

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND
Keemia instituut

Jaanus Burk

**NANODESKRIPTORITE ARENDAMINE JA NENDE
KASUTAMINE NANOOSAKESTE TOKSILISUSE
MÄÄRAMISEKS**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad: Kaido Tamm, PhD
Lauri Sikk, PhD

Tartu 2015

Sisukord

Sissejuhatus.....	3
1 Kirjanduse ülevaade.....	4
1.1 Nanotoksilisus	4
1.2 Nanotoksilisuse eksperimentaalne uurimine	5
1.3 Nanotoksilisuse uurimine <i>in silico</i> meetoditega	6
1.3.1 QSAR meetod	7
1.3.2 Ülevaade nanoQSAR mudelitest	8
2 Metoodika	10
2.1 Andmevalim	10
2.2 Nanoosakese modelleerimine.....	10
2.3 Nanodeskriptorite arvutamise meetod.....	11
2.3.1 Buckinghami paaripotentsiaalide konstantide tuletamine	12
3 Tulemused.....	14
3.1 Nanodeskriptorite klassifikatsioon ja näited	14
3.2 Nanodeskriptorite kasutamine QSAR mudelites	19
Kokkuvõte.....	23
Summary in English.....	24
4 Kasutatud kirjandus	25
5 Lisad.....	30

Sissejuhatus

Nanotehnoloogia on hetkel üks kiiremini arenevaid tööstus- ja teadusvaldkondi nanoosakeste unikaalsete omaduste tõttu. Makroosakestega võrreldes omavad nad erinevaid keemilisi kui ka füüsikalisi omadusi, milleks võib pidada näiteks paremaid elektromagneetilisi kui ka katalüütilisi omadusi või suuremat kõvadust ja termilist vastupidavust. Juba praegu leiavad nanoosakesed kasutust erinevates tarbeesemetes nagu näiteks sokid, päikesekreemid ja arvutikiibid [1]. Meditsiinis on nanoosakesed kasutusel kui biosensorid ja ravimi kohaletoimetajad [2,3]. Nanoosakesi on ka edukalt katsetatud vähiravimina hiirte peal [4].

Nanoosakeste positiivsete omaduste kõrval tuleb ära märkida ka nende toksilised omadused, mille uurimisega alles tegeletakse. Täheldatud on nanosakeste põhjustatud oksüdatiivset stressi kehas kui ka põletiku teket [5]. Seega on oluline üksikasjalikult uurida erinevate nanoosakeste mõju nii elusorganismidele kui ka keskkonnale. Usaldusväärseimaks uurimise meetodiks on siinkohal *in vivo* ja *in vitro* katsed. Samas on sellised katsed väga aeganõudvad ja kallid otsese rakendamise jaoks. Seetõttu otsitakse paralleelselt ka alternatiivseid *in silico* meetodeid toksilisuse määramiseks ehk ennustamiseks.

Kuna *in silico* meetodite usaldusväärsus ja efektiivsus on juba tõestatud tavasuurusel osakeste peal, siis üritatakse neid rakendada ka nanoosakestele. Üks enim arendatud ja kasutatud meetod nanoosakeste toksilisuse arvutamiseks on kvantitatiivse struktuuri-aktiivsuse sõltuvuse meetod (*i.k.* QSAR). Kasutades arvutuslikult eksperimentaalsete andmete baasil arendatud mudelit, saab QSAR meetodiga kiirelt ennustada toksilisuse väärtusi seni veel mõõtmata erinevatele (sh. eri suurustega) nanoosakestele.

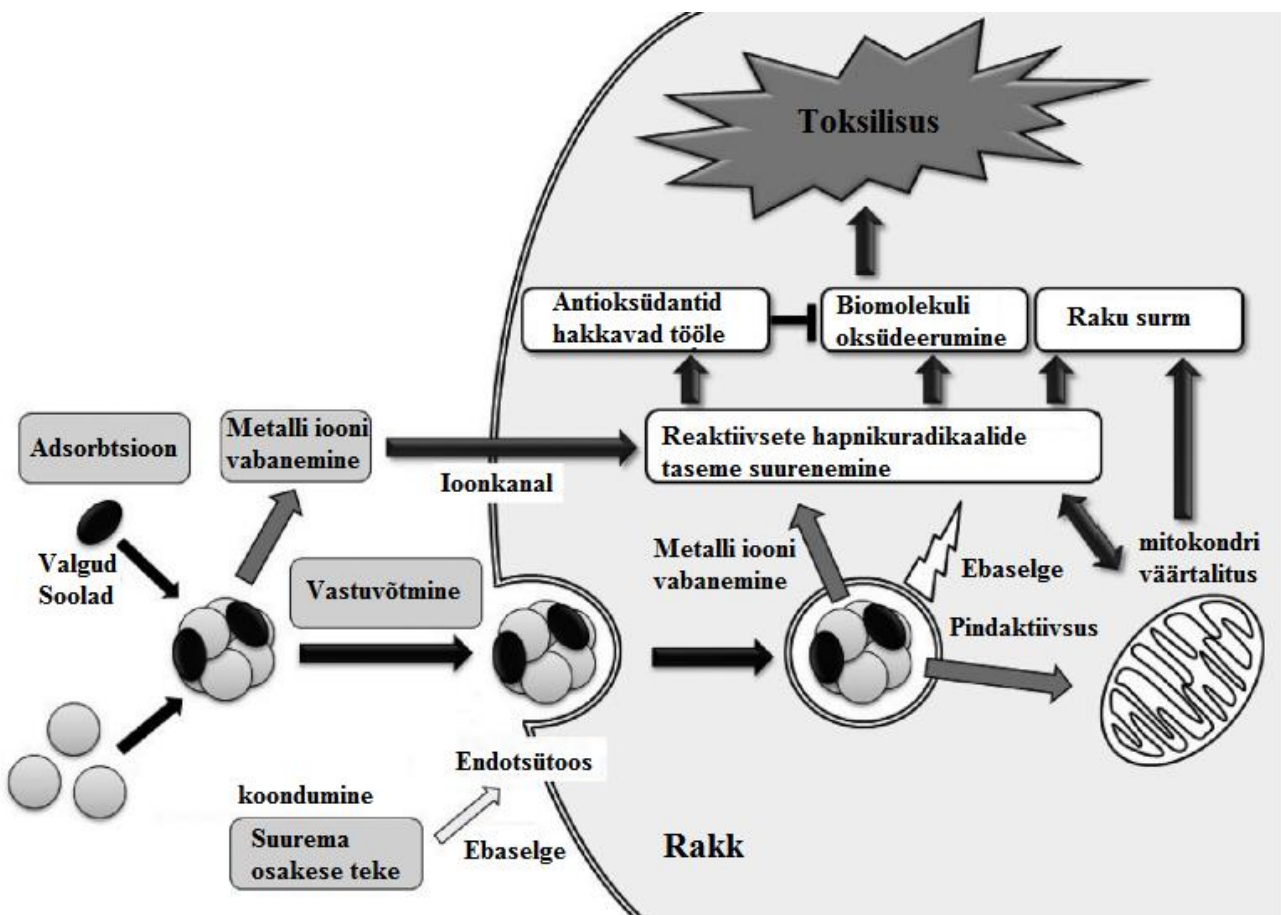
Käesoleva töö kirjanduse ülevaate osas on toodud kokkuvõtte nanotoksilisuse olemusest ja senini tehtud toksilisuse uurimustest nii *in vitro* kui *in silico* meetoditega. Töö praktilises osas arendati ja arvutati metalli (nano)oksiididele suurusest sõltuvad numbrilised parameetrid ehk nn. nanodeskriptorid. Loodi deskriptorite maatriks 24 erinevale metalli oksiidile tehes igale oksiidile arvutuse 12. erineva suurusega. Lisaks arendati QSAR mudelid, et näidata käesoleva töö raames arendatud deskriptorite kasulikkust ja asjakohasust nanotoksilisuse ennustamisel.

1 Kirjanduse ülevaade

1.1 Nanotoksilisus

Nanoosakeseks peetakse osakesi, mille vähemalt üks mõõde on väiksem kui 100 nanomeetrit (nm). Suurest eripinnast ja ka puhtusest tulenevalt on neil palju unikaalseid omadusi võrreldes makroosakestega, näiteks suurem vastupidavus ja reaktsioonivõime. Samas peetakse nende suurt eripinda ja puhtusastet ka põhiliseks toksiliste omaduste esinemise põhjuseks. [6]

Üheks levinumaks nanoosakeste kehasse sattumise viisiks peetakse nende sissehingamist õhust. Nanoosakesed suudavad tänu oma väikestele mõõtmetele kehas igale poole tungida. Näiteks saavad nad siseneda rakkudesse, mitokondrisse või jõuda ajuni. Nanoosakesed võivad siduda ka raskmetalle ja neid endaga koos kehas edasi kanda, mis omakorda põhjustab rakkude saastumist [5,6]. Tähelestatud on nanoosakeste koondumist, moodustades suuri kogumeid, mis endotsütoosi käigus saavad liikuda raku. Joonis 1 kirjeldab nanoosakeste ja nendega seotud ühendite sattumist raku ja seal toimuvaid interaktsioone nii raku enda kui ka mitokondriga. [7]



Joonis 1. Nanoosakeste toksilisuse toimimise mehhanismid.

