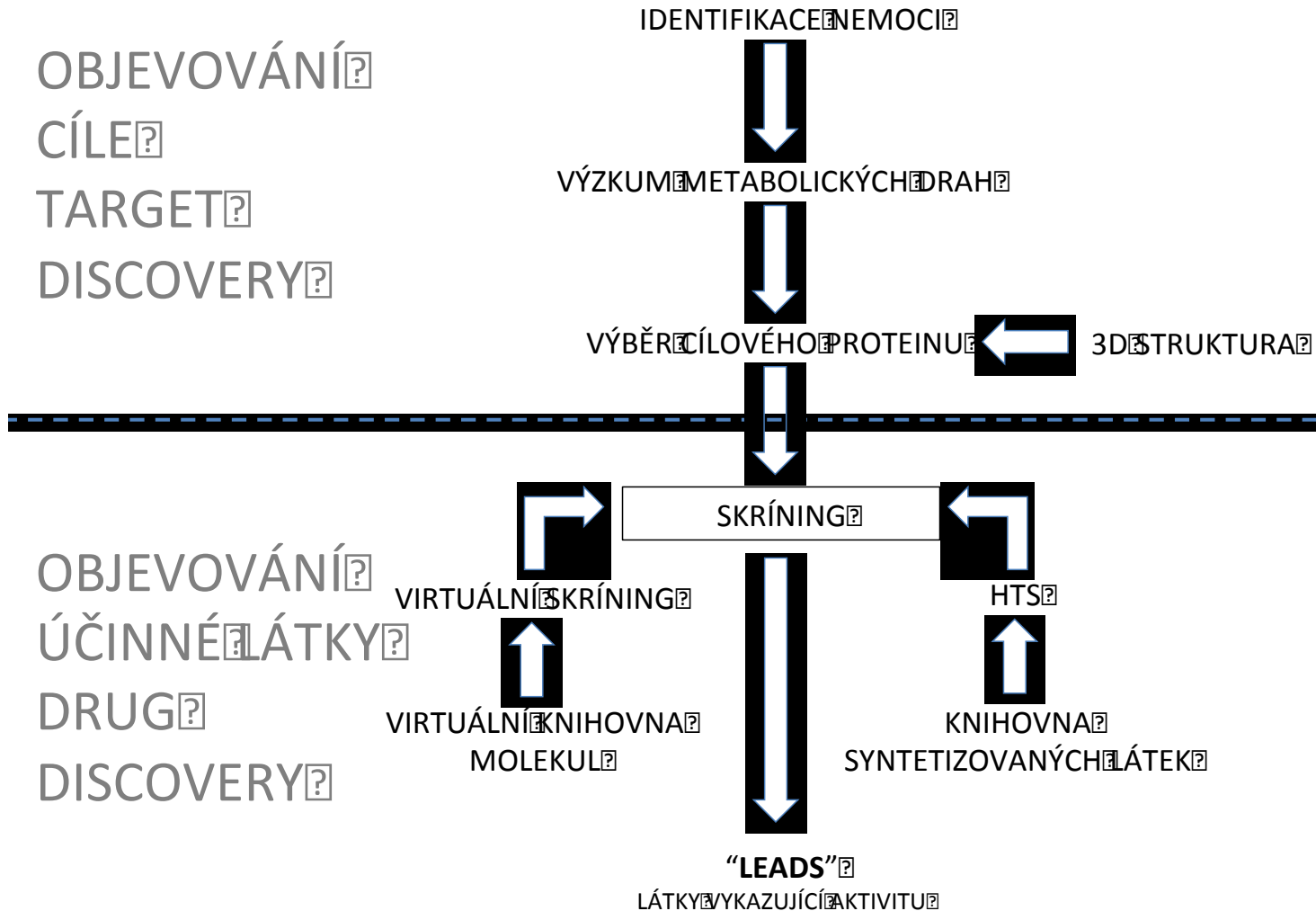


Pokročilá chemoinformatika

Virtualní screening
únor 2017

Úloha virtuálního screeningu v drug designu



Virtuální screening

- označován také jako *in silico* screening
- jedná se o proces hledání vhodných chemických látek pomocí výpočetního modelu
- vhodnost látky zahrnuje sílu interakce, selektivitu, vhodné farmakokinetické vlastnosti a dostatečně nízkou míru toxicity
- často se pro virtuální screening používají in-house databáze látek, ale i databáze prodejců

Strategie virtuálního screeningu

- ① rozmanité struktury pro hledání tzv. leadů, dobré pokrytí chemického prostoru aktivních látek, využití pro více cílových biomolekul
- ② zacílené a zaměřené sady molekul pro hledání leadů a optimalizaci, cílené knihovny obsahují pouze molekuly podobné již známým aktivním sloučeninám a mohou být použity pouze pro daný konkrétní cíl

21 milionů molekul v ZINC databázi*

PŘÍPRAVA VIRTUÁLNÍ KNIHOVNY

- správná velikost molekul
- vhodné fyzikálně-chemické vlastnosti

PRVOTNÍ SKRÍNING

- farmakofor
- tvar molekuly

800 tisíc molekul

RYCHLÝ SKRÍNING

- jednoduché skórovací funkce
- rigidní vazebné místo

5 tisíc molekul

PŘESNÝ SKRÍNING

- přesnější skórování
- flexibilní vazebné místo

350 molekul

Ukázka work
flow
virtuálního
screeningu

Další ukázka

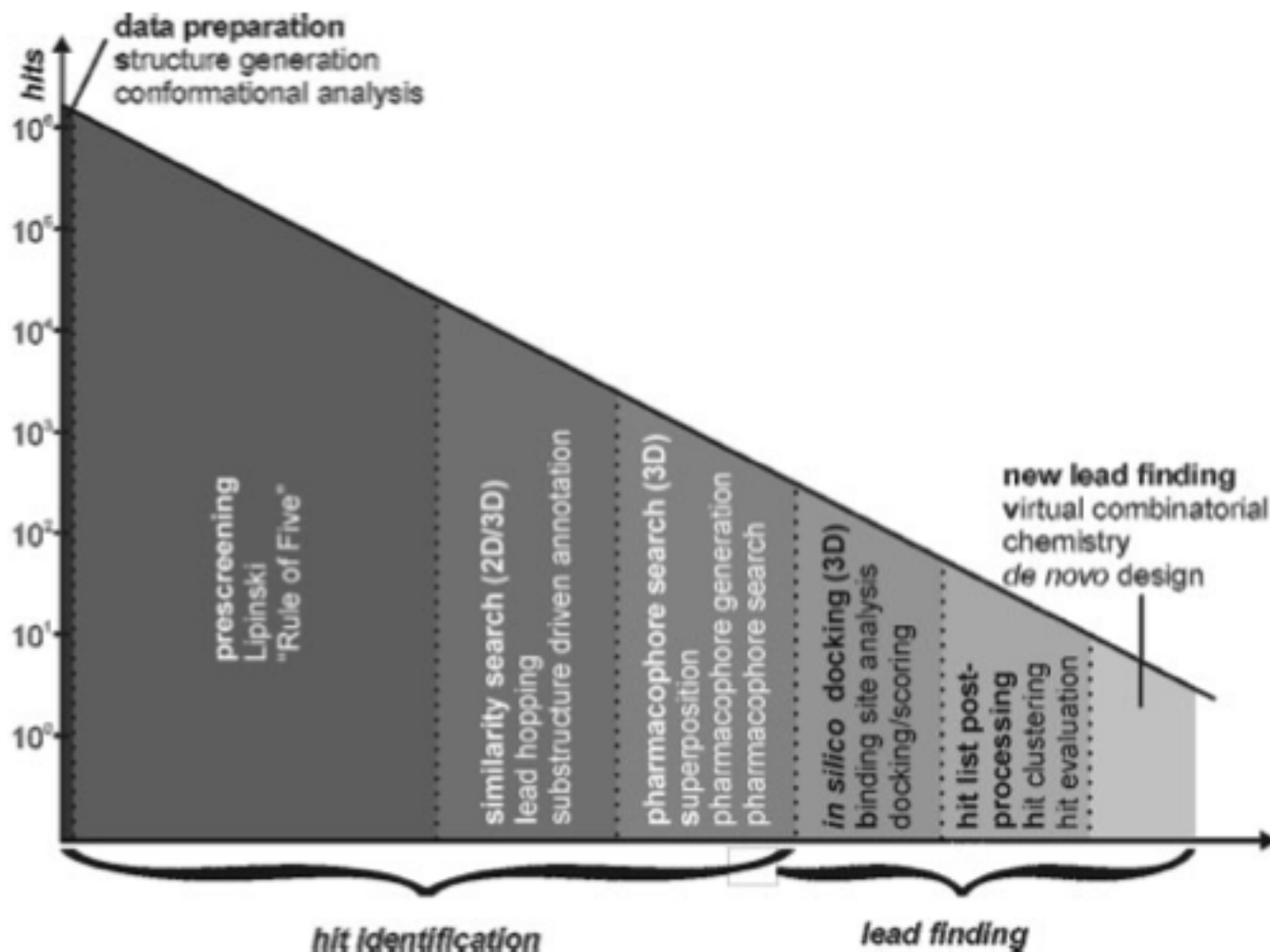


Figure 10.4-3. Work flow for virtual screening, from data preparation to finding new leads.

