

Przegląd metod modelowania molekularnego structure-based

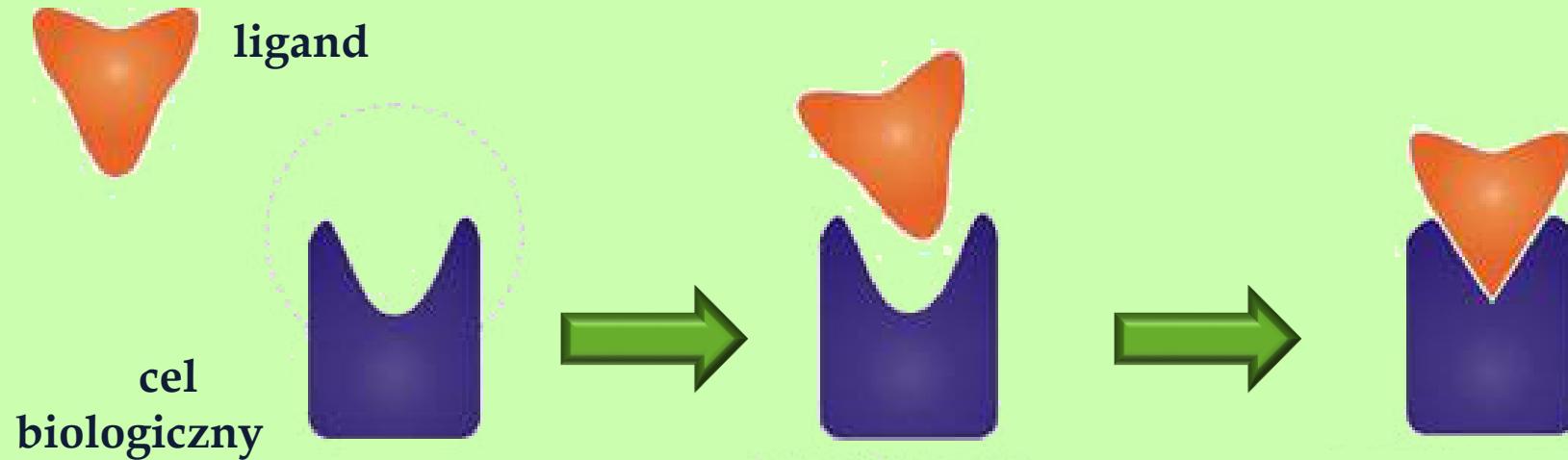
Dr hab. Sabina Podlewska

**Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii im.
Jerzego Maja PAN,
ul. Smętna 12, 31-343 Kraków**

11.03.2024

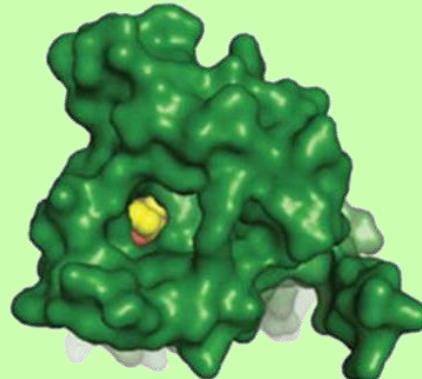
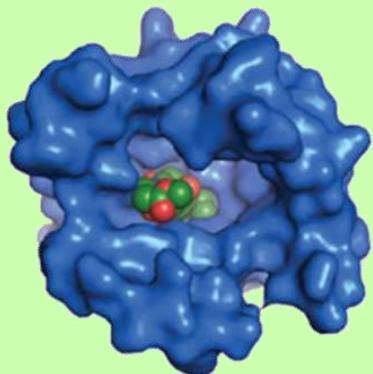
Dokowanie

- Metoda modelowania molekularnego, pozwalająca na znalezienie ułożenia liganda w miejscu wiążącym celu biologicznego

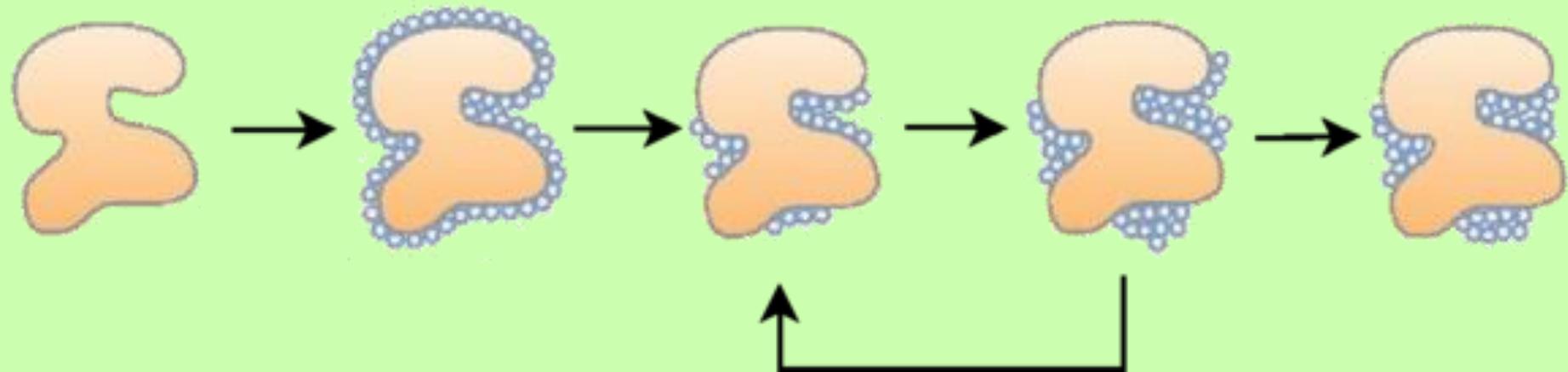


Znajdowanie miejsca wiązania

- **Metody homologiczne** – przewidywanie położenia miejsca wiążącego na podstawie jego lokalizacji w spokrewnionych białkach
- **Metody solwatacyjne** – służą do znajdowania zagłębień w powierzchni receptora, stanowiących potencjalne miejsca wiążące



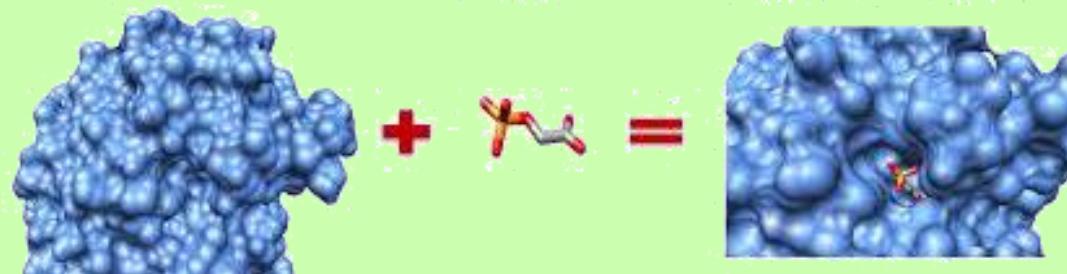
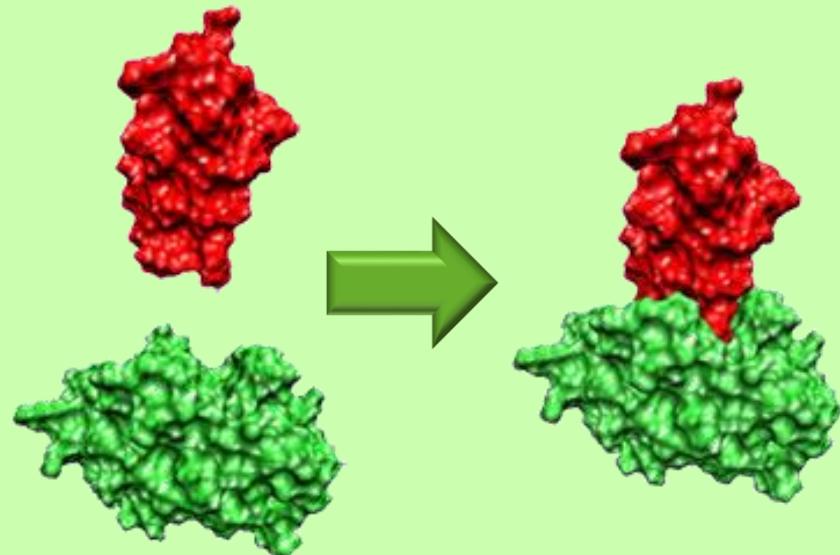
Metody solwatacyjne



- „obleplenie” białka sferami o rozmiarach zbliżonych do rozmiarów cząsteczek wody,
- usunięcie sfer, w których otoczeniu jest mniejsza od założonej liczba atomów białka
- dodanie kolejnej warstwy sfer
- powtarzanie operacji dodawania i usuwania sfer do momentu braku zmian w liczbie sfer znajdujących się przy powierzchni białka

Rodzaje dokowań

- Dokowanie w układzie **białko-białko** (lub **białko-kwas nukleinowy**)
 - duża powierzchnia kontaktu
 - zwykle obie cząsteczki traktuje się jako sztywne
- Dokowanie w układzie **ligand-białko**



Rodzaje dokowań ligand-białko

- **Dokowanie sztywne** – zarówno konformacja receptora, jak i konformacja liganda pozostają niezmienne podczas dokowania, cząsteczki poddawane są jedynie procedurom translacji i rotacji (brak zmian w kątach pomiędzy wiązaniemami, w długości wiązań oraz w kątach torsyjnych).
- **Dokowanie pół-giętkie** – konformacja receptora pozostaje niezmienna, natomiast zmiany konformacyjne zachodzą w przypadku cząsteczki liganda.
- **Dokowanie giętkie** – zmianom ulega zarówno konformacja receptora, jak i liganda.

Dlaczego dokowanie jest trudnym problemem?

