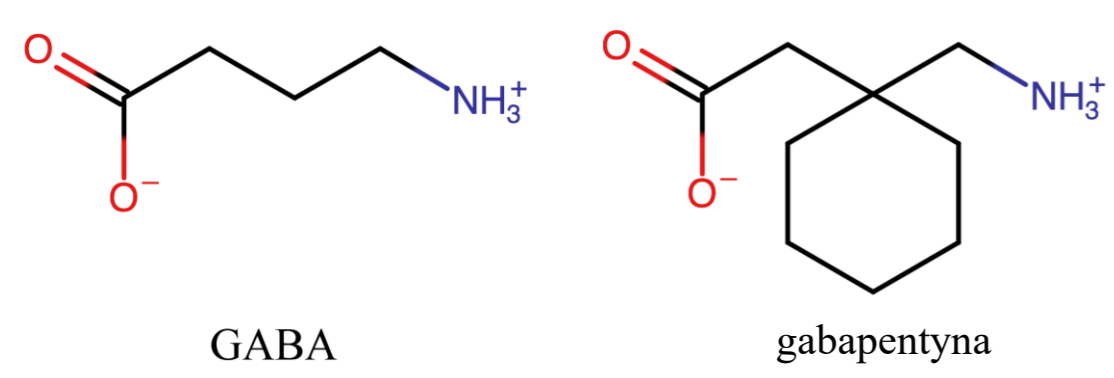


## Wstęp

Gabapentyna (GBP) jest powszechnie stosowaną substancją czynną, strukturalnie zbliżoną do kwasu  $\gamma$ -aminomastowego (GABA). Pomimo klasyfikacji jako lek przeciwpadaczkowy, najczęściej wykorzystywana jest w leczeniu bólu neuropatycznego oraz szeroko stosowana off-label w zaburzeniach neurologicznych.

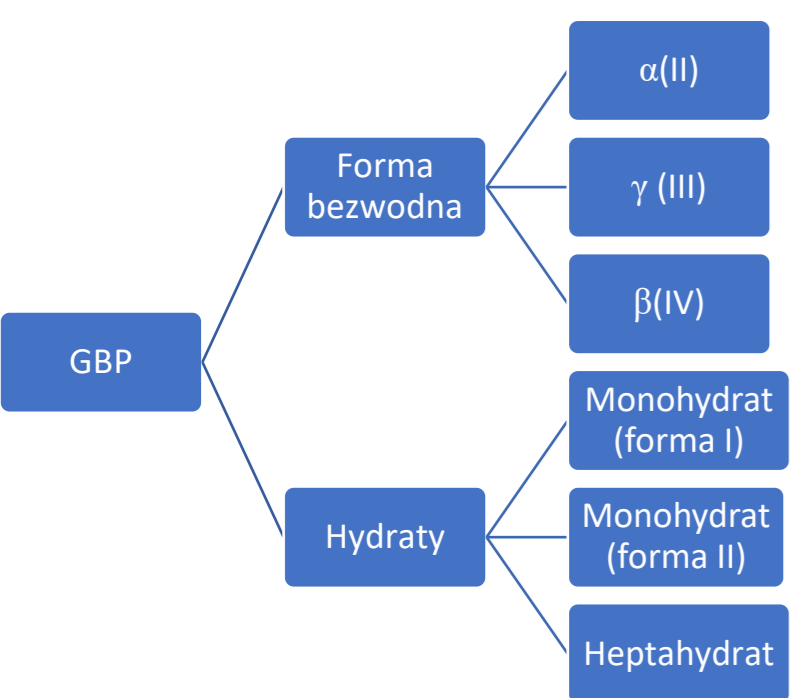


Rysunek 1. Struktura chemiczna GABA i jego pochodnej, GBP.