Různé přístupy virtuálního screeningu podle znalostí

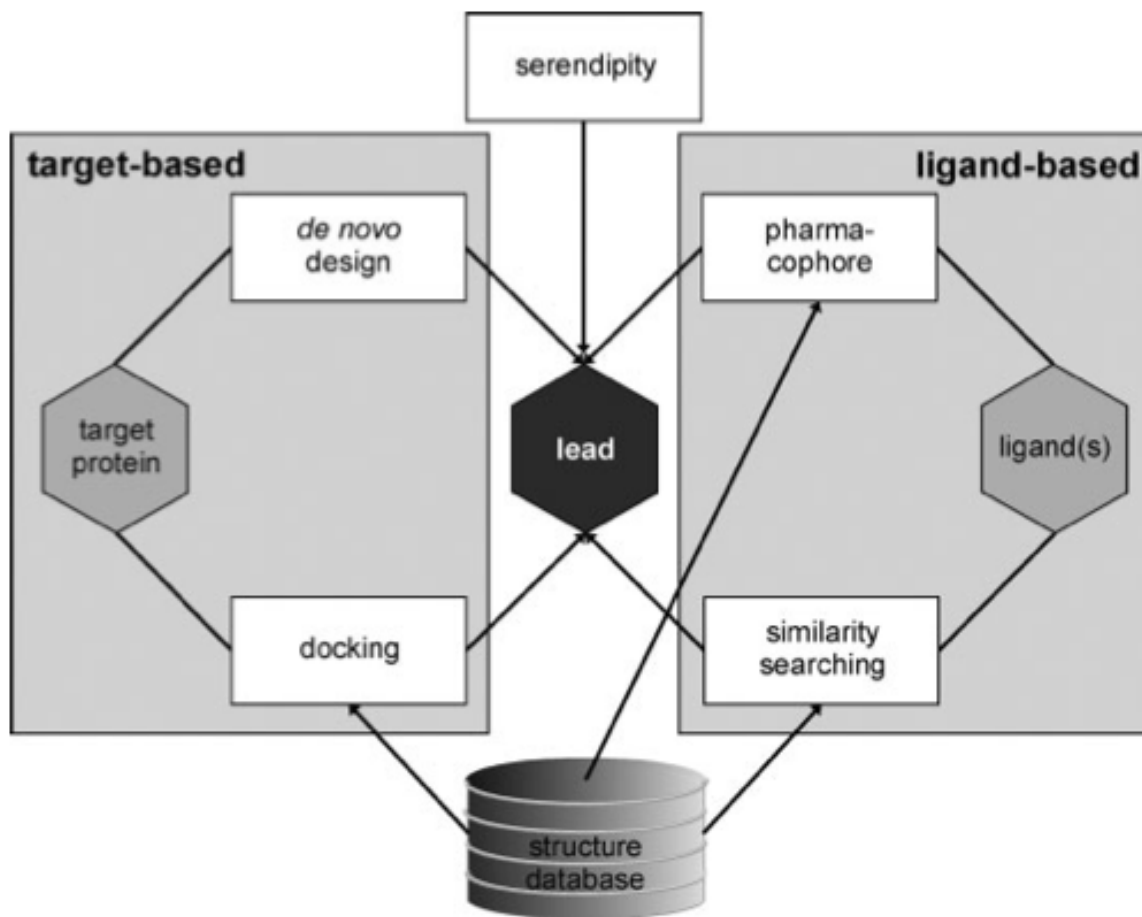


Figure 10.4-4. The lead discovery process.

Různé přístupy virtuálního screeningu podle znalostí

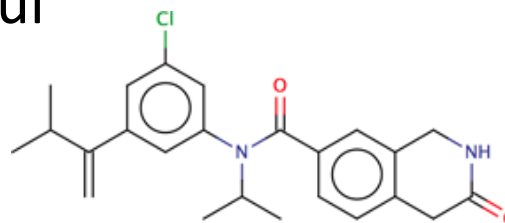
	neznámé ligandy	známé ligandy
neznámá struktura proteinu	kombinační knihovna (combinatorial library) a HTS	QSAR, farmakoforové modely, podobnostní hledání v DB
známá struktura proteinu	<i>De novo</i> design, receptor-based 3D vyhledávání	Structure-based design, dokování

Ligand-based přístup

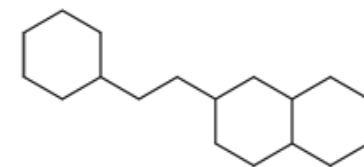
- první krok – filtrování
 - např. Lipinského pravidlo 5
 - $MW < 500$, $\log P < 5$, H donorů < 5 , H akceptorů < 10
 - rozšíření: počet rotovatelných vazeb < 10 nebo jedno z pravidel může být porušeno
- *in silico* ADMET
 - absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity
- podobnostní hledání
- farmakoforový model

Podobnostní hledání

- topologické (2D)
 - podobnostní koeficienty a fingerprinty
 - hledání podle výskytu podobných skupin
 - scaffoldy
 - společné základ molekul
 - např. Murcko scaffold



(a)

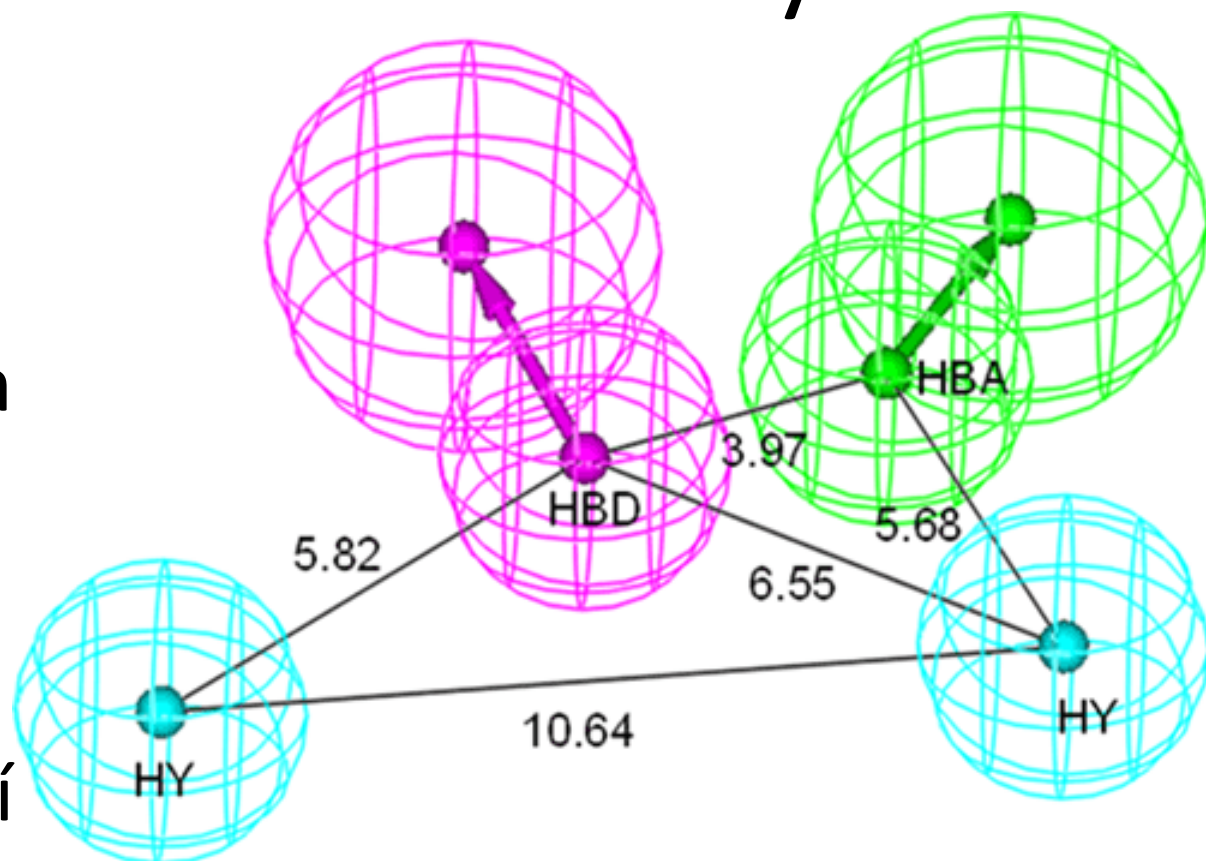


(b)

