klasikinis ar tankio funkcionalo teorijos (angl. *Density Functional Theory*, DFT) molekulinis modeliavimas. Teoriškai rastos nanoheterogeninės struktūros patvirtinamos ir spektriniais tyrimais [20].

JS savybės kaip mažas degumas, nykstamai mažas garų slėgis ir žinoma biosuderinamumas, šias medžiagas daro patrauklias biologiniams pritaikymams, tačiau iššūkiai kyla tiriant jų biologinį skaidumą ir galimą toksiškumą aplinkai. Būtent todėl svarbu ir perspektyvu tirti biosuderinamus joninius skysčius, kurie gali būti sintetinami iš aminorūgščių, saldiklių, gliukozės, karboksirūgščių [21].

1.2.2 Joninių skysčių svarba biologinėse sistemose

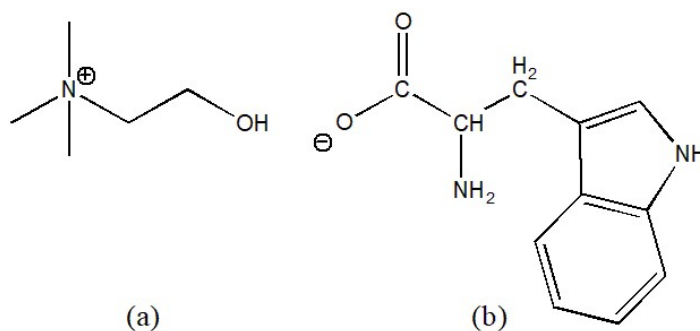
Vaistinių preparatų efektyvumas priklauso nuo jų bioprieinamumo (angl. *bioavailability*), t. y. vaisto gebėjimo pereiti membranas ir tirpumo. Kadangi fiziologinis vaisto prieinamumas dažniausiai priklauso nuo jo tirpumo kūno skysčiuose, kuo mažesnis junginio tirpumas, tuo mažesnė ir absorbcija bei efektyvumas. Tai dažnai lemia gana dideles vaistų dozes, kad būtų pasiektas norimas farmakologinis efektas. Prastas tirpumas vandenyje yra viena iš pagrindinių problemų naujų vaistų kūrime, ypač preparatams vartojamiems lengviausiu ir populiariausiu vartojimo būdu – per burną [20].

Padidinti junginių tirpumą galima keičiant juos chemiškai (formuojant vaisto druskas ar prekursorius), vaistus talpinant į transportines mices arba formuojant jų nanokristalus [23, 24] arba naudojant joninius skysčius. Joniniai skysčiai gali būti naudojami padidinti vaistų tirpumui, nes esant 10^{18} galimų jonų kombinacijų, įmanoma sukurti tokius JS, kurie galėtų puikiai tirpti vandenyje, padidinti medžiagų absorbciją. Dažnai joniniai skysčiai naudojami papildomai kaip emulsikliai, kopolimerai, tirpikliai [20]. Tyrimais parodytas tokių junginių kaip kumarinas [25], acetaminofenas ir kofeinas [26], ibuprofenas [27] ir glibenklamidas [7] padidėjęs tirpumas vandenyje naudojant įvairius joninius skysčius kaip tirpiklius ar vieną iš kelių tirpiklių mišiniuose.

Joniniai skysčiai gali būti įvairiai pritaikomi ir biomedicinoje: kaip vaistiniai junginiai (įprasti vaistai kaip JS, vaistų pirmtakai JS), vaistų ar jų pernešimo sistemų sintezėje (fermentinės katalizės priedai, katalizatoriai, terpė), biomedicininėje analizėje (elektroforezėje, chromatografijoje, masių spektroskopijoje), vaistų pernešime (tirpikliai, kotirpikliai, kopolimerai, emulsikliai) [20].

Vienas dažniausiai naudojamų katijonų trečiosios kartos joniniuose skysčiuose yra cholinas (1.4 pav. a), kuris yra biologiškai skaidus, nebrangus ir tirpus vandenyje. Jo naudojimas leidžia kurti biojoninius skysčius kurie yra biologiškai skaidūs ir mažo toksiškumo. Choliną galima gauti

iš natūralių šaltinių, jis dalyvauja daugybėje organizmo funkcijų, atminties ir raumenų kontrolėje, nes yra neuronešiklio acetilcholino pirmtakas. Taip pat cholinas randamas dviejų fosfolipidų – fosfatidilcholino ir sfingomielino sudėtyse, kurie dažni biologinėse ląstelių membranose [28]. Cholinas joniniuose skysčiuose yra dažnai naudojamas kartu su įvairiais organiniais anijonais, dažniausiai aminorūgštimis, pvz. triptofanu (1.4 pav. b). Eksperimentiškai rasta, kad būtent tokio joninio skysčio pridėjus į vandenį (> 1,5 masės %) besiformuojančios joninės poros ženkliai padidina medikamento glibenklamido tirpumą [7]. Dėl organizme natūraliai randamų biomolekulių naudojimo, joninis skystis tampa potencialiai biosuderinamas ir bioskaidus.



1.4 pav. Biologinio joninio skysčio jonai. a) Cholino katijonas, b) triptofanato anijonas.

1.3 Kompiuterinės chemijos pagrindai

Kompiuterinė chemija (angl. *computational chemistry*) yra sparčiai vystoma teorinės chemijos šaka, kurios pagrindas – cheminių problemų sprendimas naudojant kompiuteriu atliekamus matematinius skaičiavimus. Kompiuterinė chemija leidžia pritaikyti įvairius teorinius modelius realioms molekulinėms sistemoms, taip paaiškinant eksperimentinius duomenis. Be to, tinkamai interpretuoti skaičiavimų rezultatai gali suteikti teorinį pagrindą planuojamiems fizikiniams eksperimentams, todėl kompiuterinė chemija vis dažniau naudojama naujų medžiagų, vaistinių preparatų kūrime ir tobulinime.

1.3.1 Borno – Openheimerio artinys

Šriodingerio lygtis (1.1) yra centrinė kvantinės mechanikos lygtis, apibrėžianti sistemos būsenas (bangines funkcijas) ir jų energijas.

$$\hat{H}\psi = E\psi \quad (1.1)$$

Čia \hat{H} – sistemos hamiltonianas, ψ – sistemos banginė funkcija, E – sistemos energija. Visos molekulos molekulinis hamiltonianas (\hat{H}_{mol}) yra penkių operatorių suma. Pirmieji du dėmenys aprašo elektronų ir branduolių kinetines energijas, atitinkamai \hat{T}_e ir \hat{T}_n . Likę trys išreiškia sąveikų tarp elektronų porų (\hat{V}_{ee}), elektronų ir branduolių porų (\hat{V}_{ne}) ir branduolių porų (\hat{V}_{nn}) potencines energijas:

$$\hat{H}_{\text{mol}} = - \underbrace{\sum_A \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2}_{\hat{T}_n} - \underbrace{\sum_i \frac{1}{2} \nabla_i^2}_{\hat{T}_e} + \underbrace{\sum_{A<B} \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}}_{\hat{V}_{nn}} - \underbrace{\sum_{iA} \frac{Z_A}{r_{iA}}}_{\hat{V}_{ne}} + \underbrace{\sum_{i<j} \frac{1}{r_{ij}}}_{\hat{V}_{ee}} \quad (1.2)$$

čia M_A – A-tojo branduolio masė, ∇_A^2 , ∇_i^2 – laplasianai, kuriuose diferencijuojama atitinkamai branduolių ir elektronų koordinatų atžvilgiu, Z_A , Z_B – A-tojo ir B-tojo atomų numeriai, R_{AB} – atstumas tarp A-tojo ir B-tojo branduolių, r_{iA} – atstumas tarp i-tojo elektrono ir A-tojo branduolio, r_{ij} – atstumas tarp i-tojo ir j-tojo elektronų. Pirmajame (\hat{T}_n) ir antrajame (\hat{T}_e) nariuose sumuojama atitinkamai branduoliais ir elektronais, o likusiuose – branduolių (\hat{V}_{nn}), branduolių ir elektronų (\hat{V}_{ne}) ir elektronų poromis (\hat{V}_{ee}) [29]. Hamiltonianas lygtyje (1.2) išreikštas atominių vienetų sistemoje.

Nors išsprendus Šriodingerio lygtį gauname pilną informaciją apie tiriamą sistemą, tačiau esant trims ir daugiau dalelių (atomų), Šriodingerio lygties tiksliai išspręsti neįmanoma dėl daugelio kūnų problemos (angl. *many-body problem*), todėl taikomi įvairūs artiniai. Jie leidžia apskaičiuoti apytiksles sistemas pagrindinės būsenos energiją (ji pagal variacinį principą būtinai yra nemažesnė už tikslią pagrindinės būsenos energiją) ir naudojant ją apskaičiuoti norimus fizikinius sistemos parametrus. Vienas iš svarbiausių ir dažniausių naudojamų tokių artinių yra Borno – Openheimerio artinys (aproksimacija). Jis paremtas tuo, kad atomo branduolio masė yra $10^4 - 10^5$ didesnė už elektrono masę, todėl molekulėje elektronai juda daug greičiau už branduolius. Pagal Borno – Openheimerio artinį, molekulės elektronų sistema prisitaiko prie branduolinės, elektroninė energija tampa priklausoma nuo branduolinių koordinatų, todėl kiekvienam branduolių išsidėstymui egzistuoja viena tam tikra elektroninė energija. Atskiriant branduolių ir elektronų judėjimą, Šriodingerio lygtis skyla į dvi, todėl ir \hat{H}_{mol} galima skelti į branduolinį ir elektroninį. Branduolinis hamiltonianas (\hat{H}_n) sudaromas iš kinetinės branduolių energijos ir branduolių jaučiamo potencialo, randamo išsprendus elektroninę Šriodingerio lygtį. Tuo tarpu elektroninį hamiltonianą (\hat{H}_e) sudaro trys nariai ir jis leidžia apskaičiuoti sistemos elektroninę energiją:

$$\hat{H}_e = - \underbrace{\sum_i \frac{1}{2} \nabla_i^2}_{\hat{T}_e} - \underbrace{\sum_{iA} \frac{Z_A}{r_{iA}}}_{\hat{V}_{ne}} + \underbrace{\sum_{i<j} \frac{1}{r_{ij}}}_{\hat{V}_{ee}} \quad (1.3)$$

Elektroninį hamiltonianą sudaro kinetinės elektronų energijos operatorius (\hat{T}_e), traukos tarp elektronų ir branduolių porų potencialinės energijos operatorius (\hat{V}_{ne}) ir stūmos tarp elektronų porų potencialinės energijos operatorius (\hat{V}_{ee}). Pilnoji sistemos energija tuomet išreiškiama elektroninės ir branduolinės energijų suma [30]:

$$E_{\text{tot}} = E_e + E_n \quad (1.4)$$

1.3.2 Sleiterio determinantas

Norint išspręsti energijos lygtis ir surasti elektroninę molekulės energiją, svarbu banginę funkciją išreikšti taip, kad ji būtų tinkama naudoti tolimesniuose skaičiavimuose. Tam naudojamas

Sleiterio determinantas, kuriuo N-elektronės sistemos banginė funkcija išreiškiama, atsižvelgiant į dalelių tapatingumą. Jame naudojamos sukininės orbitalės – vienelektronės funkcijos, priklausančios nuo trijų erdvinųjų elektroninių koordinatų ir sukinių:

$$\psi(1, 2, \dots, N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(1) & \chi_2(1) & \cdots & \chi_N(1) \\ \chi_1(2) & \chi_2(2) & \cdots & \chi_N(2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(N) & \chi_2(N) & \cdots & \chi_N(N) \end{vmatrix} \quad (1.5)$$

prieš determinantą esantis daugiklis yra normavimo konstanta, χ_i – vienelektronės sukininės orbitalės. Sukinines orbitales galima išreikšti kaip erdvinųjų ir sukinių orbitalių sandaugą.

Sleiterio determinantas atsižvelgia ir į Pauli draudimo principą, pagal kurį du elektronai negali būti vienodose būsenose. Jeigu du vienodi elektronai egzistuotų vienoje orbitalėje su identiškomis koordinatėmis ir sukiniu arba egzistuotų dvi identiškos orbitalės, determinante atsirastų du vienodi stulpeliai ar eilutės, visas determinantas būtų lygus nuliui ir tokia banginė funkcija neegzistuotų [29].

1.3.3 Hartrio – Foko modelis

Banginę funkciją išreiškus kaip Sleiterio determinantą, ieškoma sukinių orbitalių rinkinio, atitinkančio minimalią molekulinę energiją. Tokioms orbitalėms rasti naudojamas Hartrio – Foko (HF) modelis, įvedant vienelektronį Foko operatorių, kuris yra dviejų operatorių suma:

$$\hat{F}(1) = \hat{h}(1) + \hat{v}^{HF}(1) \quad (1.6)$$

pirmasis dėmuo yra operatorius \hat{h} parodantis elektrono kinetinę energiją (\hat{T}_e) ir jo sąveikos su visais branduoliais potencinę energiją (\hat{V}_{ne}), antrasis - Hartrio – Foko vidutinio lauko operatorius \hat{v}^{HF} . Dėl Sleiterio determinanto naudojimo, Hartrio – Foko modelis yra nekoreliacinis, t. y. elektroną veikia vidutinis visų esančių elektronų pozicijų efektas, tačiau jis nesąveikauja su kiekvienu elektronu, esančiu tam tikrame taške. Šią vidutinę sąveiką ir apibūdina Hartrio – Foko vidutinio lauko operatorius \hat{v}^{HF} .

