

Molecular Docking in the Cloud: Post-Docking Analysis and Pose Stability

PhD. Pablo Ricardo Arantes

PhD. Conrado Pedebos

Porto Alegre, July 18th 2025

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Summary of Course Flow:

Day 1: Introduction to Molecular Docking

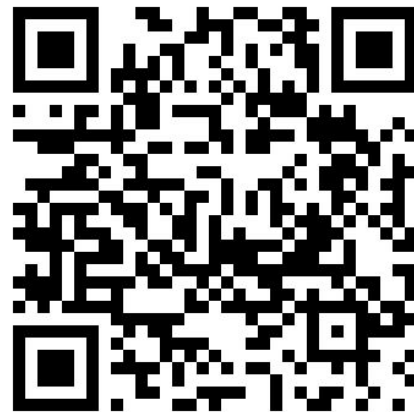
Day 2: Docking with GNINA: AI-Powered Docking

Day 3: Uni-Dock: High-Performance Docking with GPU Acceleration

Day 4: Virtual Screening: Filters, ADME, and Drug Likeness

Day 5: Post-Docking Analysis and Pose Stability

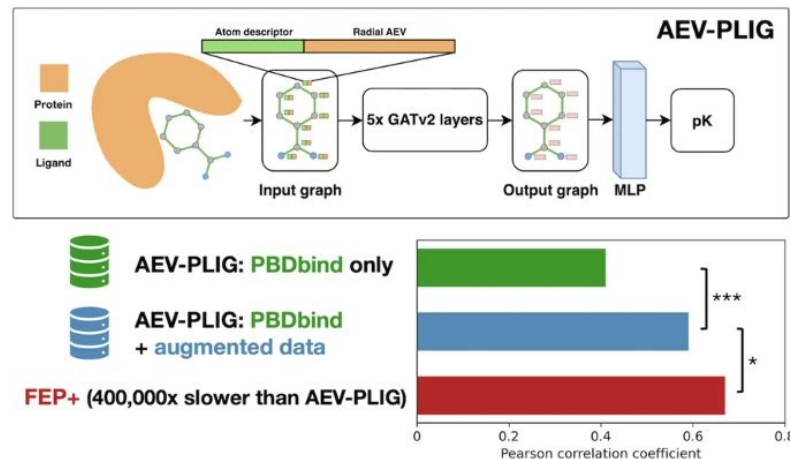
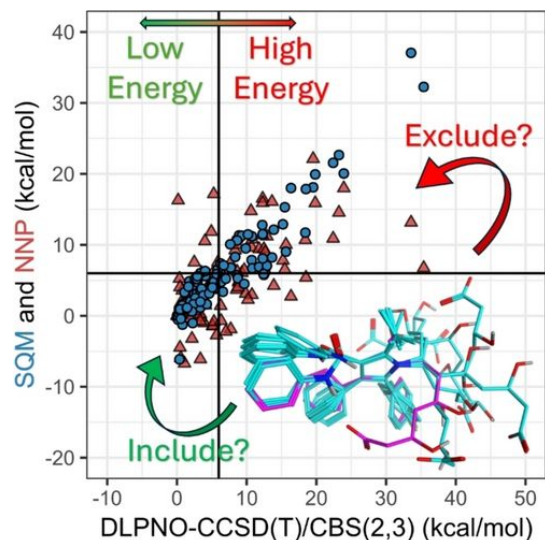
Slides + Notebooks



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Métodos Avançados de Avaliação de Poses em Docking Molecular

- Avaliando a qualidade e a relevância das interações proteína-ligante.
- Ferramentas computacionais de última geração para otimização na descoberta de fármacos.



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Avaliando a Qualidade das Poses de Docking

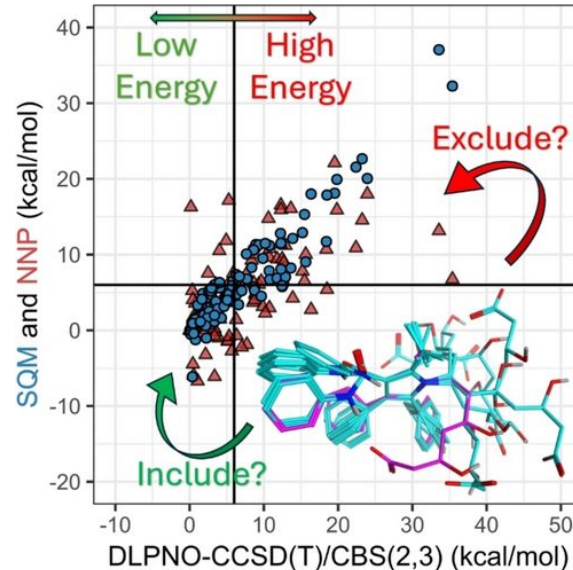
No docking molecular, a geração de uma pose de ligação é apenas o primeiro passo. O desafio crucial é avaliar a qualidade e a relevância biológica dessas poses.

- Por que avaliar?
 - Identificar ligantes de alta afinidade (*hit identification*).
 - Otimizar a afinidade de ligação na otimização de *hits* e *leads*.
 - Filtrar estruturas não realísticas e prever o resultado de pequenas modificações químicas.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Panorama dos Métodos que Abordaremos

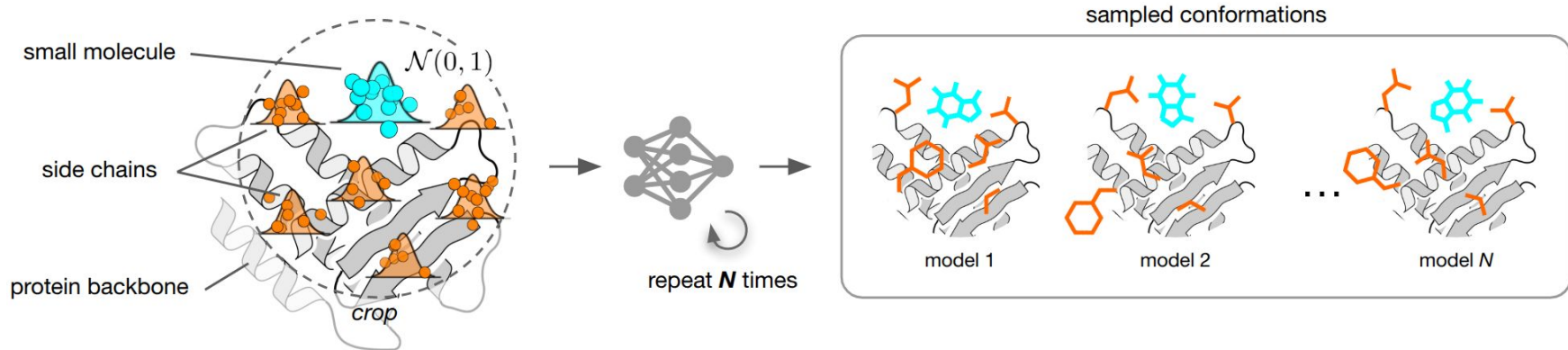
GFN2-xTB: Para a discriminação precisa de conformações de alta e baixa energia.



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Panorama dos Métodos que Abordaremos

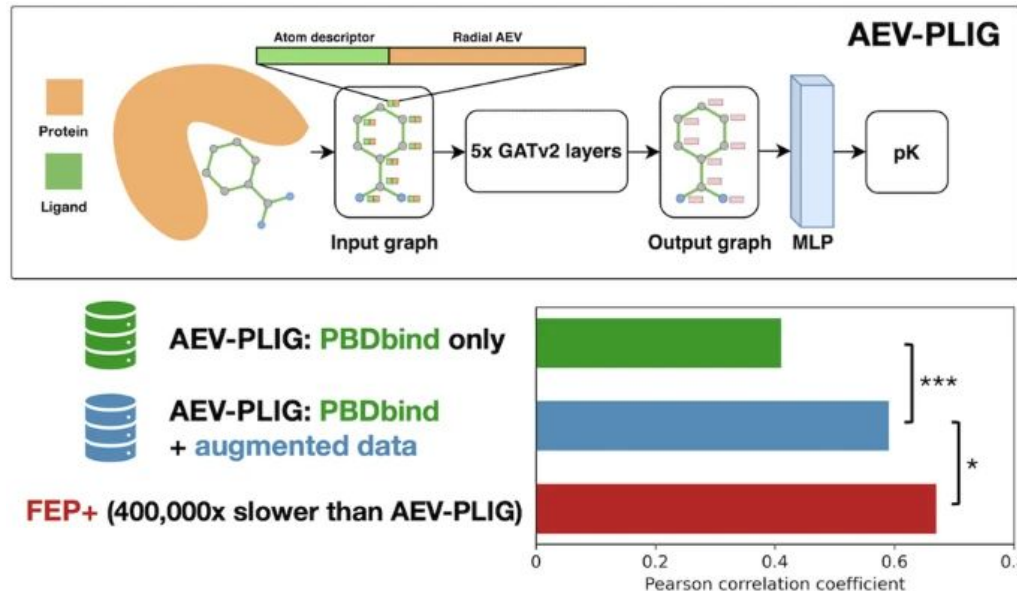
PLACER (*ChemNet*): Para a geração rápida de ensembles conformacionais e avaliação da pose, incluindo o rearranjo da cadeia lateral.