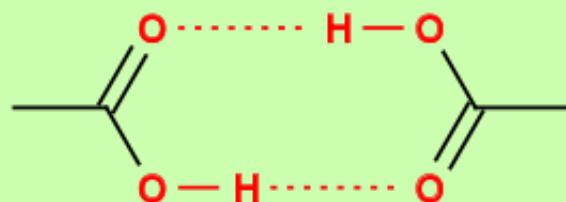
1. Problem oceny uzyskiwanych kompleksów ligand-receptor (niewielkie zmiany energii swobodnej, poniżej dokładności funkcji oceniających)
2. Duża liczba stopni swobody, m.in.:
 - wzajemna orientacja dwóch cząsteczek
 - konformacja liganda
 - konformacja białka
 - stany protonacyjne
 - cząsteczki wody znajdujące się w okolicy miejsca wiążącego/pośredniczące w oddziaływaniu liganda z białkiem

Oprogramowanie

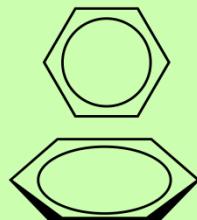
- Schrödinger Glide (schrodinger.com)
- Gold (ccdc.cam.ac.uk/Solutions/GoldSuite)
- Autodock (autodock.scripps.edu)
- FlexX (biosolveit.de/flexx)
- Molecular Operating Environment; MOE
(https://www.chemcomp.com/MOE-Structure_Based_Design.htm)
- SwissDock (<http://www.swissdock.ch/>)
- ZDOCK (<http://zdock.umassmed.edu/software/>)
- DOT2.0 (<http://www.sdsc.edu/CCMS/DOT/>)
- rDock (<http://rdock.sourceforge.net/>)
- DOCK Blaster (<http://blaster.docking.org/>)

Oddziaływanie liganda z receptorem

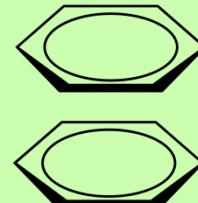
- **Wiązania wodorowe** -> oddziaływanie pomiędzy związanym kowalencyjnie atomem wodoru, a atomem elektroujemnym, zawierającym wolne pary elektronowe



- **Oddziaływania hydrofobowe** -> oddziaływanie pomiędzy niepolarnymi grupami cząsteczek liganda i receptora
 - *oddziaływania $\pi-\pi$* – niekowalencyjne oddziaływanie pomiędzy ugrupowaniami aromatycznymi



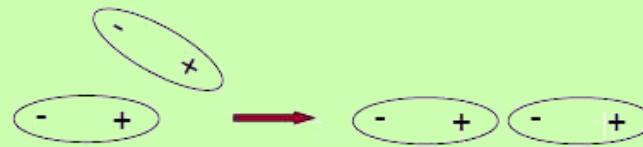
edge-to-face



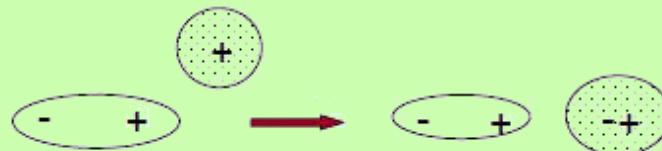
sandwich

Oddziaływanie liganda z receptorem

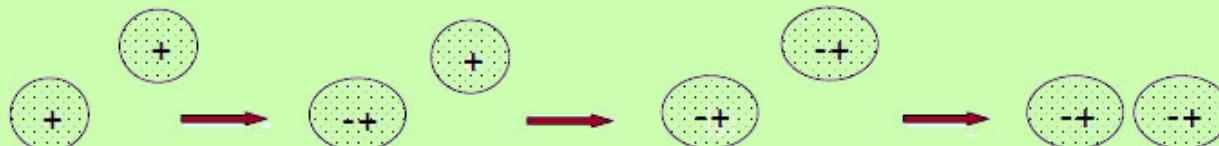
- Oddziaływanie elektrostatyczne (jonowe)
- Oddziaływanie van der Waalsa
 - dipol-dipol (Keesoma)



- dipol-dipol indukowany (Debye'a)



- dipol indukowany – dipol indukowany (Londona)

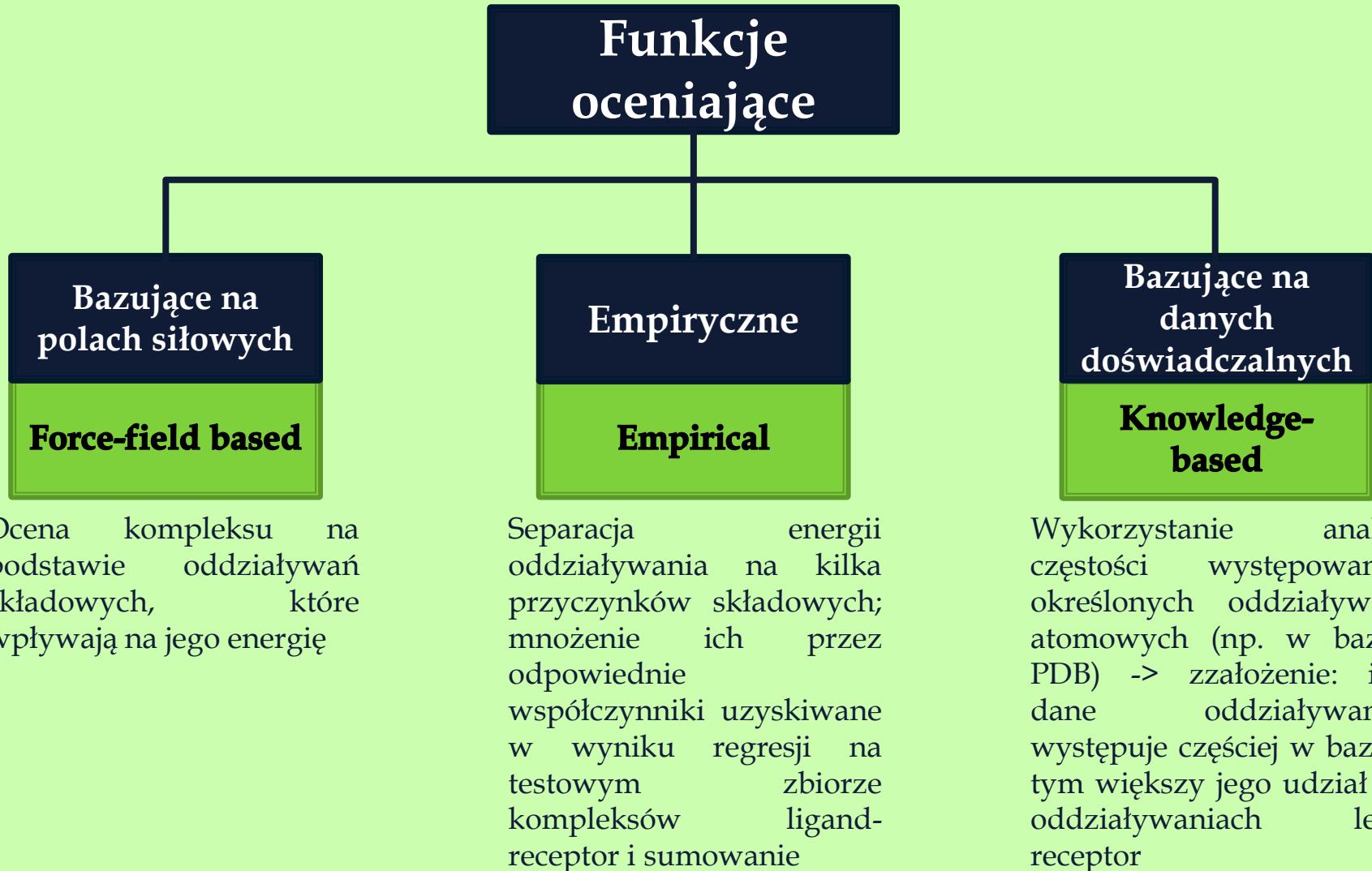


Ocena kompleksów ligand-receptor

Idealna funkcja oceniająca powinna:

- Umożliwiać dokładną ocenę siły wiązania
- identyfikacja aktywnych związków w procedurach wirtualnego skriningu
- rankingowanie aktywnych związków według siły wiązania
- Przypisywać wyższe oceny związkom aktywnym niż nieaktywnym
- Przypisywać wyższe oceny prawidłowym ułożeniom związków niż ułożeniom nieprawidłowym
- Być szybka do obliczenia

Funkcje oceniające



Generowanie nowych ligandów

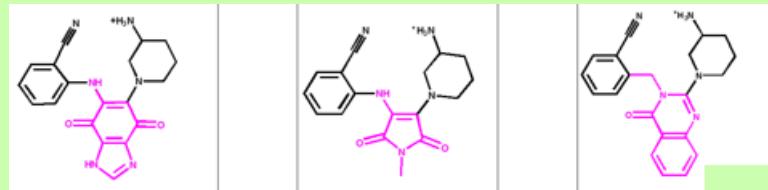
Bo apetyt rośnie w miarę jedzenia...