- geometrické (3D)
 - hledání molekul se stejnou funkční skupinou ve stejném prostoru

Farmakoforové modely

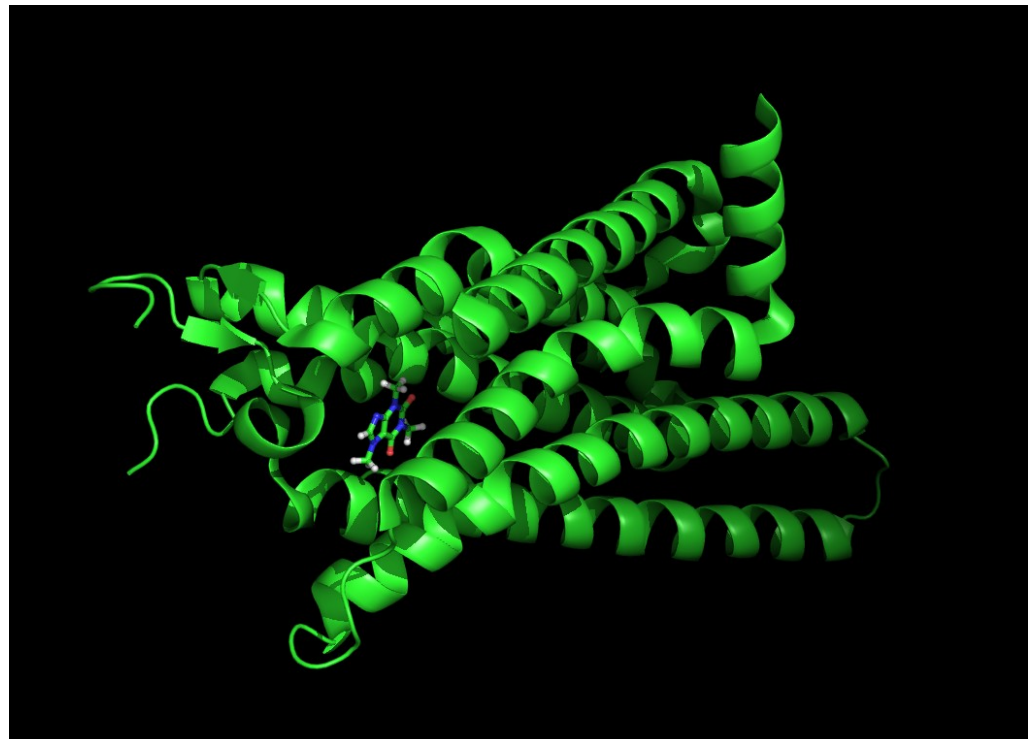
- principem je hledání funkčních bodů v konkrétním prostoru na základě přiložení známých molekul



Zdroj: Wu, D., Jin, F., Lu, W., Zhu, J., Li, C., Wang, W., Tang, Y., Jiang, H., Huang, J., Liu, G. and Li, J. (2012), Synthesis, Structure–Activity Relationship, and Pharmacophore Modeling Studies of Pyrazole-3-Carbohydrazone Derivatives as Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitors. *Chemical Biology & Drug Design*, 79: 897–906. doi: 10.1111/j.1747-0285.2012.01365.x

Structure-based přístup

- znalost struktury cíle (nejčastěji proteinu)
- PDB databáze
 - krystalizované komplexy ligandu s proteinem
 - například 3rfm – adenosinový receptor A2a s kofeinem



Různé strategie structure- based přístupu

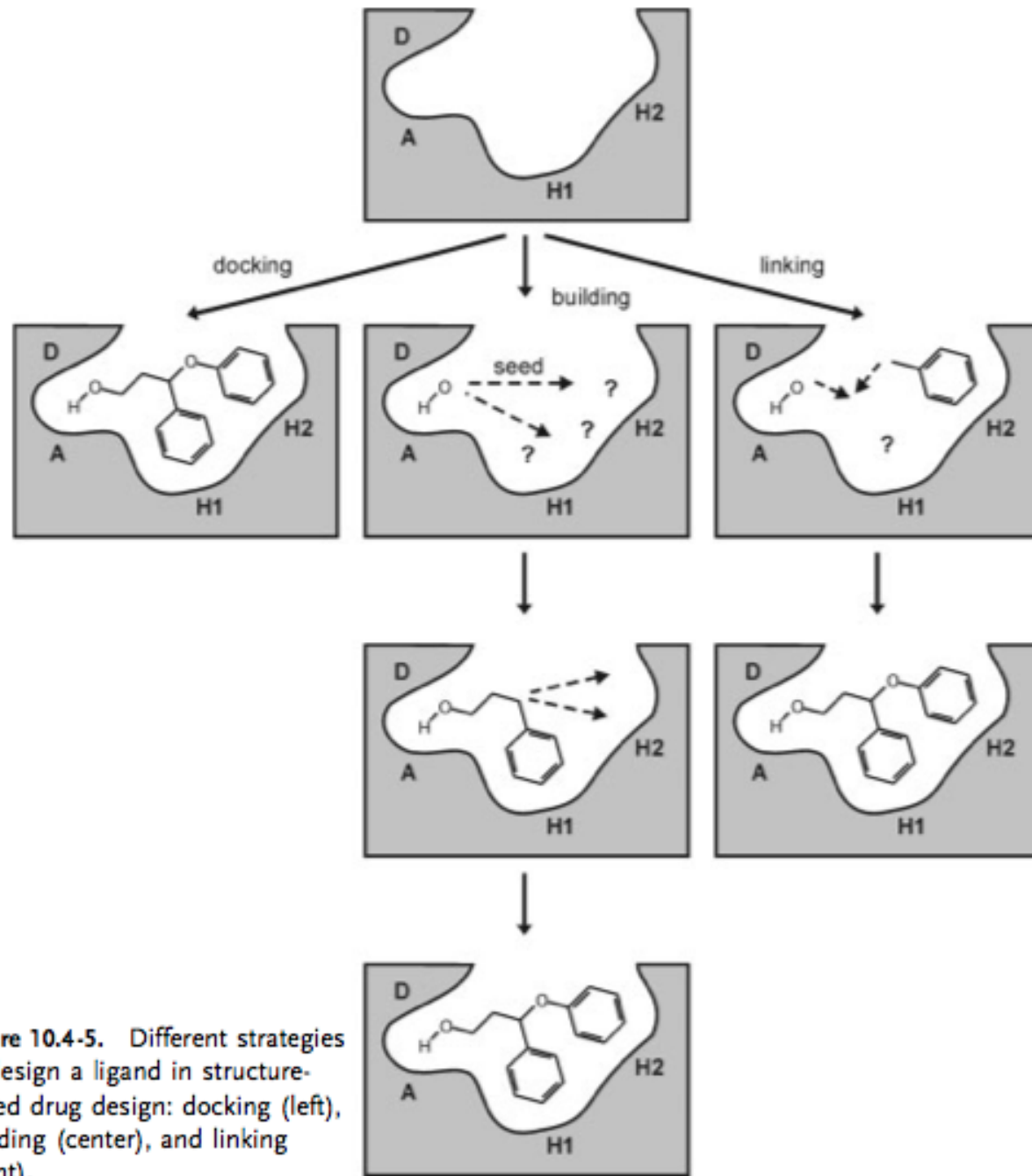
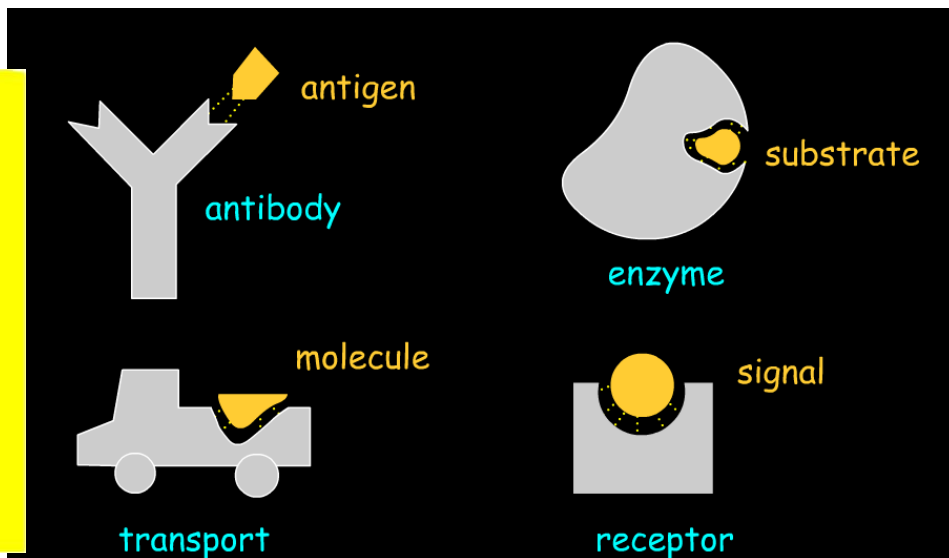