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Panorama dos Métodos que Abordaremos

AEV-PLIG: Para a predição rápida e precisa da afinidade de ligação (*binding affinity*).



Post-Docking Analysis and Pose Stability

GFN2-xTB: Para a discriminação precisa de conformações de alta e baixa energia.



ChemPhysChem

Research Article
doi.org/10.1002/cphc.202400992

 **Chemistry
Europe**
European Chemical
Societies Publishing

www.chemphyschem.org

Discriminating High from Low Energy Conformers of Druglike Molecules: An Assessment of Machine Learning Potentials and Quantum Chemical Methods

Linghan Kong^[a] and Richard A. Bryce^{*[a]}

<https://doi.org/10.1002/cphc.202400992>

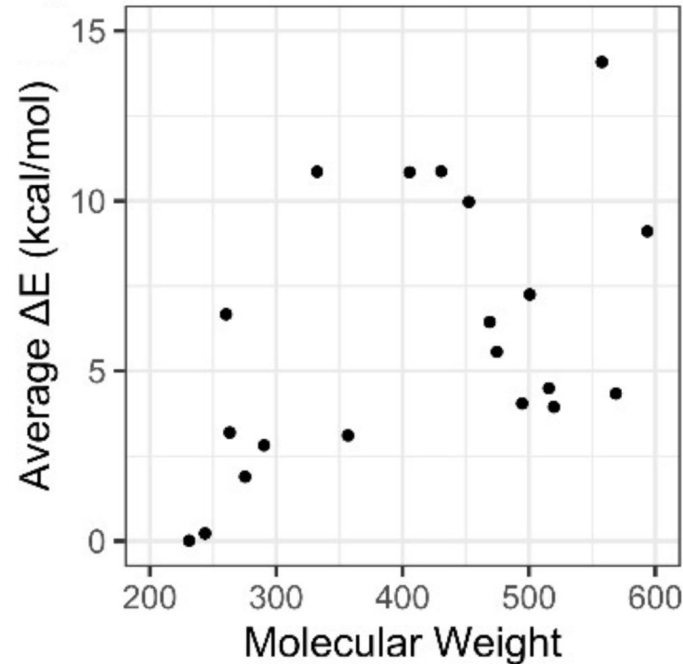
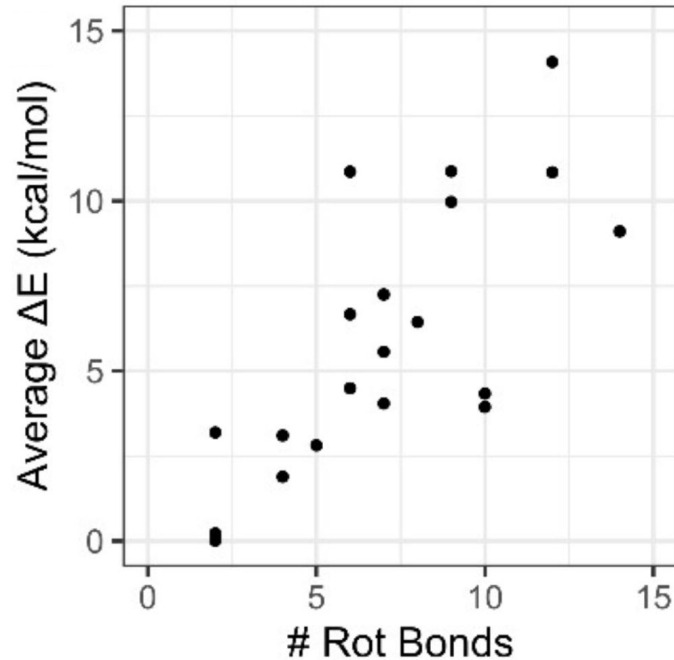
Post-Docking Analysis and Pose Stability

GFN2-xTB para Discriminação de Conformações

- **A Importância da Energia Conformacional**
 - A previsão precisa de conformações de ligantes de alta energia é fundamental na descoberta de fármacos baseada na estrutura.
 - É crucial para a exclusão de estruturas irrealistas em processos de triagem virtual (*virtual screening*) e desenho de novo.
- **Desafios na Estimativa de Energia**
 - Um estudo indicou que 10% dos ligantes podem apresentar energias de *strain* (tensão conformacional) superiores a 9 kcal/mol quando ligados a uma proteína.
 - A incapacidade de calcular com precisão a energia relativa dos conformadores de um ligante pode levar a afinidades de ligação superestimadas ou subestimadas, resultando em falsos negativos ou falsos positivos na triagem virtual.
 - A necessidade de avaliação em larga escala exige métodos que sejam precisos e eficientes.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

GFN2-xTB para Discriminação de Conformações



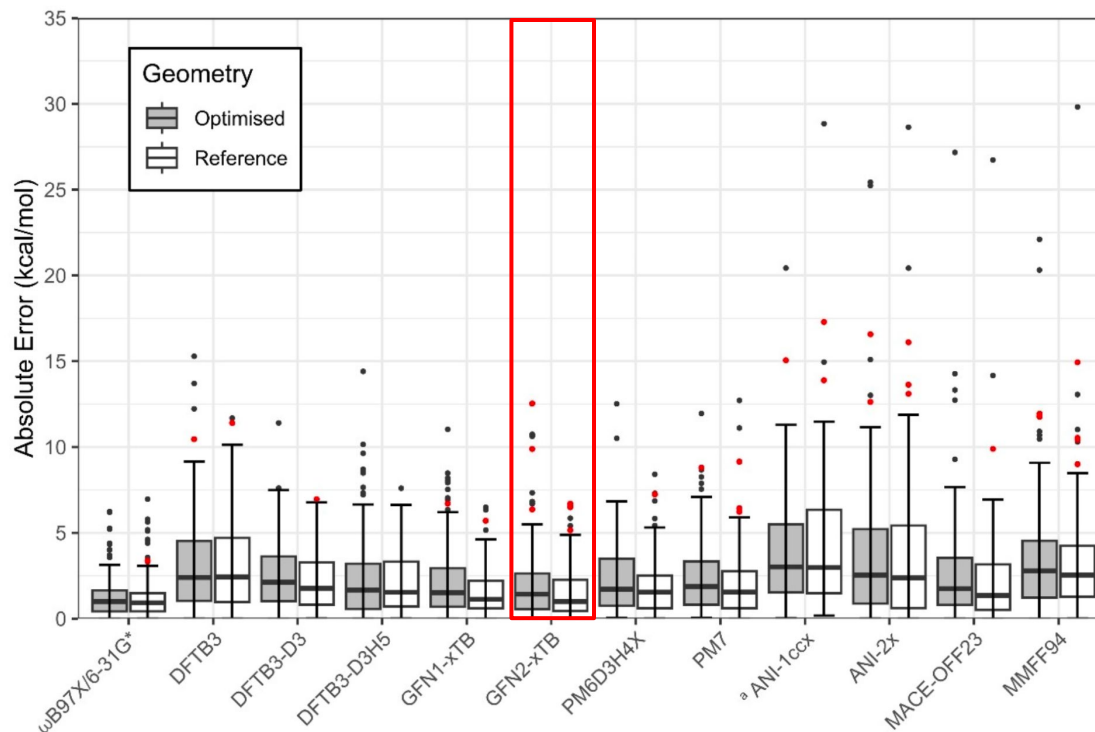
Post-Docking Analysis and Pose Stability

O Que é GFN2-xTB?

- **Natureza do Método:**
 - GFN2-xTB é um método de *tight binding* de função de densidade (DFTB), inserido na categoria de métodos semi empíricos de mecânica quântica (SQM).
 - É uma alternativa aos campos de força moleculares (MM) e aos métodos de mecânica quântica (QM) de alto nível.
- **Vantagens Computacionais:**
 - Escala de forma mais acessível com o tamanho do sistema em comparação com os métodos DFT (Teoria do Funcional da Densidade) e é consideravelmente mais rápido que os métodos QM de alto nível como CCSD(T).
- **Desempenho Geral:**
 - O GFN2-xTB demonstrou o melhor desempenho geral entre os métodos avaliados em um estudo recente, sendo o mais adequado para atuar como filtro de energia interna em fluxos de trabalho de descoberta de fármacos.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

O Que é GFN2-xTB?