Üheks enim uuritud tervisekahjustuse tekkimise viisiks nanoosakeste sissehingamise puhul on reaktiivsete hapnikuradikaalide (hapniku aatom liidab ühe elektroni) tekkimine [5,7,8]. Üldjuhul tekib kehas ka iseenesest reaktiivseid hapnikuradikaale, aga nende tekkimise sagedus ja hulk on piisavalt väike ning kehas olevad ensüümid ja antioksidandid suudavad need väga kiirelt eemaldada. Nanoosakeste pideval sissehingamisel ja hapnikuradikaalide kasvul antioksidantide ja ensüümide redutseeriv toime väheneb. Ülekaalus on sel juhul hapnikuradikaalide teke, mis põhjustab kehas oksüdatiivset stressi. Viimane võib põhjustada näiteks hingamisteede põletikku või interstitsiaalset kopsufibroosi. [5]

1.2 Nanotoksilisuse eksperimentaalne uurimine

Nanoühendite toksiliste omaduste määramiseks kasutatakse EC_{50} (i.k. *Effective Concentration*, 50% maksimaalsest inhibeerimis-kontsentratsioonist) mõõtmisi, mida teostatakse algloomade, bakterite, vetikate või väiksemate loomade peal laboritingimustes. Kahru jt. kirjutasid 2009. aastal ülevaate artikli, kus nad kogusid kirjanduses leiduvaid EC_{50} väärtusi ja hindasid selle põhjal seitsme nanoosakese (TiO_2 , CuO , ZnO , Ag , C_{60} -fullereen, ühekihiline süsinik-nanotoru, mitmekihiline süsinik-nanotoru) toksilisust. Lisaks võrdlesid nad nende toksilisuse andmeid tavasuurusel osakestega tehes järelduse, et nanoosakestel on suurem toksiline mõju keskkonnale. Tulemusena tõid välja, et ühtegi uuritud nanoosakestest ei saanud nad kvalifitseerida kui mitte kahjulikku, sest kõigi seitsme puhul esines mingil määral toksilist mõju uuritud organismidele. Lisaks märkisid nad, et seitsme uuritud nanoosakese seas leidub sama või kõrgema toksilisusega nanoosakesi võrreldes PCP-ga (pentaklorofenooliga). [6,9]

Nanoosakeste toksilisuse sõltuvust suurusest ja suhtelisest eripinnast on teinud uurimusi ka teised teadlased. Passagne jt. [10] uurisid ränioksiidi toksilisust 20 nm ja 100 nm osakese puhul neeru rakkude peal. Nad täheldasid, et 20 nm osakesel on IC_{50} väärtus raku kasvule 7 korda väiksem kui 100 nm osakese puhul. Põhjenduseks suuremale toksilisusele toodi väiksemate osakeste suhteliselt suuremat pinna aktiivsust. Väiksemate kui 30 nm osakeste puhul on pindkihis 40% aatomitest võrreldes suurematega, kus pindkihis on vähem kui 20% aatomitest. Ka suhteline eripind kasvab 100 nm osakeselt 20 nm osakesele liikudes umbes 5 kordseks, mis suurendab ka nende interakteerumise võimet rakuga. Karlsson jt. [11] viisid läbi toksilisuse uuringu 4 metallioksiidi peal (CuO , TiO_2 , Fe_3O_4 ja Fe_2O_3), kus uuriti nende toksilist mõju nii makro- kui nanoosakeste puhul. Mõlema rauaoksiidi puhul ei täheldatud mikro- ega

nanosuuruses osakeste puhul erilist toksilist efekti. Titaan(IV)oksiidi osakeste puhul leiti, et mikrosuuruses osakesed põhjustavad suuremat DNA kahjustust kui nanosuuruses osakesed, kuid toksilised mõjud rakule olid peaaegu olematud. Samas märgiti ära, et vask(II)oksiidi nanoosakesed kahjustavad rakke rohkem kui nende mikrosuuruses osakesed, tuues põhjenduseks nende võime kahjustada rakus olevat mitokondrit. Seega võib järeldada, et alati ei ole nanoosakesed mikrosuuruses osakekestest ohtlikumad.

Horie jt. [12] uurisid 24 metallioksiidi nanoosakeste toksilist mõju rakule. Tulemusena leidsid nad, et kõige ohtlikumad on tsink(IV)-, vask(II)- ja nikkel(II)oksiidi nanoosakesed. Väiksema efektiga olid veel räni(IV)-, koobalt(II)- ja molübdeen(VI)oksiidi nanoosakesed. Erinevaid nanoosakesi ja nende suurusi ning suhtelist eripinda võrreldes leiti, et puudub nende parameetrite otsene mõju osakese toksilisusele. See väide läheb lahku Passagne töö järeldusega, kuid samas on Horie jt. ning Passagne jt. oma töös teinud eripinna mõju kohta järelduse erinevate vaatluste põhjal. Kui Passagne tegi oma järelduse võrreldes sama metallioksiidi toksilisusi ja eripinda, siis Horie võrdleb oma töös erinevate nanoosakeste eripinna ja toksilisuse suhet. Pakuti ka välja, et toksilisust võiks olla seotud metallioksiidi võimega siduda enda külge valk ja viia see rakku endotsütoosi kaudu, kuid ka see lükati eksperimendi tulemuste põhjal ümber. Lõpuks järeldati, et toksilisust võib põhjustada ka nanoosakeselt metalli ionide vabanemine rakus, mis andis ka parima korrelatsiooni toksilisusega.

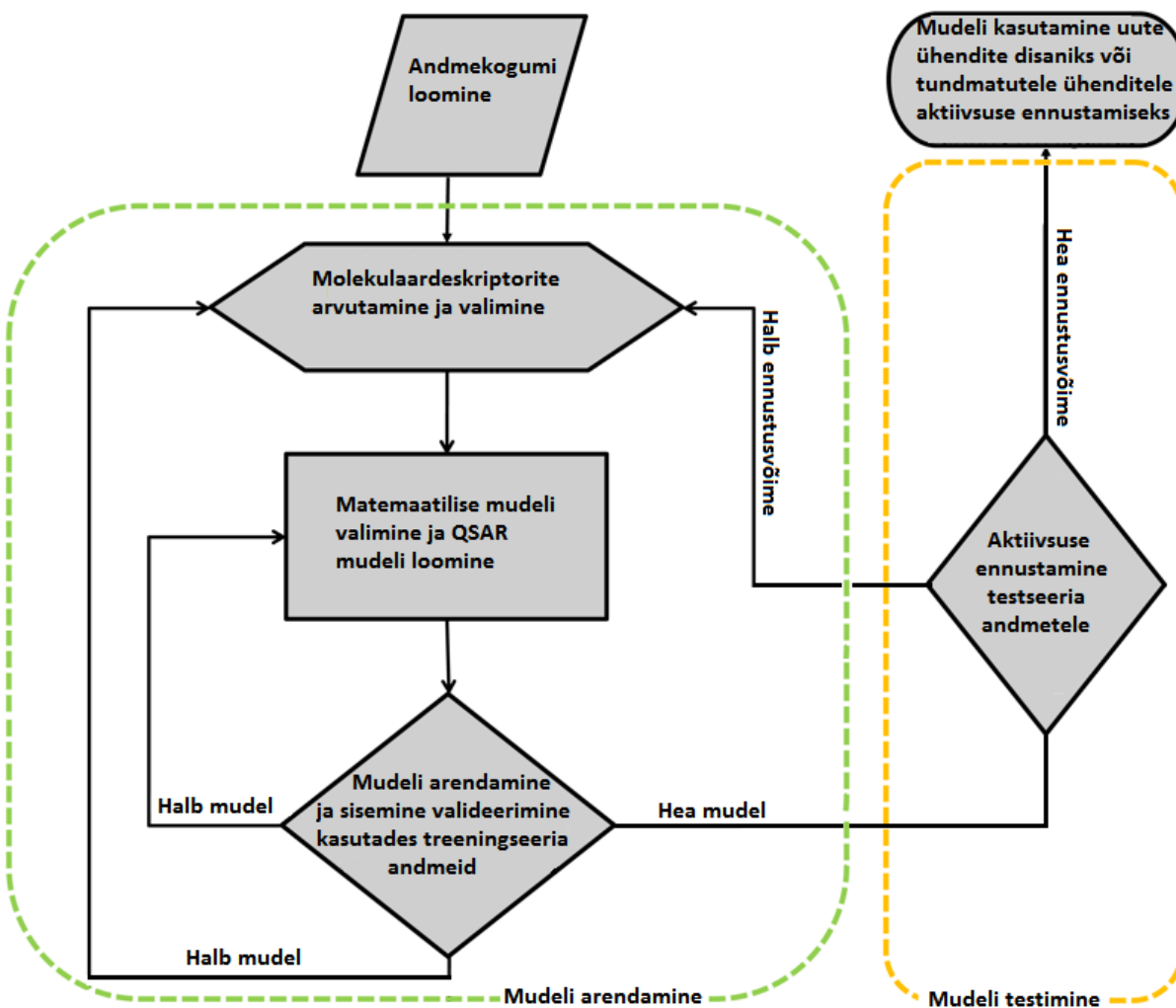
1.3 Nanotoksilisuse uurimine *in silico* meetoditega

Kuna eksperimentaalsed mõõtmised on kulukad, siis alternatiivselt tegeletakse erinevate QSAR mudelite arendamisega, mille abil oleks võimalik nanoosakeste toksilisust ennustada. Sel viisil saaks välja eraldada need nanoosakesed, mille toksilisust pole esmajärjekorras vaja eksperimentaalselt uurida ehk nõ. ohutud nanoosakesed. Üldkasutatava QSARi loomist takistab ebakõla erinevate autorite eksperimentaalsetes andmetes ja seega ka ühe ühtse suure toksilisuse andmeseeria olemasolu. Hetkel on anorgaanilistele nanoosakestele võimalik nano-QSAR mudelit luua vaid väikeste andmeseeriade pealt, kuna erinevate autorite tehtud uuringud nanotoksilisuse kohta on tehtud erinevate organismide peal. Lisaks raskendab *in silico* mudeli loomist nanoosakeste suurusest tulenev kõrge arvutusressursi nõudlikus, mille tõttu ei saa kasutada *ab initio* ja paljusid molekulaarmehhaanika arvutusmeetodeid. Kui 5 nm raadiusega osake sisaldab parkümmend tuhat aatomit, siis 30 nm raadiusega osake sisaldab üle kümne miljoni aatomi.

[13]

1.3.1 QSAR meetod

QSAR on mudel ehk võrrand, mis seob omavahel keemiliste ühendite molekulaarse struktuuri ja neile vastava bioloogilise aktiivsuse. Korrektselt loodud ja valideeritud mudeleid kasutatakse uute ühendite bioloogilise aktiivsuse määramiseks. Mudeli loomine koosneb kolmest peamisest etapist: (i) bioloogilise aktiivsuse kohta olemasolevate andmete kogumine; (ii) mudeli arendamine (statistiline algoritm) ja (iii) mudeli valideerimine. Joonisel 2 on toodud QSAR mudeli loomise üldised etapid. [14]



Joonis 2. Üldine QSAR mudeli loomise protsess.