Figure 10.4-5. Different strategies to design a ligand in structure-based drug design: docking (left), building (center), and linking (right).

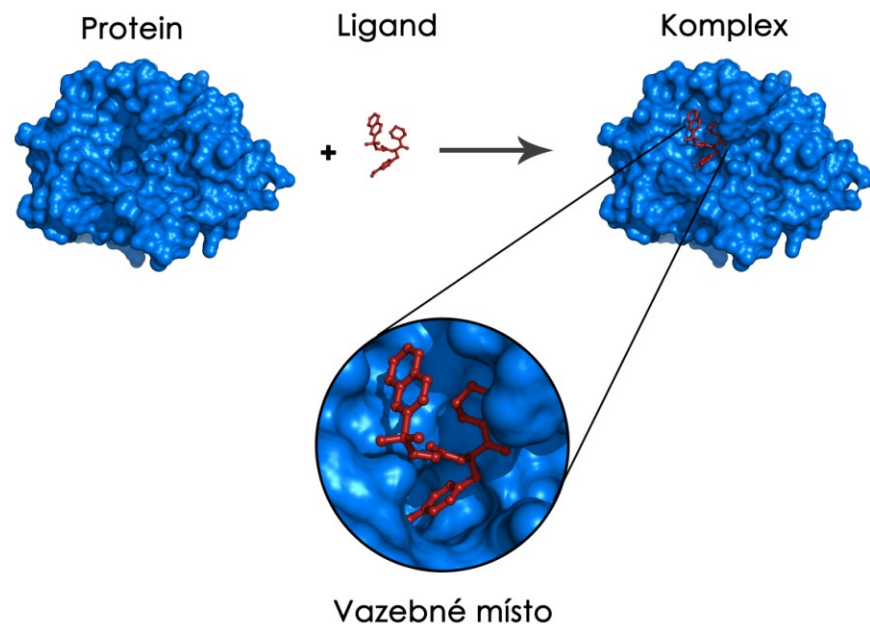
Molekulové dokování

- Molekulové rozpoznávání je schopnost biomolekul rozpoznat jiné biomolekuly a selektivně s nimi interagovat za účelem vyvolání biologického pochodu, jako je transkripce, translace, přenos signálu, transport, regulace, enzymatická katalýza, virová a bakteriální infekce a imunitní odpověď.
- Molekulové dokování je proces, který spočívá v umístění molekul do vhodné polohy, ve které interagují s receptorem. Molekulové dokování je přirozený proces, který se odehrává v buňkách.
- V molekulovém modelování se pomocí metody “molekulového dokování” studuje, jak dvě či více látek „zapadají“ do sebe (jak interagují).



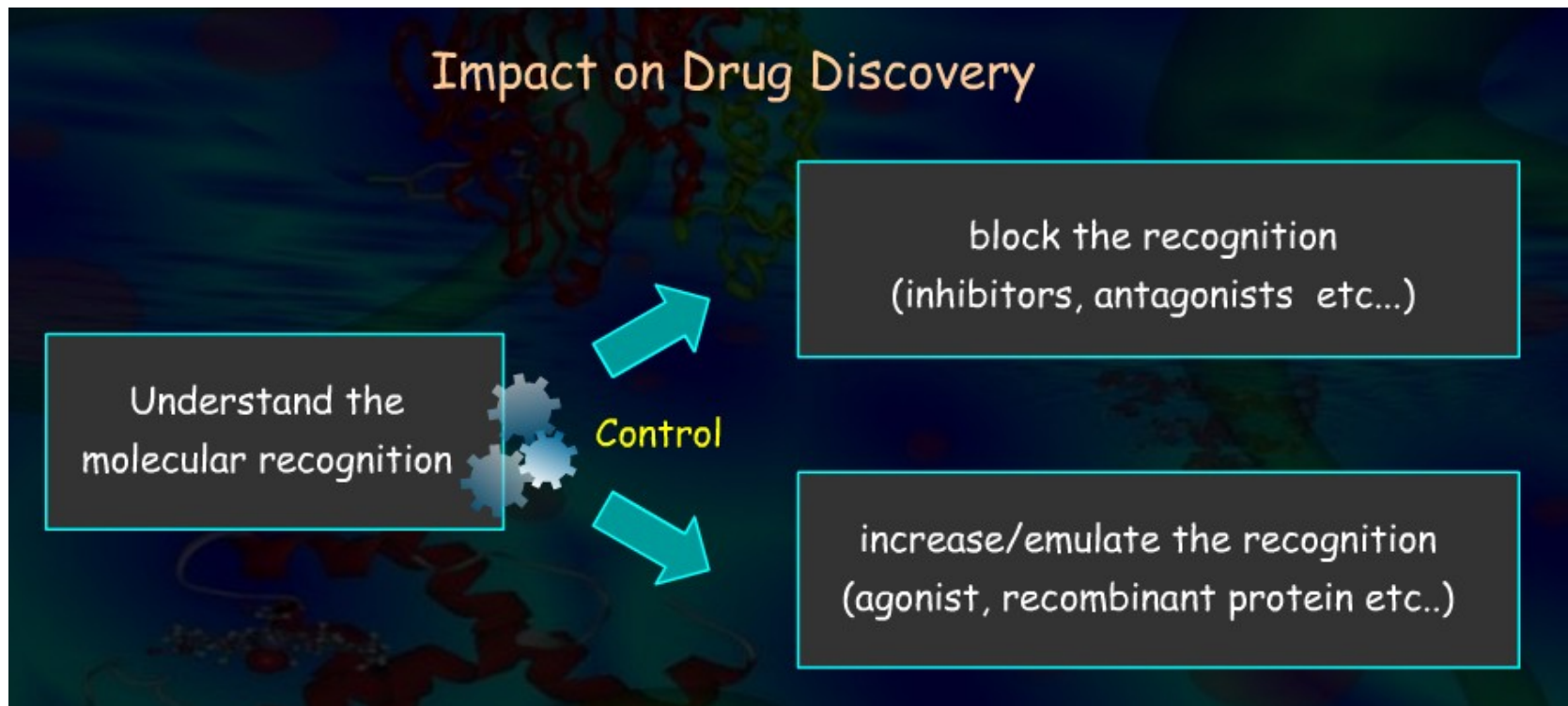
In silico molekulové dokování

- Hledání nejlepšího „fitu“ mezi receptorem a ligandem
- Predikuje
 - pózu molekuly ve vazebném místě
 - geometrie
 - Vazebnou afinitu (skóre) reprezentující sílu vazby
 - energie



Porozumění molekulovému rozpoznávání

- Pochopení principu molekulárního rozpoznávání na molekulární úrovni je nezbytné pro správné pochopení molekulární funkce a biologického procesu
- Znalost biologického procesu na molekulární úrovni může být použita pro návrh nových léčiv.