Mamy zestaw znanych ligandów...ale chcemy więcej

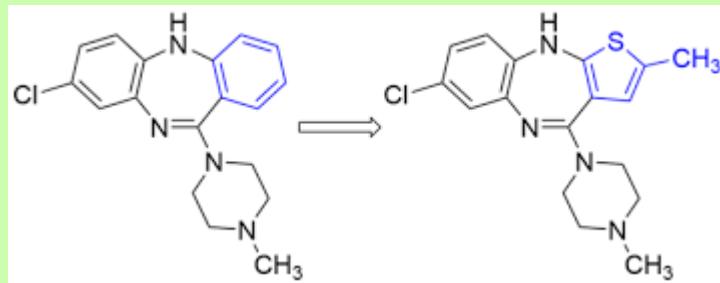
Sposoby:

- > szukajmy nowych ligandów wśród zestawów innych cząsteczek
- > generujmy nowe ligandy na podstawie struktur już istniejących aktywnych związków

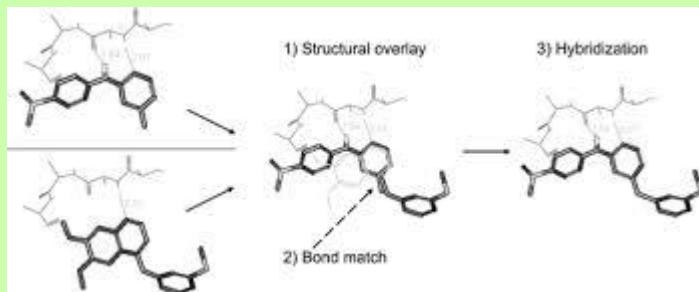
Sposoby generowania nowych ligandów - podejścia kombinatoryczne -> generowanie nowych związków z poziomu struktury chemicznej już istniejących ligandów



Core-hopping



Podstawienie bioizosteryczne

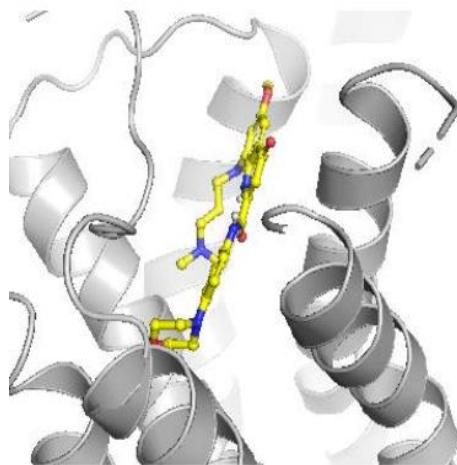


Hybrydyzacja ligandów

Stopień elastyczności układu

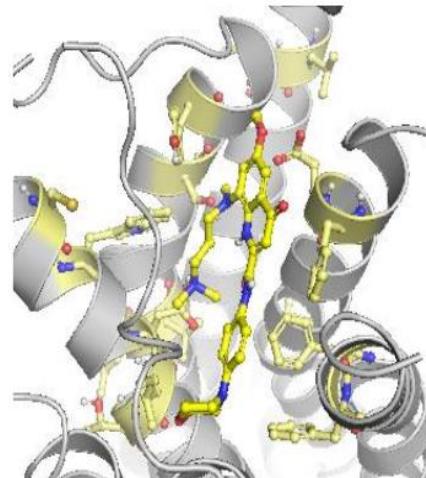
Dokowanie

- Białyko – sztywne
- Ligand – labilny
- Koszt obliczeniowy: umiarkowany



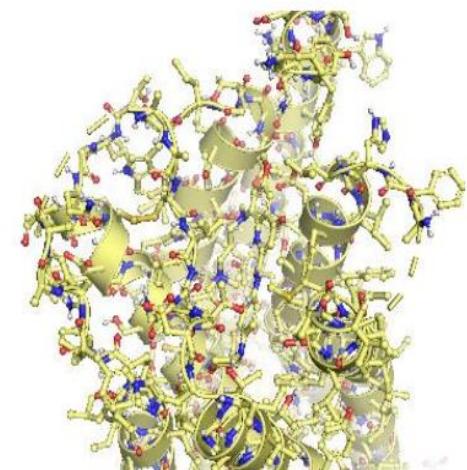
Induced-fit docking

- Białyko – obszar miejsca wiążącego: labilny; pozostała część: sztywna
- Ligand – labilny
- Koszt obliczeniowy: wysoki

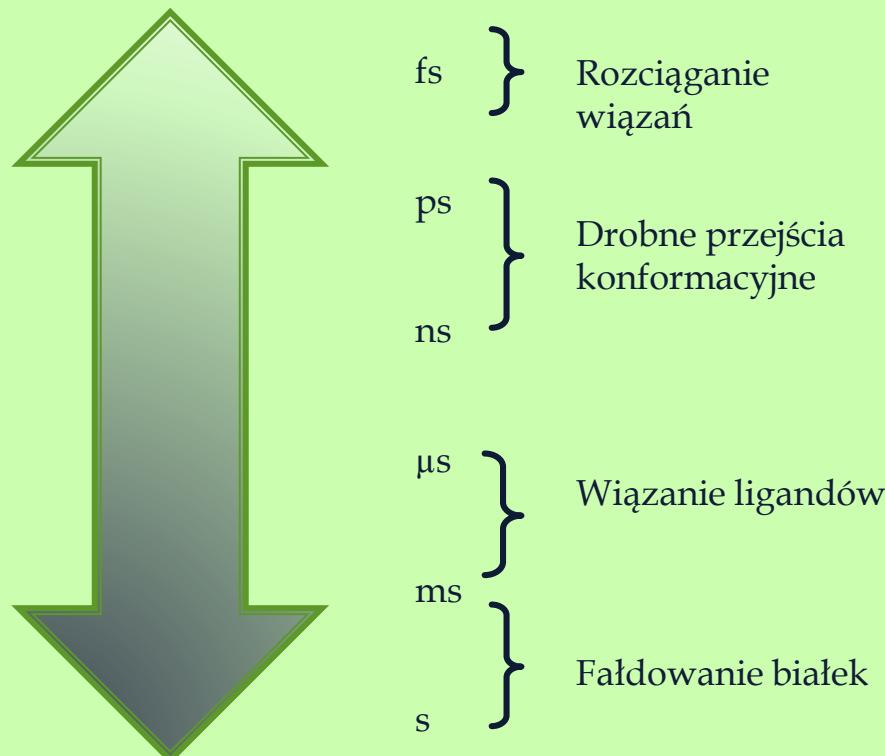


Dynamika molekularna

- Białyko – labilne
- Ligand – labilny
- Koszt obliczeniowy: bardzo wysoki



Skala czasowa procesów chemicznych i biologicznych



Dynamika molekularna – trochę teorii

- Umożliwia badanie wybranego układu w funkcji czasu (na poziomie atomowym), którego zachowanie jest opisywane przez odpowiednie równania ruchu (np. równania Newtona)
- Ewolucję badanego układu w czasie można wyznaczyć korzystając z zasad dynamiki Newtona, które określają związek pomiędzy ruchem ciała, a siłami jakie na niego działają:

Prawa dynamiki Newtona

1. Jeżeli na ciało nie działają żadne siły lub działające siły się równoważą to ciało pozostaje w spoczynku lub porusza się ruchem jednostajnym prostoliniowym. I zasada dynamiki nosi również nazwę zasady bezwładności. Można ją wyrazić matematycznie w następujący sposób:

$$\sum F = 0 \leftrightarrow \frac{dv}{dt} = 0$$

2. Jeżeli wypadkowa sił działających na ciało jest różna od zera, to ciało porusza się z przyspieszeniem a wprost proporcjonalnym do siły wypadkowej \vec{F}_w , a odwrotnie proporcjonalnym do masy ciała m :

$$\vec{a} = \frac{\vec{F}_w}{m}$$

3. Oddziaływanie ciał są wzajemne. Jeżeli jedno ciało działa na drugie pewną siłą, to drugie ciało działa na pierwsze z siłą taką samą co do wartości i kierunku, ale o przeciwnym zwrocie. III zasada dynamiki Newtona nazywana jest też zasadą akcji i reakcji.

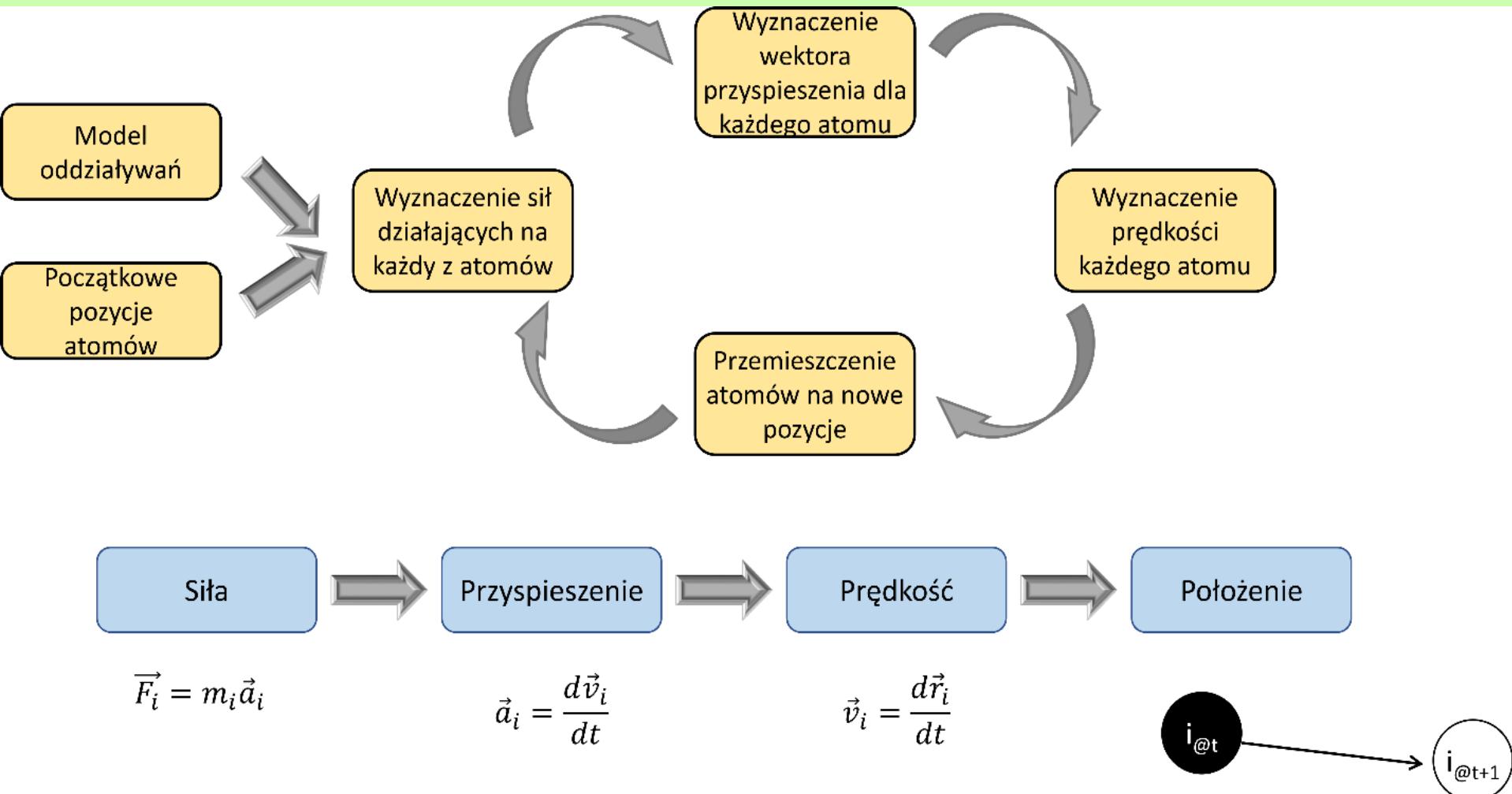
Przebieg symulacji dynamiki molekularnej

