

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Cél: kis koncentrációban kötődő célvegyület tervezése

Agonista: segíti az enzim működését, hatékonyabb, mint a természetes szubsztrát

Antagonista: gátolja az enzim működését, ellentétes hatású, mint a természetes szubsztrát

Követelmény: sztérikus és elektrosztatikus komplementaritás

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Feltétel:

- a befolyásolni kívánt fehérje térszerkezetének meghatározása
- aktív hely azonosítása (nem egyértelmű)
- szubsztrát kötésben szerepet játszó aminosavak azonosítása

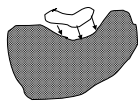
Mechanizmus?

lehet, hogy szimuláció szükséges

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Követelmény:

sztérikus és elektrosztatikus komplementaritás



Egyszerű megközelítés (fix szubsztrát)

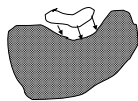
van der Waals és elektrosztatikus tagok optimalálása (docking)

$$E(r^s) = \sum_{i,j} \frac{k_{ij}}{2} (l_{ij} - l_{ij}^0)^2 + \sum_{\alpha,\beta} \frac{k_{\alpha\beta}}{2} (\theta_{\alpha\beta} - \theta_{\alpha\beta}^0)^2 + \sum_{\alpha,\beta,\gamma} \frac{V_{\alpha\beta\gamma}}{2} (1 + \cos(n\alpha\beta - \gamma)) + \sum_{i,j} \sum_{k,l} 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ik}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{il}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}}$$

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Követelmény:

sztérikus és elektrosztatikus komplementaritás



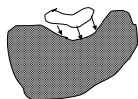
Egyszerű megközelítés (fix szubsztrát)

scoring fv-ek adatbázisokból statisztika alapján

Muegge és Martin (1999) J. Med. Chem. 42, pp.791-804.

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Modell finomítása



flexibilis modell a szubsztrát konformációs tulajdonságait is figyelembe veszi

$$E(r^s) = \sum_{i,j} \frac{k_{ij}}{2} (l_{ij} - l_{ij}^0)^2 + \sum_{\alpha,\beta} \frac{k_{\alpha\beta}}{2} (\theta_{\alpha\beta} - \theta_{\alpha\beta}^0)^2 + \sum_{\alpha,\beta,\gamma} \frac{V_{\alpha\beta\gamma}}{2} (1 + \cos(n\alpha\beta - \gamma)) + \sum_{i,j} \sum_{k,l} 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ik}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{il}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}}$$

MM, MD, MC algoritmussal optimalás ADATBÁZISOK

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Problémák:




- flexibilis kötőhely
- flexibilis fehérje
- oldószer környezet
- ionok
- protonáltsági állapotok

$$\Delta G_{bind} = RT \ln K_M = \Delta H - T\Delta S$$

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Megoldások:



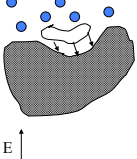
$$\Delta G_{bind} = RT \ln K_M = \Delta H - T\Delta S$$

↓

**Szabadenergia számítások**  
hosszútávú (elektrosztatikus) kölcsönhatások  
figyelembe vételével

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Megoldások:



Termodinamikai integrálás:

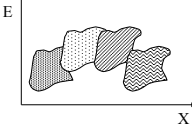
$$\Delta G = \int_0^1 \left( \frac{\partial H(\lambda)}{\partial \lambda} \right)_\lambda d\lambda$$

Szabadenergia perturbáció:

$$\Delta A = -RT \sum_{i=1}^N \ln \langle \exp(-\Delta H_i / RT) \rangle_i$$

↓

all-atom megközelítésben költségesek



A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Egyszerűsítések:

Környezet figyelembe vétele (egyszerűsített oldószer modellek):  
makroszkópikus modellek:

- Poisson-Boltzmann (szemi-makroszkópikus)
  - + hidrofób effektusok, + entrópia becslés  
hiba ± 2.5 kcal/mol (~ 60-as faktor  $K_M$ )

ionos környezet figyelembe vétele:

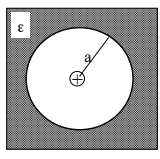
$$\nabla \epsilon(r) \nabla \phi(r) + \epsilon \kappa^2 \phi(r) = -4\pi \rho(r) \quad \leftarrow \quad \kappa^2 = 2I\epsilon^2 / RT\epsilon$$

„mean field” megközelítés, sokszorosan töltött molekulákra, töményebb ionos oldatra nem érvényes.