Naudojantis Foko operatoriumi galima sudaryti vienelektronę pseudotikrinių verčių lygtį, kuri vadinama kanonine Hartrio – Foko lygtimi:

$$\hat{F}(1)\chi_i(x_1) = \varepsilon_i\chi_i(x_1) \quad (1.7)$$

čia χ_i yra sukininė orbitalė, o ε_i - tos orbitalės energija [29].

Ieškant tokio orbitalių rinkinio, kur orbitalės būtų tikrinės Foko operatoriaus funkcijos, reikia jas apibrėžti matematiškai. Atominių orbitalių aprašymas paremtas paprasčiausiomis – vandenilio atomo orbitalėmis, kurios randamos išsprendus Šriodingerio lygtį vandenilio atomui. Tuo tarpu molekulinės orbitalės konstruojamos sujungiant daug atominių orbitalių, naudojant tiesinę atominių orbitalių kombinaciją (angl. *linear combination of atomic orbitals*, LCAO):

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^K C_{\mu i} \phi_{\mu} \quad (1.8)$$

čia ψ_i – molekulinė orbitalė (MO), ϕ_{μ} – matematinė funkcija, atrodanti kaip atominė orbitalė, vadinama bazine funkcija, $C_{\mu i}$ – skaičius (kartais vadinamas molekulinės orbitalės koeficientu), parodantis, kiek bazinė funkcija prisideda prie MO, randamas kiekvienai sistemai pagal variacinį principą. K – i-tajai orbitalei aprašyti skirtas bazinių funkcijų (ϕ) skaičius [30], artinys tuo tikslis, kuo didesnis K , t. y. naudojant daugiau bazinių funkcijų atvaizduoti molekulinei orbitalei. Radus MO, kurios pakankamai gerai atvaizduoja sistemos banginę funkciją, galima apskaičiuoti dominančius tos sistemos fizikinius parametrus (dipolio momentą, energiją ir pan.).

1.3.4 Tankio funkcionalo teorija

Kitoks būdas įvertinti elektronų koreliaciją yra tankio funkcionalo teorija (angl. *Density Functional Theory*, DFT). Ji remiasi Hohenbergo-Kono teorema, teigiančia kad energija yra hamiltoniano funkcionalas (funkcijos funkcija) $E[\hat{H}]$, o pats hamiltonianas priklauso nuo elektronų skaičiaus N bei branduolių pozicijų $\{\mathbf{R}_A\}$ ir krūvių $\{Z_A\}$, taigi energija priklauso nuo visų šių kintamųjų. Tačiau visi jie gali būti surasti žinant elektroninį tankį $\rho(\mathbf{r})$, tad energija yra tankio funkcionalas $E[\rho(\mathbf{r})]$ [31].

Energijos tankio funkcionalas turi tris svarbias savybes:

1. Jis unikalus, t. y. neįmanoma, kad naudodami du skirtingus tankius rastume tą pačią energiją:

$$E[\rho_1] \neq E[\rho_2], \text{ jei } \rho_1 \neq \rho_2 \quad (1.9)$$

Tai svarbu, nes tikslus tankis leis rasti tikslią energiją:

$$E_{\text{tikslus}} = E[\rho_{\text{tikslus}}] \quad (1.10)$$

2. Funkcionalas neprieštarauja variaciniam principui:

$$E[\rho] \geq E[\rho_{\text{tikslus}}] \quad (1.11)$$

3. Jis gali būti randamas naudojant vienelektronį funkcionalą:

$$E[\rho] = \int d\mathbf{r} \rho(\mathbf{r}) v(\mathbf{r}), \text{ čia } v(\mathbf{r}) = \frac{\partial E[\rho(\mathbf{r})]}{\partial \rho(\mathbf{r})} \quad (1.12)$$

Todėl tikslią energiją rasti nesunku, nes $v(\mathbf{r})$ yra vienelektronė funkcija, tai tiksli energija gali būti išreikšta per orbitales:

$$E[\rho] = \sum_{i=1}^N \langle \phi_i(\mathbf{r}) | v(\mathbf{r}) | \phi_i(\mathbf{r}) \rangle \quad (1.13)$$

nes vienelektronės funkcijos išreiškimas kitomis vienelektronėmis funkcijomis nėra aproksimacija:

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N \langle \phi_i(\mathbf{r}) | \phi_i(\mathbf{r}) \rangle \quad (1.14)$$

Tinkamos ortonormuotos orbitalės randamos sprendžiant Kono-Šamo (Kohn-Sham, KS) lygtis:

$$\hat{F}^{KS} \phi_i^{KS} = \varepsilon_i^{KS} \phi_i^{KS} \quad (1.15)$$

čia \hat{F}^{KS} – Kono-Šamo operatorius, ϕ_i^{KS} – Kono-Šamo orbitalė, ε_i^{KS} – jos energija.

KS formalizme kinetinės energijos funkcionalas $v(\mathbf{r})$ yra skiriamas į dvi dalis – tiksliai apskaičiuojamą ir mažą koreliacijos narį. Priešingai nei banginė funkcija, kurios sudėtingumas didėja eksponentiškai didėjant elektronų skaičiui, elektroninio tankio kintamųjų skaičius nekinta, nesvarbu koks yra sistemos dydis. Žinoma, kad skirtingi elektroniniai tankiai susiję su skirtingomis pagrindinės būsenos energijomis, tačiau nėra aišku, koks funkcionalas juos sieja. Todėl pagrindinis DFT metodų uždavinys ir yra rasti koreliacijos funkcionalą, kuo tiksliau aprašantį ryšį tarp elektroninio tankio ir energijos [30].

1.4 Molekulinės dinamikos simuliacijos

Molekulinės dinamikos (MD) simuliacijos yra metodas, leidžiantis įvertinti molekulinės sistemos kitimą ir tarpmolekulinę sąveiką tam tikrą laiko tarpą, analizuojant užfiksuotas judančių dalelių trajektorijas. MD simuliacijos yra nepamainomos, bandant teoriškai paaiškinti eksperimentinius rezultatus, tyrinėjant daugianarių cheminių sistemų tarpusavio sąveiką ar tirpiklio įtaką medžiagų tirpumui, cheminėms reakcijoms.

MD simuliacijos ypač naudingos tiriant molekules tirpale, kadangi dauguma fizinių tyrimo metodų (rentgenostruktūrinė kristalografija, masių spektroskopija) vykdomi molekulėms nesant tirpale ir neleidžia įvertinti aplinkos (tirpiklio) poveikio joms. Kompiuterinių simuliacijų metu stebima sistema nuolat fiksuojama, todėl galima stebėti, kaip vyksta tarpmolekuliniai procesai ir molekulių judėjimas, vietoj to, kad būtų fiksuojamas tik išsidėstymas tam tikru laiku ar užšaldyta konformacija. Taip pat MD simuliacijos gali puikiai papildyti eksperimentinius metodus tiriant molekulinę sistemą virsmus [32, 33], dinamiką (nustatant difuzijos, rūgštingumo konstantas [34]) ar tarpmolekulinę sąveiką [35, 36].

1.4.1 Molekulinės mechanikos jėgų laukai

MD simuliacijų metu sistemos trajektorija fiksuojama tam tikrą laiką, kad būtų galima apskaičiuoti vidutinį dominantį sistemos parametą. Sistemos energijos funkcija priklauso tik nuo molekulių koordinačių ir laike nekinta, kinta tik jos pasiskirstymas tarp potencinės ir kinetinės energijų. Todėl visą sistemos judėjimą galima apskaičiuoti naudojantis klasikinės mechanikos dėsniais, tiksliau antruoju Niutono dėsniu. Taigi, kiekvienai iš trijų dalelės koordinačių (x , y , z) sprendžiamos antrojo Niutono dėsnio lygtys:

$$-\frac{\partial U}{\partial r_i} = m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} \quad \text{arba} \quad \mathbf{F}_i(t) = m_i \cdot \mathbf{a}_i, \quad r_i = x, y, z \quad (1.16)$$

čia U – potencinė energija, m_i – i -tosios dalelės masė, r_i – i -tosios dalelės koordinatės (x, y, z), \mathbf{F}_i – i -tają dalelę veikianti jėga, \mathbf{a}_i – i -tosios dalelės pagreitis.

Molekuliniai jėgų laukai yra energijos funkcijų rinkinys, apibrėžiantis tarpatominius potencialus, t. y. jėgas, kuriomis veikamos sistemos dalelės [30]. Pilnoji sistemos energija susideda iš cheminių ryšių, kampų ir dvisienių kampų tarp atomų, elektrostatinės energijos (Kulono nario) ir Lenardo – Džounso (kitaip van der Valso) potencialo:

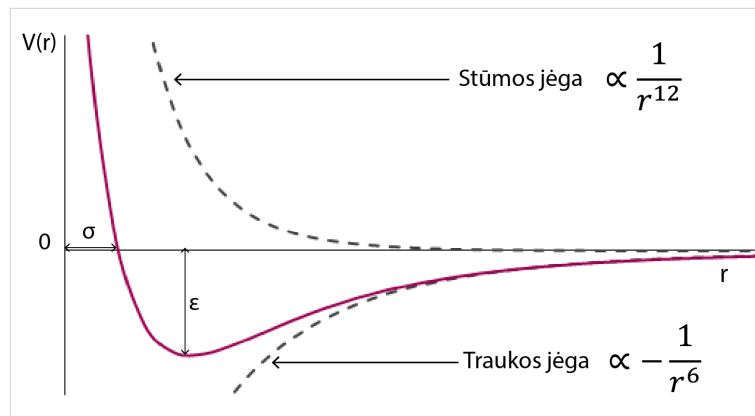
$$E_{\text{tot}} = E_{\text{ryšiai}} + E_{\text{kampai}} + E_{\text{dvis.kampai}} + E_{\text{elst}} + E_{\text{vdW}} \quad (1.17)$$

Pirmieji trys lygties nariai apibūdina vidumolekulines sąveikas, o du paskutiniai yra vadinami tarp-molekuliniai potencialais. Tarpmolekulinių sąveikų narius sudaro Kulono ir Lenardo – Džounso (LJ) potencialai:

$$E_{ij}(r) = \sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{4\pi \epsilon_0 r_{ij}} + 4 \sum_{i < j} \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (1.18)$$

čia q_i, q_j yra i -tosios ir j -tosios dalelių taškiniai krūviai, r_{ij} – atstumas tarp i -tosios ir j -tosios dalelių, ϵ_0 – elektrinė konstanta, ϵ_{ij} ir σ_{ij} – Lenardo – Džounso jėgų lauko parametrai, o sumuojama visomis unikaliomis dalelių poromis.

Kulono potencialas apibrėžia elektrostatinę sąveiką, priklausančią nuo dalelių krūvių, o LJ potencialas (1.5 pav.) atsižvelgia į nuo krūvio nepriklausančias sąveikas tarp dalelių. Šis potencialas dar vadinamas 6-12 potencialu dėl narių, pakeltų tais laipsniais. Narys r^{-12} dėl Pauli arba sterinės stūmos bei tuščių elektroninių orbitalių persiklojimo labiausiai veikia energiją esant mažiems atstumams tarp sąveikaujančių dalelių. Narys r^{-6} apibrėžia traukos jėgą, atsirandančią tarp neutralių atomų dėl Londono dispersijos jėgos. Abiejų sąveikų energija tampa nykstamai maža, kai atstumas tarp atomų yra didelis [31]. Dažniausiai, vykdant MD simuliacijas LJ potencialo parametrai parenkami iš mokslinių šaltinių arba žinomų universalių jėgų lauko parametro rinkinių.



1.5 pav. Lenardo – Džounso potencialas.

$V(r)$ – potencinė energija, r – atstumas tarp dalelių, ϵ – potencialo gylis, σ – van der Valso spindulys.

Lenardo – Džounso potencialo parametrai yra atominiai parametrai, parenkami pagal atomo tipą. Kai atomų tipai skiriasi, skiriasi ir parametrai, o jiems apskaičiuoti gali būti naudojamos Lorencio – Bertelò kombinacijos taisyklės. Lorencio taisyklėje į atomus žiūrima kaip į kietąsias sferas su spinduliais σ_i ir σ_j ir laikoma, kad dviejų dalelių spindulių aritmetinis vidurkis atitinka efektyvųjį spindulį σ_{ij} , ties kuriuo ima itin stipriai veikti stūmos jėgos tarp atomų:

$$\sigma_{ij} = \frac{\sigma_i + \sigma_j}{2} \quad (1.19)$$

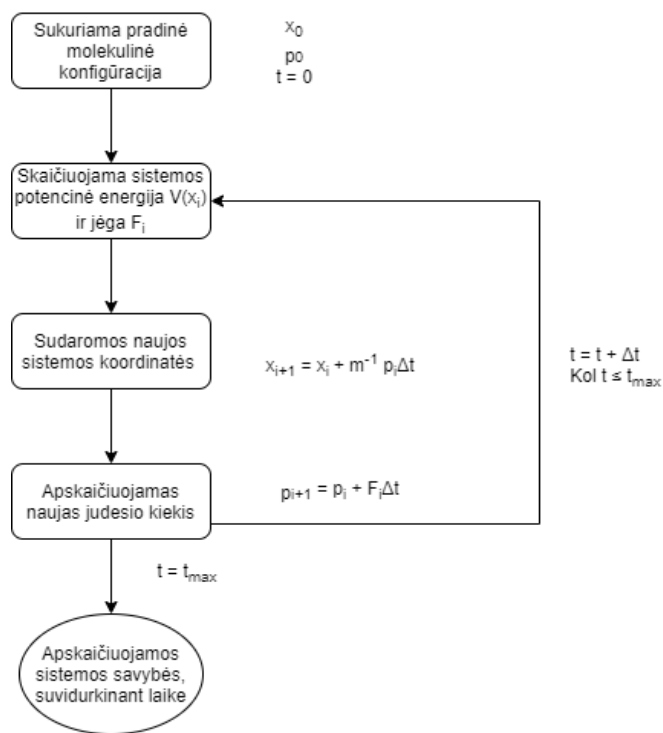
Pagal Bertelò taisyklę nebegalima gauti vidutinio potencialo ε_{ij} kaip dviejų dalelių potencialų ε_i ir ε_j aritmetinio vidurkio, tam naudojamas geometrinis vidurkis:

$$\varepsilon_{ij} = \sqrt{\varepsilon_i \varepsilon_j} \quad (1.20)$$

MD simuliacijose naudojami jėgų laukai parenkami pagal tyrinėjamos sistemos prigimtį, tiriamus parametrus, norimą poliarizuojamą jėgų lauką, kompiuterio pajėgumus ir t.t. Baltymams dažniausiai naudojami CHARMM, AMBER [32, 33, 37, 38], organinėms molekulėms – OPLS, MMFF ir MM4, GAFF jėgų laukai [35, 39, 40].