- Podstawowym problemem w symulacjach dynamiki molekularnej jest wyznaczenie sił działających na każdy z atomów układu. Wykorzystuje się do tego celu funkcję, która reprezentuje energię potencjalną danego atomu:

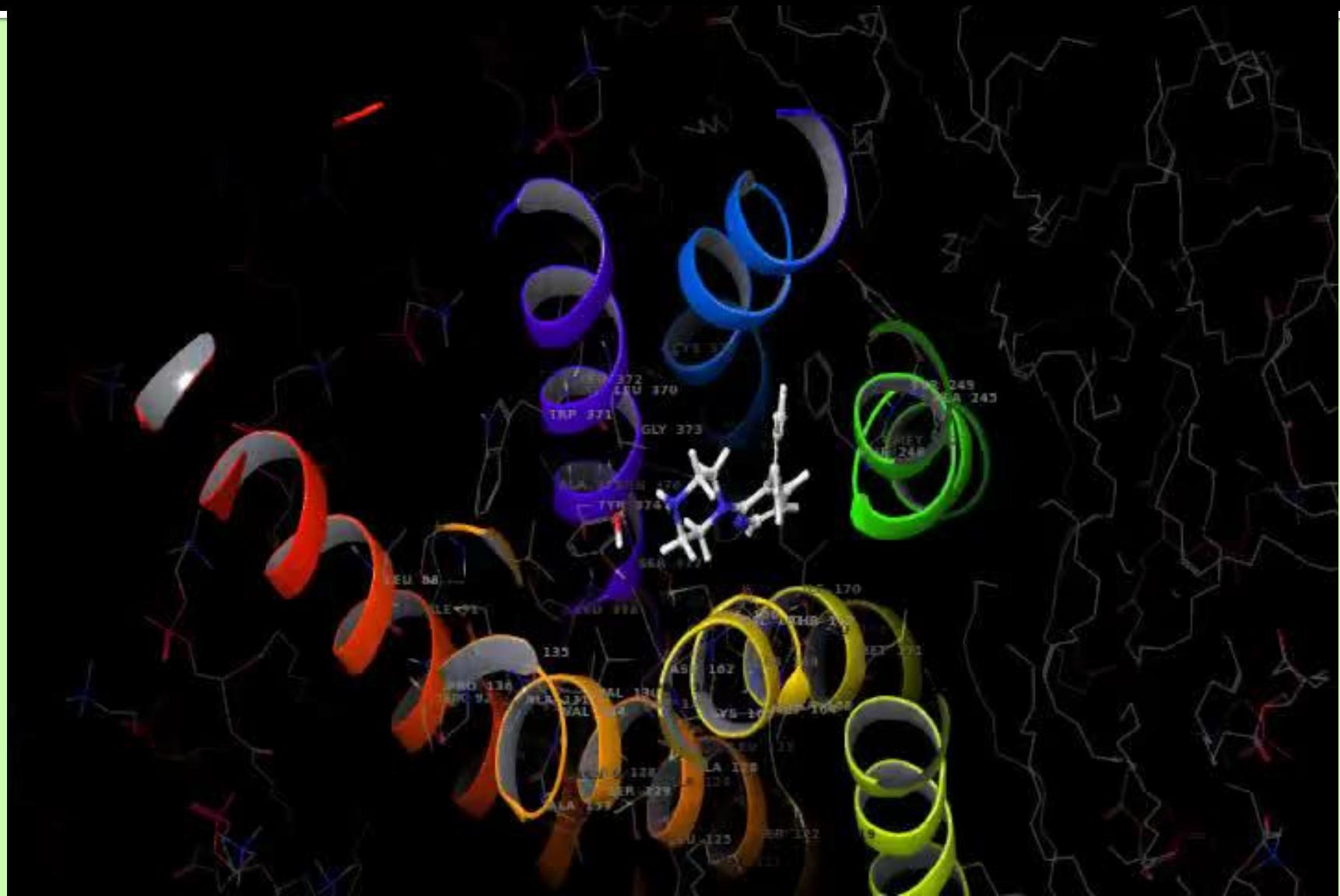
$$\vec{F}_i = -\nabla_{r_j} V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n)$$

- Opisany wyżej potencjał jest zdefiniowany przez pole siłowe, które uwzględnia przyczynki energii potencjalnej związane z następującymi zmianami: długość wiązań chemicznych, kąty, kąty torsyjne, oddziaływanie elektrostatyczne i van der Waalsa.

Przebieg symulacji dynamiki molekularnej

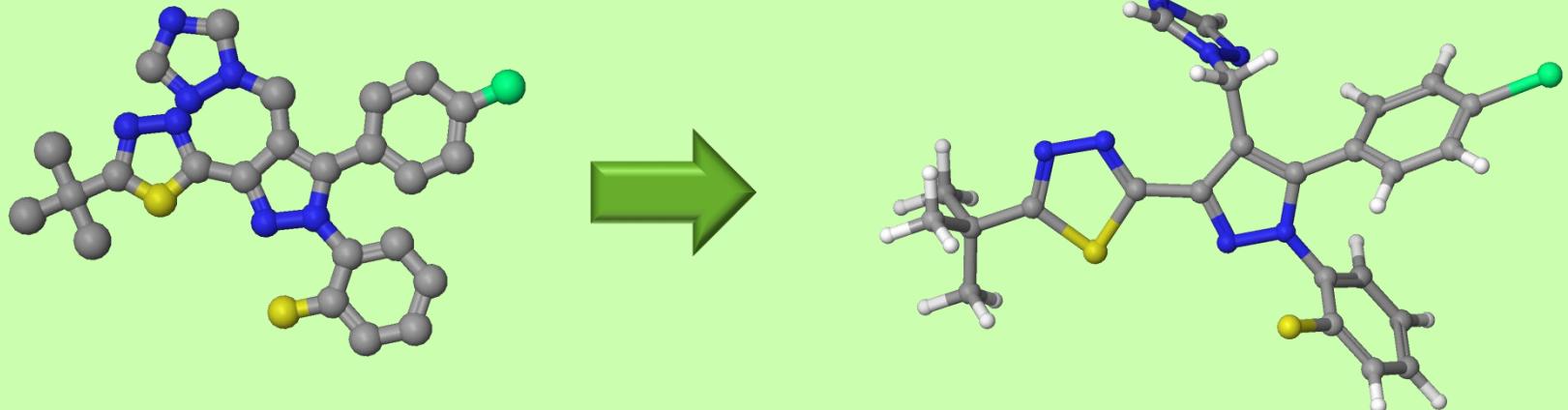


Przykład symulacji dynamiki molekularnej



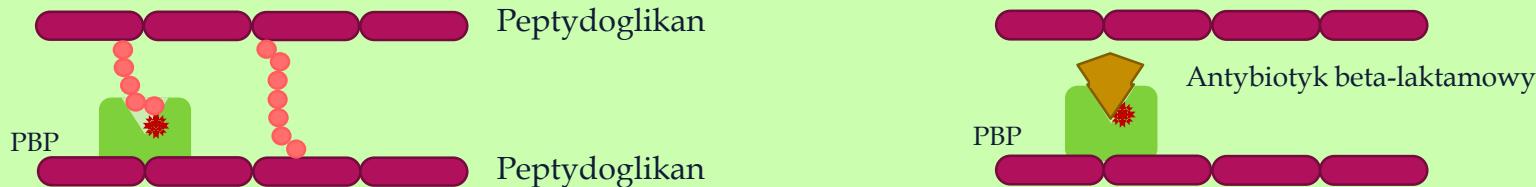
Przygotowanie liganda do dokowania

- Wygenerowanie konformacji trójwymiarowych
- Wygenerowanie odpowiednich stanów protonacyjnych
- Usunięcie dodatkowych cząsteczek (np. przeciwnionów w przypadku soli)
- Wygenerowanie stereoizomerów (w przypadku nieokreślonej chiralności)