Mudeli arendamiseks kasutatakse mitme-muutuja-analüüsi. Selle käigus valitakse eelnevalt arvatud deskriptorite seast välja parimad ja vajadusel jäetakse mudelist välja ka oluliselt hälbivate parameetritega ühendid. Analüüsi tulemuseks saadakse matemaatiline mudel kujul,

$$P(\text{tox}) = a + bD_1 + cD_2 + \dots, \quad (1)$$

kus P on toksilisus; a , b , c jne on arvulised kordajad; D_1 , D_2 jne on deskriptorid. Lisaks esitatakse mudeli viga ja korrelatsiooni koefitsiendid. [14]

Mudeli valideerimise tulemusena saab hinnata mudeli kvaliteeti. Valideerimiseks on kaks peamist moodust: andmeseeriasisene ja andmeseeriaväline valideerimine. Mudelisisel valideerimisel jäetakse välja kas üks või mitu andmepunkti. Seejärel koostatakse ülejäänud andmepunktidega korrelatsioon deskriptorite väärtuste ja bioloogilise aktiivsuse vahel. Lõpuks saab korrelatsioonile vastavat valemit kasutada välja jäetud punktide bioloogilise aktiivsuse ennustamiseks. Protsessi korratakse, jättes välja mõne teise andmepunkti grupi. Olulisemad valideerimise käigus jälgitavad parameetrid on korrelatsiooni koefitsiendi ruut (R^2), jääkliikme standardhälve ja ennustav ruutkorrelatsiooni koefitsient (R^2_{cv}). [14,15]

Välise valideerimise korral jagatakse kogutud andmed juba mudeli loomise alguses kahte gruppi: treeningseeria ja testseeria. Treeningseeriat kasutatakse mudeli arendamiseks ja testseeriat kasutatakse hiljem ainult mudeli valideerimiseks. Testseeriale tehakse bioloogilise aktiivsuse ennustus loodud mudelist lähtuvalt. Seejärel võrreldakse omavahel ennustuse R^2 mudeli R^2 -ga, mille erinevust loetakse antud meetodi puhul QSAR-i usaldusväärsuse hinnanguks. Tuleb arvestada, et kui andmed on kogutud erinevatest allikatest, on oodata märgatavat R^2 vahet kahe andmegrupi vahel. Lisaks R^2 erinevusele hinnatakse ka ruutkeskmist viga ja R^2_{cv} . [14,15]

1.3.2 Ülevaade nanoQSAR mudelitest

Puzyn jt. [16] löid mudeli, mis kirjeldab 17 metalli oksiidi tsütotoksilist mõju *Escherichia coli* bakterile gaasilise metalli katiooni tekke-entalpia kaudu. Mudeli loomisel tehti eeldus, et antud deskriptor pole suurusest sõltuv ja seega teostati arvutused 1,2 nm osakestega. Geomeetria optimeerimine ja deskriptori arvutus metallioksiididele viidi läbi PM6 meetodi abil. Tulemuseks saadi ühe deskriptoriga mudel, mille $R^2=0,85$ ja $R^2_{cv}=0,77$.

Välja on pakutud optimaalsete deskriptorite kaudu nanoosakestele QSAR mudelite loomist. Optimaalsed deskriptorid on defineeritud kui vahesamm klassikaliste ja nanodeskriptorite vahel. See tähendab, et deskriptoreid võib arvutada nii molekulaarstruktuurist lähtuvalt või ka aine kohta olemasolevast muust infost lähtuvalt, mis ei ole seotud tema struktuuriga. Selliseid deskriptoreid kasutasid Toropova jt. [17] oma töös, kus üritati mudeliga kirjeldada nanosuures metalli oksiidide tsütotoksilisuse mõõtmise tulemusi valguse mõjuga

(i.k. *photo-induced cytotoxicity*) ja pimedas keskkonnas (i.k. *dark cytotoxicity*). Töös kasutatavad deskriptorid on arvatud SMILES koodi põhjal, kus valgusindutseeritud toksilisust on eristatud pimedas toimuvast protsessist sellega, et SMILES koodi lõppu on lisatud '^'. 34 oksiidide jagati treening ja valideerimise seeriatesse ning saadi mudelid, mille R^2 treeningseeria puhul oli vahemikus 0,90-0,94 ja valideerimisseeria puhul vahemikus 0,73-0,98 [18]. SMILES koodi põhjal on loonud mudeleid ka teised autorid [19,20].

Viimasel ajal on uurimise alla sattunud ka nanoosakesed, mille pindkihil on kas mõni orgaaniline molekul või mõne teise metalli aatomid. Nanoosakese katmine orgaaniliste molekulide kihiga (i.k. *coating*) lihtsustab tema transportimisest kehasse ja vähendab võimalikku aglomeratsiooni. Samas võib nanoosakest kattev orgaanika mõjutada tema toksilisust organismile. Selliseid nanoosakesi on üritatud ka QSARi abil modelleerida. Hetkel leiduvates töödes on aga deskriptorite arvutusi tehtud eeldusel, et omadus sõltub vaid nanoosakest katvast molekulist ja vastavad deskriptorid on arvatud katva molekuli struktuurist. [17,21]

2 Metoodika

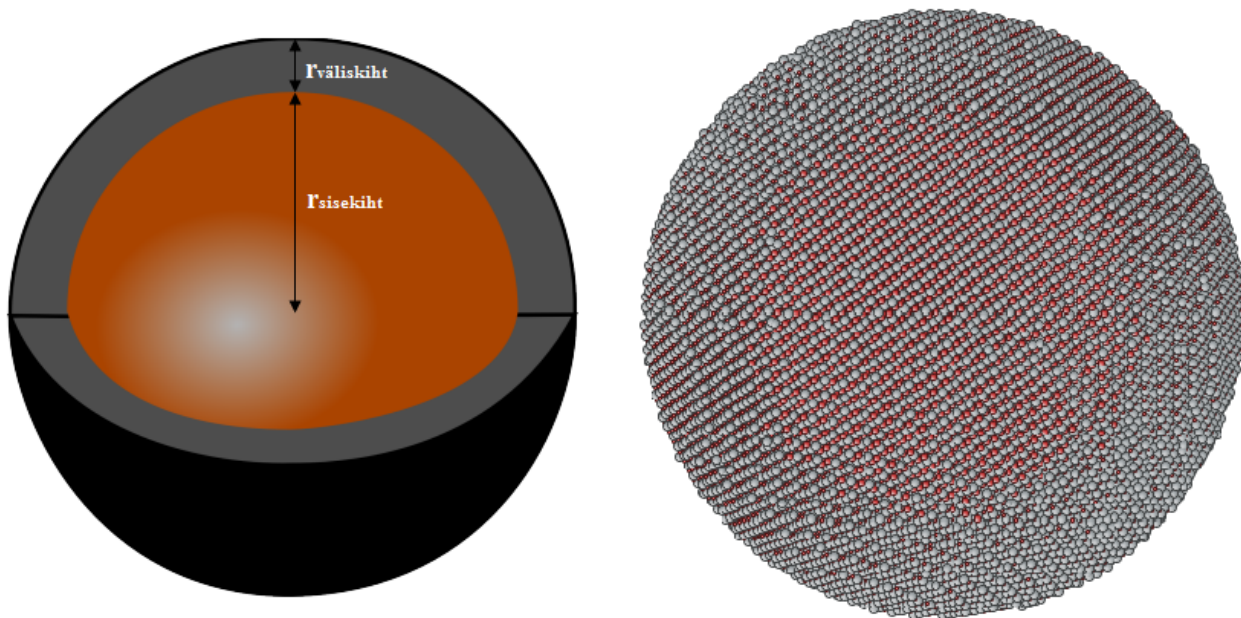
2.1 Andmevalim

Andmevalimi koostamisel kasutati Zhang jt. [22], Horie jt. [12] ja Puzyn jt. [16] tööst leitud 24 metallioksiidi. Zhang jt. töös kasutatavatest metallioksiididest jäeti maatriksi tegemisel kõrvale 3 oksiidi. Nendest kaks (Fe_3O_4 ja Co_3O_4) sisaldasid kahe erineva valentsiga metalle kristallstruktuuris, mida antud arvutusmeetodiga hetkel kirjeldada pole võimalik. Kõrvale jäeti ka Ni_2O_3 , sest sellele oksiidile ei suudetud leida seda kirjeldavat kristallstruktuuri. Horie jt. töös leiduvatest oksiididest jäeti kõrvale kõik pinnamodifikatsioone omavad nanoosakesed, kuna pinnamodifikatsioonide modelleerimine ei olnud antud töö eesmärk vaid saab olla selle edasiarenduseks. Samuti jäeti kõrvale NiO musta värvi vorm, sest sellel puudub kindel kristallstruktuur ja koobalt sinine ning indium-tina segaoksiid, kuna neid pole käesolevas töös kasutatud meetodiga võimalik kirjeldada.

2.2 Nanoosakese modelleerimine

Kõigi 24 metalli oksiidi puhul valiti kristallstruktuuriks tema stabiilseim vorm standardtingimustel. Valitud kristallstruktuurist moodustati ühikrakk, mille paljundamisel saadi suur aatomite kogum, kust lõigati hiljem välja sobiva suuruse ja kujuga nanoosake. Ühikraku paljundamine ja koordinaatide alguspunktide viimine aatomikogumi keskele teostati programmiga Moltemplate [23]. Pärast sobiva kuju ja suurusega osakese välja lõikamist suurendati nanoosakese pinda 0,1 nm suuruse kihiga. Sinna kihti lisati aatomid, mis olid vajalikud nanoosakese elektroneutraalsuse säilitamiseks. Antud töös kasutati arvutusteks sfäärilisi nanoosakesi diameetriga 5 nm kuni 60 nm.

Pärast nanoosakese „väljalõikamist“ suurest aatomite kogumist tehti ka aatomite jaotus sise- ja väliskihi aatomiteks. Väliskihi aatomid on defineeritud kui 1 nm kiht aatomeid sfääri välispinnast. Aatomite selline jaotus valiti, kuna suurema kihi puhul saaksime liiga sisekihi aatomite lähedased omadused väliskihi aatomitele. Väiksema väliskihi valikul võib aga sinna jääda liiga vähe aatomeid, mis omakorda võivad arvutatud deskriptorid muuta liiga ekstreemseteks. Kui nanoosake oli valmis viidi sellega läbi deskriptorite arvutused. Joonisel 3 on kujutatud kuidas moodustub sise- ja väliskiht ning lisaks ka üks näide töös loodud nanoosakesest [24].



Joonis 3. Vasakul on kujutatud nanoosakese jaotamine sise- ja väliskihiks ning paremal antud töös loodud 7 nm raadiusega NiO nanoosakest.