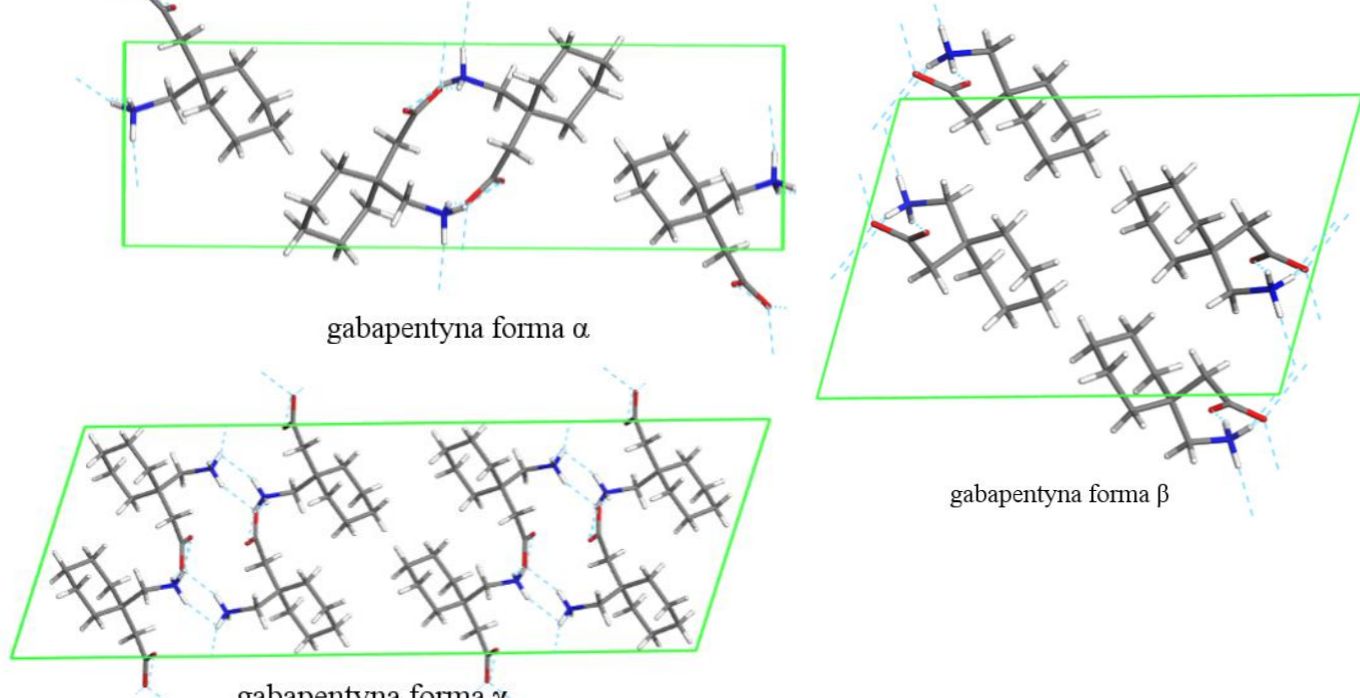


Rysunek 2. Zastosowania off-label GBP.

Związek ten charakteryzuje się znaczną różnorodnością strukturalną i może występować w wielu formach stałych, w tym w kilku odmianach polimorficznych. GBP może przyjmować różne konformacje przestrzenne, których stabilność wpływa na jej właściwości fizykochemiczne oraz może determinować jej aktywność biologiczną.



Rysunek 3. Różne formy GBP.