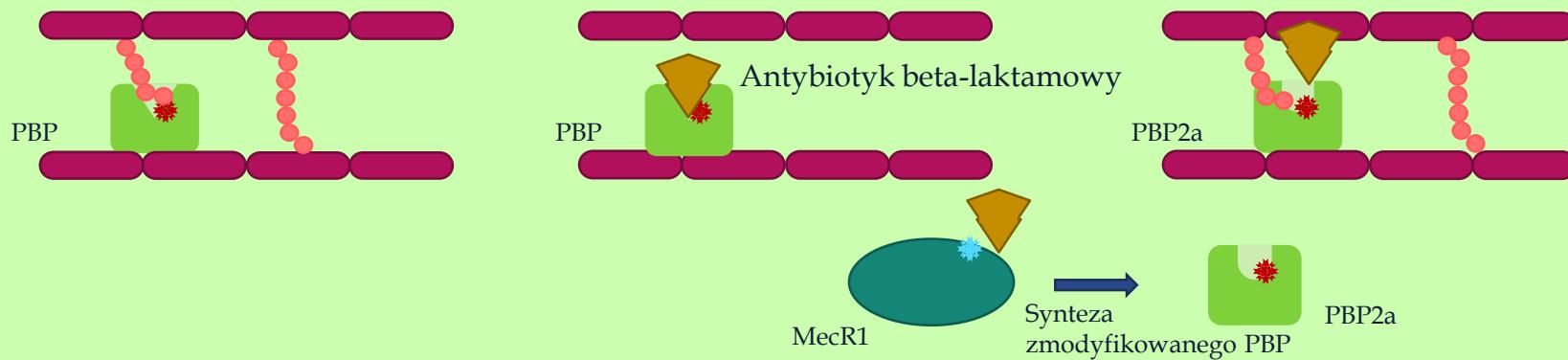


Oporność na antybiotyki beta-laktamowe w szczepach MRSA

Szczep niewykazujący lekooporności



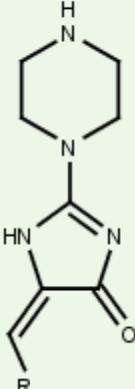
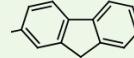
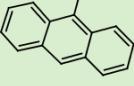
Szczep lekooporny



Pokonywanie lekooporności



Badane związki

Struktura ogólna	Symbol związku	Podstawnik Nazwa	Struktura	Redukcja MIC (minimalne stężenie hamujące)
 5-arylideneimidazolone core	BM7	p-chlorophenyl		Brak efektu
	BM33	2-tiophene		Brak efektu
	BM34	3-tiophene		Brak efektu
	BM36	2-naphthalene		Brak efektu
	BM38	2-fluorene		Brak efektu
	DS9	anthracene		64-krotna
	DS11	phenanthrene		Brak efektu



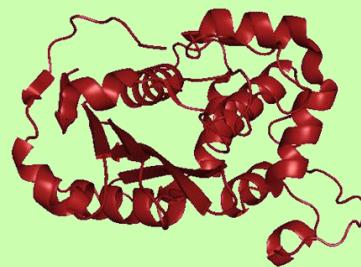
Modelowanie molekularne

1. **Dokowanie** – wskazanie, z którym białkiem oddziałują badane związki (Glide)
2. **Symulacje dynamiki molekularnej** – dalsze wyjaśnienie obserwowanego mechanizmu działania związków (Desmond)

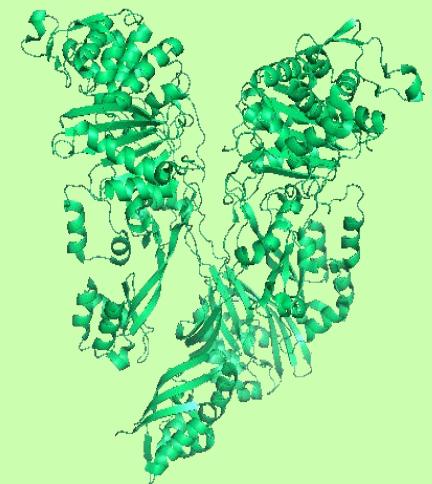
SCHRÖDINGER.®

Dokowanie

- Struktury krystaliczne MecR1 oraz PBP2a
- Wszystkie związki + oksacylina
- Maksymalna liczba póż na ligand: 5



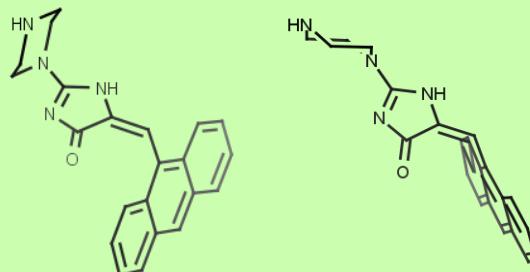
MecR1
PDB ID: 2IWB



PBP2a
PDB ID: 1VQQ



Generowanie
konformacji 3D

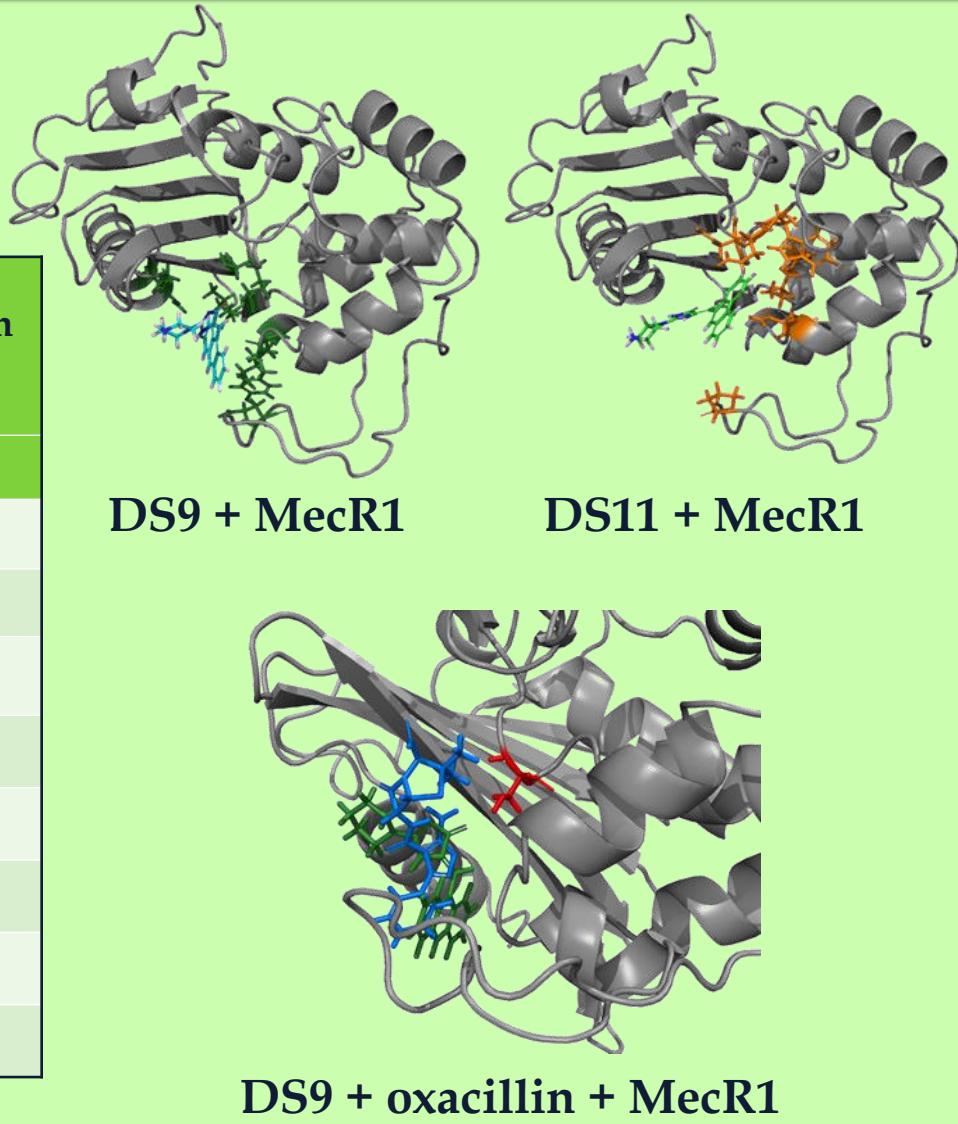


Wyniki dokowania

Analiza:

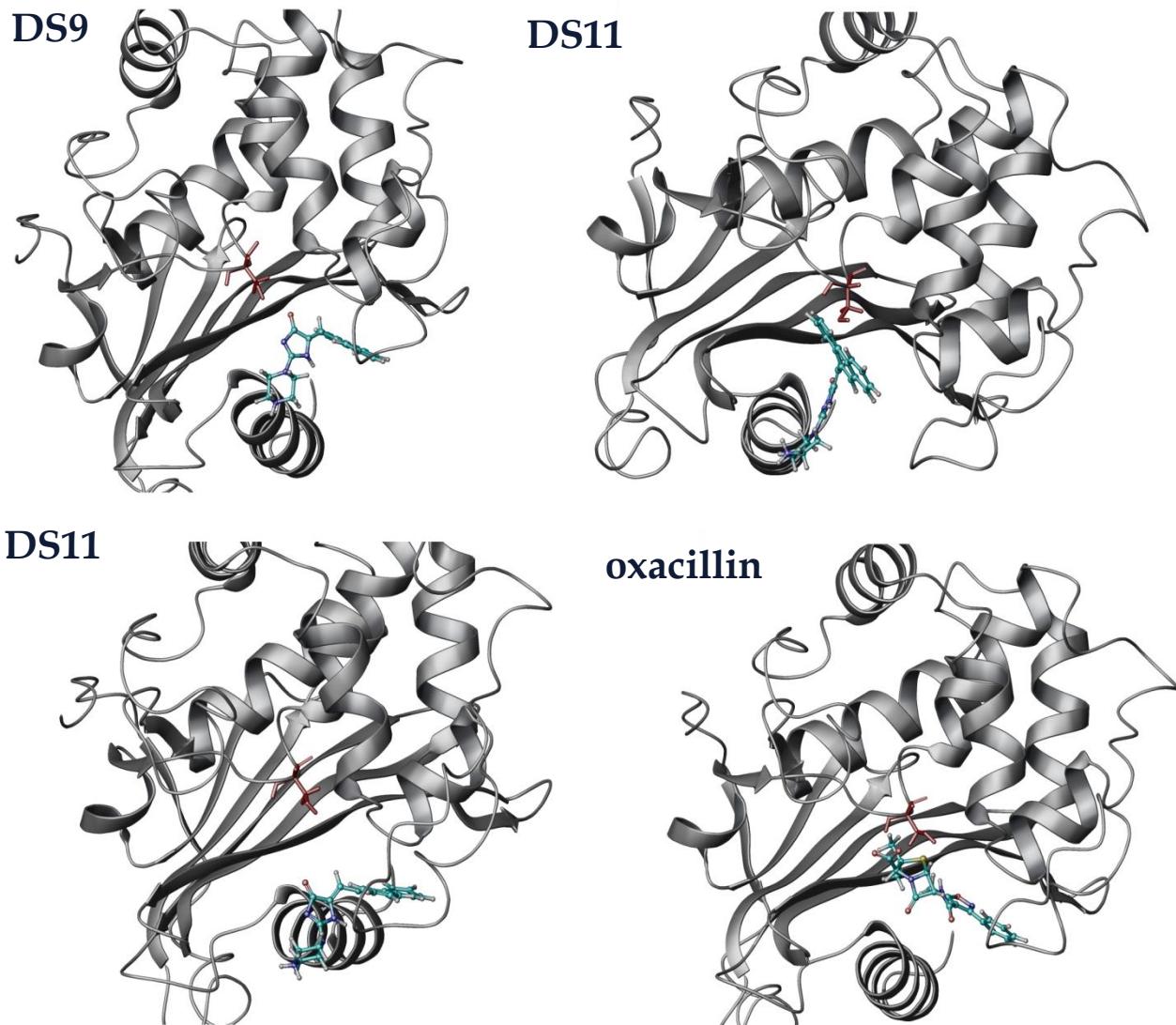
- ocena wizualna
- Structural Interaction Fingerprints