2.3 Nanodeskriptorite arvutamise meetod

Deskriptorite arvutamiseks kasutati LAMMPS (Large-scale Atomic/Molecular Massively Parallel Simulator) tarkvara [25]. Antud tarkvara valiti kuna see on võimeline arvutusi läbi viima väga suurte süsteemidega ja on vabalt kättesaadav. Tehtud arvutused teostati perioodilises ruumis, milleks oli kindlate mõõtmetega kast. Nanoosake asub ümbritseva ruumi keskpunktis ja on võrreldes modelleerimiskasti mõõtmetega piisavalt väike, et nanoosakeses sisalduvad aatomid modelleerimiskasti piiridest välja ei satu. Samuti jäävad aatomite cutoff raadiused modelleerimiskasti sisse, ehk ka interaktsioonid nanoosakeste vahel puuduvad. Arvutatud energia koosneb kahest komponendist, milleks on Buckinghami potentsiaali [26] kaudu arvutatud paaride vahelised interaktsioonid ja Wolf summeerimise [27] kaudu arvutatud kulonilised interaktsioonid. Buckinghami paarivaheliste potentsiaalid arvutati järgneva valemi abil:

$$E_B = A * e^{-r/\rho} - \frac{C}{r^6} \quad r < r_c, \quad (2)$$

kus:

A , ρ ja C - Buckinghami konstandid, mis kirjeldavad aatomite paari vahelist interaktsiooni.

r - kahe aatomi kaugus teineteisest.

r_c - *cutoff* kaugus ehk kaugus, milles kaugemal olevate aatomitega interaktsioone ei arvestata.

Wolf summeerimist saab kirjeldada järgneva valemiga:

$$E_{W_i} = \frac{1}{2} \sum_{j \neq i} \frac{q_i * q_j * \text{erfc}(\alpha r_{ij})}{r_{ij}} + \frac{1}{2} \sum_{j \neq i} \frac{q_i * q_j * \text{erf}(\alpha r_{ij})}{r_{ij}} \quad r < r_c, \quad (3)$$

kus:

q_i, q_j - vastavate aatomite laengud

erf, erfc – vastavalt vea funktsioon ja komplementaarne veafunktsioon

α - summutus tegur

r – aatomite vaheline kaugus

r_c – *cutoff* kaugus

Energia arvutuseks valiti sellised meetodid, mis on võimelised andma usaldusväärseid tulemusi ka väga suurte (paarkümmend miljonit aatomit sisaldavate) süsteemide kirjeldamisel. Wolf summeerimise kohta on öeldud, et ta suudab anda lähedasi tulemusi Ewald summeerimisele kui kasutada piisavalt suuri cutoff kauguseid ja väikest summutustegurit [28]. Ewald summeerimist katsetati alguses kuloniliste interaktsioonide arvutamiseks, aga jäeti õrvale, kuna juba 15 nm osakese juures olid arvutusressursi nõudlused liiga suured nende läbiviimiseks. Et leida sobivad cutoff kauguste väärtused tehti enne nanoosakestega arvutuste läbiviimist arvutused 2x2x2 ühikraku peal. Sellise ühikraku võreenergiat kasutati ka ühe deskriptori arvutamisel, mida kirjeldatakse arvutatud deskriptorite osas. Töös on arvutused läbi viidud ilma geomeetria optimeerimiseta aja puuduse ja meetodi ühtluse pärast. Samas on antud meetodiga edukalt läbiviidud ka struktuur optimeerimisega deskriptorite arvutusi. Buckinghami paaripotentsiaalide arvutamiseks kasutatud konstandid koos viidetega on iga metallioksiidi jaoks toodud ära lisas.

2.3.1 Buckinghami paaripotentsiaalide konstantide tuletamine

Kuna kirjandusest ei olnud võimalik leida antimon(III)oksiidi paaripotentsiaalide konstante tuli need käesoleva töö teostamiseks ise tuletada. Konstantide tuletamist alustati ZnO vastavate konstantide leidmisega. Selle oksiidi puhul olid vajalikud väärtused kirjanduses olemas ja nende järgi saab otsustada, kas tuletamise meetodika on korrektne. Esimese sammuna arvutati kristallstruktuurile energia. ZnO puhul kasutati selleks 2x2x2 vurtsiit ühikraku struktuuri. Energia arvutused viidi läbi Gaussian09 [29] tarkvara paketi kasutades B3LYP funktsionaali

[30-33] ja $6-311+G^{**}$ baasi [34-36]. Energia sidemepikkustest sõltuvuse leidmiseks suurendati ühikrakku 5% sammuga kuni kahekordsete sidemepiikusteni. Samamoodi vähendati ühikrakku 5% kaupa 75%-ni algsetest sidemepikkustest. Klastrite ioonidevahelise interaktsioonienergia leidmiseks lahutati nii saadud energiatest isoleeritud ioonide energia (metalli ioonide ja hapniku ioonide energia), lisaks lahutati maha kuloniline osa energiast, mis arvutati LAMMPS programmiga ja O-O paaripotentsiaal, et järgi jääks vaid M-O (metalli ja hapniku vaheline) paaripotentsiaal vastavatele suurendustele. Mõlemas paaripotentsiaalide konstantide arvutamises võeti O-O paaripotentsiaali konstantid J. Binksi doktoritööst [37]. Konstantide leidmisel tehti lihtsustus, et M-M paaripotentsiaali väärtus on võrdne nulliga. M-O paaripotentsiaali kõveralt vastavate konstantide leidmiseks kasutati NEWUOA optimeerijat [38], mis otsib etteantud funktsioonile vajalikud parameetrid, kui muutujatele vastavad funktsiooni väärtused on ette antud. Sel viisil leiti ZnO jaoks konstandid, mis langesid kokku J. Binksi doktoritöös avaldatutega. Seejärel korraldati vastavat protsessi antimon(III)oksiidi jaoks. Kuna $6-311+G^{**}$ baasiga antimoni ühendite energiat arvutada ei saa, siis kasutati selle asemel *Def2-TZVDP* baasi [39]. Teiste metallioksiidide paaripotentsiaalide konstantidest lähtudes tehti lihtsustus, et ka antimon(III)oksiidi puhul on konstant C (kirjeldab aatomitevahelist dispersioonist tulenevat tõmbumist) võrdne nulliga. Seega otsiti vaid kahe konstandi väärtust valemist. Saadud konstandid antimon(III)oksiidi jaoks on antud lisas koos teiste oksiidide vastavate konstantidega.

3 Tulemused

3.1 Nanodeskriptorite klassifikatsioon ja näited

Käesoleva töö käigus loodi 35 nanoosakest kirjeldavat deskriptorit, mis sõltuvad ka otseselt nanoosakese suuruselt. Tabelis 1 on toodud loodud deskriptorite klassid:

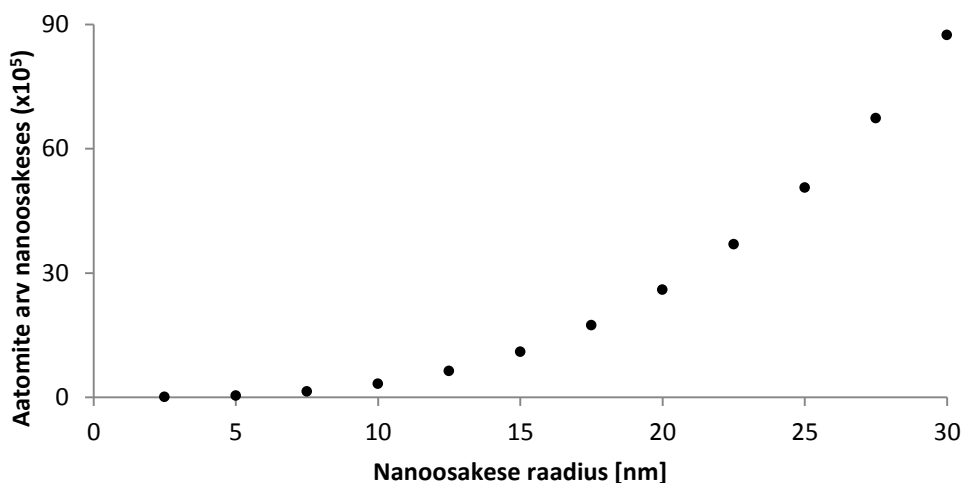
Tabel 1. Arvutatud deskriptorite klassid koos kahe näitega

Geomeetrilised:	TiO₂	Al₂O₃
<i>Diameeter [nm]</i>	20	60
<i>Pindala [nm²]*</i>	1259	11317
<i>Ruumala [nm³]*</i>	4201	113210
Konstitutsioonilised:*		
<i>Aatomite arv nanoosakeses*</i>	402483	6544700
<i>Aatomite arv sisekihis*</i>	293465	5911572
<i>Aatomite arv väliskihis*</i>	109018	633128
<i>Metalli aatomite arv*</i>	134161	2617880
<i>Metalli aatomite arv sisekihis*</i>	97789	2364696
<i>Metalli aatomite arv väliskihis*</i>	36372	253184
<i>Hapniku aatomite arv*</i>	268322	3926820
<i>Hapniku aatomite arv sisekihis*</i>	195676	3546876
<i>Hapniku aatomite arv väliskihis*</i>	72646	379944
Potentsiaalset energiat kirjeldavad:		
<i>Aatomite keskmine potentsiaalne energia [eV]</i>	-40,31	-28,37
<i>Aatomite keskmine potentsiaalne energia sisekihis [eV]</i>	-40,48	-28,43
<i>Aatomite keskmine potentsiaalne energia väliskihis [eV]</i>	-39,88	-27,79
<i>Metalli aatomite keskmine potentsiaalne energia [eV]</i>	-78,99	-42,53
<i>Metalli aatomite keskmine potentsiaalne energia sisekihis [eV]</i>	-79,34	-42,62
<i>Metalli aatomite keskmine potentsiaalne energia väliskihis [eV]</i>	-78,03	-41,66
<i>Hapniku aatomite keskmine potentsiaalne energia [eV]</i>	-20,98	-18,93
<i>Hapniku aatomite keskmine potentsiaalne energia sisekihis [eV]</i>	-21,05	-18,97
<i>Hapniku aatomite keskmine potentsiaalne energia väliskihis [eV]</i>	-20,77	-18,55
Topoloogilised:		
<i>Aatomite keskmine koordinatsiooni arv</i>	3,94	2,39
<i>Aatomite keskmine koordinatsiooni arv sisekihis</i>	4,00	2,40
<i>Aatomite keskmine koordinatsiooni arv väliskihis</i>	3,78	2,26
<i>Metalli aatomite keskmine koordinatsiooni arv</i>	5,91	2,98
<i>Metalli aatomite keskmine koordinatsiooni arv sisekihis</i>	6	3
<i>Metalli aatomite keskmine koordinatsiooni arv väliskihis</i>	5,67	2,83
<i>Hapniku aatomite keskmine koordinatsiooni arv</i>	2,96	1,99
<i>Hapniku aatomite keskmine koordinatsiooni arv sisekihis</i>	3	2
<i>Hapniku aatomite keskmine koordinatsiooni arv väliskihis</i>	2,84	1,89

Võreenergiat kirjeldavad:		
<i>Võreenergia [eV]</i>	-120,94	-141,86
<i>Nanoosakese võreenergia erinevus perfektse kristalli võreenergiast [eV]</i>	-0,50	-0,31
<i>Võreenergia ja diameetri suhe [eV/Å]</i>	-0,60	-0,24
<i>Võreenergia ja pindala suhe [eV/Å²]*</i>	-9,60E-04	-1,25E-04
<i>Võreenergia ja ruumala suhe [eV/Å³]*</i>	-2,88E-05	-1,25E-06

*Mudeliarenduses kasutati logaritmilist väärtust.

