

УДК 577.29, 51-76

В.В. Баркалин<sup>1</sup>, Я.В. Долгая<sup>1</sup>, О.А. Козлова<sup>2</sup>

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРЕДПОЛИМЕРИЗАЦИОННОГО КОМПЛЕКСА ПОЛИМЕРОВ С МОЛЕКУЛЯРНЫМИ ОТПЕЧАТКАМИ ТРИ-О-АЦЕТИЛАДЕНОЗИНА

*Рассматривается применение метода компьютерного моделирования QM/MM, совмещающего квантово-механический и молекулярно-механический подходы для моделирования предполимеризационных комплексов молекулы-темплата и мономеров и дальнейшего *in-silico* исследования биомолекулярных свойств полимеров с молекулярными отпечатками, что позволяет оценить их эффективность и оптимизировать процесс получения и использования при различных условиях. Проводятся моделирование изолированных предполимеризационных комплексов темплата три-о-ацетиладенозина с различным числом мономеров акриламида, метакриловой и мета-винил-бензойной кислот, а также сравнение результатов расчетов методом QM/MM и методом самосогласованного поля с точки зрения компьютерных затрат и параллелизации вычислений.*

### Введение

Технология молекулярного импринтинга основана на полимеризации функциональных мономеров в присутствии молекул вещества-шаблона (темплатов), которые затем вымываются из полимера с целью получения полостей-отпечатков, соответствующих темплату по форме и наличию функциональных групп. Полученные полимеры используются для выборочного распознавания и извлечения из растворов различных веществ молекул, соответствующих отпечаткам.

Полимеры с молекулярными отпечатками молекулы три-о-ацетиладенозина (ТАА) могут использоваться для получения АТФ-конкурентных ингибиторов, являющихся основным компонентом разрабатываемых лекарственных препаратов, снижающих активность протеинкиназы для лечения воспалений, различных видов рака и диабета. Моделирование изолированного предполимеризационного комплекса показало, что QM/MM-подход позволяет дать сравнительную оценку таким параметрам, как вид функционального мономера и мольное соотношение мономеров к темплатам при относительно небольших вычислительных затратах, что делает возможным применение предложенной методики для исследования влияния растворителей и сшивателей на процесс импринтинга и характеристики полученных полимеров.

Разработка способа производства полимеров с заданными молекулярными отпечатками включает выбор следующих параметров: вида функционального мономера, молекулы которого связываются с темплатом, образуя предполимеризационный комплекс (ППК), и затем полимеризуются; мольного соотношения функционального мономера и темплата, в котором они добавляются в раствор для образования ППК; вида растворителя, в котором происходит образование ППК; мольного отношения сшивающего агента к мономеру (сшивающего коэффициента).

Использование компьютерных технологий и существующих методов моделирования позволит существенно снизить затраты на исследования, проводимые для выбора и оценки указанных параметров, по таким критериям, как энергия связи, пространственная структура ППК и конечного полимера.

Для исследования биомолекулярных систем в настоящее время применяются: методы молекулярной механики, когда все взаимодействия между атомами описываются посредством классических силовых полей; методы, базирующиеся на квантовой механике, а также комбинированный подход квантовой механики и молекулярной (QM/MM). В [1] был предложен способ расчета мольного соотношения темплатов и мономеров и сравнения эффективности мономеров для импринтинга на основе моделирования ППК методом молекулярной механики, который затем уточнялся квантово-механическим полуэмпирическим расчетом с гамильтонианом PM3. При этом основным критерием оценки считалась величина энергии связи, которая рассчитывалась как разница между полной энергией ППК и суммой энергий изолированных

молекул. Следует отметить, что связывание темплата и мономера происходит за счет образования межмолекулярных водородных связей, которые не являются типичными химическими связями, но и не сводятся к простому электростатическому притяжению и, следовательно, не могут быть описаны с помощью классических силовых полей, на которых базируется метод молекулярной механики. Полуэмпирические методы при расчете водородных связей дают заниженную величину для энергии связи и завышенную для длины [2].

Для решения поставленных задач использовался метод QM/MM, в котором вся система разделяется на два региона: квантовый и классический, а энергия каждого региона вычисляется соответственно квантово-механическим и молекулярно-механическим способами. Области с водородными связями включаются в квантовый регион и моделируются методом самосогласованного поля (ССП), а остальная часть системы, включая растворитель, моделируется методом молекулярной механики. Такой подход позволяет с достаточной точностью определить параметры водородных связей и в то же время избежать квантово-механического расчета всей системы. Настоящая работа посвящена исследованию применения QM/MM-подхода для выбора и оценки параметров импринтинга. Для анализа применимости метода проведено моделирование ППК с различными функциональными мономерами (метакриловой кислотой, мета-винил-бензойной кислотой, акриламидом) без учета растворителя. Проведено сравнение результатов с результатами, полученными при моделировании методом СПП. Расчеты произведены с использованием пакета квантово-механических и молекулярно-динамических вычислений NWChem-6.0 на вычислительном грид-сегменте ВУ-ВНТУ Белорусского национального технического университета.