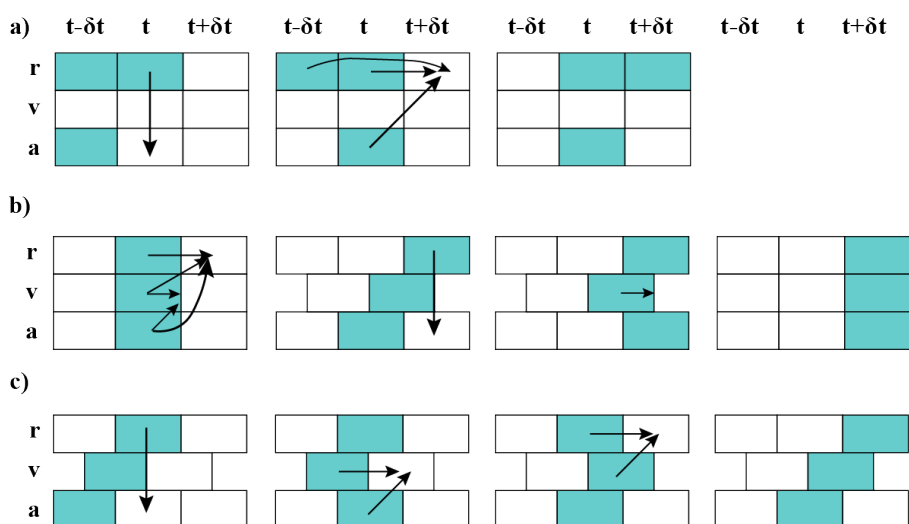
1.4.2 MD simuliacijos algoritmas

MD simuliacijos pradedamos vykdyti, turint tam tikras pradines sistemos koordinates x_0 . Kiekvienai jos dalelei, pagal Maksvelo pasiskirstymą, priskiriamas pradinis judesio kiekis p_0 . Duotai konfigūracijai apskaičiuojama potencinė energija ir kiekvieną atomą veikianti jėga, tuomet žinant dalelių pagreičius leidžiama sistemai evoliucionuoti pagal antrąjį Niutono dėsnį tam tikrą laiko tarpą (Δt). Taip gaunamos naujos sistemos koordinatės, joms skaičiuojami nauji parametrai ir lyginami su prieš tai gautais. Ciklas kartojamas, kol sistemos parametrų vidurkiai pasiekia pastovias vertes – nusistovi termodinaminė pusiausvyra (arba kol pasiekiamas maksimalus simuliacijos laikas) (1.6 pav.). Tada galutinėms sistemos koordinatėms apskaičiuojamos norimos fizikinės savybės [31].



1.6 pav. MD simuliacijos schema.

Niutono judėjimo lygtims integruoti galima naudoti įvairius metodus, kaip Verlet algoritimą arba patobulintas jo versijas – vadinamąjį greičio Verlet metodą arba *leap-frog* metodą. Šie metodai skiriasi tuo, kaip yra suskaičiuojamos naujos sistemos dalelių koordinatės, greičiai ir pagreičiai (1.7 pav.).



1.7 pav. Verlet algoritmo formos. a) Originalus Verlet metodas. b) Greičio Verlet forma. c) *leap-frog* forma. Parodyti skaičiavimo žingsniai, nuspalvinti langeliai atitinka skaičiavimo metus išsaugomus kintamuosius. Adaptuota iš [41].

Integruojant pagal *leap-frog* algoritmą, sistemos koordinatės $\mathbf{r}(t)$ ir greičiai $\mathbf{v}(t)$ skaičiuojami taip:

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = \mathbf{r}(t) + \Delta t \mathbf{v}(t + \frac{1}{2} \Delta t) \quad (1.21a)$$

$$\mathbf{v}(t + \frac{1}{2} \Delta t) = \mathbf{v}(t - \frac{1}{2} \Delta t) + \Delta t \mathbf{a}(t) \quad (1.21b)$$

čia Δt – integravimo žingsnis. Užfiksuojami apskaičiuoti dalelių pagreičiai $\mathbf{a}(t)$ ir koordinatės $\mathbf{r}(t)$ bei greičiai ties puse žingsnio $\mathbf{v}(t - \frac{1}{2} \Delta t)$. Pirmą taikoma greičio lygtis (1.21b), greičiai peršoka į kitas koordinatas ir įgauna kito pusės žingsnio vertes $\mathbf{v}(t + \frac{1}{2} \Delta t)$, tuomet greitį laiko momentu t galima apskaičiuoti pagal:

$$\mathbf{v}(t) = \frac{1}{2} (\mathbf{v}(t + \frac{1}{2} \Delta t) + \mathbf{v}(t - \frac{1}{2} \Delta t)) \quad (1.22)$$

Tada naudojama lygtis (1.21a) ir apskaičiuojamos dalelių pozicijos tolimesniame žingsnyje nei greičiai [41].

Naudojamo integravimo žingsnio Δt trukmė MD simuliacijose pasirenkama viena eile mažesnė nei trumpiausio virpesio trukmė, dažniausiai 1 fs [30]. Pačios simuliacijos trukmė priklauso nuo to, ką norima tirti: molekulių konformacijų kitimams vykdomos ps – ns trukmės simuliacijos, difuzijai ar įvairioms sąveikoms tirti – ns – μ s, o ilgiausios, pvz. baltymų lankstymosi, simuliacijos vykdomos net milisekundžių eilėje [42–44].

1.4.3 MD simuliacijų ansambliai

MD simuliacijos leidžia pritaikyti statistinės mechanikos principus, norint apskaičiuoti tam tikras sistemos savybes. Dažniausiai simuliacijose skaičiuojama jėgos, molekulių orientacija, energija ir t. t. Pagrindą tokiems skaičiavimams duoda pasirinktas simuliacijos ansamblis. Iš statistinės mechanikos pusės, sistemos makroskopinės savybės kaip slėgis ar tankis priklauso nuo visų įmanomų kvantinių būsenų vidurkio. Norint apskaičiuoti realios sistemos savybes, patogiau pasirinkti ansamblį – įsivaizduojamą makroskopinių savybių rinkinį, kurį turi atitikti kiekviena simuliacijoje dalyvaujanti sistema t. y. kiekviena molekulinė konfigūracija. Pvz., pasirenkama, kad turi nekisti sistemos temperatūra, slėgis ir molekulių skaičius.

Dažniausiai cheminiams procesams pasirenkami NPT (izoterminis – izobarinis) ar NVT (kanoninis) ansambliai, nes šių procesų metu palaikomas pastovus dalelių skaičius, ir slėgis arba tūris. Mikrokanoninis ansamblis (NVE) MD simuliacijų metu naudojamas, kai vykdomas temperatūros ar tūrio nustatymas. Taip pat egzistuoja ir NPH (izobarinis – izoentalpinis) ansamblis, jis retai naudojamas MD simuliacijoms, bet patobulinti jo algoritmai, skirti palaikyti pastoviam slėgiui, gali būti naudojami simuliacijose su NPT ansambliu.

NVE ansamblis (pastovus dalelių skaičius, tūris ir energija) yra klasikinis pasirinkimas MD simuliacijoms, nes jų metu sprendžiamos Niutono lygtys, kurioms galioja energijos tvermės dėsnis. Pilnosios energijos kontroliavimas vykdomas per kinetinę energiją. Simuliacijos pradžioje kiekvienai dalelei priskiriama norima energija, nors tikroji energija priklauso nuo kinetinės ir potencinės energijų sumos. Norima energija pasiekama perskaičiuojant dalelių pradinius greičius

(angl. *rescaling*), atsižvelgiant į norimas kinetinę ir tikrąją energijas. Užtenka greičius perskaičiuoti tik kartą simuliacijos pradžioje ir dėl NVE ansamblio naudojimo, energija liks pastovi [45].

Kanoninis NVT ansamblis (pastovus dalelių skaičius, tūris ir temperatūra) naudojamas vietoj NVE ansamblio, nes dažniausiai geriau žinoma sistemos temperatūra, nei jos energija. Šiame ansamblyje svarbiausia palaikyti pastovią temperatūrą, tam naudojami įvairūs termostatai. Dažniausiai naudojamas Berendseno termostatas [46], taip pat Lanževano [41, 47, 48], Anderse-
no [49], Nosé [50], Nosé – Huverio [51] termostatai. Šiame darbe naudotas Lanževano termostatas temperatūrą palaiko naudojant modifikuotą Niutono judėjimo lygtį:

$$\dot{\mathbf{r}}_i = \frac{\mathbf{p}_i}{m_i}, \quad \dot{\mathbf{p}}_i = \mathbf{F}_i - \gamma_i \mathbf{p}_i + \mathbf{f}_i \quad (1.23)$$

čia \mathbf{F}_i yra jėga veikianti i -tąjį atomą dėl sąveikos potencialo, γ_i trinties koeficientas, o \mathbf{f}_i – atsitiktinė jėga dėl atsitiktinių smūgių tarp dalelių. Atsitiktiniai skaičiai parenkami pagal Gauso skirstinį su tokia dispersija:

$$\sigma_i^2 = \frac{2m_i\gamma_i k_B T}{\Delta t} \quad (1.24)$$

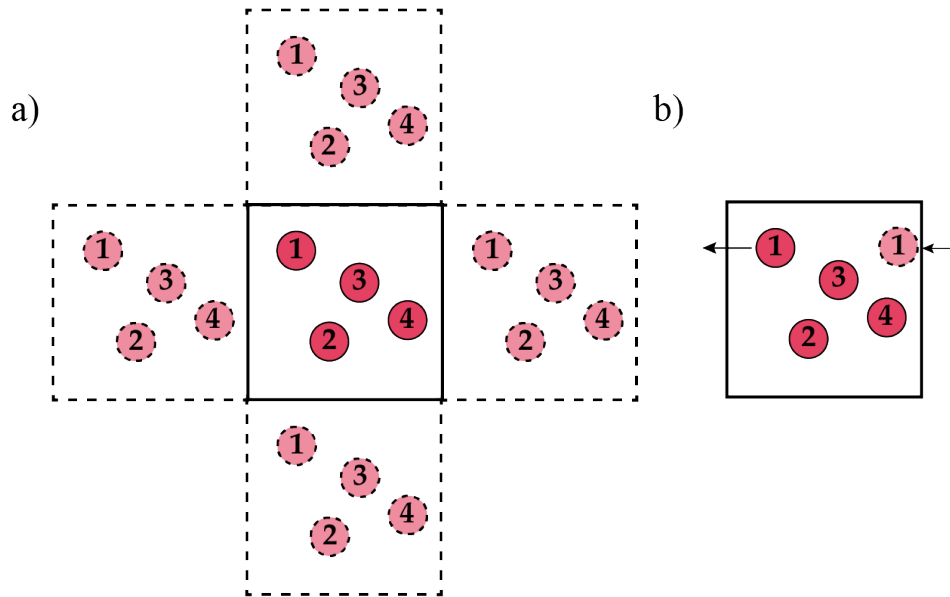
čia Δt – integravimo žingsnis judėjimo lygtims.

NPT ansamblyje galimi keli sistemos simuliacijos metodai, papildant tai, kas naudota NVT ansambliams. Pirmas metodas yra hibridinis Monte Carlo ir MD metodas, sukurtas Hanso C. Anderseno [49]. Anderseno termostatas gali būti modifikuotas taip, kad palaikytų pastovų slėgį NPH ansambliui ir transformuotas į NPT ansamblį, įterpiant stochastinius procesus. Alternatyva yra Huverio lygtys NVT ansambliui, įtraukiant slėgio apribojimus [52].

1.4.4 Periodinės kraštinės sąlygos

Ruošiant pradinę molekulių konfigūraciją skysčių MD simuliacijoms, molekulės galima išdėstyti įvairiai. Vienas iš galimų – skysto lašo modelis, kai tiriamoji molekulė patalpinama į iš tirpiklio molekulių sudarytą sferą, kuri turi būti pakankamai didelė, kad molekulės aplinka būtų panaši į esančią tirpale. Taip simuliuojamas skysčio lašas dujų aplinkoje. Tačiau šis metodas turi kelis trūkumus, kurie gali trukdyti, priklausomai nuo tiriamos sistemos. Pirma, išorėje esančios tirpiklio molekulės gali atsiskirti į dujų fazę ir vykdant pakankamai ilgą simuliaciją, tirpiklio lašas gali išgaruoti. Antra, jei tirpiklio molekulės polinės, lašo išorėje jos gali pradėti formuoti paviršines struktūras ir taip paveikti giliau esančias tirpiklio molekules. Taip tirpiklio molekulės gali dirbtinai suformuoti solvatacinius sluoksnius, o ne egzistuoti tokioje būsenoje kaip tirpale.

