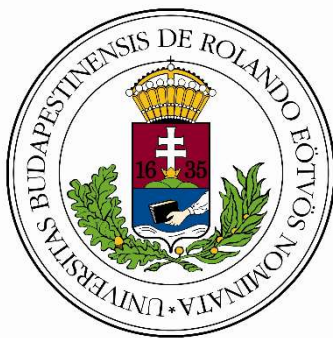


A mitragynin pseudoindoxil izomerjeinek azonosítása elméleti kémiai módszerekkel

OTDK dolgozat

MÉSZÁROS BENCE BALÁZS

Témavezetők: Daru János, Varga Szilárd



Eötvös Loránd
Tudományegyetem, Budapest
Természettudományi Kar
Kémiai Intézet



Természettudományi
Kutatóközpont
Szerves Kémiai Intézet

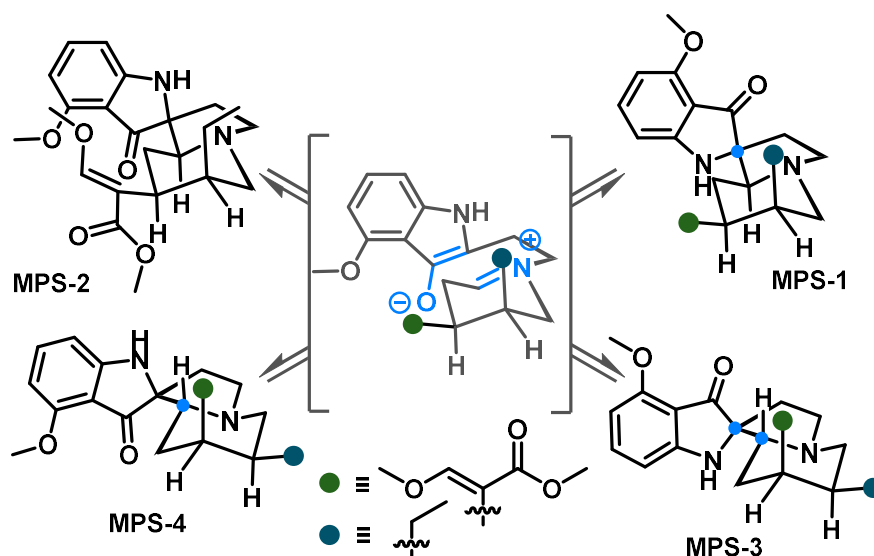
Tartalom

1.	Bevezetés	3
1.1	A <i>Mitragyna speciosa</i> opioid fájdalomcsillapító hatású alkaloidjai	4
1.2	A retro-Mannich Mannich izomerizáció	5
1.3	Elméleti kémiai módszerek	6
1.4	DFT módszerek	7
1.5	DFTB módszerek	11
1.6	Konformációs analízis módszerek.....	13
1.7	Konformációs sokaság szabadentalpiája	14
1.8	NMR eltolódás számítása.....	15
2.	Célkitűzések.....	16
3.	Eredmények	17
3.1	Kísérleti előzmények.....	17
3.2	A mitragynin pseudoindoxil izomereinek meghatározása	18
3.3	Energiaszámítás különböző módszerekkel.....	24
3.4	Különböző oldószermodellek, funkcionálok tesztelése	26
4.	Összegzés.....	28
5.	Kitekintés.....	28
6.	Irodalomjegyzék	29

1. Bevezetés

Az opioid fájdalomcsillapítók használatához köthető mellékhatások, függőségi problémák és az évente több, mint 350000 haláleset mind-mind egy világszintű probléma részei, ami ma opioid válságként ismert. A súlyos egészségügyi, társadalmi és gazdasági károk az opioid fájdalomcsillapítóként legtöbbször alkalmazott opiátokhoz köthetők, így az új generációs hatóanyagok fejlesztése komoly jelentőséggel bír.^[1] Ilyen vegyületek lehetnek a *Mitragyna speciosa*, egy régóta ismert fájdalomcsillapító hatású növény alkaloidjai, és e növény alkaloidjainak természetes metabolitjai, mint a mitragynine pszeudoindoxil (MPS).^[2] Ezen vegyület ígéretes biológiai aktivitást mutat az opioid receptorokon.^[3] A MPS azonban már fiziológiás körülmények között is egy retro-Mannich–Mannich típusú izomerizációra hajlamos, ami különös jelentőséggel bír a biológiai kísérletekre nézve.

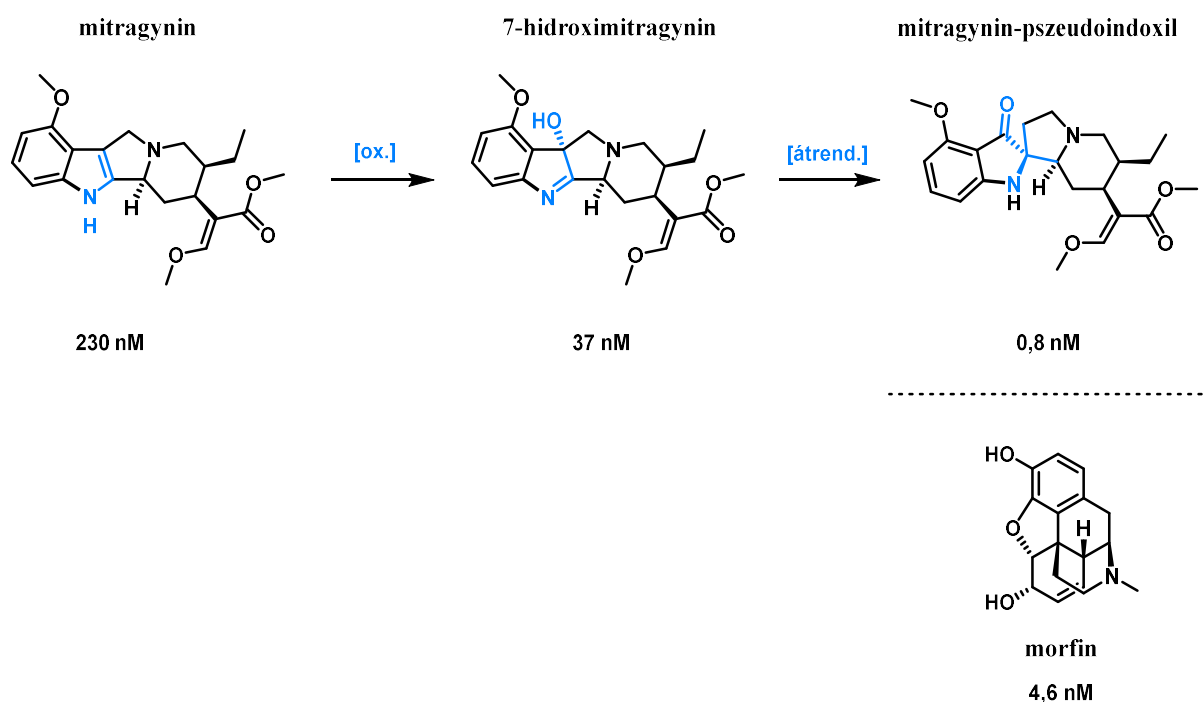
Az izomerizációra a kutatócsoportunkban folyó totálszintézis során derült fény (1. ábra), a különböző izomerek relatív konfigurációjának azonosítása azonban nem volt lehetséges egyedül NMR spektroszkópia felhasználásával, ezért elméleti kémiai módszereket alkalmaztunk a különböző izomerek konformációs terének felderítésére és ¹³C eltolódások becslésére. Ehhez a censo eljárást^[4] használtuk az orca 5.0.1 programcsomaggal. A módszertan fejlesztése végett számos funkcionált teszteltünk, és egyéb származékok izomerizációs tulajdonságait is vizsgáltuk. További célunk volt, hogy a módszer automatizált alkalmazása a hosszadalmas és gyakran bizonytalan szerkezetmeghatározást gyors és megbízható folyamattá tegye komplex, több gyűrűs molekulák esetén is.



1. ábra: A mitragynin pszeudoindoxil izomerizációja, világoskék ponttal jelölve a változó konfigurációjú sztereocentrumokat

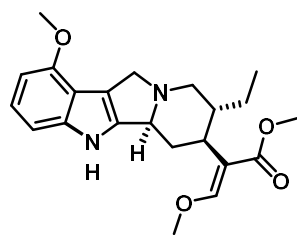
1.1 A *Mitragyna speciosa* opioid fájdalomcsillapító hatású alkaloidjai

A *Mitragyna speciosa* növény (kratom) leveleinek fájdalomcsillapító hatása már régóta ismert a népi gyógyászatban. A levelekből nagy mennyiségben kinyerhető major alkaloid a mitragynine. 1974-ben Zarembó és munkatársai megmutatták, hogy ennek egy pseudoindoxil metabolitja sokkal hatásosabb fájdalomcsillapító.^[5] A legfrissebb tanulmányok szerint már ismert, hogy a mitragynine emberi szervezetben először 7-hidroxitmitragyninné alakul^[6], majd ennek átrendeződésével mitragynine pseudoindoxillá^[3], ahogy a 2. ábrán látható. A 7-hidroxitmitragynin közel hatszor, míg a pseudoindoxil 300-szor nagyobb affinitást mutatott a μ -opioid receptorhoz (MOR; 0,8 nM). Ez utóbbi még a morfinnál (4,6 nM) is többszörösen potensebb, ráadásul az MPS a morfinnal szemben funkcionálisan szelektív MOR agonista (nem aktiválja a β -arrestin jelpályát) így jelentősen gyengébb mellékhatásokkal bír.

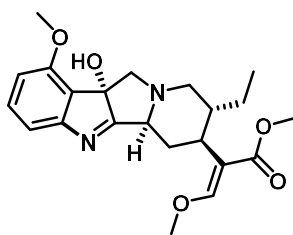


2. ábra: A mitragynin metabolizmusa (kémiai átalakulások feltüntetve világoskékkel), metabolitok aktivitásának összehasonlítása a MOR affinitás alapján

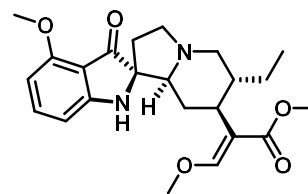
Egy nemrég megjelent farmakológiai cikkben^[7] négy további minor metabolit opioid receptorokhoz való kötődését vizsgálták: A 7-hidroxitmitragyninnel és MPS-sel analóg módon állították elő a 7-hidroxispeciogynint, speciogynin-pseudoindoxilt, 7-hidroxi paynanteint és paynantein-pseudoindoxilt (3. ábra). A speciogynin analógok csupán egy sztereocentrum konfigurációjában tér el a mitragynin metabolitoktól, biológiai aktivitásukban azonban jelentős a különbség.



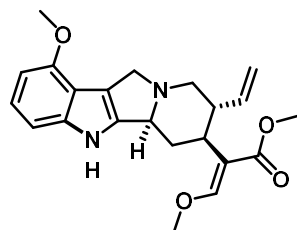
specioginin



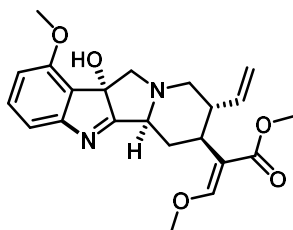
7-hidroxispecioginin



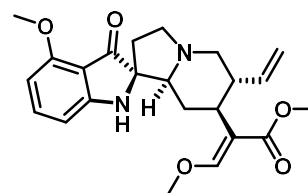
specioginin-pszeudoindoxil



paynantein



7-hidroxiipaynantein

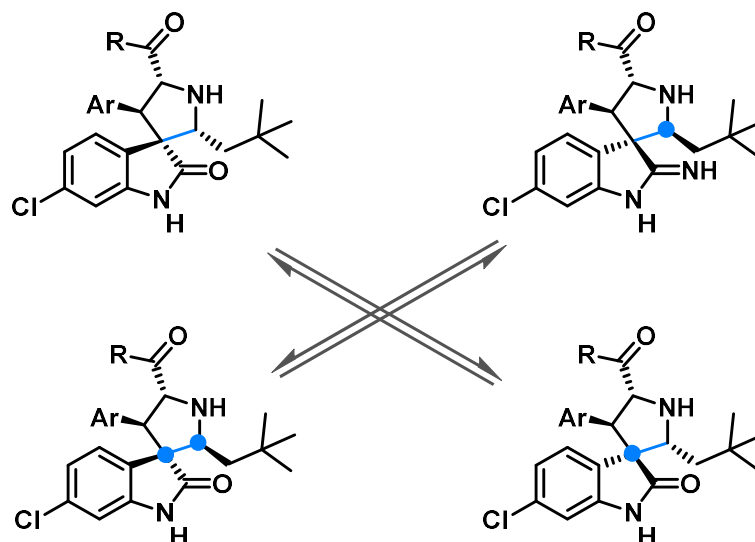


paynantein-pszeudoindoxil

3. ábra: A kratom egyéb ismert alkaloidjai, azok hidroxiindol és pszeudoindoxil metabolitjai

