



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

Výpočty vlastností cyklodextrinů pro sensorové a medicínské aplikace

Diplomová práce

Studijní program:

N3942 Nanotechnologie

Studijní obor:

Nanomateriály

Autor práce:

Bc. Petr Cvejn

Vedoucí práce:

Ing. Pavel Márton, Ph.D.

Ústav mechatroniky a technické informatiky

Konzultant práce:

Bc. Jaroslav Grof

Technická univerzita v Liberci, FM





Zadání diplomové práce

Výpočty vlastností cyklodextrinů pro sensorové a medicínské aplikace

Jméno a příjmení: **Bc. Petr Cvejn**
Osobní číslo: M18000180
Studijní program: N3942 Nanotechnologie
Studijní obor: Nanomateriály
Zadávací katedra: Ústav mechatroniky a technické informatiky
Akademický rok: **2019/2020**

Zásady pro vypracování:

Cyklodextriny mají potenciálně široké uplatnění v medicíně (cílená doprava účinných molekul) a dalších oblastech (např. optická detekce zbytkových koncentrací léčiv v životním prostředí). Využívá se schopnosti (modifikovaných) cyklodextrinů tvořit inkluzivní komplexy molekulami léčiv. Interakce mezi cyklodextriny a vybranými léčivy byly nedávno [1,2] studovány na TUL. Výsledky [1] naznačují komplikovanou povahu komplexace [2]. Účelem této práce je zjistit jaký vzhled do problematiky mohou poskytnout teoretické kvantově-chemické a atomární výpočty. Konstruuje molekuly alpha-, beta- a gamma-cyklodextrinů a zvolených léčiv [1,4]. Proved'te rešerši dostupných výpočetních kódů a metod [3] vhodných simulace cyklodextrinů a léčiv. Proved'te strukturní optimalizaci a vypočtete vibrační spektra molekul (při nulové teplotě) pomocí několika metod. Výsledky srovnajte mezi sebou a s dostupnými experimentálními daty. Studujte komplexaci molekul léčiv s molekulami cyklodextrinů. Je možné toto provést s molekulami ve vakuu, nebo je zanedbání solventu (vody) příliš hrubým zjednodušením? Odhadněte relevanci výsledků vzhledem k experimentu [1]. Pokud to je možné, vyhodnoťte EFG tensory (pro NMR experiment) pro cyklodextriny a jejich případné komplexy se zvolenými molekulami léčiv. O výsledcích práce sepište zprávu v požadovaném rozsahu.



Rozsah grafických prací: dle potřeby dokumentace
Rozsah pracovní zprávy: 40-50 stran
Forma zpracování práce: tištěná/elektronická
Jazyk práce: Čeština

Seznam odborné literatury:

- [1] J. Grof: *Příprava cyclodextriny modifikovaných zlatých nanočástic pro senzorové aplikace*, Technická univerzita v Liberci, bakalářská práce (2018).
- [2] M. Kalát: *Nanočásticové senzorové systémy: Nanoparticle-based sensor systems*, Technická univerzita v Liberci, diplomová práce (2019).
- [3] F. Jensen: *Introduction to Computational Chemistry*, John Wiley & Sons, 2017. ISBN 978-1-118-82599-0.
- [4] S. Kim, J. Chen, T. Cheng, A. Gindulyte, J. He, S. He, Q. Li, B.A. Shoemaker, P.A. Thiessen, B. Yu, L. Zaslavsky, J. Zhang, E.E. Bolton: *PubChem 2019 update: improved access to chemical data*, Nucleic Acids Res. 47(D1), D1102 (2019).
- [5] M. Řezanka: *Monosubstituted Cyclodextrins as Precursors for Further Use*, European Journal of Organic Chemistry 2016, 5322 (2016).

Vedoucí práce: Ing. Pavel Márton, Ph.D.
Ústav mechatroniky a technické informatiky
Konzultant práce: Bc. Jaroslav Grof
Technická univerzita v Liberci, FM
Datum zadání práce: 10. října 2019
Předpokládaný termín odevzdání: 18. května 2020

L.S.

prof. Ing. Zdeněk Plíva, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Milan Kolář, CSc.
vedoucí ústavu

Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem vypracoval samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Jsem si vědom toho, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 - školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má diplomová práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědom následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

29. května 2020

Bc. Petr Cvejn

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval především vedoucímu této práce, Dr. Mártonovi, za svědomitost a cenné rady, díky kterým mohla tato práce vzniknout. Dále bych rád poděkoval svým rodičům za to, že mě za všech okolností přijímají a respektují. Děkuji také všem přátelům za společně strávené chvíle a v neposlední řadě svojí manželce Zuzaně a dětem Alexandrovi a Stáze za trpělivost a neutuchající lásku.

Abstrakt

Cílem této práce je teoreticky studovat vznik inklusních komplexů farmaceutických látek-*cinchocaine* a *sulfadimidinum*- s dvěma α , β a γ -cyklodextriny v rámci modelování senzorového systému navrženého na TUL (Grof, 2020; Grof et al., 2018; M. Kalát, 2017). K tomuto úkolu byly použity kvantově-mechanické výpočty v programu Gaussian za použití metod PM6 a DFT. Výsledky byly porovnány s experimenty publikovanými jinde (Grof, 2018).

Z vypočtených dat byl predikován vznik komplexu všech typů cyklodextrinu s *cinchocaine*. V případě interakce cyklodextrinů s *sulfadimidinum* nebyl předpovězen vznik komplexu CD s léčivem. Tyto výsledky odpovídají experimentu a umožňují vhléd do mechanismu komplexace.

Klíčová slova: cyklodextrin, cinchocaine, sulfadimidinum, PM6, výpočetní chemie, inklusní komplex

Abstract

Aim of this diploma thesis is to investigate formation of inclusion complexes of 2 α , β and γ -cyclodextrins with *cinchocaine* and *Sulfadimidinum* using principles of quantum mechanics and computational chemistry. Formation of these complexes is key mechanism of sensor system developed on TUL (Technical University of Liberec) (Grof, 2020; Grof, 2018; Kalát, 2017). Program Gaussian, PM6 and also DFT methods were used. Results were compared to experimental data published elsewhere (Grof, 2018).

It was possible to predict formation of *cinchocaine*-cyclodextrin complex. No complex formation was predicted for system composed of 2 cyclodextrins and *sulfadimidinum*. These results are in agreement with experiment. Based on computed data some notion about mechanism of complexation can be made.

Key words: cyclodextrin, cinchocaine, sulfadimidinum, PM6, computational chemistry, inclusion complex

Obsah

Seznam zkratk.....	9
1 Úvod.....	10
2 Teoretická část.....	11
2.1 Výpočetní chemie.....	11
2.2 Výpočetní metody.....	11
2.2.1 Molekulární mechanika.....	11
2.2.2 <i>Ab initio</i> metody.....	12
2.2.2.1 Metoda Hartree-Fock (HF).....	12
2.2.3 Semi-empirické metody.....	13
2.2.3.1 Parametric method number 6 (PM6).....	14
2.2.4 DFT (density functional theory) metody.....	14
2.2.4.1 Funkcionál b3lyp.....	15
2.2.5 Báze.....	15
2.3 Výpočetní infrastruktura.....	17
2.3.1 Metacentrum.....	17
2.3.2 Výpočetní programy.....	17
2.3.3 Vizualizace.....	17
2.4 Cyklodextriny.....	18
2.4.1 syntéza a vlastnosti.....	19
2.4.2 Inklusní komplexy cyklodextrinů.....	20
2.4.3 Předchozí práce na Technické univerzitě v Liberci.....	21
2.5 Léčiva.....	23
2.5.1 Cinchocaini hydrochloricum.....	23
2.5.2 Sulfadimidinum.....	24
3 Praktická část.....	25
3.1 Optimalizace parametrů zadávání výpočtů.....	25
3.1 optimalizace glukosy.....	26
3.1.1 optimalizace -SH substituované glukosy.....	30
3.2 Konstrukce CD.....	35
3.3 Výběr vhodné báze.....	35
3.4 Optimalizace CD.....	37
3.5 Optimalizace léčiv.....	37
3.6 interakce 2 CD bez přítomnosti léčiva.....	39
3.6.1 konstrukce a charakterizace systému 2 CD.....	40
3.6.2 Výsledky.....	41
3.6.3 Důkaz vzniku vodíkových vazeb mezi pre- α -CD.....	42
3.7 vznik inklusních komplexů.....	44
3.7.1 Interakce cyklodextrinů s <i>Cinchocaine</i>	44
3.7.1.1 Vazebné stavy.....	50
3.7.2 Interakce cyklodextrinů se <i>Sulfadimidinem</i>	51
3.7.3 Srovnání a diskuse.....	56
3.8 Výpočet spekter pro experimentální hodnocení komplexů CD.....	59
3.8.1 Infračervená spektra.....	59
3.8.2 Chemické posuny.....	64
4 Závěr.....	65

Literatura.....	67
Seznam obrázků.....	72
Seznam grafů.....	74
Seznam tabulek.....	75
Seznam příloh.....	76

Seznam zkratk

CD	cyklodextrin
CI	<i>cinchocain</i>
DFT	„Density field theory“
GTO	orbital gausova typu
IR	infračervená spektroskopie
NMR	nukleární magnetická resonance
RAM	paměť s náhodným přístupem
SCF	selfkonzistentní pole
SR	Schroedingerova rovnice
ssh	„secure shell“ - zabezpečený protokol
STO	orbital Slaterova typu
SU	<i>Sulfadimidinum</i>
TMS	tetramethylsilan
TUL	Technická univerzita v Liberci
UV	ultrafialová (spektroskopie)

1 Úvod

Na TUL (Technická univerzita Liberec) se cyklodextriny dlouhodobě zabývá skupina Dr. Řezanky. V rámci této skupiny byl v minulých letech vyvinut a testován senzorový systém pro detekci přítomnosti organických látek ve vodných roztocích.

Tento senzor funguje na bázi tvorby inklusních komplexů organických látek (většinou farmaceutických) s cyklodextriny (CD). Ty jsou navázané na nanočástice přítomné ve vodném roztoku. Vlivem přítomnosti nanočástic je roztok barevný (červený). Dojde-li ke vzniku komplexu s přidanou látkou, nanočástice jsou vzájemně propojeny. Takto vzniklá zesíťovaná struktura sedimentuje, což se projeví odbarvením senzorického roztoku.

Sezor studovali především Kalát (2017) a Grof (2018, 2020) v rámci svých kvalifikačních prací. Kalát (2017) vyslovil hypotézu, která měla, na základě chemické struktury, umožnit odhadnout, které molekuly jsou schopné tvořit inklusní komplexy s CD. Experimentální výsledky získané Grofem (2018) ale tuto hypotézu nepotvrdily.

Cílem této práce je na teoretické úrovni studovat vznik inklusních komplexů s cykodextriny v rámci výše zmíněné senzorové aplikace a pokusit se objasnit mechanismus, který vede k nesouladu hypotézy vyslovené Kalátem s experimentálními výsledky získanými Grofem (2018).

K tomuto účelu jsou využity kvantově mechanické výpočty umožněné programem Gaussian. Problém je řešen semiempirickými a DFT („Density field theory“) metodami v plynném stavu tj. bez přítomnosti rozpouštědla.

2 Teoretická část

2.1 Výpočetní chemie

Výpočetní chemie se zrodila z poznatků kvantové mechaniky (Thiel, 2014) v 50. letech minulého století, kdy bylo možné provádět výpočty na prvních počítačích. Stále levnější a výkonnější počítače umožnily v průběhu let zkoumat stále větší systémy a dosahovat vyšší přesnosti výpočtů. V současnosti je možné provádět výpočty na systémech čítajících několik tisíc atomů (Jensen, 2007).

Zvyšující se výkon výpočetní techniky a pokrok ve vývoji softwaru vede k tomu, že spouštění netriviálních výpočtů je relativně snadné. Princip výpočtu je pak tzv. „black box“. Tento princip v praxi spočívá v tom, že experimentátor nemusí být obeznámen do detailu s veškerými podrobnostmi fungování výpočetního programu. (Jensen, 2007; Lewars, 2016).

Oč je spouštění chemických výpočtů jednodušší, o to větší důraz musí být kladen na vyhodnocení výsledků a jejich interpretaci. Není možné se domnívat, že i pomocí velmi sofistikovaného výpočtu bude možno získat detailní informace o tom, jak celý systém funguje. Pečlivou interpretací dat získáváme určitý vhled do problému, který nám nakonec umožní experimentální výsledky uspokojivě teoreticky vysvětlit (Jensen, 2007).

Výpočetní chemie se zabývá několika typy základních problémů, mezi které patří:

- A) Optimalizace molekulární geometrie
- B) Výpočet reaktivity molekul (zejména určení nukleofilních a elektrofilních částí molekuly)
- C) Výpočet IR (infračervená), UV (ultrafialová) a NMR (nukleární magnetické rezonance) spektrů
- D) Odhad fyzikálních vlastností materiálů (tyto jsou determinovány vlastnostmi jednotlivých molekul) (Lewars, 2016).

2.2 Výpočetní metody

2.2.1 Molekulární mechanika

Molekulární mechanika je výpočetní metoda založená na modelu molekuly skládajícím se z atomů, představovaných koulemi, a vazeb, které jsou modelovány jako pružiny (Lewars, 2016; Ramachandran, 2008)

Na kulová atomová jádra a pružiny jsou aplikovány pohybové (Newtonovi) rovnice, každému typu atomu a vazby jsou přiřazeny typické vlastnosti (velikost, deformatelnost, v případě vazby její délka) (Jensen, 2007). Ze znalosti energie potřebné pro mechanickou deformaci těchto pružin a znalosti geometrického uspořádání je možné vypočítat energii příslušející dané molekulární geometrii (Lewars, 2016). Typickým problémem, který je možné touto metodou postihnout je geometrická optimalizace tvaru molekuly (hledání geometrie s nejnižší energií). Hlavní výhodou této metody je její velká rychlost (Jensen, 2007; Lewars, 2016).

2.2.2 *Ab initio* metody

Označení *ab initio* pochází z latiny a překládá se jako: „z prvních principů“. Tento název vystihuje charakter těchto metod. K výpočtu totiž využívají pouze základní fyzikální zákony a rovnice, především Schroedingerovu rovnici (SR). Řešením SR získáme energii a vlnovou funkci molekuly. Z vlnové funkce může být vypočítáno rozložení elektronů v prostoru, které umožní odhadnout reaktivitu molekuly a mechanismus reakce s jinými látkami (Lewars, 2016).

SR nemůže být vyřešena přesně pro systémy, které obsahují více než 1 elektron, proto je nutné zavádět různé aproximace. Jednotlivé *ab initio* metody se rozlišují podle typů použitých aproximací. (Lewars, 2016; Ramachandran et al., 2008).

Samotný výpočet probíhá na základě Born-Oppenheimerovy aproximace, tedy odděleně pro elektrony a atomová jádra. Nejprve je vypočteno rozložení elektronů. Z něj je pak odpozen elektrický potenciál. Na základě elektrického potenciálu je pak SR řešena pro atomová jádra. Tento krok je výpočetně nejnáročnější (Jensen, 2007).

Obecně jsou *ab initio* metody považovány za náročné z hlediska výpočetních zdrojů a tudíž se využívají především pro výpočty na menších molekulách (Thiel, 2014).

2.2.2.1 Metoda Hartree-Fock (HF)

V metodě HF je zavedena tzv. aproximace nezávislosti částic. Každý elektron se v tomto případě pohybuje nezávisle na dynamice ostatních částic. Říkáme, že elektrony nejsou korelované. Působení všech ostatních elektronů na zkoumaný elektron je pak zahrnuto v podobě průměrného působení od všech ostatních elektronů a atomových jader (Dreuw & Head-Gordon, 2005; Jensen, 2007). Elektronová korelace je důsledkem odpuzivých sil, které existují mezi elektrony díky tomu, že mají shodný (záporný) náboj (Ramachandran et al., 2008).

Vlnová funkce mnohoelektronového systému (např. molekuly) je součinem vlnových funkcí každého z elektronů podle rovnice (1). Tyto vlnové funkce mohou být označeny jako orbitály (Jensen, 2007; Lewars, 2016).

$$\psi_0(0)(r_1, r_2, \dots, r_n) = \psi_0(1)(r_1) \psi_0(2)(r_2) \dots \psi_0(n)(r_n) \quad (1)$$

kde $\psi_0(0)$ značí vlnovou funkcií (orbital) celého systému, který je funkcí souřadnic všech elektronů v systému a $\psi_0(n)$ značí vlnovou funkcií náležící k n-tému elektronu v systému. Tato vlnová funkce je funkcí polohy elektronu ke kterému náleží (r_n).

Nejprve je SR řešena pro jeden elektron, jako jednoelektronová SR. Výsledkem prvního výpočtu je $\psi_1(0)$, která je zpřesněnou verzí ψ_0 . Následně je řešena jednoelektronová SR pro elektron číslo 2. Výsledkem vlnová funkce $\psi_2(0)$, která je opět přesnější než $\psi_1(0)$. Výpočet postupuje tímto způsobem dál až do chvíle, kdy se elektrostatické pole, které vznikne působením okolních elektronů mezi jednotlivými kroky výpočtu změní jen velmi málo. Vlnová funkce $\psi_n(0)$ je pak přibližným řešením víceelektronového problému. Tato metoda se nazývá metodou *self-konzistentního pole* (SCF).

Z výsledné vlnové funkce je pak určena energie systému podle rovnice (2):

$$E = \langle \psi^* | \hat{H} | \psi \rangle \quad (2)$$

kde ψ je vlnová funkce, ψ^* je komplexně sdružená vlnová funkce a $\hat{H}$ je hamiltonián (Lewars, 2016).

Metoda HF je považována za jakýsi rozcestník mezi *ab initio* metodami. Dalším zjednodušováním výpočtů a kompenzací těchto aproximací pomocí experimentálních dat vznikají semiempirické metody. Naopak zahrnutím elektronových korelací do výpočtu vznikají *ab initio* metody, které jsou mnohem přesnější, ale také výpočetně náročnější než je tomu v případě metody HF (Jensen, 2007).

2.2.3 Semi-empirické metody

Semi-empirické metody v sobě snoubí výpočty kvantové fyziky a poznatky získané z experimentů. Podobně jako metody *ab initio* vycházejí z řešení SR. Dochází zde ale k mnohem větším aproximacím, které zrychlují výpočet. Integrály, které výpočetní program řeší dlouhou dobu nejsou počítány, ale jsou řešeny pomocí tzv. parametrizace.

K parametrizaci je používána knihovna vyřešených integrálů. Řešení integrálu je provedeno pomocí fitu experimentálních dat funkcí. Případně mohou být tyto integrály vypočteny pomocí velmi přesné metody výpočetní chemie (Lewars, 2016).

Další zjednodušení výpočtu spočívá v implicitním vyjádření nevalenčních elektronů, které se projeví pouze jako redukce náboje atomového jádra. Valenční elektrony jsou vyhodnocovány explicitně. K výpočtu je také často použita minimální báze (viz. kapitola Báze) (Jensen, 2007).

Nespornou výhodou oproti *ab initio* výpočtům je časová úspora, která může být až tisícinásobná (Lewars, 2016).

2.2.3.1 Parametric method number 6 (PM6)

Metoda PM6 vychází z parametrických metod nižšího řádu, jmenovitě z AM1 (Austin model 1) a PM3 (Parametric method 3) (Stewart, 2007), přičemž AM1 je evolučně méně vyspělá než PM3. Vylepšení představené v AM1 se týkají především úpravy interakce jádro-jádro. V případě AM1 byla parametrizace stále ještě neautomatizovaná. Automatizace parametrizace byla představena J. Stewartem až v rámci metody PM3. To velmi zpřesnilo využívané parametry, protože mohly být odvozeny z mnohem většího počtu experimentálních dat. I přes velký pokrok v automatizaci jsou v této metodě sady experimentálních dat stále vybírány manuálně (Jensen, 2007).

Metoda PM6 byla původně publikována ve článku J. Stewarta v roce 2007. Na rozdíl od předchozích metod, byly v tomto případě využity ke sběru referenčních dat velké databáze. Jmenovitě Webbook (Linstrom & Mallard, 2020) (zdroj dat pro slučovací entalpie) a Cambridge structural database (Groom et al., 2020) (geometrie molekul). Vzhledem, k tomu, že data jsou přístupná v databázích je možné je snadno revidovat bez zdlouhavého průzkumu literatury. Jako referenční data jsou využity některé hodnoty, které byly vypočítány pomocí DFT nebo HF metod (Stewart, 2007). V knihovně parametrů jsou k dispozici data pro 70 prvků, další parametry byly získány optimalizací parametrů na základě 4492 referenčních molekul (Camilo et al., 2012).

2.2.4 DFT (density functional theory) metody

DFT metody využívají k výpočtům elektronovou hustotu místo vlnové funkce (Ramachandran et al., 2008). Elektronovou hustotu je možné vypočítat podle rovnice (3):

$$\rho = \sum_i^n |\psi_i|^2 \quad (3)$$

kde n je počet obsazených molekulových orbitalů ψ . Elektronová hustota má v tomto případě význam pravděpodobnosti výskytu elektronu v infinitezimálním objemu dV okolo daného bodu v prostoru. Výhodou tohoto přístupu je výrazné zjednodušení výpočtu, protože elektronová hustota je funkcí pouze 3 proměnných (prostorových souřadnic x, y, z). Oproti tomu vlnová funkce mnohoelektronového systému je funkcí $4n$ proměnných (Lewars, 2016) 3 z nich jsou souřadnice pro určení polohy v prostoru, jedna určuje spin. Kromě jednoduchosti tento přístup poskytuje také tu výhodu, že vyčtená elektronová hustota je fyzikálně měřitelná (Cramer, 2004) pomocí roentgenové difrakce (Ramachandran et al., 2008).

Celá metoda závisí na faktu, že celková energie systému je plně určena elektronovou hustotou. Tato hypotéza byla dokázána Hohenbergem a Khonem. Určení celkové energie z elektronové hustoty přesto zůstává netriviálním úkolem. DFT metody se pak liší různými funkciónály, které přiřadí elektronové hustotě příslušnou hodnotu energie.

Všechny typy funkcionalů jsou pouze přibližné, protože přesný funkcional není znám (Jensen, 2007).

2.2.4.1 Funkcional b3lyp

B3lyp je typ funkcionalu používaný k určení energie systému ze znalosti elektronové hustoty. Jedná se o typ hybridního funkcionalu skládající se ze dvou částí: funkcionalu LYP, který slouží k výpočtu korelační energie elektronů a B3 (*Becke 3 parameter functional*). Funkcional LYP používá fitování dat hodnotám pro atom helia.

B3lyp patří v současnosti k nejoblíbenějším funkcionalům a poskytuje velice přesné výsledky (Cramer, 2004; Jensen, 2007).

2.2.5 Báze

Báze, je soubor matematických funkcí, které se využívají v kvantově mechanických výpočtech jako vhodný způsob k vyjádření vlnové funkce. Ta je zapsána jako lineární kombinace báзовých funkcí. Koeficienty jednotlivých báзовých funkcí jsou předmětem iterativní optimalizace v průběhu kvantově mechanického výpočtu (Cramer, 2004).

Kompletní báze umožňuje zcela přesné vyjádření vlnové funkce. Taková báze by byla tvořena nekonečným množstvím funkcí a z toho důvodu s ní není možné provádět výpočty. Využívá se tedy bází neúplných s konečným počtem funkcí, při čemž platí, že čím více funkcí báze obsahuje, tím přesněji může popsat vlnovou funkci (Jensen, 2007).

Jako báзовou funkci je možné zvolit jakoukoliv funkci, která splňuje dvě základní kritéria: a) se zvětšující se vzdáleností elektronu od atomového jádra se blíží k 0, b) její integrace je snadná a tudíž nevyžaduje příliš mnoho času k vyřešení (Jensen, 2007).

Nejstarším typem báзовých funkcí jsou tzv. Slaterovy orbitály (*Slater type orbital- STO*). Jedná se o exponenciální funkce ($\sim e^{-r}$), které jsou přesným řešením SR pro vodíkový atom (nebo iony, které mají pouze jeden elektron) (Ramachandran et al., 2008) a jsou centrovány na atomové jádro příslušného atomu (Jensen, 2007). Tyto funkce jsou výhodné zejména pro popis valenčních elektronů, naopak pro popis elektronů, které jsou blíže k atomovému jádru se příliš nehodí (Ramachandran et al., 2008). Obecně jsou STO velice přesné, ale jejich výpočetní náročnost je relativně vysoká, proto se využívají zejména při výpočtu malých systémů, nebo v metodách, kde díky dalším aproximacím dochází k celkovému zrychlení výpočtu (semiempirické, DFT) (Jensen, 2007).