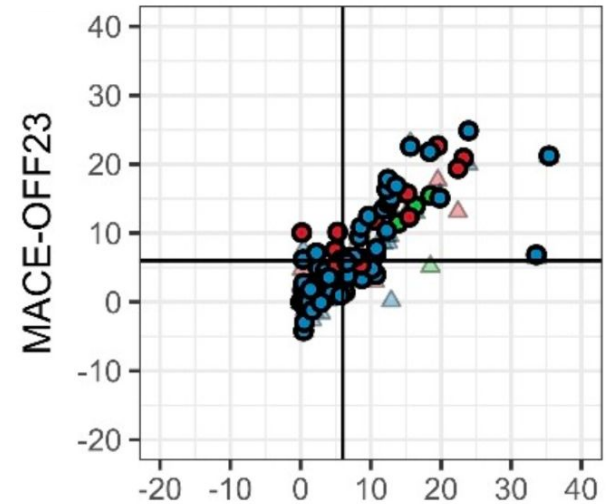
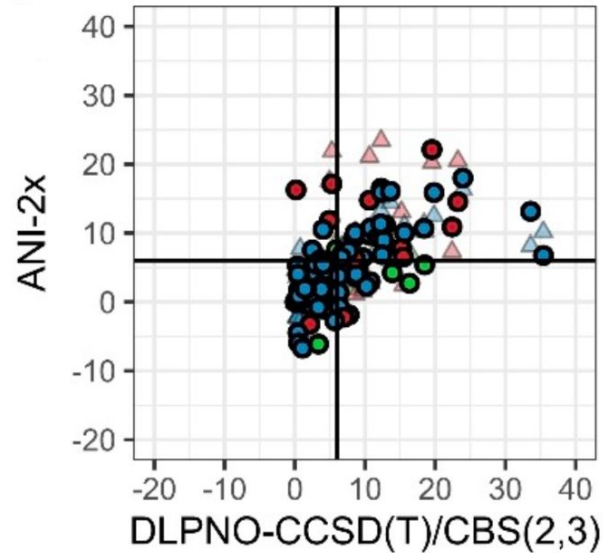
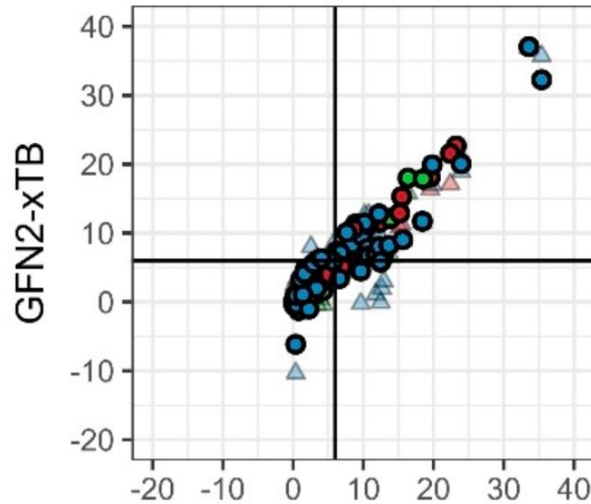
Post-Docking Analysis and Pose Stability

Avaliação do GFN2-xTB no Drug20 Dataset

- **O Drug20 Dataset:**
 - Conjunto de dados de referência composto por 140 confôrmeros de 20 moléculas semelhantes a fármacos, com energias avaliadas no nível DLPNO-CCSD(T)/CBS(2,3).
 - O dataset abrange uma ampla e rigorosa gama de energias internas para um dado ligante.
- **Resultados de Desempenho:**
 - Erro Médio Absoluto (MAE) de 1.6 kcal/mol em geometrias de referência.
 - 50.0% de precisão química (%CA), o que significa que 50% das previsões estavam dentro de 1 kcal/mol do valor de referência.
 - Apresentou a mais alta precisão química entre os métodos SQM.
 - Coeficiente Kendall's τ de 0.76 em geometrias de referência, indicando a capacidade mais precisa de ranquear conformadores por energia.
- **Capacidade de Amostragem:**
 - O GFN2-xTB foi geralmente preciso na reprodução da energética conformacional para moléculas flexíveis e relativamente rígidas, e em diversas cargas moleculares.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Avaliação do GFN2-xTB no Drug20 Dataset



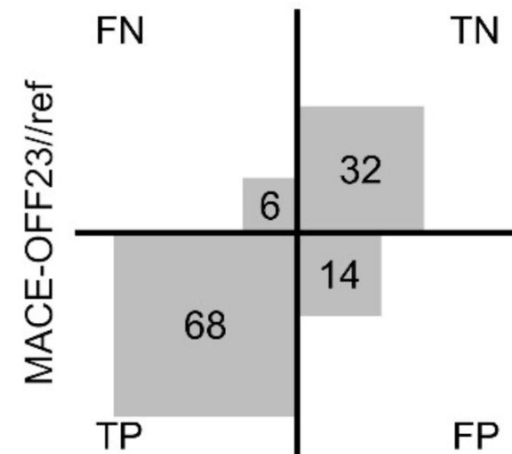
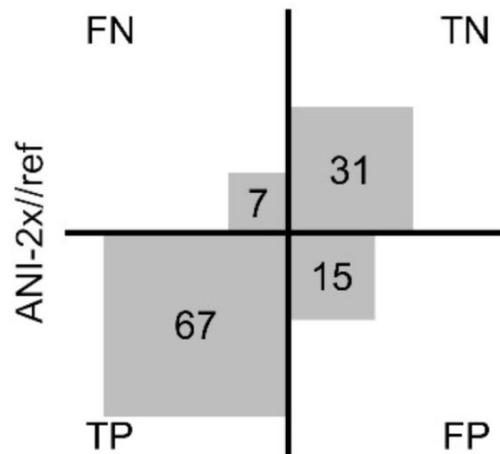
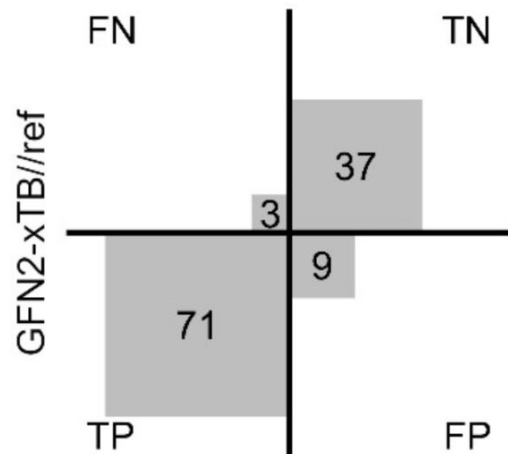
Post-Docking Analysis and Pose Stability

GFN2-xTB: Discriminação de Conformações de Alta e Baixa Energia

- **Critério de Discriminação:**
 - Utiliza um corte de energia de 6 kcal/mol para classificar conformadores como de baixa (verdadeiro positivo, TP) ou alta energia (verdadeiro negativo, TN).
- **Sensibilidade (Identificação de Baixa Energia):**
 - GFN2-xTB atinge uma sensibilidade de 96% na identificação de conformadores de baixa energia. Isso significa que 71 de 74 conformadores de energia mais baixa foram corretamente identificados.
- **Especificidade (Exclusão de Alta Energia):**
 - Apresenta uma especificidade de 80% na identificação correta de conformadores de alta energia. Isso significa que 37 de 46 conformadores foram corretamente excluídos.
- **Menor Número de Falsos Positivos:**
 - O GFN2-xTB produziu o menor número de falsos positivos (FP), onde conformadores de alta energia são incorretamente incluídos para estudo adicional.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

GFN2-xTB: Discriminação de Conformações de Alta e Baixa Energia



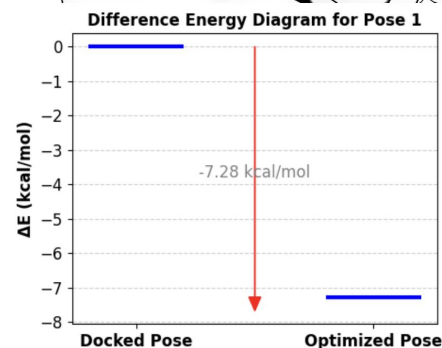
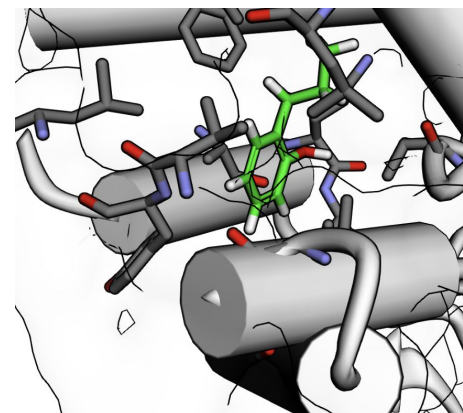
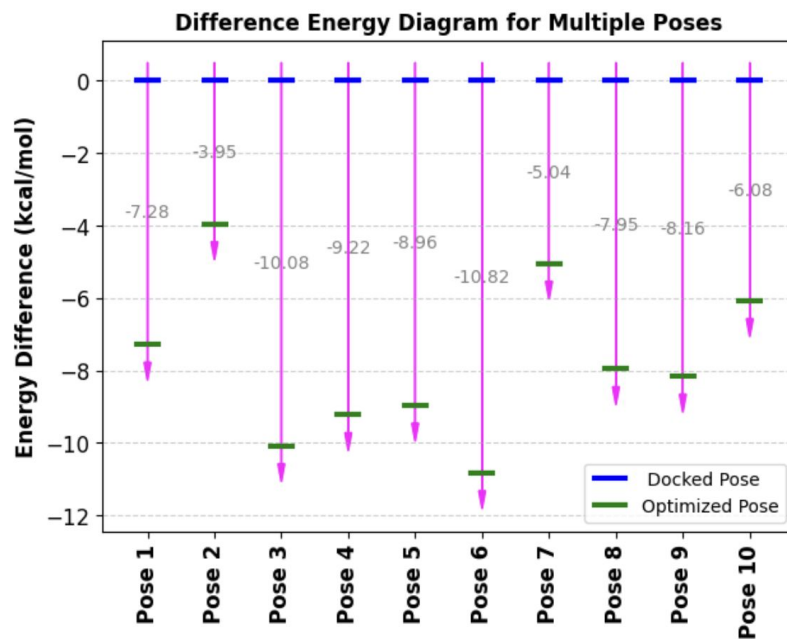
Post-Docking Analysis and Pose Stability