1.2 A retro-Mannich Mannich izomerizáció

A pszeudoindoxilhez hasonló szerkezeti motívumról, az oxindolról már ismert egy sztereokémiai izomerizáció, mely a feltételezett mechanizmus alapján retro-Mannich típusú gyűrűnyitáson és egy Mannich típusú gyűrűzáráson keresztül történik. Wang és munkatársai olyan MDM2 inhibitorokat fejlesztettek, melyeknél metanolos vagy acetonitril-vizes közegben a sztereoizomerizáció útján 4 különböző izomer keverékét kapták (4. ábra). Továbbá azt tapasztalták, hogy a tiszta izomerek kötődési affinitása nagy mértékben különbözik (akár két nagyságrenddel is), ám néhány nap elteltével ugyanahhoz az értékhez konvergál, ami azt mutatja, hogy az *in vivo* biológiai tesztek során is megtörtént az átalakulás.^[8] Az négy izomerből kettőnek tudták meghatározni a sztereokémiáját röntgen diffrakciós módszerrel. Később olyan származékokat fejlesztettek, melyben az egyensúly egyetlen stabil diasztereomer felé tolódott el, ami potens MDM2 inhibitornak bizonyult.^[9]



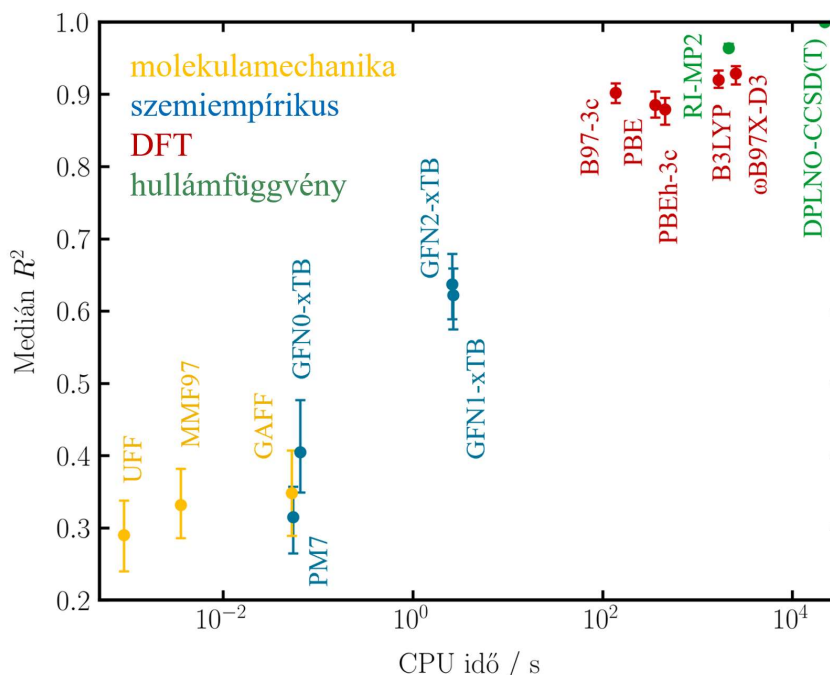
4. ábra: Oxindol típusú MDM2 inhibitorok izomerizációja, kékkel jelölve a változó sztereocentrumokat

A pszeudoindoxil típusú természetes vegyületek^[10] esetében azonban még nem vizsgálták az izomerizációt, mint dinamikus egyensúlyt. Amikor Takayama és munkatársai először izolálták a MPS-t^[11] említésre került az izomerizáció lehetősége, de csupán egyetlen izomert figyeltek meg. Fontos megemlíteni, hogy az MPS relatív konfigurációjának meghatározása csak ebben a tanulmányban olvasható, a későbbi cikkek csak az irodalmi NMR eltolódások alapján határozták meg a vegyületet. Úgy találtuk azonban, hogy Takayama és kutatócsoportja NMR-es szerkezetmeghatározása kutatócsoportunkban folytatott spektroszkópai vizsgálatok alapján nem minden kétséget kizáró. Továbbá, az általuk leírt NOESY korrelációk a spiro szénatom relatív konfigurációjára nézve nem determinisztikusak. Így bár a meghatározást eddig semmi sem cáfolja, a korábban nem ismert izomerizáció fényében elengedhetetlen mind a MPS független szerkezetmeghatározása, mind az új izomerek térállásának felderítése.

1.3 Elméleti kémiai módszerek

Az utóbbi évtizedekben az elméleti kémiai módszerek fejlődésének köszönhetően egy sokszínű eszköztár alakult ki, mely komplex, szerves kémiai kérdések megválaszolására is alkalmas (reakciómechanizmus, konformációs analízis, szerkezetmeghatározás stb.). A különböző módszerek palettája megbízhatóság és számítási idő (CPU idő) terén rendkívül széles skálán mozog. A közelítő jellegű molekulamechanika (MM) és a pontos energiát visszaadó *coupled cluster* (pl.: CCSD(T)) módszerek^[12–14] számítási ideje között kismolekulák (50-100 atom) esetén körülbelül hét nagyságrend van. Általánosan elmondható, hogy az egyre pontosabb eredményekhez befektetett számítási idő exponenciálisan nő, ezt illusztrálja az 5 ábra. Az ábra különböző MM, szemiempirikus, sűrűségfunkcionál elmélet (DFT) és

hullámfüggvény alapú számítások energiaértékeinek R^2 mediánjait ábrázolja a DPLNO-CCSD(T)^[15–19] energiákhoz viszonyítva.



5. ábra: Az elméleti kémiai módszerek számítási ideje és megbízhatósága közötti korreláció a pontos DPLNO-CCSD(T) energiákhoz viszonyított medián R^2 alapján

1.4 DFT módszerek

A kvantumkémiai módszerek közül az utóbbi 25 évben kiemelkedő szerepet kaptak a sűrűségfunkcionál elméleten (DFT) alapuló számítások^[20,21]. Ennek oka, hogy ezen számítások képesek releváns kémiai kérdésekről kvalitatív képet alkotni, sőt, gyakran a kísérleti eredményekkel összehasonlítható kvantitatív értékeket kaphatunk „megfizethető” CPU idő árán. Ezzel szemben a pontosabb, kanonikus* hullámfüggvény alapú számítások már kisebb, 50-100 atomos rendszerekre is túl költségesek. A DFT alapja a Hohenberg-Kohn tétel, mely szerint az alapállapot elektronikus energiát egyértelműen meghatározza a ρ elektronsűrűség, azaz létezik funkcionál, ami ρ -t és az alapállapot energiát összeköti. Ennek jelentősége, hogy egy N elektronos rendszerben a hullámfüggvény térbeli változók szerinti $3N$ változós problémája a rendszer méretétől függetlenül 3 változósra redukálódik. Nehézség azonban, hogy az energiát és az elektronsűrűséget összekapcsoló funkcionál nem ismert, és a kinetikus energiatag nem reprezentálható pontosan ρ funkcionáljaként. A DFT fejlődésében mérföldkövet jelentett a Kohn-Sham modell, melynek köszönhetően a módszer alkalmazhatóvá vált kémiai rendszerek kezelésére is. A Kohn-Sham modell egy külső potenciál terében lévő

* Az utóbbi öt évben már a lokális korrelációs módszerek single point számítások esetén költségesebb, de reális alternatívává váltak.

független elektronokból álló segédrendszert vezet be, mely egzaktul leírható egy determinánssal. Mindezt a Hartree-Fock (HF) módszerben megismert kinetikus energia (E_T), mag-elektron (E_V) és elektron-elektron (E_J - Coulomb kölcsönhatás, valamint E_{XC} - kicserélődés és korreláció) tagok segítségével:

$$E = E_T + E_V + E_J + E_{XC} . \quad (1)$$

E_V , E_J , és E_{XC} energiatagok, melyek függenek a sűrűségtől. A sűrűség a betöltött pályák (ϕ_i) függvényében felírható a

$$\rho = \sum_{i=1}^N n_i |\phi_i|^2 \quad (2)$$

kifejezéssel. A módszer alapkérdése ezáltal azon külső Kohn-Sham potenciál levezetése, amely a valós rendszerrel azonos energiájú és elektronsűrűségű segédrendszert eredményez. Bár a pályák bevezetése miatt ismét $3N$ dimenziós problémára jutottunk, ez egzaktul megoldható a független elektron modellnek köszönhetően egyetlen determinánssal. Ráadásul, mivel a segédrendszer kinetikus energiáját ismerjük, nem szükséges a rendszer kinetikus energiáját sűrűség alapú funkcionállal közelíteni. A kinetikus energia funkcionált (E_T) a pályák segítségével definiáljuk,

$$E_T = \sum_{i=1}^N \left\langle \phi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \phi_i \right\rangle , \quad (3)$$

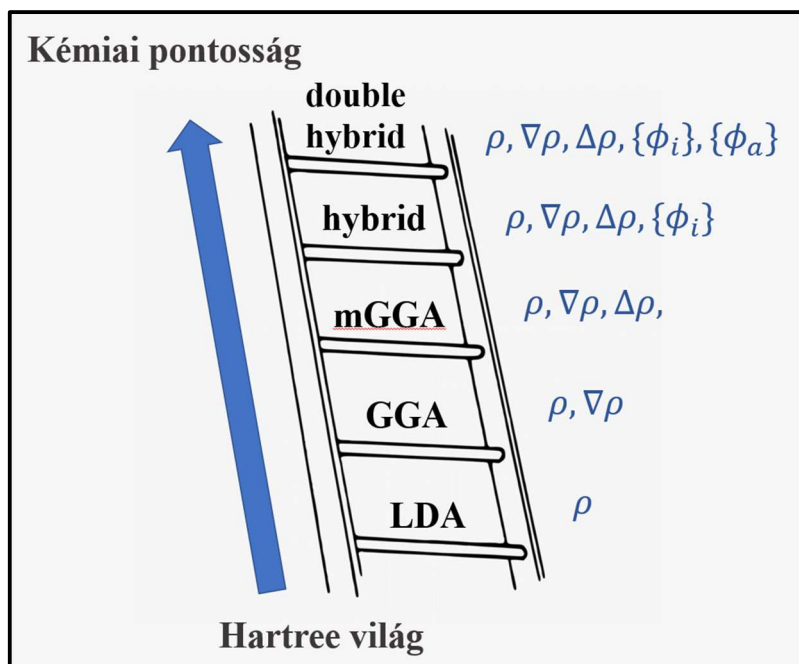
A mag-elektron kölcsönhatás és elektron-elektron kölcsönhatás Coulomb része egzaktul számítható a következőképpen:

$$E_V = - \sum_A Z_A \int \frac{\rho(r)}{|r-R_A|} dr , \quad (4)$$

illetve:

$$E_J = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr dr' . \quad (5)$$

Ahhoz tehát, hogy pontos elektronikus energiákat adó módszerhez jussunk, csupán a kicserélődés és korreláció funkcionálok meghatározására van szükség, a Kohn-Sham elméletben ezen tagok a közelítése a kihívást jelentő feladat. Bár ez energiában nem nagy járulék, mégis, pontos leírása elengedhetetlen ahhoz, hogy helyes kémiai képet kapjunk. A különböző KS-DFT módszerek a kicserélődési és korrelációs funkcionál felépítésében térnek el. Több és több elektronszerkezeti információt felhasználva a funkcionálban (sűrűség, gradiens, laplace, betöltött pályák, virtuális pályák) egyre feljebb léphetünk a DFT módszerek ranglétráján, egyre közelebb kerülve a kémiai pontossághoz (6. ábra). Ezen besorolás a szakirodalomban Jákob lajtorjája néven ismert^[22], melyen felfelé haladva a pontossággal párhuzamosan a számítási idő is nő, így fontos megtalálni az adott kérdéshez megfelelő szintet.



6. ábra^[23]: A kémiai pontosság közelítése DFT módszerekkel: Jákób lajtorjája

Az egyes szintek közötti alapvető különbség, hogy a kicserélődési és korrelációs funkcionálok milyen módon veszik figyelembe az elektronsűrűséget. Az E_{XC} funkcionál általánosan egy térbeli integrálként írható fel:

$$E_{XC} = \int \varepsilon(\rho(r), \nabla\rho(r), \Delta\rho(r), \{\phi_i(r)\}, \{\phi_a(r)\}) \rho(r) dr, \quad (6)$$

ahol $\varepsilon()$ az energiasűrűség, melynek argumentumában szerepelhet a sűrűség, annak különböző rendű deriváltjai ($\nabla\rho$ és $\Delta\rho$), illetve a betöltött ($\{\phi_i\}$), és betöltetlen pályák ($\{\phi_a\}$).