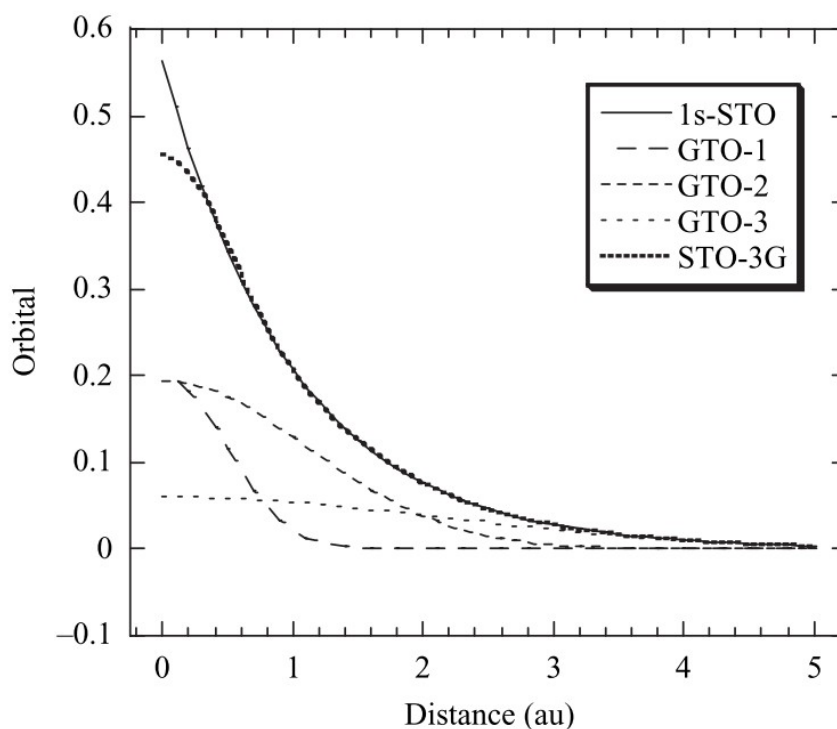
Druhým typem využívaných funkcí jsou Gaussovy funkce (*Gaussian type orbital-GTO*) (Jensen, 2007). Využití těchto funkcí jako báze poprvé navrhl v 50. letech 20. stol F. Boys (Ramachandran et al., 2008). Stejně jako v případě STO se jedná o exponenciální funkce, v tomto případě, ale strměji klesající ($\sim e^{-r^2}$). Využití těchto funkcí skýtá několik nevýhod: ve svém centru mají derivaci rovnou nule, což představuje nepřesnost oproti STO, které v centru derivaci nemají. To vede k méně přesnému popisu

elektronové struktury v blízkosti atomových jader. GTO také klesají pruději než STO, což vede k méně přesnému popisu elektronové struktury také v oblastech hodně vzdálených od jádra. Tyto nepřesnosti jsou zpravidla kompenzovány využitím více GTO, jejichž lineární kombinace aproximuje analyticky přesný STO (Graf 1) (Jensen, 2007).

Výše popsané nevýhody jsou více než kompenzovány snížením výpočetních nároků v případě využití GTO. Z tohoto důvodu jsou v současnosti GTO využívány v naprosté většině případů (Jensen, 2007; Ramachandran et al., 2008).

Použijeme-li ke konstrukci báze pouze tolik orbitalů kolik je jich nezbytně potřeba (podle elektronové konfigurace atomu), pak se tato báze nazývá *minimální báze*. Pro větší přesnost výpočtů se ale ve většině případů využívají báze dvojité (dva orbitaly pro každý elektron) nebo i trojitě. Znásobení počtu orbitalů umožňuje zahrnout jejich deformaci např. v případě vzniku chemické vazby (Jensen, 2007).

Nejjednodušší používané báze jsou tzv. Poplovy báze, které jsou založeny na modelování STO pomocí gaussových funkcí. Nejčastější je označována STO-3G, což značí, že každý STO je modelován pomocí 3 gaussových funkcí. Mezi Poplovy báze patří také valenčně dělené báze, které mají jiný počet bazových funkcí pro nevalenční a valenční elektrony (např. 6-31g) (Jensen, 2007).



Graf 1: STO modelovaný pomocí 3 gaussianů. Linie STO-3G představuje model (Jensen, 2007).

2.3 Výpočetní infrastruktura

2.3.1 Metacentrum

Metacentrum je akademická organizace sdružující výpočetní zdroje lokalizované v několika členských institucích (CESNET, Fyzikální ústav AV ČR, Západočeská univerzita v Plzni a mnohé další). Tyto výpočetní zdroje jsou pak zdarma nabízeny akademickým pracovníkům a studentů pro provádění náročných výpočetních úkolů. Na strojích metacentra jsou také zdarma k dispozici některé placené programy (Molpro, Gaussian, Matlab).

Pro přihlášení do Metacentra stačí vyplnit on-line přihlášku dostupnou na webu. Pak už je možné se pomocí ssh protokolu připojit na některý z tzv. „frontendů“ a začít počítat. U každého výpočtu je třeba nastavit potřebný čas a RAM na dokončení výpočtu. Pokud jsou tyto hodnoty překročeny, dojde k ukončení úlohy, které musí být zadána znovu. Volitelný je také počet procesorů, které se mají zapojit do výpočtu. Ne vždy musí být využito více procesorů efektivnější (Metacentrum, 2020; Wikipedia (1), 2020).

2.3.2 Výpočetní programy

V současnosti je k dispozici několik desítek rozličných výpočetních programů (Krylov et al., 2018) mezi které patří např.: Dalton, GAMESS, Gaussian, Molpro, MOPAC a mnoho dalších (Wikipedia (2), 2020). Takové množství výpočetních programů umožňuje značnou flexibilitu a specializaci jednotlivých programů, ale naopak znásobňuje přenos dat mezi rozdílnými výpočetními programy (Krylov et al., 2018).

V rámci této práce byly použity dva výpočetní programy: Molpro a Gaussian 09 a to z důvodu jejich dobré dostupnosti – oba programy jsou k dispozici na Metacentru (viz kapitola 2.3.1 *Metacentrum*).

Molpro bylo založeno již v 60. letech minulého století. Silnou stránkou tohoto programu je velká přesnost výpočtů na malých molekulách (do 100 atomů) (Werner et al., 2012). Molpro nabízí rozličné *ab initio* a DFT metody (Molpro, 2020). Program Gaussian je o 10 let mladší než Molpro a oproti Molpro nabízí kromě *ab initio* a DFT také semiempirické metody a molekulární mechaniku. (Frisch et al., 2016; University of Cincinnati, 2019). Oba programy jsou dostupné pouze komerčně (Gaussian, 2020; Molpro, 2020).

2.3.3 Vizualizace

Vizualizace molekul je nejjednodušji prováděna pomocí specializovaného softwaru. Podobně jako je tomu v případě výpočetního softwaru, také v tomto případě existuje velké množství rozdílných programů. Mezi volně dostupné programy patří např. Jmol, Rasmol nebo Chime (Herráez, 2006), komerčně dostupný je např. Gaussview, který je

dodávám k výpočetnímu programu Gaussian (Gaussian, 2020). Vizualizace molekul je hojně využívána jak pro vědecké zkoumání, tak pro studijní (vzdělávací) účely (G. Rule, 2010).

Vizualizace molekul v této práci je prováděna programem Jmol, který byl vybrán pro svojí dobrou kompatibilitu s výpočetním programem Gaussian.

Jmol je volně dostupný program pro 3D vizualizaci molekul, uzpůsobený jak pro využití jak tzv. „standalone“ program, tak k implementaci do webových stránek. Pomocí Jmol je možné zobrazit širokou škálu formátů souborů (včetně formátu programu Gaussian), ale také animace molekul (Herráez, 2006; Jmol, 2020). Jednou z předností Jmol je možnost ovládání programu pomocí skriptů (Hanson & Lu, 2017).

2.4 Cyklodextriny

Cyklodextriny (CD) jsou cyklické olygosacharidy, skládající se z několika glukopyranosových jednotek spojených α -(1,4) glykosidickou vazbou. Podle počtu glukopyranosových jednotek v cyklu rozlišujeme α -cyklodextrin (α -CD), skládající se z 6 glukopyranosových jednotek, β -cyklodextrin (β -CD) mající 7 jednotek a γ -cyklodextrin (γ -CD) s 8 jednotkami. Tyto 3 cyklodextriny jsou v literatuře nazývány jako CD *první generace* nebo *mateřské cyklodextriny*. Z literatury je ovšem známo, že existují CD i s větším počtem jednotek (9-12). Nejpoužívanější z CD je β -CD (Del Valle, 2004).

Příběh cyklodextrinů se začal psát již v roce 1891, kdy francouz Villiers (1891) při pokusu syntetizovat dextriny pomocí bakteriálního kmene *Bacillus amylobacter* (Szejtli, 1998) objevil v odpadním roztoku krystaly, které okamžitě přitáhly jeho pozornost (Kurkov & Loftsson, 2013). Určil jejich sumární vzorec krystalů $((C_6H_{10}O_5)_3 \cdot 3H_2O)$ a látku ze které byly vytvořeny nazval *cellulosin* (Del Valle, 2004; Szejtli, 1998; Villiers, 1891).

Bakteriální kmen, který použil Villiers, byl zřejmě znečištěný bakteriemi *Bacillus macerans* (Del Valle, 2004; Szejtli, 1998), protože o 20 let později byly tyto krystaly připraveny Schardingerem právě pomocí bakteriálního kmene *Bacillus macerans*. Schardingerovi se postupem času podařilo objevit dva druhy těchto krystalů, které nazval „krystalický dextrin α/β “. Později byl objeven i „krystalický dextrin γ “. Cyklická struktura těchto látek byla objevena až ve 40. letech minulého století. Od této doby se označují jako cyklodextriny (Del Valle, 2004).

V průběhu 50. a 60. let minulého století byly objeveny všechny významné vlastnosti CD pramenící z jejich schopnosti komplexovat s organickými látkami. Známé byly také téměř všechny způsoby, kterými jsou v současnosti CD využívány při vývoji nových léčiv a jiných produktů např. zlepšení rozpustnosti nebo zpomalení výparu těkavých látek. Poté, co byla vědecká komunita přesvědčena o tom, že CD nejsou toxické, začal jejich intenzivní výzkum, který vyústil v použití CD v průmyslové výrobě (Szejtli,

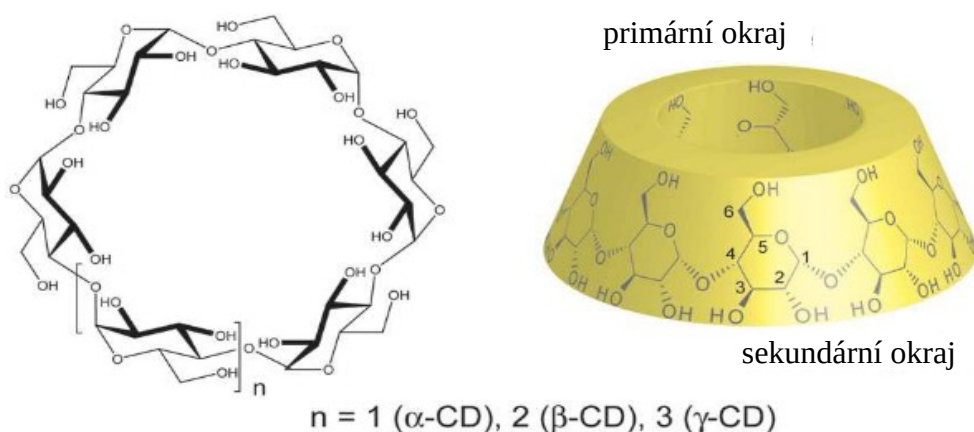
1998). V současnosti jsou CD hojně využívanou a levnou chemikálií. Roční produkce přesahuje 10 000 tun. Průměrná cena 1 kg CD se pohybuje okolo 5 USD (Kurkov & Loftsson, 2013).

2.4.1 syntéza a vlastnosti

Cyklodextriny mají tvar komolého kužele (viz Obr. 1), kde primární hydroxilové skupiny tvoří okraj s menším poloměrem a sekundární hydroxylové skupiny jsou lokalizované na okraji s větším poloměrem. Uprostřed CD je pak kavita, která vykazuje hydrofobní vlastnosti, naopak vnější plášť CD je hydrofilní (Del Valle, 2004; Szejtli, 1998). V rámci CD existují intermolekulární vodíkové vazby mezi hydroxylovým skupinami na sousedních glukopyranosových jednotkách. Největší počet těchto vazeb se nachází v β -CD, který je díky tomu velmi obtížné deformovat (Szejtli, 2004). Intermolekulární vodíkové interakce se mohou mezi jednotlivým cyklodextriny lišit a je podle nich možné rozlišit hned několik různých konformací CD (Pinjari et al., 2007).

Základní vlastnosti CD první generace jsou shrnuty v Tabulce 1. Z této tabulky je vidět, že rozpustnost CD se velmi liší pro jednotlivé druhy. Szejtli (2004) tento jev vysvětluje rozdílnou deformovatelností CD (Szejtli, 2004).

Cyklodextriny jsou syntetizovány pomocí enzymů získaných z bakterií rodu *Bacillus macerans* a jiných bakteriálních rodů (Szejtli, 1998). Větší výtěžnosti reakce bylo dosaženo použitím enzymů z bakterií, které byly geneticky modifikovány (Loftsson & Duchêne, 2007).



Obr. 1: Struktura a vlastnosti CD první generace (Ogoshi, 2008), upraveno.

Tab. 1: základní charakteristika CD první generace (Szejtli, 1998)

	α -CD	β -CD	γ -CD
Počet glukopyranosových jednotek	6	7	8
Molární hmotnost [g/mol]	972	1135	1297
Rozpustnost ve vodě [g/l]	145	18.5	232
Výška CD [Å]	7.9	7.9	7.9
Průměr kavity [Å]	4.7-5.4	6.0-6.5	7.5-8.3

2.4.2 Inklusní komplexy cyklodextrinů

CD jsou velice často využívány k přípravě inklusní komplexů („host-guest“ komplexů). Mají k tomu celou řadu příznivých předpokladů, mezi které patří vzláště fakt, že jsou velmi málo toxické a mohou být použity při přípravě léčiv, kosmetiky i potravinářských výrobků. Druhou výhodou je jejich snadná produkce a ekologická syntéza (Szejtli, 1998).

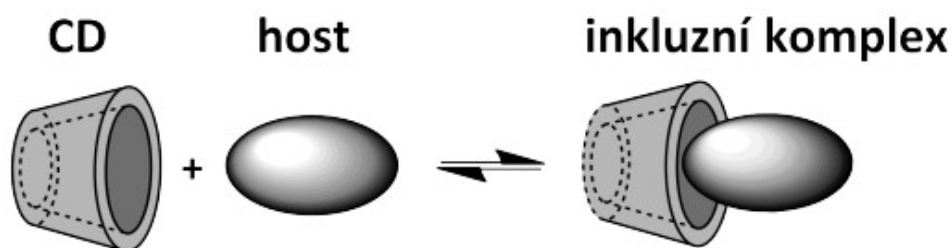
Inklusní komplexy mohou vznikat ve všech skupenstvích (Del Valle, 2004). Host (nebo jeho část) vstupuje do kavity CD a dojde k takzvané enkapsulaci (viz Obr. 2) (Szejtli, 1998). Molekula hosta je navázána na kavitu na základě nevazebných interakcí (Del Valle, 2004). Obvykle jsou nejvýraznější interakce Van der Waalsovy a hydrofobní interakce, v menší míře pak přispívá vodíková interakce a elektrostatické působení molekul (Liu & Guo, 2002). V literatuře se často uvádí, že velkou roli hraje vytlačení rozpouštědla (nejčastěji vody) z kavity CD. Vytlačením vody z kavity dojde k poklesu entalpie, která je hnací silou celého procesu (Del Valle, 2004). Někteří autoři ovšem popírají vliv tohoto fenoménu na tvorbu komplexů, argumentují tím, že pokles entalpie nemusí nutně znamenat pokles volné energie vzhledem k tomu, že zjevně vzrůstá entropie (Liu & Guo, 2002). Dalším důležitým faktorem je velikost hosta. Pokud je příliš velký, do kavity CD se nevejde. Molekula hosta také v kavitě prochází konformačními změnami, (Del Valle, 2004) které mohou vést k dalšímu poklesu energie systému (Kurkov & Loftsson, 2013). I tento mechanismus bývá některými autory s ohledem na tzv. entalpicks-entropickou kompenzaci označován za velmi nepravděpodobný (Liu & Guo, 2002).

Stechimetrie vzniku komplexů se různí. Ačkoli výrazně převažuje stav, kdy komplexace probíhá v poměru 1:1 (CD:host), mohou nastat i situace 1:2 nebo 2:1 případně 2:2 (Szejtli, 1998).

Komplexace cyklodextrinů je dynamický proces a po určité době dochází k ustanovení chemické rovnováhy mezi reaktanty a produkty (Del Valle, 2004).

Inklusní komplexy s CD se využívají zejména ke zlepšení rozpustnosti léčiv, ochraně

hostů proti chemickému působení okolí, nebo ke zpomalení rychlosti uvolňování těkavých substancí (Del Valle, 2004). Časté je také využití rozličných derivátů ke zlepšení funkce CD (např. snížení toxicity) (Ogoshi & Harada, 2008). Způsobů přípravy derivátů CD existují tisíce, ale v průmyslové praxi je využitelných pouze několik, protože ostatní jsou příliš nákladné a hodí se tak pouze pro účely výzkumu (Szejtli, 1998).



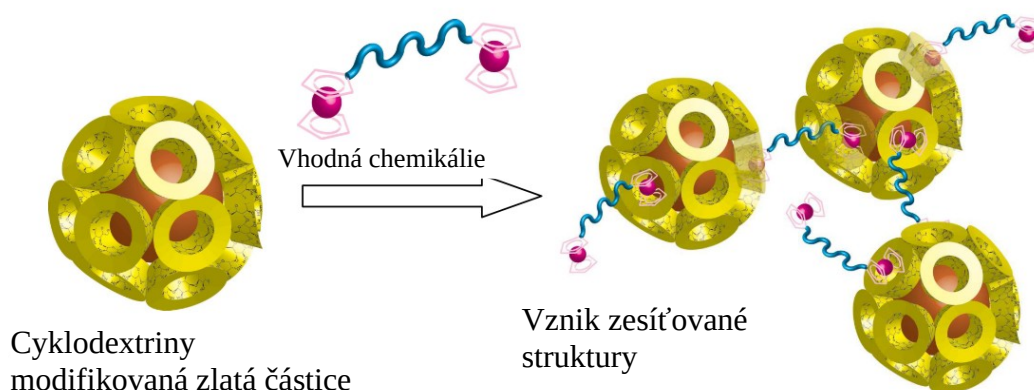
Obr. 2: Schéma vzniku inklusního komplexu CD (Grof, 2018), upraveno.

2.4.3 Předchozí práce na Technické univerzitě v Liberci

Senzory na bázi CD se v minulosti na TUL zabývali Kalát (2017) a Grof (2018). Kalát (2017) se ve své diplomové práci zabýval přípravou senzorů na bázi zlatých (o průmětu 15 nm) a stříbrných nanočástic, které byly funkcionalizované CD. Funkcionalizace byla provedena pomocí vazby síra-kov mezi nanočásticí a per-6-deoxy-per-6-thio- β -CD. Tyto senzory fungují na bázi odbarvení roztoku zlatých nanočástic a jejich sedimentaci po přidání organických látek do roztoku (barva roztoku zlatých nanočástic se liší podle jejich velikosti). Kalát (2017) uvádí, že podobné senzorové systémy je běžně možné najít v literatuře.

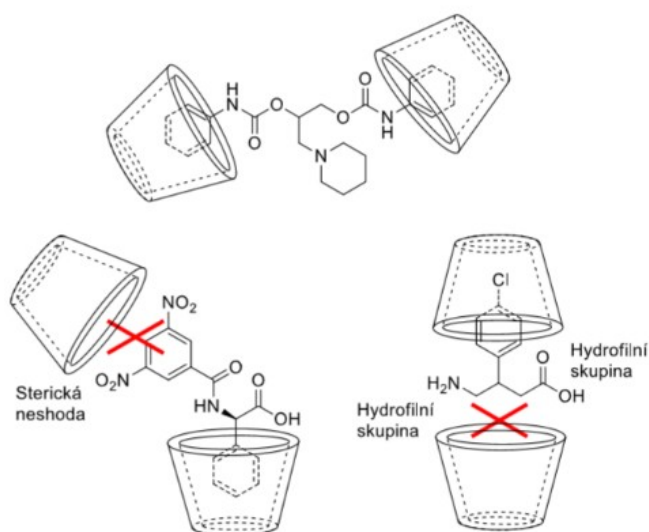
V průběhu práce se ukázalo, že stříbrné nanočástice nejsou kvůli rychlé agregaci vhodné pro senzorové aplikace a od dalších experimentů s nimi bylo upuštěno. Oproti tomu senzor na bázi zlatých nanočástic fungoval dobře a byla prokázána odbarvení a sedimentace pro 6 ze 13 testovaných organických látek.

Kalát (2017) pozorovanou sedimentaci a odbarvení roztoku vysvětluje vznikem inklusního komplexu organické látky a CD. Pokud má organická molekula 2 části, které jsou schopny vázat CD, dojde k propojení CD a tím i nanočástic mezi sebou. Výsledkem je pak zesíťovaná struktura (Obr. 3), která sedimentuje a zapříčiní tak odbarvení roztoku (M. Kalát, 2017).



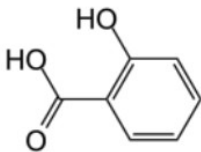
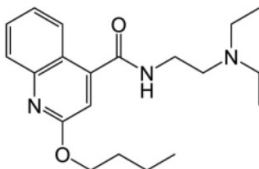
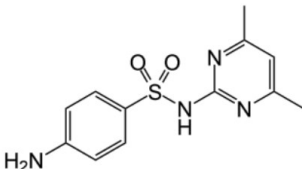
Obr. 3: Senzor fungující na podobném principu, který popisuje Kalát (2017). Vlivem přidané chemikálie dochází k vzniku zesíťované struktury cyklodextriny funkcionalizovaných částic, které pak sedimentují (Ogoshi et al., 2008), upraveno.

Na práci Kaláta (2017) navázal o rok později Grof (2018), který se pokusil Kalátovy (2017) experimenty zopakovat s jinými organickými látkami (léčivý), která vybíral podle přítomnosti, či nepřítomnosti vhodných skupin pro vznik inklusního komplexu (Obr. 4) a snažil se tak odhadnout, která léčiva komplex vytvoří a budou sedimentovat a která nikoli. Grofovi (2018) experimenty ale nepotvrdily Kalátovo (2017) vysvětlení pozorovaného, protože v některých případech, kdy byla očekávána sedimentace, nenastala vůbec (léčivo *Sulfadimidunum*) a jindy naopak nastala i když nebyla očekávána (léčivo *Acidum salycilicum*), v jiných případech nastala sedimentace jen pro určité typy CD (léčivo *Cinchocaini hydrochloricum*). Náhodnost výsledků experimentů byla Grofem přesvědčivě vyvrácena. Tyto výsledky shrnuje Tab. 2 (Grof, 2018).



Obr. 4: Odhad vzniku inklusních komplexů podle přítomnosti určitých funkčních skupin na molekule (Kalát, 2017)

Tab. 2: Některé z neočekávaných výsledků publikované Grofem (Grof , 2018)

Jméno	vzorec	sedimentace		
		α -CD	β -CD	γ -CD
<i>Acidum salycilicum</i>		ANO	ANO	ANO
<i>Cinchocaini hydrochloricum</i>		ANO	NE	ANO
<i>Sulfadimidinum</i>		NE	NE	NE

2.5 Léčiva

Pro účely této práce byla po konzultaci s Grofem zvolena 2 léčiva, jejichž senzorovou odezvu zkoumal a podala překvapivé výsledky. Jsou to *Cinchocaini hydrochloricum* a *Sulfadimidinum*.

2.5.1 Cinchocaini hydrochloricum

Cinchocaine (CI) byl poprvé představen Miescherem (Abdel-Ghani et al., 2005) v roce 1931 jako lokální intravenósní anestetikum. Motivací k jeho syntéze byla potřeba lokálních anestetik, která by byla méně toxická než v té době běžně užívaný kokain (Ruetsch et al., 2005). Brzy se nicméně ukázalo, že cinchocaine, je sice silnější anestetikum než kokain (Abdel-Ghani et al., 2005), ale je také toxičtější. Proto bylo od jeho využívání upuštěno (Ruetsch et al., 2005).

V současnosti se využívá v medicíně ve formě s HCl (*Cinchocaini hydrochloricum*) i bez ní. Je součástí anestetik pro povrchovou anestezii, nebo velmi zředěný pro anestezii

v oblasti páteře (Abdel-Ghani et al., 2005). Využití může nacházet také jako součást smrtící injekce při utrácení koní (Knottenbelt et al., 1994).

2.5.2 Sulfadimidinum

Sulfadimidinum (SU) bylo objeveno v roce 1935 (Kozárová et al., 2004). Nachází využití jako antibakteriální látka ve zdravotnictví (Tiwari et al., 1984) a také ve veterině. Má negativní účinky na člověka a to převážně pokud je jedinec vystaven jeho účinkům dlouhodobě. V takovém případě, může zapříčinit i rakovinu (Kozárová et al., 2004).