### 1. Разработка полимеров с молекулярными отпечатками три-о-ацетиладенозина

Технология молекулярного импринтинга [3] включает три этапа. На первом этапе путем смешения в определенной пропорции темплата и мономера в растворителе формируют устойчивые предполимеризационные комплексы из мономеров и темплатов. На втором этапе комплексы полимеризуют в присутствии сшивающего агента. На третьем этапе темплат вымывают из полимера, в результате чего в нем образуются полости-отпечатки для захвата молекул ингибитора.

Исследуется технология производства и эффективность применения полимеров с использованием в качестве темплата аналога АТФ – три-о-ацетиладенозина. В качестве возможных функциональных мономеров рассматриваются молекулы метакриловой кислоты (МАК), мета-винил-бензойной кислоты (МВБ) и акриламида (АКР), из которых необходимо выбрать наиболее подходящую. На рис. 1 схематично изображен процесс импринтинга ТАА и последующего применения полученного полимера для селективного извлечения ингибиторов.

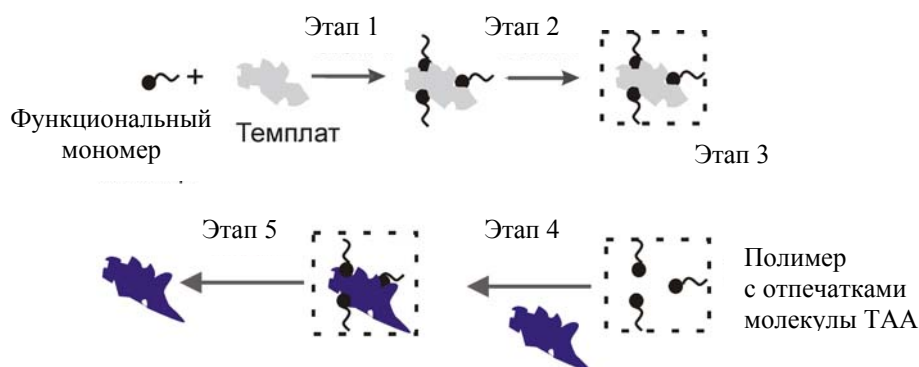


Рис. 1. Этапы процесса получения и применения полимера с отпечатками молекулы ТАА: 1 – получение ППК; 2 – полимеризация; 3 – вымывание темплата из полимера; 4 – селективное извлечение молекул, которые соответствуют сформированным отпечаткам по форме, размеру и наличию функциональных групп, способных взаимодействовать с функциональными группами мономеров; 5 – вымывание выбранных молекул

## 2. Методика применения компьютерного моделирования для решения задачи оценки условий импринтинга

### 2.1. Критерии оценки параметров

Предлагаемая методика включает моделирование каждого из этапов импринтинга и применения полимеров (см. рис. 1).

При моделировании первого этапа (процесса получения ППК) производится оценка условий импринтинга по следующим критериям: пространственная структура ППК, энергия связи ППК.

Так как пространственная структура ППК определяет вид полости (отпечатка), которая должна имитировать участок связывания АТФ протеинкиназы, мономеры в ППК должны образовывать связи только с аденином АТФ. Таким образом, структуры характеризуются наличием водородных связей «атом 1 – атом 2», где атом 1 – атом темплата, атом 2 – атом мономера, между которыми образуется водородная связь за счет атома водорода, связанного с одним из атомов ковалентной связью. Для определения наиболее вероятной пространственной структуры ППК при заданных параметрах необходимо провести расчет энергий всех возможных структур и выбрать структуру, соответствующую наименьшей энергии. Для этого необходимо задавать приближенные начальные координаты атомов ППК, располагая молекулы мономеров вокруг темплата так, чтобы между ними могли образовываться водородные связи. Мольное соотношение определяет количество функциональных мономеров, присоединенных к темплату. Молекулы растворителя равномерно распределяются в ячейке моделирования с учетом плотности раствора. Выполняя оптимизацию геометрии, можно найти локальный минимум энергии, который будет соответствовать энергии заданной структуры.