Ez alapján öt osztályba sorolhatjuk a DFT módszereket:

1. A létra alsó foka az **LDA** (Local Density Approximation), melyben E_{XC} csupán a lokális elektronsűrűségtől függ. Ez igen pontatlan molekuláris rendszerekre, amelyek elektronsűrűsége inhomogén.
2. Az inhomogenitás pontosabb leírása érdekében újabb tagok bevezetésére van szükség. A létra második fokán a **GGA** (Generalized Gradient Approximation) módszerek (pl.: PBE^[24], BLYP^[25], B97^[26]) állnak, melyekben a sűrűség gradiensevel bővül a leírás.
3. Ezt tovább pontosítva a sűrűség Laplace-ával jutunk a harmadik fokra, a **metaGGA** szintre (pl.: B97M^[27], SCAN^[22], r²SCAN^[28], TPSS^[29], revTPSS^[30]).
4. A funkcionál tovább bővíthető egy egzakt Hartree-Fock kicserélődési taggal (betöltött pályákra), mely a **hybrid** módszerekhez vezet (pl.: B3LYP^[31], PBE0^[32], SCAN0^[23], TPSSh^[29,33]), hibrid LDA, hibrid GGA és hibrid metaGGA funkcionálok mindegyike konstruálható, ám utóbbi kettő a gyakori. Attól függően, hogy az egzakt

HF kicserélődést hogyan kezelik, megkülönböztetünk *global hybrid* (GH), és *range separated hybrid* (RSH) módszereket. A GH funkcionálok a HF kicserélődési tag (E_x^{HF}) és különböző DFT tagok (E_x^{DFT} , E_c^{DFT}) lineáris kombinációjaként tevődnek össze, leegyszerűsítve:

$$E_{XC}^H = a \cdot E_x^{HF} + (1 - a) \cdot E_x^{DFT} + b \cdot E_c^{DFT} . \quad (7)$$

Az RSH funkcionálok az E_x^{HF} tagot egy rövidtávú (short-range, SR) és egy hosszútávú (long-range, LR) részekre bontják.

5. A Jákob lajtorja ötödik fokán az ún. *double hybrid* módszerek állnak (pl.: ω B97X-2^[34], PTPSS^[35], PWPB95^[35]), melyekben a betöltetlen pályák is szerepelnek. A double hybrid funkcionálokkal a következőképpen írható fel az alapállapotú kicserélődés-korreláció energia:

$$E_{XC}^H = a \cdot E_x^{HF} + (1 - a) \cdot E_x^{DFT} + b \cdot E_c^{MP} + (1 - b) \cdot E_c^{DFT} \quad (8)$$

A fent említett módszerek a számítási kapacitás növelésével egyre pontosabb eredményeket adnak, azonban a funkcionálok többségénél továbbra is probléma marad a diszperziós kölcsönhatás leírása, amely kiterjedt rendszereknél nem elhanyagolható. Ennek közelítésére különböző diszperziós korrekciós tagok alkalmazhatók, a módszereket pedig általánosan DFT-D-nek (*dispersion corrected DFT*) nevezzük. Az egyik legkorábbi módszer a DFT-D2^[36], melyben az empirikus diszperzió leírást ($\sim -\frac{C_6}{R^6}$) alkalmazzuk atompáronként megfelelő távolságokban. A DFT-D3-ban^[37] már $-\frac{C_8}{R^8}$ tag is szerepel, valamint C_6 és C_8 együtthatók függenek az adott atom koordinációs számától. A DFT-D4^[38] módszerben pedig a C_6 és C_8 együtthatók már az egyes atomok parciális töltésétől is függenek.

A diszperzió figyelembevételére egy másik stratégia *non-local correlation* (NLC) funkcionálok^[39–41] alkalmazása. Mivel a diszperzió nagy és közepes távolságban jelentkező elektronkorrelációs jelenség, a lokális LDA illetve szemilokális GGA és metaGGA funkcionálok nem tudják leírni.^[42] Hogy megkapjunk ezen nagy távolságban fellépő kölcsönhatásokat is, az NLC funkcionálok két térbeli változó szerinti integrált alkalmaznak a korrelációs energia (E_c) számításakor:

$$E_c = \iint f(r, r') \rho(r) dr dr' \quad (9)$$

A fenti elven alapuló funkcionálok a DFT-D korrekciós módszerekhez viszonyítva sokkal kevésbé empirikus jellegűek, kevesebb paramétert tartalmaznak.

1.5 DFTB módszerek

A DFT tight-binding (DFTB) módszerek alkalmazása az utóbbi néhány évben komoly szerepet kapott a kémiában a kiterjesztett tight-binding (extended tight-binding, xTB) módszerek^[43–46] (GFN n -xTB, GFN-FF) fejlesztése révén. A DFTB alapja, hogy az elektronsűrűséget egy referenciasűrűségtől való eltérés formájában írjuk fel:

$$\rho(r) = \rho_0(r) + \delta\rho(r), \quad (10)$$

ahol a referenciasűrűség jellemzően semleges, gömbszerű atomi referenciasűrűségek lineáris kombinációja:

$$\rho_0(r) = \sum_A \rho_0^A(r). \quad (11)$$

Az energiát a Kohn-Sham elmélettel megegyező módon írjuk fel (1. egyenlet), csak a $\rho_0(r) + \delta\rho(r)$ képletet alkalmazzuk a sűrűségre, majd Taylor sorfejtést alkalmazunk $\delta\rho = 0$ körül:

$$E[\rho] = E^{(0)}[\rho_0] + E^{(1)}[\rho_0, \delta\rho] + E^{(2)}[\rho_0, \delta\rho^2] + E^{(3)}[\rho_0, \delta\rho^3] + \dots \quad (12)$$

A Grimme és munkatársai által fejlesztett GFN1-xTB és GFN2-xTB módszerek a harmad-, míg a GFN0-xTB első rendig fejtenek sorba. A nulladrendű tag ($E^{(0)}[\rho_0]$) a referenciasűrűséghez tartozó energia. Mivel a referenciasűrűség semleges, gömbszerű atomi sűrűségekből épül fel (nincs polarizáció), az atomok közötti elektrosztatikus kölcsönhatás nulla. Ebből kifolyólag $E^{(0)}$ felírható atomok közötti repulzív és diszperzív kölcsönhatásokból:

$$E^{(0)} = E_{rep}^{(0)} + E_{disp}^{(0)}, \quad (13)$$

ahol

$$E_{rep}^{(0)} = \frac{1}{2} \sum_{A,B} \frac{Z_A^{eff} Z_B^{eff}}{R_{AB}} \cdot \exp\left((\alpha_A \alpha_B)^{\frac{1}{2}} (R_{AB})^k\right). \quad (14)$$

A kifejezésben Z^{eff} konstansok elemre specifikusak, ezek fejezik ki a repulziós energia nagyságát, és egy elem effektív magtöltésének feleltethetők meg. Az α együtthatók a kölcsönhatás távolsággal való lecsengését határozzák meg. A GFN1-xTB módszerben a D3 diszperziós korrekciót alkalmazzák. Ezen kívül a GFN1-xTB esetén alkalmaznak egy halogénkötés korrekciót (E_{XB}) a monopólus közelítés hibáinak kiküszöbölése végett.

Első renden $\delta\rho$ -n keresztül megjelennek az atomi parciális töltések. Ez egy *extended Hückel theory* (EHT) típusú energiatagban fejeződik ki, ami a kovalens kötésekért felelős. Ezen kívül az első rendű tag változást okoz a diszperziós energiában is (15. egyenlet).

$$E^{(1)} = E_{EHT}^{(1)} + E_{disp}^{(1)}, \quad (15)$$

továbbá

$$E_{EHT}^{(1)} = \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} H_{\mu\nu}^{EHT}, \quad (16)$$

ahol $P_{\mu\nu} = P_{\mu\nu}^0 + \delta P_{\mu\nu}$ a vegyértékelektronok sűrűségmátrixának μ és ν pályákhoz tartozó eleme. $H_{\mu\nu}^{EHT}$ elemei pedig többek közt függenek $H_{\mu\mu}$ és $H_{\nu\nu}$ diagonális elemek átlagától, és az atomok elektronegativitásának különbségétől. Másodrenden megjelenik az izotróp elektrosztatikus és kicserélődés-korrelációs energia ($E_\gamma^{(2)}$) a diszperziós energia másodrendű korrekcióján kívül (17. egyenlet).

$$E^{(2)} = E_\gamma^{(2)} + E_{disp}^{(2)}, \quad (17)$$

ahol

$$E_\gamma^{(2)} = \frac{1}{2} \sum_{A,B} \sum_{l \in A} \sum_{k \in B} q_l q_k \gamma_{AB,lk}, \quad (18)$$

melyben q_l és q_k Mulliken töltések, $\gamma_{AB,lk}$ a közöttük fellépő rövid távon simított (damped) Coulomb kölcsönhatás. A GFN2-xTB másodrendjén anizotróp elektrosztatikus és kicserélődés-korrelációs energiatagok is szerepelnek (E_{AES} és E_{AXC}), ami a dipólusok, kvadrupólusok energijárulékait veszi figyelembe. Ezen kívül GFN2-xTB-ben a diszperziós energia sorfejtése másodrenden zárul, melyben D4 korrekciót alkalmaznak, amely tartalmaz háromtest Axilrod-Teller-Muto (ATM) tagokat is.

Végül a sorfejtés mindkét módszer esetén egy harmadrendű elektrosztatikus és kicserélődési-korrekciós tagban zárul, ami az atomok Mulliken töltéseitől ($\{q_A\}$) függ (19. egyenlet).

$$E^{(3)} = E_\Gamma^{(3)} \quad (19)$$

A GFN1-xTB és GFN2-xTB módszerek különböző energiatagjait az 1. táblázat foglalja össze.

	$E^{(0)}$	$E^{(1)}$	$E^{(2)}$	$E^{(3)}$
GFN1-xTB	$E_{rep} + E_{disp}^{D3} + E_{XB}$	E_{EHT}	E_{γ}	E_{Γ}
GFN2-xTB	E_{rep}	E_{EHT}	$E_{\gamma} + E_{AES} + E_{AXC} + E_{disp}^{D4}$	E_{Γ}

1. táblázat: GFN1-xTB és GFN2-xTB módszerek összehasonlítása

1.6 Konformációs analízis módszerek

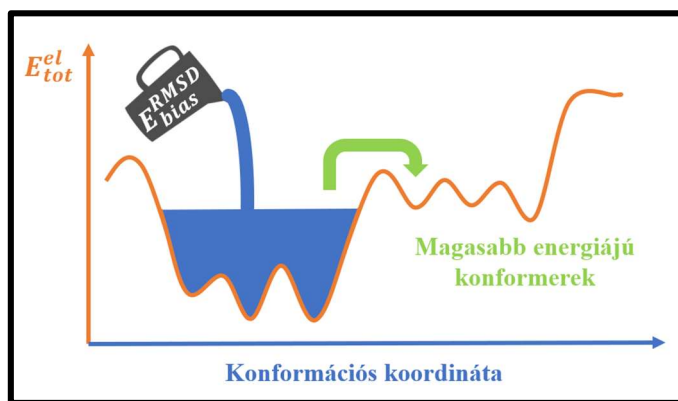
Egy molekula konformációs terének felderítése kulcsfontosságú feladat, hiszen minden kémiai tulajdonságot az adott hőmérsékleten jelen lévő konformerek határoznak meg^[47,48]. A különböző konformációs analízis módszereknek^[47] azonban számos problémával kell szembenéznünk, az első a konformerek algoritmikus generálása. Ez lehet szisztematikus (pl. dihedrálisok kombinatorikus elforgatása), vagy sztohasztikus, például magashőmérsékletű klasszikus molekuladinamika (MD), vagy metadinamika (MTD) alapú módszerek (CREST). Az utóbbiak rendkívül hatéknyak bizonyultak a konformációs tér bejárásában, jóval hatékonyabbnak a klasszikus MD módszereknél.^[49] Ez annak köszönhető, hogy az MTD-ben a molekula elektronikus energiája kiegészül egy *biasing* potenciállal,

$$E_{tot} = E_{tot}^{el} + E_{bias}^{RMSD}, \quad (20)$$

mely egy extra hajtóerőt képez, hogy a rendszer elhagyja a potenciális energiafelület (PES) már felderített régióit. Mindehhez a szimuláció során érintett geometriák RMSD (Root Mean Square Deviation) értékeit használja fel egy kollektív változóként. Így a korábban érintett szerkezetek ismételt meglátogatását egy Gauss függvényekből felépülő eltérítő potenciál nehezíti meg. Minél több alkalommal járt a molekula egy térrészben, annál több Gauss potenciátag kerül a *biasing*, vagy eltérítő potenciálhoz, és annál kevésbé valószínű egy hasonló szerkezet ismételt bejárása. Ezt a *biasing* potenciált a következőképpen írhatjuk fel:

$$E_{bias}^{RMSD} = \sum_i^n k_i \exp(-\alpha \Delta_i^2), \quad (21)$$

ahol n a referenciaszerkezetek száma, k_i a hajtóerő mértékét határozza meg, α a potenciál alakjára van hatással, Δ_i pedig a kollektív RMSD változó. A metadinamika előrehaladtával E_{bias}^{RMSD} tulajdonképpen „feltölti” a PES már ismert energiaminimumait (ezt a 7. ábra szemlélteti), ezzel segítve a magasabb gátak átlépését, ami klasszikus, alacsony hőmérsékletű MD szimulációkban nagyon lassú lenne.