Dėl šių trūkumų dažniau naudojamos periodinės kraštinės sąlygos (angl. *Periodic Boundary Conditions*, PBC). Naudojant PBC, suformuojama MD simuliacijos dėžė, kurioje patalpinamos tirpiklio molekulės ir tiriamoji molekulė - tirpinys. Ši dėžė dažniausiai būna kubo formos, tada ji 6 kartus atkartojama ir patalpinama prie kiekvienos iš pagrindinės dėžės sienų (1.8 a pav.). Toks procesas kartojamas, kol suformuojama begalinė sistema.



1.8 pav. Periodinės kraštinės sąlygų iliustracijos dviejose dimensijose.

- a) Centrinės dėžės molekulės kopijuojamos ir patalpinamos identiškose dėžėse aplink ją.
 b) Jei molekulė palieka dėžę, ji atsiranda priešingoje dėžės pusėje, taip palaikomas pastovus molekulių skaičius dėžėje.

Sistemos energiją sudaro visos sąveikos tarp visų dalelių visose dėžėse, tačiau atomų koordinatės kitose dėžėse yra nustatomos pagal pagrindinę dėžę, t. y. jei molekulė išeina iš dėžės kairėje, ji į kairę pajuda visose dėžėse, taigi pagrindinėje dėžėje atsiranda dešinėje (1.8 b pav.), taip išvengiama molekulių garavimo. O norint išvengti dalelės sąveikų su pačia ja skaičiavimo, nurodomas atstumas (angl. *cutoff distance*), už kurio dalelių tarpusavio sąveikos energija yra prilyginama nuliui ir kuris turi būti ne didesnis, nei pusė kubinės dėžės kraštinės ilgio [31].

1.4.5 Radialinio pasiskirstymo funkcijos

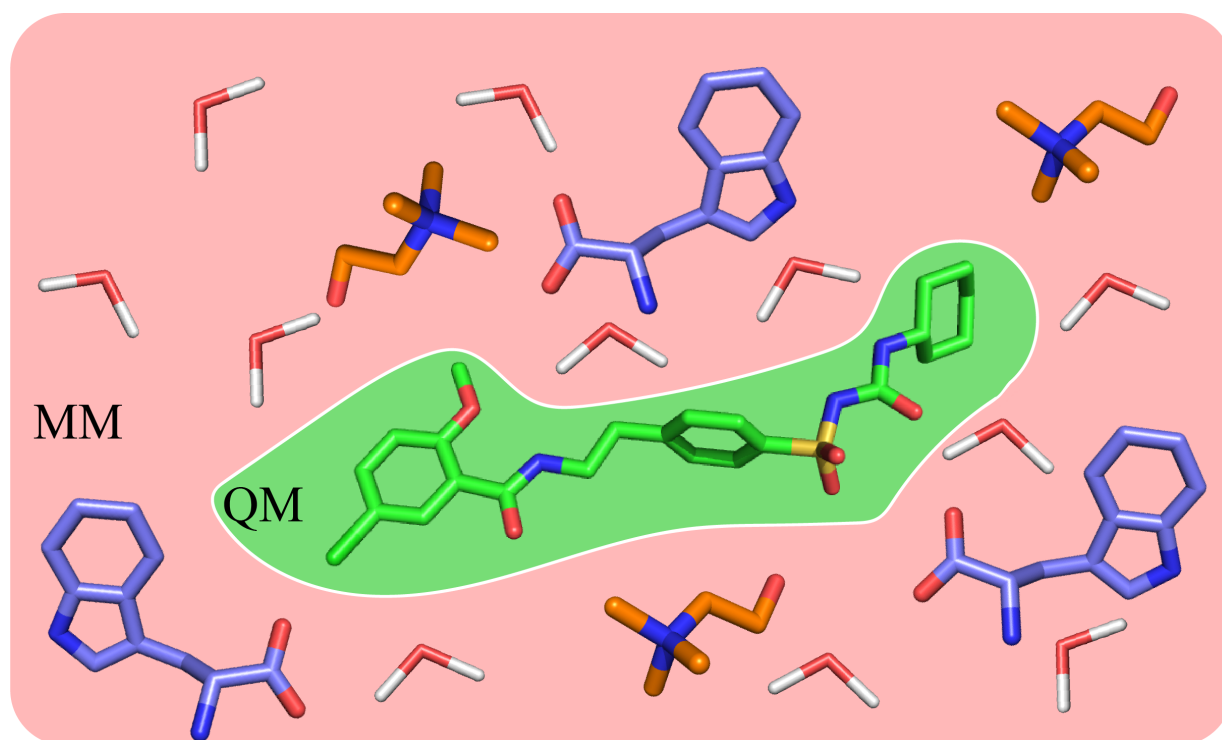
MD simuliacijų metu fiksuojamos ne tik sistemų molekulinės konfigūracijos, bet ir radialinio pasiskirstymo funkcijos (angl. *Radial Distribution Functions*, RDF). Jos suteikia svarbią struktūrinę informaciją apie kiekvienos sistemos molekulių išsidėstymą ir yra išreiškiamos kaip tikimybė rasti vieno tipo atomus (B) nutolusius nuo kito tipo atomų (A) tam tikru atstumu:

$$g_{AB}(r) = \frac{dN}{4\pi\rho r^2 dr} \quad (1.25)$$

čia $g_{AB}(r)$ – radialinio pasiskirstymo funkcija tarp atomų A ir B, dN – B atomų skaičius dr storio sferiniame sluoksnyje, nutolusiame nuo A atomo atstumu r , ρ – B atomų tankis ($\frac{N}{V}$), r – atstumas tarp atomų A ir B.

1.5 Jungtiniai kvantinės mechanikos ir molekulinės mechanikos metodai

Jungtinių kvantinės mechanikos ir molekulinės mechanikos (QM/MM) metodu galima tirti dideles molekulinės sistemas, kai išrenkama viena ar kelios molekulės, kurios yra svarbiausios ir kurių parametrus ketinama apskaičiuoti. Šių skaičiavimų metu tiriama sistema padalinama į dvi dalis – kvantinės mechanikos (QM) ir molekulinės mechanikos (MM) metodais apskaičiuojamas (1.9 pav.). QM dalyje yra dominanti molekulė ar jos dalis, pvz. aktyvusis fermento centras ar tirpinio molekulė. Taip pat į QM dalį galima pridėti ir daugiau molekulių, pvz. artimas tirpiklio molekulės, darančias įtaką tam tikriems molekulėms parametrams. Visoms molekulėms šioje dalyje taikomi kvantinės mechanikos skaičiavimų principai. MM dalis apima likusią sistemą, pvz. neaktyvią fermento dalį arba tirpiklio molekulės. Joms taikomi paprastesni, klasikinės mechanikos principai, dažniausiai jos vaizduojamos kaip taškiniai krūviai aplink QM dalyje esančias molekules. Naudojant QM/MM metodus, galima išlaikyti didelį kvantinių skaičiavimų tikslumą dominančioms molekulėms tuo pačiu sutaupant skaičiavimo resursų nenaudojant jų visai molekulinei sistemai.



1.9 pav. Kvantinės mechanikos – molekulinės mechanikos sričių pasiskirstymas glibenklamido vandeninio tirpalo su joniniu skysčiu sistemoje. QM – kvantinės mechanikos sritis, MM – molekulinės mechanikos sritis.

Sistemos MM dalis atvaizduojama naudojant jėgų lauką, kuriame molekulės atvaizduojamos kaip taškiniai krūviai, priskiriant po krūvį kiekvienam atomui. Taip pat krūviai gali būti priskiriami ir daug elektronų turinčioms sritims, pvz. cheminių ryšių vidurio taškams ar aromatinėms sistemoms. Galima sumodeliuoti ir kiekvienos molekulės MM srityje poliarizacines sąveikas, tuomet masės centrui yra suteikiamas poliarizuojamumo tenzorius, sukuriantis indukuotus dipolius.

Pilnoji QM/MM sistemos energija susideda iš kvantinės mechanikos, molekulinės mechanikos ir jų sąveikos energijų, todėl ir sistemos hamiltonianas susideda iš trijų dalių:

$$\hat{H} = \hat{H}_{\text{QM}} + \hat{H}_{\text{QM/MM}} + \hat{H}_{\text{MM}} \quad (1.26)$$

Čia \hat{H}_{QM} yra Borno – Openheimerio hamiltonianas, \hat{H}_{MM} aprašo klasikines sąveikas tarp MM srities molekulių, o $\hat{H}_{\text{QM/MM}}$ išreiškiamas vidutinio lauko aproksimacija ir yra sistemos hamiltoniano dėmuo, aprašantis sąveikas tarp QM ir MM sričių:

$$\hat{H}_{\text{QM/MM}} = \hat{H}_{\text{pol}} + \hat{H}_{\text{elst}} \quad (1.27)$$

$\hat{H}_{\text{QM/MM}}$ susideda iš \hat{H}_{pol} , kuris įvertina bendrą poliarizaciją tarp QM ir MM sričių, atsižvelgiant į daugelio kūnų efektus, ir \hat{H}_{elst} , aprašančio elektrostazines sąveikas tarp elektronų ir branduolių su taškiniais krūviais MM ir QM srityse [53].

2 Tyrimo metodika

Darbe aprašyti skaičiavimai vykdyti atviros prieigos skaičiavimo centro „HPC Saulėtekis“ aukšto našumo superkompiuteriu Vilniaus universiteto Fizikos fakultete, bei Umeå technologijos instituto aukšto našumo skaičiavimo centro HPC2N (angl. *High Performance Computing Center North*) superkompiuteriu.

Glibenklamido, cholino ir triptofano jonų struktūros sukonstruotos, naudojant programas GaussView 5.0 [54] ir Avogadro [55], jų geometrijos optimizuotos naudojant programą Gaussian16 [56]. Molekulinės dinamikos (MD) simuliacijoms vykdyti naudota programa AMBER20 [57], jungtiniai kvantinės mechanikos / molekulinės mechanikos (QM/MM) skaičiavimai atlikti programa Dalton [58].

2.1 Molekulinės dinamikos simuliacijos

2.1.1 MD simuliacijų parametrai

Glibenklamido, cholino ir triptofano jonų molekulių geometrijos optimizuotos naudojant Hartrio-Foko elektroninės struktūros metodą [59] ir 6-31G* vienelektronę bazę [60]. Elektrostatiniai atomų potencialai optimizuotoms glibenklamido, cholino ir triptofano jonų konformacijoms buvo suskaičiuoti pagal Merzo – Kolmano schemą, naudojant Hartrio-Foko metodą [59] ir 6-31G* vienelektronę bazę [60]. Atomų krūviai apskaičiuoti naudojant apriboto elektrostatinio potencialo (angl. *Restrained Electrostatic Potential*, RESP) metodą, programos AMBER įrankiu Antechamber [61, 62]. Lenardo – Džounso ir kitų atominių potencialų parametrai atomams parinkti automatiškai pagal jų tipus, naudojant įrankį *tleap*. Vandens molekulėms naudotas TIP3P modelis [63], o norint išlaikyti sistemas neutralias, kiekvienoje iš jų pridėta po vieną Na⁺ joną. MD simuliacijoms naudotas GAFF jėgų lauko [64] parametrų rinkinys.

2.1.2 MD simuliacijų vykdymas

MD simuliacijos buvo vykdytos dviem sistemoms – glibenklamidui esant vandeniniame tirpale (Glb_{aq}) arba vandens bei joninio skysčio mišinyje (Glb_{IL/eq}, joninio skysčio molinė dalis $\chi_{IL}=0,01$). Tokia joninio skysčio dalis tirpale pasirinkta, žinant, kad joninio skysčio porų vandeniniame tirpale formavimui reikia bent 1,5 masės % ($\chi_{IL}=0,001$) joninio skysčio [7]. Pasirinkta naudoti didesnę JS molinę dalį, kad simuliacijos dėžėje užtikrintai vyktų tarpmolekulinės sąveikos tarp glibenklamido ir joninio skysčio molekulių. Abiejose sistemose glibenklamidas buvo deprotonotas, nes sulfonamidinės grupės $pK_a=5,5$ [8], o skaičiavimai atlikti vandeninėje aplinkoje, todėl glibenklamidas būtų joninėje formoje. Glibenklamido vandeniniame tirpale sistemą sudarė vienas glibenklamido anijonas ir 3000 vandens molekulių. Sistemą, kurioje glibenklamidas ištirpintas vandens ir joninio skysčio mišinyje sudarė glibenklamido anijonas, 30 joninių porų (30 triptofano ir 30 cholino jonų) ir 3000 vandens molekulių. Taip pat į kiekvieną sistemą buvo pridėtas vienas Na⁺ katijonas, kad būtų palaikomas neutralus sistemos krūvis. Pradinės sistemų konfigūracijos sukonstruotos naudojant programą Packmol [65].

MD simuliacijos vykdytos 298 K temperatūroje ir atliktos keliais etapais, kad būtų efektyviai pasiekta statistinė pusiausvyra. Pirmiausia vykdytos 3 ns simuliacijos NPT ansamblyje, kurių metu leidžiama kisti sistemos tūriui, bet palaikomas pastovus 101,3 kPa slėgis. Po šios simuliacijos pasiekus pusiausvirąjį sistemos tankį, pereita prie simuliacijų NVT ansamblyje išlaikant pastovų sistemos tūrį ir leidžiant kisti jos slėgiui. Pirmoji simuliacija, kurios metu pasiekta termodinaminė pusiausvyra, vykdyta 5 ns. Antroji simuliacija, kurios metu buvo registruojamos molekulinės konfigūracijos, vykdyta 40 ns, konfigūracijas fiksuojant kas 1 ps. Iš kiekvienos sistemos atrinkta po 200 molekulinę konfigūracijų, išrinktų kas 200 ps, jos naudotos QM/MM skaičiavimams.