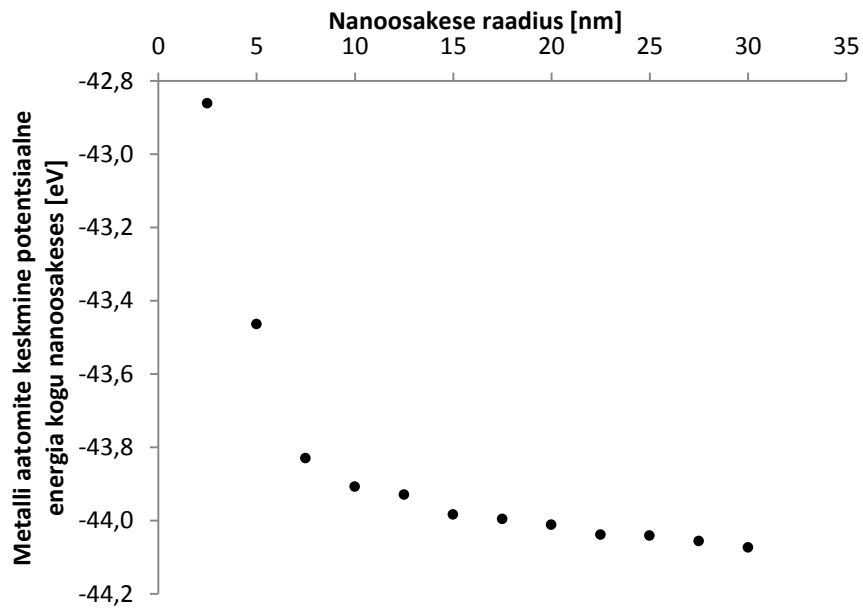
Esimeseks deskriptorite klassiks on keemilist koostist kirjeldavad deskriptorid, kuhu kus on kokku üheksa erinevat deskriptorit, mis kirjeldavad aatomite arvu kogu nanoosakese ja ka tema erinevates kihtides (sisekihis ja väliskihis). Lisaks on eraldi toodud metalli ja hapniku aatomite arv vastavates kihtides. Maatriksis on toodud vastavate deskriptorite logaritmilised väärtused, et maatriksis toodud väärtused oleks ühes suurusjärgus. Vastasel juhul kasvaks 5 nm osakesest 60 nm osakeseni liikudes deskriptori väärtus 4 suurusjärku. Joonisel 4 on toodud aatomite arvu sõltuvus nanoosakese suurusest.



Joonis 4. In₂O₃ nanoosakeses olevate aatomite arvu sõltuvus nanoosakese raadiusest.

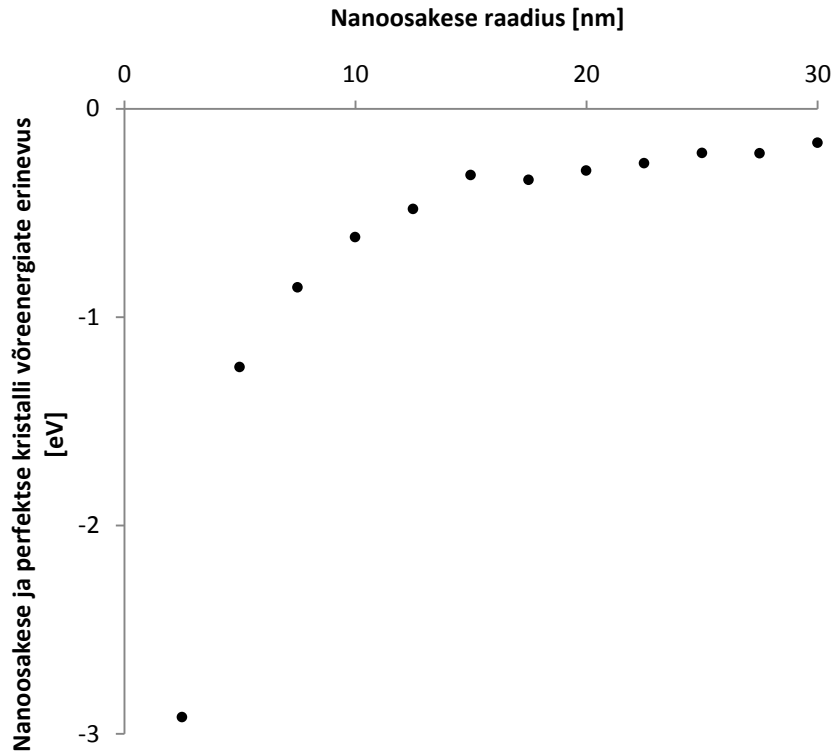
Aatomite keskmist potentsiaalset energiat kirjeldavaid deskriptoreid on samuti üheksa. Need kirjeldavad kas kõigi või vastava aatomi tüübi (metall või hapnik) keskmist potentsiaalset energiat kogu nanoosakeses või selle eri kihtides. Keskmise potentsiaalne energia on saadud aatomi energiatega summeerimisel ja seejärel selle läbijagamisel kas kõigi või vastavate aatomite arvuga. Energia väärtuse ühikuks on elektronvoldid. Jooniselt 5 on näha, et väiksemate

nanoosakeste puhul deskriptori väärtus muutub rohkem stabiliseerudes umbes raadiuse 10 nm juures.



Joonis 5. Fe_2O_3 metalli aatomite keskmise potentsiaalse energia sõltuvus nanoosakese raadiusest.

Nanoosakese võreenergiat kirjeldavaid deskriptoreid on loodud viis. Nanoosakese võreenergia on leitud nanoosakese potentsiaalse energia jagamisel M_xO_y ühikute arvuga vastavas nanoosakeses. Lisaks võreenergiale endale on loodud viie deskriptori hulgas ka nanoosakese võreenergia sõltuvused erinevatesse nanoosakese parameetritesse nagu diameeter, pindala ja ruumala. Toodud on ka perfektse kristalli (antud juhul $2 \times 2 \times 2$ ühikraku) ja nanoosakese võreenergia erinevus. Energia on ka siin arvatatud elektronvoltides. All toodud jooniselt 6 on näha, et nanoosakese kasvades hakkab tema võreenergia järjest lähenema perfektse kristalli võreenergiale, millest võib järeldada, et nanoosakese suurenedes hakkavad tema omadused muutuma perfektse kristalli lähedaseks.



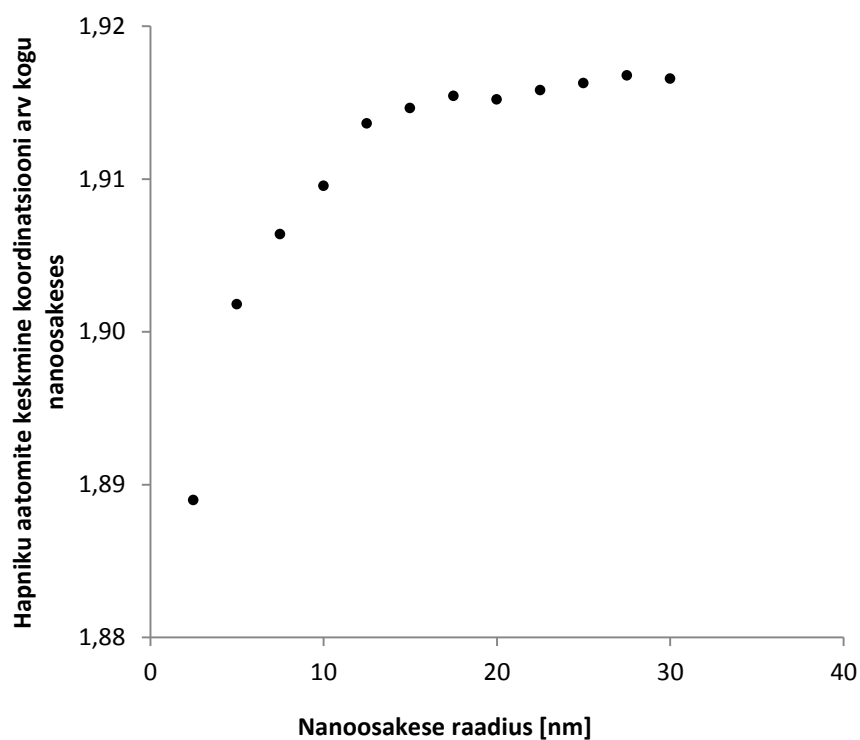
Joonis 6. Cr₂O₃ nanoosakese võreenergia ja perfektse kristalli võreenergia vahe muut raadiuse kasvades.