7. ábra: A Metadinamika alapú konformerkeresés szemléltetése

Függetlenül attól, hogy milyen módszerrel generáltunk konformereket, a kapott szerkezeteket optimalni kell, és energia szerint sorba rendezni, ami rengeteg számítást igénylő feladat: már kis szerves molekulák (50-100 atom) esetén is akár több ezer különböző konformer között kell szűrni. Ilyen kiterjedt méretű szűrésre még a legköltséghatékonyabb DFT módszerek is (pl.: PBEh-3c^[50], B97-3c^[51], r²SCAN-3c^[52]) messze túl nagy számítási kapacitást igényelnek. Így a konformációs analízis protokollok többsége különböző, rendkívül gyors MM módszerekkel (pl.: MMFF94^[53], GAFF^[54], OPLS^[55]) szűkíti a nagy mennyiségű geometriát, annak ellenére, hogy ezek rendkívül pontatlanok. Egy szerves kémiában gyakran alkalmazott, NMR shiftek becslésére szolgáló protokollban^[56] például az 5 kcal/mol-os energiaablakot alkalmaznak a konformerek MM alapú szűrésére, miközben ezen módszerek hibája könnyen lehet ennek kétszerese is^[57]. Olyan módszerre van szükség, mely jóval megbízhatóbb energiaértékeket nyújt a MM módszereknél, mindeközben nagyságrendekkel gyorsabb a DFT módszereknél. Ezt a feladatot az utóbbi években megjelent *machine learning* (ML)^[58,59], illetve *extended tight-binding* (xTB)^[43] képesek teljesíteni.

1.7 Konformációs sokaság szabadentalpiája

Ahhoz, hogy különböző konformerhalmazok szabadentalpiakülönbségét összehasonlítsuk, az alábbi képletet alkalmaztuk^[4,60]:

$$G_{ens} = \bar{G} - TS_{konf} , \quad (22)$$

Ahol G_{ens} a konformerhalmaz szabadentalpiája, $\bar{G}$ a konformerek szabadentalpiájának súlyozott Boltzman átlaga, $-TS_{konf}$ pedig egy konformációs szabadentalpiatag. Ez utóbbi egy entrópikus nyereség, ami abból adódik, hogy a molekula C különböző konformert vesz fel a Boltzmann populáció szerint. Ez a Gibbs-Shannon entrópia:

$$S_{konf} = -R \sum_i^C p_i \cdot \ln p_i , \quad (23)$$

ahol R az egyetemes gázállandó, és p_i az adott konformerhez tartozó Boltzmann populáció. Az egyes konformerek szabadentalpiáját pedig a szokásos módon számoljuk, a

$$G = H - TS + \Delta G_{solv} \quad (24)$$

egyenlet segítségével. H és S számításában feltételezzük, hogy az egyes energiatagok szétválaszthatók a különböző típusú szabadsági fokokra:

$$S = R + S_t + S_r + S_v + S_e \quad (25)$$

$$H = RT + U_t + U_r + U_v + U_e, \quad (26)$$

ahol az indexek rendre a transláció, rotáció, vibráció és elektronikus szavakat rövidítik. Ezek közül a rotációt tagokat merev rotor, a vibrációt harmonikus oszcillátor közelítésben számoljuk.

1.8 NMR eltolódás számítása

Az NMR spektroszkópiában a magok mágneses momentuma, és a külső mágneses tér között fellépő interakciót használjuk ki arra, hogy a kémiai környezetről információt nyerjünk. A magot körülvevő elektronok mágneses térben ellentétes irányú mágneses mezőt indukálnak. Ez a kémiai shielding tenzorral jellemezhető, mely a K atommag esetén az energia második deriváltja a mágneses mező (B), és a mag mágneses momentuma (m_K) szerint.

$$\sigma_{\beta\alpha}^K = \frac{d^2 E}{dB_\alpha dm_{K\beta}}, \quad (27)$$

Ilyen módon a Hamilton operátor explicit módon függ B és m_K értékektől. Az egy-elektron Hamilton operátor az alábbi módon parametrizált:

$$h(r, B, m) = \frac{1}{2} (-i\nabla + A(r, B, m))^2 - V(r), \quad (28)$$

ahol r az elektron koordinátája, $A(r, B, m)$ a vektorpotenciál. A GIAO közelítésben (gauge-including atomic orbital) a vektorpotenciál gauge origótól (R_O) való függését kűszöböljük ki a következő bázisfüggvény *ansatz* segítségével:

$$\chi_K^K(A_K^e) = \exp(-iA_K^e \cdot r) \phi_K^K, \quad A_K^e = \frac{1}{2} B \times (R_K - R_O), \quad (29)$$

melyben ϕ_K^K egy Gaussian típusú pálya az R_K koordinátájú K atomon, A_K^e pedig a külső mező lokális reprezentációja.

2. Célkitűzések

Irodalmi ismereteink alapján a mitragynine pszeudoindoxil izomerizációs problémája komoly jelentőséggel bír a biológiai vizsgálatokra nézve. Tapasztalataink alapján ez a potens opioid agonista már fiziológiás körülmények között is izomerizálódik, ezért ennek a felderítése a farmakológiai alkalmazhatóság szempontjából kulcsfontosságú kérdés. A kutatás keretein belül célul tűztük ki a MPS és eddig ismeretlen izomerjeinek relatív konfigurációjának meghatározását, ennek részeként pedig elvégezni a négy lehetséges izomer konformációs analízisét, valamint magas szintű energia és NMR eltolódás számítását. Az MPS izomerek mellett a totálszintézis során szintén előállított speciogynin pszeudoindoxilt is kívántuk vizsgálni. Mindehhez a *censo*^[4] procedúrát használtuk az *orca* 5.0.1 programcsomaggal számos funkcionált tesztelve a leghatékonyabb módszer kiválasztásának érdekében.

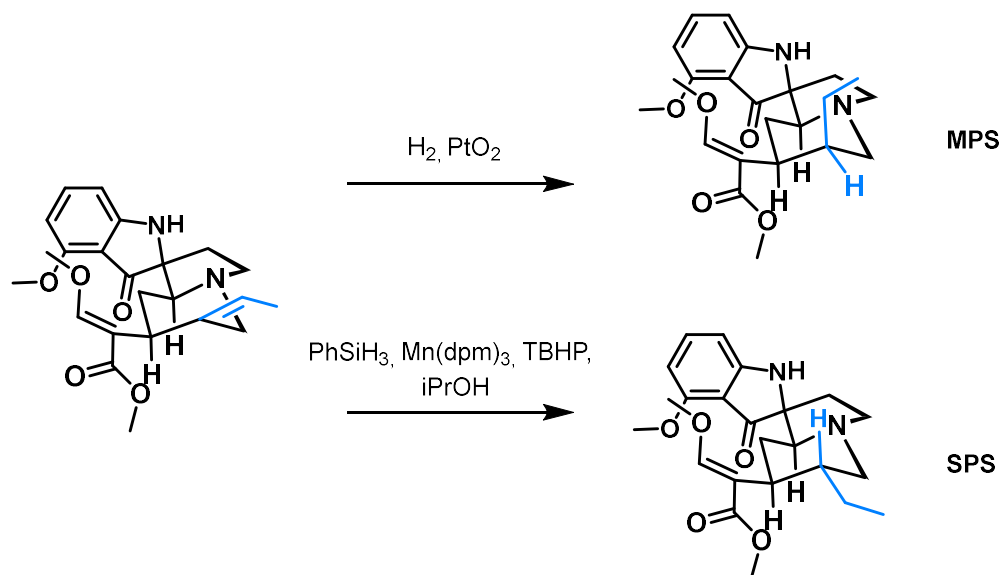
További célunk volt az így kapott módszer alkalmazása olyan szintetikusán elérhető MPS származékok vizsgálatára, melyekben bizonyos szerkezeti módosítások eltolhatják az izomerizáció dinamikus egyensúlyát valamelyik irányba. Az egyensúly befolyásolása fontos lehet a biológiai hatás szempontjából, ahogy azt láthattuk egyes irodalmi példák alapján.

Munkafolyamatunk során komoly hangsúlyt fektettünk a lépések automatizálására, ugyanis hasonló szerkezetmeghatározási problémák rendszeresen merülnek fel kutatócsoportunkon belül. Ennek köszönhetően a hosszadalmas és gyakran bizonytalan szerkezetmeghatározást gyors és megbízható folyamattá tegye komplex, több gyűrűs molekulák esetén is.

3. Eredmények

3.1 Kísérleti előzmények

A totálszintézis utolsó lépésében egy kettőskötés redukciója során kétféle természetes vegyülethez juthatunk, az MPS-hez, valamint annak epimeréhez, a speciogynin pszeudoindoxilhoz (SPS), attól függően, hogy kinetikai (H_2 , PtO_2), vagy termodinamikai (PhSiH_3 , $\text{Mn}(\text{dpm})_3$, $i\text{PrOH}$) körülményeket alkalmazunk (8. ábra).



8. ábra: A MPS és a SPS előállítása kinetikai és termodinamikai körülményekkel

A heterogén katalízis esetén a hidrogénezés a kettőskötés könnyebben hozzáférhető oldaláról történik, míg a PhSiH_3 -os hidrogénatomtranszfer esetén először egy gyök képződik a kettőskötés terciér szénatomján, így az etil szubsztituens az energetikailag kedvezőbb ekvatoriális pozíciót veszi fel. Az etilcsoport ekvatoriális/axiális állását igazolják az optimalizált geometriák, valamint számításaink alapján valóban az SPS az energetikailag kedvező termék.

Már a szintézis bizonyos intermediereinél, valamint a két természetes vegyületnél is megfigyelhető volt, hogy a pszeudoindoxil részlet konfigurációsan labilis, ami gyakran diasztereomerek keverékét eredményezte. Munkatársam, Angyal Péter a MPS izomerizációját fiziológias körülmények között vizsgálta, így a természetes izomer mellett (**A**), eddig két nem ismert izomer képződését figyelhettük meg (**B** és **C**). ^1H NMR mérések alapján ezen izomerek aránya rendre 7:2:1-nek adódott. Elmondható továbbá, hogy **A**, **B** és **C** egymással termodinamikai egyensúlyban állnak ezen körülmények között, miután az izolált **B** és **C** izomerekből is hasonló arányú izomerelegy képződött fiziológias körülményeknek alávetve a

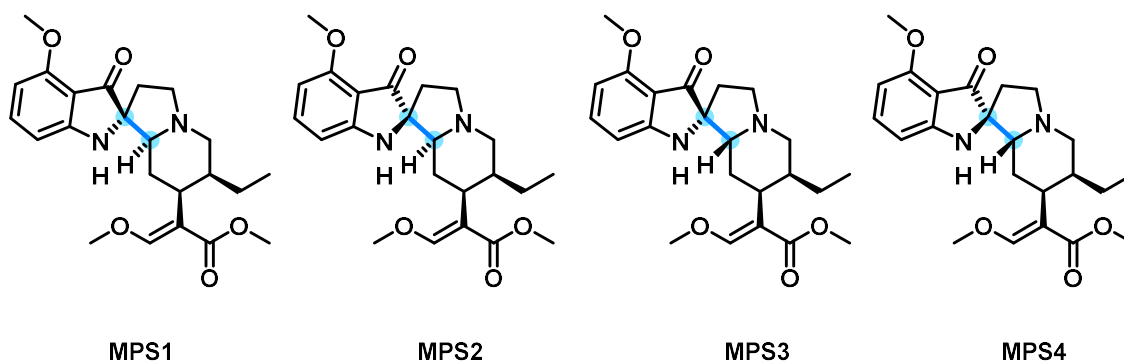
vegyületeket. Az izomerek bizonyos mértékben szerves oldószerekben is instabilitást mutattak (például szilikagél hatására), ekkor is A bizonyult a termodinamikailag legstabilabb izomernek, C pedig a termodinamikailag legkevésbé stabil izomernek.