Энергия связи ППК вычисляется как разность суммы энергий, составляющих ППК молекул, и полной энергии ППК и характеризует устойчивость ППК:

$$E_{св} = E_{ППК} - (E_{ТАА} + \sum E_{мон}). \quad (1)$$

При моделировании второго этапа (процесса полимеризации) определяется сшивающий коэффициент. В систему добавляются дополнительные молекулы мономеров и сшивателей, количественное соотношение которых определяется сшивающим коэффициентом, для которого производится оценка. Затем проводится оптимизация геометрии. Критериями оценки являются пространственная структура полимера, которая включает форму, пористость полимерной матрицы и доступность связывающих полостей, а также энергия связи образованного полимера, определяемая как разница между энергией полученного полимера и энергией молекул, его составляющих.

На третьем этапе полученная полимерная матрица, содержащая темплаты, помещается в растворитель для отмывки. Моделирование этого этапа проводится методом молекулярной динамики, в результате которого определяется, сколько темплатов вымыто из полостей-отпечатков. Таким образом, на втором и третьем этапах определяется селективная поверхность полимера.

На последнем этапе проводится анализ способности полимера к распознаванию молекул-ингибиторов. Для этого осуществляется оптимизация геометрии полимера с отпечатками, в котором на место молекул-шаблонов в полость помещены молекулы-ингибиторы. Затем определяется энергия связи полимера с молекулами-ингибиторами, величина которой характеризует аффинность полостей-отпечатков.

Комплексная оценка результатов, полученных на всех этапах моделирования, позволяет выбрать наиболее подходящие для импринтинга функциональный мономер, растворитель, мольные соотношения мономеров к темплату и сшивателю.

### 2.2. Применение метода QM/MM для оптимизации геометрии и вычисления энергии связи

При моделировании всех этапов импринтинга используется метод QM/MM. В квантовый регион включаются все атомы темплата (рис. 2), а также атомы мономеров, участвующие в

образовании водородных связей и образующие с ними связь (рис. 3), в классический – оставшиеся атомы мономеров, сшивателей и молекулы растворителя.

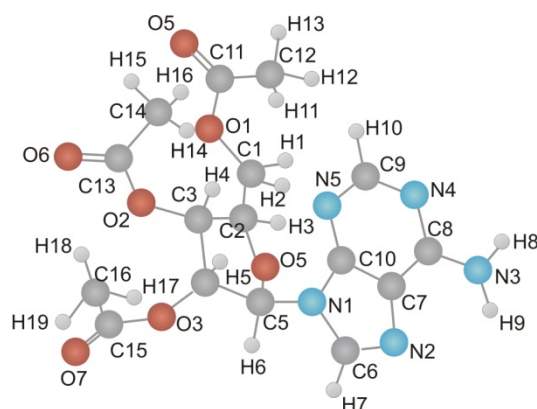


Рис. 2. Молекула ТАА

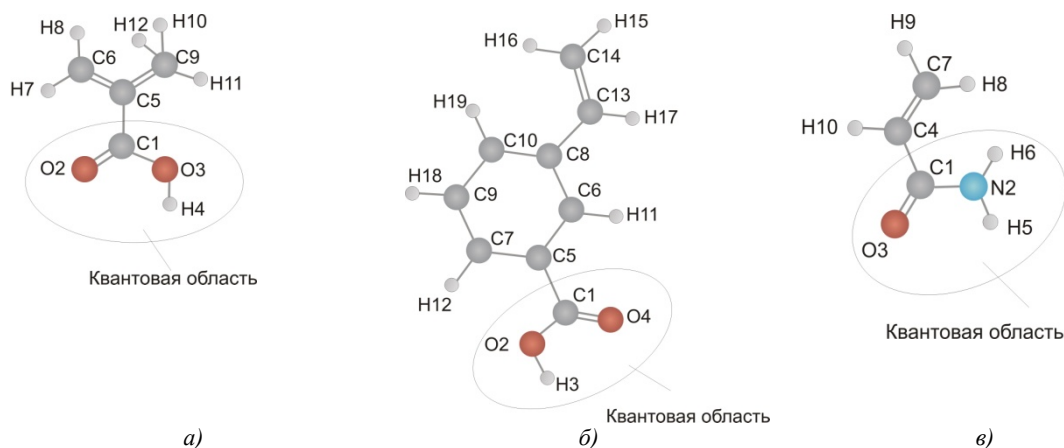


Рис. 3. Функциональные момеры: а) метакриловая кислота; б) мета-винил-бензойная кислота; в) акриламид

Полная энергия системы рассчитывается как сумма энергий классической и квантовой областей, а также энергии взаимодействия между ними.

Алгоритм оптимизации геометрии в пакете NWChem включает поочередную минимизацию энергий классического и квантового регионов методом квази-Ньютона с ограниченной памятью до тех пор, пока не будет достигнут критерий сходимости. Молекулярные связи, пересекающие регионы, заменяются связями с атомом водорода (атомом связи), место положения которого вычисляется следующим образом:

$$R_{св} = (1 - g) \cdot R_{квант} + g \cdot R_{класс} \quad (2)$$

где  $g$  – масштабирующий множитель, равный 0,709;  $R_{квант}$ ,  $R_{класс}$  – радиус-векторы атомов, участвующих в этой связи, с квантовой и классической сторон соответственно [4].