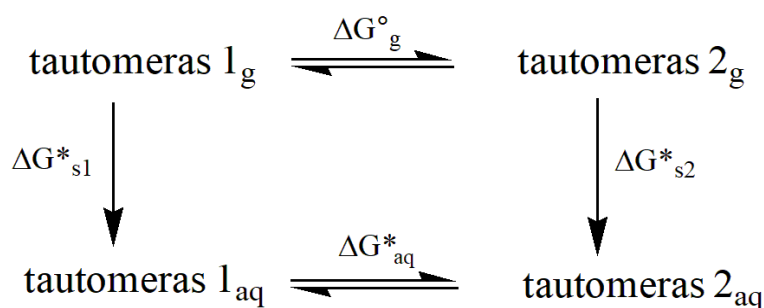
Simuliacijoms taikytos periodinės kraštinės sąlygos, sąveikos tarp atomų, esančių didesniu nei 16 Å atstumu (angl. *cutoff distance*), laikytos nykstamai mažomis. Niutono judėjimo lygtys integruotos, naudojant *leap-frog* integravimo metodą, integravimo žingsnelis – 1 fs. Simuliacijose naudotas Berendseno barostatas [46] ir Lanževeno termostatas [41, 47, 48]. Palaikyti pastovaus ilgio cheminiams ryšiams su vandenilio atomais, naudotas *settle* algoritmas, o pastoviai vandens molekulių geometrijai – *rattle* algoritmas.

2.2 Tautomerinės pusiausvyros konstantos apskaičiavimas

Glibenklamidas gali egzistuoti keliuose tautomerinėse formose, todėl buvo svarbu išrinkti, kurią iš jų reikėtų naudoti. Tam išsiaiškinti buvo apskaičiuotos tautomerinės pusiausvyros konstantos tarp glibenklamido jono tautomerų. Pirmiausia, naudojant Gaussian09 M05-2X tankio funkcionalą [66] su cc-pVTZ baze [67] ir SMD (angl. *Solvation Model based on Density*) [68] solvatacijos modeliu, buvo apskaičiuotos keturių glibenklamido tautomerų (3.1 pav.) laisvosios Gibso ir elektroninės energijos dujų fazėje ir vandenyje. Tai leido įvertinti tautomerinės pusiausvyros konstantą pK_T , kuri susijusi su virsmo tarp tautomerų reakcijos laisvąja Gibso energija taip:

$$pK_T = \frac{\Delta G_{aq}^*}{RT \ln 10} = -\lg \frac{[taut_1]}{[taut_2]} \quad (2.1)$$

čia T – temperatūra (K), R – universalioji dujų konstanta (kJ/(mol · K)), $[taut_1]$ ir $[taut_2]$ – glibenklamido tautomerų koncentracijos tirpale.



2.1 pav. Glibenklamido tautomerų termodinaminis ciklas tarp dujinės būsenos ir vandeninio tirpalo.

Pagal termodinaminį ciklą pavaizduotą 2.1 pav., Gibso laisvoji energija vykstant tautomeriniam virsmui garų fazėje išreiškiama taip:

$$\Delta G_g^o = G_g^o(\text{taut}_2) - G_g^o(\text{taut}_1) \quad (2.2)$$

Apskaičiuota tautomero solvatacijos laisvoji energija lygi:

$$\Delta G_s^*(x) = G_{\text{aq}}^*(x) - E_{\text{el}}^*(x) \quad (2.3)$$

Tuomet laisvoji Gibso energija, vykstant tautomeriniam virsmui tirpiklyje, lygi:

$$\Delta G_{\text{aq}}^* = \Delta G_g^o + \Delta G_{s2}^* - \Delta G_{s1}^* \quad (2.4)$$

$$= \Delta G_g^o + \Delta \Delta G_s^* \quad (2.5)$$

Apskaičiavus tautomerų virsmo laisvąją energiją ΔG_{aq}^* , pagal (2.1) apskaičiuotos glibenklamido jono ir trijų jo tautomerų tautomerinės pusiausvyros konstantos.

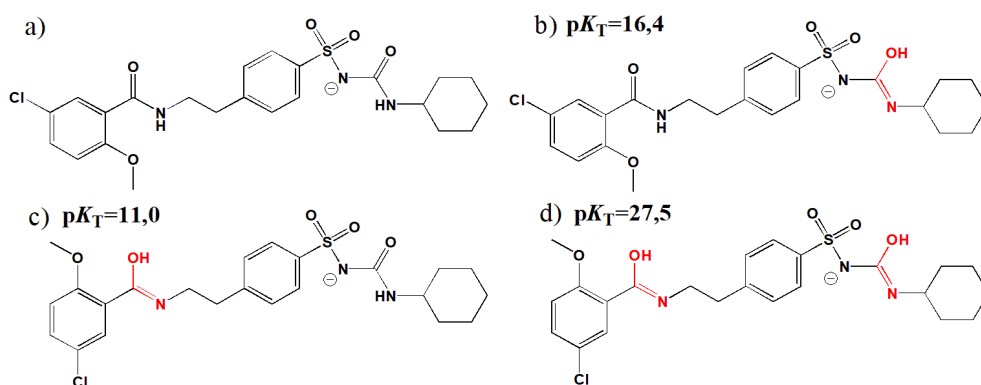
2.3 Magnetinio ekranavimo konstantų skaičiavimai

Ekranavimo konstantos buvo apskaičiuotos naudojant def2-TZVP bazę [69, 70] ir PBE0 tankio funkcionalą [71]. Į kvantinės mechanikos (QM) dalį įtraukta tik glibenklamido molekulė. Molekulės buvusios molekulinės mechanikos dalyje aprašytos kaip taškiniai krūviai. Į skaičiavimus įtrauktos molekulės, esančios ne toliau nei 20 Å atstumu nuo centrinės glibenklamido molekulės, į kiekvieną skaičiavimą vandeninio glibenklamido tirpalo sistemoje įtraukiant 1062-1121 molekulių, o vandens ir joninio mišinio sistemoje – 882-1015 molekulių. Įvesties failai programai Dalton2019 paruošti naudojant programą Whirlpool 1.14. [72]. QM/MM skaičiavimai atlikti 200-ams molekulinėms konfigūracijoms, apskaičiuotos ekranavimo konstantos yra aritmetiniai vidurkiai iš visų šių konfigūracijų.

3 Rezultatai ir jų aptarimas

3.1 MD simuliacijos

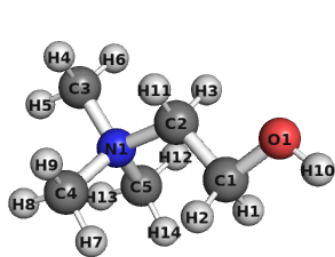
Ekspertiškai parodyta, kad cholino-triptofanato joninio skysčio (nuo molinės dalies $\chi_{IL} = 1,14 \cdot 10^{-5}$) ir vandens mišiniuose, vaistinio preparato glibenklamido tirpumas išauga iki 27 mg/mL – net 130-600 kartų palyginus su tirpumu vandenyje (15-24 $\mu\text{g/mL}$) [7]. Šiame darbe bandyta išsiaiškinti, kokios tarpmolekulinės sąveikos tai lemia. Darbe glibenklamidas naudotas anijoninėje formoje, nes jo sulfonamidinės grupės $pK_a = 5,5$ [8], taigi tirtuose vandeniniuose tirpaluose šis junginys yra deprotonuotas. Glibenklamido anijonas gali egzistuoti keliose skirtingose tautomerinėse formose (3.1 pav.), todėl buvo svarbu rasti, kuri tautomerą reikėtų tirti. Tam buvo apskaičiuotos tautomerinės pusiausvyros konstantos tarp pirmojo (3.1 pav. a) ir kitų trijų glibenklamido tautomerų. Konstantos pK_T apskaičiuotos naudojant DFT metodus ir SMD tirpiklio modelį bei termodinaminius ciklus, kaip aprašyta 2.2 skyrelyje.



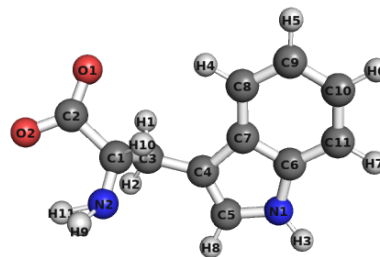
3.1 pav. Glibenklamido jono tautomerai. Raudona spalva pažymėti tautomeriniai persitvarkymai tautomero a) atžvilgiu; nurodytos pK_T apskaičiuotos pirmojo tautomero atžvilgiu.

Apskaičiuotos visų trijų tautomerų tautomerinės pusiausvyros konstantos pateiktos 3.1 paveiksle. Visos pK_T buvo kur kas didesnės už nulį, dėl didelių jų verčių galime teigti, kad tautomerai (3.1 b-d) tirpale nebus stebimi, tautomerinė pusiausvyra yra pasislinkusi į pirmojo tautomero (3.1 pav. a) pusę, todėl darbe pasirinkta naudoti jį.

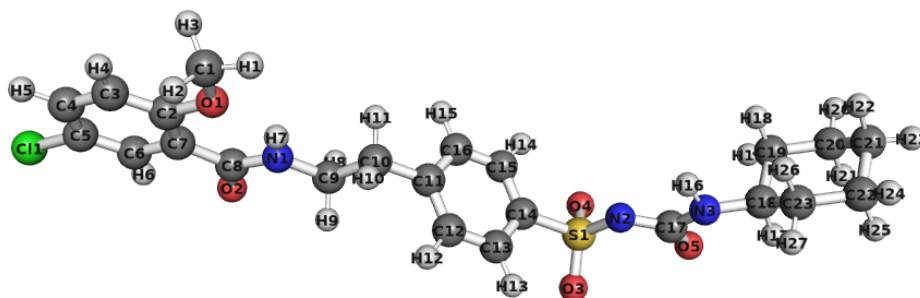
Norint išsiaiškinti, kokios tarpmolekulinės sąveikos nulemia glibenklamido tirpumo pokyčius į vandeninį tirpalą pridėjus cholino-triptofanato joninio skysčio, tirtos dvi sistemos: glibenklamidui esant vandeniniame tirpale (Glb_{aq}) ir vandens bei joninio skysčio mišinyje ($\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$, $\chi_{IL}=0,01$). Glibenklamido (Glb), cholino (Cho) ir triptofano (Trp) jonų molekulinės geometrijos buvo optimizuotos (3.2 pav.) ir naudotos molekulinės dinamikos (MD) simuliacijų jėgų lauko parametrus išvesti, bei kaip pradinės geometrijos. MD simuliacijos atliktos normaliomis termodinaminėmis sąlygomis, naudotas GAFF jėgų laukas [64]. Simuliacija kintant sistemos tūriui vykdyta 3 ns, termodinaminės pusiausvyros pasiekimui – 5 ns, o simuliacija, kurios metu buvo registruotos molekulinės konfigūracijos – 40 ns. Jos metu abiems sistemoms (Glb_{aq} ir $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$) užfiksuotos dvi statistiškai nepriklausomų molekulinė konfigūracijų imtys, po to naudotos glibenklamido konformacinei analizei.



(a) cholino jonas



(b) triptofano jonas

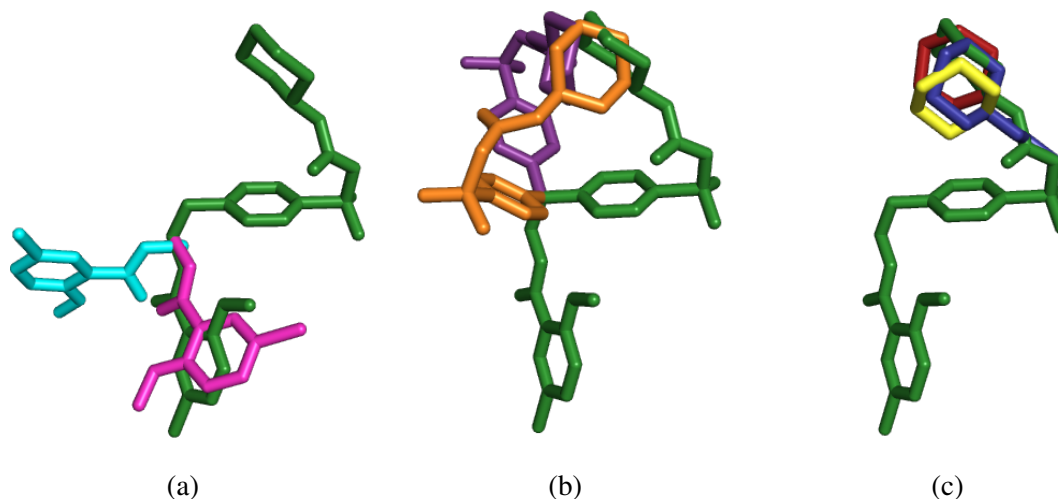


(c) glibenklamido jonas

3.2 pav. Optimizuotos jonų struktūros ir atomų žymėjimai.