Compound	Number of generated conformations	Number of ligand-protein complexes obtained	
		MecR1	PBP2a
BM7	3	2	0
BM33	8	9	5
BM34	4	4	2
BM36	3	1	0
BM38	3	0	0
DS9	6	10	3
DS11	6	7	3
oxacillin	1	1	2

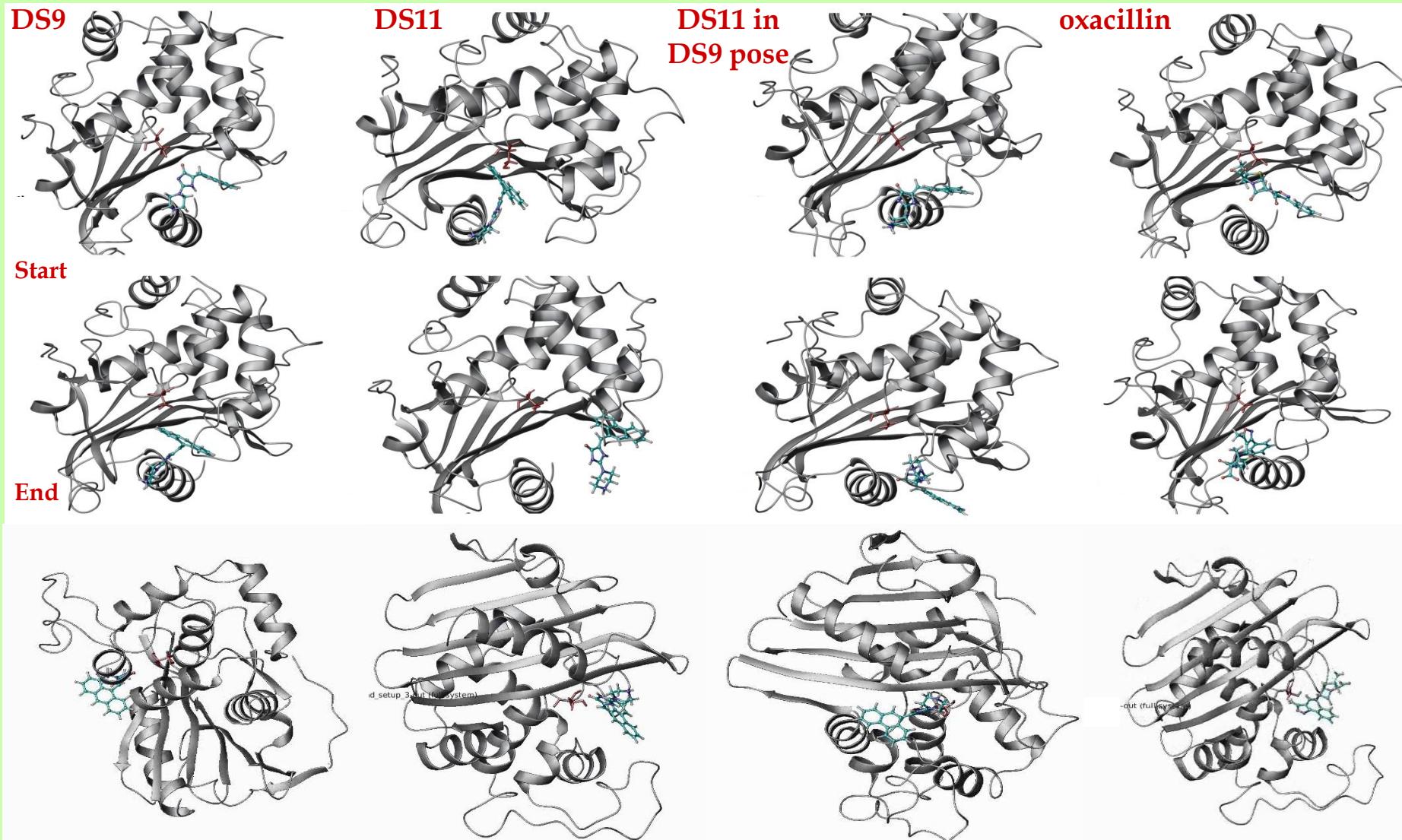


Symulacje dynamiki molekularnej

- Związki:
DS9
DS11 (two poses)
oxacillin
- Białyko: **MecR1**
- 20 ns
- **OPLS_2005 - pole siłowe**



Symulacje dynamiki molekularnej- wyniki



Wnioski

- Najbardziej prawdopodobny mechanizm działania związku DS9 – blokowanie białka **MecR1**
- Blokada steryczna – blokowanie dojścia do miejsca aktywnego
- Hamowanie syntezy PBP2a
- Dobry punkt wyjścia do syntezy kolejnych związków o podobnym mechanizmie działania

Matys, A.; Podlewska, S.; Witek, K.; Witek, J.; Bojarski, A. J.; Schabikowski, J.; Otrębska-Machaj, E.; Latacz, G.; Szymańska, E.; Kieć-Kononowicz, K.; Molnar, J.; Amaral, L.; Handzlik, J. Imidazolidine-4-one derivatives in the search for novel chemosensitizers of *Staphylococcus aureus* MRSA: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies. Eur. J. Med. Chem. 2015, 101, 313–325.

Wykorzystanie symulacji dynamiki molekularnej – badanie ligandów receptora μ - opioidowego o różnych właściwościach funkcjonalnych

Cel badań:

- Identyfikacja determinantów molekularnych określonej aktywności funkcjonalnej wybranych ligandów receptora μ - opioidowego

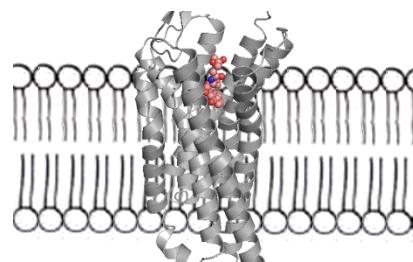
Wykorzystane narzędzia:

- Dokowanie
- Symulacje dynamiki molekularnej

Podlewska, S.; Bugno, R.; Kudla, L.; Bojarski, A. J.; Przewlocki, R. Molecular Modeling of μ Opioid Receptor Ligands with Various Functional Properties: PZM21, SR-17018, Morphine, and Fentanyl—Simulated Interaction Patterns Confronted with Experimental Data *Molecules*, **2020**, 25, 4636

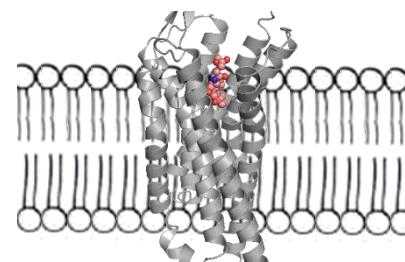
Motywacja – uwolnienie się od efektów ubocznych

Klasyczne opioidy



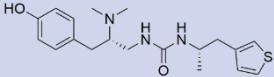
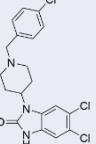
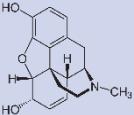
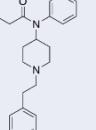
Białko G
Działanie przeciwbólowe

Opiody charakteryzujące się selektywnością funkcjonalną



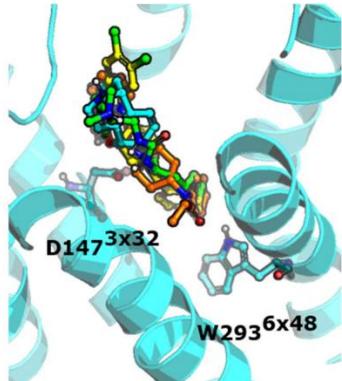
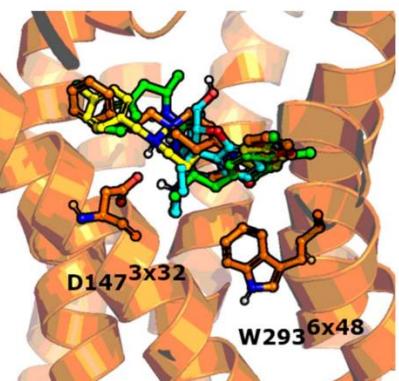
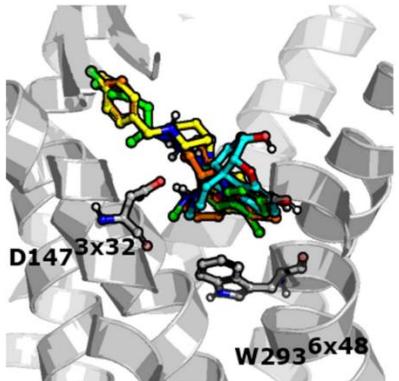
β-arrestyna
β-arrestyna
Efekt przeciwbólowy
• Depresja oddechowa
• Euforia
• Tolerancja