Сначала оптимизируется квантовый регион вместе с атомами связи и вычисляется его электростатическое поле. При оптимизации классического региона атомы, включенные в квантовый регион, и атомы связи считаются неподвижными и представляются в виде электростатического потенциала. Цикл повторяется до достижения критерия сходимости.

Выбор базиса для расчета энергии квантового региона определяется наличием в системе водородных связей и затратами процессорного времени. Неэмпирические расчеты для систем с водородными связями в настоящее время чаще всего проводят с использованием валентно-расщепленных базисов (обычно 3-21G или 4-31G). Их выбор связан с необходимостью идти на компромисс между точностью расчета и затратами машинного времени. Расчеты в этих базисах намного завышают энергию образования водородных связей, занижают их длину (расстояние между гетероатомами), а также существенно переоценивают стабильность циклических структур с водородными связями. Включение в базис поляризационных орбиталей устраняет эти недостатки. Таким образом, при использовании неэмпирических методов расчеты для систем с водородными связями желательнее проводить в базисах с поляризационными орбиталями, т. е. использовать базис 6-31G\* или 6-31G\*\* [5], что практически трудно осуществить для моделирования систем органической химии и биологии, имеющих обычно большие размеры, квантово-механическими методами. Однако использование данных базисов возможно при применении QM/MM-подхода.

Авторами проведено исследование применимости неполяризованного и поляризованного базисов в моделировании водородных связей на примере расчета энергий связи между двумя молекулами воды. Рассчитанная энергия водородной связи с использованием базиса 6-31G равна 32,81 кДж/моль, с использованием базиса 6-31G\*\* – 23,05 кДж/моль. Экспериментальное значение энергии связи – 21 кДж/моль. В этой связи для достижения большей точности расчетов был выбран поляризованный базис 6-31G\*\* для квантового региона. Для молекулярно-механической части использовалось силовое поле *amber*, которое успешно применяется для моделирования биомолекулярных систем [6].

### 3. QM/MM-моделирование предполимеризационного комплекса

На рис. 4 показаны места присоединения мономеров при моделировании и обозначены водородные связи.

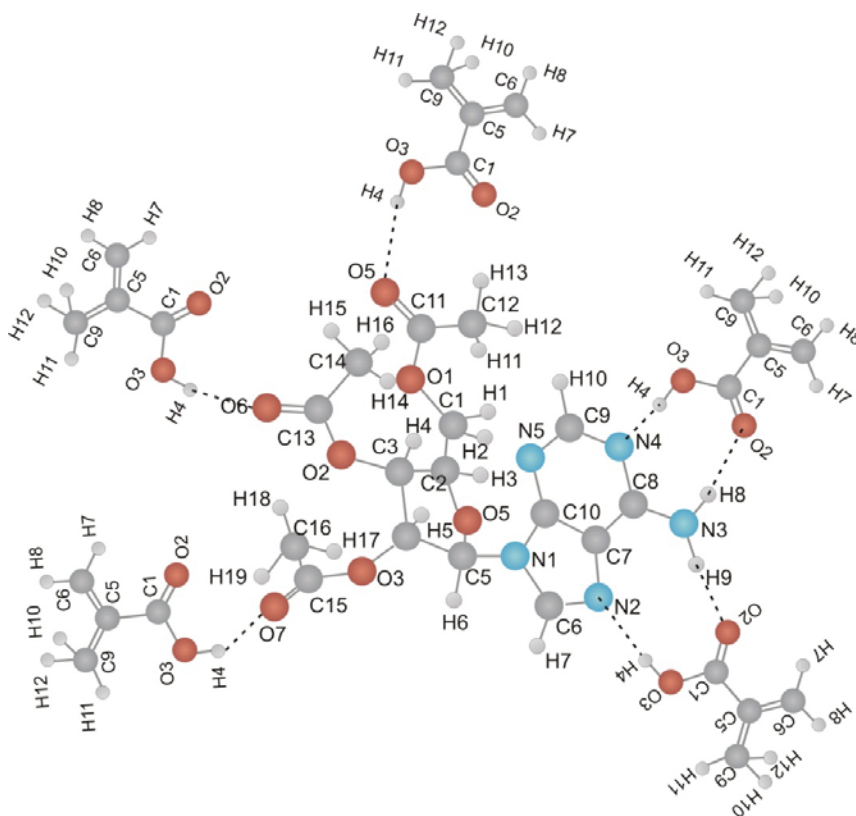


Рис. 4. Молекула ТАА с пятью присоединенными мономерами метакриловой кислоты

Моделирование проводилось для структур с одним – пятью мономерами, присоединенными к темплату.