3.2 A mitragynin pszeudoindoxil izomereinek meghatározása

Az izomerek izolálása mellett a relatív konfiguráció meghatározása is komoly kihívást jelentett, a labilis sztereocentrumok térállása nem volt megállapítható csupán spektroszkópai eszközök segítségével. Ennek oka, hogy az izomerek spektroszkópai tulajdonságaikban alig térnek el egymástól, valamint további technikai tényezők tovább nehezítették a szerkezetmeghatározást:

1. a természetes vegyület elérhetőségét meghatározza a totálszintézis méretnövelhetősége, a kutatás kezdeti szakaszában igen kis mennyiségű végtermék állt rendelkezésünkre
2. az enyhe körülményekre is megtörténő izomerizáció miatt gyakran többkomponensű elegyekben kellett elvégezni a szükséges spektroszkópai vizsgálatokat
3. a proton spektrumban átfedő jelek miatt a csatolási állandók és pontos eltolódások megállapítása gyakran nem lehetséges, ez a ROESY korrelációk értelmezését is megnehezíti

Ezen praktikus szempontok fényében elsősorban a ^{13}C -NMR eltolódások számítására támaszkodtunk a szerkezetmeghatározás során. A MPS négy lehetséges konfigurációja a 9. ábrán látható:



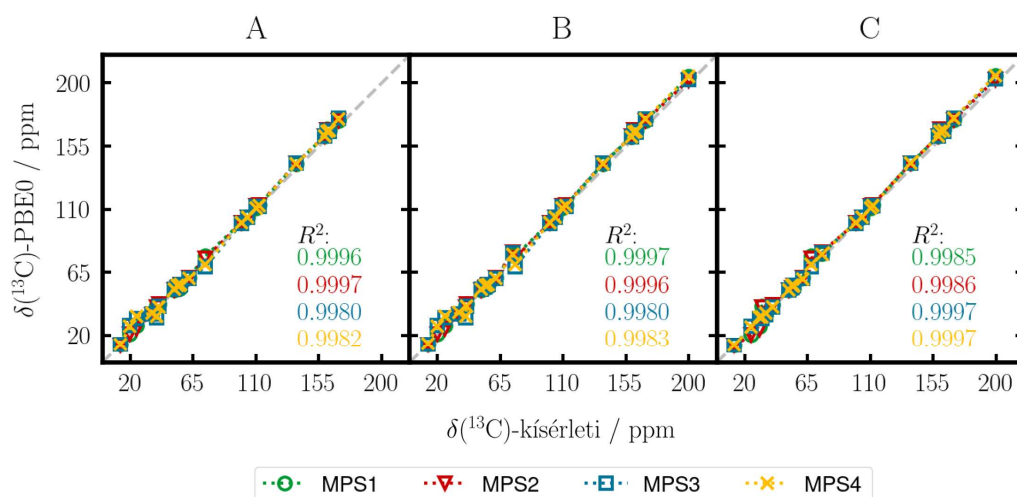
9. ábra: A négy lehetséges MPS izomer, kékkel jelölve a labilis sztereocentrumokat

Az MPS1-4 konfigurációk mindegyikén crest konformerkeresést végeztünk GFN2-xTB módszerrel, ALPB oldószermodell (Analytical Linearized Poisson-Boltzmann)^[61] alkalmazva diklórmetán oldószerrel. Az így kapott konformersokaságot (150-420 konformer) a

költséghatékony B97-3c módszer szerinti *single point* energiák alapján szűkítettük, majd ugyanezen funkcionál segítségével optimaltunk, az optimalt szerkezetek energiáit pedig a *range seperated hybrid* ω B97M-V módszerrel finomítottuk. Végül pedig ^{13}C -NMR eltolódásokat számoltunk speciálisan erre a célra választott bázissal és módszerrel. A számítás hőmérsékletét és oldószerét az NMR mérés körülményeihez igazítottuk (diklórometán, 30 °C). A számítás részletei:

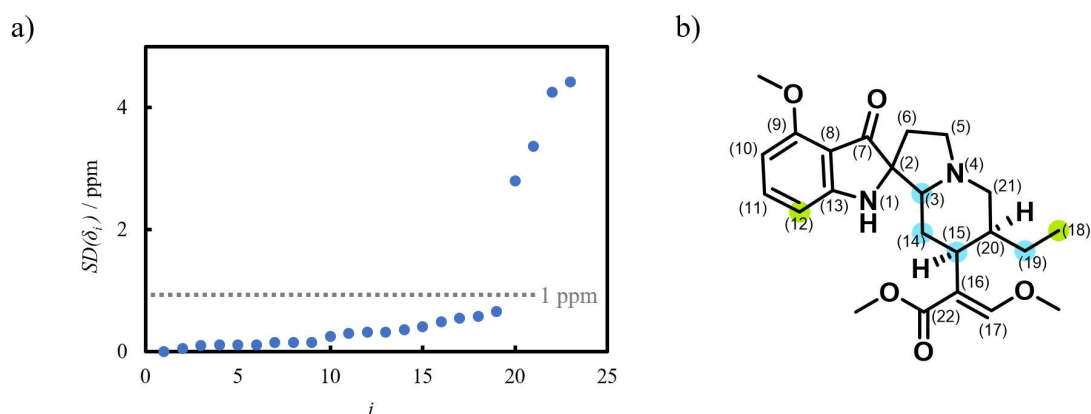
0. rész: Ez egy alacsony költségű hatékony előszűrés, amiben a GFN2-xTB optimalt geometriákon B97-3c *single point* energiát számítása def2-mTZVPP bázissal. Ez kiegészül egy GFN2-xTB szinten számolt ALPB oldószerkorrekcióval. A 4 kcal/mol ablakon belül maradó geometriák jutnak tovább a következő részbe.
1. rész: Itt már az oldószerkorrekció is B97-3c szintű CPCM modellel, illetve egy hessian számítást végzünk GFN2-xTB szinten a termikus korrekciók közelítése érdekében. Majd a legstabilabb konformereket választottuk ki egy 3,5 kcal/mol-os energiablak segítségével.
2. rész: B97-3c szintű geometriaoptimalást hajtunk végre ismét CPCM oldószerkorrekcióval.
3. rész: ω B97M-V / def2-TZVPP szinten finomítjuk az egyes konformerek *single point* energiáját, melyből GFN2-xTB szintű termikus korrekció hozzáadásával kapunk szabadentalpiát. Az így kapott szabadentalpia értékek alapján megállapítjuk az egyes konformerek Boltzmann-súlyát.
4. rész: PBE0/pcsSeg-2 // B97-3c szinten NMR eltolódásokat számolunk, a különböző konformerek atomi eltolódásának Boltzmann súlyozott átlagát vesszük az adott konfiguráció atomi eltolódásának.

Az így számolt eltolódásokat egy kétpontos lineáris transzformációval skáláztuk minden egyes kísérleti spektrumhoz. Ehhez olyan szénatomokat választottunk, melyek eltolódása az izomerek között nem változik jelentősen, egyet az alifás, és egyet az aromás régióból: a 8-as és 12-es szénatomokat (11.b ábra, zölddel jelölve). Az így kapott számított eltolódásokat a kísérleti adatok függvényében ábráztuk, és feltüntettük a Pearson-féle R^2 korrelációs koefficienseket (10. ábra).

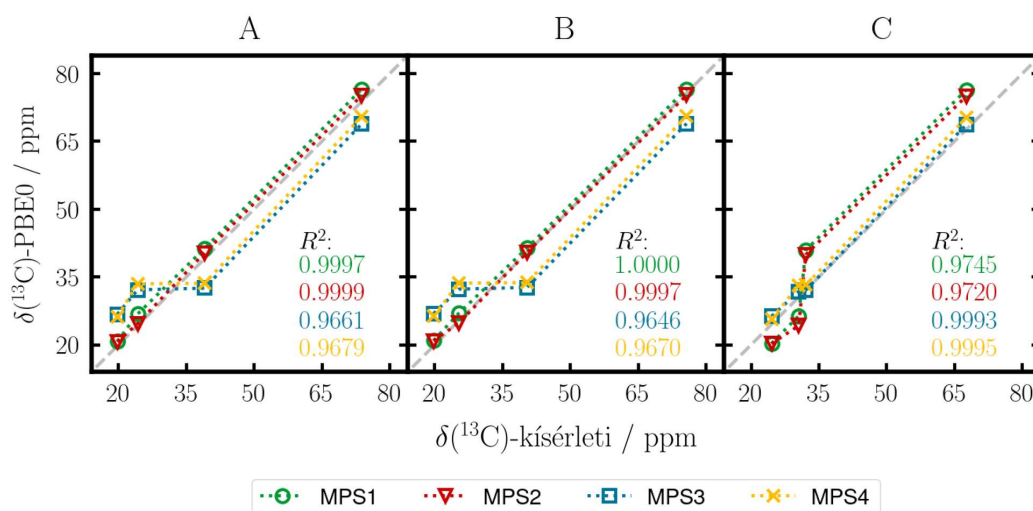


10. ábra: A számított ^{13}C NMR eltolódások illeszkedése ($\delta(^{13}\text{C})$ -PBE-0) kísérleti adatokra ($\delta(^{13}\text{C})$ -kísérleti) A, B és C izomer esetén a Pearson-féle korrelációs koeficiensek (R^2) feltüntetésével

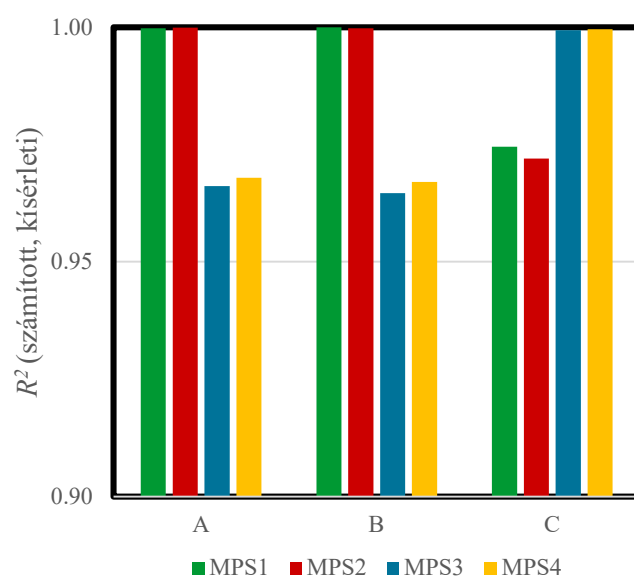
Mivel az izomerek jeleinek nagy része nagyon közel van egymáshoz, alig van különbség a különböző izomerekhez tartozó számított eltolódások illeszkedésében. Ha ábrázoljuk az egyes szénatomok (i) kísérleti kémiai eltolódásának szórását ($SD(\delta_i)$) az izomerek között (11.a ábra), látható módon csak négy olyan szénatom van, melyek szórása meghaladja az 1 ppm-et. Ezek a 3-as 14-es 15-ös és 19-es szénatomok (11. ábra, b), kékkel jelölve). Ha csak ezen négy szénatom eltolódásait hasonlítjuk össze, már jól látható a különbség az egyes izomerek között (12. ábra). A Pearson-féle korrelációkat ábrázolva is látható a különbség (13. ábra).