3 Praktická část

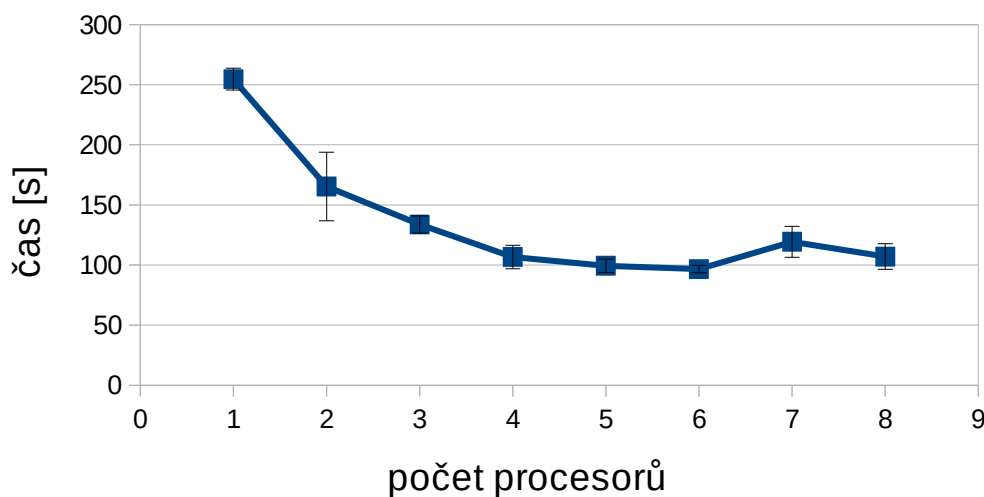
3.1 Optimalizace parametrů zadávání výpočtů

Nejprve jsme se zaměřili na optimalizaci práce se zdroji metacentra s cílem zjistit, jaké je optimální nastavení potřebného času a RAM, které je třeba na rezervovat (viz kapitola Metacentrum), aby nedocházelo k plýtvání zdroji Metacentra.

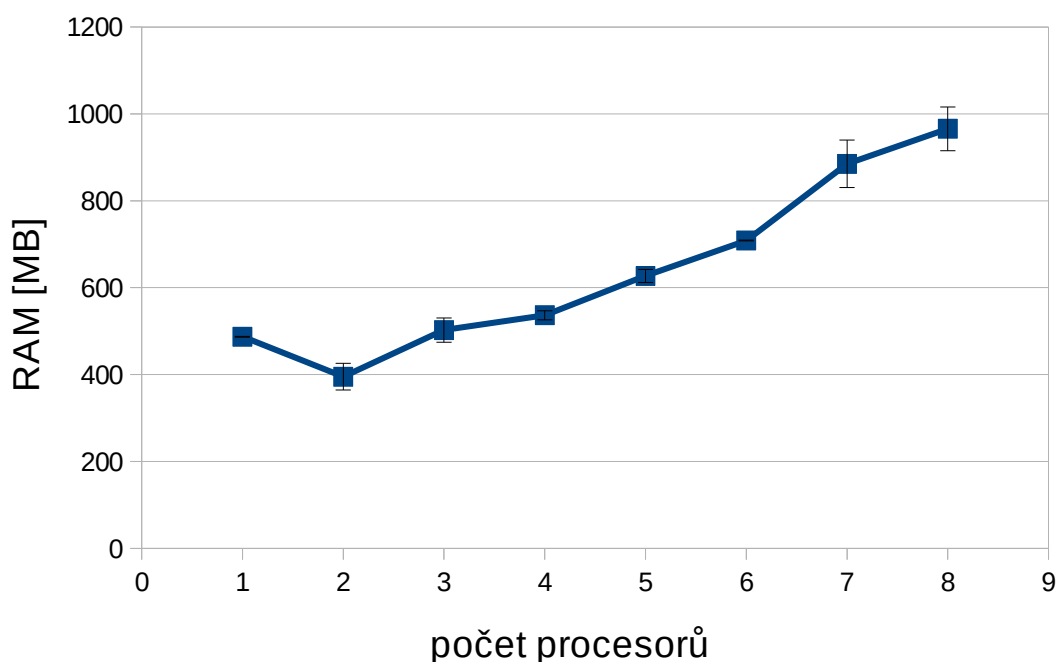
Pro tento účel byla zvolena molekula glukosy, která byla na C6 substituována -SH skupinou. Práce s touto molekulou byla výhodná zejména proto, že tvoří stavební jednotku molekul CD. Výpočet byl proveden v programu Gaussian 09 (Frisch et al., 2016) s použitím metody mp2 se standardní („defaultní“) bází a 3 krát zopakován. Výsledky jsou shrnuty v Grafu 2 a 3. Byla určena průměrná hodnota μ a směrodatná odchylka ze všech 3 měření podle vzorce (4):

$$S_N = \sqrt{\left(\frac{1}{N} \cdot \sum_i (x_i - \mu)^2\right)} \quad (4)$$

kde N představuje počet měření, x_i je i -tá hodnota měření a μ je aritmetický průměr všech hodnot.



Graf 2: Čas potřebný na optimalizaci substituované molekuly glukosy v závislosti na počtu alokovaných procesorů, včetně chybových úseček.



Graf 3: Využitá RAM v závislosti na počtu alokovaných procesorů k optimalizaci, včetně chybových úseček

Z Grafu 2 vyplývá, že zapojením většího počtu procesorů se zrychlí výpočet, pokud je jejich počet menší než 5. Zapojením více procesorů do výpočtu se jeho časová náročnost změní jen velmi málo a může i vzrůstat, což nejspíše souvisí s narůstajícím objemem komunikace mezi procesory. Tato časová úspora se nevyplatí ve srovnání s náklady na výpočet na více procesorech. Zároveň s využitím většího počtu procesorů stoupá spotřeba RAM (viz Graf 3).

Tento experiment potvrdil, že využití více procesorů může vést k zefektivnění procesu. Těchto procesorů nesmí ale být příliš mnoho, protože tak začínají nároky na výpočetní zdroje opět vzrůstat. Z Grafu 2 a 3 je zřejmé, že výpočty je rozumné provádět na 2 až 4 procesorech. S tímto nastavením lze dosáhnout optimálního využití výpočetních zdrojů.

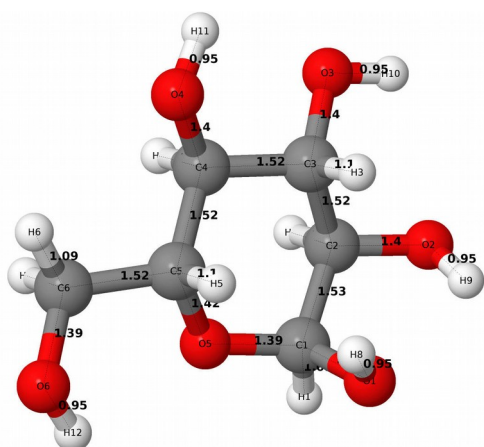
Autor se domnívá, že tyto výsledky jsou převeditelné pro semiempirické a DFT metody.

3.1 optimalizace glukosy

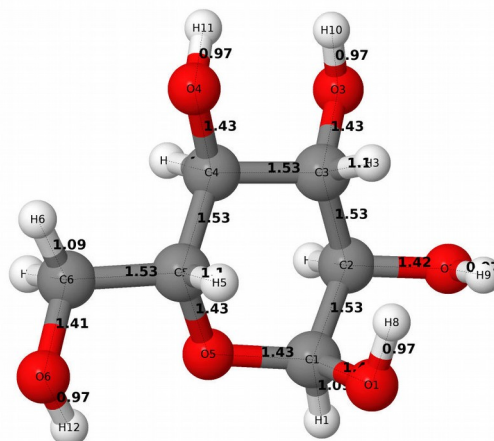
Dále byla studována základní stavební jednotka CD - molekula glukopyranosy. Nejprve bylo třeba ověřit, zda-li výsledky získané pomocí výpočtů odpovídají výsledkům známým z literatury.

K tomuto účely byl využit program Molpro (Werner et al., 2012), výchozí struktura pro výpočet byla získána z databáze Pubchem (Kim et al., 2019) a zoptimalizována pomocí metody HF na standardní („defaultní“) bázi. Následně byla výchozí struktura porovnána se strukturami z literatury - strukturou z databáze Pubchem (Kim et al., 2019) a se strukturou určenou neutronovou difrakcí (Brown & Levy, 1965). Aby bylo toto porovnání možné byly pomocí skriptu v programu Python (Python software foundation, n.d.) změřeny délky některých vazeb ve výsledné struktuře molekuly (Tab. 3, Obr. 5-7). Podobným způsobem, byly porovnávány i velikosti úhlů v této molekule (Tab. 4, Obr. 8-10).

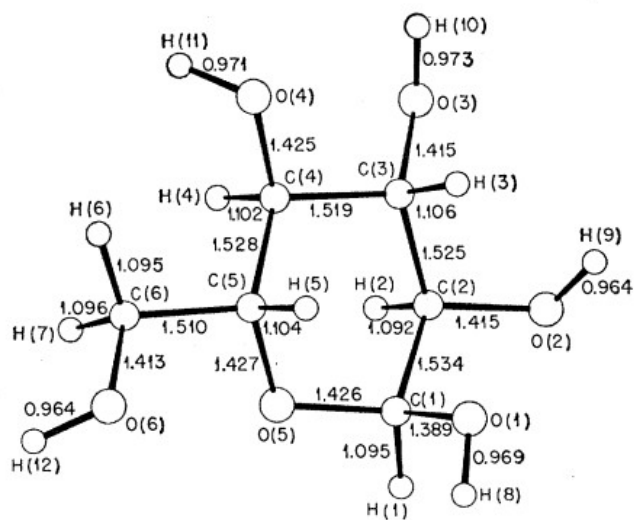
Tab. 3: velikost vazeb α -D-glukopyranosy [Å]			
program	Molpro	Database	Database
konformace	Pubchem	Brown	Pubchem
označení uhlu/metoda	HF	X-ray	Pubchem
C1-C2	1.528	1.534	1.530
C2-C3	1.520	1.525	1.527
C3-C4	1.517	1.519	1.530
C4-C5	1.521	1.528	1.535
C5-O5	1.419	1.427	1.432
O5-C1	1.388	1.426	1.429
C5-C6	1.516	1.510	1.526
C1-O1	1.396	1.389	1.426
C2-O2	1.399	1.415	1.426
C3-O3	1.399	1.415	1.430
C4-O4	1.396	1.425	1.426
C6-O6	1.393	1.413	1.409
C1-H1	1.085	1.095	1.095
C2-H2	1.098	1.092	1.097
C3-H3	1.098	1.106	1.097
C4-H4	1.096	1.102	1.098
C5-H5	1.096	1.104	1.098
C6-H6	1.087	1.095	1.094
C6-H7	1.096	1.096	1.095
O1-H8	0.946	0.969	0.971
O2-H9	0.947	0.964	0.972
O3-H10	0.948	0.973	0.972
O4-H11	0.947	0.971	0.972
O6-H12	0.947	0.964	0.973
celková energie [keV]	-18.596055 -	-	-



Obr. 5: Molekula glukopyranosy, Molpro HF, měření vzdáleností mezi atomy.

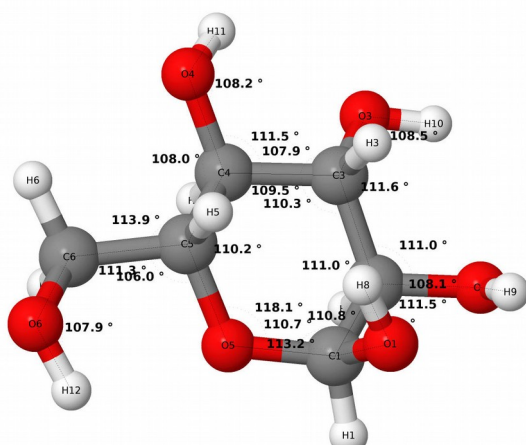


Obr. 6: Molekula glukopyranosy, Pubchem, měření vzdáleností mezi atomy.

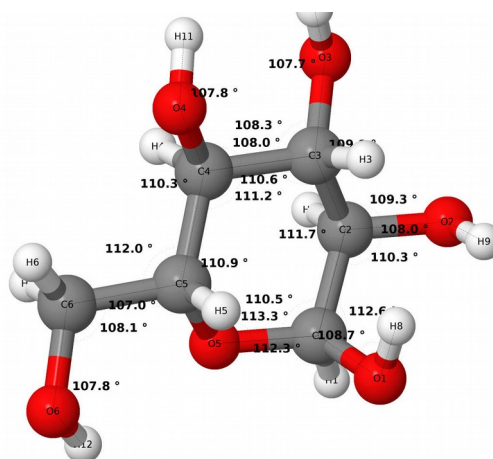


Obr. 7: Molekula alpha-d-glukopyranosy, Brown et Levy 1965- neutronová difrakce, měření vzdáleností mezi atomy.

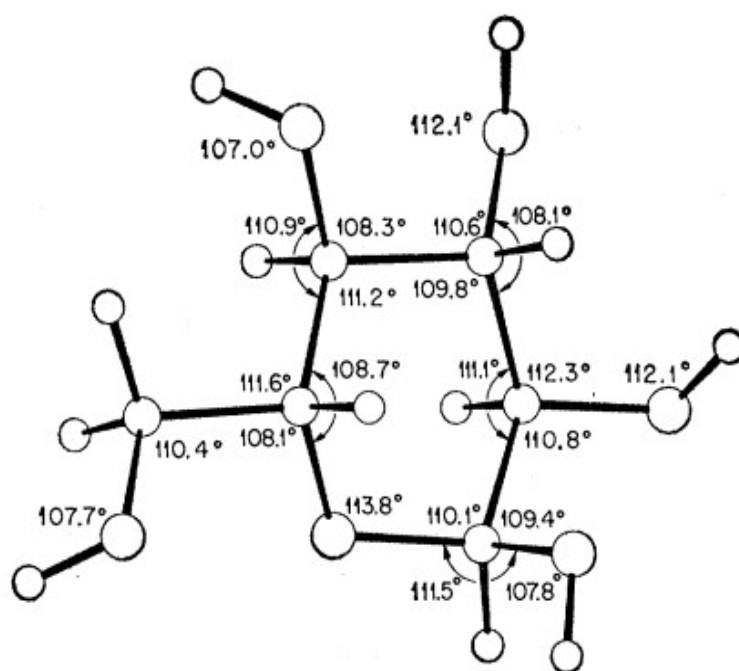
Tab. 4: Velikost úhlů α -D-glukopyranosy [°]			
konformace	Pubchem	Brown	Pubchem
označení uhlí/metoda	HF, molpro	neutronový dif., databáze	databáze
O5-C1-C2	110.7	110.1	110.5
C1-C2-C3	111.0	111.1	111.7
C2-C3-C4	110.3	109.8	110.6
C3-C4-C5	109.5	111.2	111.2
C4-C5-O5	110.2	108.7	110.9
C4-C5-C6	113.9	111.6	112.0
O5-C5-C6	106.0	108.1	107.0
C5-O5-C1	118.1	113.8	113.3
O1-C1-C2	111.0	109.4	112.6
C1-O1-H8	110.8	107.8	108.7
C1-C2-O2	111.5	110.8	110.3
C2-O2-H9	108.1	112.1	108.0
O2-C2-C3	111.0	112.3	109.3
C2-C3-O3	111.6	108.1	109.1
C3-O3-H10	108.5	112.1	107.7
O3-C3-C4	107.9	110.6	108.3
C3-C4-O4	111.5	108.3	108.0
C4-O4-H11	108.2	107.0	107.8
O4-C4-C5	108.0	110.9	110.3
C6-C5-O5	106.0	108.7	107.0
C6-O6-H12	107.9	107.7	107.8
C5-C6-O6	111.3	110.4	108.1



Obr. 8: Molekula α -D-glukopyranosy, Molpro HF, měření úhlů.



Obr. 9: Molekula α -D-glukopyranosy, Pubchem, měření úhlů.



Obr. 10: Molekula glukopyranosy, Brown et Levy 1965-
neutronová difrakce, měření úhlů.

Z Tabulky 3 je vidět, že rozdíly mezi jednotlivými metodami jsou v řádu tisícín až desetin Å. Rozdíl vypočtených úhlů oproti datům z literatury je relativně větší. Pohybuje se v řádu desetin až jednotek ° (Tab. 4). Tak velké rozdíly jsou nejspíše způsobeny tím, že každá z porovnávaných struktur má jinou konformaci (Obr. 8-10). Zejména se pak jedná o natočení vazeb O6-H12, O4-H11 a O3-H10.

Z tohoto experimentu je tedy zřejmé, že vypočtená struktura se liší od struktur, které jsou známy z literatury a to jak co se týče velikosti vazeb, tak co se týče velikosti úhlů. Odchyłky ve velikosti úhlů pak vyústí v rozdílnou výslednou konformaci všech zkoumaných struktur. Ačkoli nepanuje úplná shoda mezi daty z literatury a vypočtenými daty, je zřejmé, že vypočtená data umožňují získání poměrně přesné představy o vzhledu reálných struktur molekul.

3.1.1 optimalizace -SH substituované glukosy

Předchozí experiment prokázal, že mohou existovat jisté odchylky v konformacích molekul glukosy, proto bylo důležité určit konformaci, která má nejnižší energii a bude se tedy v reálných podmínkách nejpravděpodobněji vyskytovat. Průzkum optimální konformace byl proveden zároveň s optimalizací molekuly glukosy na C6 substituované

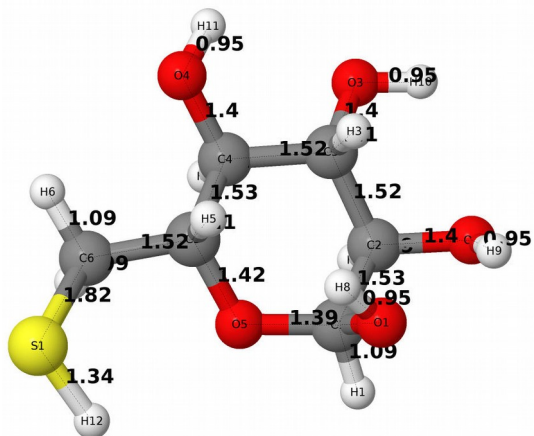
-SH skupinou, protože taková molekula představuje základní stavební jednotku persubstituovaných CD použitých Kalátem (2017) a Grofem (2018) ve zkoumaném senzorovém systému.

Výše zmíněná molekula byla studována ve 3 konformacích: konformace sestavená autorem podle chemického vzorce, konformace z databáze Pubchem (Kim et al., 2019) a konformace konstruovaná podle Brown et Levy (1965). Brzy se ale ukázalo, že konformace zkonstruovaná autorem je nepoužitelná, protože odchylky od reálné struktury jsou příliš velké, takže tuto strukturu nebylo vůbec možné zoptimalizovat. Z tohoto důvodu bylo od dalšího studia této struktury upuštěno. Zbývající dvě konformace byly optimalizovány v programu Molpro (Werner et al., 2012) metodou HF na standardní („defaultní“) bázi. Výsledky tohoto výpočtu je možné najít v Tab. 5.

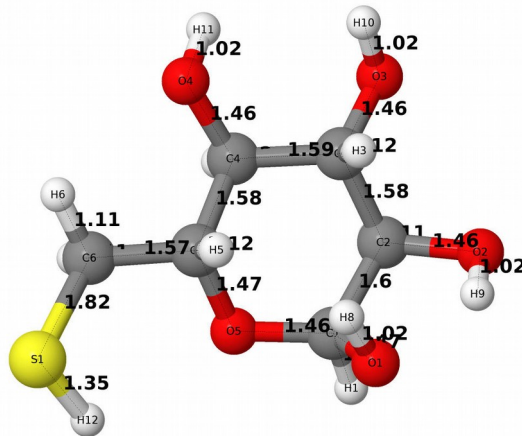
Porovnáním celkových energií těchto konformací bylo zjištěno, že konformace podle Brown et Levy (1965) má o 0.1 eV nižší energii. Teto energetický rozdíl byl vyhodnocen jako dostatečně signifikantní, tudíž může být na strukturu podle Brown et Levy (1965) pohlíženo jako na strukturu jejíž výskyt je ve skutečných podmínkách pravděpodobnější. Z toho důvodu byla pro konstrukci CD využita právě tato konformace.

Tab. 5: velikosti vazeb α -D-glukopyranosy substituované sírou [Å]				
konformace	Pubchem	Pubchem	Brown	Brown
označení vazby/ metoda	HF	MP2	HF	b3lyp
C1-C2	1.527	1.603	1.524	1.620
C2-C3	1.519	1.583	1.521	1.589
C3-C4	1.516	1.589	1.518	1.568
C4-C5	1.525	1.581	1.524	1.575
C5-O5	1.416	1.472	1.416	1.489
O5-C1	1.387	1.456	1.387	1.456
C5-C6	1.517	1.573	1.516	1.562
C1-O1	1.399	1.468	1.392	1.495
C2-O2	1.399	1.459	1.399	1.456
C3-O3	1.399	1.463	1.402	1.470
C4-O4	1.396	1.464	1.397	1.466
C6-S1	1.823	1.823	1.836	1.837
C1-H1	1.086	1.118	1.089	1.116
C2-H2	1.090	1.113	1.090	1.113
C3-H3	1.098	1.118	1.095	1.117
C4-H4	1.096	1.117	1.096	1.118
C5-H5	1.095	1.119	1.091	1.117
C6-H6	1.088	1.106	1.086	1.106
C6-H7	1.089	1.108	1.089	1.106
O1-H8	0.947	1.016	0.947	1.028
O2-H9	0.949	1.021	0.948	1.049
O3-H10	0.948	1.018	0.947	1.025
O4-H11	0.948	1.017	0.948	1.036
S1-H12	1.338	1.350	1.338	1.362
celková energie [keV]	-27.376213	-27.056861	-27.376339	-27.146673

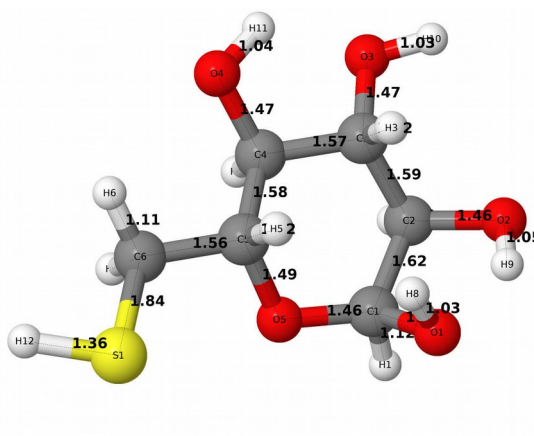
Optimalizace -SH substituované molekuly glukosy byla provedena také metodou b3lyp a mp2 s cílem porovnat přesnost jednotlivých metod a odhadnout vhodnou úroveň teorie pro následující výpočty. Oba výpočty byly provedeny v programu Gaussian na standardní („defaultní“) bázi a jejich výsledky jsou zaneseny do Tab. 5 (vizualizace viz Obr. 11-14), kde jsou uvedené délky význačných vazeb podle stejného schématu jako v případě Tab. 3. Tab. 6 shrnuje velikosti význačných úhlů pro všechny výpočty provedené v rámci této kapitoly (Obr. 15-18).



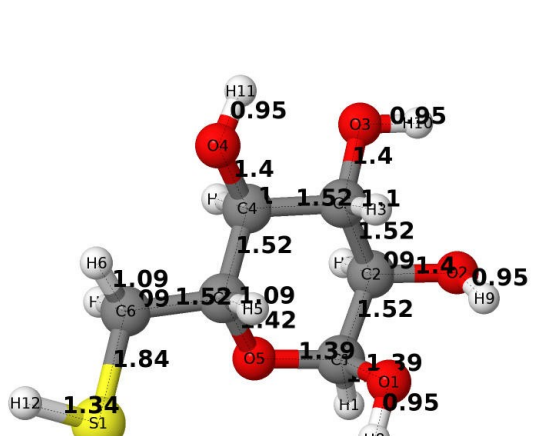
Obr. 11: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, Pubchem ,Molpro HF, měření vzdáleností mezi atomy



Obr. 12: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, Pubchem, mp2, měření vzdáleností mezi atomy

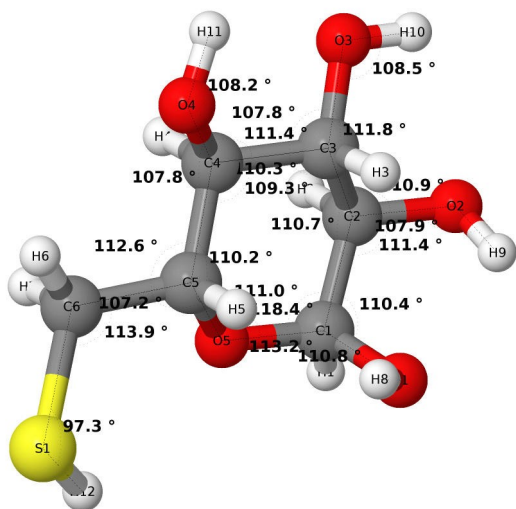


Obr. 13: Molekula glukosy, substituce O6 za S1, konformace Brown et Levy (1965), metoda b3lyp, měření vzdáleností mezi atomy.