В табл. 1 представлены результаты вычислений энергий связи методом QM/MM для комплексов с представленными мономерами, присоединенными к различным атомам темплата (местам присоединения).

Таблица 1

Энергии связи (*E<sub>св</sub>*) ППК, кДж/моль

Кол-во мономеров	Места присоединения	<i>E<sub>св</sub></i> МАК	<i>E<sub>св</sub></i> МВБ	<i>E<sub>св</sub></i> АКР
1	N4, N3	-66,69	-58,5	-46,00
1	N2, N3	-64,23	-54,21	-44,44
1	O7	-49,77	-43,58	-33,03
1	O6	-32,45	-41,05	-32,91
1	O5	-47,96	-43,82	-10,75
2	N4, N3, N2, N3	-126,88	-110,39	-80,29
3	N4, N3, N2, N3, O7	-174,88	-149,63	-110,50
3	N4, N3, N2, N3, O6	-172,57	-147,36	-110,39
3	N4, N3, N2, N3, O5	-171,58	-148,87	-111,31
4	N4, N3, N2, N3, O6, O7	-220,73	-187,15	-139,71
4	N4, N3, N2, N3, O5, O6	-224,26	-186,47	-142,09
4	N4, N3, N2, N3, O5, O7	-221,14	-186,59	-140,96
5	N4, N3, N2, N3, O5, O6, O7	-260,55	-224,04	-169,67

#### 4. Сравнение результатов QM/MM- и ССП-подходов молекулярно-механического моделирования

Для проверки результатов методом ССП были вычислены энергии оптимизированных методом QM/MM систем в базисе 6-31 G\*\* и рассчитаны энергии связей (табл. 2).

Таблица 2

Энергии связи (*E<sub>св</sub>*) ППК, оптимизированных в QM/MM, рассчитанные методом ССП, кДж/моль

Кол-во мономеров	Места присоединения	<i>E<sub>св</sub></i> МАК	<i>E<sub>св</sub></i> МВБ	<i>E<sub>св</sub></i> АКР
1	N4, N3	-64,02	-57,13	-44,75
2	N4, N3, N2, N3	-121,45	-107,47	-78,07
3	N4, N3, N2, N3, O7	-166,11	-144,93	-107,01
4	N4, N3, N2, N3, O6, O7	-210,28	-180,58	-136,08
5	N4, N3, N2, N3, O5, O6, O7	-246,80	-216,07	-162,95

Также была проведена оптимизация комплексов, мономеров и темплата методом ССП в базисе 6-31 G\*\*. Результаты вычисленных по формуле (1) энергий связей приведены в табл. 3.

Таблица 3

Энергии связи ППК, рассчитанные методом ССП, кДж/моль

Кол-во мономеров	Места присоединения	<i>E<sub>св</sub></i> МАА	<i>E<sub>св</sub></i> МВБ	<i>E<sub>св</sub></i> АКР
1	N4, N3	-64,61	-59,68	-50,75
2	N4, N3, N2, N3	-123,84	-108,78	-85,71
3	N4, N3, N2, N3, O7	-171,89	-147,34	-116,76
4	N4, N3, N2, N3, O6, O7	-223,93	-185,5	-148,16
5	N4, N3, N2, N3, O5, O6, O7	-269,99	-197,61	-

Методом молекулярной механики для ППК с метакриловой кислотой были вычислены энергии связей (табл. 4). Дальнейшие исследования не проводились, так как из полученных результатов следует невозможность образования ППК с двумя мономерами, что противоречит результатам ССП-моделирования, которое является более точным, и экспериментальным данным [7].

Таблица 4

Энергии связи ППК, рассчитанные методом молекулярной механики, кДж/моль

Кол-во мономеров	Места присоединения	Есв МАА	Есв МВБ	Есв АКР
1	N4, N3	-64,61	-59,68	-50,75
2	N4, N3, N2, N3	-123,84	-108,78	-85,71
3	N4, N3, N2, N3, O7	-171,89	-147,34	-116,76
4	N4, N3, N2, N3, O6, O7	-223,93	-185,5	-148,16
5	N4, N3, N2, N3, O5, O6, O7	-269,99	-197,61	-

На рис. 5 изображены графики зависимости энергий связи от числа функциональных мономеров в ППК, рассчитанных методами ССП и QM/MM.