Wykorzystanie symulacji dynamiki molekularnej – badanie ligandów receptora μ - opioidowego o różnych właściwościach funkcjonalnych

Związek	Struktura związku	Aktywność względem receptora μ - opioidowego	Masa molowa	LogP	#akceptorów wiązań wodorowych	# H donorów wiązań wodorowych	# wiązań rotowalnych
PZM21		funkcjonalnie selektywny agonista (G protein-biased agonist)	361.50	2.85	3	3	8
SR17018		funkcjonalnie selektywny agonista (G protein-biased agonist)	410.73	4.75	2	1	3
morfina		nieselektywny agonista	285.34	0.90	4	2	0
fentanyl		funkcjonalnie selektywny (β -arrestin-biased agonist)	336.47	3.82	2	0	6

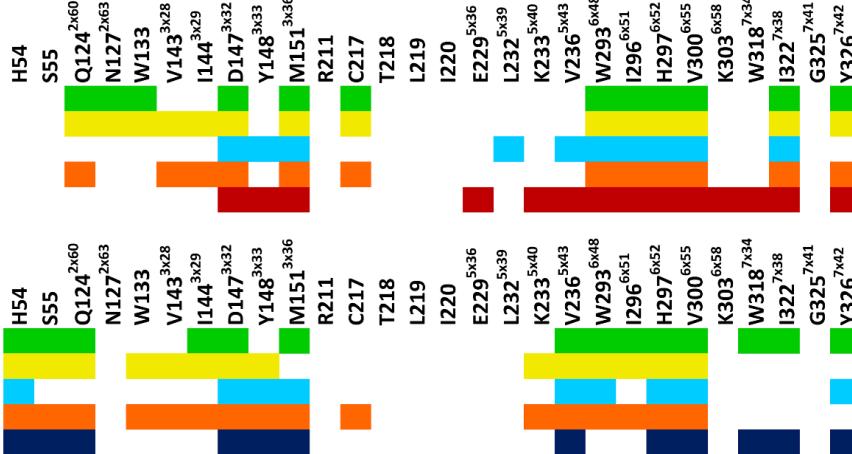
PDB ID	Konformacja receptora	Wykryształzony ligand
4DKL	nieaktywna	BFO (Antagonista)
5C1M	aktywna	BU72 (Agonista)
6DDF	aktywna	DAMGO (Agonista peptydowy)

Dokowanie - wyniki



PZM21: zielony
 SR17018: żółty
 morfina: niebieski
 fentanyl: pomarańczowy

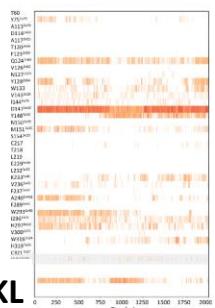
4DKL
 PZM-21
 SR17018
 morphine
 fentanyl
 BFO (crystal)



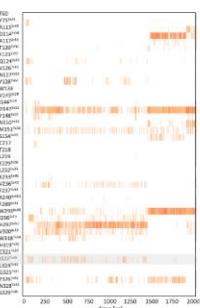
5C1M
 PZM-21
 SR17018
 morphine
 fentanyl
 BU72 (crystal)

Symulacje dynamiki molekularnej (2000 ns)

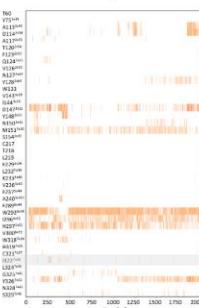
PZM21



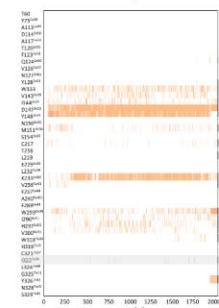
SR17018



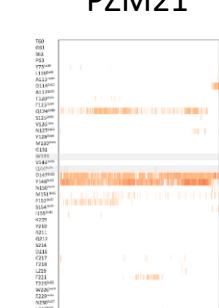
morfina



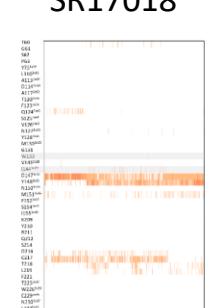
fentanyl



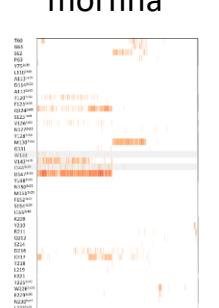
PZM21



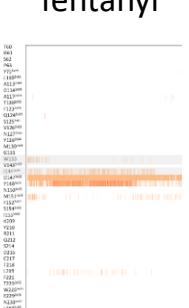
SR17018



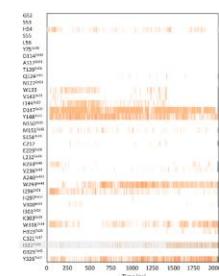
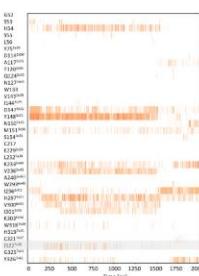
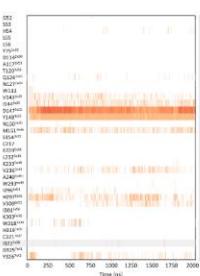
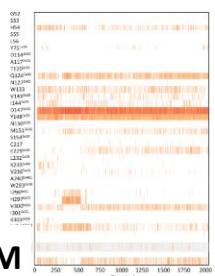
morfina



fentanyl

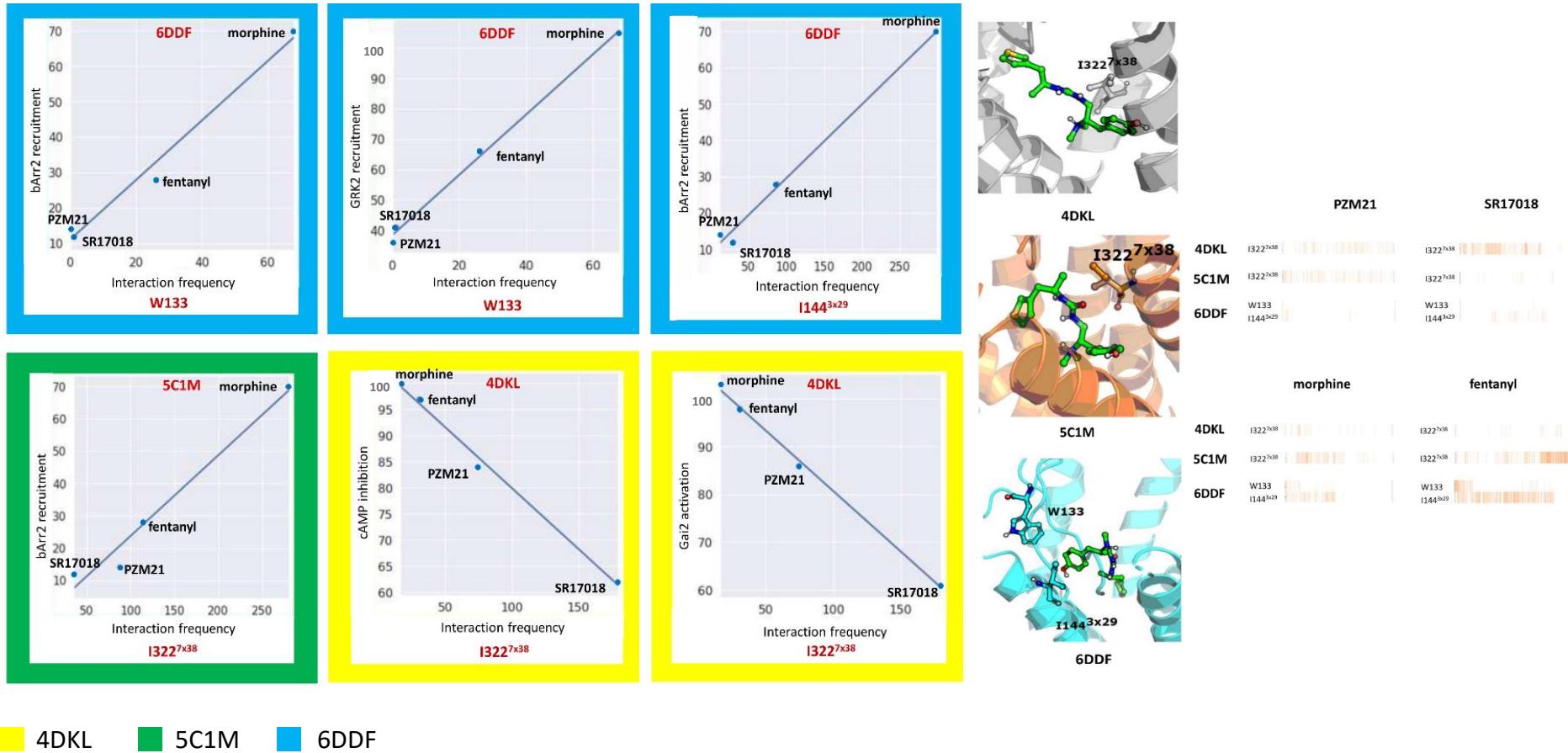


4DKL



5C1M

Korelacje pomiędzy częstością oddziaływań a wynikami badań funkcjonalnych



■ 4DKL ■ 5C1M ■ 6DDF

Wykorzystanie symulacji dynamiki molekularnej – badanie właściwości kinetycznych ligandów receptora serotoninowego 5-HT₇