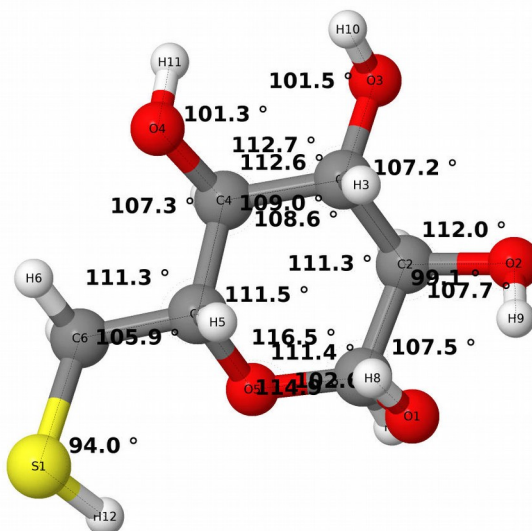


Obr. 14: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Brown (1965), metoda HF, měření vzdáleností mezi atomy

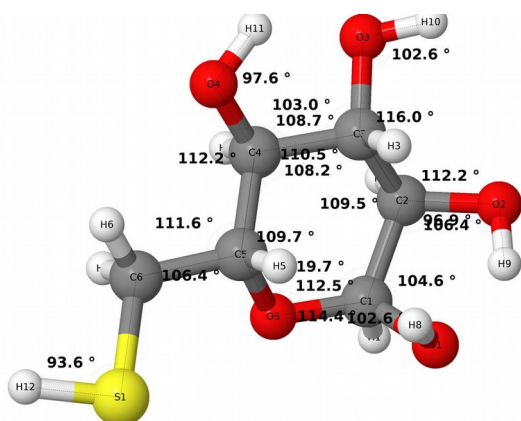
Tab 6: velikost úhlů v α-D-glukopyranose substituované sírou [°]				
konformace	Pubchem	Pubchem	Brown	Brown
označení uhlí/ metoda	HF, molpro	MP2, gaussian	HF, molpro	b3lyp, gaussian
O5-C1-C2	111.0	116.5	111.1	119.7
C1-C2-C3	110.7	111.3	110.5	109.5
C2-C3-C4	110.3	109	110.7	110.5
C3-C4-C5	109.3	108.6	109.2	108.2
C4-C5-O5	110.2	111.5	109.2	109.7
C4-C5-C6	112.6	111.3	112.7	111.6
O5-C5-C6	107.2	105.9	107.2	106.4
C5-O5-C1	118.4	111.4	116.7	112.5
O1-C1-C2	110.4	107.5	106.9	104.6
C1-O1-H8	110.8	102.6	109.5	102.6
C1-C2-O2	111.4	107.7	111.9	106.4
C2-O2-H9	107.9	99.1	107.9	96.9
O2-C2-C3	110.9	112	111.0	112.2
C2-C3-O3	111.8	107.2	111.4	116.0
C3-O3-H10	108.5	101.5	108.5	102.6
O3-C3-C4	107.8	112.7	107.5	103.0
C3-C4-O4	111.4	112.6	111.3	108.7
C4-O4-H11	108.2	101.3	108.1	97.6
O4-C4-C5	107.8	107.3	108.4	112.2
C6-C5-O5	107.2	105.9	107.2	106.4
C6-S1-H12	97.3	94	97.3	93.6
C5-C6-S1	113.9	114	110.7	110.8



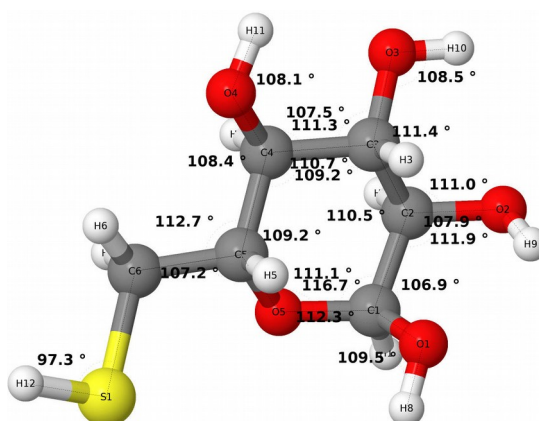
Obr. 15: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Pubchem, Molpro, HF, měření úhl



Obr. 16: Molekula glukosy substituce S1 za O6, konformace Pubchem, Gaussian mp2, měření úhlů.



Obr. 17: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Brown et Levy (1965), b3lyp, měření úhlů.



Obr. 18: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Brown et Levy (1965), Molpro, HF, měření úhlů.

Z Tab. 5 a 6 je patrné, že optimalizace metodou HF dopadla velmi podobně (vzhlédem co se týče délky vazeb) pro obě konformace (Brown et. Levy (1965) i Pubchem (Kim et al., 2019)). Naopak výsledky výpočtů provedených pomocí mp2 a b3lyp jsou výrazně odlišné a to jak do výsledků vypočtených metodou HF, tak od sebe navzájem (porovnání provedeno podle délek vazeb a velikosti úhlů, energie vypočtené rozdílnými metodami porovnávat nelze). Přitom se dá předpokládat, že b3lyp a mp2 jsou přesnější, protože v sobě zahrnují i výpočet tzv. korelační energie (Jensen, 2007).

Z výše uvedeného je vidět, že volba vhodné úrovně teorie (metody) velmi závažně ovlivní výsledky výpočtů. Vzhledem k poměrně velké náročnosti metod HF a mp2, které byly vyhodnoceny jako příliš časově náročné pro účely této práce, byla pro další výpočty zvolena metoda b3lyp. Od použití této metody byla očekávána relativně dobrá přesnost při zachování poměrně nízké spotřeby času i pro úlohy řešící systém s velmi vysokým počtem atomů (systém 2 CD a léčiva může přesáhnout i 300 atomů). Dalším argumentem pro práci s touto metodou byl fakt, že její použití pro podobné systémy je známé z literatury (Snor et al., 2009).

3.2 Konstrukce CD

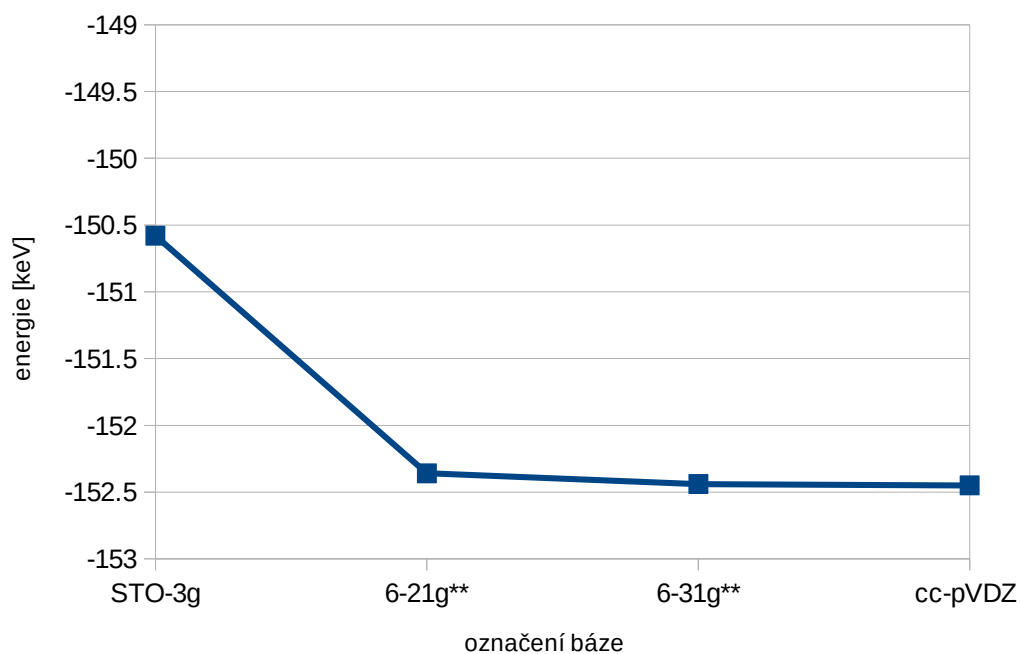
Molekuly 4 typů cyklodextrinů: pre- α -CD, α -CD, β -CD a γ -CD byly konstruovány pomocí skriptu, který autor napsal v jazyce Python (Python software foundation, n.d.). Jako základní kámen byla použita molekula -SH substituované glukosy zoptimalizovaná metodou HF v programu Molpro (Werner et al., 2012). Od této molekuly byla oddělena na C1 skupina -OH a na C4 vodík, aby byl zaručen vznik glykosidické vazby v CD. Následně byla tato molekula pomocí skriptu umístěna do prostoru a vhodně rotována a posunuta tak, aby zaujala svoji pozici v CD. Molekula CD vznikla několikanásobným (podle typu CD) zkopírováním a otočením takto umístěné jednotky okolo středu CD. Takto konstruované molekuly se ukázaly být dobrými vstupními podmínkami pro optimalizaci.

3.3 Výběr vhodné báze

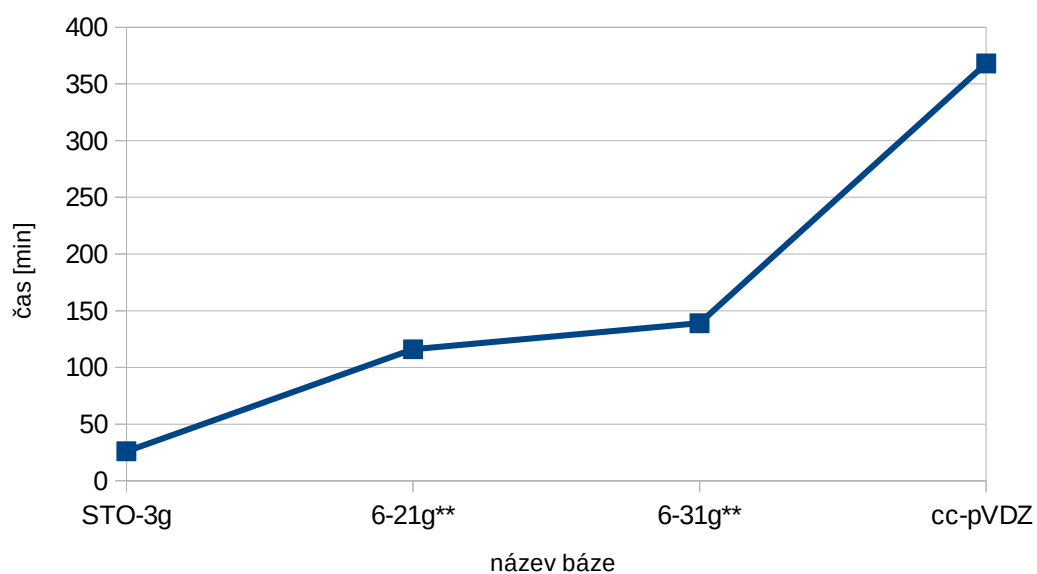
Výsledkem jednoho z předchozích experimentů bylo zvolení metody b3lyp, jako vhodné úrovně teorie pro výpočty prováděné s CD. Aby tato metoda byla co nejpřesnější, je třeba určit vhodnou bázi, protože standardní („defaultní“) báze bývá zpravidla méně přesnou bází. Naopak platí, že čím je báze větší (přesnější) tím více času výpočet zabere.

Z tohoto důvodu bylo porovnáno několik bází (standardní („defaultní“) báze – STO-3g, 6-21g**, 6-31g** a cc-pVDZ). Na těchto bázích byla v programu Gaussian optimalizována molekula α -CD (persubstituovaná -SH skupinou). Použitá metoda byla b3lyp.

Výsledky tohoto experimentu shrnuje Graf 4, kde jsou porovnány výsledné energie molekuly α -CD pro optimalizaci její struktury na různých bázích a Graf 5, kde je vyneseno čas potřebný pro výpočet na dané bázi.



Graf 4: Energie molekuly α -CD, b3lyp, pro rozdílné báze



Graf 5: Čas potřebný pro optimalizaci α CD, b3lyp pro různé báze.

Z Grafu 4 je vidět, že báze významně ovlivňuje výslednou energii výpočtu, je tedy důležitým faktorem, který je třeba zvážit. Energie vypočtená pomocí báze STO-3g je výrazně vyšší než energie vypočtená na ostatních bázích. Pokles mezi 6-21g** a 6-

31g** je pak mnohem menší než mezi STO-3g a 6-21g**. Pokles energie mezi 6-31g** je na grafu už stěží rozeznatelný. S klesající energií a tím vzrůstající přesností, ale stoupá potřebný čas pro optimalizaci (Graf 5). Po srovnání těchto dat byla jako optimální báze vybrána báze 6-21g**.

3.4 Optimalizace CD

Molekuly všech 4 zkoumaných typů persubstituovaných CD tj. pre- α -CD, α -CD, β -CD, a γ -CD byly optimalizovány nejprve pomocí metody b3lyp na bázi 6-21g** v programu Gaussian (Frisch et al., 2016) (Tab. 7). Velmi brzy se ale ukázalo, že metoda b3lyp je příliš časově náročná a vznikla určitá pochybnost, zda-li bude možné pomocí této metody řešit systémy 2 CD s léčivem v přijatelném čase. Tato pochybnost se později ukázala jako opodstatněná. Z toho důvodu byla optimalizace CD provedena také na nižší úrovni teorie, konkrétně se jednalo o semiempirickou metodu PM6. Výsledky těchto výpočtů je možné najít v Tab. 7.

Tab. 7: energie optimalizovaných CD		
typ CD/metoda	PM6	b3lyp
	energie [eV]	energie [keV]
paCD	-38.8431	-126.9747
aCD	-46.6539	-152.3700
bCD	-54.3292	-177.7650
cCD	-61.9175	-203.1600

Získané zoptimalizované struktury (PM6) byly následně využity pro výpočty interakcí mezi CD a mezi CD a léčivy. Přesná struktura persubstituovaného CD nebyla v literatuře nalezena a to ani experimentální ani vypočtená. Získaná data tedy nebylo možné s literaturou porovnat.

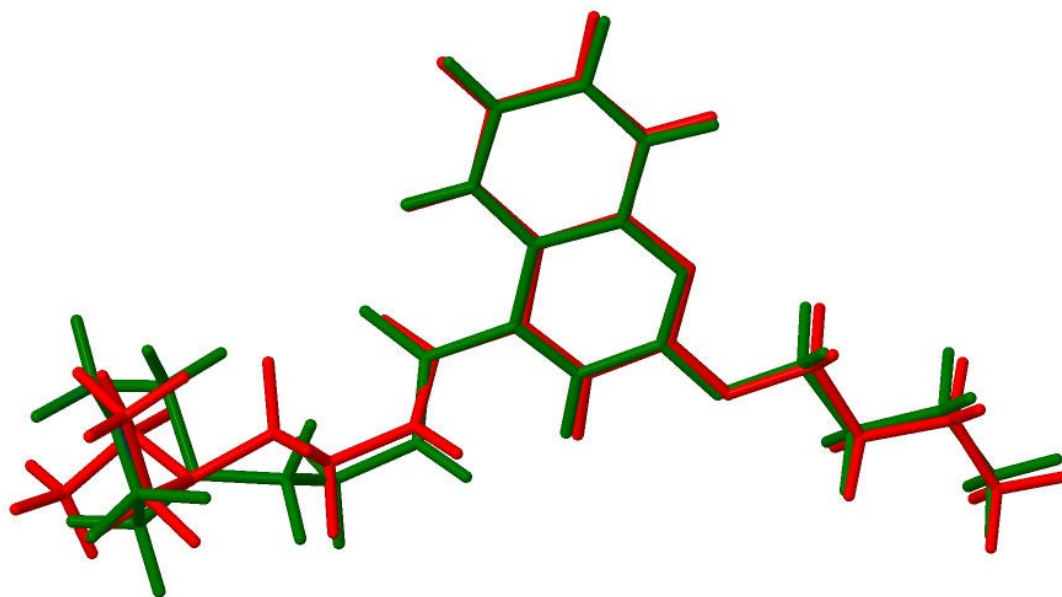
Souřadnice (xyz) všech atomů jsou pro optimální struktury CD spočtené metodou PM6 jsou uvedeny v Příloze práce.

3.5 Optimalizace léčiv

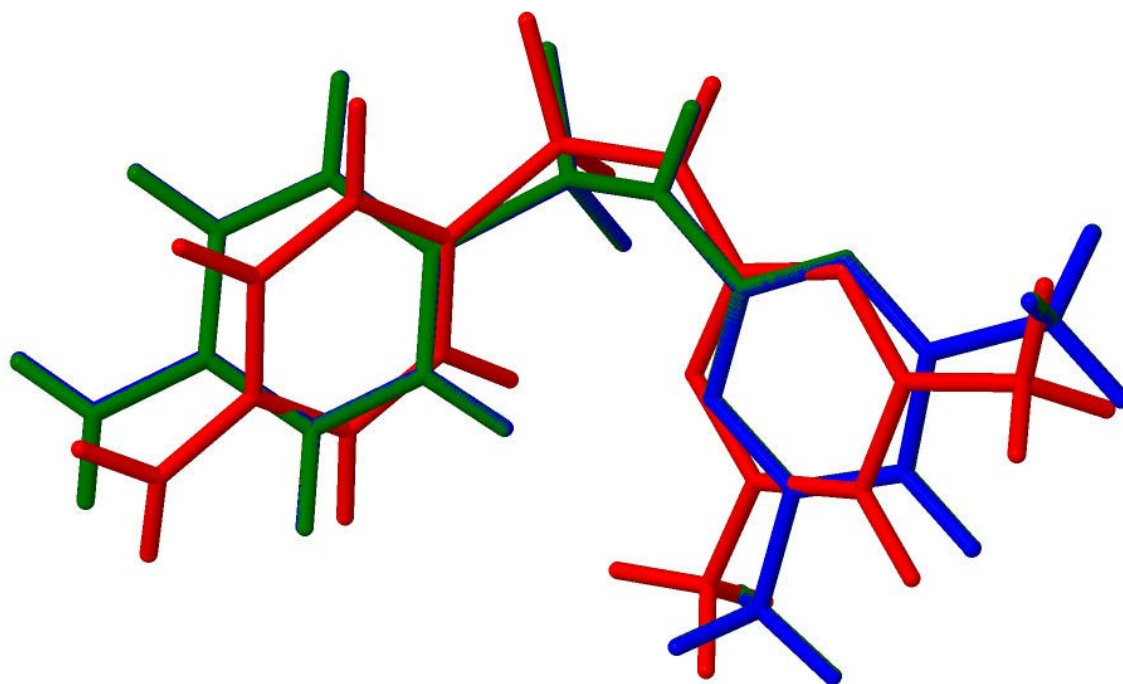
Obě zkoumaná léčiva, CI a SU, byla před studiem jejich inkusních komplexů zoptimalizována pomocí metody b3lyp na bázi 6-21g** a PM6. Všechny výpočty byly provedeny v programu Gaussian (Frisch et al., 2016). Celkově bylo provedeno 6 výpočtů, 3 pro každé z léčiv. Nejprve byla byla optimalizována struktura získaná z databáze Pubchem (Kim et al., 2019) metodou PM6, následně byla struktura z databáze

optimalizována metodou b3lyp na bázi 6-21g**, posledním typem výpočtu byla optimalizace struktury zoptimalizované pomocí PM6 (ta tedy posloužila jako výchozí podmínka) metodou b3lyp na bázi 6-21g**. Tato sada výpočtů byla provedena s cílem porovnat obě metody (b3lyp a PM6) a zjistit jak hodně může výchozí struktura ovlivnit výsledek výpočtu.

Zoptimalizované struktury byly porovnány pomocí programu Jmol (Jmol, 2020). Výsledky tohoto porovnání jsou vidět na Obr. 19 a Obr. 20.



Obr. 19: Porovnání CI optimalizací: (konformace Pubchem $\rightarrow$ pm6) červená, (Pubchem $\rightarrow$ b3lyp) zelená, (pm6 $\rightarrow$ b3lyp) modrá. Modrá není na obrázku patrná, protože došlo k překryvu se zelenou (RMSD=0 Å), RMSD (červená $\rightarrow$ modrá)=0.75 Å.



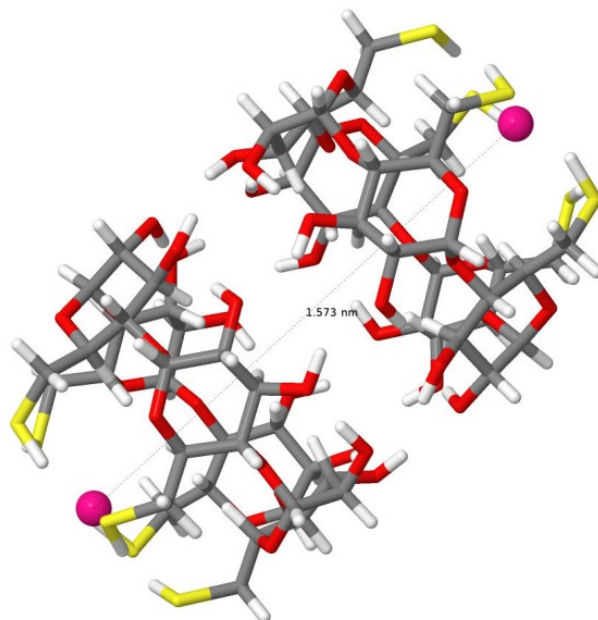
Obr. 20: Porovnání jednotlivých typů optimalizací pro SU. konformace Pubchem → pm6) červená, (Pubchem → b3lyp) zelená, (pm6 → b3lyp) modrá. RMSD (modná → červená)=0.77 Å, RMSD (modrá → zelená)=0 Å.

Na Obr 19 a 20 je vidět, že v obou případech došlo k překryvu struktur zoptimalizovaných pomocí b3lyp na 6-21g** (modré a zelené struktury). Z tohoto lze vyvodit, že drobné změny ve vstupní konformaci nehrají při výpočtech významnou úlohu.

Oproti tomu struktura zoptimalizovaná metodou PM6 (červená) se v obou případech signifikantně liší od ostatních struktur. Výraznější odchylky jsou pozorovány pro léčivo SU. Tento fakt podporuje i vyšší hodnota RMSD. Pozorované odchylky dokládají rozdílnost přesnosti obou použitých metod, která je výrazná. Protože od metody b3lyp je očekávána větší přesnost, je zřejmé, že chyba vnesená do výpočtu využitím metody PM6 bude poměrně značná. Použití metody PM6 je ale komentováno v literatuře Stewartem (2009), který aplikoval tuto metodu na 45 proteinů o počtu atomů mezi 244 a cca 14 000. Výsledkem jeho zkoumání je závěr, že struktury zoptimalizované PM6 jsou v dobré shodě s experimentálními daty (Stewart, 2009). Tento argument, spolu s rychlostí této metody dostatečně opodstatňuje využití metody PM6 v dalších výpočtech.

3.6 interakce 2 CD bez přítomnosti léčiva

Před samotným studiem inklusních komplexů byly přikročeno k výzkumu interakcí CD bez přítomnosti léčiva, aby mohla být diskutována možnost vzniku agregátů a sedimentace CD v sensorovém systému pouze na základě interakce 2 CD bez léčiva.



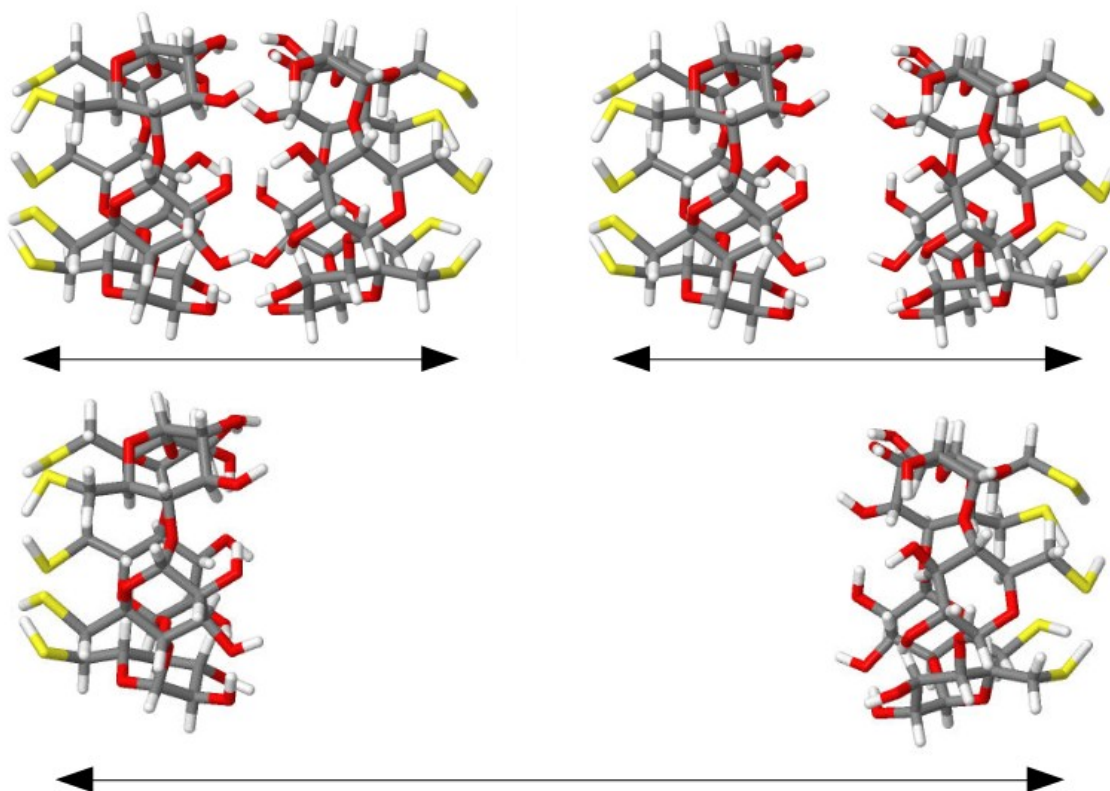
*Obr. 21: Schéma měření vzdáleností mezi CD.
Růžové koule představují těžiště atomů síry pro
daný pre-α-CD.*

3.6.1 konstrukce a charakterizace systému 2 CD

Aby mohla být prozkoumána interakce 2CD bez přítomnosti léčiva, byl nejprve pomocí skriptu, který autor napsal v jazyce Python, vytvořen systém, který obsahoval dva persubstituované pre-α-CD v definované vzdálenosti, umístěné na společné ose, orientované sekundárními okraji směrem k sobě. Všechny atomy síry v obou CD byly pro optimalizaci fixovány tak, aby se CD nemohly v průběhu optimalizace přiblížit k sobě. Následně byla provedena optimalizace.