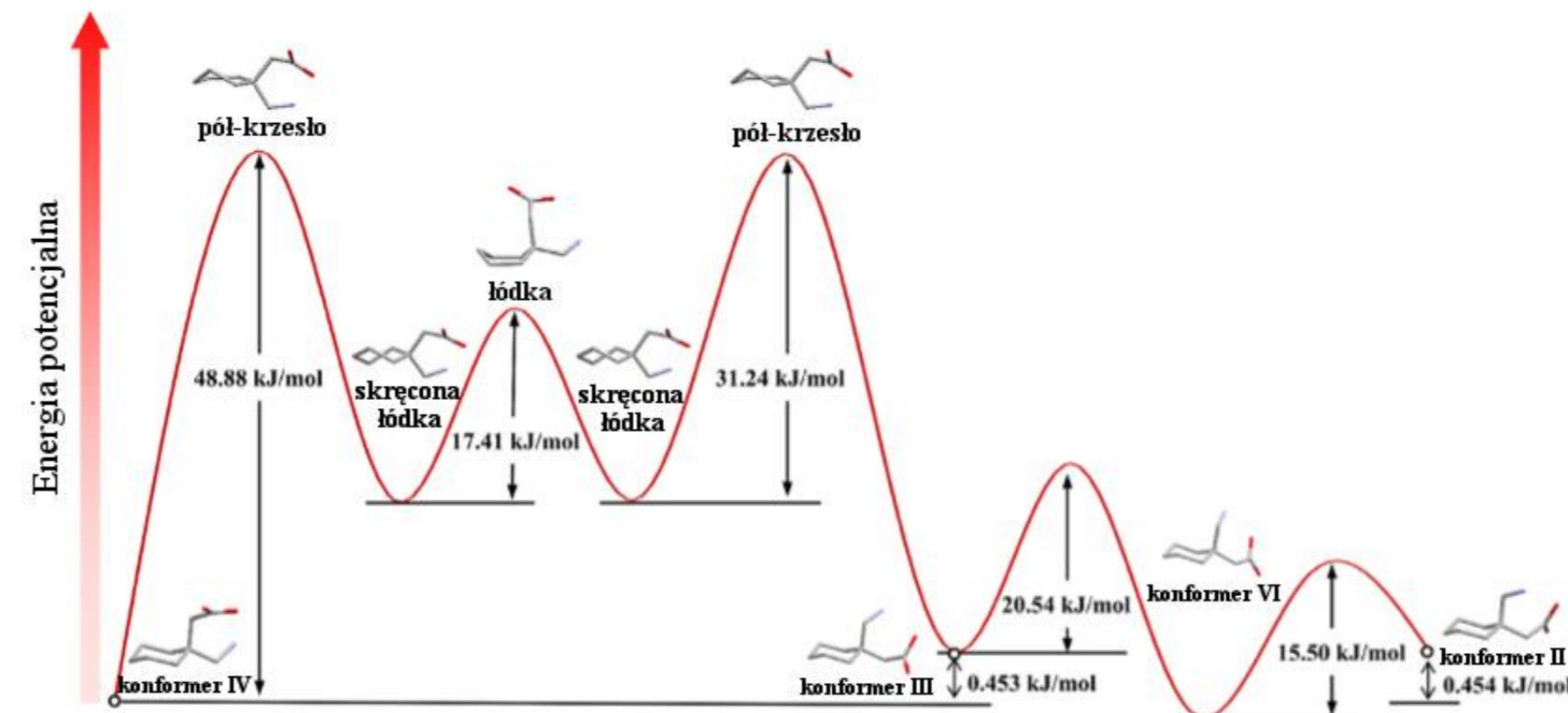
Rysunek 4. Struktury krystaliczne polimorfów GBP.

## Cel pracy

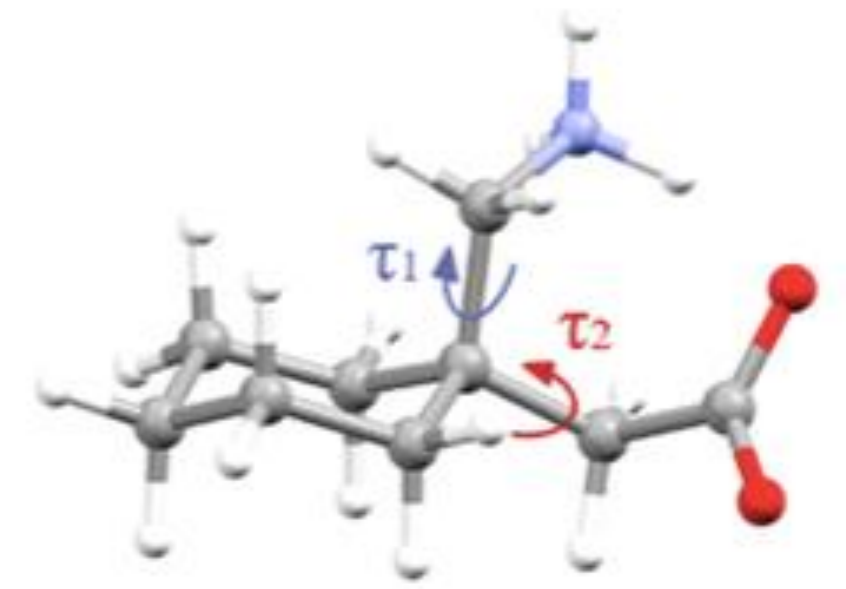
Celem pracy była szczegółowa analiza konformacyjna gabapentyny przy użyciu metod *in silico*, mająca na celu **odnalezienie minimum globalnego i minimów lokalnych** na hiperprzestrzeni energii potencjalnej tej cząsteczki. Aby osiągnąć cel główny, postawiłam szereg celów pośrednich, stanowiących kolejne etapy badań:

- 1) Porównanie struktury i energii, obliczonych na poziomie mechaniki molekularnej (MM), znanych konformacji GBP.
- 2) Systematyczne przeszukiwanie przestrzeni konformacyjnej GBP, na poziomie MM, z wykorzystaniem różnych pól siłowych.
- 3) Optymalizacja geometrii wybranych konformacji: literaturowych oraz minimów uzyskanych w poprzednim punkcie, na poziomie DFT oraz MP2, z wykorzystaniem różnych funkcjonałów DFT i sposobów uwzględnienia środowiska roztworu poprzez solwatację implícitę.
- 4) Porównanie uzyskanych wyników pod kątem struktury oraz wartości funkcji termodynamicznych.

Zgodnie z wynikami Liu et al., stabilność konformerów GBP maleje w kolejności: **VI > II > III > IV**



Rysunek 5. Transformacje między konformerami w metanolu. Opierają się one na energii konformacyjnej konformera IV. Źródło: Liu et al., Crystal Growth & Design 2022 22 (2), 1283-1291.



Rysunek 6. Kąty torsyjne  $\tau_1$  oraz  $\tau_2$ .

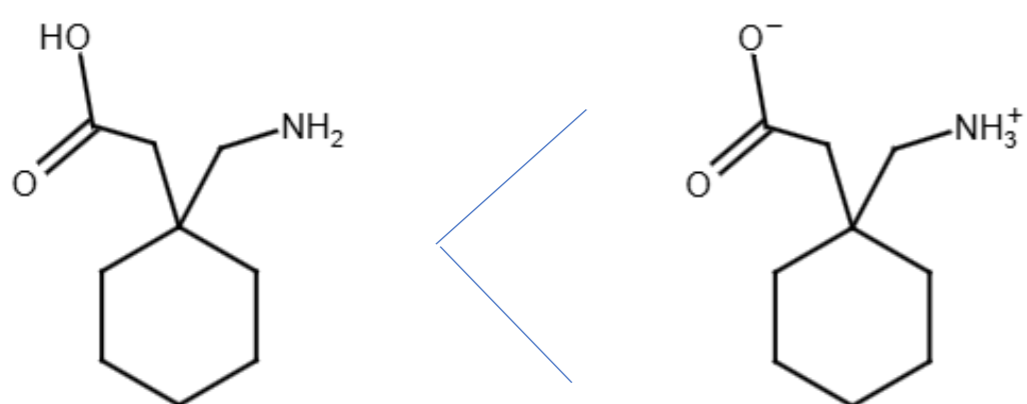
## Materiały i metody

### 1. Obliczenia na poziomie mechaniki molekularnej

Celem pierwszego etapu badań była weryfikacja poprawności obliczeń literaturowych na temat stabilności konformerów GBP oraz identyfikacja pola siłowego w metodach MM, które najlepiej odzwierciedla wyniki literaturowe. Do swoich obliczeń wykorzystałam program Forcite, w którym zastosowałam kilka różnych pól siłowych: **COMPASS, COMPASSII, COMPASSIII, Dreiding, Universal oraz CVFF**. Obliczenia przeprowadziłam zarówno dla jonu obojnaczonego GBP, jak i jej formy obojętnej, ponieważ na poziomie mechaniki molekularnej nie jest możliwe zerwanie wiązania chemicznego. Następnie przeanalizowałam uzyskane wartości energii oraz kąty torsyjne.