Cel badań:

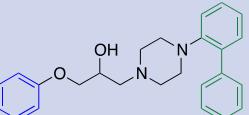
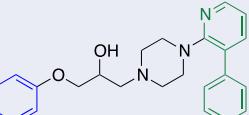
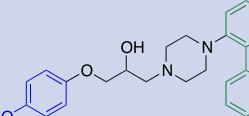
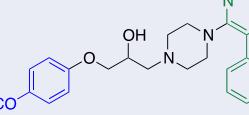
- Identyfikacja determinantów określonych wartości czasu przebywania liganda w miejscu wiążącym receptora (ang. *residence time*)

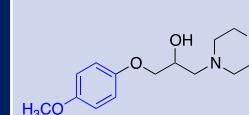
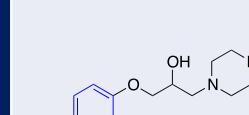
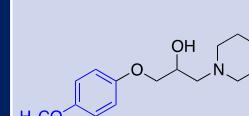
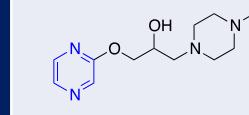
Wykorzystane narzędzia:

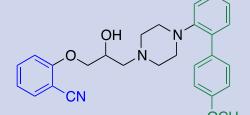
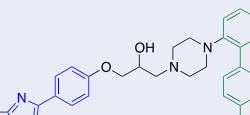
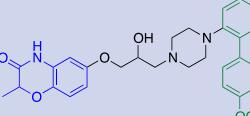
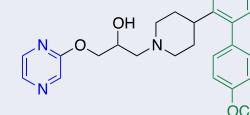
- Dokowanie
- Symulacje dynamiki molekularnej

Penna, E., Niso, M., Podlewska, S., Volpicelli, F., Crispino, M., Perrone-Capano, C., Bojarski, A. J., Lacivita, E., & Leopoldo, M. In Vitro and In Silico Analysis of the Residence Time of Serotonin 5-HT₇ Receptor Ligands with Arylpiperazine Structure: A Structure-Kinetics Relationship Study. *ACS Chemical Neuroscience*, **2022**, 13, 497–509.

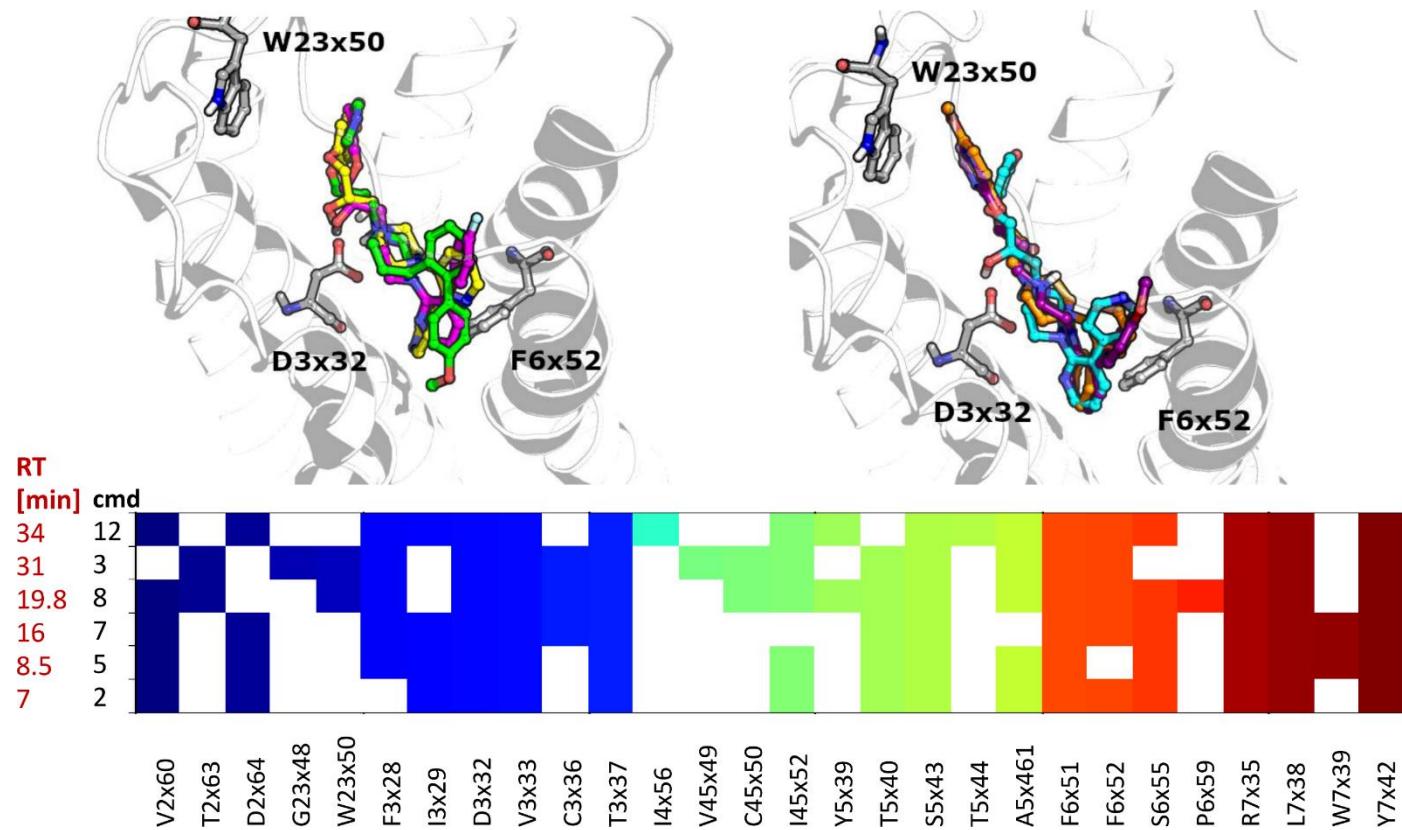
Badane związki

Związek	Struktura związku	$RT = 1/k_{off}$ [min]
1		46.0
2		7.0
3		31.0
4		8.7

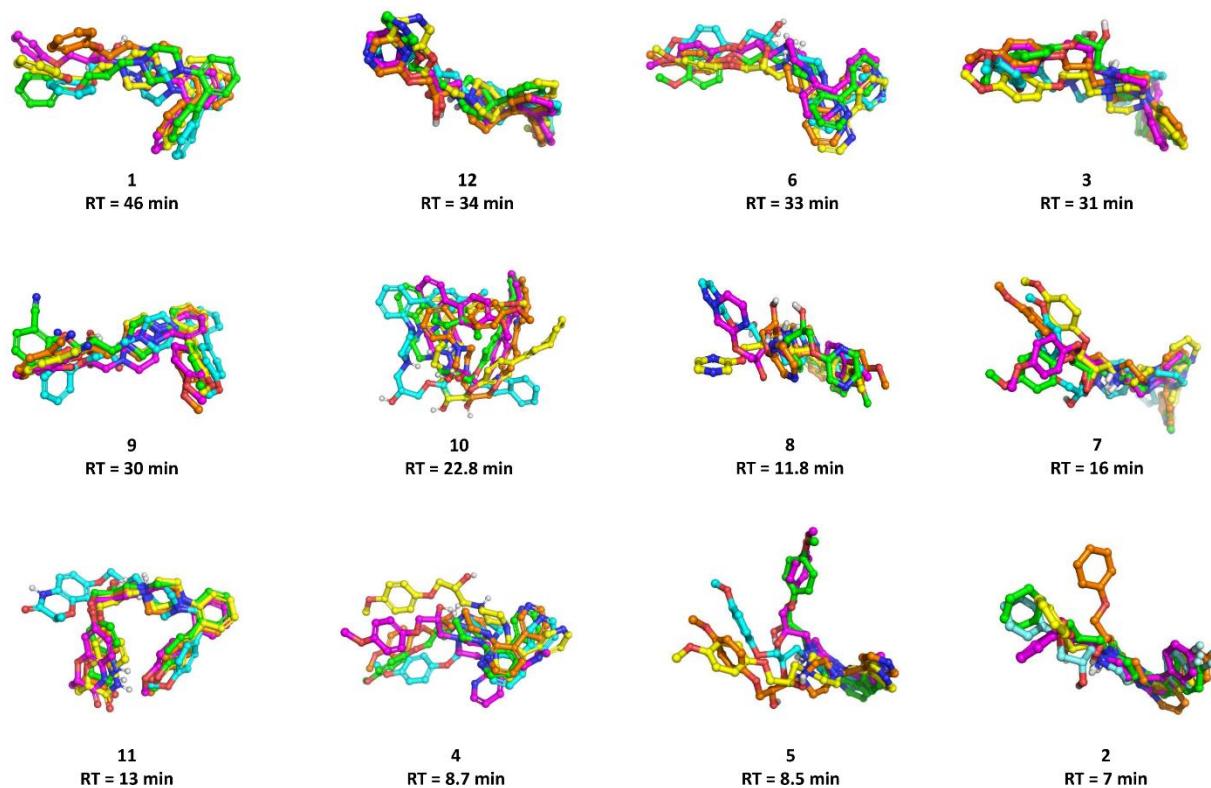
Związek	Struktura związku	$RT = 1/k_{off}$ [min]
5		8.5
6		33.0
7		16.0
8		19.8

Związek	Struktura związku	$RT = 1/k_{off}$ [min]
9		8.5
10		33.0
11		16.0
12		19.8

Dokowanie - wyniki



Symulacje dynamiki molekularnej - wyniki



niebieski:poza początkowa
żółty: poza po 250 ns;
pomarańczowy: poza po 500 ns;
fioletowy: poza po 750 ns;
zielony: poza po 1000 ns