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Környezet figyelembe vétele (egyszerűsített oldószer modellek):  
makroszkópikus modellek:

- Generalized Born (GB) modell



$$\Delta G_{elec} = -\frac{1}{2} \left( 1 - \frac{1}{\epsilon} \right) \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{f(r_{ij}, a_{ij})}$$

$$f(r_{ij}, a_{ij}) = \sqrt{r_{ij}^2 + a_{ij}^2} e^{-D}$$

$$a_{ij} = \sqrt{a_i a_j}$$

$$D = r_{ij}^2 / (2a_{ij}^2)$$

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Környezet figyelembe vétele (egyszerűsített oldószer modellek):  
makroszkópikus modellek:

Problémák:

- rosszul definiált  $\epsilon$
- merev fehérje
- lokális effektusok hiánya:  
nem adja vissza a reorganizációs effektust
- pKa eltolódások vizsgálatára nem alkalmas
- ligand kötése nem ad kvantitatív eredményeket

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Környezet figyelembe vétele (egyszerűsített oldószer modellek):  
Explicit/implicit oldószermodell (MM/PBSA)

kristályszerkezet relaxációja

EXPLICIT MODELL

↓

szabadenergia számítások  
IMPLICIT MODELL

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Környezet figyelembe vétele (egyszerűsített oldószer modellek):  
 Explicit/implicit oldószermodell (kombináció)

$$A = -RT \ln \int \int \exp(-\beta H(u,v)) du dv \quad \begin{array}{l} u \text{ oldott anyag koordinátája,} \\ v \text{ oldószer koordinátája} \end{array}$$

$$A = -RT \ln \int \exp(-\beta W(u)) du \quad W(u) \text{ oldott anyag PMF}$$

Probléma a szimulációk rövidsége  
 További egyszerűsítések:

$$E = \langle W(u) \rangle$$

$$A = E - TS \quad \begin{array}{l} \text{entrópia becslése betemettség alapján} \\ \text{vagy harmonikus közelítésben} \end{array}$$

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Környezet figyelembe vétele (egyszerűsített oldószer modellek):  
 Explicit/implicit oldószermodell MM-PBSA

$$\langle G \rangle = \langle E_{MM} \rangle + \langle E_{PBSA} \rangle - T \langle S_{MM} \rangle$$

$E_{MM}$ : molekulamechanikai energia átlaga  
 $E_{PBSA}$ : oldódási szabadenergia (PB)  
 $S_{MM}$ : entrópia becslés ← problematikus

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Thermodynamic cycle

$\Delta G_{P+L \rightarrow P:L} = \Delta G_{L \rightarrow L'}$   
 $\Delta G_{P:L \rightarrow P:L'}$   
 $\Delta G_{P+L' \rightarrow P:L'}$   
 $\Delta G_{P+L \rightarrow P:L} = \Delta G_{L \rightarrow L'} + \Delta G_{P+L' \rightarrow P:L'} - \Delta G_{P:L' \rightarrow P:L}$

kis lépések  $\Rightarrow \Delta A = -RT \sum_{i=1}^N \ln \langle \exp(-\Delta H_i / RT) \rangle$

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Thermodynamic cycle

single window Zwanzig perturbation formula

$$\Delta A = \langle \Delta H \rangle_r + \frac{1}{2RT} \langle (\Delta H - \langle \Delta H \rangle_r)^2 \rangle_r$$

csak a referenciarendszert kell szimulálni

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Soft-potentials

Mi a rendszer válasza atomok eltüntetésére és keletkezésére?  
 (reorganizációs probléma speciális esete)

$\epsilon_{ij}, \sigma_{ij}$  Lennard-Jones paraméterek  
 $\alpha$  „softening” paraméterek

$$V_{ij} = 4\epsilon_{ij} \left[ \frac{\sigma_{ij}^{12}}{(\alpha\sigma_{ij}^6 + r_{ij}^6)^2} - \frac{\sigma_{ij}^6}{\alpha\sigma_{ij}^6 + r_{ij}^6} \right]$$

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Replica exchange method  $\Delta G_{bind} \pm 1 \text{ kcal/mol}$

magas energiagátak miatt nehéz a konfigurációs teret feltérképezni

↓  
 több kiindulási konformáció

↓  
 csere

$$\omega(X_i \rightarrow X_j) = 1 \quad \Delta \leq 0$$

$$\omega(X_i \rightarrow X_j) = \exp(-\Delta) \quad \Delta > 0 \quad \Delta = (\beta_j - \beta_i)(E_i - E_j)$$

hőmérséklet skálázás  $\sqrt{T_j/T_i}$

kb. 5-ször hatékonyabb (konfigurációs tér nagysága), mint a normál MD

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

λ-Dinamika

kompetitív kötési kísérlet, több ligandumot vizsgál egyszerre

$$V(\{\lambda_i\}) = V_{cm} + \sum_{i=1}^L \lambda_i^2 (V_i - F_i)$$

L: ligandumok száma,  $V_{cm}$ : kölcsönhatási energia a környezettel  
 $V_i$ : belső kh. energia,  $F_i$ : referencia potenciál,  $\lambda$  csatolási paraméter

$$H(\{\lambda_i\}) = T + T_{(s)} + V_{cm} + \sum_{i=1}^L \lambda_i^2 (V_i - F_i)$$