Cząsteczka obojętna	E	COMPASS	COMPASSII	COMPASSIII	Dreiding	Universal	CVFF
Ilo	66,60	70,54	66,53	29,52	84,71	59,45	59,45
IIlo	66,60	70,54	66,53	29,52	84,71	59,45	59,45
Ivo	74,09	78,03	74,06	30,33	85,51	62,79	62,79
Vlo	67,34	71,28	67,27	31,90	88,55	59,99	59,99

Tabela 1. Względne wartości energii dla cząsteczki obojętnej.



GBP występuje preferencyjnie w formie jonu obojnaczonego

Tabela 2. Względne wartości energii dla jonu obojnaczonego.

Jon obojnaczy	E	COMPASS	COMPASSII	COMPASSIII	Dreiding	Universal	CVFF
II	0,00	0,00	0,00	0,00	5,46	4,73	4,79
III	0,00	0,00	0,00	0,00	5,46	4,73	4,79
IV	1,59	1,53	1,46	5,56	0,02	7,74	7,74
VI	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

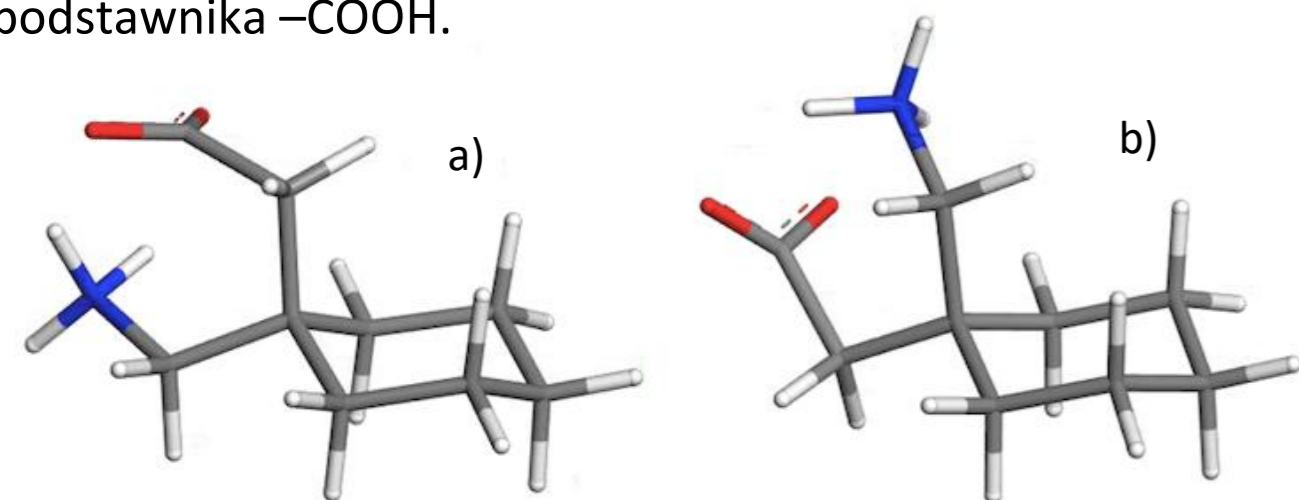
$\tau_1$	COMPASS	COMPASSII	COMPASSIII	Dreiding	Universal	CVFF
II	66,80	63,46	66,57	77,54	76,59	78,91
III	66,80	63,46	66,57	77,54	76,59	78,91
IV	67,67	64,56	67,69	76,92	58,65	78,73
VI	176,25	179,23	176,28	177,92	-178,62	178,27

$\tau_2$	COMPASS	COMPASSII	COMPASSIII	Dreiding	Universal	CVFF
II	-88,63	-90,02	-88,71	-159,89	-142,85	-156,43
III	-88,63	-90,02	-88,71	-159,89	-142,85	-156,43
IV	-87,89	-89,48	-87,73	-155,43	-78,54	-150,99
VI	-152,48	-150,88	-152,55	-168,60	-167,24	-174,90