Išanalizavus dvisienius kampus tarp pasirinktų glibenklamido molekulės atomų, buvo tirta, kokiose konformacijose ši molekulė egzistuoja tirpaluose (3.3 pav.) ir kurios jos funkcinės grupės labilios tirpale. Pirmiausia patikrinta, ar simuliacijų metu išlieka vidumolekulinis vandenilinis ryšys tarp glibenklamido O1 ir H7 atomų (atomų numeracija pateikta 3.2 paveiksle). Priedo paveiksle (A.1a pav.) pavaizduotas dvisienio kampo C2-C7-C8-N1 kitimas, jo dažniausiai stebėta vertė 0° , tai palanki konformacija vandeniliniam ryšiui. Retkarčiais šio kampo vertės varijavo $+120^\circ$ – $+180^\circ$, -120° – -180° intervaluose iširus vandeniliniam ryšiui, tai dažniau vyko $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$ sistemoje. Taip pat įvertintas C2 – C7 benzeno žiedo sukimasis apie ryšį C9 – C10. Pagal dvisienio kampo N1-C9-C10-C11 (A.1b pav.) vertes matoma, kad šis kampas dažniausiai yra apie $\pm 60^\circ$, kartais $\pm 180^\circ$. $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$ sistemoje šis kampas kinta dažniau, nei Glb_{aq} , kur jo dažniausia vertė -60° , C2 – C7 benzeno žiedas vandens aplinkoje nėra stabilioje konformacijoje. Taip pat vyksta ir cikloheksano žiedo sukimasis apie N3 – C18 jungtį abiejose sistemose, stebėtos dvisienio kampo C17-N3-C18-C19 vertės $+90^\circ$ arba $+150^\circ$ (A.1c pav.). MD simuliacijų metu ilgesnį laiką išlikę skirtumai tarp glibenklamido konformacijos Glb_{aq} ir $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$ sistemose matomi ties sulfonamidinė grupe. Dvisienio kampo S1-N2-C17-N3 vertė Glb_{aq} sistemoje išsilaiko apie -120° , o $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$ apie $+120^\circ$, bet simuliacijos pabaigoje taip pat persiverčia į -120° (A.1e pav.). Taip pat skiriasi ir dvisienis kampas C14-S1-N2-C17, Glb_{aq} sistemoje jo vertės varijuoja apie $+15^\circ$, o $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$ apie -15° (A.1d pav.), kol kaip ir S1-N2-C17-N3 kampas, simuliacijos pabaigoje atsiverčia į $+15^\circ$. Kon-

formacinė glibenklamido molekulės analizė parodė, molekulės konformacija tirpaluose yra dinamiška ir negalima teigti, kad yra reikšmingų pokyčių tarp konformacijų Glb_{aq} ir Glb_{IL/eq}, išskyrus sulfonamidinės grupės dvisienius kampus. Taip pat matoma, kad glibenklamido molekulė pasisuka taip, kad jos hidrofobinės dalys (aromatiniai ir cikloheksano žiedai) kuo mažiau kontaktuotų su vandeniu.



3.3 pav. Dažniausios glibenklamido konformacijos vandeniniuose tirpaluose.

- a) C2 – C7 benzeno žiedo padėties kitimas, b) C11 – C16 benzeno žiedo padėties kitimas, c) cikloheksano žiedo padėties kitimas.

Taip pat iš MD simuliacijų gautos radialinio pasiskirstymo funkcijos (RDF), pagal kurias galima nustatyti tarpmolekulinę skysčio struktūrą, susidarancius vandenilinius ryšius bei kitas sąveikas. Jei tarp atomų susiformuoja vandenilinis ryšys, tai tipiškai radialinio pasiskirstymo funkcijoje tarp vandenilinio ryšio donorinės grupės vandenilio ir vandenilinio ryšio akceptoriaus 1,5 – 2,0 Å srityje matoma aiškiai išreikšta smailė. RDF suintegravus sferiškai ir padauginus iš dalelių skaitinio tankio pagal (3.1) lygtį, galima apskaičiuoti koordinacijos skaičių, parodantį, kiek vidutiniškai atomų B yra šalia atomų A.

$$N = 4\pi\rho_B \int_0^x r^2 g_{AB}(r) dr \quad (3.1)$$

Čia N – koordinacijos skaičius, ρ_B – atomų B tankis homogeninėje sistemoje (N_B/V), r – atstumas tarp A ir B atomų, $g_{AB}(r)$ – radialinio pasiskirstymo funkcija tarp atomų A ir B.

Radialinio pasiskirstymo funkcijas galima skaičiuoti ne tik tarp dviejų atomų, bet ir tarp atomų grupių. Norint išsiaiškinti ar joninio skysčio jonai sąveikauja su glibenklamido molekule, buvo patikrinta, ar skiriasi vandens molekulių skaičius artimoje glibenklamido aplinkoje Glb_{aq} ir Glb_{IL/eq} sistemose. Suintegravus atitinkamas radialinio pasiskirstymo funkcijas pagal (3.1) lygtį, buvo apskaičiuoti koordinacijos skaičiai tarp glibenklamido ciklinių struktūrų ir vandens, bei ciklinių struktūrų ir triptofanato indolo grupės ir cholino N1 ir H10 atomų (1 lentelė). Aplink Glb C2 – C7 benzeno žiedą Glb_{aq} sistemoje rasta vidutiniškai 15,4 vandens molekulių, o Glb_{IL/eq} – vos 8,7. Dalis jų pakeista Trp ir Cho molekulėmis (1 lentelė). Glb C11 – C16 benzeno žiedas Glb_{aq} sistemoje buvo apsuptas vidutiniškai 13,7 vandens molekulių, iš kurių Glb_{IL/eq} sistemoje liko tik 9,2. Vietoje

jų matomos vidutiniškai 1,3 Trp indolo grupės ir 0,5 Cho H10 atomo. Glibenklamido cikloheksano žiedo Glb_{aq} sistemoje artimoje aplinkoje aptiktos 22 vandens molekulės, o Glb_{IL/aq} sistemoje – vos 16,2, vietoje jų kaip ir kitais atvejais atsirado sąveikos su triptofanato indolo žiedais, taip pat ir cholino N1 bei H10 atomais. Matoma, kad Glb_{IL/aq} sistemoje JS jonai apsupa glibenklamido molekulę išstumdami iš jos artimos aplinkos dalį vandens molekulių.

1 lentelė. Glibenklamido ciklinių funkcinių grupių koordinacijos skaičiai Glb_{aq} ir Glb_{IL/aq} sistemose (Wat - vandens molekulės).

	Glb C2-C7		Glb C11-C16		Glb cikloheksanas	
	Glb _{aq}	Glb _{IL/aq}	Glb _{aq}	Glb _{IL/aq}	Glb _{aq}	Glb _{IL/aq}
Wat O	15,38	8,72	13,66	9,20	21,97	16,22
Cho H10	-	0,31	-	0,53	-	0,68
Cho N1	-	0,16	-	0,08	-	0,66
Trp Indolas	-	0,43	-	1,34	-	1,22

Ieškant specifinių glibenklamido ir JS jonų sąveikų, apskaičiuoti koordinacijos skaičiai tarp visų atomų, galinčių sudaryti vandenilinius ryšius (svarbiausi pateikti 2 lentelėje). Vandenilinio ryšio akceptoriais glibenklamido molekulėje gali būti chloro atomas (C11), azoto (N2) ir deguonies (O1-O5) atomai. Kai vandeniniame mišinyje yra joninio skysčio, dalinį neigiamą krūvį turintį Glb C11 atomą iš dalies koordinuoja teigiamą krūvį turinti cholino trimetilmetilamonio grupė, nes apskaičiuotas Glb C11 – Cho N1 koordinacijos skaičius 0,49. Neigiamą krūvį turintis Glb N2 atomas Glb_{aq} sistemoje yra apsuptas vandens (koord. sk. 0,91), o Glb_{IL/aq} mišinyje dalį vandens pakeičia cholino ir triptofanato jonai (koord. sk. su Cho H10 0,11, su Trp H3 – 0,09). Glibenklamido deguonies atomų aplinka skirtinga: Glb O1 atomas, kaip matyta ir iš konformacinės analizės, palaiko vidumolekulinį vandenilinį ryšį su Glb H7 abiejose sistemose (koord. sk. 0,72). Glb O2 vandeninėje sistemoje sudaro vandenilinius ryšius su vandeniu (koord. sk. 1,05), o Glb_{IL/aq} taip pat stebimos sąveikos ir su triptofanato amino grupių ir cholino hidroksigrupės vandenilio atomais. Čia ir toliau, pavieniai koordinaciniai skaičiai tarp glibenklamido ir JS jonų atomų neviršijo 0,1. Glb O3 ir Glb O4 vandenyje vidutiniškai sudaro kiek daugiau nei 1 vandenilinį ryšį su vandens molekulėmis (koord. sk. Glb O3 ir Glb O4 su Wat H 1,16), esant joninio skysčio sąveikauja ir su Trp H3 bei Cho H10 atomais. Glb O5 Glb_{aq} sistemoje taip pat sudaro vandenilinį ryšį su vandens molekulėmis (koord. sk. 0,94), o Glb_{IL/aq} ir su Trp H3 ir Cho H10 atomais. Vienas iš glibenklamido vandenilinio ryšio donorų – H7, kaip minėta, sudaro vidumolekulinį vandenilinį ryšį su O1, o H16 – vandenilinį ryšį su vandens molekulėmis abiejose sistemose, tik Glb_{IL/aq} sistemoje Glb H16 - Wat O koordinacijos skaičius sumažėja nuo 0,82 iki 0,71. Pastebėta, kad nors pavieniai koordinacijos skaičiai tarp Glb ir JS jonų atomų nėra dideli, jie susideda į didesnius skaičius (0,1 – 0,2), tad sąveikos yra, tačiau ne itin specifinės. Tuo tarpu nespecifinės sąveikos tarp glibenklamido ciklinių grupių ir cholino bei triptofanato jonų yra dažnesnės.

Galima teigti, kad cholino ir triptofanato jonai nesudaro specifinių sąveikų su glibenklamido molekule, hidrofilinės molekulės dalys kaip sulfonamidinė, -NH lieka prieinamos vandeniui ir Glb_{aq}, ir Glb_{IL/aq} sistemose. JS jonai daugiausiai nuo vandens uždengia hidrofobines glibenklami-

2 lentelė. Glibenklamido atomų koordinacijos skaičiai Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$ sistemose (Wat - vandens molekulės).

	Glb O2		Glb O3		Glb O4		Glb O5		Glb N2	
	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$
Wat H	1,05	0,84	1,14	1,00	1,18	0,98	0,94	0,81	0,91	0,74
Cho H10	-	0,03	-	0,03	-	0,02	-	0,04	-	0,11
Trp H3	-	0,07	-	0,06	-	0,08	-	0,10	-	0,09
Trp H9	-	0,03	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00
Trp H11	-	0,02	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00

	Glb H16		Glb Cl1		Glb O1	
	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$	Glb_{aq}	$Glb_{IL/aq}$
Wat O	0,82	0,71	-	-	-	-
Cho N1	-	-	-	0,49	-	-
Glb H7	-	-	-	-	0,72	0,72

do molekulės dalis, t. y. aromatinės sistemos ir cikloheksano žiedą, o tai galimai ir yra padidėjusio glibenklamido tirpumo vandenyje priežastis.

3.2 ^1H BMR parametrai

Atlikus Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$ sistemų MD simuliacijas ir atrinkus molekulinės konfigūracijas kas 200 ps, naudojant QM/MM skaičiavimus apskaičiuotos glibenklamido protonų magnetinio ekranavimo konstantos (σ). Dažniausiai kaip BMR matavimų rezultatai pateikiami cheminiai poslinkiai, apskaičiuojami iš ekranavimo konstantų, naudojant tam tikro junginio (dažnai tetrametilsilano, TMS) signalą kaip atskaitos tašką, pagal (3.2) formulę. Kuo didesnė atomo ekranavimo konstanta, tuo mažesnis jo cheminis poslinkis. Šiame darbe likta ties ekranavimo konstantomis, kadangi nesiekama kiekybinio atitikimo su eksperimentiniais cheminiais poslinkiais, o ieškoma ekranavimo konstantų kitimo, kuris gali paaiškinti sąveikas, padidinančias glibenklamido tirpumą vandenyje.

$$\delta^i = \sigma_{ref}^i - \sigma^i \quad (3.2)$$

Didžiausi ekranavimo konstantų pokyčiai tarp Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$ sistemų stebimi amidinių grupių (H7 ir H16) ir netoli jų esančių protonų (H9, H10, H11) bei cikloheksano (H21-H27) vandens atomams (3 lentelė). Iš to galima spręsti, kad šios glibenklamido molekulės grupės dalyvauja tarpmolekulinėse sąveikose, galimai didinančiose glibenklamido tirpumą vandenyje. Ekranavimo konstantų pokyčiai dera ir su atomų koordinacijos skaičių pokyčiais (1 lentelė, 2 lentelė), nes pasikeitus minėtų sričių artimai molekulinei aplinkai, atitinkamai kinta ir ^1H BMR parametrai. Ekranavimo konstantų standartiniai nuokrypiai taip pat suteikia informacijos apie molekulės konformacinius pokyčius. Judriose molekulės vietose, kurios jautrios konformaciniams pokyčiams, ekranavimo konstantos varijuoja didesniame verčių intervale. Šie rezultatai koreliuoja su iš MD simuliacijų

gauta informacija apie glibenklamido dvisienių kampų kitimą simuliacijų metu – protonų ties judriais dvisieniais kampais, kaip N1-C9-C10-C11, C17-N3-C18-C19, ekranavimo konstantos varijuoja labiau.

3 lentelė. Glibenklamido atomų magnetinio ekranavimo konstantos σ , kur matomi didžiausi pokyčiai $\Delta\sigma$ tarp Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$ sistemų.