Comparação e Implicações do GFN2-xTB

- **Comparação com MLPs (ANI-2x, MACE-OFF23(L)):**
 - Embora ANI-2x e MACE-OFF23(L) também apresentam boa sensibilidade, eles demonstram capacidade reduzida de excluir conformadores de alta energia (especificidade de 67% e 70%, respectivamente).
 - O GFN2-xTB demonstrou o melhor desempenho geral para essa tarefa de discriminação.
- **Vantagem como Filtro de Energia:**
 - O GFN2-xTB é atualmente o mais adequado dos métodos avaliados para atuar como um filtro de energia interna em fluxos de trabalho de descoberta de fármacos.
- **Aplicações Práticas:**
 - Essencial para filtrar estruturas não realísticas em triagem virtual baseada em docking e abordagens de desenho de novo.
 - Auxilia na otimização de processos de descoberta de medicamentos ao refinar as poses consideradas para estudos adicionais.

Post-Docking Analysis and Pose Stability



Exemplos práticos utilizando GFN2-xTB



Post-Docking Analysis and Pose Stability

PLACER (ChemNet): Para a geração rápida de ensembles conformacionais e avaliação da pose, incluindo o rearranjo da cadeia lateral.

Modeling protein-small molecule conformational ensembles with ChemNet

 Ivan Anishchenko,  Yakov Kipnis,  Indrek Kalvet,  Guangfeng Zhou,  Rohith Krishna,  Samuel J. Pellock,  Anna Lauko,  Gyu Rie Lee,  Linna An,  Justas Dauparas,  Frank DiMaio,  David Baker

doi: <https://doi.org/10.1101/2024.09.25.614868>

This article is a preprint and has not been certified by peer review [what does this mean?].

Abstract

Full Text

Info/History

Metrics

 Preview PDF

<https://doi.org/10.1101/2024.09.25.614868>

Post-Docking Analysis and Pose Stability

O Desafio da Heterogeneidade Conformacional

- A modelagem da heterogeneidade conformacional de sistemas proteína-pequena molécula continua sendo um desafio significativo.
- Ferramentas de docking baseadas em deep learning como DiffDock, Glide e GNINA/SMINA, embora úteis, não apresentam desempenho pronunciado em regimes de alta precisão ou em receptores não vistos.
- Métodos como AlphaFold2/3 e RoseTTAFold são eficazes para a predição de estrutura proteica, mas não está claro se podem modelar a heterogeneidade conformacional.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Introdução ao PLACER (*ChemNet*)

- **O que é PLACER?**

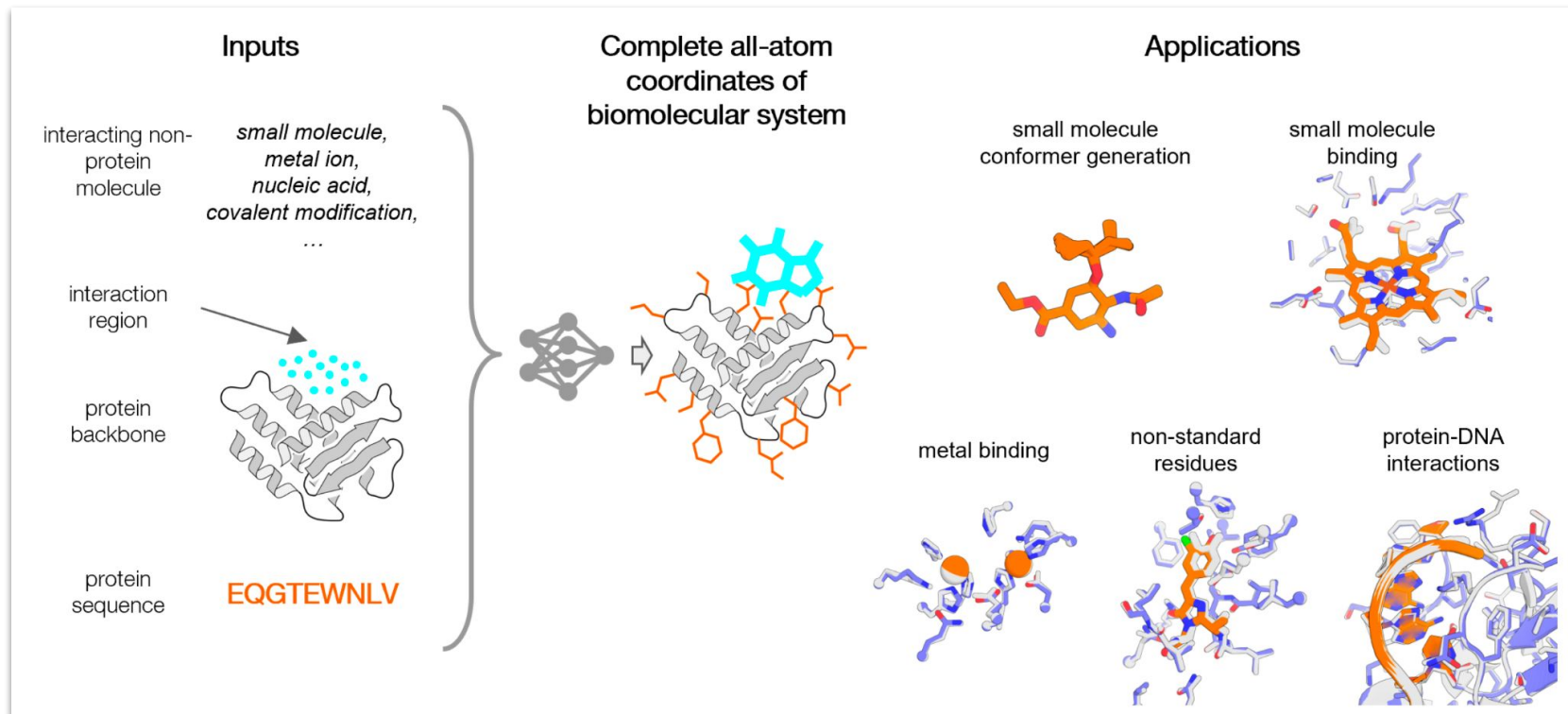
- Uma rede neural gráfica (GNN) desenvolvida para a modelagem atomística de pequenas moléculas e suas interações com proteínas.
- Sua concepção se baseia na ideia de que uma descrição em nível atômico poderia oferecer vantagens em velocidade e generalidade para sondar a heterogeneidade das interações.
- Treinado para recapitular posições atômicas corretas a partir de estruturas de entrada parcialmente rompidas.

- **Inovação e Aplicações:**

- É rápido e estocástico, permitindo a geração de conjuntos (ensembles) de previsões para mapear a heterogeneidade conformacional.
- Útil para gerar rapidamente ensembles de sistemas de pequenas moléculas e de proteína-pequena molécula.
- Melhora as taxas de sucesso e atividades em esforços de design de enzimas, avaliando a precisão e pré-organização de sítios ativos projetados.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Introdução ao PLACER (ChemNet).



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Arquitetura e Treinamento do PLACER

- **Representação do Sistema:**

- O sistema molecular é convertido em um grafo químico, onde os nós representam átomos pesados individuais e as arestas representam ligações químicas. Essa representação é uniforme entre os tipos de moléculas.