Takto bylo optimalizováno několik systémů vždy s rozdílnou vzdáleností CD od sebe. Jednotlivé systémy spolu nijak nesouvisely, při tvorbě nového systému byla použita struktura zoptimalizovaného CD, nikoli struktura z předchozího kroku (Obr. 22). Použitá optimalizační metoda byla PM6 v programu Gaussian (Frisch et al., 2016).

Vzdálenost mezi CD byla měřena jako vzdálenost těžišť atomů síry příslušných CD, jak je naznačeno na Obr. 21.

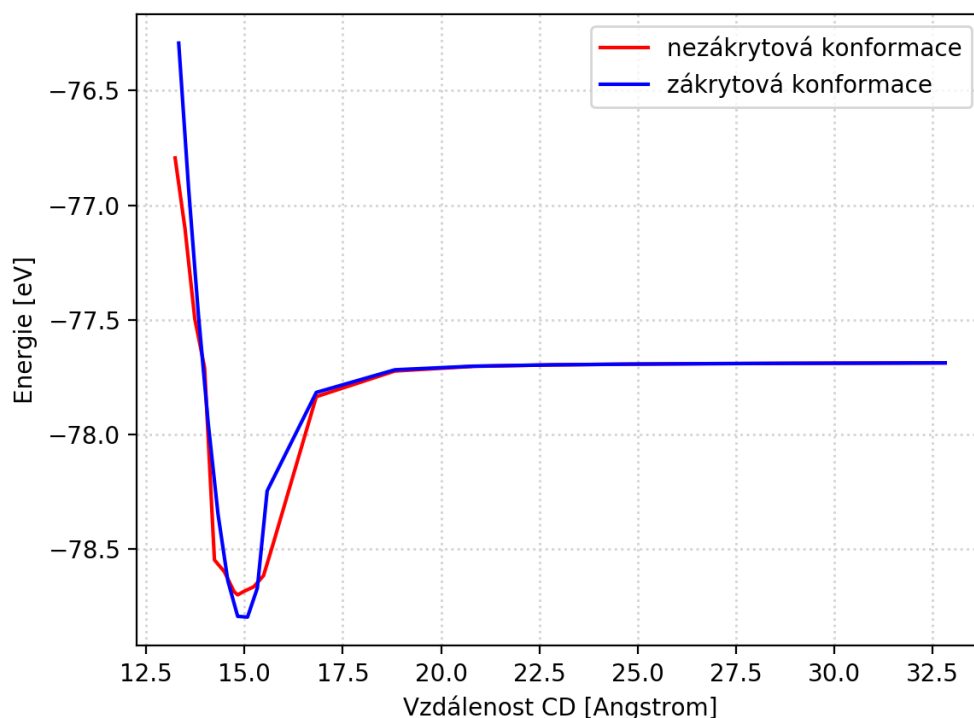


Obr. 22: Systémy obsahující 2 pre- α -CD v rozdílné vzdálenosti od sebe.

3.6.2 Výsledky

Výše popsaným způsobem byly zkoumány dva typy systému 2 CD: a) dva pre- α -CD jejichž atomy síry na primárním okraji byly v zákrytu. Tento systém byl označen jako zákrytová konformace, b) nezákrytová konformace, charakteristická pootočením pre- α -CD o 36° oproti sobě tak, aby úhel mezi středem CD a všemi atomy síry byl v kolmém průmětu maximální. Výsledky pro obě „konformace“ jsou shrnuty v Grafu 6.

Z Grafu 6 je vidět, že při dostatečné přiblížení 2 pre- α -CD k sobě dojde ke vzniku energetického minima i bez přítomnosti léčiva. Dále je zřejmé, že interakce, která vede ke vzniku tohoto minima je silnější v případě zákrytové konformace. Po důkladném prozkoumání struktur s minimální energií byla vyslovena hypotéza, že interakce vedoucí ke vzniku energetického minima je nejspíše vznik vodíkových vazeb mezi sekundárními okraji pre- α -CD.



Graf 6: Závislost energie systému 2 pre- α -CD v závislosti na vzdálenosti CD (viz Konstrukce a charakterizace systému 2 CD), metoda PM6.

3.6.3 Důkaz vzniku vodíkových vazeb mezi pre- α -CD

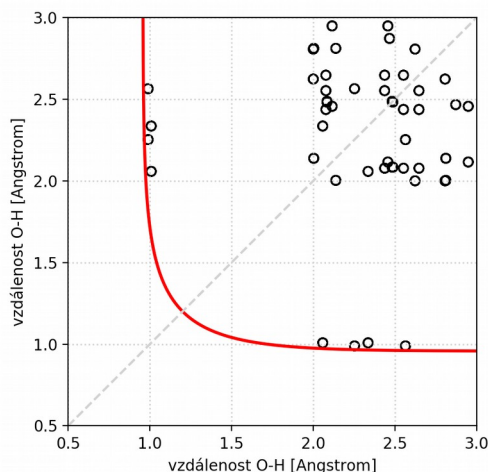
Určení vodíkových vazeb proběhlo podle teorie navržené Paulingem (1949) a rozpracované Olovssonem (2006). Nejprve byly ve výsledné struktuře lokalizovány všechny vodíky a následně spočteny vzdálenosti mezi každým z vodíků a všemi kyslíky ve struktuře (použití skriptu v jazyce Python (Python software foundation, n.d.)). Tyto pak byly vytrženy podle požadavku na maximální vzdálenost O a H (3 Å). Následně byly všechny možné kombinace těchto vazeb vyneseny do grafu (Graf 7: pre- α -CD ve vzdálenosti odpovídající minimu energie, Graf 8: pre- α -CD v maximální vzdálenosti). Protože v pre- α -CD je mnoho vodíkových a kyslíkových atomů, došlo k překrytí bodů v Grafech 7 a 8. Jeden bod v těchto grafech tedy odpovídá hned několika vazbám ve skutečnosti.

Takto získané body byly porovnány s teoretickou křivkou BORG (bond order reaction coordinate), která podle teorie charakterizuje vodíkovou vazbu. Za předpokladu nezměněné valence protonu, pro vodíkovou vazbu pak dostáváme soustavu rovnic pro jednotlivé osy grafu R_1 a R_2 :

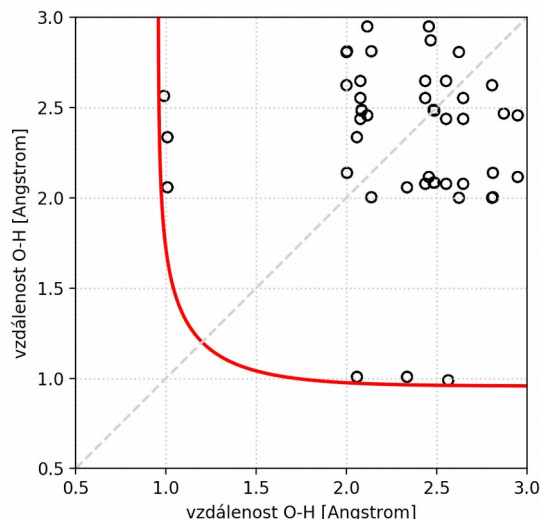
$$R_1 = R_0 - a \cdot \ln(\rho)$$

$$R_2 = R_0 - a \cdot \ln(1 - \rho)$$

kde R_1 a R_2 jsou vzdálenosti atomů O od centrálního vodíku. R_0 je vzdálenost O-H, která odpovídá jednoduché vazbě, a je empirická konstanta a ρ je řád vazby. Pro studovaný případ je možno dosadit $a=0.351 \text{ Å}$ a $R_0 = 0.951 \text{ Å}$, za ρ je třeba dosadit řadu hodnot, tak aby vznikla dostatečně hladká křivka (viz Graf 7 a 8) (Majerz & Olovsson, 2007; Olovsson, 2006).



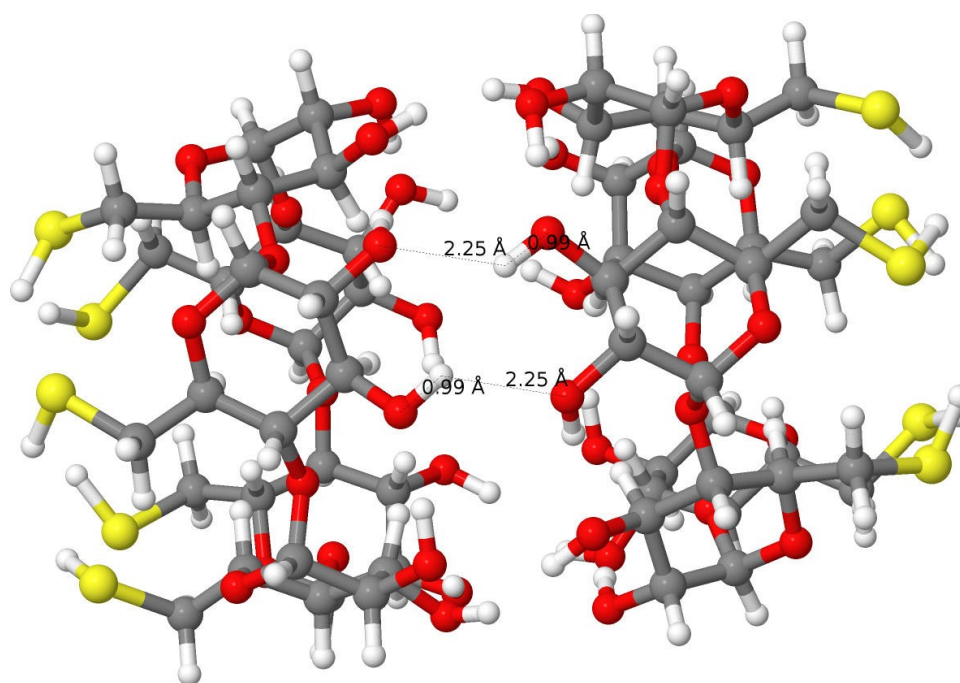
Graf 7: Vzdálenost H od centrálního O podle teorie BOREC. Graf je symetrický podle čárkovaně vyznačené diagonály. pre- α -CD ve vzdálenosti odpovídající minimální energii.



Graf 8: Vzdálenost H od centrálního O podle teorie BOREC. Graf je symetrický podle čárkovaně vyznačené diagonály. pre- α -CD v maximální vzdálenosti od sebe

Z porovnání Grafů 7 a 8 je vidět, že ve vzdálenosti, která odpovídá minimu energie (Graf 7), se nachází o jeden bod více na křivce BOREC než je tomu v případě, kdy se pre- α -CD nacházejí v maximální vzdálenosti (Graf 8). Tento bod tedy dostatečně přesvědčivě dokládá, že v minimu energie dojde ke vzniku několika vodíkových vazeb mezi molekulami pre- α -CD (vizualizace: Obr. 23). Podle dostupného poznání nic nebrání v zobecnění tohoto poznatku na všechny typy známých CD.

Výsledek tohoto experimentu je podpořen také literaturou. Loftsson (2019) studuje agregaci CD v roztoku experimentálně a uvádí jako jeden z jejích mechanismů právě vznik vodíkových vazeb mezi CD (Loftsson et al., 2019). V případě sensorového systému se kterým experimentovali Grof (Grof, 2018) a Kalát (M. Kalát, 2017), tento jev pozorován nebyl, nejspíše proto, že roztoky nanočástic s CD nebyly skladovány dostatečně dlouho, aby mohla být samovolná agregace pozorována (Grof et Řezanka – osobní sdělení, 2020).



Obr. 23: Vizualizace nově vzniklých vodíkových interakcí mezi 2 pre- α -CD.

3.7 vznik inklusních komplexů

Systémy pro studium inklusních komplexů byly konstruovány a charakterizovány stejným způsobem jako v kapitole 3.6.1 *Konstrukce a charakterizace systému 2 CD*, s tím rozdílem, že na osu mezi 2 CD byla umístěna molekula léčiva, která nebyla žádným způsobem fixována. Těžiště molekuly léčiva (hmotnosti všech atomů byly pro tento účel uvažovány jako jednotkové) bylo umístěno do středu osy, na které leží oba CD. Takové systémy byly konstruovány pro α -CD, β -CD, γ -CD a obě zkoumaná léčiva a následně optimalizovány programem Gaussian (Frisch et al., 2016), metodou PM6.

Energie byla vynesena do grafů jako referenční energie vypočtená podle vzorce (5):

$$E_{ref} = E_{celková} - 2 \cdot E_{CD} - E_{léčivo} \quad (5)$$

kde $E_{celková}$ představuje vypočtenou energii systému 2 CD a léčiva, E_{CD} je hodnota energie optimalizované molekuly CD daného typu a $E_{léčivo}$ je energie optimalizované molekuly daného léčiva. Referenční energie byla tedy pro každý systém odlišná. Referenční energie umožňuje porovnání mezi jednotlivými systémy.

3.7.1 Interakce cyclodextrinů s Cinchocaine

Molekula CI je větší a mírně protáhlá. Proto bylo třeba dát pozor, aby nedošlo k jejímu prostoupení některým z CD. Tento stav by byl v reálném roztoku možný, ale v senzorovém systému, který je zkoumán v rámci této práce, k tomu dojít nemůže,

protože CD jsou navázány primárním koncem na nanočástice zlata, které stericky brání prostoupení léčiva CD. Všechny struktury tedy byly zkontrolovány a bylo zjištěno, že k prostoupení léčiva CD nedochází. Výsledky pro interakci 2 CD s molekulou CI shrnuje Graf 9.

V případě všech křivek bylo lokalizováno energetické minimum (body A1, B1, C1 v Grafu 9, vizualizace Obr. 24-29), které značí přitažlivou interakci mezi molekulami. Hodnoty referenční energie (hloubky potenciálové jámy) pro tyto minima jsou shrnuty v Tab. 8.

Tab. 8: Energetická minima komplexů

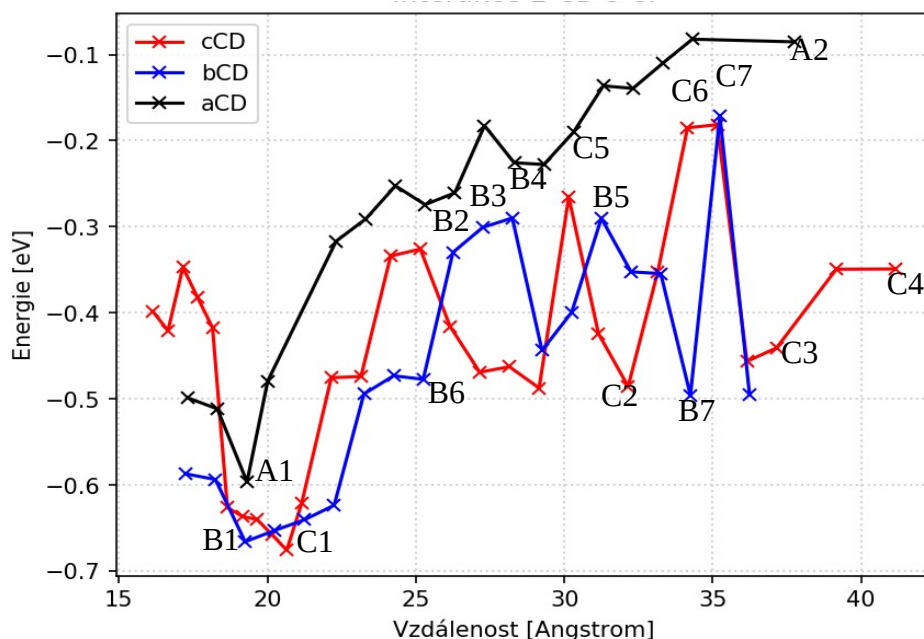
Typ CD	Hloubka potenciálové jámy [eV]
α -CD	-0.6
β -CD	-0.67
γ -CD	-0.68

V tomto případě se nemůže jednat o minimum vzniklé interakcí sekundárních okrajů CD, protože tato interakce není ze sterických důvodů možná. Léčivo umístěné na ose mezi CD totiž účinně zabraňuje jejich přiblížení na dostatečnou vzdálenost (Obr. 24,26,28), jak je ostatně vidět i na poloze minima na ose „x“ v Grafu 9. Jeho vzdálenost je o 5 Å větší, než je tomu v případě 2 interagujících pre- α -CD.

Hloubka potenciálové jámy (Tab. 8) je pro γ -CD a β -CD velmi podobná, oproti tomu v případě α -CD se energie minima výrazně liší od ostatních systémů. Zvýšení energie může souviset s velikostí kavity CD. Kavita α -CD je poměrně malá, neposkytující možnost příliš velké změny konformace CI a molekula léčiva je tudíž v optimální struktuře umístěna relativně přesně uprostřed kavity (při „čelním“ pohledu – Obr. 25).

Kavity β -CD a γ -CD poskytují dostatek místa pro „prohnutí“ molekuly CI (Obr. 27,29). Tato změna konformace společně s možnou interakcí s atomy stěny CD může vést ke snížení celkové energie systému.

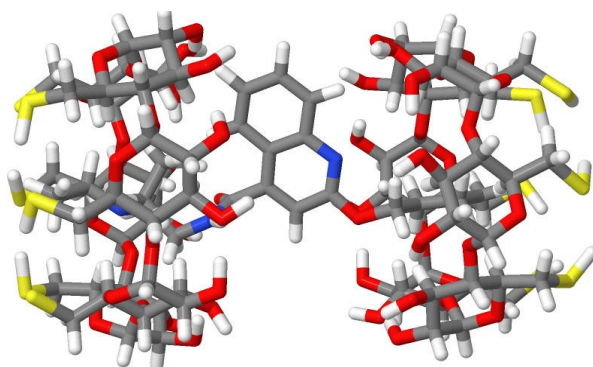
Bod A2 (Graf 9) představuje oblast plateau, která je stejně tak charakteristická pro křivku interakce γ -CD s CI. Tato oblast odpovídá interakci molekuly léčiva s jedním z CD (Obr 30,31). Vznikne tak komplex jednoho CD s CI, druhá molekula CD se této interakce neúčastní, protože je v příliš velké vzdálenosti. Tento efekt je výraznější pro systém γ -CD+CI (Obr. 31), ale v případě systému α -CD+CI (Obr.30) ho můžeme



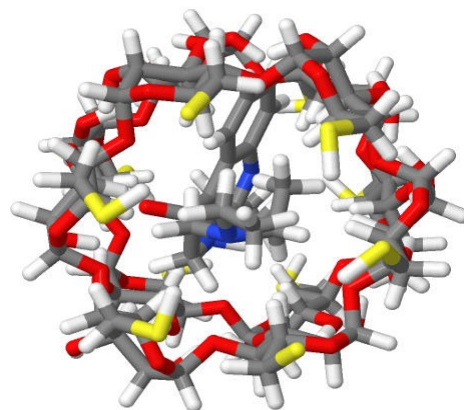
Graf 9: Referenční energie E_{ref} systému 2 CD (různé typy) a CI.

pozorovat také, i když v mnohem menší míře. Oba obrázky (30,31) dokládají, že k interakci dochází mezi sekundární okrajem CD a terciární aminoskupinou CI. Charakter této interakce naznačuje, že by se mohlo jednat o interakci vodíkového typu. Tato hypotéza je podpořena na základě vzdáleností mezi atomy v rámci teorie BORC, viz kapitola *Mechanismus interakce 2 CD*. Vzdálenost mezi H-O je $1.06\text{\AA}$ a vzdálenost N...H je $1.77\text{\AA}$, což přibližně odpovídá křivce BORC, jak byla dříve uvedena. Detailní vizualizace viz Obr. 32.

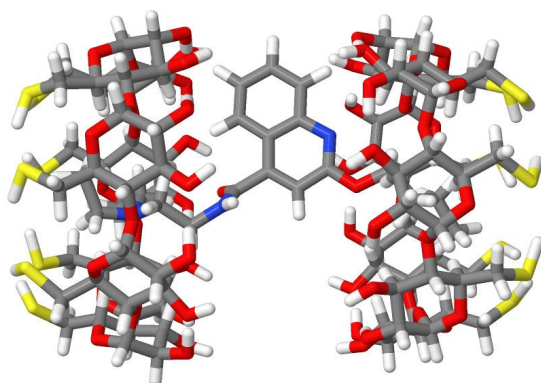
Křivky interakce β -CD a γ -CD jsou charakteristické silnou oscilací referenční energie (Graf 9). Tento fenomén byl detailně prostudován a byla vyslovena hypotéza, že oscilace je způsobena výskytem metastabilních stavů, jejichž referenční energie se pohybuje vysoko minimem.



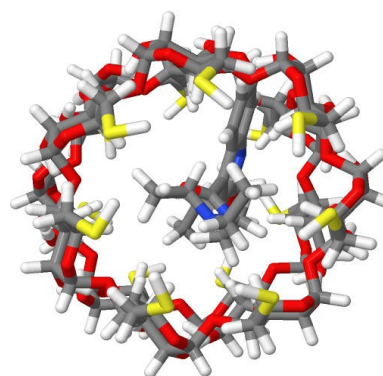
Obr. 24: Vizualizace systému 2 α -CD s CI v minimu energie (A1), boční pohled.



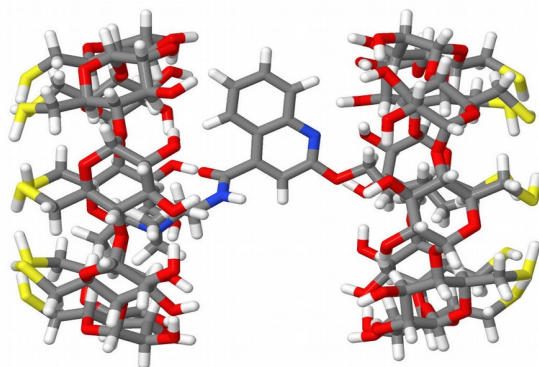
Obr. 25: Vizualizace systému 2 α -CD s CI v minimu energie (A1), čelní pohled.



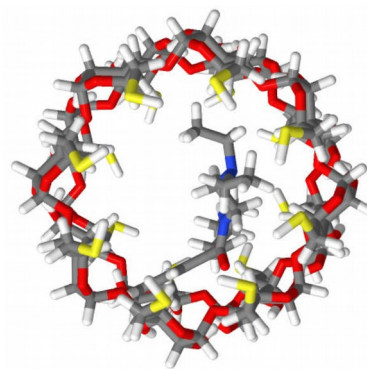
Obr. 26: Vizualizace systému 2 β -CD s CI v minimu energie (B1), boční pohled.



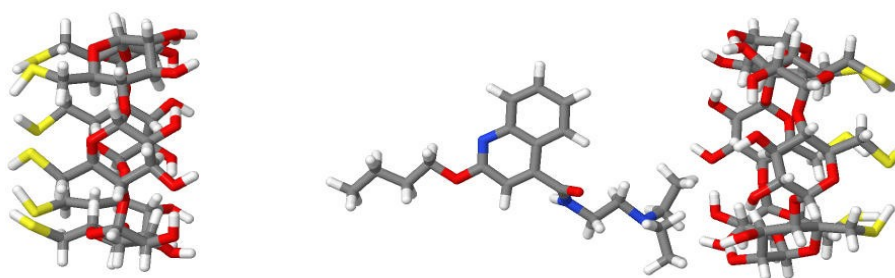
Obr. 27: Vizualizace systému 2 β -CD, minimum energie (B1), čelní pohled



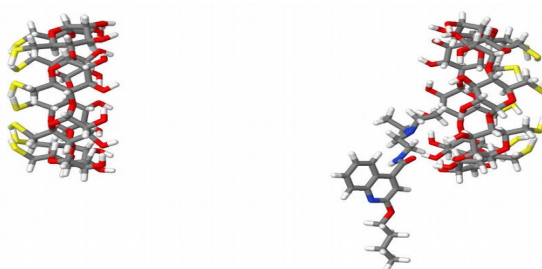
Obr. 28: Vizualizace systému 2 γ -CD s CI v energetickém minimu (C1), boční pohled.