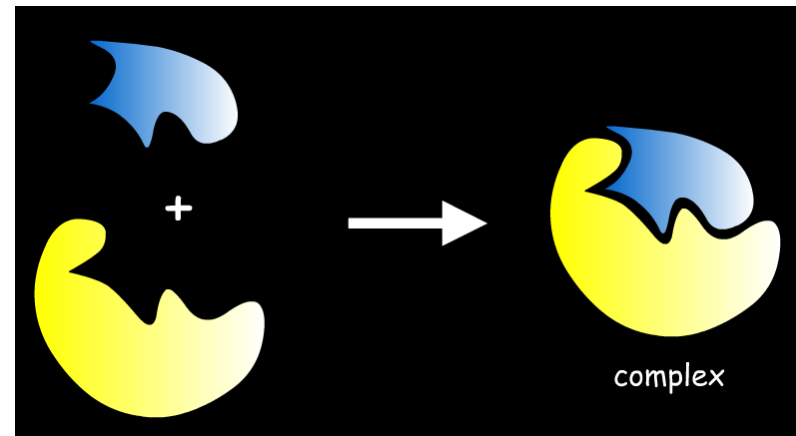


Vysvětlení molekulovému rozpoznávání

- V roce 1890 byl představen model zámku a klíče (lock-and-key) Emilem Fischerem.
- V roce 1958 Daniel Koshland představil induced-fit přístup.
- Buyong Ma a jeho skupina představila v roce 2003 představila cestu pomocí konformační ensemble.
- “All model are wrong, some are usefull.”
-- George Box

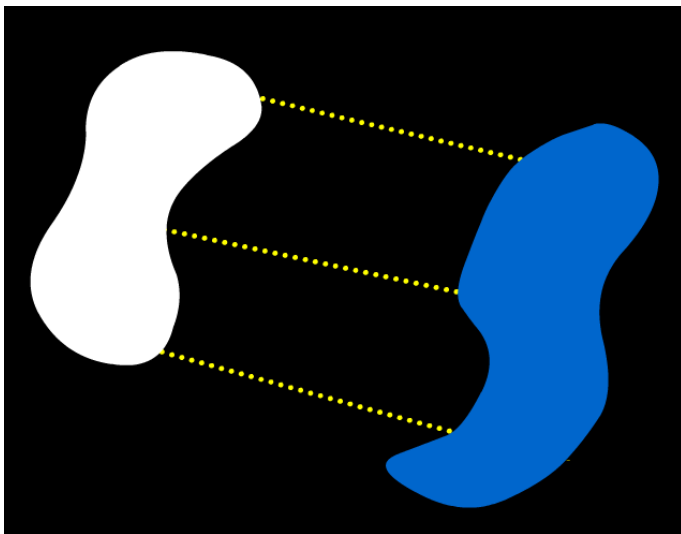
Teorie zámku a klíče

- Již v roce 1890 Emil Fischer navrhl model nazývaný „model zámku a klíče“ popisující, jak fungují biologické systémy. Substrát podle tohoto modelu zapadá do aktivního místa biomakromolekuly, podobně jako klíč do zámku. Biologické „zámky“ mají unikátní stereochemické vlastnosti, které jsou nezbytné pro jejich funkci.



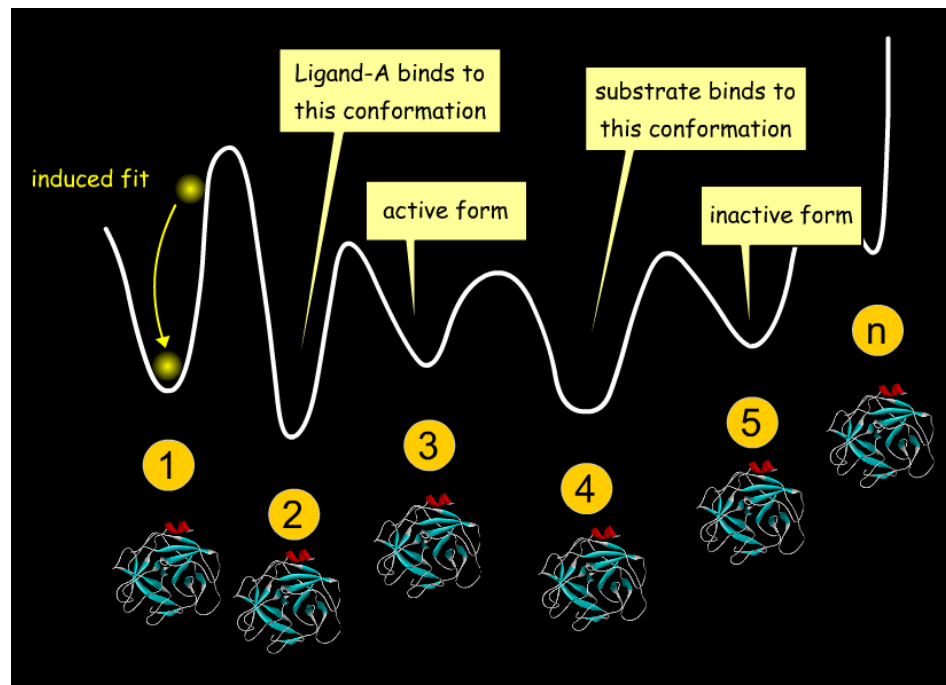
Teorie indukovaného přizpůsobení (induced-fit)

- V roce 1958 Daniel Koshland navrhl model „indukovaného přizpůsobení“. Základní myšlenkou tohoto modelu je flexibilní přizpůsobení ligandu i aktivního místa receptoru za účelem dosažení optimální struktury komplexu.

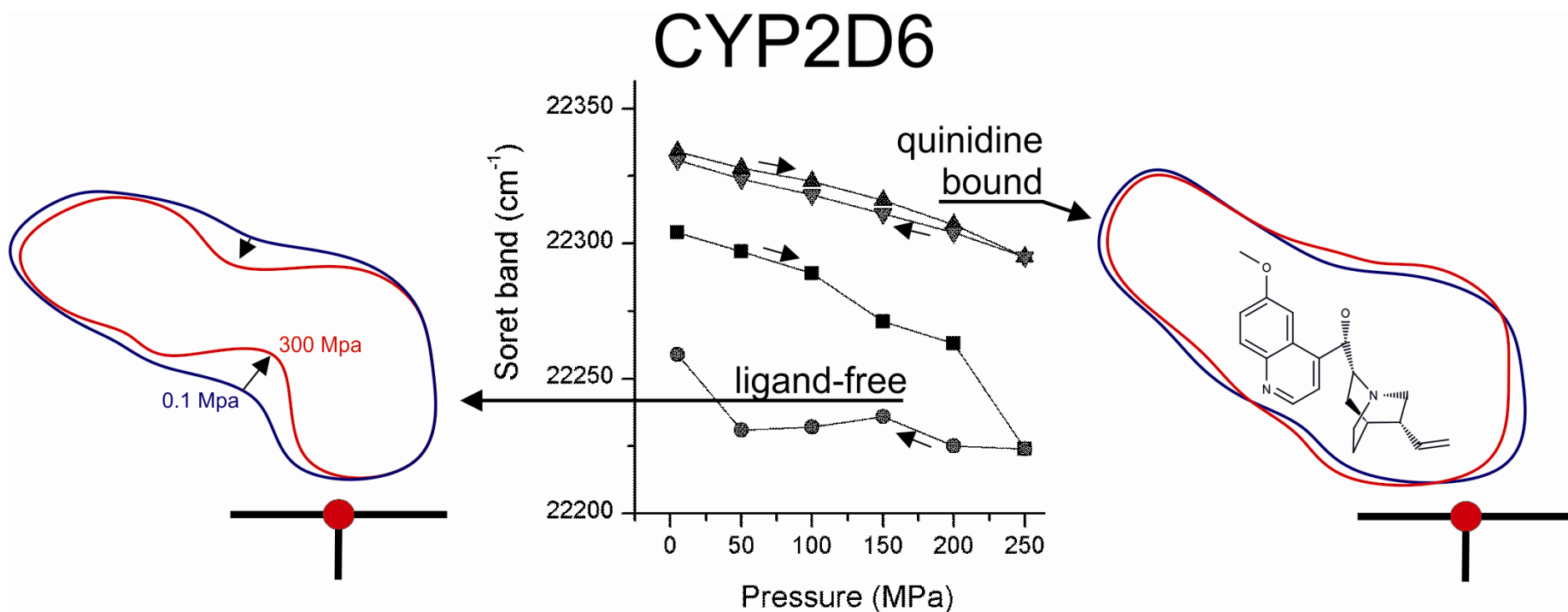


Model konformačního ensemblu (sady)

- Bylo pozorováno, že proteiny mohou vykovávat velké konformační změny. Tento model popisuje proteiny jako sadu konformačních stavů. Flexibilita proteinu dovoluje přecházet z jedné konformace na druhou.