- **Processo de Denoising:**

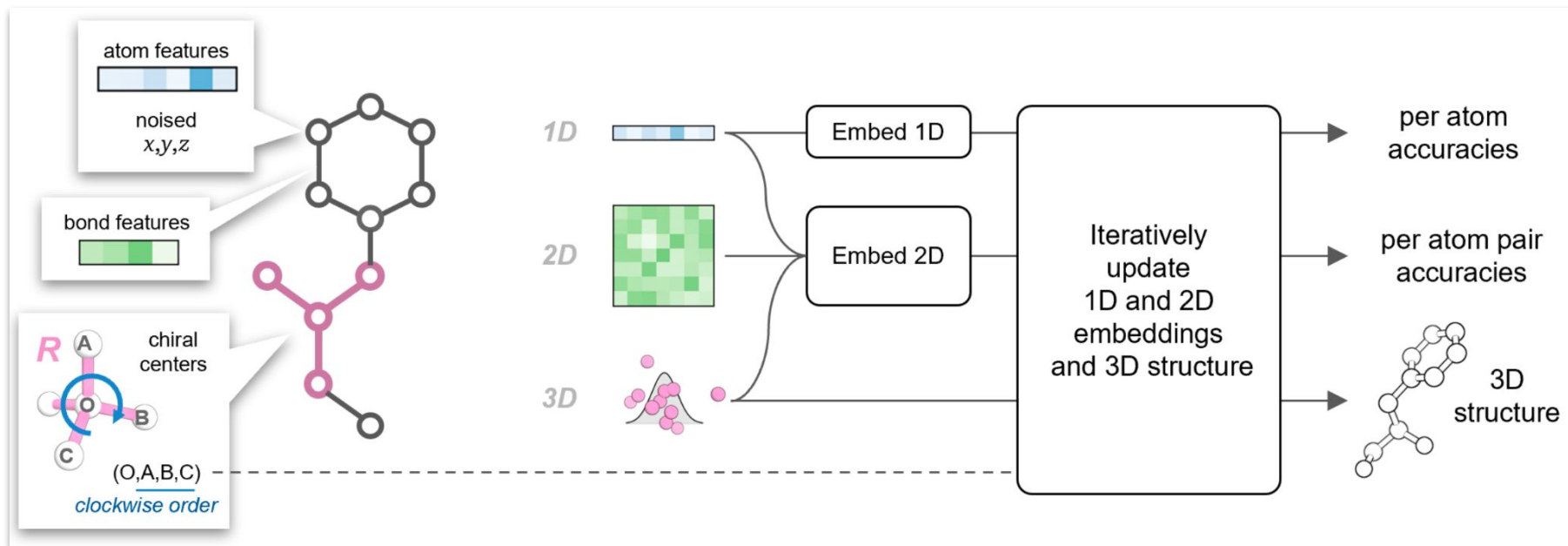
- A rede é encarregada de *denoise* iterativamente as coordenadas de entrada e estimar as incertezas nas posições atômicas da estrutura do modelo de saída.
- Arquitetura (inspirada em RoseTTAFold)

- **Treinamento e Perda:**

- Treinado usando uma combinação de perdas de estrutura (FAPE all-atom) e perdas de previsão de confiança aplicadas após cada iteração.
- Prevê desvios nas posições atômicas (σ) para cada átomo, o que pode ser combinado para dar o pRMSD (predicted RMSD).

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Arquitetura e Treinamento do PLACER



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Modelagem de Interações Proteína-Pequena Molécula

- **Geração de Ensembles de Poses:**

- PLACER é utilizado para gerar ensembles de poses de pequenas moléculas no pocket da proteína alvo, através de múltiplas execuções com diferentes inicializações aleatórias das coordenadas de entrada.

- **Robustez à Posição Inicial:**

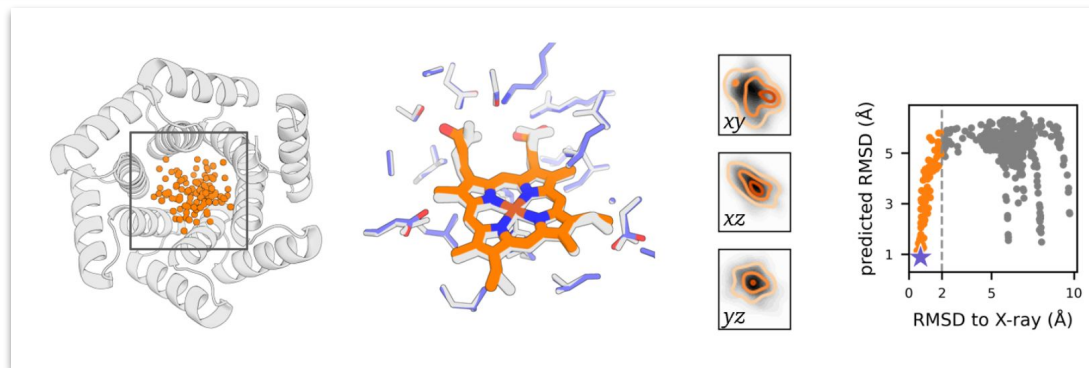
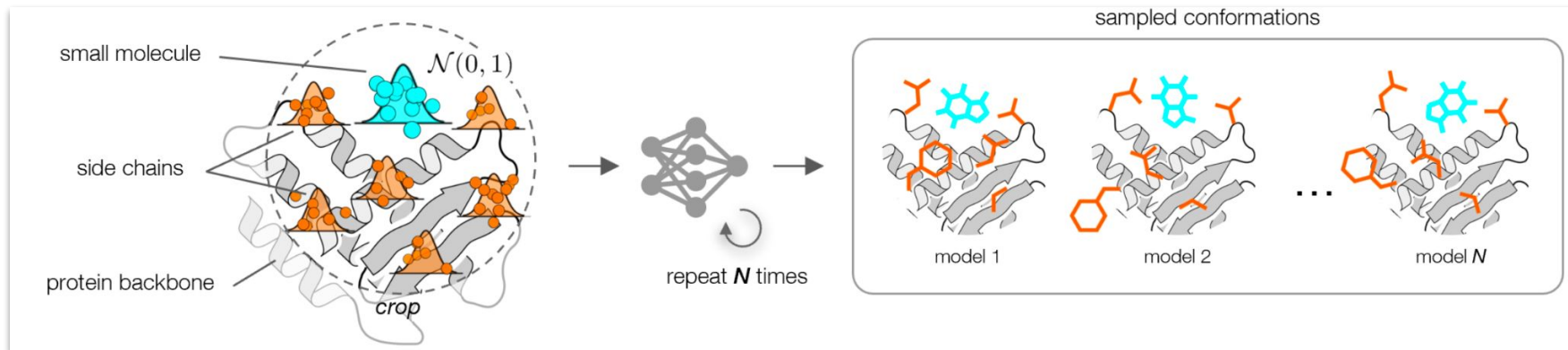
- A análise desses ensembles revela que PLACER não é muito sensível ao posicionamento inicial do ligante; múltiplas posições de partida diferentes resultam em previsões próximas do nativo.

- **Seleção de Modelos Acucrados:**

- O pRMSD predito calculado sobre os átomos do ligante permite a seleção de modelos mais precisos a partir do pool amostrado.
- Modelos com pRMSD mais baixos se aproximam mais da conformação nativa, demonstrando o poder discriminativo da pontuação.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Modelagem de Interações Proteína-Pequena Molécula



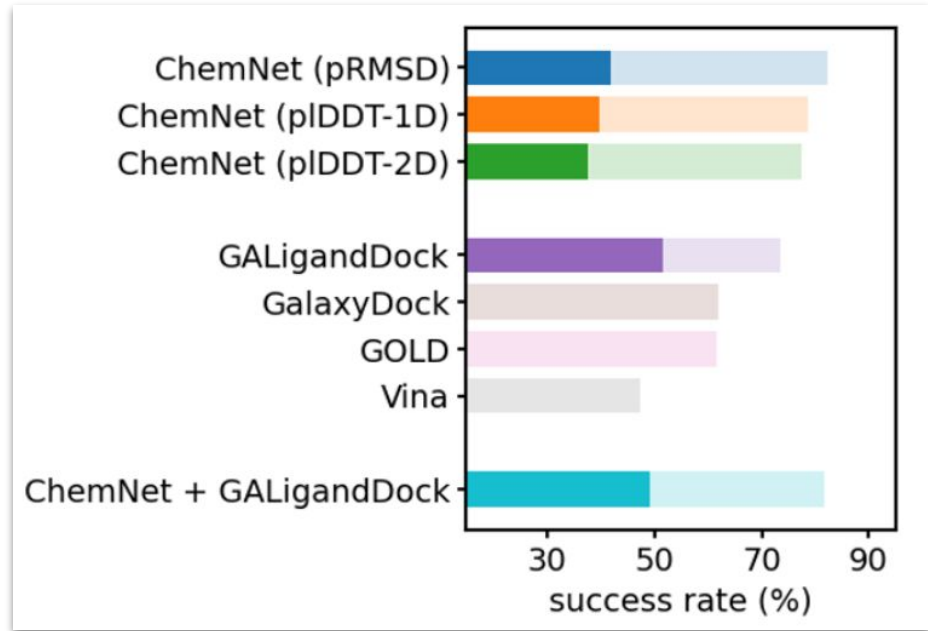
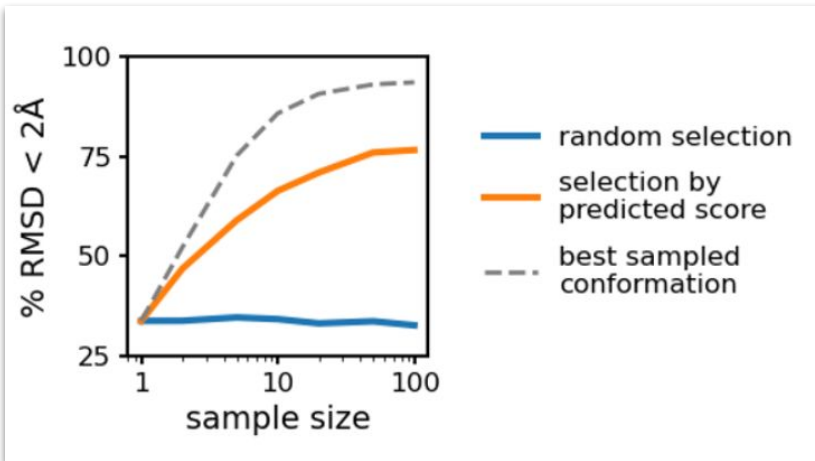
Post-Docking Analysis and Pose Stability