Tabela 3 i 4. Wartości kątów  $\tau_1$  i  $\tau_2$  dla jonu obojnaczonego

### 2. Przeszukiwanie przestrzeni konformacyjnej.

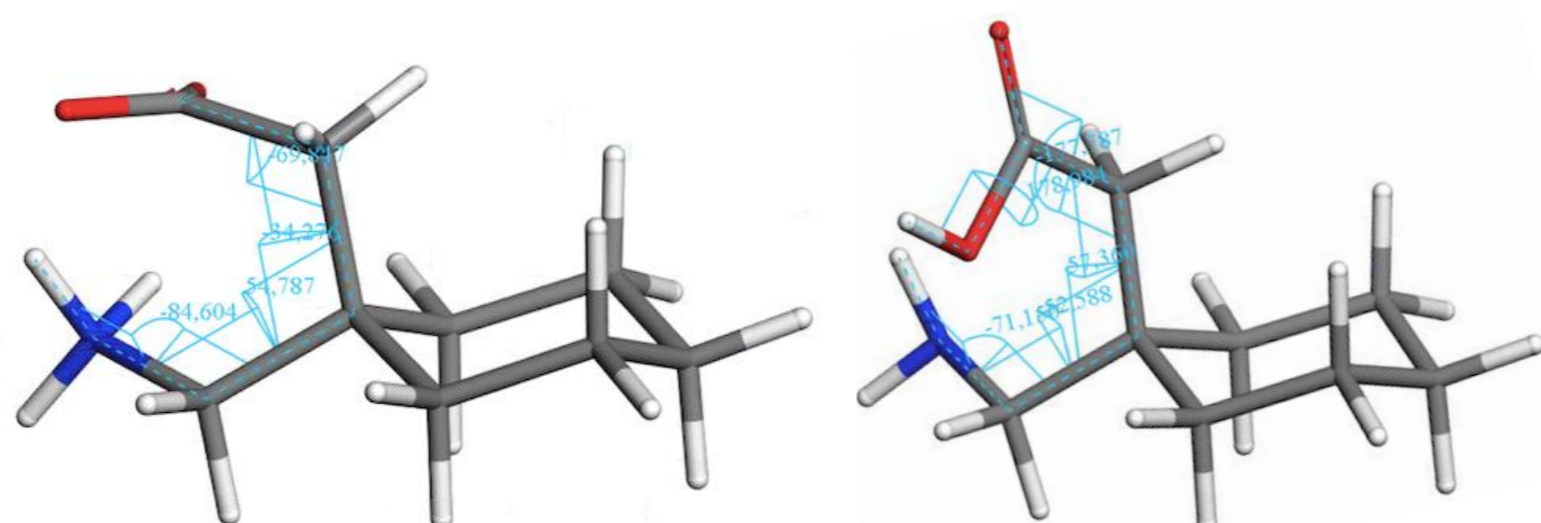
W kolejnym etapie moich badań przeprowadziłam systematyczne przeszukiwanie przestrzeni konformacyjnej GBP w programie Conformers z wykorzystaniem wszystkich poprzednio zastosowanych pól siłowych. Metoda ta polega na generowaniu kolejnych konformerów przez modyfikację kątów torsyjnych według określonych kroków, co pozwala uzyskać pełen zestaw możliwych konfiguracji cząsteczki. Dla każdej wygenerowanej konformacji wykonywane są obliczenia energii, umożliwiające wyznaczenie najstabilniejszych układów. Obliczenia prowadziłam zarówno dla jonu obojnaczonego jak i formy obojętnej. Ponadto w obliczeniach uwzględniłam położenie aksjalne oraz ekwatorialne podstawnika -COOH.



Rysunek 7. Dwie konformacje gabapentyny a) COOH w pozycji aksjalnej b) COOH w pozycji ekwatorialnej.

#### Metoda:

- 12 kroków po 30° każdy = 360
- metoda ultrafine
- maksymalna liczba iteracji = 5000
- minimalna różnica energii na poziomie 1 kcal/mol



$12^4 = 20736$  konformacji

$12^5 = 248 832$  konformacji

Rysunek 8. Kąty torsyjne wybrane do obliczeń strukturalnych.