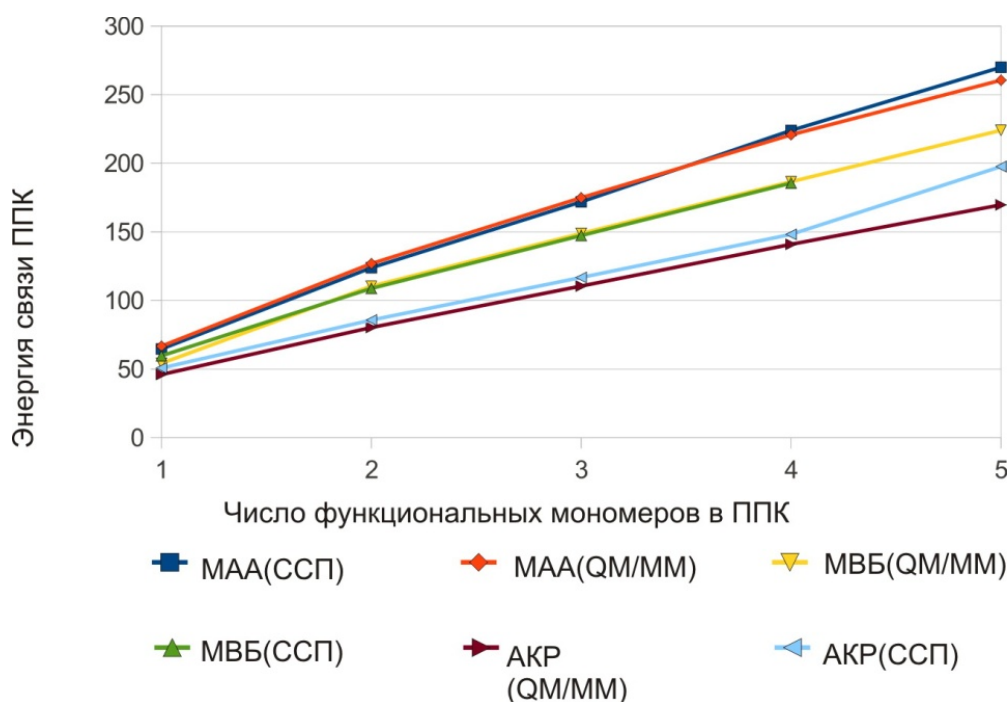


Рис. 5. Графики зависимости энергии связи ППК от числа мономеров

##### 5. Сравнение вычислительной эффективности применения QM/MM-алгоритма, реализованного в NWChem для молекулярного импринтинга

Рассмотрим графики на рис. 6 и 7. Видно, что время вычисления энергии методом QM/MM практически не меняется с увеличением ППК, а время вычисления методом ССП возрастает с разной скоростью. Время оптимизации геометрии не всегда возрастает, так как количество шагов оптимизации зависит от близости исходной системы к конечной, однако при количестве атомов, большем 95, заметным становится преимущество метода QM/MM. Это связано с тем, что время расчета энергии системы заметно возрастает для ССП-метода и оказывается решающим фактором даже при меньшем числе шагов ССП-метода по сравнению с QM/MM.

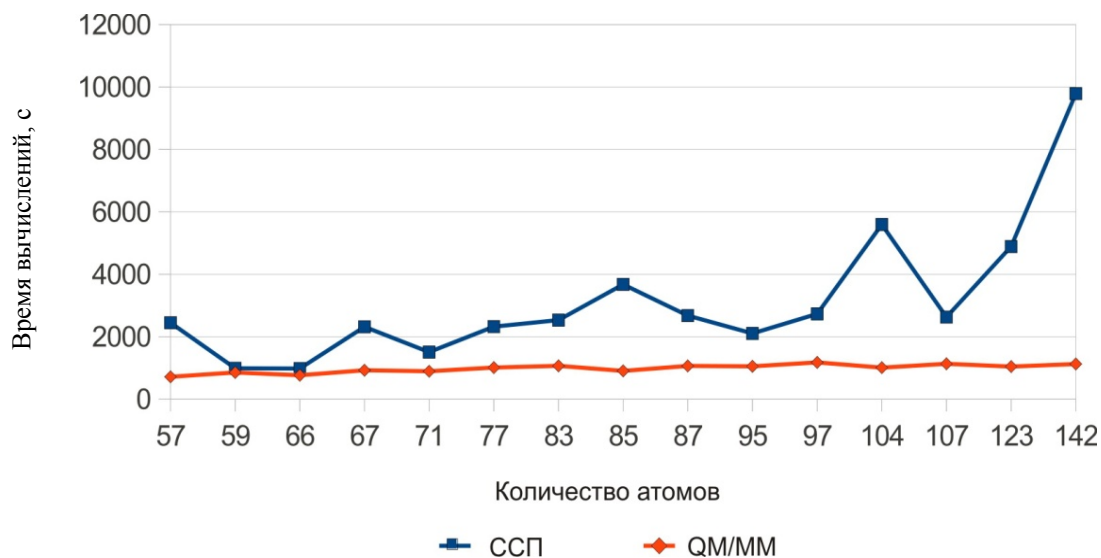


Рис. 6. График времени расчета оптимизации геометрии некоторых ППК методами ССП и QM/MM на восьми ЦПУ (Intel Xeon E5520, 2.27GHz)