Topoloogiat kirjeldavaid deskriptoreid on kokku üheksa. Need kirjeldavad nanoosakeses olevate aatomite keskmiseid koordinatsiooni arve. Aatomi keskmine koordinatsiooni arv on saadud sarnaselt tema keskmisele potentsiaalsele energiale liites kokku kõigi aatomite koordinatsiooni arvud ja seejärel jagades kogu aatomite arvuga. Ühe aatomi koordinatsiooni arv saadakse tema ümber sfääri moodustamisel ja sfääri keskel oleva aatomi naaberaatomite loendamisel. Sfääri raadius (R_s) on arvutustes antud valemiga:

$$R_s = 1,2 * (R_M + R_H), \quad (4)$$

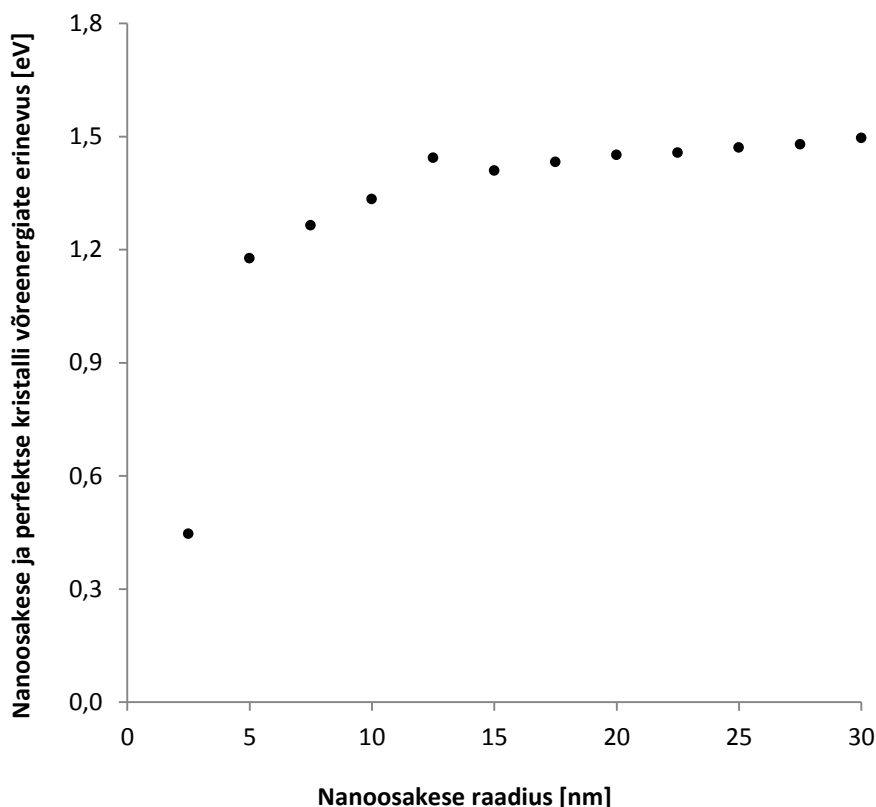
kus R_m ja R_H on vastavalt metalli ja hapniku aatomite ionraadiused.

Näitena sellesse gruppi kuuluva deskriptori sõltuvusest nanoosakese raadiusest on toodud joonisel 6. Sealt on näha et koordinatsiooni arv sõltub nanoosakese suurusest ja nanoosakese kasvades selle muutus stabiliseerub. Nanoosakese sisekihis olevate aatomite keskmine koordinatsiooni arv on stabiilne ja võrdne perfektse kristallis esinevale väärtusele.



Joonis 7. SiO₂ hapniku aatomite keskmine koordinatsiooni arv kogu nanoosakeses.

Lisaks eelnevalt nimetatud 4 deskriptori klassile arvutati veel kolm nanoosakese mõõtmest otse arvatavat deskriptorit. Nendeks on nanoosakese diameeter, pindala ja ruumala. Neist esimese leidmiseks kasutati algoritmi, mis mõõtis kahe teineteisest kõige kaugemal oleva aatomi kauguse. Ülejäänud kaks deskriptorit arvutati leitud diameetri kaudu. Deskriptorite maatriksis on nii pindala kui ruumala esitatud sarnaselt aatomite arvule logaritmilisel kujul. Näide seda tüüpi deskriptorist on esitatud joonisel 7.



Joonis 8. CuO nanoosakese ja perfektse kristalli võreenergiate vahe sõltuvus nanoosakese raadiusest.

3.2 Nanodeskriptorite kasutamine QSAR mudelites

Deskriptorite maatriksi valideerimiseks loodi kaks QSAR mudelit, mille eesmärk oli välja selgitada, kas loodud deskriptorite põhjal on võimalik nende osakeste omadusi ennustada. Mudelite tegemisel kasutati CODESSA PRO programmpaketti [40] ja HMPRO (*i.k. Heuristic Method Professional*) ning BLMR (*i.k. Best Multilinear Regression*) meetodit [41]. Lisaks korrelatsiooni koefitsiendi ruudule (R^2) ja ristvalideeritud korrelatsiooni koefitsiendi ruudule (R_{cv}^2) on iga mudeli juures ära toodud ka mudeli standardhälve (s^2) ja F-testi väärtus (F).

Esimeses mudelis kasutati Puzyn jt. 2011 aasta artiklis [16] leitud toksilisuse andmeid (logaritm $1/EC_{50}$ väärtusest soolekepikesele), mis oli mõõdetud 17 metallioksiidile. Nanoosakeste tegelike mõõtmete saamiseks kontakteeruti ka personaalselt antud töö eksperimendi tegijaga, kes lubas antud töös need suurused avaldada. Mudeli loomiseks kasutati

HMPRO meetodit. Mudeli ennustatud ja eksperimendis saadud toksilisuse väärtused on toodud tabelis 2.

Tabel 2. QSAR mudelist saadud toksilisuse andmed koos kasutaud deskriptori väärtuste ja arvutuses kasutatud nanoosakeste suurustega. Lisaks on toodud valideerimisel saadud toksilisuse väärtused.

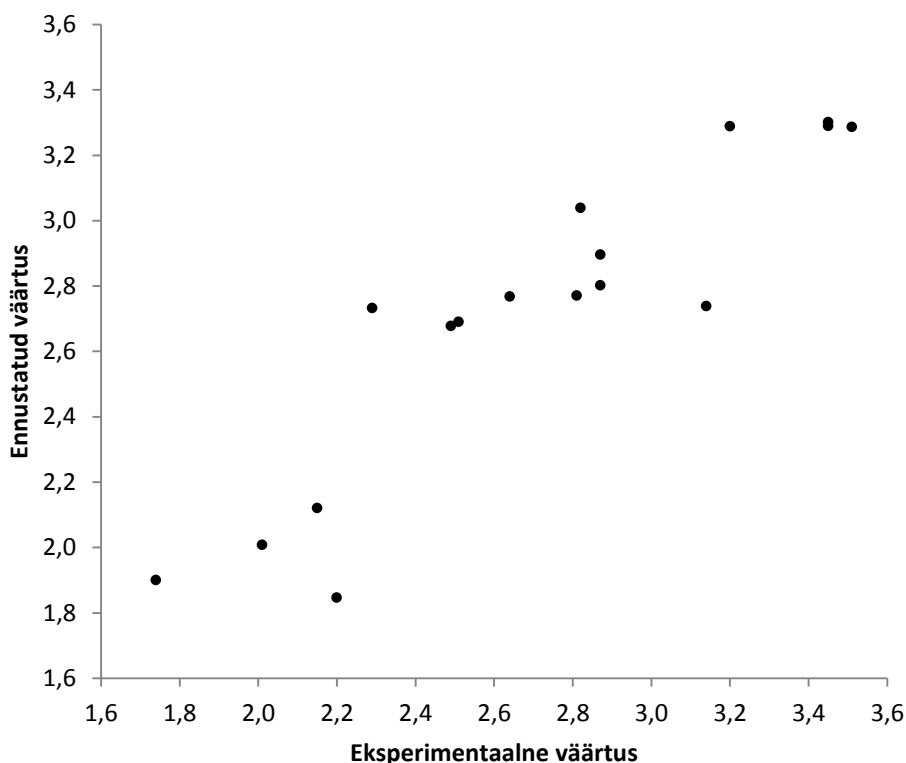
	Ennust.	Eksp.	Val.	D [eV]	Diam. [nm]
Al₂O₃	2,68	2,49	2,69	-45,45	71,00
Bi₂O₃	3,04	2,82	3,06	-30,32	28,00
CoO	3,29	3,51	3,25	-19,93	44,00
Cr₂O₃	2,69	2,51	2,70	-44,94	45,60
CuO	3,29	3,2	3,30	-19,86	32,00
Fe₂O₃	2,73	2,29	2,76	-43,18	46,10
In₂O₃	2,77	2,81	2,77	-41,57	42,30
La₂O₃	2,90	2,87	2,90	-36,30	38,00
NiO	3,29	3,45	3,26	-19,81	90,00
Sb₂O₃	2,77	2,64	2,78	-41,69	46,70
SiO₂	1,85	2,2	1,72	-80,31	15,00
SnO₂	2,01	2,01	2,00	-73,55	29,80
TiO₂	1,90	1,74	1,95	-78,05	90,00
V₂O₃	2,74	3,14	2,71	-42,91	90,00
Y₂O₃	2,80	2,87	2,80	-40,24	60,00
ZrO₂	2,12	2,15	2,11	-68,83	20,00
ZnO	3,30	3,45	3,28	-19,31	95,00

Mudelit kirjeldav võrrand avaldub kujul:

$$\log(1/EC_{50}) = 3,761 + 0,024Dx, \quad (5)$$

kus Dx on metalli aatomi keskmine potentsiaalne energia nanoosakese väliskihis.

Selle mudeli põhjal võib järeldada, et mida kõrgema energiaga on metalli aatomid nanoosakese pinnal, seda suurem on nende toksiline mõju. Ehk mida ebastabiilsemad nad on, seda kergemini interakteeruvad ümbritsevate molekulidega. Statistilised parameetrid sellel mudelil on $R^2=0,83$, $R^2_{cv}=0,78$, $F=74,85$ ja $s^2=0,05$. Võrreldes saadud mudeli R^2 ja R^2_{cv} Puzyn jt. mudeli vastavate parameetritega ($R^2=0,85$ ja $R^2_{cv}=0,77$) tuleb välja, et ülaltoodud mudelis on natuke väiksem R^2 , samas aga natuke suurem R^2_{cv} . Seega võiks mudeleid pidada suhteliselt võrdväärseteks. Erinevus Puzyn jt. mudeliga on kasutatud deskriptorites. Kui Puzyn jt. kasutasid 1,2 nm osakestele arvutatud deskriptorit, siis antud töös kasutati deskriptoreid, mis on arvutatud lähtudes eksperimendis kasutatud nanoosakeste suurustest.



Joonis 9. Log(1/EC₅₀) QSAR mudeli graafiline esitus.

Mudeli valideerimiseks kasutati antud töös *Bootstrap* meetodit [41], kuna antud mudel oli loodud väga väikese andmekogumiga. Valideerimine teostati jättes mudeli loomisel punkte välja ühekaupa ning seejärel arvutati neile toksilisuse väärtus loodud mudeli põhjal. Protsessi korrati kuni kõikidele punktidele oli sel viisil toksilisuse väärtus arvatud. Valideerimisel arvatud väärtused on toodud tabelis 2. Seejärel leiti kõigi loodud mudelite keskmine R^2_{cv} , mille väärtuseks oli 0,78. Keskmise R^2_{cv} järgi otsustatakse ka antud meetodil mudeli robustsust, ehk mida suurem R^2_{cv} väärtus, seda robustsem mudel.