Atomas	Glb_{aq}		$Glb_{IL/aq}$		$\Delta\sigma$, m. d.
	σ , m. d.	\pm SD, m. d.	σ , m.d.	\pm SD, m. d.	
H7	24,69	0,08	24,97	0,08	0,28
H9	27,75	0,04	27,85	0,03	0,10
H10	28,39	0,02	28,49	0,02	0,10
H11	28,54	0,02	28,49	0,02	-0,05
H16	25,47	0,06	25,39	0,06	-0,08
H17	29,25	0,04	29,12	0,04	-0,13
H21	30,83	0,05	30,74	0,04	-0,09
H22	30,86	0,03	30,79	0,03	-0,07
H23	30,39	0,03	30,31	0,03	-0,08
H24	30,47	0,04	30,15	0,03	-0,32
H25	30,97	0,04	30,64	0,04	-0,33
H26	31,20	0,04	30,92	0,03	-0,28
H27	30,59	0,05	29,96	0,03	-0,63

Iš atliktos konformacinės analizės, apskaičiuotų koordinacijos skaičių ir protonų magnetinio ekranavimo konstantų pokyčių, galime daryti prielaidą, kad glibenklamido tirpumą vandenyje padidina tarpmolekulinės sąveikos tarp cholino bei triptofanato jonų ir glibenklamido amidinių grupių, aromatinių žiedų ir cikloheksano žiedo.

Išvados

1. Apskaičiavus glibenklamido jono tautomerų pusiausvyros konstantas pK_T išsiaiškinta, kuris glibenklamido jono tautomeras yra stabiliausias vandeninėje aplinkoje, jis pavaizduotas (3.1 pav. a).
2. Dvisienių kampų tarp glibenklamido atomų analizė parodė, kad molekulės konformacija vandeninio tirpalo (Glb_{aq}) ir vandens mišinio su joniniu skysčiu ($Glb_{IL/aq}$) sistemose yra dinamiška ir nespecifinė sistemai. Abiejose sistemose glibenklamido konformacija tokia, kad su vandeniu kontaktuojančio paviršiaus plotas būtų kuo mažesnis.
3. Apskaičiavus koordinacinius skaičius tarp glibenklamido ir joninio skysčio jonų atomų matoma, kad specifinių sąveikų tarp šių molekulių nėra. Hidrofilinės glibenklamido funkcinės grupės abiejose sistemose (Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$) sąveikauja su vandeniu, $Glb_{IL/aq}$ sistemoje joninio skysčio jonai apsupa hidrofobines glibenklamido dalis – aromatinčius ir cikloheksano žiedus.
4. Glibenklamido protonų magnetinio ekranavimo konstantų skirtumai tarp Glb_{aq} ir $Glb_{IL/aq}$ sistemų nėra dideli, stebimi tose molekulės vietose, kur jos artimoje aplinkoje vandenį pakeičia joninis skystis – šalia ciklinių struktūrų ir amidinių grupių. Galima daryti prielaidą, kad joninio skysčio jonų sąveikos su šiomis glibenklamido molekulės dalimis ir yra jo padidėjusio tirpumo vandenyje priežastis.

Literatūra

- [1] L. Luzi and G. Pozza, Glibenclamide: an old drug with a novel mechanism of action?, *Acta Diabetologica*, 1997, **34**, 239–244.
- [2] M. Al, M. Al-Karagholi, M. Sode, A. Gozalov, and M. Ashina, The vascular effect of glibenclamide: A systematic review:, <https://doi.org/10.1177/2515816319884937>, 2019, **2**, 1–13.
- [3] G. Zhang, X. Lin, S. Zhang, H. Xiu, C. Pan, and W. Cui, A Protective Role of Glibenclamide in Inflammation-Associated Injury, *Mediators of Inflammation*, 2017, **2**, 1–11.
- [4] M. Maher and E. Mohamed, In vitro and in vivo evaluation of glibenclamide using surface solid dispersion (ssd) approach, *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2011, **2**, 51–62.
- [5] A. A. Elkordy, A. Jatto, and E. Essa, In situ controlled crystallization as a tool to improve the dissolution of glibenclamide, *International Journal of Pharmaceutics*, 2012, **428**, 118–120.
- [6] E. Vaculikova, A. Pokorna, D. Placha, *et al.*, Improvement of Glibenclamide Water Solubility by Nanoparticle Preparation, *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2019, **19**, 3031–3034.
- [7] M. A. Alawi, I. I. Hamdan, A. A. Sallam, and N. A. Heshmeh, Solubility enhancement of glibenclamide in choline-tryptophan ionic liquid: Preparation, characterization and mechanism of solubilization, *Journal of Molecular Liquids*, 2015, **212**, 629–634.
- [8] E. G. C. Clarke and A. C. Moffat, *Clarke's Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids, and Post-mortem Material*. Pharmaceutical Press, 1986.
- [9] J. M. Simard, S. K. Woo, G. T. Schwartzbauer, and V. Gerzanich, Sulfonylurea receptor 1 in central nervous system injury: a focused review, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2012, **32**, 1699–1717.
- [10] J. Liao, V. S. Kapadia, L. S. Brown, *et al.*, The NLRP3 inflammasome is critically involved in the development of bronchopulmonary dysplasia, *Nature communications*, 2015, **6**, 8977.
- [11] W. Cui, S. Zhang, Z. Cai, *et al.*, The antidiabetic agent glibenclamide protects airway hyperresponsiveness and inflammation in mice, *Inflammation*, 2015, **38**, 835–845.
- [12] J. M. York, K. J. Castellanos, R. J. Cabay, and G. Fantuzzi, Inhibition of the nucleotide-binding domain, leucine-rich containing family, pyrin-domain containing 3 inflammasome reduces the severity of experimentally induced acute pancreatitis in obese mice, *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*, 2014, **164**, 259–269.
- [13] M. Y. Ling, Z. Y. Ma, Y. Y. Wang, J. Qi, L. Liu, L. Li, and Y. Zhang, Up-regulated ATP-sensitive potassium channels play a role in increased inflammation and plaque vulnerability in macrophages, *Atherosclerosis*, 2013, **226**, 348–355.
- [14] G. Vanelli, S. Hussain, and G. Aguggini, Glibenclamide, a blocker of ATP-sensitive potassium channels, reverses endotoxin-induced hypotension in pig, *Experimental physiology*, 1995, **80**, 167–170.
- [15] A. A. Al-Badr, Proton NMR Spectrometric Analysis of Glibenclamide and Tolazamide and Some of Their Pharmaceutical Preparations, *Spectroscopy Letters: An International Journal for Rapid Communication*, 1983, **16**, 673–682.

- [16] F. J. McInnes, N. G. Anthony, A. R. Kennedy, and N. J. Wheate, Solid state stabilisation of the orally delivered drugs atenolol, glibenclamide, memantine and paracetamol through their complexation with cucurbit[7]uril, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2010, **8**, 765–773.
- [17] M. Remko, Theoretical study of molecular structure, pKa, lipophilicity, solubility, absorption, and polar surface area of some hypoglycemic agents, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 2009, **897**, 73–82.
- [18] D. Sanz, R. M. Claramunt, I. Alkorta, G. Sánchez-Sanz, and J. Elguero, The structure of glibenclamide in the solid state, *Magnetic Resonance in Chemistry*, mar 2012, **50**, 246–255.
- [19] K. Damodaran, Recent advances in NMR spectroscopy of ionic liquids, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2022, **129**, 1–27.
- [20] K. S. Egorova, E. G. Gordeev, and V. P. Ananikov, Biological Activity of Ionic Liquids and Their Application in Pharmaceuticals and Medicine, *Chemical Reviews*, 2017, **117**, 7132–7189.
- [21] J. M. Gomes, S. S. Silva, and R. L. Reis, Biocompatible ionic liquids: fundamental behaviours and applications, *Chem. Soc. Rev.*, 2019, **48**, 4317–4335.
- [22] W. L. Hough, M. Smiglak, H. Rodríguez, *et al.*, The Third Evolution of Ionic Liquids: Active Pharmaceutical Ingredients, *New Journal of Chemistry*, 2007, **31**, 1429–1436.
- [23] S. Domingos, V. André, S. Quaresma, I. C. Martins, M. F. Minas Da Piedade, and M. T. Duarte, New forms of old drugs: improving without changing, *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 2015, **67**, 830–846.
- [24] S. Jain, N. Patel, and S. Lin, Solubility and dissolution enhancement strategies: current understanding and recent trends, *Drug development and industrial pharmacy*, 2015, **41**, 875–887.
- [25] R. A. Faria and E. Bogel-Lukasik, Solubilities of pharmaceutical and bioactive compounds in trihexyl(tetradecyl)phosphonium chloride ionic liquid, *Fluid Phase Equilibria*, 2015, **397**, 18–25.
- [26] H. Mizuuchi, V. Jaitely, S. Murdan, and A. T. Florence, Room temperature ionic liquids and their mixtures: potential pharmaceutical solvents, *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 2008, **33**, 326–331.
- [27] A. D. dos Santos, A. R. Morais, C. Melo, R. Bogel-Lukasik, and E. Bogel-Lukasik, Solubility of pharmaceutical compounds in ionic liquids, *Fluid Phase Equilibria*, 2013, **356**, 18–29.
- [28] L. Gontrani, Choline-amino acid ionic liquids: past and recent achievements about the structure and properties of these really “green” chemicals, *Biophysical Reviews*, 2018, **10**, 873.
- [29] A. Szabo and N. S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry*. Dover Publications, 1996.
- [30] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*. John Wiley & Sons Ltd, 2007.
- [31] J. H. Jensen, *Molecular Modeling Basics*. CRC Press, 2010.
- [32] J. S. Anderson, G. Hernandez, and D. M. LeMaster, ¹³C NMR Relaxation Analysis of Protein GB3 for the Assessment of Sidechain Dynamics Predictions by Current AMBER and CHARMM Force Fields, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2020, 2896–2913.

- [33] I. Soteras Gutiérrez, F. Y. Lin, K. Vanommeslaeghe, J. A. Lemkul, K. A. Armacost, C. L. Brooks, and A. D. MacKerell, Parametrization of halogen bonds in the CHARMM general force field: Improved treatment of ligand–protein interactions, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2016, **24**, 4812–4825.
- [34] K. Aidas, K. Lanevskij, R. Kubilius, L. Juška, D. Petkevičius, and P. Japertas, Aqueous acidities of primary benzenesulfonamides: Quantum chemical predictions based on density functional theory and SMD, *Journal of Computational Chemistry*, 2015, **36**, 2158–2167.
- [35] D. Lengvinaite, K. Aidas, and L. Kimtys, Molecular aggregation in liquid acetic acid: Insight from molecular dynamics/quantum mechanics modelling of structural and NMR properties, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2019, **21**, 14811–14820.
- [36] J. A. Davies, M. W. Hanson-Heine, N. A. Besley, A. Shirley, J. Trowers, S. Yang, and A. M. Ellis, Dimers of acetic acid in helium nanodroplets, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2019, **21**, 13950–13958.
- [37] D. Petrović, X. Wang, and B. Strodel, How accurately do force fields represent protein side chain ensembles?, *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 2018, **86**, 935–944.
- [38] K. Aidas, J. M. H. Olsen, J. Kongsted, and H. Ågren, Photoabsorption of acridine yellow and proflavin bound to human serum albumin studied by means of quantum mechanics/molecular dynamics, *Journal of Physical Chemistry B*, 2013, **117**, 2069–2080.
- [39] E. Jankowski, N. Ellyson, J. W. Fothergill, *et al.*, Perspective on coarse-graining, cognitive load, and materials simulation, *Computational Materials Science*, 2020, **171**, 109129.
- [40] M. Kotzabasaki and G. E. Froudakis, Review of computer simulations on anti-cancer drug delivery in MOFs, *Inorganic Chemistry Frontiers*, 2018, **5**, 1255–1272.
- [41] M. P. Allen and D. J. Tildesley, Computer simulation of liquids: Second edition, *Computer Simulation of Liquids: Second Edition*, 2017, 1–626.
- [42] R. Elber, Long-timescale simulation methods, *Current Opinion in Structural Biology*, 2005, **15**, 151–156.
- [43] L. C. Pierce, R. Salomon-Ferrer, C. Augusto F. De Oliveira, J. A. McCammon, and R. C. Walker, Routine access to millisecond time scale events with accelerated molecular dynamics, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, **8**, 2997–3002.
- [44] J. L. Klepeis, K. Lindorff-Larsen, R. O. Dror, and D. E. Shaw, Long-timescale molecular dynamics simulations of protein structure and function, *Current Opinion in Structural Biology*, 2009, **19**, 120–127.
- [45] R. J. Sadus, *Molecular Simulation of Fluids*. Elsevier, 2002.
- [46] H. J. Berendsen, J. P. Postma, W. F. Van Gunsteren, A. Dinola, and J. R. Haak, Molecular dynamics with coupling to an external bath, *The Journal of Chemical Physics*, 1984, **81**, 3684–3690.
- [47] W. G. Hoover, A. J. Ladd, and B. Moran, High-Strain-Rate Plastic Flow Studied via Nonequilibrium Molecular Dynamics, *Physical Review Letters*, 1982, **48**, 1818–1820.
- [48] D. J. Evans, Computer experiment for nonlinear thermodynamics of Couette flow, *The Journal of Chemical Physics*, 1998, **78**, 3297–3302.