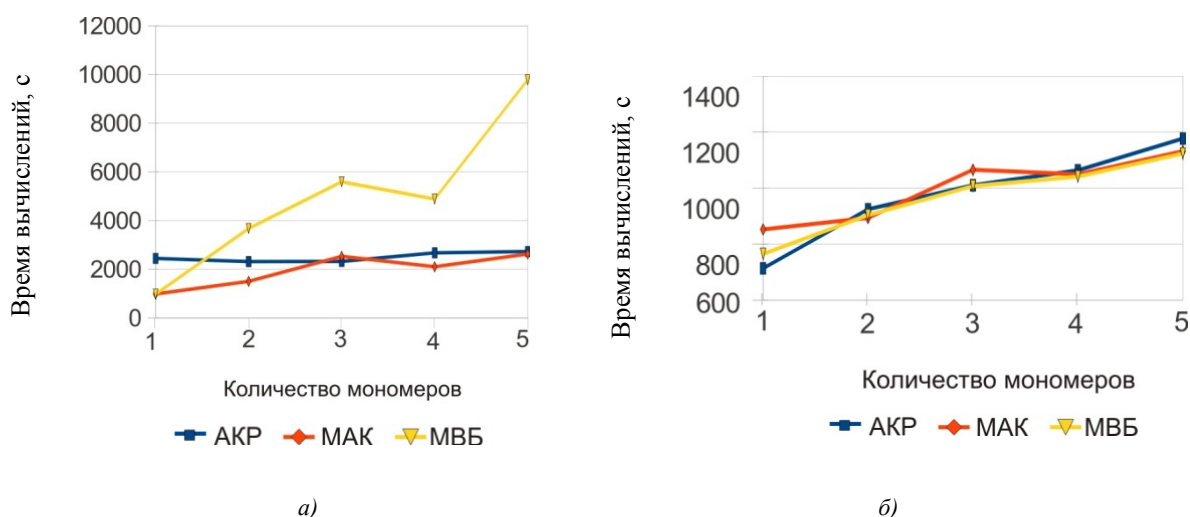


Рис. 7. График времени расчета энергии ППК в зависимости от числа мономеров: а) для метода ССП; б) для метода QM/MM

Для оценки параллелизуемости метода QM/MM были проведены расчеты энергии ППК с пятью функциональными мономерами мета-винил-бензойной кислоты на количестве вычислительных ядер от 4 до 40. Так как один вычислительный узел содержит восемь ядер, число ЦПУ более восьми достигается увеличением количества вычислительных узлов. Из графика на рис. 8 видно, что увеличение числа вычислительных узлов не ведет к ускорению вычислений в отличие от увеличения числа ядер в пределах одного вычислительного узла.