Obr. 29: Vizualizace systému 2 γ -CD s CI v energetickém minimu (C1), čelní pohled.



Obr. 30: Struktura odpovídající bodu A3 (Graf 9). CI interaguje s jedním z CD, druhý CD se interakce neúčastní.



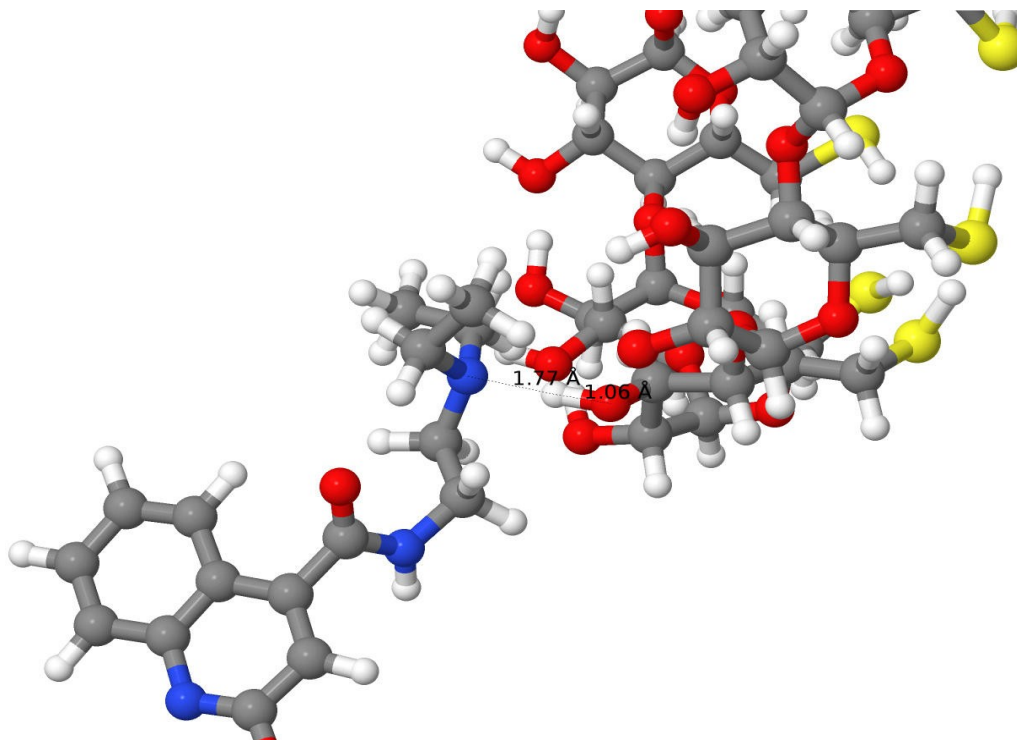
Obr. 31: Struktura odpovídající bodu C4 (Graf 9). CI interaguje s jedním z CD, druhý CD se interakce neúčastní.

Metastabilní stav je charakteristický polohou CI na ose mezi oběma CD (Obr. 33, 35). Křivka referenční energie metastabilního stavu je určena body B2-B5 v případě β -CD a body C5-C7 v případě γ -CD. Dá se očekávat, že energetický profil tohoto stavu se bude hodně podobat křivce referenční energie pro systém α -CD+CI (Graf 9), protože tyto stavy mají podobnou strukturu. Pokles energie bude tedy mnohem strmější než je tomu v případě stabilního stavu.

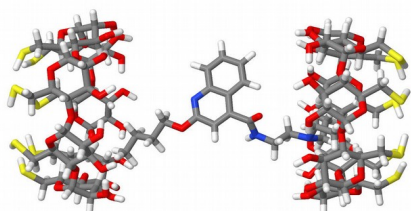
Stabilní stav je určen body C2-C4 pro γ -CD a B6-B7 pro β -CD (Graf 9). Ve stabilním stavu léčivo vybočuje z osy, na které leží oba CD a interaguje pouze s jedním ním (Obr. 34,36), druhý CD se interakce neúčastní.

Ze získaných dat není zřejmé, co mohlo vést k optimalizaci výchozí struktury do jednoho nebo do druhého stavu, ani není zřejmý průběh křivek navrhovaných stavů nebo to, do kterého z těchto stavů zařadit některé hodnoty. K zodpovězení těchto otázek by bylo třeba množství dalších výpočtů, které jsou na rámec této práce.

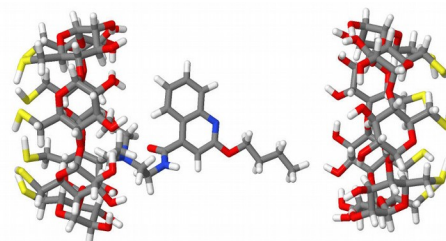
Existence metastabilního stavu je zároveň vysvětlením velké energetické odlišnosti plateau α -CD (bod A4, Graf 9) a γ -CD (bod C4, Graf 9). Systém α -CD + CI je v metastabilním stavu a proto má vyšší energii.



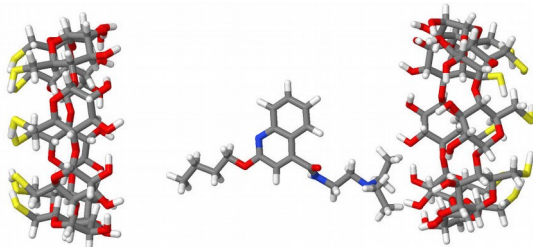
Obr. 32: Detail struktury γ -CD+CI (bod C4, Graf 9) s vyznačenými vzdálenostmi mezi atomy, kde se očekává vodíková interakce.



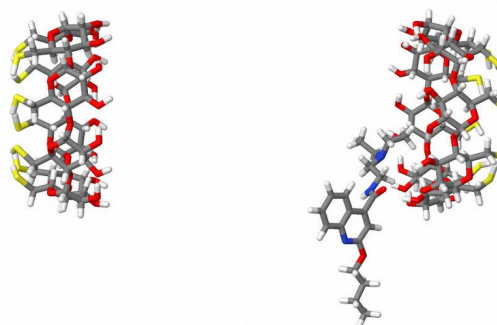
Obr. 33: Metastabilní stav v bodě B2 (Graf 9).



Obr. 34: Stabilní stav v bodě B7 (Graf 9)



Obr. 35: Metastabilní stav, bod C7 (Graf 9).



Obr. 36: Stabilní bod C3 (Graf 9)

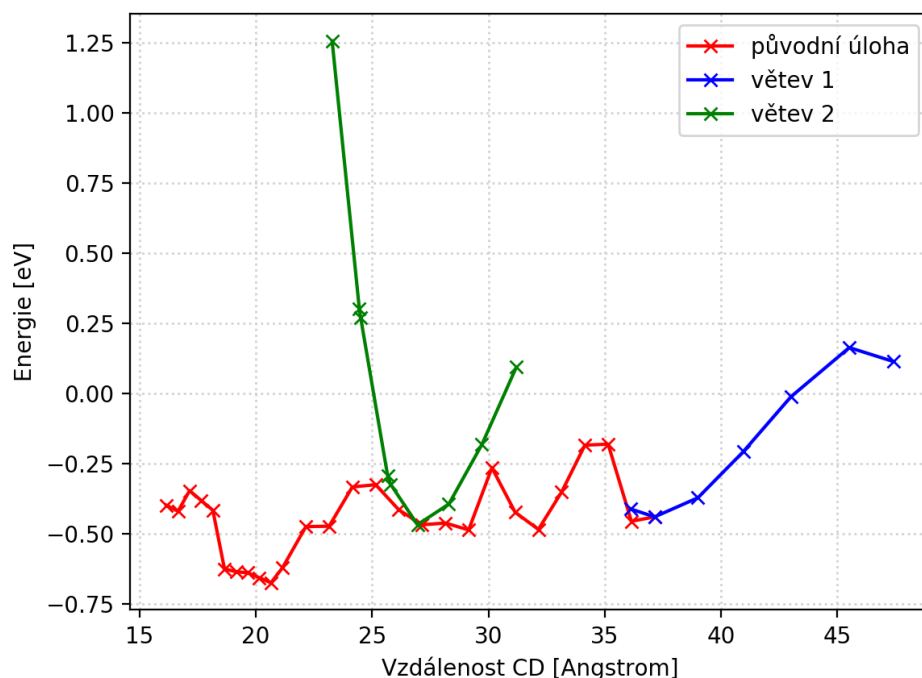
3.7.1.1 7 Vazebné stavy

Pro 2 γ -CD interagující s CI byla vyslovena hypotéza, že z dat lze určit několik vazebných stavů. Tyto stavy jsou charakteristické konkrétními vazbami na definovaných místech. Vlivem změny vzdálenosti mezi CD a jimi sevřeným léčivem, dojde k natažení nebo smrštění těchto vazeb, což se projeví jako zvýšení energie systému. V oblasti okolo minimálního bodu každého vazebného stavu vzniká parabolický profil energie. Při příliš velkém vzdálení CD od sebe dojde k rozvázání vazebného stavu a vzniku nových vazeb. Tento nový vazebný stav je opět charakteristický parabolickým profilem energie. Křivka energie by pak byla tvořena na sebe navazujícími parabolami o různé šířce.

Tato hypotéza byla testována pro systém 2 γ -CD a CI. Byly vytipovány skupiny bodů, které by mohli spolu souviset, následně byla využita struktura jednoho z nich, která byla modifikována pomocí skriptu napsaného autorem v jazyce Python (Python software foundation). Pro tuto modifikaci byl navržen souřadný systém, jehož x-ová osa byla totožná s osou na které leží oba cyklodextriny i léčivo. Následně byly číselné hodnoty všech x-ových souřadnic zvětšeny (a v jiných případech zmenšeny) o určitý počet procent (typicky 1-5 %). Číselné hodnoty ostatních souřadnic nebyly měněny. Vypočtené referenční energie jsou presentovány v Grafu 10.

Vypočtené větve (energetické křivky vazebných stavů) nepotvrdily vyslovenou hypotézu, protože nedošlo k propojení několika bodů pomocí vypočtené paraboly (obě větve obsahují pouze jeden bod z grafu). V případě Větve 2 (Graf 10) došlo k neočekávanému vzrůstu referenční energie nad nulovou hodnotu. Možné vysvětlení spočívá v tom, že se jedná o artefakty, nebo v možnosti nárůstu vnitřního napětí v molekulárním systému.

Hypotéza o existenci vazebných stavů nebyla tímto experimentem ani potvrzena ani vyvrácena, protože mohlo dojít k vybrání špatných oblastí grafu, které ve skutečnosti neodpovídají stejným vazebným stavům. Pro důkladné prozkoumání této hypotézy by bylo zapotřebí množství dalších výpočtů, které jsou nad rámec této práce.



Graf 10: Referenční energie 2 γ -CD + CI v závislosti na vzdálenosti, znázornění testovaných větví-vazebných stavů.

3.7.2 Interakce cyklodextrinů se Sulfadimidinem

Léčivo SU je menší než CI a ukazuje se, že se celé vejde do kavity všech zkoumaných CD. Při přiblížení CD k sobě je tedy léčivo zcela skryto v kavěte CD (Obr. 37-42) a CD se mohou přiblížit na vzdálenost dostatečně malou, aby mohlo dojít k interakci mezi jejich sekundárními okraji, jako tomu je v případě interakce 2 CD bez léčiva (Graf 11).

V Grafu 11 jsou dobře patrná plateau, která značí interakci SU s jedním z CD Obr. 43. Druhý CD se v takové případě interakce neúčastní. Tuto hypotézu podporuje také to, že zjištěná energie E_{ref} se při vzdůstající vzdálenosti CD příliš nemění.

Výrazné jsou také oscilace energie na dně potenciálové jámy, ty mohou být artefakty vzniklé použitým způsobem generování výchozích struktur, které byly generovány z již zoptimalizované struktury pomocí smrštění podle osy, na které leží oba CD. Tento způsob byl podobný způsobu generování strukturu pro ověření hypotézy o metastabilních stavech.

Velký rozdíl v energii mezi body A1 a A2 (Graf 11) je dán tím, že optimalizace skončila pokaždé jinou strukturou (Obr 44, 45). To se mohlo stát z důvodu i nepatrných odchylek ve výchozí struktuře.

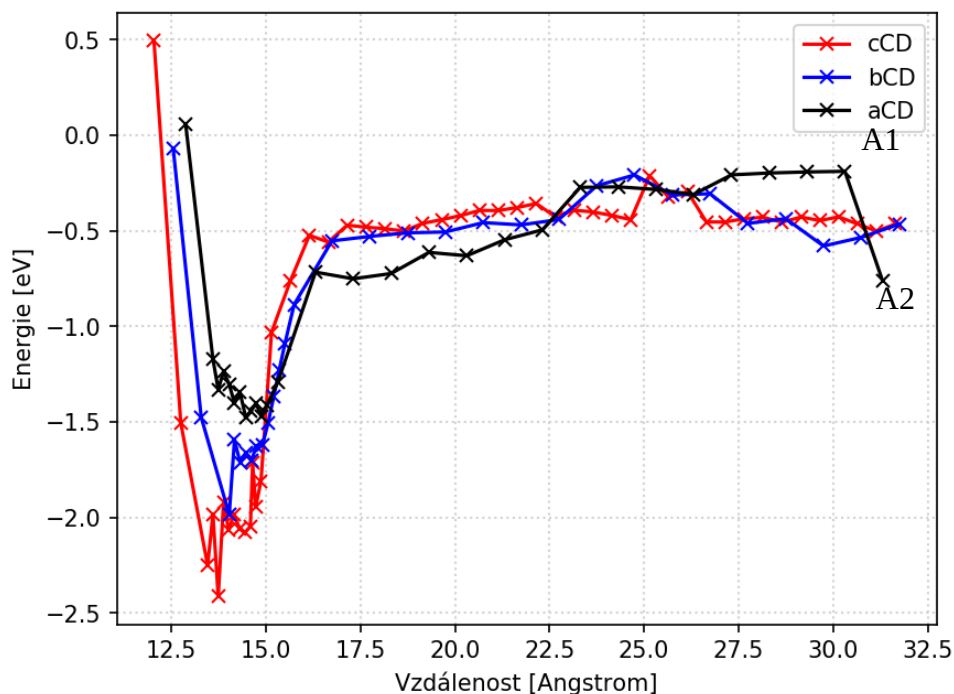
Vybraná data získaná pro jednotlivé systémy byla fitována pomocí tzv. Lennard-Jonesova potenciálu, který byl pro tento účel upraven podle rovnice (6):

$$V = \epsilon \cdot \left[\left(\frac{r_m - r_0}{r - r_0} \right)^{12} - 2 \cdot \left(\frac{r_m - r_0}{r - r_0} \right)^6 \right] - \text{const} \quad (6)$$

kde V je potenciální energie, r je vzdálenost dvou molekul od sebe, r_m je poloha minima, const odpovídá hodnotě potenciální energie, která je přiřazena stavu, kdy je léčivo navázáno na jeden z CD a ϵ je hloubka potenciálové jámy v elektronvoltech a r_0 je konstanta o kterou je posunutý Lennard-Jonesův potenciál, tedy pro $r \rightarrow r_0$ se hodnota Lennard Jonesova potenciálu rovná nekonečnu.

Fit pomocí Lennard-Jonesova potenciálu je vhodný pro tento typ interakce, protože jeho profil se velmi podobá získanému energetickému profilu pro intrakci SU + CD. Pomocí fitu je také možné určit jednotlivé konstanty funkce, které je pak možné použít k přesnějšímu porovnání dat mezi sebou.

Po provedení fitu pomocí programu Python (Python software foundation) byly všechny vypočtené konstanty vypsány do Tab. 9, ke každé hodnotě byla také vypočítána její směrodatná odchylka ϵ_r (grafy jsou uvedeny v Příloze).



Graf 11: referenční energie 2 CD s SU v závislosti na vzdálenosti CD

Tabulka 9: Vypočtené parametry pro Lennard-Jonesův potenciál, interakce CD+SU. Směrodatná odchylka každé hodnoty je označena *er*.

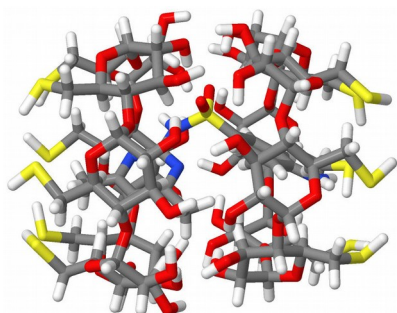
Typ CD/ proměnná	ϵ	$er(\epsilon)$	r_m	$er(r_m)$	const	$er(const)$	r_0	$er(r_0)$
α -CD	1.12	0.06	14.3	0.1	0.29	0.05	2.11	1
β -CD	1.43	0.1	13.7	0.1	0.35	0.06	3.94	0.8
γ -CD	1.91	0.1	13.23	0.1	0.32	0.05	3.62	0.6

Vzdálenost, na kterou se CD interagující s SU mohou přiblížit, je dostatečná k tomu aby mohlo dojít k interakci mezi sekundárními okraji CD, přičemž se očekává, že interakce bude velmi podobná interakci 2 pre- α -CD, popsané v předchozí kapitole.

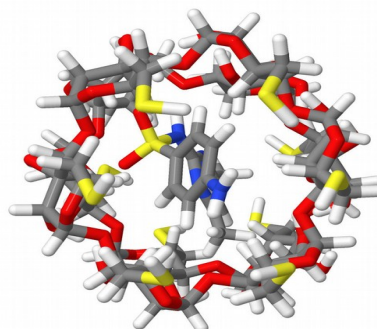
Je zřejmé, že celková velikost potenciálové jámy bude záviset na velikosti CD, ergo na počtu vodíkových vazeb, které mohou interakcí sekundárních okrajů vzniknout. Z tohoto důvodu byla hloubka potenciálové jámy vypočítaná pro pre- α -CD (1.1 eV) přeškálována, aby odpovídala počtu vznikajících vodíkových vazeb pro větší CD, podle rovnice (7):

$$E_{očekávaná} = \frac{E_{pre-\alpha-CD}}{n_{pre-\alpha-CD}} \cdot n_{CD} \quad (7)$$

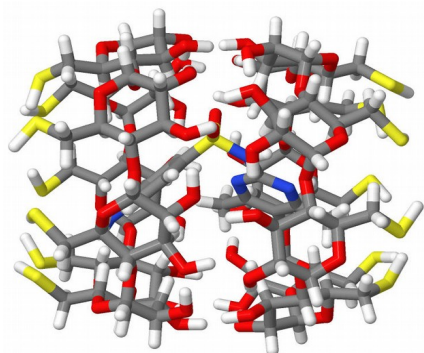
Kde $E_{pre-\alpha-CD}$ je energie odpovídající vzniku vodíkových vazeb mezi dvěma pre- α -CD bez přítomnosti léčiva, $n_{pre-\alpha-CD}$ je počet glukosových jednotek v pre- α -CD tj. 5 a n_{CD} je počet jednotek v CD pro který je počítána očekávaná energie. Takto vypočtená energie byla vynesena do Tabulky 10 a porovnána s energií pro systém 2 CD + SU.



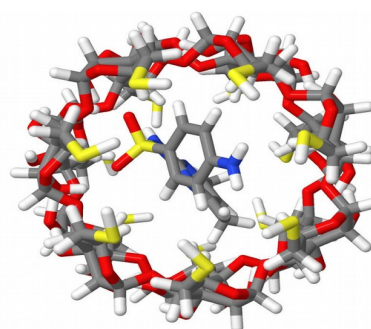
Obr. 37: Struktura v minimu energie α -CD + SU.



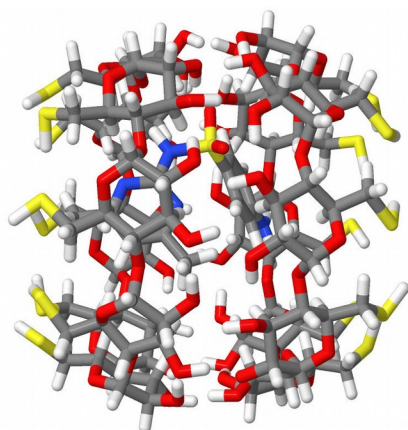
Obr. 38: Struktura v minimu energie α -CD + SU.



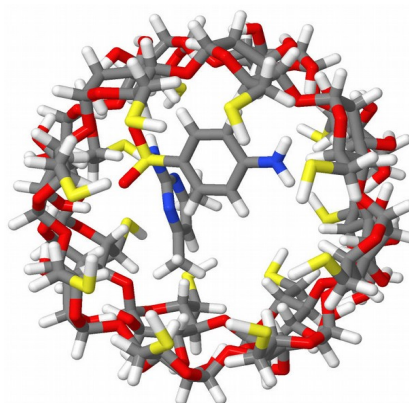
Obr. 39: Struktura v minimu energie β -CD + SU



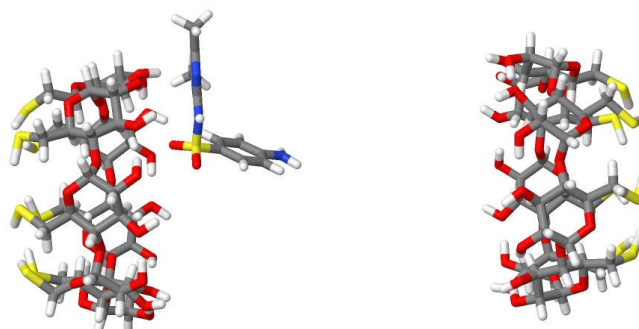
Obr. 40: Struktura v minimu energie, β -CD+SU.



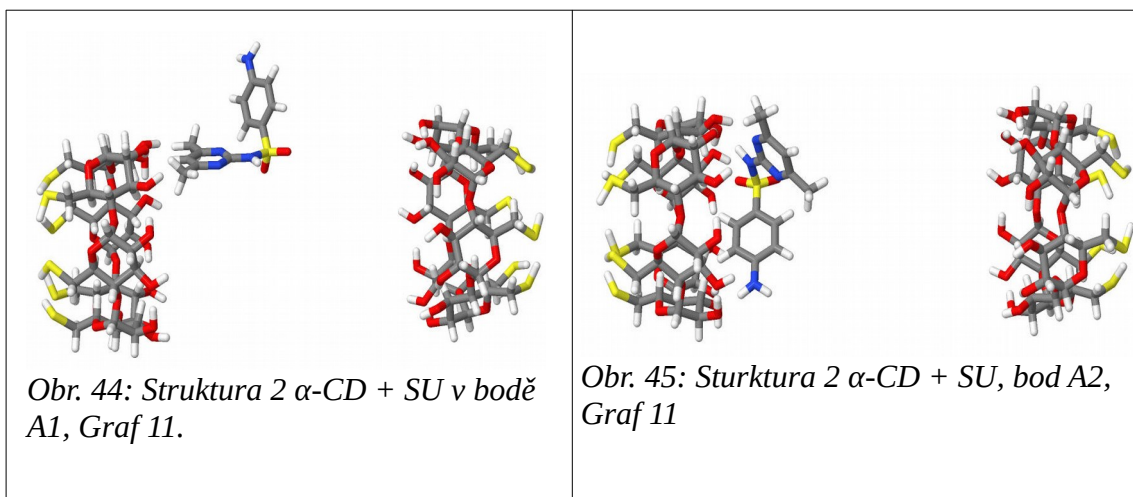
Obr. 41: Struktura v minimu energie, γ -CD+SU.



Obr. 42: Struktura v minimu energie γ -CD+SU



Obr. 43: Systém β -CD + SU, $r=31.25\text{\AA}$, interakce SU s jedním CD, druhý se interakce neúčastní.



Tab. 10: porovnání extrapolované hodnoty a vypočtené referenční energie pro CD+SU. Δ =(Referenční energie pro CD + SU - Extrapolace z pre- α -CD)

Typ CD	Extrapolace z pre- α -CD	Referenční energie pro CD + SU	Δ
α -CD	-1.32	-1.12	0.2
β -CD	-1.54	-1.43	0.11
γ -CD	-1.76	-1.91	-0.15

Z Tabulky 10 vyplývá, že v systému s α -CD a β -CD poklesne energie méně než bylo původně očekáváno a to v řádu energie srovnatelné se silou vodíkové vazby mezi interagujícími pre- α -CD bez přítomnosti léčiva (0.22 eV). Tato odchylka je nejspíše způsobena tím, že α -CD a β -CD nemají dostatečně velké kavity, aby v nich SU mohlo zaujmout výhodnou pozici. To naopak umožňuje γ -CD, kde je výsledný pokles energie dokonce větší než byl pokles očekávaný na základě extrapolace z pre- α -CD. Pozorováním jeho struktury (Obr. 42) si můžeme povšimnout, že SU je uvnitř γ -CD skutečně natočeno odlišným způsobem, než je tomu v případě α -CD a β -CD (Obr. 38, 40). Tuto hypotézu také podporuje fakt, rozdíl energie oproti teoretické hodnotě je tím

nižší, čím je větší kavita CD.