Desempenho do PLACER no Docking

- **Cenário Realista (Conjunto de Teste Astex):**
 - Avaliado em um conjunto de teste padrão de 65 alvos de drogas, incluindo estruturas não-nativas de proteínas.
 - A taxa de sucesso aumenta se mais modelos são gerados, e a pontuação pRMSD mostra a melhor capacidade de selecionar conformações próximas do nativo.
- **Resultados Comparativos:**
 - PLACER alcança uma taxa de sucesso de 82.4% para $\text{RMSD} < 2\text{\AA}$ e 41.8% para $\text{RMSD} < 1\text{\AA}$.
 - Compara favoravelmente com métodos existentes como Vina, GOLD.
 - Ao contrário de outros métodos, PLACER recria as conformações da pequena molécula e das cadeias laterais da proteína do zero, não dependendo amplamente das coordenadas de proteína de entrada.
- **Potencial de Melhoria:**
 - Pode ser combinado com métodos baseados em física (ex: campo de força Rosetta) para aumentar a taxa de sucesso do docking.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Desempenho do PLACER no Docking



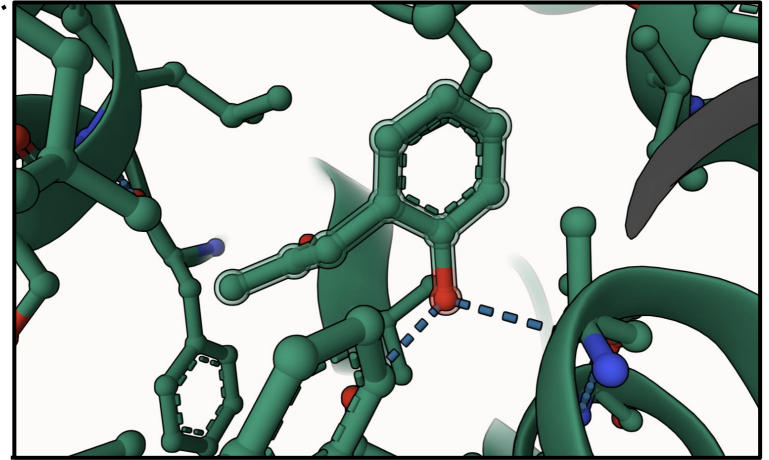
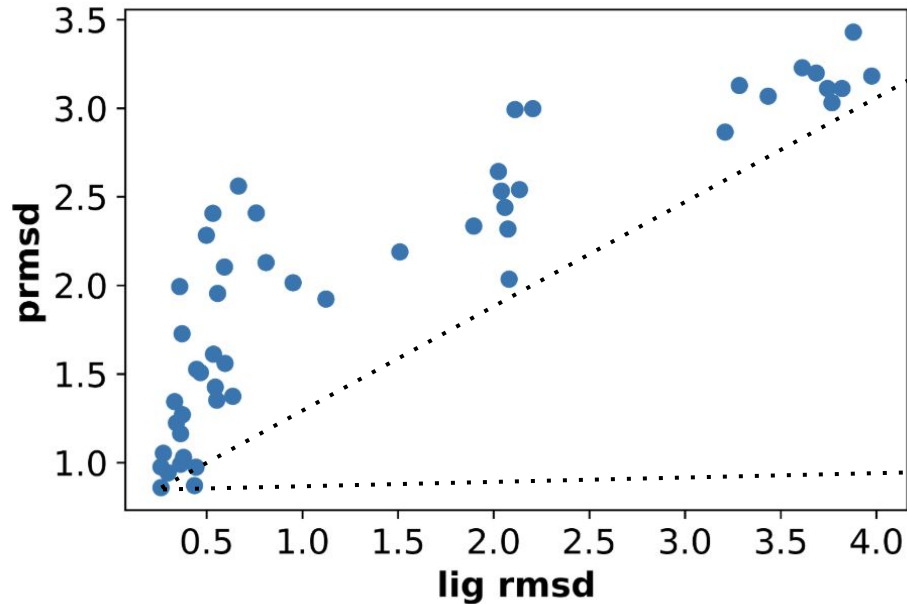
Post-Docking Analysis and Pose Stability

Aplicações Essenciais do PLACER

- **Geração Rápida de Ensembles:**
 - Oferece uma abordagem versátil e rápida para gerar ensembles conformacionais de moléculas, tanto isoladamente quanto no contexto de um sítio de ligação proteico.
 - Isso é crucial para sistemas com uma distribuição de estados possíveis, que são difíceis de modelar com AlphaFold2/3 e RosettaFold.
- **Design de Enzimas e Ligantes:**
 - De grande utilidade para o design computacional de enzimas e o design de ligantes de pequenas moléculas.
 - Permite a avaliação da precisão e do grau de pré-organização dos sítios ativos projetados, um desafio crítico no design de novo de enzimas.
 - Sua avaliação da precisão e pré-organização do sítio ativo melhora consideravelmente as taxas de sucesso na descoberta.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Exemplos práticos utilizando o PLACER



Post-Docking Analysis and Pose Stability

AEV-PLIG: Para a predição rápida e precisa da afinidade de ligação (*binding affinity*).

communications chemistry

Article

A Nature Portfolio journal



<https://doi.org/10.1038/s42004-025-01428-y>

Narrowing the gap between machine learning scoring functions and free energy perturbation using augmented data



Check for updates

Ísak Valsson ^{1,4}, Matthew T. Warren ^{2,4}, Charlotte M. Deane ¹, Aniket Magarkar ³ ,
Garrett M. Morris ¹  & Philip C. Biggin ² 

<https://doi.org/10.1038/s42004-025-01428-y>

Post-Docking Analysis and Pose Stability

O Desafio da Predição Precisa da Afinidade de Ligação

- **Pilar da Descoberta de Fármacos:**

- A predição da mudança na energia livre na ligação de uma proteína e um ligante é fundamental na descoberta computacional de fármacos.

- **Limitações dos Métodos Existentes:**

- Funções de pontuação (scoring functions) de docking são rápidas, mas sua precisão é limitada por heurísticas e aproximações físicas.
- Cálculos de Energia Livre de Ligação (FEP) são mais rigorosos, mas extremamente caros computacionalmente, exigem preparação e parametrização extensivas e têm restrições estruturais.

- **Promessa da Aprendizagem de Máquina (ML):**

- ML surge como uma alternativa promissora, mas os modelos atuais frequentemente falham em aprender princípios biofísicos-chave e podem "memorizar" dados de treinamento, limitando sua generalização para dados não vistos.

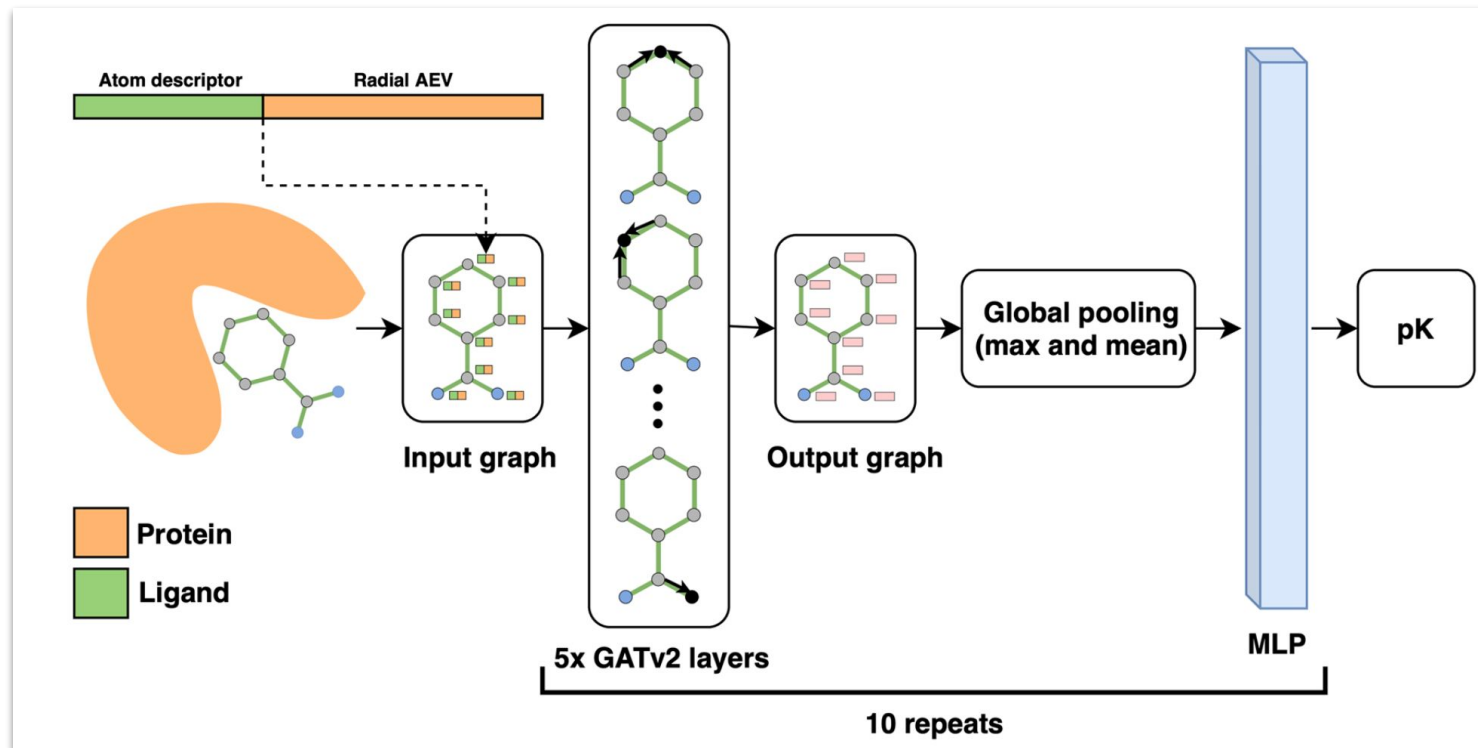
Post-Docking Analysis and Pose Stability