11. ábra: a) A szénatomok kísérleti kémiai eltolódásainak szórása az izomerek között, a szórás alapján sorba rendezve. b) Az MPS váz számozása, kék: szórás szempontjából indikatív szénatomok, zöld: skálázó szénatomok

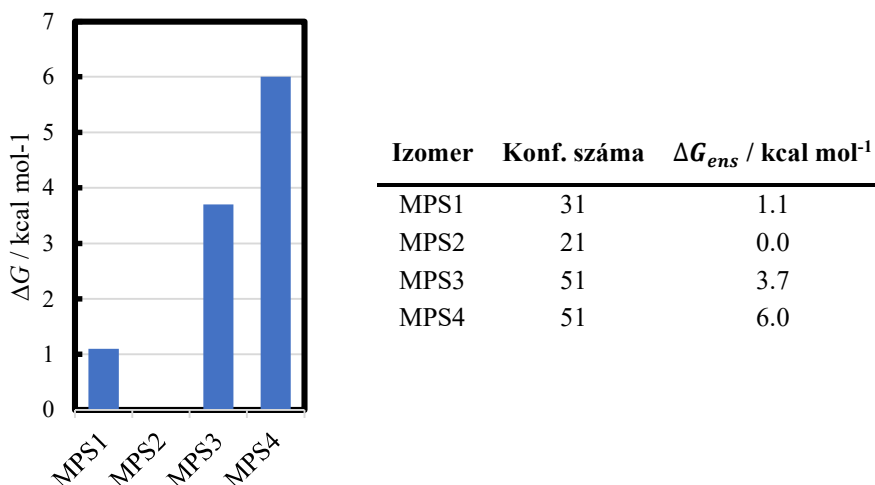


12. ábra: A számított ^{13}C NMR eltolódások illeszkedése ($\delta(^{13}\text{C})\text{-PBE-0}$) kísérleti adatokra ($\delta(^{13}\text{C})\text{-kísérleti}$) a kiválasztott szénatomok esetén A, B és C izomer esetén a Pearson-féle korrelációs együtthatók (R^2) feltüntetésével



13. ábra: A Pearson-féle korrelációs együtthatók (R^2) összehasonlítása

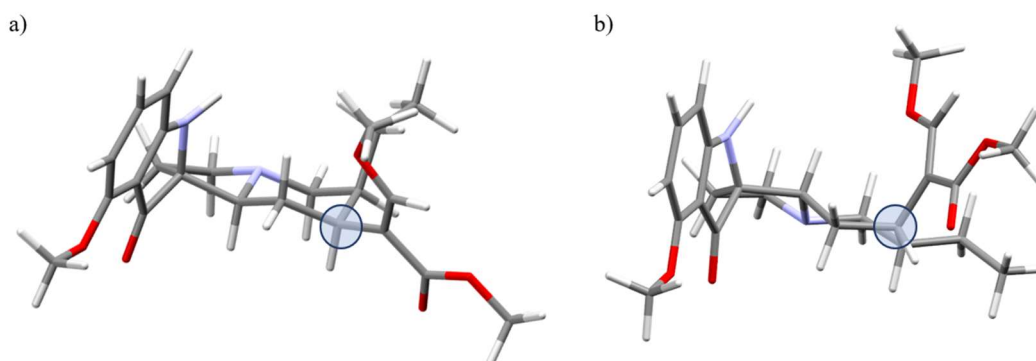
A korrelációk alapján szétválasztható két izomerpár. Az **A** és **B** izomerek egyértelműen MPS1 és MPS2 konfigurációk valamelyike, a **C** izomer pedig MPS3 és MPS4 relatív konfigurációkkal rendelkezhet. A számolt eltolódások alapján tehát csak a 3-as szénatom konfigurációja állapítható meg (11. ábra), a 2-es spiro szén térállása nem meghatározható. Felhasználhatjuk még azt az információt, hogy **A** és **B** közül **A** a termodinamikailag kedvezőbb. A (22)-es egyenlet felhasználásával összehasonlítottuk az egyes izomerek konformerhalmazainak szabadentalpiakülönbségét (ΔG_{ens}), az eredményeket a 14. ábrán foglaltuk össze.



14. ábra: egyes izomerek számított relatív szabadentalpiája oszlopdiagrammon összehasonlítva, illetve táblázatban összesítve

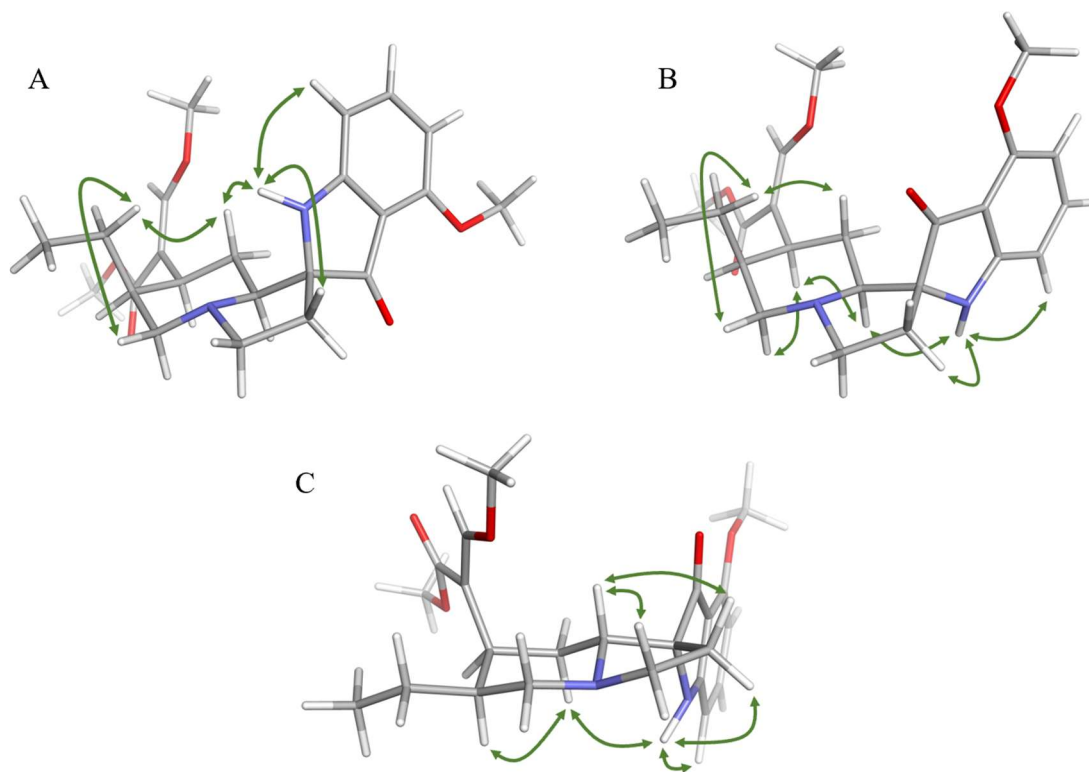
A számított szabadentalpia értékek alapján **A** izomer MPS2-nek, **B** izomer MPS1-nek, **C** izomer pedig MPS3-nak felel meg. Az **A** izomer (a természetes vegyület) esetén ez megegyezik Takayama és munkatársai által meghatározott konfigurációval.^[11] Meg kell említenünk, hogy a kísérleti-elméleti egyezés jobb, mint amit az alkalmazott számítások pontossága alapján várhatunk, ezért feltételezhető, hogy a becslésünket hibakompenzáció is segítette.

Az ¹³C-NMR eltolódások között kiugró eltérést mutat a 14-es szénatom a két izomerpár között (A: 38 ppm, C: 29 ppm). Ez magyarázható a hatosgyűrű szerkezetével, ami C9 konfigurációjától függően két különböző szék konformációt vesz fel. Ennek következtében MPS-1 és MPS-2 esetén ekvatoriális (15.a ábra), MPS-3 és MPS-4 esetén pedig pszeudoaxiális állásban található a 15-ös szénatom nagy térigényű szubsztituense (15.b ábra).



15. ábra: a) Az MPS2 legalacsonyabb energiájú konformere, ekvatoriális szubsztituens a késsel jelölt szénatomon b) Az MPS4 legalacsonyabb energiájú konformere, pszeudoaxiális szubsztituens a késsel jelölt szénatomon

A konformációanalízis során kapott alacsony energiájú konformereket összevetettük az egyes izomerek ROESY spektrumával is, és a 2D spektrum jelei remekül korreláltak az optimált geometriákban mérhető proton-proton távolságokkal, így A, B és C izomer esetén is megerősítették a fentebb kapott konfigurációkat (azaz rendre MPS2, MPS1 és MPS3). A sztereokémiai aszignáció szempontjából fontos ROESY korrelációk a 16. ábrán láthatók.



16. ábra: A, B és C izomerek alacsony energiájú konformerei összevetve a ROESY korrelációkkal (zöld nyíllal jelölve)

3.3 Energiaszámítás különböző módszerekkel

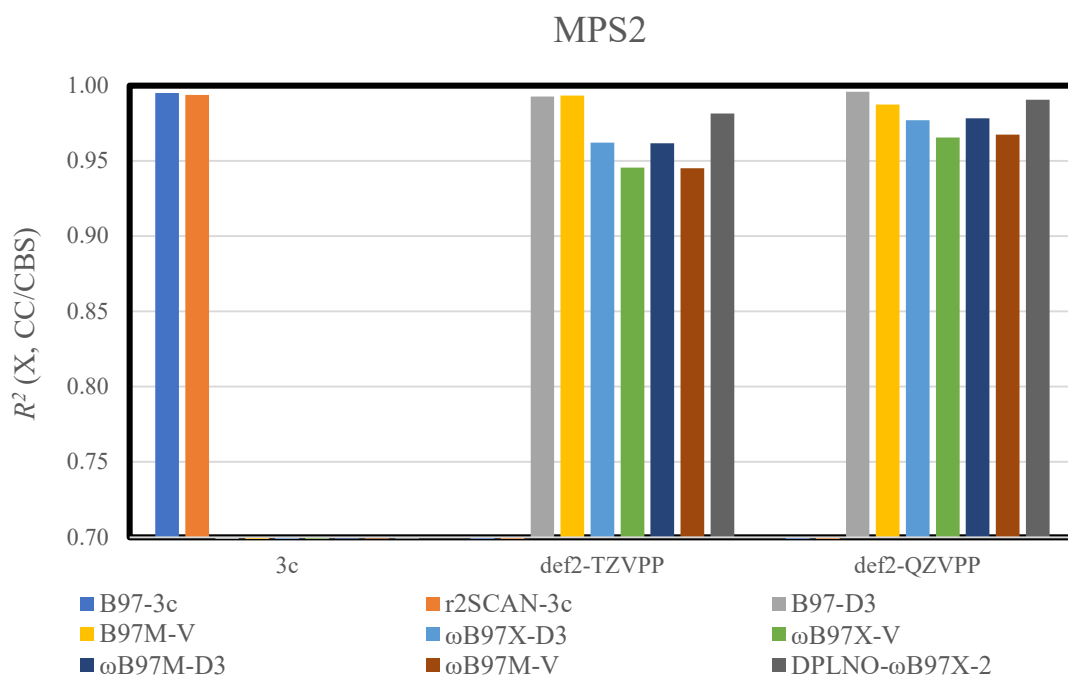
Hogy vizsgáljuk a módszer megbízhatóságát, a számításban alkalmazott ω B97M-V *single point* energiákat összevetettük pontos, lokális coupled cluster módszerrel számolt energiákkal a legalacsonyabb (MPS2), és legmagasabb (MPS4) energiájú konfigurációkra. Az elektronikus energiát következő módon közelítettük:

$$E(\text{CC/CBS}) \approx E(\text{HF/CBS}) + E(\text{CC/TZ}) + E(\text{MP2/CBS}) - E(\text{MP2/TZ}), \quad (30)$$

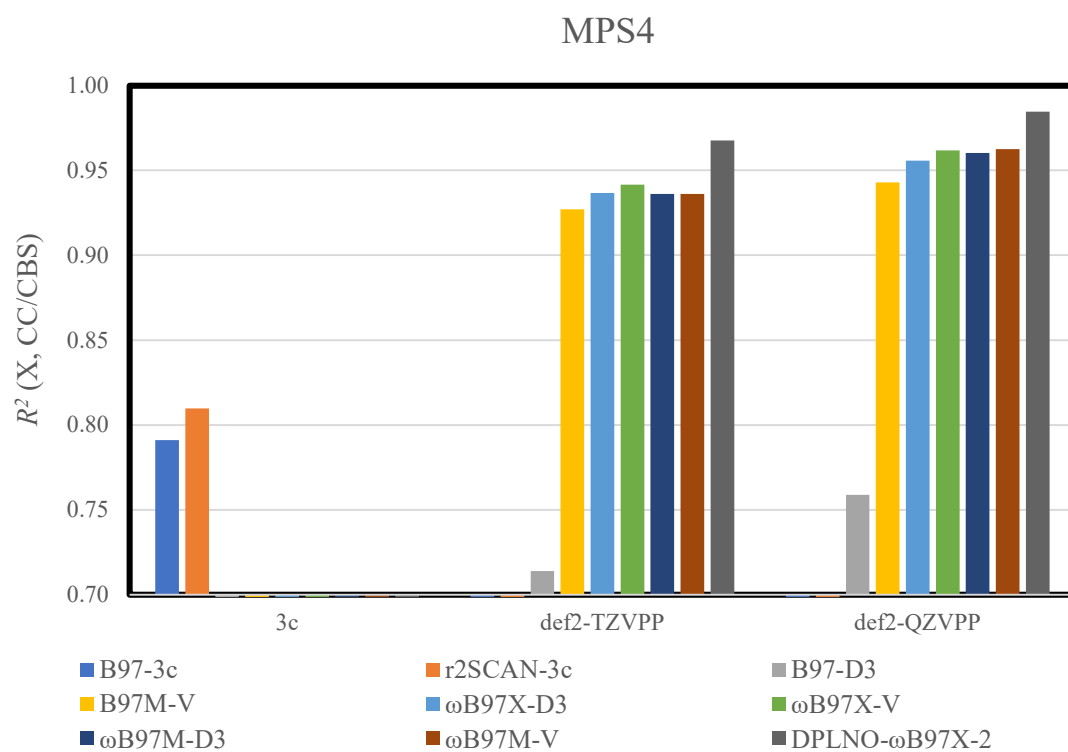
ahol a CC TightPNO DPLNO-CCSD(T)-t, az MP2 TightPNO DPLNO-MP2-t jelöl, a TZ pedig a def2-TZVPP bázist. A CBS (Complete Basis Set) extrapolációt pedig a def2-TZVPP és def2-QZVPP bázisok segítségével végeztük.^[62]