Flexibilita cytochromu P450 2D6 v aktivním místě



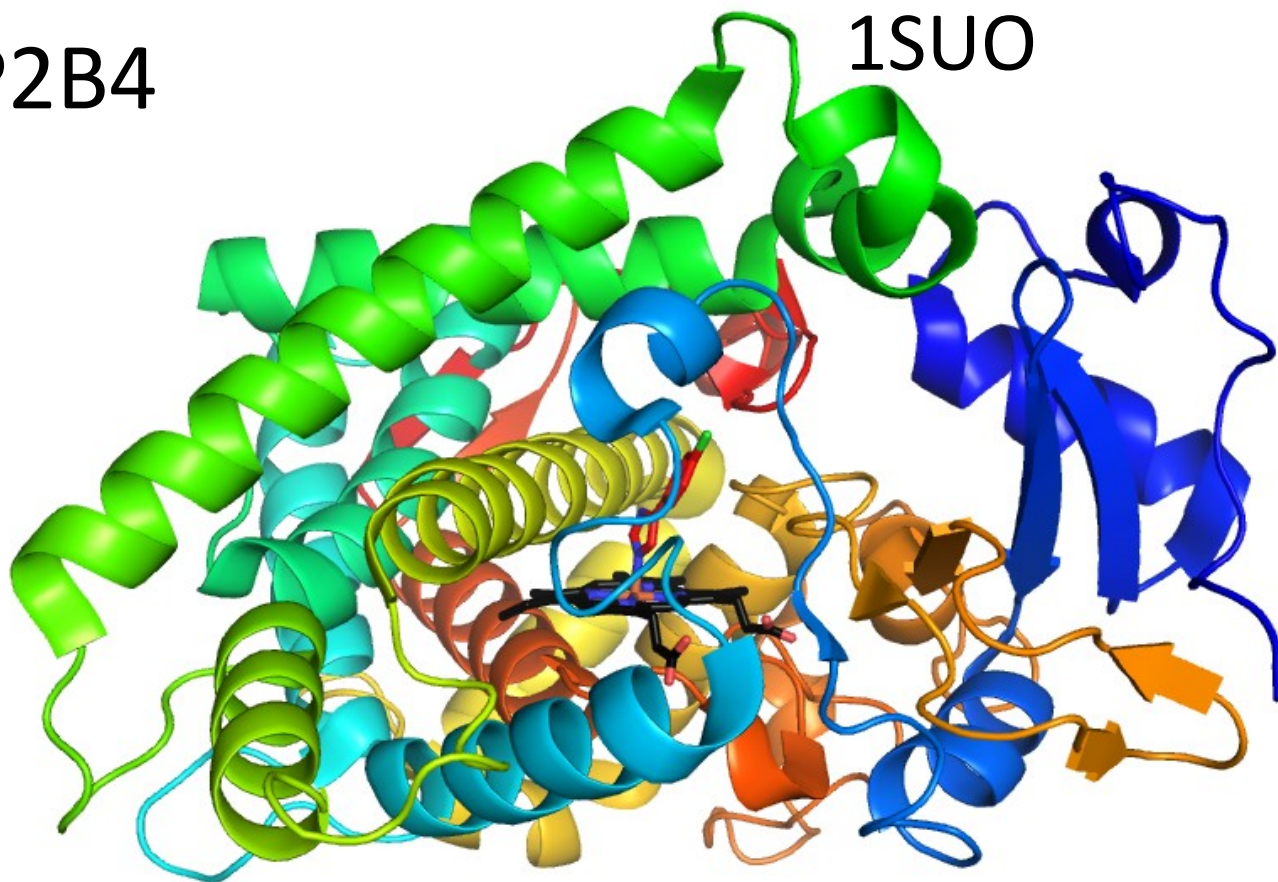
Zdroje: Hendrychova T et al *BBA - Proteins and Proteomics*, 1814 (1), 58-68, 2011