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

λ-Dinamika

$$Z(\{\lambda_i\}) = \int \exp \left[ -\beta \left( V_{cm} + \sum_{i=1}^L \lambda_i^2 (V_i - F_i) \right) \right] d\Gamma$$

$$\Delta \Delta G_{ij} = -\beta^{-1} \ln \frac{Z(\lambda_i = 1)}{Z(\lambda_j = 1)}$$

konfigurációs és „kémai” tér (MD v. MC mintavételezés)

$\Delta E_i \leq 0$   $P_i = 1$   $\Delta E_i$ : két ligandum kölcsönhatási energiájának  
 $\Delta E_i > 0$   $P_i = \exp(-\beta \Delta E_i)$  különbsége

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Szabadenergia extrapolálása

$$\Delta G_{AB} = \langle \Delta V \rangle_A - \frac{\beta}{2} \langle (\Delta V - \langle \Delta V \rangle_A)^2 \rangle_A + \frac{\beta^2}{6} \langle (\Delta V - \langle \Delta V \rangle_A)^3 \rangle_A + \dots$$

↑  
lineáris válasz

$$\Delta V \quad V_m = (1 - \lambda_m) V_A + \lambda_m V_B$$

LRA  $\Delta G_{AB} = \frac{1}{2} \{ \langle \Delta V \rangle_A + \langle \Delta V \rangle_B \}$  gyorsabb konvergencia

elektrosztatikában működik

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

$$\Delta G_{AB} = \langle \Delta V \rangle_A - \frac{\beta}{2} \langle (\Delta V - \langle \Delta V \rangle_A)^2 \rangle_A + \frac{\beta^2}{6} \langle (\Delta V - \langle \Delta V \rangle_A)^3 \rangle_A + \dots$$

↑  
lineáris válasz

$$\Delta V \quad V_m = (1 - \lambda_m) V_A + \lambda_m V_B$$

LRA  $\Delta G_{AB} = \frac{1}{2} \{ \langle \Delta V \rangle_A + \langle \Delta V \rangle_B \}$  gyorsabb konvergencia

elektrosztatikában működik

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Szemiempirikus lineáris válasz közelítés (Åqvist) LIE

$$\Delta G = \alpha \left( \langle U_{el}^{bound} \rangle - \langle U_{el}^{unbound} \rangle \right) + \beta \left( \langle U_{LJ}^{bound} \rangle - \langle U_{LJ}^{unbound} \rangle \right) + \gamma \left( \langle \Omega^{bound} \rangle - \langle \Omega^{unbound} \rangle \right)$$

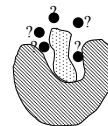
Ω: átlagos szabad felszín (entrópiabecslés)

α, β, γ: empirikus paraméterek

Meglepően jó eredmények  $\Delta G_{bind} \pm 1$  kcal/mol

A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Pictorial representation of free energy changes (PROFEC)(Kollman)



$$\Delta G_{int}(i, j, k) = -\beta^{-1} \ln \langle \exp(-\beta \Delta v(i, j, k)) \rangle_0$$

$\Delta v(i, j, k)$ : vdW energia

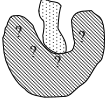
megjelenítése térképek segítségével

$(\Delta \Delta G_{int})^{m \rightarrow p}$  számolása

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Hozzájárulások a kötési energiához

Computational alanine scanning



$$(\Delta\Delta G_{bind})^{X \rightarrow Y} = (\Delta G_{bind}^Y) - [(\Delta G_{bind}^X) + (\Delta G_{ligand}^X)]$$

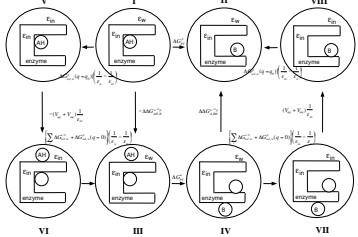
$$(\Delta G)^Y = E_{int} + E_{el} + E_{vdW} + \Delta G_{PB} + \Delta G_{nonpolar} - TS$$

szervezetek generálása a natív fehérjén gyors  
Mdm2 és p53 complex testrendszer ↕  
kvalitatív

Massova és Kollman (1999) J. Am. Chem. Soc. 121, pp. 8133-8143.