Az ω B97M-V hibáját más funkcionálokéval hasonlítottuk össze, hogy ezáltal megértsük, milyen DFT módszerek biztosítják a legjobb költséghatékonyságot. A Jákó latorja különböző fokairól válogattunk a B97 családon belül: a B97-3c, B97-D3, B97M-V, ω B97X-D3, és ω B97X-V, ω B97M-D3, ω B97M-V és DPLNO- ω B97X-2 funkcionálok teszteltük def2-TZVPP és def2-QZVPP bázissal. Továbbá az összehasonlításban vettünk még egy, nemrég fejlesztett, és erre a célra használt r^2 SCAN-3c funkcionált is. A CC/CBS energiákhoz viszonyított korrelációs koefficiensek összehasonlítása a 16-17. ábrán látható, külön csoportba szedve a kisbázisú, 3c korrekciót alkalmazó funkcionálok eredményeit, valamint a TZ és QZ bázison számított eredményeket. A Grimme-csoportban fejlesztett, kisbázisú és empirikus közelítéseket alkalmazó 3c funkcionálok (B97-3c és r^2 SCAN-3c), illetve a hasonlóképpen GGA B97-D3 is rosszabb teljesítményt nyújt az MPS4 izomerre. A hibridek viszonylag megbízhatóan 0,95 körüli értékeket adnak, látható, hogy a bázis növelésével szisztematikusan jobb eredményeket kapunk. A hibrid GGA-ról hibrid metaGGA szintre lépés egyik izomer esetén sem javít az eredményeken. A legmegbízhatóbb DFT módszernek a double hibrid ω B97X-2 bizonyult, továbbá a korábban alkalmazott hibrid ω B97M-V funkcionál is igen megbízhatónak mutatkozott. Meglepően jó eredményt kaptunk a metaGGA B97M-V alkalmazásával def2-TZVPP bázison, mely utoléri a 3c funkcionálok MPS2 esetén, és a hibrideket megközelítő pontosságot nyújt MPS4 esetén.

Az eredmények alapján a konformációanalízis 3. részében alkalmazott ω B97M-V a metaGGA B97M-V funkcionállal kiváltva hasonlóan megbízható eredmények kaphatók rövidebb számítási idő alatt, így ez egy költséghatékony alternatívát jelenthet nagyobb számítási kapacitást igénylő rendszerekre.



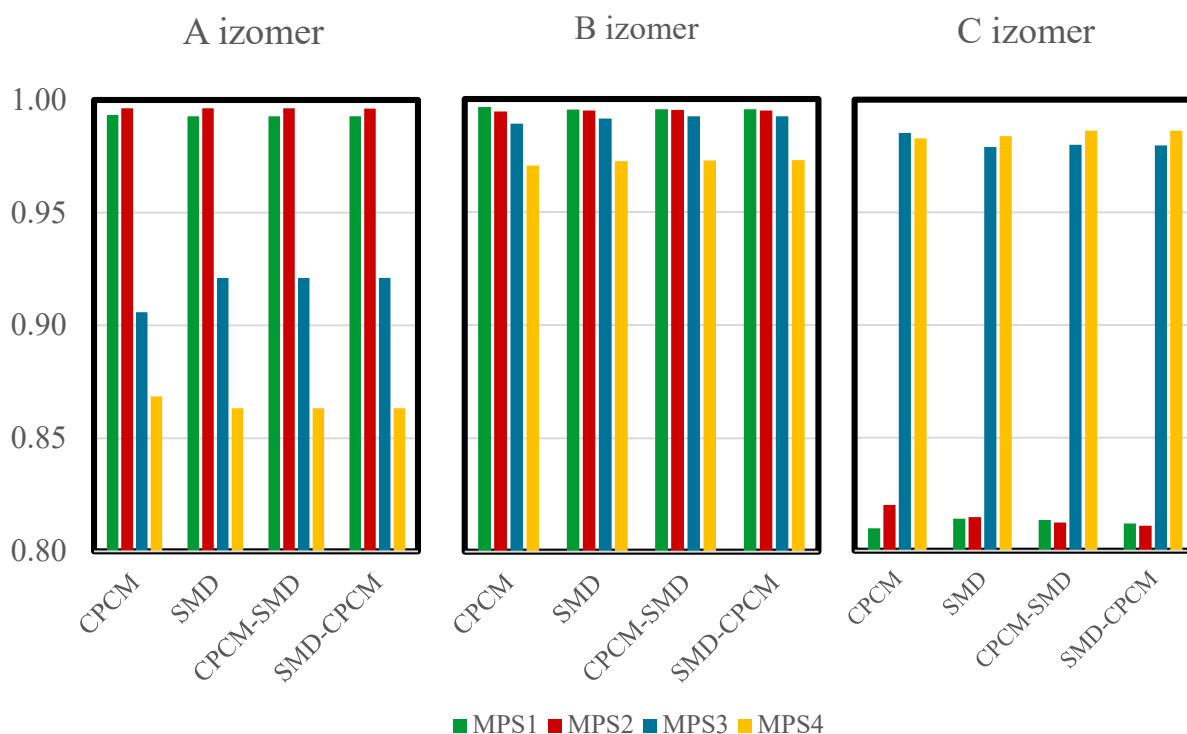
17. ábra: DFT energiák CC energiához viszonyított korrelációja MPS2 izomer esetén



18. ábra: DFT energiák CC energiához viszonyított korrelációja MPS4 izomer esetén

3.4 Különböző oldószermodellek, funkcionálok tesztelése

A módszer robusztusságának tesztelése végett különböző oldószermodelleket és funkcionálok vizsgáltunk az NMR eltolódások prediktálására. Az oldószermodellek közül az SMD (Solvation Model based on Density) és CPCM (Conductor-like Polarizable Continuum Model) modelleket alkalmaztuk az energia, illetve NMR eltolódások számításában. Összehasonlítottunk csak SMD, illetve CPCM modelleket alkalmazó számításokat, valamint olyanokat is, ahol különböző modellt használtunk az energia, illetve eltolódás számítására. Az így kapott eltolódásokat az eddigiekkel megegyező módon hasonlítottuk a kísérleti eredményekhez, az így kapott R^2 értékek összehasonlítását mutatja be a 19. ábra.

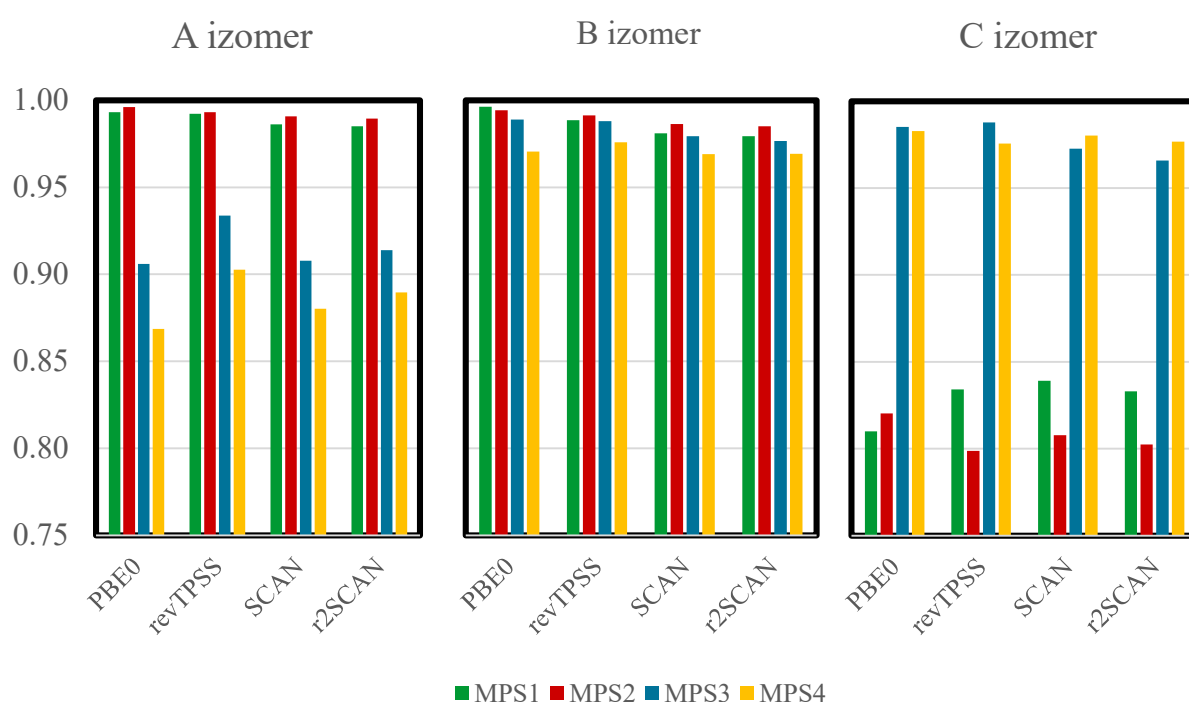


19. ábra: Oldószermodellek összehasonlítása az NMR számolásban a kísérleti spektrumokkal adott Pearson-féle korrelációs koeficiensek alapján

Összességében a módszer nem érzékeny arra, hogy melyik oldószermodellt alkalmazzuk. A CPCM modell esetén a legnagyobb a különbség az R^2 értékek között izomerpáronként, így a továbbiakban is ezt alkalmazzuk.

Ezen a ponton a teljes módszer számítás egyik legköltségesebb része az eltolódások számítása volt, hiszen ezt a feladatot is egy hibrid funkcionállal végeztük. Egy nemrég megjelent tanulmány szerint azonban egyes metaGGA funkcionálok is hasonlóan pontos

kémiai eltolódásokat lehet kapni, mint az e téren jól teljesítő hibridekkel.^[63] Mivel ez a tisztán metaGGA funkcionálok alapuló eljárás, egy költséghatékony alternatívát jelenthet, teszteltük a revTPSS, SCAN és r²SCAN funkcionálokat. Az említett funkcionálokkal a pcsSeg-2 bázissal kapott eredmények a 20. ábrán láthatók. Ez alapján a metaGGA funkcionálok megközelítik a hibrid PBE0-át: az eddig jól elkülönülő izomerszettek (MPS1-2 és MPS3-4) között hasonló különbséget generálnak az R^2 értékében, és a megfelelő izomerek továbbra is magas korrelációs koefficienssel rendelkeznek. Mivel a számítás prediktív ereje változatlan maradt, és az NMR eltolódások számítása körülbelül háromszorosra gyorsult, érdemes e téren is alkalmazni a metaGGA funkcionálokat.



20. ábra: metaGGA funkcionálok tesztelése az NMR számolásban a kísérleti spektrumokkal adott Pearson-féle korrelációs koefficiensek alapján

4. Összegzés

A kutatás során sikeresen határoztuk meg a mitragynin pszeudoindoxil fiziológiás körülmények között keletkező **A**, **B** és **C** izomerjének relatív konfigurációját. Megállapítottuk, hogy a két nagyon hasonló spektrális tulajdonságokkal rendelkező izomer (**A** és **B**) csupán a spiro szénatom térállásában különbözik. Keimelendő, hogy a kapott eredmények összhangban voltak a 2D ROESY spektrumokkal.

. A különböző szintű DFT funkcionálok energiaszámításának megbízhatóságát vizsgálva azokat összehasonlítottuk lokális coupled cluster eredményekkel, mely során kiderült, hogy az alkalmazott ω B97M-V megbízható választás, továbbá ígéretesnek tartjuk egy, a hasonlóan teljesítő metaGGA B97M-V funkcionálon alapuló eljárás kidolgozását. Megvizsgáltunk a módszer robusztusságát az oldószermodellekre nézve, és teszteltünk különböző metaGGA funkcionálokat az NMR számításban összevetve az e célra az irodalomban gyakran alkalmazott hibrid PBE0-val, és arra jutottunk, hogy metaGGA funkcionálok használata alkalmazható lenne szerkezetmeghatározási célokra.