Teiseks modelleeriti Pathakoti jt. [42] artiklis leiduvaid toksilisuse andmeid. Kokku loodi kolm mudelit, milles järjest kasvatati kasutatavate deskriptorite arvu. Ühe deskriptoriga mudeli puhul kasutati HMPRO meetodit, kahe ja kolme deskriptoriga mudeli puhul kasutati aga BMLR meetodit mudeli leidmiseks. Modelleeritavaks omaduseks kõigi mudelite puhul oli soolekepikese peal mõõdetud logaritmi EC₅₀ väärtusest. EC₅₀ väärtused mõõdeti pimedas keskkonnas. Tabel 3

abil on võimalik võrrelda statistiliste parameetrite muutumist deskriptorite arvu kasvades. Tabelist on näha, et deskriptorite arvu kasvades kasvab nii R^2 kui ka R^2_{cv} .

Tabel 3. $\log(1/EC_{50})$ mudelite statistilised parameerid ja valemid.

N_{desk}	R^2	R^2_{cv}	F	s^2	QSAR mudel $\log 1/EC_{50}$ arvutamiseks
1	0,70	0,57	28,45	0,23	$P_I=5,24-0,08*D_1$
2	0,81	0,68	23,49	0,16	$P_{II}=5,30+0,06*D_2+0,01*D_3$
3	0,91	0,84	34,66	0,08	$P_{III}=6,05-0,37*D_4+0,41D_5+0,56D_6$

Mudelite loomisel kasutatud deskriptorid olid:

D_1 – Kõigi aatomite keskmine potentsiaalne energia nanoosakeses

D_2 – Hapniku aatomite keskmine potentsiaalne energia nanoosakese väliskihis

D_3 – Nanoosakese võreenergia

D_4 – Hapniku aatomite arv nanoosakese väliskihis

D_5 – Hapniku aatomite keskmine koordinatsiooni arv nanoosakese sisekihis

D_6 – Metalli aatomite keskmine koordinatsiooni arv nanoosakese väliskihis

Tabel 4. Mudelitega saadud toksilisuse väärtused (I, II, III) koos eksperimentaalsete väärtustega.

	Eksp.	I	II	III	D_1 [eV]	D_2 [eV]	D_3 [eV]	D_4	D_5	D_6	Diameeter [nm]
CuO	4,24	3,96	3,63	3,80	-20,33	-20,14	-40,65	5,05	3,50	3,32	28,00
TiO₂	2,14	2,24	2,34	2,11	-40,87	-25,88	-122,60	5,53	3,00	5,69	42,00
CoO	3,13	3,65	3,50	3,31	-20,12	-22,31	-40,25	5,67	6,00	5,67	55,00
In₂O₃	2,83	2,45	2,56	2,47	-28,19	-18,72	-140,95	5,71	4,00	5,66	60,00
NiO	3,79	3,69	3,64	3,78	-20,11	-20,02	-40,21	4,44	6,00	5,64	14,00
Al₂O₃	2,42	2,37	2,29	2,40	-30,85	-20,56	-154,83	5,83	4,00	5,70	55,00
SiO₂	2,54	2,78	2,47	3,01	-42,44	-22,90	-127,31	4,78	2,00	3,82	20,00
SnO₂	2,53	2,32	2,77	2,50	-38,11	-20,25	-114,34	4,54	3,00	5,63	15,00
ZrO₂	2,58	2,41	3,34	2,34	-32,63	-13,87	-97,88	5,08	3,75	6,12	27,00
Cr₂O₃	2,06	2,37	2,28	2,49	-30,83	-20,83	-154,16	5,62	4,00	5,69	47,00
Fe₂O₃	2,4	2,39	2,36	2,36	-30,00	-20,25	-149,93	5,96	4,00	5,69	68,00
Bi₂O₃	3,55	3,76	3,77	3,55	-17,69	-8,53	-88,44	6,44	6,00	4,73	144,00
La₂O₃	4,96	4,78	4,78	5,01	-12,53	3,51	-62,69	5,70	10,00	5,58	65,00
Sb₂O₃	3,12	3,12	2,56	3,14	-28,40	-18,54	-142,01	5,91	2,00	2,83	84,00

Kokkuvõte

Nanoosakeste unikaalsete omaduste tõttu nende kasutamine tarbeesemetes järjest kasvab. Samamoodi kasvab pidevalt ka uute nanoosakeste arv. Tänapäevaks on tehtud juba palju uurimusi nanoosakeste mõju kohta nii elusorganismidele kui ka neid ümbritsevale keskkonnale. Nanoosakeste kiire arengu tõttu tuleks aga leida ka kiiremaid ja odavamaid viise nende toksiliste mõjude hindamiseks. Sellist lahendust pakuvad *in silico* meetodid, kus teadaolevate suuruste ja toksilisuse andmete põhjal saab leida kiirelt uue osakese toksilisust.

Töös anti ülevaade nanoosakeste toksilisuse senistest *in vitro* ja *in silico* meetoditel tehtud uurimustest. Töö praktilise osa eesmärgiks oli uute suurusest sõltuvate nanodeskriptorite loomine. Selle jaoks loodi sfäärilise kujuga nanoosakesed, mille aatomid jagati kahte kihti. Sisemise kihi aatomid omavad perfektses kristallis olevate aatomitega sarnaseid omadusi ja väliskihi aatomid on destabiliseeritud. Nanoosakese energia arvutused viidi läbi Buckinghami paaripotentsiaale ja Wolf summeerimist kasutades. Selline meetod ei nõua suuri arvutusressursse. Hetkel loodud deskriptorid on arvutatud ilma geomeetria optimeerimiseta.

Kokku loodi 24 metalli oksiidile 35 nanoosakesest kirjeldavad nanodeskriptorid. Igale metallioksiidile puhul tehti arvutused 5 nm kuni 60 nm diameetriga osakeseni suurendades nanoosakese diameetrit 5 nm kaupa. Loodud nanodeskriptorid koosnevad konstitutsioonilistest, topoloogilistest, geomeetrilistest, potentsiaalset energiat ja võreenergiat kirjeldavatest deskriptoritest. Loodud deskriptorite valideerimiseks modelleeriti ka kahest artiklist leitud toksilisuse andmeid. Saadud mudelid näitasid, et loodud deskriptoreid on võimalik kasutada nanoosakeste toksilisuse määramiseks.

Summary in English

Development and utilization of nanoparticles to predict nanotoxicity

The number of consumer products consisting nanoparticles is vastly growing due to their unique properties. Many studies have been carried out to investigate how nanoparticles affect living organisms as well the surrounding environment. Rapidly growing development of nanoparticles has brought the need for novel toxicity assessment methods. *In silico* methods can be used to quickly and accurately predict nanotoxicity values.

This work provides a short overview of current *in silico* and *in vitro* approaches for determination of nanotoxicity. The aim of this study was to develop novel type of size-dependent nanodescriptors. To do this, spherical nanoparticles were developed, where atoms in nanoparticle were categorized into core and shell regions. The atoms in shell are destabilized while the atoms in core region are assumed to have similar properties to bulk material. The energy calculations were carried out using Buckingham pairwise potentials and Wolf summation due to its ability to calculate large systems. All descriptors are calculated from single-point energy, but it is easily expandable to include energy minimization.

In total 35 nanodescriptors were developed for 24 different metal oxides. For each metal oxide the calculations were carried out for sizes ranging from 5 nm to 60 nm of diameter with 5 nm step. The developed descriptors consist of constitutional, topological, geometrical, average potential energy related and lattice energy related descriptors. Two QSAR models were developed for relevance and validation purpose. These models showed that the novel descriptors can be used to predict nanotoxicity.

4 Kasutatud kirjandus

1. *The Project on Emerging Nanotechnologies*; <http://www.nanotechproject.org/cpi/> viimati vaadatud 28.04.2015.
2. Agasti, S. S.; Rana, S.; Park, M. H.; Kim, C. K.; You, C. C.; Rotello, V. M. Nanoparticles for detection and diagnosis. *Adv. Drug Deliver Rev.* **2009**, *62* (3), 316-328.
3. De Jong, W. H.; Borm, P. A. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *Int. J. Nanomed* **2008**, *3* (2), 133-149.
4. Huang, H. S.; Hainfeld, J. F. Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia. *Int. J. Nanomed.* **2013**, *8*, 2521-2532.
5. Nel, A.; Xia, T.; Mädler, L.; Lin, N. Toxic Potential of Materials at Nanolevel. *Science* **2006**, *311* (5761), 622-627.
6. Kahru, A. Uued materjalid - kas ka uued ohud? Nanoosakesed. *Keskkonnatehnika* **2009**, *5*, 8-14.
7. Horie, M.; Kato, H.; Fujita, K.; Endoh, S.; Iwahashi, H. In Vitro Evaluation of Cellular Response Induced by Manufactured Nanoparticles. *Chem. Res. Toxicol.* **2012**, *25*, 605-219.
8. Xia, T.; Kovoichich, M.; Liong, M.; Mädler, L.; Gilbert, B.; Shi, H.; Yeh, J. I.; Zink, J. I.; Nel, A. E. Comparison of the Mechanism of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties. *ACS Nano* **2008**, *2* (10), 2121-2134.
9. Kahru, A.; Dubourguier, H. C. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology* **2010**, *269* (2), 105-119.
10. Passagnea, I.; Morilleb, M.; Rousseta, M.; Pujaltéa, I.; L'Azoua, B. Implication of oxidative stress in size-dependent toxicity of silica nanoparticles in kidney cells. *Toxicology* **2012**, *299*, 112-124.
11. Karlsson, H. L.; Gustafsson, J.; Cronholm, P.; Möller, L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles—A comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol. Lett.* **2009**, *188*, 112-118.
12. Horie, M.; Fujita, K.; Kato, H.; Endoh, S.; Nishio, K.; Komaba, L. K.; Nakamura, A.;