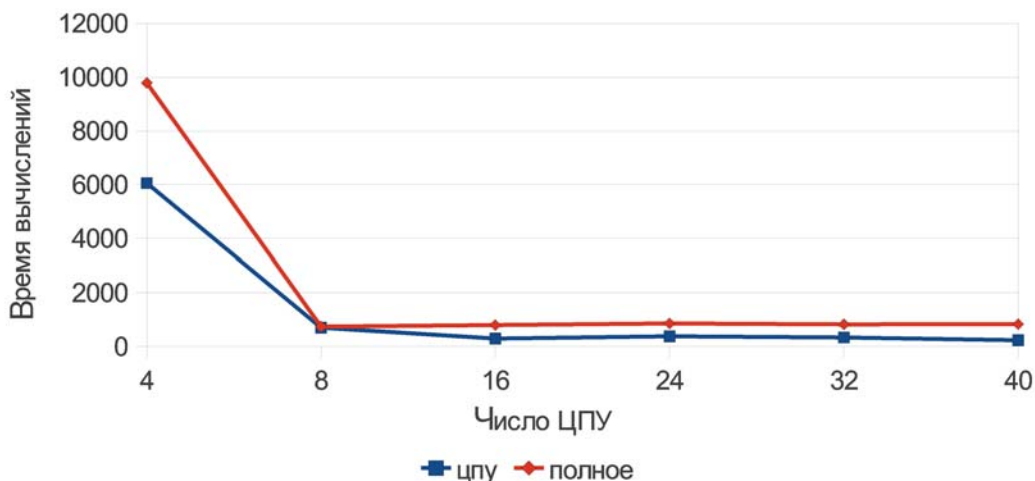


Рис. 8. Зависимость времени расчета энергии ППК (ТАА и 5 ТВБ) от числа ЦПУ

### Заключение

На основании вычисленных методом QM/MM значений энергий образования ППК можно сделать вывод, что наилучшим образом связываются с ТАА молекулы метакриловой кислоты, затем мета-винил-бензойной, а наиболее слабые связи образуются с акриламидом. Энергия образования ППК возрастает с увеличением количества присоединенных к темплату мономеров. Вычисления методом ССП приводят к таким же результатам. При расчете небольших систем метод QM/MM не дает значительного выигрыша по сравнению с методом ССП. Это обусловлено тем, что в квантовую область включено больше атомов, чем в классическую. Кроме того, значительное влияние на скорость сходимости решения также оказывают начальные условия, поэтому отсутствует прямая зависимость между количеством атомов в системе и временем оптимизации. Однако уже для системы с пятью молекулами мета-винил-бензойной кислоты, состоящей из 142 атомов, время расчета методом QM/MM значительно сокращается по сравнению с методом ССП. При дальнейшем увеличении системы (добавлении растворителя и полимера) становится затруднительно использовать метод ССП из-за слишком большого времени расчета, а при использовании метода QM/MM молекулы будут добавлены только в классический регион. Это не окажет существенного влияния на время моделирования, так как взаимодействие между молекулами полимера и растворителя будет происходить за счет ковалентных связей и электростатических сил. Предполагается, что применение QM/MM-моделирования для оценки параметров импринтинга ТАА повысит эффективность и качество процесса разработки технологии получения полимеров с отпечатками ТАА.

Работа выполнена в рамках задания 6.06 ГПНИ «Информатика и космос» 2011–2015 гг. Авторы выражают благодарность соисполнителям задания В.В. Нелаеву (БГУИР), С.В. Медведеву (ОИПИ НАН Беларуси), А.В. Никинину (ГрГУ) за плодотворные дискуссии и доступ к компьютерным ресурсам.

### Список литературы

1. Farrington, K. Predicting the performance of molecularly imprinted polymers: Selective extraction of caffeine by molecularly imprinted solid phase extraction / K. Farrington, E. Magner, F. Regan // *Analytica Chimica Acta*. – 2006. – Vol. 566. – P. 60–68.
2. Jurema, M.W. Ability of the PM3 Quantum-Mechanical Method to Model Intermolecular Hydrogen Bonding between Neutral Molecules / M.W. Jurema, G.C. Shields // *Journal of Computational Chemistry*. – 1993. – Vol. 14, № 1. – P. 89–104.

3. Lakka, A. Fabrication and characterization of tri-oacetyladenosine imprinted polymers for screening and isolation of protein kinase inhibitors / A. Lakka // Biomaterials and bionanomaterial, may 2-9 2010. – Iraklion, Crete: Greece Book of Abstract, 2010. – P. 28.

4. NWChem user support [Electronic resource]. – Mode of access : [http://www.nwchem-sw.org/index.php/QMMM\\_Parameters](http://www.nwchem-sw.org/index.php/QMMM_Parameters). – Date of access: 01.06.2012.

5. Бурштейн, К.Я. Квантово-механические расчеты в органической химии и молекулярной спектроскопии / К.Я. Бурштейн, П.П. Шорыгин. – М. : Наука, 1989. – 98 с.

6. Senn, H.M. QM/MM Methods for Biomolecular Systems / H.M. Senn, W. Thiel // Angew. Chem. Int. Ed. – 2009. – Vol. 48. – P. 1198–1229.

7. Lakka, A. Application of molecularly imprinted polymers (MIP) in drug discovery inhibitors / A. Lakka, A. Tsakalof // Biomaterials and bionanomaterial, may 2-9 2010. – Iraklion, Crete, Greece Book of Abstract., 2010. – P. 28.

Поступила 17.01.2013

<sup>1</sup>Белорусский национальный  
технический университет,  
Минск, Независимости, 65  
e-mail: douhaja\_grid@bntu.by

<sup>2</sup>Белорусский государственный  
университет информатики  
и радиоэлектроники,  
Минск, ул. П. Бровки, 6  
e-mail: olga.bsuir@gmail.com

V.V. Barkaline, Y.V. Douhaya, O.A. Kozlova

### QM/MM MODELING OF TAA IMPRINTED POLYMERS PRE-POLYMERIZATION COMPLEX

A QM/MM method for pre-polymerization complex computer modeling followed by an in-silica research of bimolecular properties of imprinted polymers can be applied to optimize and estimate the efficiency of imprinted polymers fabrication and usage under various conditions. Isolated pre-polymerization complex modeling of 3-o-acetyladenosine with various number of monomers of acrilamid, metacrilic acid and 3-vinyl benzol acid and with different molar ratio is carried out. The results of QM/MM modeling are compared with the SCF method results in terms of computer resource consumption and parallelization efficiency.