Otyepka M, Berka K, Anzenbacher P. *Curr. Drug. Metab.*, 13(2), 130-142, 2012

Berka K, et al *J. Inorg. Biochem.*, 110, 46-50, 2012

CYP2B4

1SU0



CYP2B4

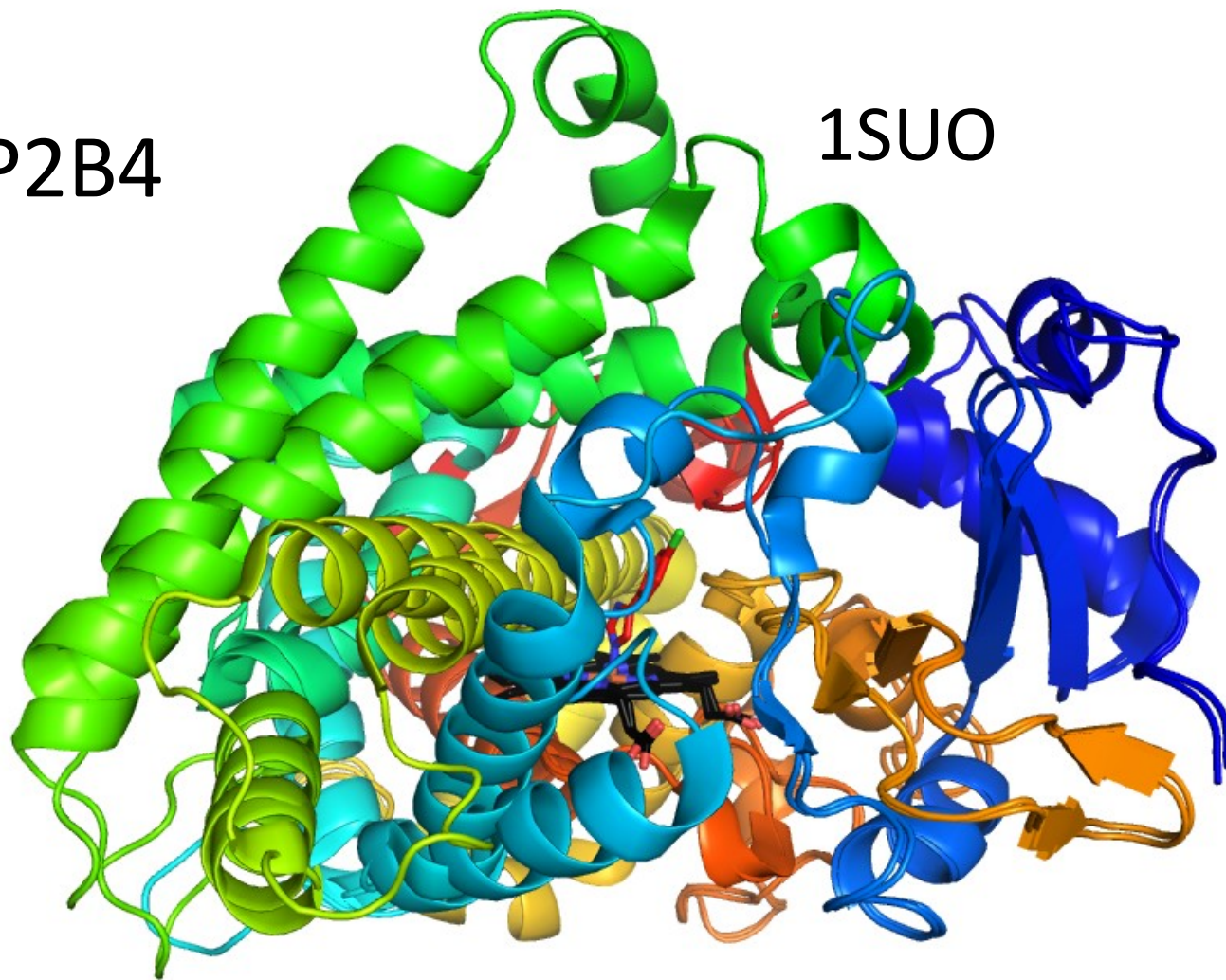
1PO5



CYP2B4

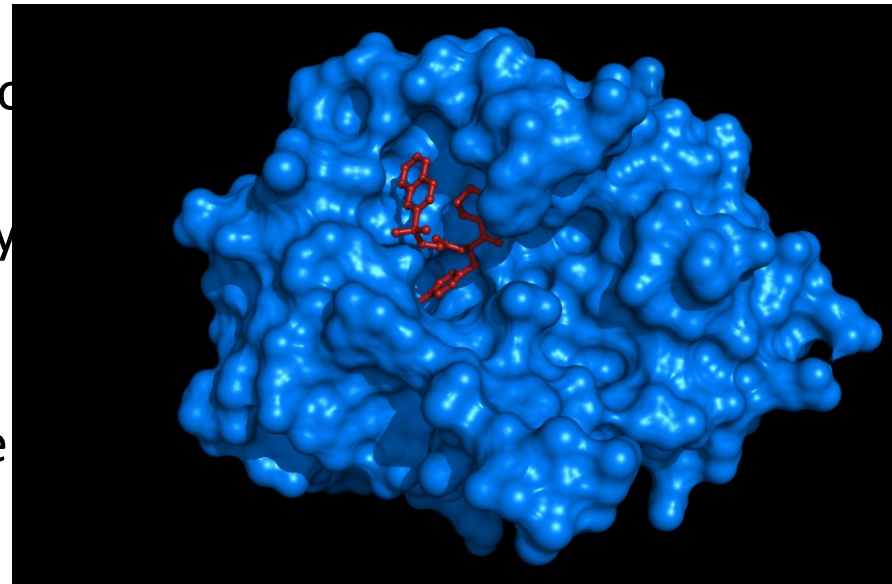
1PO5

1SU0



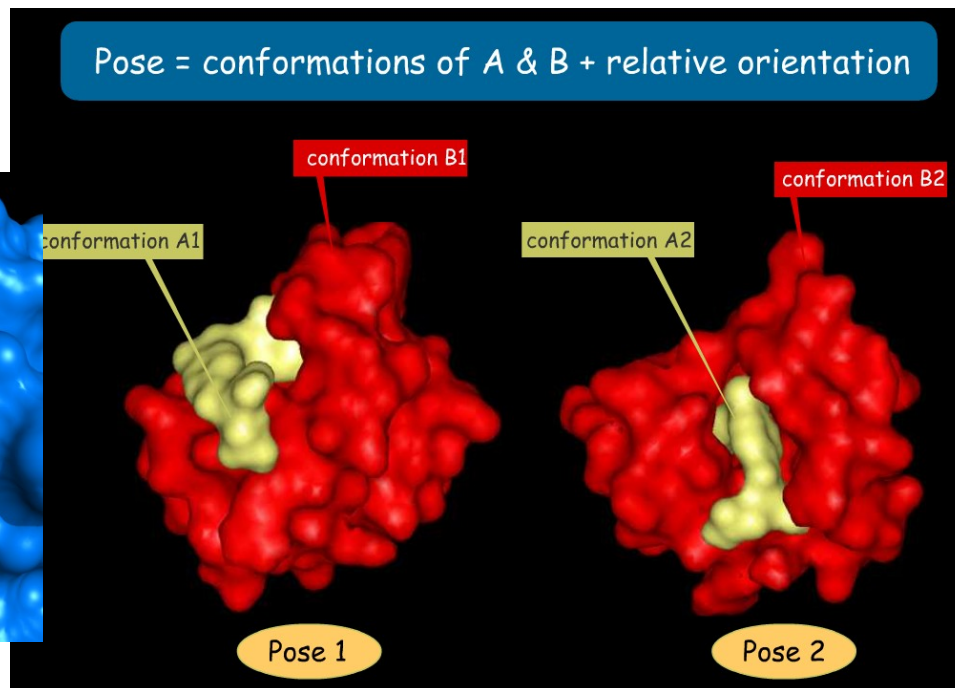
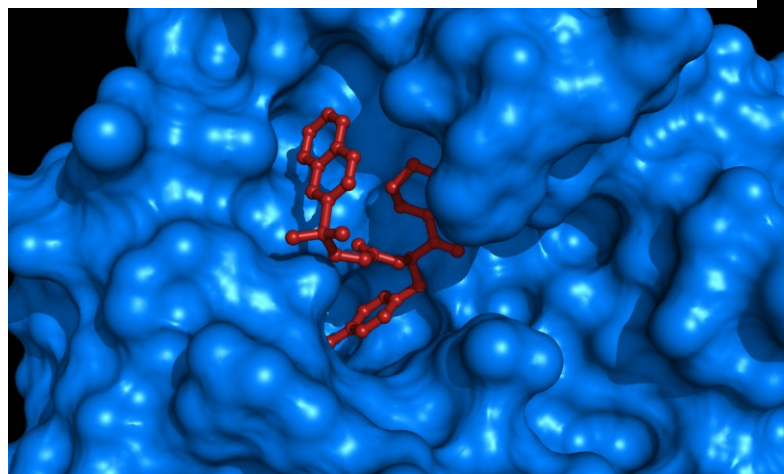
Význam molekulového dokování

- Obtíže při získávání experimentálních strukturních dat komplexů biomakromolekul s ligandy vedly k vývoji predikčních výpočetních metod.
- Molekulové dokování (molecular docking) je metoda zaměřená na predikci optimální vazebné orientace a konformace interagujících molekul v prostoru a predikci stability vzniklého komplexu.
- Molekulové dokování hraje důležitou roli při výzkumu a vývoji moderních léčiv. V průběhu několika posledních desetiletí bylo běžně použito ve většině farmaceutických a biotechnologických firem pro celou řadu aplikací.



Definice pojmu „póza“

- „Póza“ označuje konkrétní geometrické uspořádání komplexu receptor-ligand (v angl. „pose“, či také „binding mode“).
- Obsahuje informaci nejen o relativní orientaci ligandu a receptoru, ale také o jejich vzájemné konformaci.



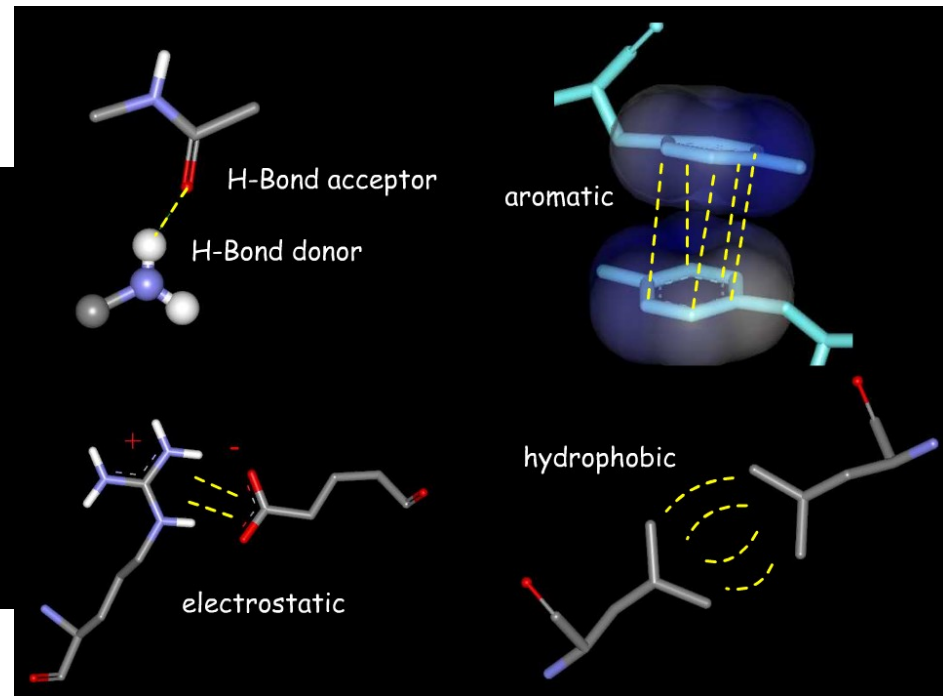
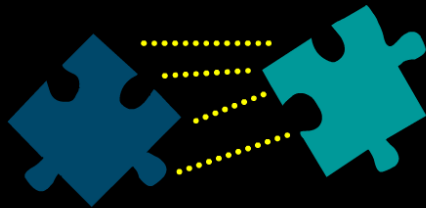
Molekulová komplementarita v dokování

- Molekulové dokování využívá konceptu molekulové komplementarity (lat. *complementum*, doplněk). Interakci molekul si můžeme představit jako navlékání rukavice na ruku, tvar a fyzikálně-chemické vlastnosti molekul určují podobu komplexu.
- Komplementarita tvarů je prvním kritériem pro hodnocení interakce .
- Navíc, chemická a fyzikálně-chemická komplementarita je také důležitým kritériem při dokování, které ovlivňuje podobu vzniklého komplexu.