Introdução ao AEV-PLIG

- **O que é AEV-PLIG?**
 - Um novo modelo de rede neural gráfica (GNN) baseado em atenção.
 - Projetado para prever a afinidade de ligação proteína-ligante de forma rápida e precisa.
- **Inovação na *Featurization*:**
 - Combina *Atomic Environment Vectors (AEVs)* com *Protein-Ligand Interaction Graphs (PLIGs)*.
 - AEVs descrevem o ambiente químico local de um átomo de referência.
 - PLIGs representam contatos intermoleculares entre proteínas e ligantes.
- **Mecanismo de Atenção:**
 - Usa uma arquitetura GNN atencional expressiva que aprende a importância relativa dos ambientes vizinhos para capturar as complexas interações entre átomos da proteína e do ligante.
 - Utiliza o tipo de átomo ECIF (Extended Connectivity Interaction Features) para uma descrição mais detalhada e informativa do ambiente químico.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Introdução ao AEV-PLIG



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Arquitetura do AEV-PLIG

- **Construção do Grafo:**
 - O grafo é construído com os átomos pesados do ligante como nós e as ligações covalentes como arestas.
 - Os AEVs são calculados para cada nó de átomo pesado do ligante, usando contribuições apenas de átomos de proteína próximos.
 - Os descritores de átomo de ligante (como tipo de elemento, valência, aromaticidade, etc.) também são adicionados aos vetores.
- ***Radial Atomic Environment Vectors (AEVs):***
 - Descrevem o ambiente químico local de um átomo de referência usando funções Gaussianas centradas em várias distâncias.
 - Incorporam interações atômicas pareadas intermoleculares.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Avaliação em Benchmarks Realistas

- **Necessidade de Benchmarks Robustos:**

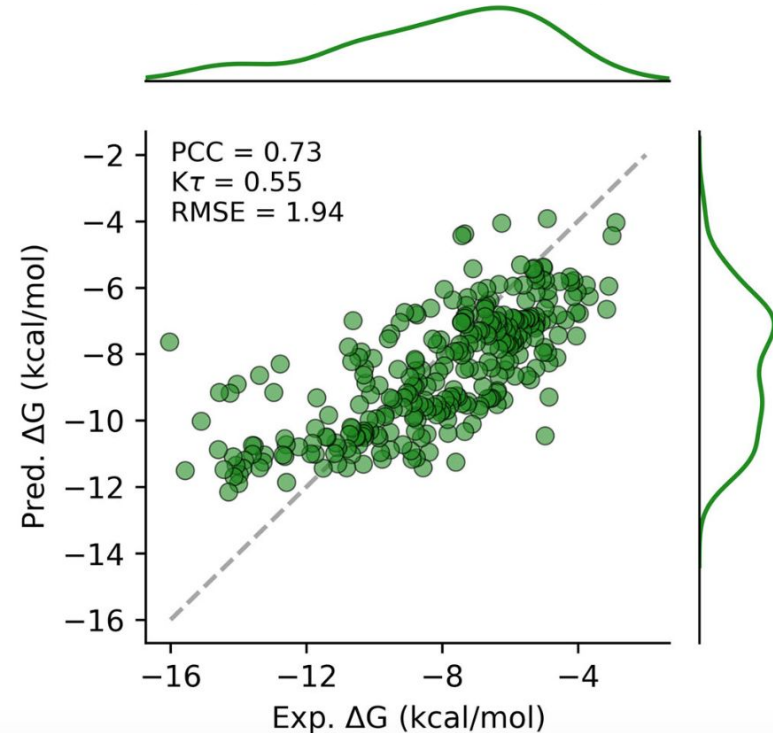
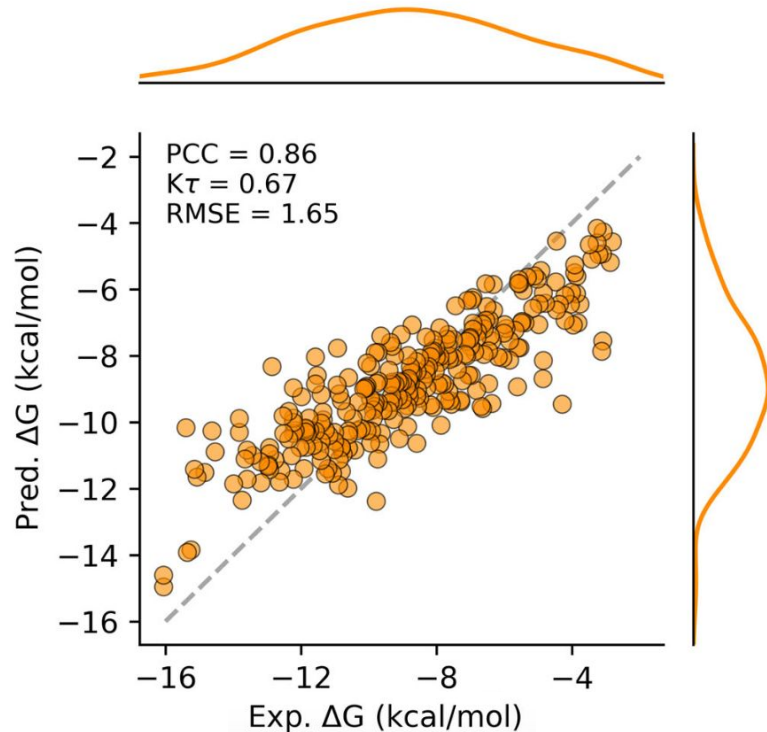
- Modelos de ML frequentemente "memorizam" exemplos de treinamento e se sobreajustam a vieses e ruídos, em vez de aprender a biofísica subjacente.
- A avaliação em benchmarks diversos que capturem as nuances e desafios dos dados e aplicações do mundo real é crucial.

- **Benchmarks Utilizados:**

- **CASF-2016:** Benchmark amplamente utilizado para avaliação de acurácia.
- **OOD Test:** Novo benchmark projetado para penalizar a memorização de ligantes e/ou proteínas, minimizando a similaridade com os dados de treinamento.
- **0 Ligand Bias:** Teste projetado para penalizar modelos que aprendem predominantemente características baseadas no ligante.
- **FEP Benchmark:** Conjunto abrangente de proteínas e séries de ligantes congêneres, representativo de projetos reais de descoberta de fármacos, originalmente para validar FEP+.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Avaliação em Benchmarks Realistas