5. Kitekintés

A későbbiekben szeretnénk vizsgálni a módszer kiterjeszthetőségét más molekulacsaládokra, hogy rutinszerű feladattá tehesse hasonló komplexitású sztereokémiai problémák megoldását.

Soli Deo Gloria

6. Irodalomjegyzék

- s[1] S. Majumdar, L. A. Devi, *Nature* **2018**, *553*, 286–288.
- [2] C. Han, J. Schmitt, K. M. Gilliland, *Cite This ACS Chem. Neurosci* **2020**, *11*, 3880.
- [3] S. H. Kamble, F. León, T. I. King, E. C. Berthold, C. Lopera-Londono, K. Siva Rama Raju, A. J. Hampson, A. Sharma, B. A. Avery, L. R. McMahon, C. R. McCurdy, *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* **2020**, *3*, 1063–1068.
- [4] S. Grimme, F. Bohle, A. Hansen, P. Pracht, S. Spicher, M. Stahn, *J. Phys. Chem. A* **2021**, *125*, 4039–4054.
- [5] J. E. Zarembo, B. Douglas, J. Valenta, J. A. Weisbach, *J. Pharm. Sci.* **1974**, *63*, 1407–1415.
- [6] S. Obeng, S. H. Kamble, M. E. Reeves, L. F. Restrepo, A. Patel, M. Behnke, N. J. Y. Chear, S. Ramanathan, A. Sharma, F. León, T. Hiranita, B. A. Avery, L. R. McMahon, C. R. McCurdy, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 433–439.
- [7] A. M. Gutridge, S. Chakraborty, B. R. Varga, E. S. Rhoda, A. R. French, A. T. Blaine, Q. H. Royer, H. Cui, J. Yuan, R. J. Cassell, M. Szabó, S. Majumdar, R. M. van Rijn, *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 1–18.
- [8] Y. Zhao, L. Liu, W. Sun, J. Lu, D. McEachern, X. Li, S. Yu, D. Bernard, P. Ochsenbein, V. Ferey, J. C. Carry, J. R. Deschamps, D. Sun, S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 7223–7234.
- [9] A. Aguilar, W. Sun, L. Liu, J. Lu, D. McEachern, D. Bernard, J. R. Deschamps, S. Wang, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 10486–10496.
- [10] P. S. Dhote, P. Patel, K. Vanka, C. V. Ramana, *Org. Biomol. Chem.* **2021**, *19*, 7970–7994.
- [11] H. Takayama, M. Kurihara, S. Subhadhirasakul, M. Kitajima, N. Aimi, S. I. Sakai, *Heterocycles* **1996**, *42*, 87–92.
- [12] J. Číž, *J. Chem. Phys.* **1966**, *45*, 4256–4266.
- [13] G. D. Purvis, R. J. Bartlett, *J. Chem. Phys.* **1982**, *76*, 1910–1918.
- [14] K. Raghavachari, G. W. Trucks, J. A. Pople, M. Head-Gordon, *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *157*, 479–483.
- [15] C. Riplinger, F. Neese, *J. Chem. Phys.* **2013**, *138*, 034106.
- [16] C. Riplinger, B. Sandhoefer, A. Hansen, F. Neese, *J. Chem. Phys.* **2013**, *139*, 134101.
- [17] C. Riplinger, P. Pinski, U. Becker, E. F. Valeev, F. Neese, *J. Chem. Phys.* **2016**, *144*,

024109.

- [18] M. Saitow, U. Becker, C. Riplinger, E. F. Valeev, F. Neese, *J. Chem. Phys.* **2017**, *146*, 164105.
- [19] Y. Guo, C. Riplinger, U. Becker, D. G. Liakos, Y. Minenkov, L. Cavallo, F. Neese, *J. Chem. Phys.* **2018**, *148*, 011101.
- [20] S. Grimme, P. R. Schreiner, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2018**, *57*, 4170–4176.
- [21] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **2014**, *140*, 18A301.
- [22] J. Sun, R. C. Remsing, Y. Zhang, Z. Sun, A. Ruzsinszky, H. Peng, Z. Yang, A. Paul, U. Waghmare, X. Wu, M. L. Klein, J. P. Perdew, *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 831–836.
- [23] C. Zhang, F. Tang, M. Chen, J. Xu, L. Zhang, D. Y. Qiu, J. P. Perdew, M. L. Klein, X. Wu, *J. Phys. Chem. B* **2021**, *125*, 11444–11456.
- [24] J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 1396.
- [25] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.
- [26] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **2010**, *107*, 8554.
- [27] N. Mardirossian, M. Head-Gordon, *J. Chem. Phys.* **2015**, *142*, 074111.
- [28] J. W. Furness, A. D. Kaplan, J. Ning, J. P. Perdew, J. Sun, *J. Phys. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 8208–8215.
- [29] J. Tao, J. P. Perdew, V. N. Staroverov, G. E. Scuseria, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *91*, 3–6.
- [30] A. Ruzsinszky, J. Sun, B. Xiao, G. I. Csonka, *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 2078–2087.
- [31] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
- [32] M. Ernzerhof, G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 5029.
- [33] J. P. Perdew, J. Tao, V. N. Staroverov, G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 6898–6911.
- [34] Y. Shao, Z. Gan, E. Epifanovsky, A. T. B. Gilbert, M. Wormit, J. Kussmann, A. W. Lange, A. Behn, J. Deng, X. Feng, D. Ghosh, M. Goldey, P. R. Horn, L. D. Jacobson, I. Kaliman, R. Z. Khaliullin, T. Kuš, A. Landau, J. Liu, E. I. Proynov, Y. M. Rhee, R. M. Richard, M. A. Rohrdanz, R. P. Steele, E. J. Sundstrom, H. L. Woodcock, P. M. Zimmerman, D. Zuev, B. Albrecht, E. Alguire, B. Austin, G. J. O. Beran, Y. A. Bernard, E. Berquist, K. Brandhorst, K. B. Bravaya, S. T. Brown, D. Casanova, C. M. Chang, Y. Chen, S. H. Chien, K. D. Closser, D. L. Crittenden, M. Diedenhofen, R. A. Distasio, H. Do, A. D. Dutoi, R. G. Edgar, S. Fatehi, L. Fusti-Molnar, A. Ghysels, A. Golubeva-Zadorozhnaya, J. Gomes, M. W. D. Hanson-Heine, P. H. P. Harbach, A. W. Hauser, E. G. Hohenstein, Z. C. Holden, T. C. Jagau, H. Ji, B. Kaduk, K. Khistyayev, J. Kim, J. Kim,

- R. A. King, P. Klunzinger, D. Kosenkov, T. Kowalczyk, C. M. Krauter, K. U. Lao, A. D. Laurent, K. V. Lawler, S. V. Levchenko, C. Y. Lin, F. Liu, E. Livshits, R. C. Lochan, A. Luenser, P. Manohar, S. F. Manzer, S. P. Mao, N. Mardirossian, A. V. Marenich, S. A. Maurer, N. J. Mayhall, E. Neuscamman, C. M. Oana, R. Olivares-Amaya, D. P. Oneill, J. A. Parkhill, T. M. Perrine, R. Peverati, A. Prociuk, D. R. Rehn, E. Rosta, N. J. Russ, S. M. Sharada, S. Sharma, D. W. Small, A. Sodt, T. Stein, D. Stück, Y. C. Su, A. J. W. Thom, T. Tsuchimochi, V. Vanovschi, L. Vogt, O. Vydrov, T. Wang, M. A. Watson, J. Wenzel, A. White, C. F. Williams, J. Yang, S. Yeganeh, S. R. Yost, Z. Q. You, I. Y. Zhang, X. Zhang, Y. Zhao, B. R. Brooks, G. K. L. Chan, D. M. Chipman, C. J. Cramer, W. A. Goddard, M. S. Gordon, W. J. Hehre, A. Klamt, H. F. Schaefer, M. W. Schmidt, C. D. Sherrill, D. G. Truhlar, A. Warshel, X. Xu, A. Aspuru-Guzik, R. Baer, A. T. Bell, N. A. Besley, J. Da Chai, A. Dreuw, B. D. Dunietz, T. R. Furlani, S. R. Gwaltney, C. P. Hsu, Y. Jung, J. Kong, D. S. Lambrecht, W. Liang, C. Ochsenfeld, V. A. Rassolov, L. V. Slipchenko, J. E. Subotnik, T. Van Voorhis, J. M. Herbert, A. I. Krylov, P. M. W. Gill, M. Head-Gordon, *Mol. Phys.* **2015**, *113*, 184–215.
- [35] L. Goerigk, S. Grimme, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7*, 291–309.
- [36] S. Grimme, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 1787.
- [37] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.* **2010**, *132*, 154104.
- [38] E. Caldeweyher, C. Bannwarth, S. Grimme, *J. Chem. Phys.* **2017**, *147*, 034112.
- [39] K. Lee, É. D. Murray, L. Kong, B. I. Lundqvist, D. C. Langreth, *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **2010**, *82*, 3–6.
- [40] O. A. Vydrov, T. Van Voorhis, *J. Chem. Phys.* **2010**, *133*, 244103.
- [41] R. Sabatini, T. Gorni, S. De Gironcoli, *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **2013**, *87*, 4–7.
- [42] J. Contreras-García, E. R. Johnson, S. Keinan, R. Chaudret, J. P. Piquemal, D. N. Beratan, W. Yang, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7*, 625–632.
- [43] C. Bannwarth, E. Caldeweyher, S. Ehlert, A. Hansen, P. Pracht, J. Seibert, S. Spicher, S. Grimme, *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2021**, *11*, 1–49.
- [44] S. Grimme, C. Bannwarth, P. Shushkov, *J. Chem. Theory Comput.* **2017**, *13*, 1989–2009.
- [45] C. Bannwarth, S. Ehlert, S. Grimme, *J. Chem. Theory Comput.* **2019**, *15*, 1652–1671.
- [46] P. Pracht, E. Caldeweyher, S. Ehlert, S. Grimme, *ChemRxiv* **2019**, 1–19.
- [47] P. C. D. Hawkins, *J. Chem. Inf. Model.* **2017**, *57*, 1747–1756.
- [48] D. B. Diaz, S. D. Appavoo, A. F. Bogdanchikova, Y. Lebedev, T. J. McTiernan, G. dos Passos Gomes, A. K. Yudin, *Nat. Chem.* **2021**, *13*, 218–225.

- [49] S. Grimme, *J. Chem. Theory Comput.* **2019**, *15*, 2847–2862.
- [50] S. Grimme, J. G. Brandenburg, C. Bannwarth, A. Hansen, *J. Chem. Phys.* **2015**, *143*, 054107.
- [51] J. G. Brandenburg, C. Bannwarth, A. Hansen, S. Grimme, *J. Chem. Phys.* **2018**, *148*, 064104.
- [52] S. Grimme, A. Hansen, S. Ehlert, J. M. Mewes, *J. Chem. Phys.* **2021**, *154*, 064103.
- [53] T. a Halgren, *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 490–519.
- [54] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, D. A. Case, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1157–1174.
- [55] E. Harder, W. Damm, J. Maple, C. Wu, M. Reboul, J. Y. Xiang, L. Wang, D. Lupyan, M. K. Dahlgren, J. L. Knight, J. W. Kaus, D. S. Cerutti, G. Krilov, W. L. Jorgensen, R. Abel, R. A. Friesner, *J. Chem. Theory Comput.* **2016**, *12*, 281–296.
- [56] P. H. Willoughby, M. J. Jansma, T. R. Hoye, *Nat. Protoc.* **2014**, *9*, 643–660.
- [57] I. Y. Kanai, J. A. Keith, G. R. Hutchison, *Int. J. Quantum Chem.* **2018**, *118*, 1–10.
- [58] D. Folmsbee, G. Hutchison, *Int. J. Quantum Chem.* **2021**, *121*, 1–15.
- [59] Z. Qiao, M. Welborn, A. Anandkumar, F. R. Manby, T. F. Miller, *J. Chem. Phys.* **2020**, *153*, 124111.
- [60] P. Pracht, S. Grimme, *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 6551–6568.
- [61] G. Sigalov, A. Fenley, A. Onufriev, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 124902.
- [62] F. Neese, E. F. Valeev, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7*, 33–43.
- [63] M. T. de Oliveira, J. M. A. Alves, A. A. C. Braga, D. J. D. Wilson, C. A. Barboza, *J. Chem. Theory Comput.* **2021**, *17*, 6876–6885.