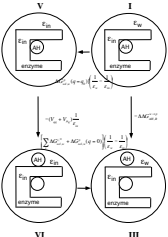
### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

PDL/D/S közelítés



### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

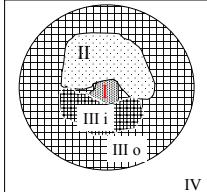
PDL/D/S közelítés (mutációk, ligandum kötés vizsgálata)



$$\Delta\Delta G^{mut \rightarrow P} = \left[ -\Delta G_{sol,w}^{mut} + \Delta G_{sol,w}^P (q = q_0) - \Delta G_{sol,w}^P (q = 0) \right] \left( \frac{1}{\epsilon_m} - \frac{1}{\epsilon_w} \right) + (V_{qq}^i + V_{qq}^j) \frac{1}{\epsilon_m}$$

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Hozzájárulások a kötési energiához (PDL/D) modell:



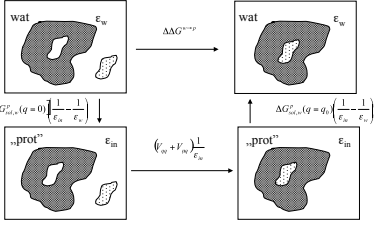
- I: érdekes rész (pl. aktív hely)
- II: fehérje többi része
- III: oldószert (i: belső, o: külső)
- IV: tömbfázis

$$\Delta G_{sol}^P = \Delta G_{OO} + \Delta G_{Ow} + \Delta G_{Oa} + \Delta G_l + \Delta G_{Born} + \Delta G_{hydro}$$

Konfigurációs átlagolás „Lineáris válasz” (LRA)

$$\Delta\Delta G^{mut \rightarrow P} = \frac{1}{2} \left( (\Delta\Delta G^{mut \rightarrow P})_{q=0} + (\Delta\Delta G^{mut \rightarrow P})_{q=1} \right)$$

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei



elektrosztatikus hozzájárulások

$$\Delta G_{bind} \approx \left( \Delta G_{sol}^{relax} \right) - \left( \Delta G_{sol}^P \right) - \left( \Delta G_{sol}^L \right)_{1 \rightarrow P} \left( \frac{1}{\epsilon_m} - \frac{1}{\epsilon_w} \right) + (V_{qq}^i + V_{qq}^j) \frac{1}{\epsilon_m} + \Delta G_{relax}^L + \Delta G_{hydro} + \Delta G_{vdw} - T\Delta S'$$

### A racionális gyógyszertervezés lehetőségei

Relaxed contribution

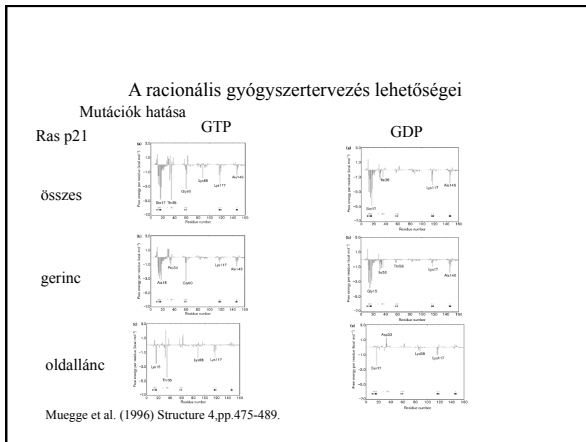
$$\Delta G_{bind} \approx \left( \Delta G_{sol}^{relax} \right) - \left( \Delta G_{sol}^P \right) - \left( \Delta G_{sol}^L \right)_{1 \rightarrow P} \left( \frac{1}{\epsilon_m} - \frac{1}{\epsilon_w} \right) + (V_{qq}^i + V_{qq}^j) \frac{1}{\epsilon_m} \leftarrow \text{el. h.}$$

+  $\Delta G_{relax}^L + \Delta G_{hydro} + \Delta G_{vdw} - T\Delta S'$

Non-relaxed contribution

$$\left[ \Delta\Delta G_{bind}^{(l)} \right]_{nonrelax} \approx \left\langle \frac{V_{qq}^i}{\epsilon_m} \right\rangle \quad \left[ \Delta\Delta G_{bind}^{(l)} \right]_{nonrelax} \approx \left\langle \frac{V_{qq}^j}{\epsilon_{eff}} \right\rangle$$

$\epsilon_m \sim 4$   $\epsilon_{eff} \sim 40$



**A racionális gyógyszertervezés lehetőségei**

Összefoglalás

- flexibilis receptor-flexibilis ligand probléma nem megoldott
- ismert komplex térszerkezet alapján gyors és jó kötési energiák jóslása más ligandumra és mutánsra
- jól parametrizált szemi-mikroszkópikus módszerek (vagy kombinált mikro- és makroszkópikus módszerek)