- [49] H. C. Andersen, Molecular dynamics simulations at constant pressure and/or temperature, *The Journal of Chemical Physics*, 1980, **72**, 2384–2393.
- [50] S. Nosé, A unified formulation of the constant temperature molecular dynamics methods, *The Journal of Chemical Physics*, 1984, **81**, 511–519.
- [51] D. J. Evans and B. L. Holian, The Nose-Hoover thermostat, *The Journal of Chemical Physics*, 1985, **83**, 4069–4074.
- [52] W. G. Hoover and B. L. Holian, Kinetic moments method for the canonical ensemble distribution, *Physics Letters, Section A: General, Atomic and Solid State Physics*, 1996, **211**, 253–257.
- [53] K. Aidas, *Accurate modeling of molecular electromagnetic properties of solvated molecules using polarizable QM/MM models*. PhD thesis, University of Copenhagen, 2010.
- [54] R. Dennington, T. Keith, and J. Millam, GaussView Version 5, 2009.
- [55] M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek, and G. R. Hutchison, Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform, *Journal of Cheminformatics*, 2012, **4**, 17–50.
- [56] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, *et al.*, Gaussian 16, 2016. Gaussian Inc. Wallingford CT.
- [57] P. D.A. Case, H.M. Aktulga, K. Belfon, I.Y. Ben-Shalom, S.R. Brozell, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, G.A. Cisneros, V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, R.E. Duke, G. Giambasu, M.K. Gilson, H. Gohlke, A.W. Goetz, R. Harris, S. Izadi, S.A. Izmailov, C. Jin, K. Ka, AMBER 2021, 2021.
- [58] K. Aidas, C. Angeli, K. L. Bak, *et al.*, The Dalton quantum chemistry program system, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2014, **4**, 269–284.
- [59] C. C. J. Roothaan, New developments in molecular orbital theory, *Rev. Mod. Phys.*, 1951, **23**, 69–89.
- [60] G. A. Petersson, A. Bennett, T. G. Tensfeldt, M. A. Al-Laham, W. A. Shirley, and J. Mantzaris, A complete basis set model chemistry. I. The total energies of closed shell atoms and hydrides of the first row elements, *The Journal of Chemical Physics*, 1998, **89**, 2193–2218.
- [61] U. C. Singh and P. A. Kollman, An approach to computing electrostatic charges for molecules, *Journal of Computational Chemistry*, 1984, **5**, 129–145.
- [62] B. H. Besler, K. M. Merz, and P. A. Kollman, Atomic charges derived from semiempirical methods, *Journal of Computational Chemistry*, 1990, **11**, 431–439.
- [63] P. Mark and L. Nilsson, Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K, *Journal of Physical Chemistry A*, 2001, **105**, 9954–9960.
- [64] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, and D. A. Case, Development and testing of a general amber force field, *Journal of computational chemistry*, 2004, **25**, 1157–1174.
- [65] L. Martínez, R. Andrade, E. G. Birgin, and J. M. Martínez, Packmol: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations, *Journal of Computational Chemistry*, 2009, **30**, 2157–2164.

- [66] Y. Zhao, N. E. Schultz, and D. G. Truhlar, Design of Density Functionals by Combining the Method of Constraint Satisfaction with Parametrization for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Noncovalent Interactions, *The Journal of Chemical Theory and Computation*, 2006, **2**, 364–382.
- [67] R. A. Kendall, T. H. Dunning, and R. J. Harrison, Electron affinities of the first-row atoms revisited. Systematic basis sets and wave functions, *The Journal of Chemical Physics*, 1992, **96**, 6796–6806.
- [68] A. V. Marenich, C. J. Cramer, and D. G. Truhlar, Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *Journal of Physical Chemistry B*, 2009, **113**, 6378–6396.
- [69] F. Weigend and R. Ahlrichs, Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2005, **7**, 3297–3305.
- [70] F. Weigend, Accurate Coulomb-fitting basis sets for H to Rn, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2006, **8**, 1057–1065.
- [71] C. Adamo and V. Barone, Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model, *Journal of Chemical Physics*, 1999, **110**, 6158–6170.
- [72] K. Aidas, Whirlpool: a QM/MM analysis program, 2009.

VAISTINIO JUNGINIO GLIBENKLAMIDO BMR PARAMETRŲ MODELIAVIMAS VANDENINIUOSE BIOAKTYVIŲ JONINIŲ SKYSČIŲ TIRPALUOSE

Žyginta Einorytė

Santrauka

Glibenklamidas, dar vadinamas gliburidu, yra sulfonilkarbamidų klasės vaistinis preparatas, naudojamas II tipo cukriniam diabetui gydyti. Šis junginys veikia kepenų ląstelių adenozintrifosfatui (ATP) jautrius kalio kanalus (K_{ATP}), taip padėdamas valdyti gliukozės kiekį kraujyje, veikiant insulino sekreciją. Taip pat randami nauji potencialūs jo farmacinio panaudojimo būdai, kaip galvos skausmo, uždegimų slopinimas [2,3]. Tačiau, glibenklamidas pasižymi prastu tirpumu vandenyje (15-24 $\mu\text{g/mL}$) [4,5], o tai apsunkina jo farmacinio panaudojimo plėtojimą. Norint padidinti glibenklamido tirpumą vandenyje, mokslininkai panaudojo biologinį joninį skystį iš biomolekulių – cholino katijonų ir triptofano anijonų [7]. Jo ir vandens mišiniuose glibenklamido tirpumas padidėjo iki 27 mg/mL – net 130-600 kartų palyginus su tirpumu gryname vandenyje. Išsiaiškinus, kokios tarpmolekulinės sąveikos nulemia šiuos tirpumo pokyčius, būtų galima nustatyti, kokios joninio skysčio ypatybės padidina glibenklamido tirpumą, kaip būtų galima plėtoti glibenklamido bei joninių skysčių taikymus biologinėms sistemoms.

Vienas pagrindinių metodų, leidžiančių tirti įvairias tarpmolekulinės sąveikas, yra branduolių magnetinio rezonanso (BMR) spektroskopija, nes ^1H BMR cheminiai poslinkiai kinta, keičiantis tiriamos molekulės artimam molekuliniai aplinkai. Šiame darbe pasirinkta tirti glibenklamido ^1H BMR parametrus dviejose sistemose: vandeninėje aplinkoje (Glb_{aq}) ir joninio skysčio mišinyje su vandeniu ($\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$). Šio darbo tikslas – įvardinti padidėjusio glibenklamido tirpumo vandens ir cholino-triptofanato joninio skysčio mišiniuose priežastis molekuliniam lygmenyje, taikant molekulinės dinamikos (MD) simuliacijas ir ^1H BMR parametrų skaičiavimus kvantinės mechanikos/molekulinės mechanikos (QM/MM) metodais.

Apskaičiuotos glibenklamido tautomerinės pusiausvyros konstantos pK_T ir rastas vandeninėje aplinkoje stabiliausias tautomeras. Analizuojant dvisienius kampus tarp glibenklamido atomų nustatyta, kad reikšmingų glibenklamido konformacijos pokyčių tarp Glb_{aq} ir $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$ sistemų nėra, molekulės konformacija tokia, kad su vandeniu kontaktuojančio paviršiaus plotas būtų minimalus. Apskaičiuoti glibenklamido ir tirpiklio atomų koordinacijos skaičiai bei glibenklamido protonų magnetinio ekranavimo konstantų pokyčiai leidžia daryti prielaidą, kad glibenklamido tirpumą vandenyje padidina tarpmolekulinės sąveikos tarp joninio skysčio cholino bei triptofanato jonų ir glibenklamido amidinių grupių, aromatinių žiedų ir cikloheksano žiedo.

MODELLING NMR PARAMETERS OF GLIBENCLAMIDE DRUG IN AQUEOUS MIXTURES OF BIOACTIVE IONIC LIQUIDS

Žyginta Einorytė

Summary

Glibenclamide also known as gliburide is a sulphonylurea drug used to treat type 2 diabetes. Glibenclamide's mechanism of action is based on inhibiting membrane adenosine triphosphate (ATP) sensitive potassium ion channels (K_{ATP}) in liver cells, thus controlling insulin secretion and glucose levels in blood. New ways to use this compound for inhibiting headaches or various inflammations are also being found [2,3]. Unfortunately, glibenclamide is poorly soluble in water (15-24 $\mu\text{g/mL}$) [4,5] which makes it harder to find new pharmaceutical applications. To improve glibenclamide's solubility, a biological choline-tryptophanate ionic liquid was added to water, increasing glibenclamide's solubility to 27 mg/mL – by 130-600 times compared to the solubility in pure water. Discovering what intermolecular interactions result in such increase of solubility would help us understand what ionic liquid properties are responsible for this and how can we adapt more biological ionic liquids to biological systems.

One of the main tools for studying intermolecular interactions is nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy as ^1H NMR chemical shifts depend on the surroundings of the molecule. The NMR parameters of two systems: glibenclamide in aqueous solution (Glb_{aq}) and in ionic liquid mixture with water ($\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$) were investigated. The main goal of this study was to find out what intermolecular interactions result in the increase of glibenclamide's solubility in aqueous mixtures with ionic liquid by using molecular dynamics (MD) simulations and quantum mechanics / molecular mechanics (QM/MM) methods.

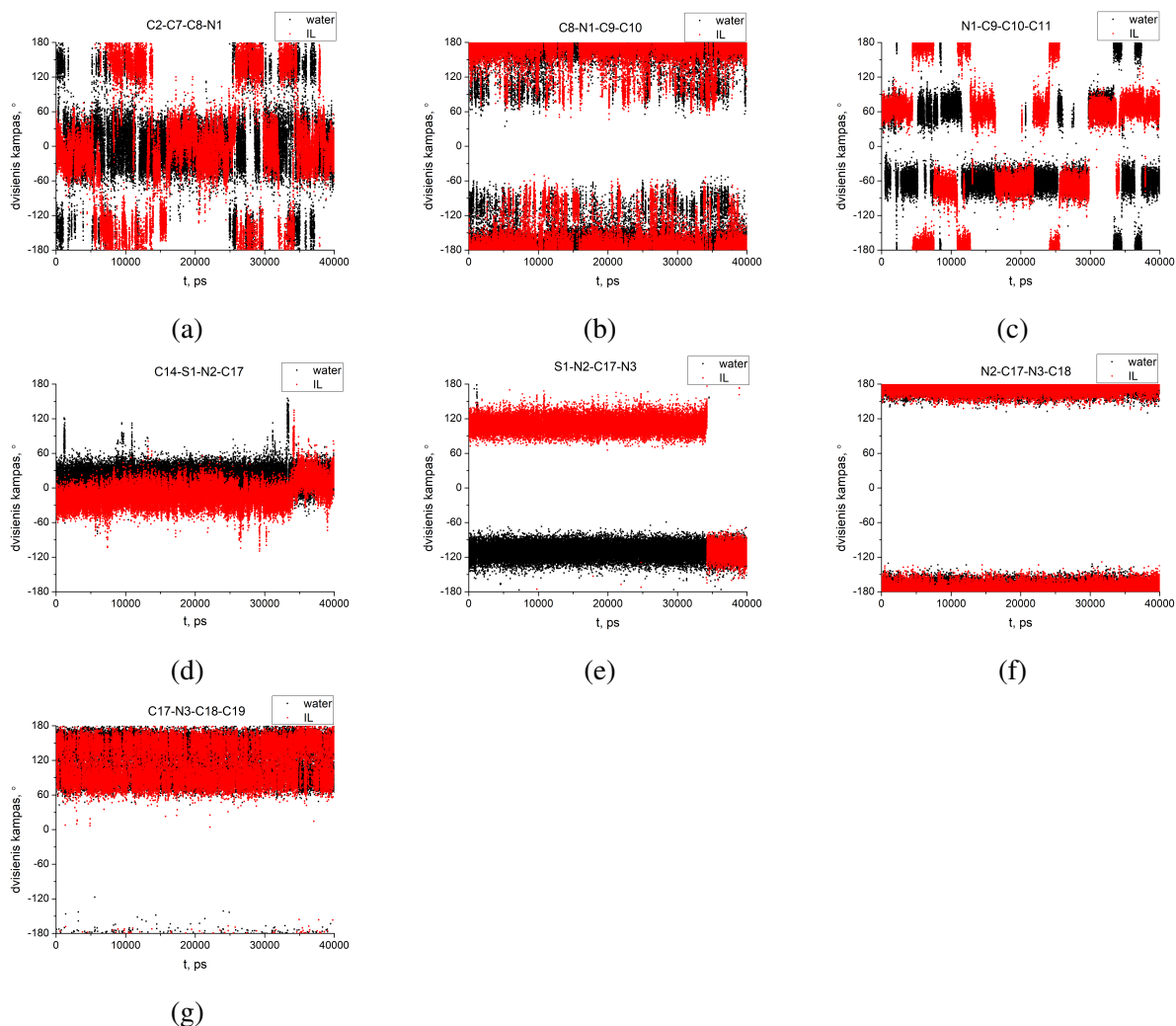
Constants of tautomeric equilibrium $\text{p}K_{\text{T}}$ were calculated for glibenclamide tautomers in aqueous environment and the most stable one of them was found. By analysing the dihedral angles between glibenclamide atoms, it was found that there are no significant changes between the conformations of glibenclamide in Glb_{aq} and $\text{Glb}_{\text{IL/aq}}$ systems, the conformation of the molecule is such which minimises the water accessible surface. The calculated coordination numbers between the glibenclamide and solvent atoms and glibenclamide's magnetic shielding constants let us conclude that the increase of solubility of glibenclamide in ionic liquid mixtures with water is impacted by intermolecular interactions between choline and tryptophanate ions and the amide groups, aromatic rings and cyclohexane cycle of glibenclamide.

Priedai

- 1 priedas. Dvisienių kampų tarp atrinktų glibenklamido molekulės atomų dinamika.

1 priedas

DVISIENIŲ KAMPUŲ TARP ATRINKTŲ GLIBENKLAMIDO MOLEKULĖS ATOMŲ DINAMIKA



A.1 pav. Dvisienių kampų tarp glibenklamido atomų kitimas MD simuliacijų metu vandeninėje (water) ir joninio skysčio su vandeniu (IL) sistemose.

- a) dvis. kampo C2-C7-C8-N1, b) dvis. kampo C8-N1-C9-C10, c) dvis. kampo N1-C9-C10-C11,
d) dvis. kampo C14-S1-N2-C17, e) dvis. kampo S1-N2-C17-N3,
f) dvis. kampo N2-C17-N3-C18, g) dvis. kampo C17-N3-C18-C19