Shape complementarity

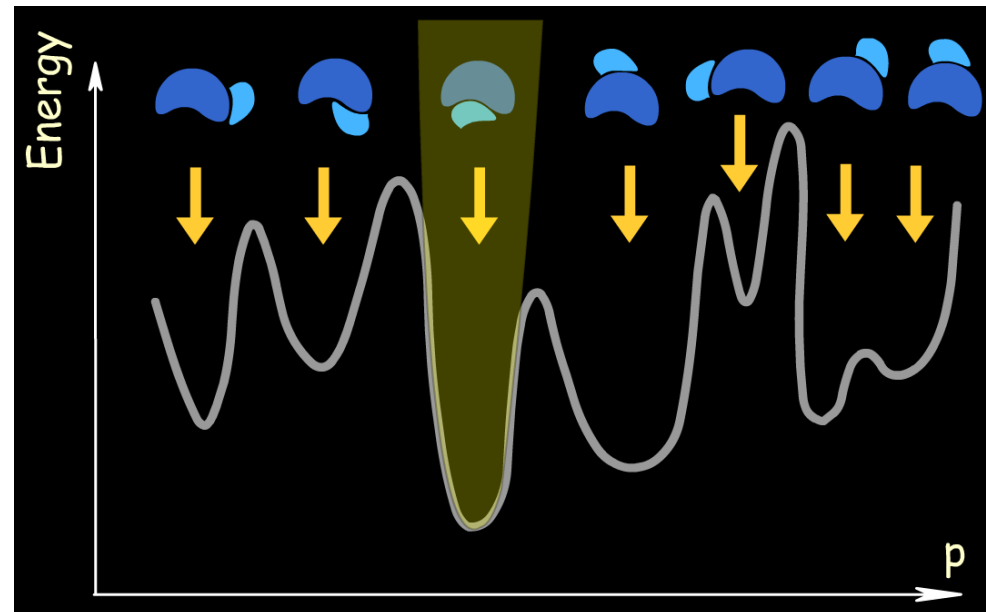
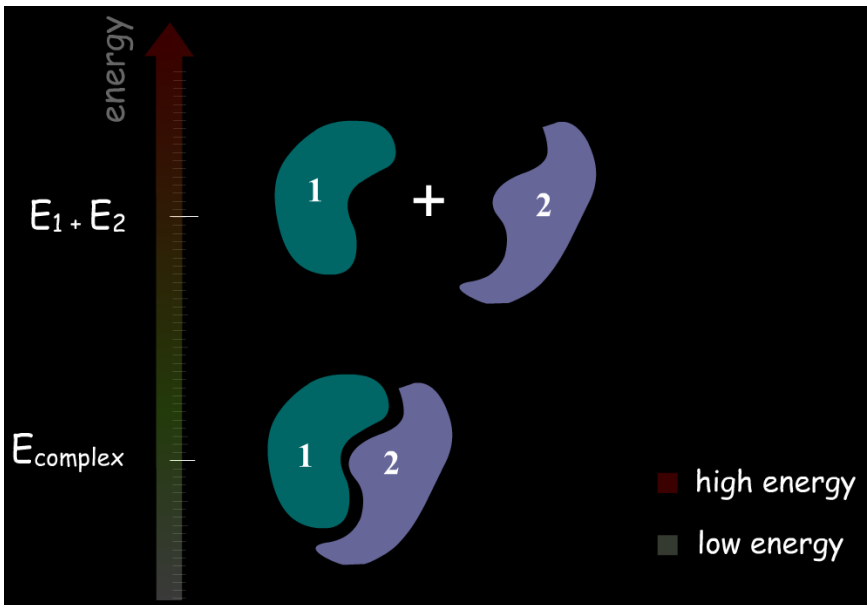


Chemical complementarity



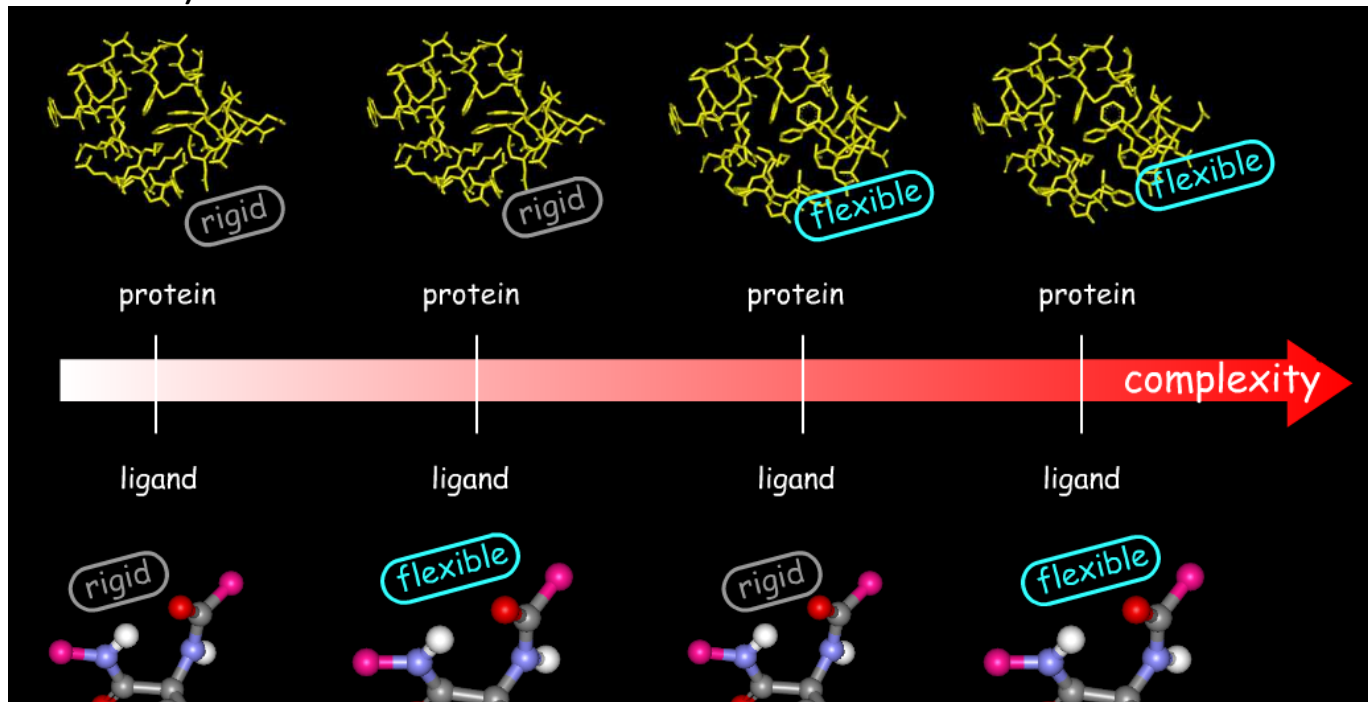
Podoba komplexu je určena energií

- Vznik komplexu je řízen energeticky, komplex má menší potenciální energii než jeho jednotlivé části samostatně, což drží komplex pohromadě.
- Cílem molekulového dokování je najít 3D strukturu komplexu, který má nejnižší energii.



Flexibilita při dokování

- Vzájemné přizpůsobení ligandu a receptoru je klíčové pro pochopení vazby ligandu a funkce proteinu.
- Jedno z velkých výzev molekulového dokování je správně zahrnout toto přizpůsobení při výpočtu.
- Postup dokování může být rozdělen podle toho, do jaké míry uvažujeme flexibilitu, ve vzrůstajícím pořadí:
 1. Rigidní dokování: nezahrnuje flexibilitu žádné molekuly (zámek a klíč)
 2. Rigidní receptor – flexibilní ligand: pouze ligand je flexibilní (nejčastější)
 3. Flexibilní receptor – flexibilní ligand: obě dvě struktury flexibilní (výpočetně náročné)



Tři základní komponenty softwarů provádějící dokování

- 1. Reprezentace molekul** – způsob, jak znázornit molekuly (atomy, povrch, mřížka (grid))
- 2. Skórovací funkce (metoda)** – metoda posuzující energii nadokovaného komplexu (např. silové pole)
- 3. Prohledávací algoritmus** (searching algorithm) – algoritmus generující pózy (ideálně energeticky co nejvýhodnější)

Skórovací funkce

- Force field
- Empirical
- Knowledge-based