- Miyauchi, A.; Kinugasa, S.; Hagihara, Y.; Niki, E.; Yoshida, Y.; Iwahashi, H. Association of the physical and chemical properties and the cytotoxicity of metal oxide nanoparticles: metal ion release, adsorption ability and specific surface area. *Metallomics* **2012**, *4*, 350-360.
13. Gajewicz, A.; Rasulev, B.; Dinadayalane, T. C.; Urbaszek, P.; Puzyn, T.; Leszczynska, D.; Leszczynski, J. Advancing risk assessment of engineered nanomaterials: application of computational approaches. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 1663-1693.
 14. Katritzki, A. R.; Kuanar, M.; Slavov, S.; Hall, C. D.; Karelson, M.; Kahn, I.; Dobchev, D. A. Quantitative correlation of physical and chemical properties with chemical structure: utility for prediction. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 5714-5789.
 15. Cherkasov, A.; Muratov, E. N.; Fourches, D.; Varnek, A.; Baskin I. I.; Cronin, M.; Dearden, J.; Gramatica, P.; Martin, Y. C.; Todeschini, R.; Consonni, V.; Kuzmin, V. E.; Cramer, R.; Benigni, R.; Yang, C.; Rathman, J.; Terfloth, L.; Gasteiger, J.; Richard, A.; Tropsha, A. QSAR Modeling: Where Have You Been? Where Are You Going To? *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (12), 4977-5010.
 16. Puzyn, T.; Rasulev, B.; Gajewicz, A.; Hu, X.; Dasari, T. P.; Michalkova, A.; Hwang, H. M.; Toropov, A.; Leszczynska, D.; Leszczynski, J. Using nano-QSAR to predict the cytotoxicity of metal oxide nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* **2011**, *6*, 175-178.
 17. Toropov, A. A.; Toropova, A. P.; Puzyn, T.; Benfenati, E.; Gini, G.; Leszczynska, D.; Leszczynski, J. QSAR as a random event: Modeling of nanoparticles uptake in PaCa2 cancer cells. *Chemosphere* **2013**, *92*, 31-37.
 18. Toropova, A. P.; Toropov, A. A.; Rallo, R.; Leszczynska, D.; Leszczynski, J. Optimal descriptor as a translator of eclectic data into prediction of cytotoxicity for metal oxide nanoparticles under different conditions. *Ecotox. Environ. Safe.* **2015**, *112*, 39-45.
 19. Puzyn, T.; Leszczynska, D.; Leszczynski, J. Toward the Development of "Nano-QSARs": Advances and Challenges. *Small* **2009**, *5* (22), 2494-2509.
 20. Toropov, A. A.; Toropova, P. A.; Benfenati, E.; Gini, G.; Puzyn, T.; Leszczynska, D.; Leszczynski, J. Novel application of the CORAL software to model cytotoxicity of metal oxide nanoparticles to bacteria *Escherichia coli*. *Chemosphere* **2012**, *89*, 1098-1102.

21. Kar, S.; Gajewicz, A.; Puzyn, T.; Roy, K. Nano-quantitative structure–activity relationship modeling using easily computable and interpretable descriptors for uptake of magnetofluorescent engineered nanoparticles in pancreatic cancer cells. *Toxicol. in Vitro* **2014**, *28*, 600-606.
22. Zhang, H.; Ji, Z.; Xia, T.; Meng, H.; Low-Kam, C.; Liu, R.; Pokhrel, S.; Lin, S.; Wang, X.; Liao, Y. P.; Wang, M.; Li, L.; Rallo, R.; Damoiseaux, R.; Telesca, D.; Mädler, L.; Cohen, Y.; Zink, J. I.; Nel, A. E. Use of Metal Oxide Nanoparticle Band Gap To Develop a Predictive Paradigm for Oxidative Stress and Acute Pulmonary Inflammation. *ACS Nano* **2012**, *6* (5), 4349-4368.
23. Jewett, A. *Moltemplate*; <http://www.moltemplate.org/> viimati uuendatud 13.01.2015.
24. Carney, R. P.; Kim, J. Y.; Qian, H.; Jin, R.; Mehenni, H.; Stellaci, F.; Bakr, O. M. Determination of nanoparticle size distribution together with density or molecular weight by 2D analytical ultracentrifugation. *Nat. Commun.* **2011**, *2*, 335.
25. Plimpton, S. *LAMMPS Molecular Dynamics Simulator*; <http://lammps.sandia.gov/index.html> viimati vaadatud 28.04.2015.
26. Buckingham, R. A. The Classical Equation of State of Gaseous Helium, Neon and Argon. *P. Roy. Soc. Lond. A Mat.* **1938**, *168*, 264-283.
27. Wolf, D.; Keblinski, P.; Phillpot, S. R.; Eggebrecht, J. Exact method for the simulation of Coulombic systems by spherically truncated, pairwise r^{-1} summation. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110* (17), 8254-8282.
28. Ewald, P. Die Berechnung optischer und elektrostatischer Gitterpotentiale. *Ann. Phys.* **1921**, *369* (3), 253–287.
29. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi,

- M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09, Revision A.02* Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**.
30. Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648-5652.
31. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B.* **1988**, *37*, 785-798.
32. Miehlich, B.; Savin, A.; Stoll, H.; H., P. Results obtained with the correlation energy density functionals of Becke and Lee, Yang and Parr. *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *157*, 200-206.
33. Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F.; Frisch, M. J. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623-11627.
34. Wachters, A. J. H. Gaussian basis set for molecular wavefunctions containing third-row atoms. *J. Chem. Phys.* **1970**, *52*, 1033-1036.
35. Hay, P. J. Gaussian basis sets for molecular calculations - representation of 3D orbitals in transition-metal atoms. *J. Chem. Phys.* **1977**, *66*, 4377-4384.
36. Raghavachari, K.; Trucks, G. W. Highly correlated systems: Excitation energies of first row transition metals Sc-Cu. *J. Chem. Phys.* **1989**, *91*, 1062-1065.
37. Binks, J. Computational Modelling of Zinc Oxide and Related Oxide Ceramics, Doktoritöö, Surrey Ülikool. **1994**.
38. Guilbert, M. *SCI-LAB NEWUOA Interface*;
<http://www.inrialpes.fr/bipop/people/guilbert/newuoa/newuoa.html> viimati vaadatud 25.05.2015.
39. Rappoport, D.; Furche, F. Property-optimized Gaussian basis sets for molecular response calculations. *J. Chem. Phys.* **2010**, *133* (134105), 1-12.

40. Katritzky, A. R.; Karelson, M.; Petrukhin, R. *The CODESSA PRO project*; <http://www.codessa-pro.com/index.htm> viimati vaadatud 25.05.2015.
41. Katritzky, A. R.; V., L.; Karelson, M. *CODESSA Reference Manual.*; University of Florida: Gainesville, 1996.
42. Efron, B.; Tibshirani, R. J. *An Introduction to the Bootstrap*; Chapman & Hall/CRC.: New York, 1993.
43. Pathakoti, K.; Huang, M. J.; Watts, J. D.; He, X.; Hwang, H. M. Using experimental data of *Escherichia coli* to develop a QSAR model for predicting the photo-induced cytotoxicity of metal oxide nanoparticles. *J. Photochem. Photobiol. B* **2014**, *130*, 234-240.
44. Minervini, L.; Zacate, M. O.; Grimes, R. W. Defect cluster formation in M₂O₃-doped CeO₂. *Solid State Ionics* **1999**, *116* (3-4), 339–349.
45. Minervini, L.; Grimes, R. W.; Sickafus, K. E. Disorder in pyrochlore oxides. *J. Am. Ceram. Soc.* **2000**, *83* (8), 1873-1878.
46. Islam, M. S.; Lazure, S.; Vannier, R. N.; Nowogrocki, G.; Mairesse, G. Structural and computational studies of Bi₂WO₆ based oxygen ion conductors. *J. Mater. Chem.* **1998**, *8*, 655-660.
47. Islam, M. S.; Winch; J., L. Defect chemistry and oxygen diffusion in the HgBa₂Ca₂Cu₃O_{8+δ} superconductor: A computer simulation study. *Phys. Rev. B Condens. Matter* **1995**, *52* (14), 10510-10515.
48. Lewis, G. V.; Catlow, C. R. A. Potential models for ionic oxides. *J. Phys. C Solid State Phys.* **1985**, *18*, 1149-1161.
49. Sastre, G.; Gale, J. D. Derivation of an interatomic potential for Germanium and Silicon containing zeolites and its application to the study of the structures of octadecasil, ASU-7, and ASU-9 materials. *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 1788-1796.

5 Lisad

Tabel 1. Töös Buckinghami paarivaheliste potentsiaalide arvutamisel kasutatud konstandid.

Interaktsioon	A [eV]	ρ [Å]	C [eV/Å ⁶]	Viide
O-O	9547,96	0,21916	32	[37]
Zn-O	529,7	0,3581	0	[37]
Al-O	1725	0,2897	0	[37]
Cr-O	1204,17	0,3165	0	[37]
Co-O	778,02	0,3301	0	[37]
Ag-O	1335,89	0,1424	0	[37]
O-O	9547,96	0,2192	32	[43,44,45]
Ce-O	1809,68	0,3547	20,4	[43]
Gd-O	1885,75	0,3399	20,34	[43]
In-O	1495,65	0,3327	4,33	[43]
Y-O	1766,4	0,33849	19,43	[43]
La-O	2088,79	0,346	23,25	[43]
Fe-O	1414,6	0,3128	0	[43]
Sn-O	1414,32	0,3479	13,66	[44]
Ti-O	2131,04	0,3038	0	[44]
Zr-O	1502,11	0,3477	5,1	[44]
W-O	767,43	0,4386	0	[45]
Bi-O	49529,35	0,2223	0	[45]
Bi-Bi	24244,5	0,3284	0	[45]
O-O	22764	0,149	43	[46]
Cu-O	3860,6	0,2427	0	[46]
O-O	22764,3	0,149	20,37	[47]
Yb-O	1309,6	0,3462	0	[47]
Ni-O	683,5	0,3332	0	[47]
Hf-O	1454,6	0,35	0	[47]
Mn-O	1257,9	0,3214	0	[47]
Mg-O	710,5	0,3242	0	[47]
O-O	22764	0,149	10,93704	[48]
Si-O	1315,248	0,317759	10,14112	[48]
Sb-O	1512,887	0,301897	0	

Lihlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, _____ Jaanus Burk, _____,
(*autori nimi*)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihlitsentsi) enda loodud teose

Nanodeskriptorite arendamine ja nende kasutamine nanoosakeste toksilisuse määramiseks _____,
(*lõputöö pealkiri*)

mille juhendajad on _____ Kaido Tamm ja Lauri Sikk _____,
(*juhendaja nimi*)

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **01.01.2018** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **28.05.2015**