Také hodnoty r_m se pro jednotlivé CD liší. Jeho hodnota klesá se vzrůstajícím počtem glukosových jednotek v CD. To může být způsobeno přítomností SU v kavitě CD. Čím je kavita CD větší, tím lépe se v ní může molekula léčiva otáčet a posouvat a umožní jí to zaujmout výhodnější pozici. V případě, kdy se molekula v kavitě nemůže otáčet, zůstává v energeticky nevýhodné pozici tak dlouho, dokud se vlivem posunu CD od sebe nevytvoří dostatek místa k tomu, aby tuto pozici opustila.

Konstanta (const) uvedená v Tab. 9, představuje hodnotu energie systému, kdy je SU navázáno na jeden z dvojice CD. Odchytky této hodnoty pro jednotlivé systémy SU + CD jsou srovnatelné s hodnotou směrodatné odchytky. Je tedy vidět, že SU s jedním CD interaguje velmi podobně ve všech zkoumaných systémech.

3.7.3 Srovnání a diskuse

Velikost potenciálové jámy vzniklé interakcí SU + CD přibližně odpovídá zisku energie, který byl vypočten pro 2 pre- α -CD bez přítomnosti léčiva. Dá se tedy předpokládat, že interakce SU + CD se v reálných podmínkách projeví stejně jako interakce pre- α -CD bez přítomnosti léčiva. Interakce vypočtená pro pre- α -CD je totožná se samovolnou agregací CD zmiňovanou v literatuře. Z literatury je pak zřejmé, že se samovolná agregace se projeví až po delším skladování roztoků (v řádu několika dní až týdnů) (Loftsson et al., 2019). Protože senzorová odezva byla hodnocena po 24 hodinách, nemohla být samovolná agregace (bez přítomnosti léčiva) v případě senzorového systému zkoumaného Kalátem (2017) a Grofem (2018) pozorována. Grof (2018) tedy vyhodnotil, že léčivo SU nezpůsobuje senzorovou odezvu. Tento výsledek Grofovi (2018) práce se tedy podařilo přesvědčivě prokázat.

Velikost potenciálové jámy vzniklé interakcí CI s CD je výrazně menší než je tomu v případě CD + SU (srov. Tab. 8, Tab. 9). Tento fakt vede k hypotéze, že v experimentálních podmínkách bude tato interakce ještě méně výrazná, než je tomu v případě interakce SU + CD. Sedimentace zlatých nanočástic s CD by pak mohla být pozorována až po velmi dlouhém skladování roztoků. Tento výsledek je v rozporu s pozorováním, která provedl Grof (2018) a sice, že systémy α -CD + CI a γ -CD+CI sedimentují po skladování po pouhých 24 hodin. Pozdější experimenty potvrdily i sedimentaci zlatých nanočástic díky vzniku komplexu β -CD + CI (Grof, 2020).

Kromě hloubky potenciálové jámy, je třeba zvážit ještě síly působící na molekuly léčiva a CD. Síla je určena vzorcem (8):

$$F = \frac{dU}{dx} \quad (8)$$

kde U představuje potenciál a x je vzdálenost. Z Grafu 9 je vidět, že potenciál pro metastabilní stav začíná klesat ve vzdálenosti cca 15 Å od energetického minima. V této

oblasti se tedy očekává také silové působení mezi molekulou léčiva a oběma CD. Oproti tomu v případě systému SU + CD je klesání pozorovatelné pouze ve vzdálenosti cca 2.5 Å od energetického minima (Graf 11).

Stabilní stav systému CI + CD je charakteristický mnohem menším sklonem křivky potenciální energie, takže silové působení bude mnohem menší. Metastabilní stav bude tedy příznivější pro vznik inklusního komplexu.

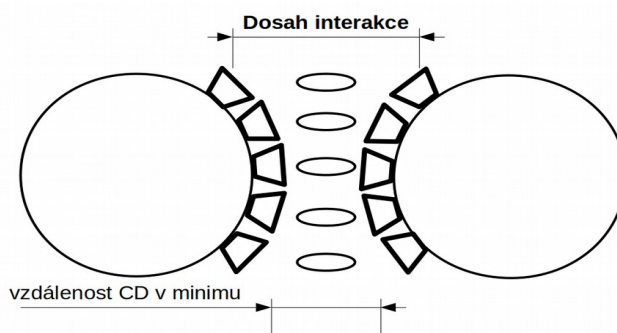
Dalekodosahovost interakce může být stěžejní pro porozumění probíhajícím interakcím. V senzorovém systému, popisovaném Grofem (2018) se pohybují nanočástice, které jsou pokryté molekulami CD. Podle Grofových (2020) výpočtů je povrch nanočástic zcela pokryt CD, které mohou místy tvořit i více vrstev. V případě přiblížení CD na dostatečně malou vzdálenost dojde k tomu, že se v oblasti vymezené vzdáleností na kterou působí interakce, ocitne hned několik CD. Tyto CD mohou reagovat s příslušným počtem molekul léčiva (Obr. 46), tak dojde ke znásobení jinak relativně malé síly interakce CD + CI, která se díky tomu může stát hybatelem rychlé komplexace.

Oproti tomu interakce CD + SU působí jen na krátkou vzdálenost a v jejím dosahu je jen velmi malé množství CD (Obr. 47).

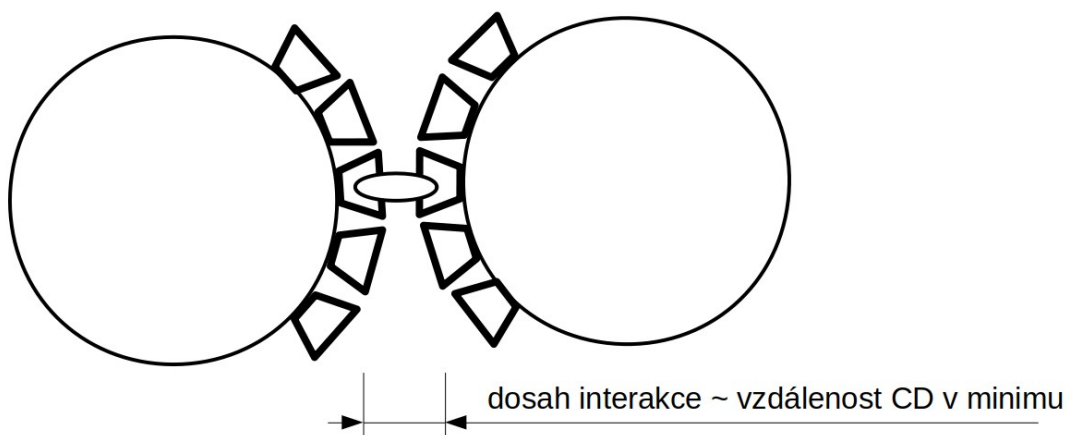
Jsou-li kulové zlaté nanočástice o průměrech 200-500 Å (s takovými pracoval Grof (2018)) v minimu energie pro danou interakci podle Grafů 9 a 11, plocha nanočástice na kterou působí interakce může být vypočtena podle rovnice (9):

$$S = 2 \cdot \pi \cdot r \cdot v \quad (9)$$

kde r je poloměr nanočástice a v je výška kulového vrchlíku, jehož povrch je v dosahu interakce. Tato výška byla odhadnuta jako rozdíl vzdálenosti ve které má systém minimální energii a maximální vzdálenosti CD, při které vlivem interakce působí na molekuly síla (Obr 46). Plochu, kterou obsadí jeden CD, můžeme aproximovat jako čtverec jeho průměru (sekundární okraj CD představuje kruh vepsaný to tohoto čtverce). Podíl plochy vrchlíku vůči ploše připadající na 1 CD je pak počet CD, které se mohou zapojit do interakce. Tyto počty jsou shrnuty v Tab. 11 a 12.



Obr. 46: Modelová situace dalekodosahového působení interakce CD + CI : nanočástice zlata (koule) obalené cyklodextiny (lichoběžníky) spojené několika molekulami léčiva (elipsy). Díky velkému dosahu interakce se jí může zúčastnit více molekul.



Obr. 47: Modelová situace krátkodosahového působení interakce CD + SU : nanočástice zlata (koule) obalené cyklodextiny (lichoběžníky) spojené molekulou léčiva (elipsa). Díky krátkému dosahu interakce, se jí účastní malé množství molekul.

Tab. 11: počet interagujících trojic CD+CI pro nanočástice o průměru 200 Å a 500 Å

	α -CD	β -CD	γ -CD
Nanočástice d=200Å	22	19	15
Nanočástice d=500Å	55	49	38

Tab. 12: počet interagujících trojic CD+SU pro nanočástice o průměru 200 Å a 500 Å

	α -CD	β -CD	γ -CD
Nanočástice d=200Å	2	2	1
Nanočástice d=500Å	6	5	4

Porovnáme-li Tabulky 11 a 12 dojdeme k závěru, že interakce CD + CI se ve většině případů účastní přibližně 10 krát tolik CD, než v případě interakce CD + SU. Z toho vyplývá, že energetický zisk vyvolaný touto interakcí bude mnohem větší než pro interakci CD + SU. To povede k rychlé komplexaci CD s léčivem a následnému odbarvení senzoru. Závisí také na velikosti nanočástic. Čím je nanočástice větší, tím více interakčních trojic se může do komplexace zapojit a tím je také interakce silnější (platí pro oba typy interakce).

Zapojení více molekul léčiva do tvorby komplexu CD + léčivo také povede k mnohem výraznějšímu poklesu koncentrace léčiva v roztoku, protože na spojení jedné dvojice nanočástic bude možné použít i 10 krát tolik molekul léčiva. Takové reakce tedy mohou být s výhodou použity i k čištění vodných roztoků.

Pro lepší porozumění systému by bylo vhodné zohlednit více možností geometrického

uspořádání systémů léčiv a CD, případně prozkoumat možnosti vzniku komplexu většího počtu CD s léčivem (nebo i více léčivy).

3.8 Výpočet spekter pro experimentální hodnocení komplexů CD

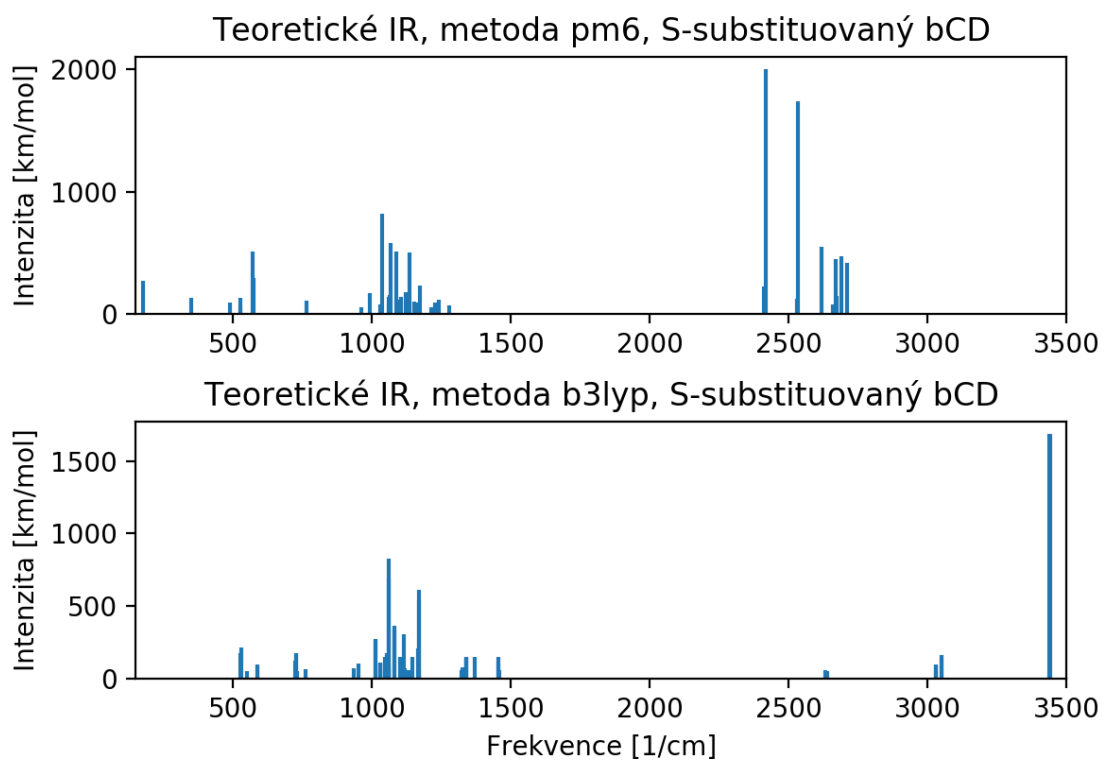
Po tom, co byl prozkoumán vznik inklusních komplexů CD s léčivy, byla vypočtena také infračervená spektra a chemické posuny pro systémy interagujících CD (pro každý systém vždy minimální hodnota potenciální energie). Srovnáním těchto vypočtených dat s daty z experimentů by mělo být možné prokázat přítomnosti komplexů CD s léčivy v roztoku.

3.8.1 Infračervená spektra

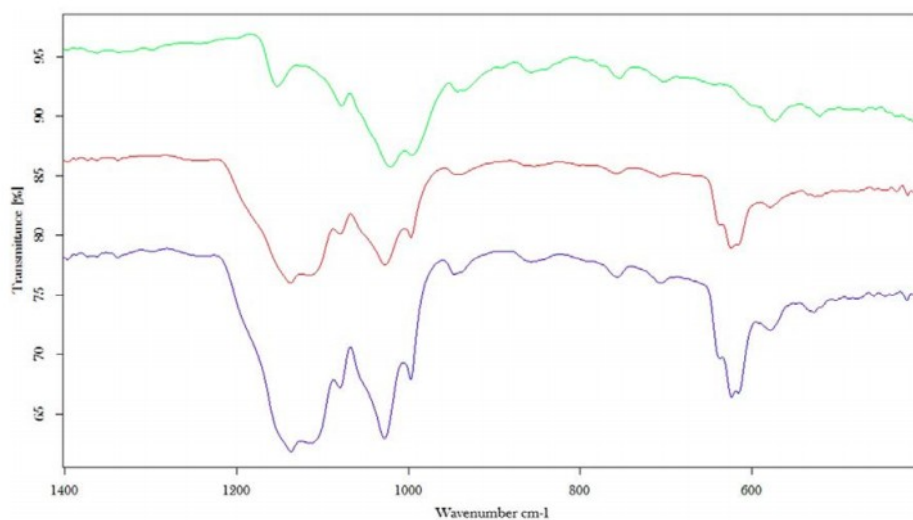
Nejprve bylo třeba otestovat přesnost použitých metod, aby bylo možné říci, zda-li jsou vypočtené výsledky srovnatelné s experimentálními. K tomuto účelu bylo třeba vybrat molekulu, která by se co nejvíce podobala zkoumanému systému a zároveň by pro ni bylo možné najít relevantní experimentální data. Takovou molekulou je -SH skupinou persubstituovaný CD.

Teoretická infračervená (IR) spektra vypočtena pomocí programu Gaussian a to hned 2 metodami, aby mohla být porovnána jejich přesnost při výpočtu IR spekter. Tyto metody byly PM6 a b3lyp na bázi 6-21g**.

Pro přehlednější vizualizaci vypočítaných dat, byly vybrány pouze frekvence, jejichž intenzita byla vyšší než 50 km/mol. Tyto frekvence jsou vidět v Grafu 12. Srovnání s experimentálními daty je možné prostřednictvím Grafu 13 (Moghadam et al., 2018), kde je vidět experimentálně získané spektrum pro -SH skupinou substituovaný β -CD. Srovnání je komplikované vzhledem k tomu, že každý z grafů má jiné jednotky intenzity: pro Graf 12 je to vypočtená intenzita uvedena v km/mol, na Grafu 13 (Moghadam et al., 2018) je pak uvedena transmitance. Pro porovnání grafů je možné obecně říci, že nízká hodnota transmitance odpovídá vysoké intenzitě v km/mol (maximum v Grafu 12 odpovídá minimu Grafu 13).



Graf 12: Vypočtená spektra pro per-substituovaný β -CD.



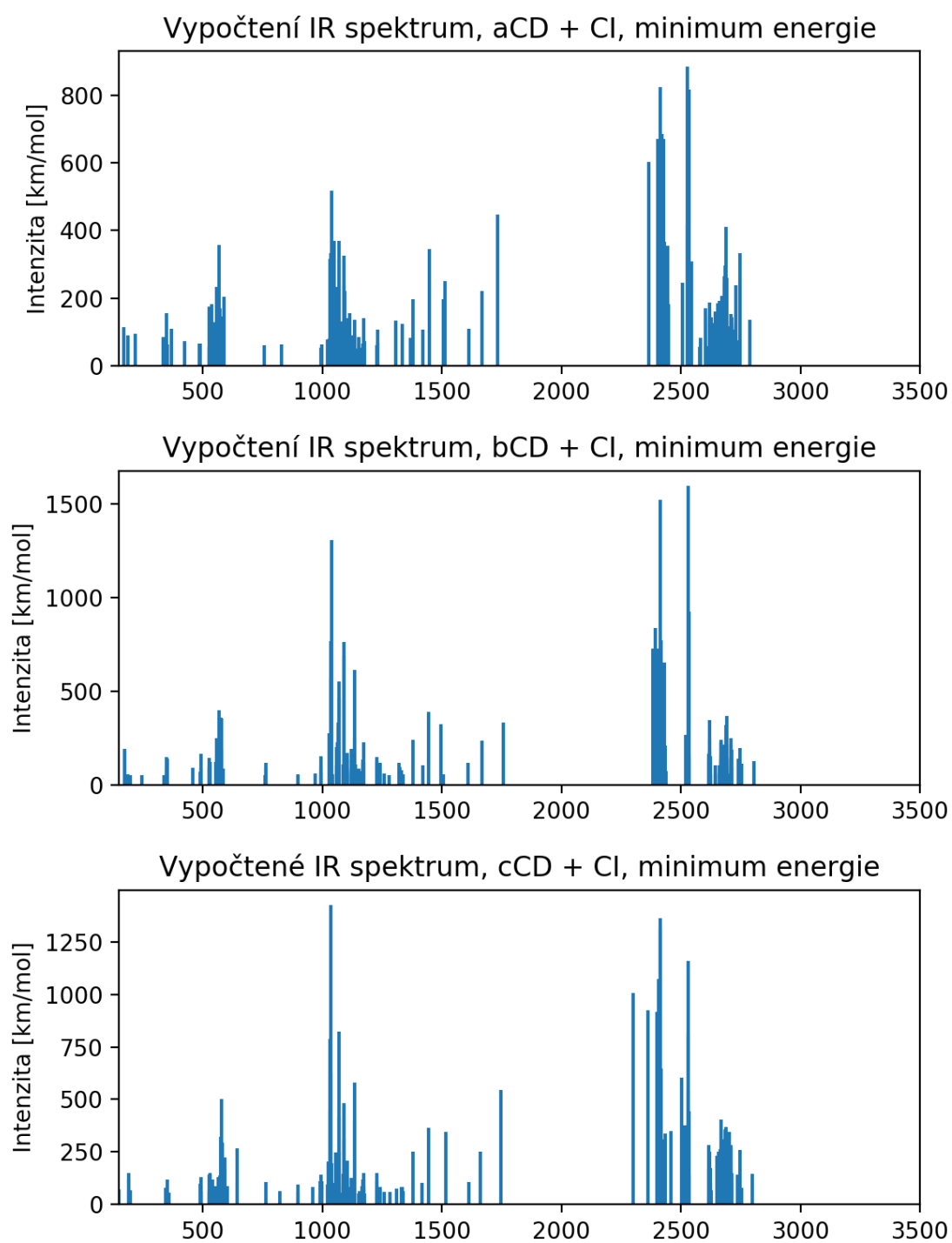
Graf 13: Experimentálně získané spektrum pro různé formy β -CD. Zelená křivka označuje nesubstituovaný β -CD, oranžová a fialová křivka pak značí per-substituovaný β -CD. Oranžová a fialová křivka se navzájem liší mírou substituce na CD, kde fialová křivka představuje více substituovaný CD (Moghadam et al, 2018).

Srovnáme-li Grafy 12 a 13 dojdeme k závěru, že vypočtená spektra jsou velmi podobná spektrům experimentálním. Skupina peaků, která se nachází v oblasti okolo 1000 cm^{-1} na Grafu 13 je dobře patrná také v případě obou vypočtených spekter. Vypočtená spektra se až na menší odchylky v intenzitě mezi sebou v této oblasti neliší. Další výrazný peak se nachází v oblasti okolo 600 cm^{-1} . Peaky v této oblasti jsou patrné i na vypočtených spektrech. Experimentální spektum ovšem lépe vystihuje výpočet provedený metodou PM6.

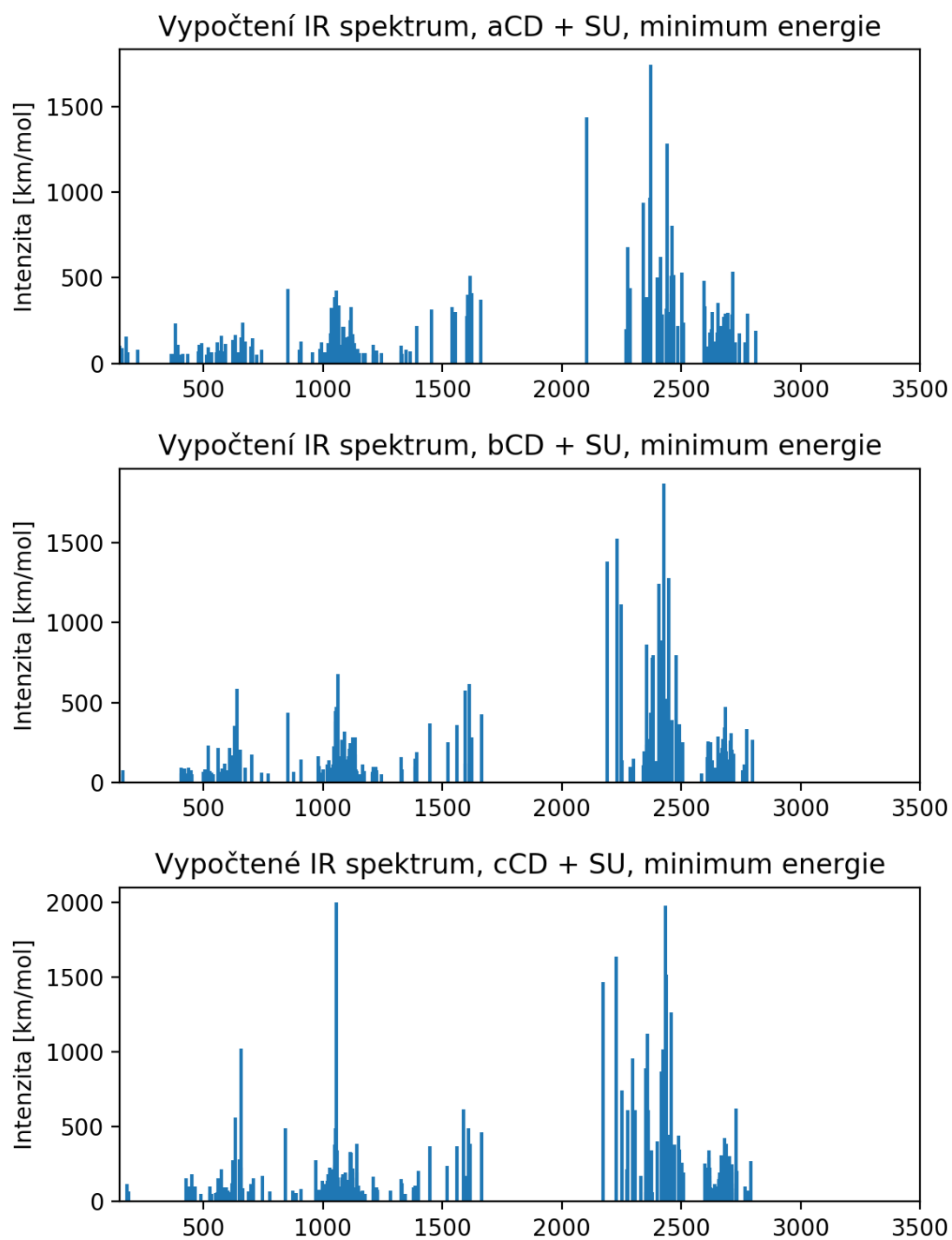
Výrazné rozdíly mezi jednotlivých spektry jsou v oblasti vyšších frekvencí. Pro tuto oblast ale nebyla nalezena experimentální data, takže porovnání s experimentem není možné. Z teorie se dá předpokládat vyšší přesnost metody b3lyp.

Ze srovnání vypočtených výsledků vyplývá, že porovnáním vypočtených dat s experimentálními může být přesvědčivě prokázána přítomnost inklusních komplexů CD s léčivý v roztoku.

Spektra pro inklusní komplexy a agregáty s přítomností léčiva jsou uvedeny na Grafech 14 a 15.



Graf 14: Vypočtená spektra IR pro různé typy CD s CI.



Graf 15: Vypočtená IR spektra pro různé typy CD a SU.