Post-Docking Analysis and Pose Stability

Desempenho e o Papel dos Dados Aumentados

- **Desempenho Base:**

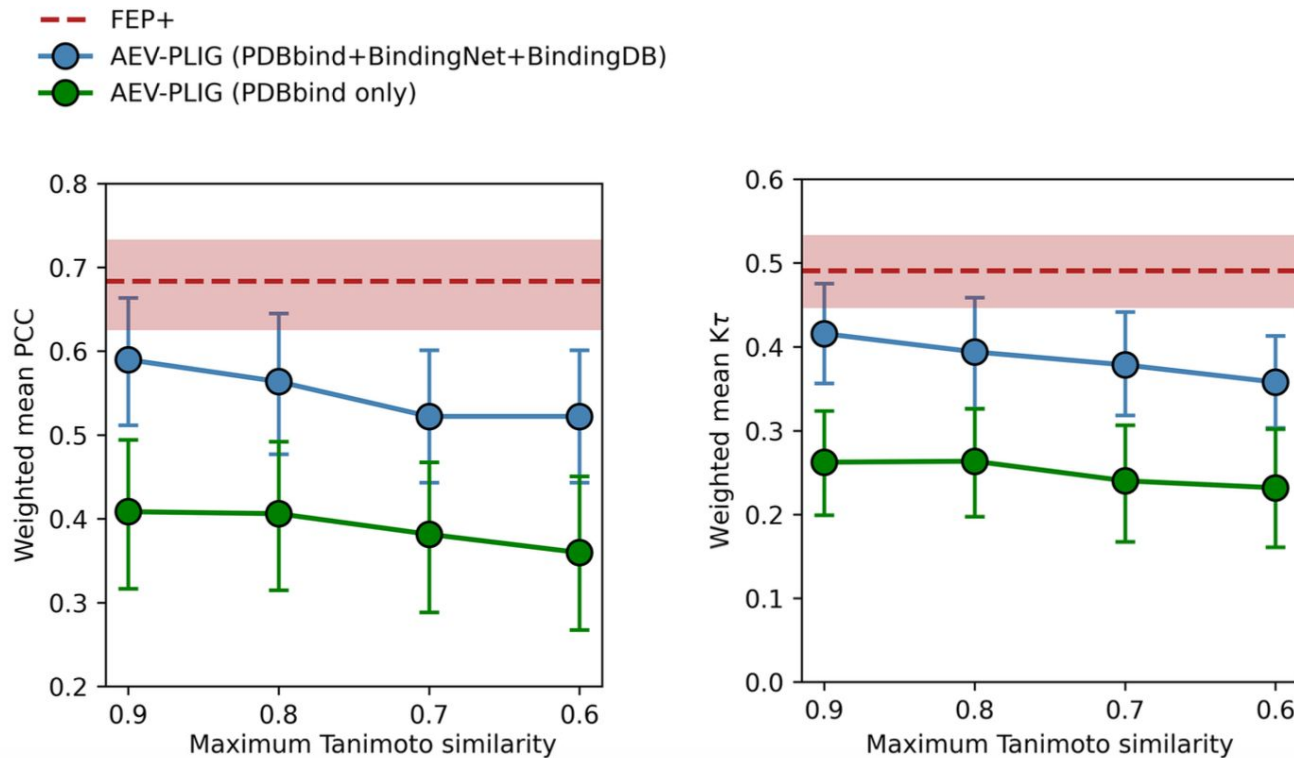
- AEV-PLIG alcançou excelente desempenho no CASF-2016 ($PCC = 0.86$, $K\tau = 0.67$), superando ou sendo comparável a outros métodos.
- Como esperado para modelos de ML, o desempenho é notavelmente menor em benchmarks OOD e no FEP Benchmark, refletindo a natureza desafiadora desses cenários.

- **Impacto dos Dados Aumentados:**

- A falta de dados diversos e de alta qualidade é um grande problema.
- A estratégia de aumentar os dados de treinamento com estruturas modeladas (usando modelagem baseada em template ou docking) do BindingNet e BindingDB-DCS melhorou significativamente a correlação e o ranqueamento no FEP Benchmark.
- O PCC ponderado e o Kendall's τ aumentaram de 0.41 e 0.26 para 0.59 e 0.42, respectivamente. Essa melhora foi estatisticamente significativa.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

Desempenho e o Papel dos Dados Aumentados



Post-Docking Analysis and Pose Stability

AEV-PLIG vs. FEP+: Comparação e Vantagens Práticas

- **Fechando a Lacuna de Desempenho:**

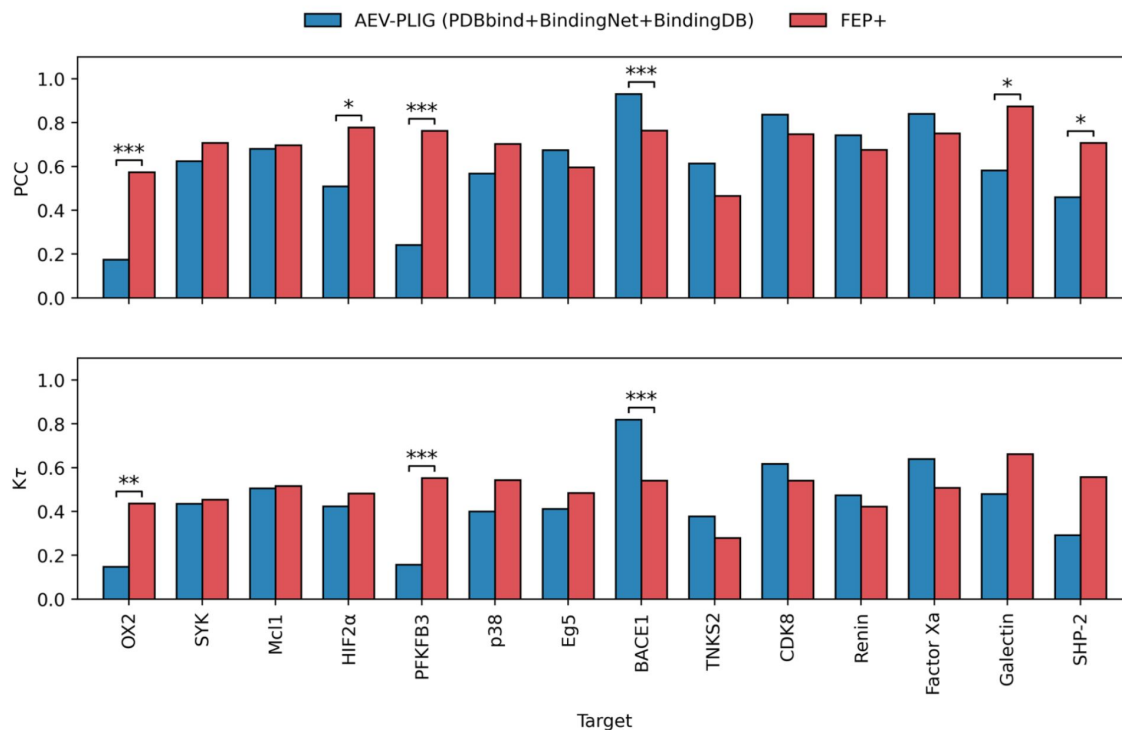
- AEV-PLIG treinado com dados aumentados está fechando a lacuna de desempenho com os métodos de "padrão ouro" como FEP+.
- AEV-PLIG (com dados aumentados) alcançou desempenho comparável ao FEP+ em 8/14 alvos (PCC) e 11/14 alvos ($K\tau$).

- **Vantagens Práticas do AEV-PLIG:**

- Uma vez treinado, AEV-PLIG gera uma predição em 33ms, enquanto FEP+ (para 4 perturbações) leva 24 horas. Isso é ~400.000 vezes mais rápido!
- Menos Preparação: Requer preparação mínima por sistema, contrastando com FEP+ que exige protocolos robustos e adaptação manual.
- Escalabilidade: Ideal para triagem virtual de alto rendimento (high-throughput virtual screening), como ranquear milhares de compostos.

Post-Docking Analysis and Pose Stability

AEV-PLIG vs. FEP+: Comparação e Vantagens Práticas



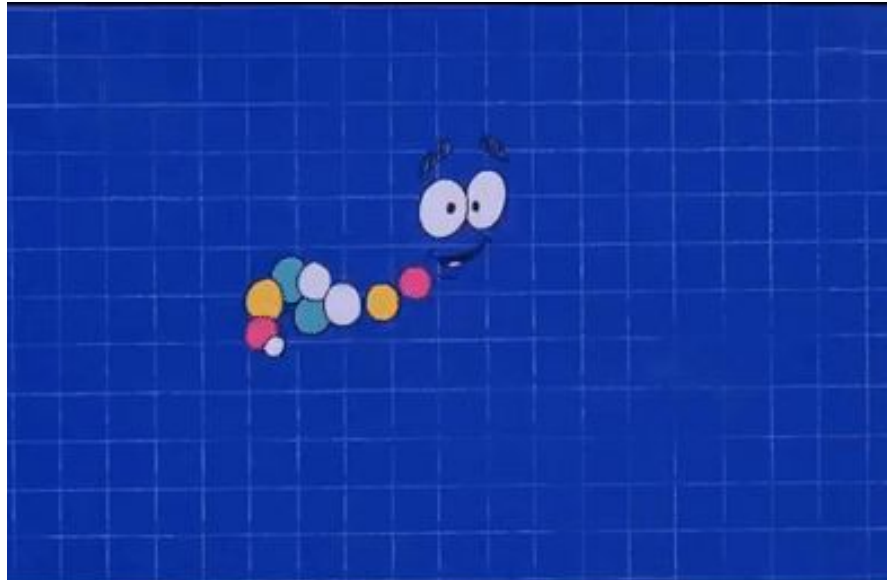
Post-Docking Analysis and Pose Stability

Conclusão – Otimizando a Descoberta de Fármacos

- **GFN2-xTB:** Essencial para a filtragem precisa de conformações de ligantes de alta.
- **PLACER:** Revolucionário na geração rápida de ensembles conformacionais e avaliação detalhada de poses, incluindo o rearranjo da cadeia lateral, fornecendo insights sobre a pré-organização de sítios ativos.
- **AEV-PLIG:** Oferece predição de afinidade de ligação rápida e precisa, com um desempenho aprimorado por dados aumentados, aproximando-se do "padrão ouro" FEP+ com uma vantagem de velocidade enorme.
- Esses métodos representam ferramentas poderosas e complementares que aceleram significativamente as etapas iniciais da descoberta de fármacos, melhorando a precisão e a eficiência da avaliação de poses de docking.

pablitoarantes@gmail.com
pablo.arantes@ems.com.br
<https://pablo-arantes.github.io>

 .website



twitter 



Obrigado!