Zidentyfikowano 3 nowe, stabilniejsze konformacje – IVA, IVB, IVC

### 3. Obliczenia na poziomie chemii kwantowej

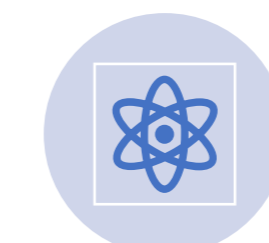
Trzecim etapem mojej pracy była optymalizacja konformerów GBP przy użyciu metod chemii kwantowej w programie Gaussian. W moich obliczeniach zastosowałam funkcjonały – B3LYP i M06-2X – oraz metodę MP2. W każdym przypadku wykorzystywałam rozszerzoną bazę funkcyjną 6-311++G(d,p). W związku z tym, że kluczowe znaczenie miały dla mnie obliczenia w roztworze, zastosowałam dwa modele solwatacji – PCM oraz SMD. Dla porównania przeprowadziłam również obliczenia w fazie gazowej.

Metoda	Funkcjonał	Solvatacja	Baza
1	B3LYP	Metanol PCM	
2	B3LYP	Woda PCM	
3	B3LYP	BEZ	
4	B3LYP	Metanol SMD	
5	B3LYP	Woda SMD	
6	M06-2X	Metanol PCM	
7	M06-2X	Woda PCM	
8	M06-2X	BEZ	6-311++G(d,p)
9	M06-2X	Metanol SMD	
10	M06-2X	Woda SMD	
11	MP2	Metanol PCM	
12	MP2	Woda PCM	
13	MP2	BEZ	
14	MP2	Metanol SMD	
15	MP2	Woda SMD	

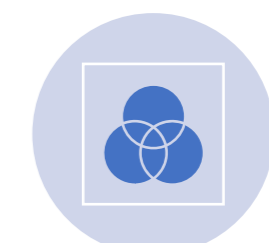
Tabela 5. Metody obliczeń na poziomie chemii kwantowej.

Analizie poddałam znane konformacje II, III, IV, VI oraz nowe IVA, IVB, IVC

Przeprowadziłam optymalizację geometrii oraz obliczenia częstości drgań wibracyjnych



Czy dochodzi do zbieżności do jednej tej samej konformacji?



Które ze struktur są energetycznie najbardziej korzystne?

COOH	$\tau_1$	Numer metody obliczeniowej														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
e	II	84,12	83,81	76,97	62,98	62,10	80,49	80,81	75,05	65,78	62,34	84,13	83,62	76,04	66,67	62,89
e	III	156,58	156,98	163,23	160,80	161,03	159,23	158,92	164,87	162,30	162,94	159,14	156,87	163,79	161,67	162,21
a	IV	82,05	81,57	76,96	79,06	78,91	79,66	79,91	75,05	78,98	78,42	82,08	81,49	76,33	79,46	79,05
e	VI	-177,54	-174,58	-177,92	-171,16	-170,66	-176,28	-176,20	-178,24	-167,92	-167,98	-178,66	-178,65	-179,74	-171,90	-171,80
a	IVA	61,10	57,50	123,17	56,23	56,10	60,53	60,53	-179,99	55,34	55,00	179,87	179,85	62,97	56,69	56,35
a	IVB	61,03	57,48	62,47	56,26	56,10	60,59	60,53	61,96	55,35	54,89	62,06	61,99	62,91	56,65	56,31
a	IVC	-178,74	-174,71	179,99	-173,50	-173,32	-178,77	-178,73	-179,97	-173,07	-172,69	179,84	179,84	179,08	-174,32	-173,93