3.8.2 Chemické posuny

Vypočtené chemické posuny pro vodík mohou být srovnány s NMR (nukleární magnetická resonance) experimentem. K výpočtu chemického posunu byl použit program Gaussian a metoda b3lyp na bázi 6-21g. Hodnota chemického všech vodíků posunu byla opravena hodnotou referenční sloučeniny TMS (tetramethylsilan).

Chemické posuny jsou presentovány formou textového souboru v Příloze práce.

4 Závěr

Cílem této práce bylo prozkoumat vznik inklusních komplexů organických molekul (léčiv) s CD na teoretické úrovni a modelovat tak senzorový systém pro detekci organických látek navržený na TUL a pokusit se získat vhled do probíhajících dějů. Závěry porovnat s výsledky experimentů.

K tomuto účelu byly použity kvantově-chemické výpočty v programu Gaussian. Zvolená úroveň teorie pro většinu výpočtů byly semiempirické metody, representované metodou PM6.

Molekuly tří nejběžnějších typů CD (α , β a γ) byly zkonstruovány a zoptimalizovány. Byla zvolena 2 léčiva (CI a SU), pro která byla odezva senzorového systému již experimentálně testována. Tato léčiva byla rovněž zoptimalizována.

Na základě geometrické optimalizace byla určena energie systému dvou CD (všech typů) a jednoho z léčiv v závislosti na vzdálenosti CD od sebe. Byla také prozkoumána interakce dvou CD bez přítomnosti léčiva.

Na systému dvou CD bez přítomnosti léčiva se podařilo prokázat, že CD mezi sebou interagují i bez přítomnosti léčiv. Tato interakce je možná na základě vzniku vodíkových vazeb mezi sekundárními okraji CD. Existence vodíkových vazeb byla přesvědčivě prokázána pomocí teorie BORC (Pauling, 1949).

Bylo prokázáno, že v systému CD + SU probíhá pouze interakce sekundárních okrajů CD mezi sebou. Léčivo SU se této interakce účastní jen velmi málo a jeho vliv je povětšinou negativní. V případě SU + CD dochází pouze k přirozené agregaci CD, která je pozorovatelná až po delším skladování roztoku. Senzorová odezva v tomto případě není patrná. Tento závěr je shodný s Grofovými experimenty (Grof, 2018).

Hloubka potenciálové jámy pro interakci CD + CI je menší než je tomu v případě CD + SU, ale dosah této interakce je velký. Po zvážení situace v roztoku je zřejmé, že díky dalekodohodnosti interakce se může vzniku komplexu účastnit mnoho molekul CD a CI. Z tohoto důvodu je možné se domnívat, že energetický zisk v případě komplexace bude velký. To vede k viditelné senzorové odezvě. I tento výsledek je v souladu s Grofovým experimentem (Grof, 2018).

Kalátova (2017) hypotéza, že je možné odhadnout, zda bude léčivo komplexovat, pouze z přítomnosti hydrofobních funkčních skupin, se tedy nepotvrdila. Pro zpřesnění této hypotézy by bylo třeba zvážit sterické hledisko interakcí. K tomu dobře poslouží molekulární vizualizace. Výsledky publikované Grofem (2018) i výsledky této práce ale dokládají, že není možné jednoduše odhadnout, které látky budou komplexovat a které nikoli.

Ukázalo se, že zanedbání rozpouštědla není v tomto případě příliš hrubým zjednodušením, protože výpočty uspokojivě vysvětlily experimentální výsledky.

Nicméně energetická bilance reakcí by mohla být rozpouštědlem ovlivněna. Vzhledem k tomu, že většina zkoumaných molekul je hydrofobní, došlo by pouze k nárůstu energetického zisku při komplexaci. Tento argument známý též z literatury (Snor et al., 2009).

Poděkování

Computational resources were supplied by the project "e-Infrastruktura CZ" (e-INFRA LM2018140) provided within the program Projects of Large Research, Development and Innovations Infrastructures.

(Anglický text by použit, aby mohlo dojít ke strojovému vyhledání poděkování, česká verze v současnosti bohužel není dostupná)

Literatura

- Abdel-Ghani, N. T., Youssef, A. F. A., & Awady, M. A. (2005). Cinchocaine hydrochloride determination by atomic absorption spectrometry and spectrophotometry. *Farmaco*, 60(5), 419–424. <https://doi.org/10.1016/j.farmac.2005.03.001>
- Brown, G. M., & Levy, H. A. (1965). α -D-Glucose: Precise determination of crystal and molecular structure by neutron-diffraction analysis. *Science*, 147(3661), 1038–1039. <https://doi.org/10.1126/science.147.3661.1038-a>
- Camilo, A., dos Santos, R. P. B., Coluci, V. R., & Galvão, D. S. (2012). Comparative parametric method 6 (PM6) and Recife model 1 (RM1) study of *trans* -stilbene. *Molecular Simulation*, 38(1), 1–7. <https://doi.org/10.1080/08927022.2011.597392>
- Cramer, C. J. (2004). *Essential of computational chemisty* (2nd editio). Wiley & sons.
- Del Valle, E. M. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: A review. In *Process Biochemistry* (Vol. 39, Issue 9, pp. 1033–1046). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Dreuw, A., & Head-Gordon, M. (2005). Single-reference ab initio methods for the calculation of excited states of large molecules. In *Chemical Reviews* (Vol. 105, Issue 11, pp. 4009–4037). American Chemical Society . <https://doi.org/10.1021/cr0505627>
- Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R. ., Scalmani, G. ., Barone, V. ., Petersson, G. A. ., Nakatsuji, H. ., Li, X. ., Caricato, M. ., Marenich, A. V. ., Bloino, J. ., Janesko, B. G. ., Gomperts, R. ., Mennucci, B. ., Hratchian, H. P. ., Ortiz, J. V. ., ... Fox, D. J. (2016). *Gaussian09*. Gaussian, Inc. [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(88\)80248-3](https://doi.org/10.1016/0166-1280(88)80248-3)>[10.1016/0166-1280\(88\)80248-3](https://doi.org/10.1016/0166-1280(88)80248-3)<
- G. Rule, D. B. & A. K. (2010). Molecular visualization in STEM education: Leveraging Jmol in an integrated assessment platform. *Proceedings of World Conference on E-Learning in Corporate, Government, Healthcare, and Higher Education*.
- Gaussian. (2020). *Gaussian.com | Expanding the limits of computational chemistry*. <https://gaussian.com/>
- Grof, J. (2020). Cyklodextriny funkcionalizované nanočástice typu jádro-plášť. *Diplomová Práce*. TUL, Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií
- Grof, J.(2018). Příprava cyklodextriny modifikovaných zlatých nanočástic pro

- senzorové aplikace. *Diplomová práce*. TUL, Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií.
- Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P., & Ward, S. C. (2020). *The Cambridge structural database*.
- Hanson, R. M., & Lu, X.-J. (2017). DSSR-enhanced visualization of nucleic acid structures in Jmol. *Nucleic Acids Research*, 45. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/nar/gkx365>
- Herráez, A. (2006). Biomolecules in the computer: Jmol to the rescue. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 34(4), 255–261. <https://doi.org/10.1002/bmb.2006.494034042644>
- Jensen, F. (2007). *Introduction to Computational Chemistry, 3rd Edition*.
- Jmol. (2020). *Jmol: an open-source Java viewer for chemical structures in 3D*. <http://jmol.sourceforge.net/>
- Kalát, M. (2017). Nanočásticové senzorové systémy. *Diplomová práce*, TUL, Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií.
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem 2019 update: Improved access to chemical data. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D1102–D1109. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>
- Knottenbelt, D., Jones, R., Brazil, T., Proudman, C., Edwards, S., & Harrison, L. (1994). Humane destruction of horses with a mixture of quinalbarbitone and cinchocaine. *Veterinary Record*, 134(13), 319–324. <https://doi.org/10.1136/vr.134.13.319>
- Kozárová, I., Máté, D., Hussein, K., Raschmanová, K., Marcincák, S., & Pavlína, J. (2004). High-performance liquid chromatographic determination of sulfadimidine residues in eggs. *Acta Veterinaria*, 54(5–6), 427–435. <https://doi.org/10.2298/avb0406427k>
- Krylov, A., Windus, T. L., Barnes, T., Marin-Rimoldi, E., Nash, J. A., Pritchard, B., Smith, D. G. A., Altarawy, D., Saxe, P., Clementi, C., Crawford, T. D., Harrison, R. J., Jha, S., Pande, V. S., & Head-Gordon, T. (2018). Perspective: Computational chemistry software and its advancement as illustrated through three grand challenge cases for molecular science. *Journal of Chemical Physics*, 149(18), 180901. <https://doi.org/10.1063/1.5052551>
- Kurkov, S. V., & Loftsson, T. (2013). Cyclodextrins. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 453, Issue 1, pp. 167–180). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.055>

- Lewars, E. G. (2016). Computational chemistry: Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics: Third Edition 2016. In *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics: Third Edition 2016*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-30916-3>
- Linstrom, P. J., & Mallard, W. G. (2020). *Webbook*.
- Liu, L., & Guo, Q. X. (2002). The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins. In *Journal of Inclusion Phenomena* (Vol. 42, Issues 1–2, pp. 1–14). Springer. <https://doi.org/10.1023/A:1014520830813>
- Loftsson, T., & Duchêne, D. (2007). Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 329, Issues 1–2, pp. 1–11). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.10.044>
- Loftsson, T., Saokham, P., & Sá Couto, A. R. (2019). Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes in aqueous solutions. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 560, pp. 228–234). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.02.004>
- M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ort, and D. J. F. (2016). *Gaussian - documentation* (No. 09). Gaussian, Inc.
- Majerz, I., & Olovsson, I. (2007). Comparison of the proton-transfer path in hydrogen bonds from theoretical potential-energy surfaces and the concept of conservation of bond order. II. (N - H...N)⁺ hydrogen bonds. *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, 63(4), 650–662. <https://doi.org/10.1107/S0108768107022239>
- Metacentrum. (2020). *O MetaCentru VO*. [online][cit.2020-05-11]. Dostupné z: <https://metavo.metacentrum.cz/cs/about/index.html>
- Moghadam, A., Ijaz, M., Hussain Asim, M., Mahmood, A., Jelkmann, M., Matuszczak, B., Bernkop-Schnürch, A., & Bernkop-Schnürch, A. (2018). *Non-ionic thiolated cyclodextrins-The next generation*.
- Molpro. (2020). *Molpro quantum chemistry package*. [online] [cit 2020-05-11] Dostupné z: <https://www.molpro.net/>
- Ogoshi, T., & Harada, A. (2008). Chemical Sensors Based on Cyclodextrin Derivatives. *Sensors*, 8(8), 4961–4982. <https://doi.org/10.3390/s8084961>
- Olovsson, I. (2006). *Comparison of the Proton Transfer Path in Hydrogen Bonds from Theoretical Potential Energy Surfaces and the Concept of Conservation of Bond*

- Order. 220(7), 797–810.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1524/zpch.2006.220.7.797>
- Pauling, L. C. (1949). *A resonating-valence-bond theory of metals and intermetallic compounds*. 196(1046), 343–362. <https://doi.org/10.1098/rspa.1949.0032>
- Pinjari, R. V., Joshi, K. A., & Gejji, S. P. (2007). Theoretical studies on hydrogen bonding, NMR chemical shifts and electron density topography in α , β and γ -cyclodextrin conformers. *Journal of Physical Chemistry A*, 111(51), 13583–13589. <https://doi.org/10.1021/jp074539w>
- Python software foundation (n.d.). *Python language reference* (3.6). <http://www.python.org>
- Ramachandran, K. I., Deepa, G., & Namboori, K. (2008). Computational chemistry and molecular modeling: Principles and applications. In *Computational Chemistry and Molecular Modeling: Principles and Applications*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-77304-7>
- Ruetsch, Y., Boni, T., & Borgeat, A. (2005). From Cocaine to Ropivacaine: The History of Local Anesthetic Drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(3), 175–182. <https://doi.org/10.2174/1568026013395335>
- Snor, W., Liedl, E., Weiss-Greiler, P., Viernstein, H., & Wolschann, P. (2009a). Density functional calculations on meloxicam- β -cyclodextrin inclusion complexes. *International Journal of Pharmaceutics*, 381(2), 146–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.05.012>
- Stewart, J. J. P. (2007). Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13(12), 1173–1213. <https://doi.org/10.1007/s00894-007-0233-4>
- Stewart, J. J. P. (2009). Application of the PM6 method to modeling proteins. *Journal of Molecular Modeling*, 15(7), 765–805. <https://doi.org/10.1007/s00894-008-0420-y>
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*, 98(5), 1743–1753. <https://doi.org/10.1021/cr970022c>
- Szejtli, J. (2004). Past, present, and future of cyclodextrin research. *Pure and Applied Chemistry*, 76(10), 1825–1845. <https://doi.org/10.1351/pac200476101825>
- Thiel, W. (2014). Semiempirical quantum–chemical methods. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 4(2), 145–157. <https://doi.org/10.1002/wcms.1161>
- Tiwari, R. K., Haridas, M., & Singh, T. P. (1984). Structure of 4-amino-N-(4,6-

- dimethyl-2-pyrimidinyl)benzenesulphonamide (sulfadimidine), C₁₂H₁₄N₄O₂S. *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, 40(4), 655–657. <https://doi.org/10.1107/s0108270184005229>
- University of Cincinnati, L. (2019). *Gaussian09 - Software in Chem-Bio Library - Research Guides at University of Cincinnati*. [online][cit.2020-05-11] <https://guides.libraries.uc.edu/c.php?g=222784&p=1473460>
- Villiers, A. (1891). Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique. *C. R. Acad. Sci*, 112, 536–538.
- Werner, H.-J., Knowles, P. J., Knizia, G., Manby, F. R., & Schütz, M. (2012). Molpro: a general-purpose quantum chemistry program package. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2(2), 242–253. <https://doi.org/10.1002/wcms.82>
- Wikipedia (1) Metacentrum. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2020-05-30]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Metacentrum>
- Wikipedia (2) List of quantum chemistry and solid-state physics software. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2020-05-30]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_quantum_chemistry_and_solid-state_physics_software

Seznam obrázků

Obr. 1: Struktura a vlastnosti CD první generace (Ogoshi, 2008), upraveno.....	19
Obr. 2: Schéma vzniku inklusního komplexu CD (Grof, 2018), upraveno.....	21
Obr. 3: Senzor fungující na podobném principu, který popisuje Kalát (2017). Vlivem přidané chemikálie dochází k vzniku zesíťované struktury cyklodextriny funkcionalizovaných částic, které pak sedimentují (Ogoshi et al.,2008), upraveno.....	22
Obr. 4: Odhad vzniku inklusních komplexů podle přítomnosti určitých funkčních skupin na molekule (Kalát, 2017).....	22
Obr. 5: Molekula glukopyranosy, Molpro HF, měření vzdáleností mezi atomy.....	28
Obr. 6: Molekula glukopyranosy, Pubchem, měření vzdáleností mezi atomy.....	28
Obr. 7: Molekula alpha-d-glukopyranosy, Brown et Levy 1965- neutronová difrakce, měření vzdáleností mezi atomy.....	28
Obr. 8: Molekula aplha-d-glukopyranosy, Molpro HF, měření úhlů.....	29
Obr. 9: Molekula aplha-d-glukopyranosy, Pubchem, měření úhlů.....	29
Obr. 10: Molekula glukopyranosy, Brown et Levy 1965-neuronová difrakce, měření úhlů.....	30
Obr. 11: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, Pubchem ,Molpro HF, měření vzdáleností mezi atomy.....	32
Obr. 12: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, Pubchem, mp2, měření vzdáleností mezi atomy.....	32
Obr. 13: Molekula glukosy, substituce O6 za S1, konformace Brown et Levy (1965), metoda b3lyp, merení vzdalenosti mezi atomy.....	32
Obr. 14: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Brown (1965), metoda HF, měření vzdáleností mezi atomy.....	32
Obr. 15: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Pubchem , Molpro, HF, měření úhl.....	34
Obr. 16: Molekula glukosy substituce S1 za O6, konformace Pubchem, Gaussian mp2, měření úhlů.....	34
Obr. 17: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Brown et Levy (1965), b3lyp, měření úhlů.....	34
Obr. 18: Molekula glukosy, substituce S1 za O6, konformace Brown et Levy (1965), Molpro, HF, měření úhlů.....	34
Obr. 19: Porovnání CI optimalizací: (konformace Pubchem → pm6) červená, (Pubchem → b3lyp) zelená, (pm6 → b3lyp) modrá. Modrá není na obrázku patrná, protože došlo k překryvu se zelenou (RMSD=0 Å), RMSD (červená → modrá)=0.75 Å.	38
Obr. 20: Porovnání jednotlivých typů optimalizací pro SU. konformace Pubchem → pm6) červená, (Pubchem → b3lyp) zelená, (pm6 → b3lyp) modrá. RMSD (modná → červená)=0.77 Å, RMSD (modrá → zelená)=0 Å.....	39
Obr. 21: Schéma měření vzdáleností mezi CD. Růžové koule představují těžiště atomů síry pro daný pre-α-CD.....	40
Obr. 22: Systémy obsahující 2 pre-α-CD v rozdílné vzdálenosti od sebe.....	41
Obr. 23: Vizualizace nově vzniklých vodíkových interakcí mezi 2 pre-α-CD.....	44
Obr. 24: Vizualizace systému 2 α-CD s CI v minimu energie (A1), boční pohled.....	47
Obr. 25: Vizualizace systému 2 α-CD s CI v minimu energie (A1), čelní pohled.....	47
Obr. 26: Vizualizace systému 2 β-CD s CI v minimu energie (B1), boční pohled.....	47
Obr. 27: Vizualizace systému 2 β-CD, minumum energie (B1), čelní pohled.....	47

Obr. 28: Vizualizace systému 2 γ -CD s CI v energetickém minimu (C1), boční pohled.	47
Obr. 29: Vizualizace systému 2 γ -CD s CI v energetickém minimu (C1), čelní pohled.	47
Obr. 30: Struktura odpovídající bodu A3 (Graf 9). CI interaguje s jedním z CD, druhý CD se interakce neúčastní.	48
Obr. 31: Struktura odpovídající bodu C4 (Graf 9). CI interaguje s jedním z CD, druhý CD se interakce neúčastní.	48
Obr. 32: Detail struktury γ -CD+CI (bod C4, Graf 9) s vyznačenými vzdálenostmi mezi atomy, kde se očekává vodíková interakce.	49
Obr. 33: Metastabilní stav v bodě B2 (Graf 9).	49
Obr. 34: Stabilní stav v bodě B7 (Graf 9).	49
Obr. 35: Metastabilní stav, bod C7 (Graf 9).	49
Obr. 36: Stabilní bod C3 (Graf 9).	49
Obr. 37: Struktura v minimu energie α -CD + SU	54
Obr. 38: Struktura v minimu energie α -CD + SU	54
Obr. 39: Struktura v minimu energie β -CD + SU	54
Obr. 40: Struktura v minimu energie, β -CD+SU	54
Obr. 41: Struktura v minimu energie, γ -CD+SU	54
Obr. 42: Struktura v minimu energie γ -CD+SU	54
Obr. 43: Systém β -CD + SU, $r=31.25\text{\AA}$, interakce SU s jedním CD, druhý se interakce neúčastní.	55
Obr. 44: Struktura 2 α -CD + SU v bodě A1, Graf 11	55
Obr. 45: Struktura 2 α -CD + SU, bod A2, Graf 11	55
Obr. 46: Modelová situace dalekodosahového působení interakce CD + CI : nanočástice zlata (koule) obalené cyklodextiny (lichoběžníky) spojené několika molekulami léčiva (elipsy). Díky dalekému dosahu interakce se jí může zúčastnit více molekul.	57
Obr. 47: Modelová situace krátkodosahového působení interakce CD + SU : nanočástice zlata (koule) obalené cyklodextiny (lichoběžníky) spojené molekulou léčiva (elipsa). Díky krátkému dosahu interakce, se jí účastní malé množství molekul.	58

Seznam grafů

Graf 1: STO modelovaný pomocí 3 gaussianů. Linie STO-3G představuje model (Jensen, 2007).....	16
Graf 2: Čas potřebný na optimalizaci substituované molekuly glukosy v závislosti na počtu alokovaných procesorů, včetně chybových úseček.....	25
Graf 3: Využitá RAM v závislosti na počtu alokovaných procesorů k optimalizaci, včetně chybových úseček.....	26
Graf 4: Energie molekuly α -CD, b3lyp, pro rozdílné báze.....	36
Graf 5: Čas potřebný pro optimalizaci α CD, b3lyp pro různé báze.....	36
Graf 6: Závislost energie systému 2 pre- α -CD v závislosti na vzdálenosti CD (viz Konstrukce a charakterizace systému 2 CD), metoda PM6.....	42
Graf 7: Vzdálenost H od centrálního O podle teorie BORC. Graf je symetrický podle čárkovaně vyznačené diagonály. pre- α -CD ve vzdálenosti odpovídající minimální energii.....	43
Graf 8: Vzdálenost H od centrálního O podle teorie BORC. Graf je symetrický podle čárkovaně vyznačené diagonály. pre- α -CD v maximální vzdálenosti od sebe.....	43
Graf 9: Referenční energie E_{ref} systému 2 CD (různé typy) a CI.....	46
Graf 10: Referenční energie 2 γ -CD + CI v závislosti na vzdálenosti, znázornění testovaných větví-vazebných stavů.....	51
Graf 11: referenční energie 2 CD s SU v závislosti na vzdálenosti CD.....	52
Graf 12: Vypočtená spektra pro per-substituovaný β -CD.....	60
Graf 13: Experimentálně získané spektrum pro různé formy β -CD. Zelená křivka označuje nesubstituovaný β -CD, oranžová a fialová křivka pak značí per-substituovaný β -CD. Oranžová a fialová křivka se navzájem liší mírou substituce na CD, kde fialová křivka představuje více substituovaný CD (Moghadam et al, 2018).....	60
Graf 14: Vypočtená spektra IR pro různé typy CD s CI.....	62
Graf 15: Vypočtená IR spektra pro různé typy CD a SU.....	63

Seznam tabulek

Tab. 1: základní charakteristika CD první generace (Szejtli, 1998).....	20
Tab. 2: Některé z neočekávaných výsledků publikované Grofem (2018).....	23
Tab. 3: Velikost vazeb α -D-glukopyranosy.....	27
Tab. 4: Velikost úhlů α -D-glukopyranosy.....	29
Tab. 5: Velikost vazeb α -D-glukopyranosy substituované sírou.....	31
Tab. 6: Velikost úhlů v α -D-glukopyranose substituované sítou.....	33
Tab. 7: energie optimalizovaných CD.....	37
Tab. 8: Energetická minima komplexů	45
Tab. 9: Vypočtené parametry pro Lennard-Jonesův potenciál, interakce CD + SU. Směrodatná odchylka je označena σ	53
Tab. 10: porovnání extrapolované hodnoty a vypočtené referenční energie pro CD + SU. $\Delta = ((\text{Referenční energie pro CD + SU}) - \text{extrapolace z pre-}\alpha\text{-CD})$	55
Tab. 11: Počet interagujících trojic CD + CI pro nanočástice o průměru 200 Å a 500 Å.....	58
Tab. 12: Počet interagujících trojic CD + SU pro nanočástice o průměru 200 Å a 500 Å.....	58

Seznam příloh

U tištěné práce jsou přílohy k dispozici na přiloženém CD.

Příloha 1: Struktura α -CD zoptimalizovaná metodou PM6 (textový soubor)

Příloha 2: Struktura β -CD zoptimalizovaná metodou PM6 (textový soubor)

Příloha 3: Struktura γ -CD zoptimalizovaná metodou PM6 (textový soubor)

Příloha 4: Fit vybraných bodů křivky energie α -CD + SU na Lennard-Jonesův potenciál (Obrázek)

Příloha 5: Fit vybraných bodů křivky energie β -CD + SU na Lennard-Jonesův potenciál (Obrázek)

Příloha 6: Fit vybraných bodů křivky energie γ -CD + SU na Lennard-Jonesův potenciál (Obrázek)

Příloha 7: Chemické posuny pro α -CD + CI (textový soubor)

Příloha 8: Chemické posuny pro β -CD + CI (textový soubor)

Příloha 9: Chemické posuny pro γ -CD + CI (textový soubor)

Příloha 10: Chemické posuny pro α -CD + SU (textový soubor)

Příloha 11: Chemické posuny pro β -CD + SU (textový soubor)

Příloha 12: Chemické posuny pro γ -CD + SU (textový soubor)

Příloha 13: Struktura v energetickém minimu α -CD + CI (textový soubor)

Příloha 14: Struktura v energetickém minimu β -CD + CI (textový soubor)

Příloha 15: Struktura v energetickém minimu γ -CD + CI (textový soubor)

Příloha 16: Struktura v energetickém minimu α -CD + SU (textový soubor)

Příloha 17: Struktura v energetickém minimu β -CD + SU (textový soubor)

Příloha 18: Struktura v energetickém minimu γ -CD + SU (textový soubor)

Pozn. Chemické posuny jsou v textových souborech vypsány pro jednotlivé atomy, které jsou označeny shodně jako je tomu v případě struktur v minimu energie, jsou-li zobrazeny v Jmol tj. číslo přiřazení atomu odpovídá jeho pořadí v souboru