COOH	$\tau_2$	Numer metody obliczeniowej														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
e	II	-169,45	-169,57	-174,05	-174,49	-174,77	-174,04	-174,08	-175,07	-173,15	-174,25	-170,99	-171,12	-175,23	-173,12	-174,23
e	III	-72,47	-72,34	-68,28	-71,06	-70,67	-67,99	-67,98	-66,86	-69,16	-68,78	-67,49	-70,23	-66,65	-69,74	-69,55
a	IV	-165,98	-165,99	-172,51	-168,26	-168,87	-172,31	-172,32	-175,07	-171,88	-172,27	-168,36	-168,29	-174,15	-170,81	-171,15
e	VI	163,04	169,91	156,74	168,71	168,59	158,63	158,90	150,40	167,46	166,61	155,94	156,13	149,92	163,85	163,88
a	IVA	-41,76	-48,41	-121,22	-46,00	-45,84	-36,22	-36,37	150,91	-41,62	-41,73	155,53	155,64	-30,23	-42,38	-42,63
a	IVB	-41,79	-48,42	-35,12	-45,94	-45,84	-36,18	-36,38	-30,34	-41,66	-41,89	-35,13	-35,35	-30,25	-42,46	-42,65
a	IVC	161,72	168,63	155,35	166,17	166,09	156,41	156,60	150,95	162,13	162,23	155,50	155,64	150,95	163,08	163,33

Tabela 6 i 7. Wartości kątów  $\tau_1$  i  $\tau_2$ . Konformacja IVA nie zachowywała swojej struktury – kolorem niebieskim zaznaczono przejścia w konformację IVB, a kolorem fioletowym w IVC.

## Wyniki

Obliczenia metodami chemii kwantowej potwierdziły, że **najbardziej stabilnymi energetycznie konformacjami były nowo zidentyfikowane struktury IVA, IVB i IVC**, co pozostaje niezgodne z dotychczasowymi doniesieniami literaturowymi. Różnice te wynikają z ograniczenia wcześniejszych badań do przeszukiwania przestrzeni konformacyjnej wyłącznie dla konformacji z grupą karboksylową w pozycji ekwatorialnej. **Uwzględnienie w niniejszej pracy zarówno orientacji aksjalnej, jak i ekwatorialnej pozwoliło na identyfikację nowych, niższej energetycznych struktur.**

COOH	Konformacja	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
e	II	17,45	14,78	4,10	25,28	21,93	6,85	7,15	2,95	23,82	22,01	14,91	16,59	2,95	23,45	22,24
e	III	17,28	14,79	4,09	7,62	5,81	6,86	7,15	2,94	3,95	3,38	6,07	16,74	2,96	2,11	2,18
a	IV	17,12	14,83	2,11	7,75	6,71	6,14	6,38	0,40	5,41	4,18	17,14	16,99	0,00	3,28	2,48
e	VI	0,66	0,00	2,41	0,67	0,00	1,55	1,63	4,23	0,43	0,19	2,68	2,61	4,83	1,93	1,87
a	IVA	0,02	1,64	-	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,01	0,03	0,00	0,01	0,21	0,01	0,01
a	IVB	0,00	1,66	0,00	0,01	0,08	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,19	0,00	0,01
a	IVC	0,01	1,61	0,01	0,03	0,07	0,00	0,01	0,02	0,01	0,03	0,01	0,00	0,20	0,01	0,00

Tabela 8. Względne wartości entalpii swobodnej (G) [kJ/mol] uzyskane przy pomocy obliczeń chemii kwantowej w 15 metodach; e - położenie ekwatorialne, a- aksjalne grupy karboksylowej, „-” maksimum energetyczne, wartość nieanalizowana.

## Wnioski

- Otrzymane wyniki w metodzie MM pokazały, że zastosowane przeze mnie **pola siłowe nie odwzorowują w pełni danych literaturowych** – konformacje II i III zbiegły się do jednej struktury
- Metody mechaniki molekularnej trafnie przewidziały, że **gabapentyna występuje preferencyjnie w formie jonu obojnaczonego, a nie cząsteczki obojętnej**
- Najbardziej stabilnymi energetycznie konformacjami okazały się nowo odkryte przeze mnie struktury: **IVA, IVB i IVC**
- Wybór funkcjonału **DFT** oraz modelu **solwatacji** znacząco wpływa na otrzymane wyniki
- Analiza kątów torsyjnych pozwoliła mi dostrzec, jak duże znaczenie mają różnice konformacyjne. W szczególności te, które związane są z położeniem podstawników - **aksjalnym lub ekwatorialnym**