Компьютерные методы в фармакологии

В.Б.Сулимов

НИВЦ МГУ

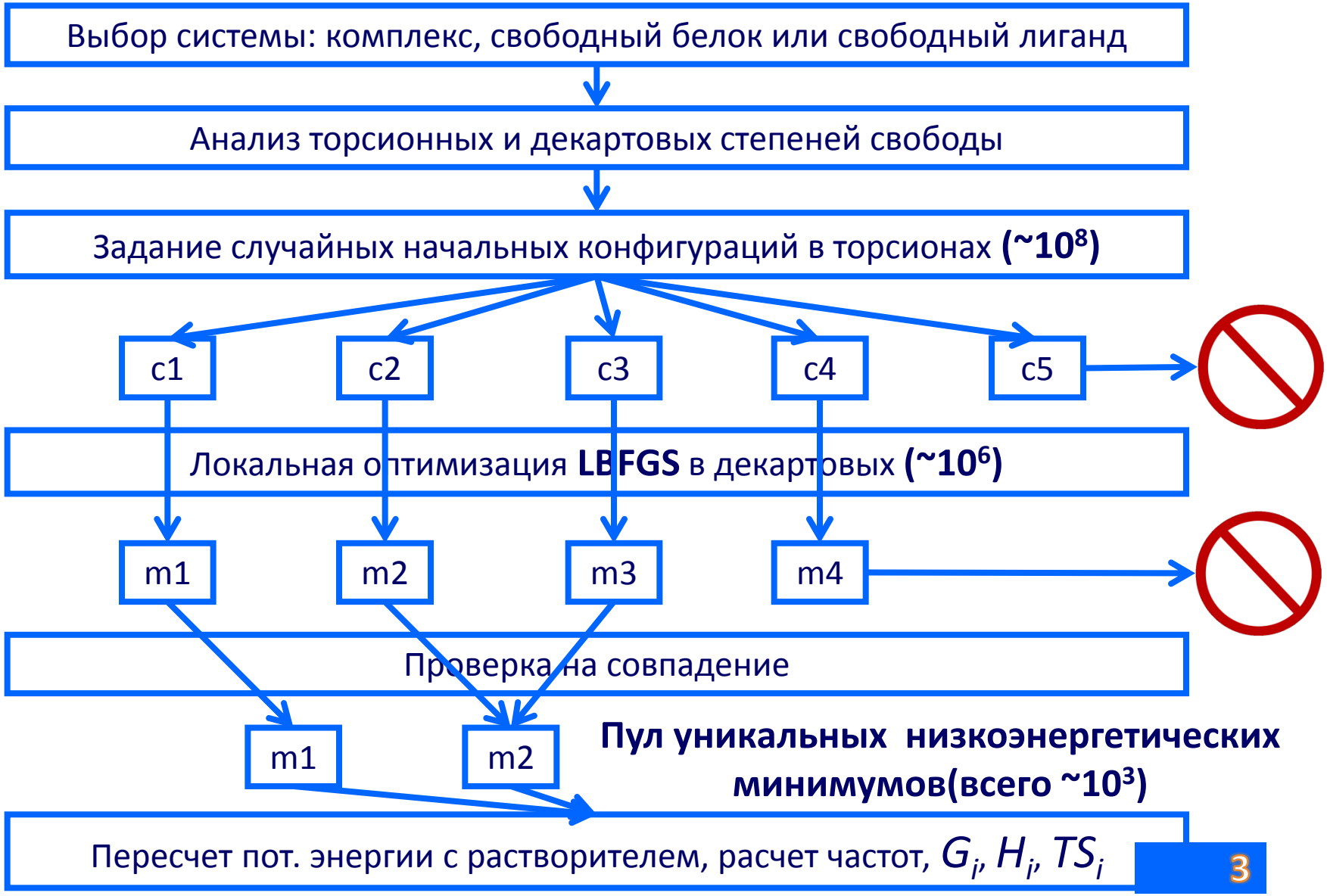
Лекция № 6

Обобщенный докинг, квазидокинг, токсичность, заряды и 3D-структуры молекул

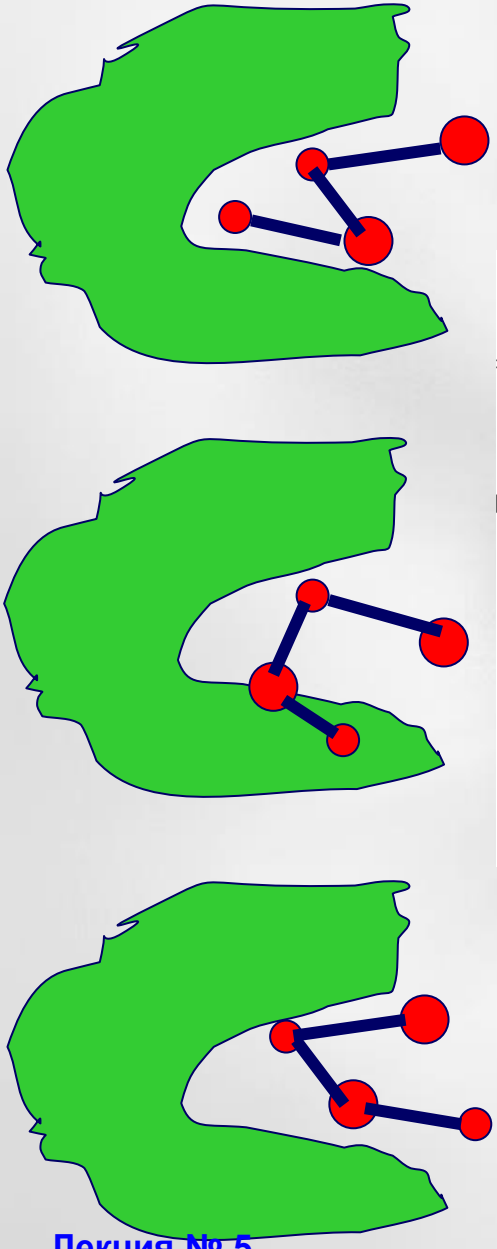
Программа FLM

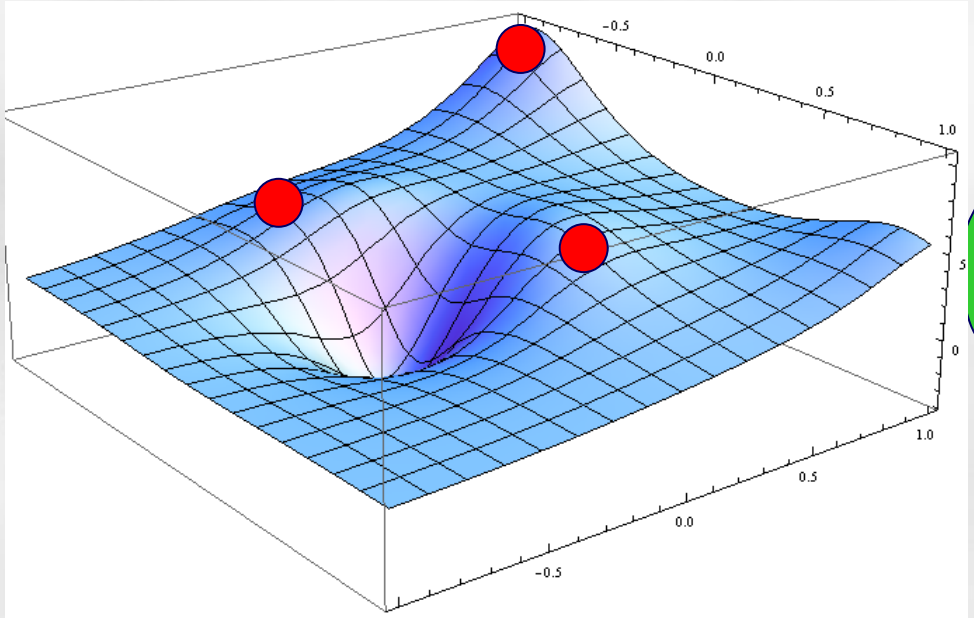
- FLM не использует заранее рассчитанную сетку потенциалов
- Жесткий белок, случайное «бросание» гибкого лиганда
- Локальная оптимизация энергии системы белок-лиганд из случайной позы лиганда: варьируются положения всех атомов лиганда
- В вакууме или с учетом растворителя в континуальной модели
- Силовое поле MMFF94, без упрощений, без подгоночных коэффициентов
- Исчерпывающий поиск спектра низкоэнергетических минимумов комплекса белок-лиганд
- Многие тысячи минимумов – отбор уникальных «на лету»
- Параллельные вычисления - докинг 1 лиганда: на **8191 ядрах** занимает несколько часов Ломоносова ≈10 000 CPU·часов

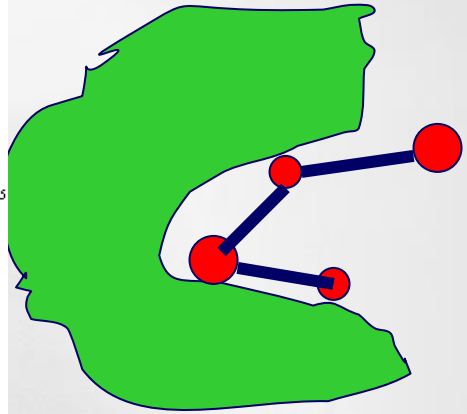
Программа FLM



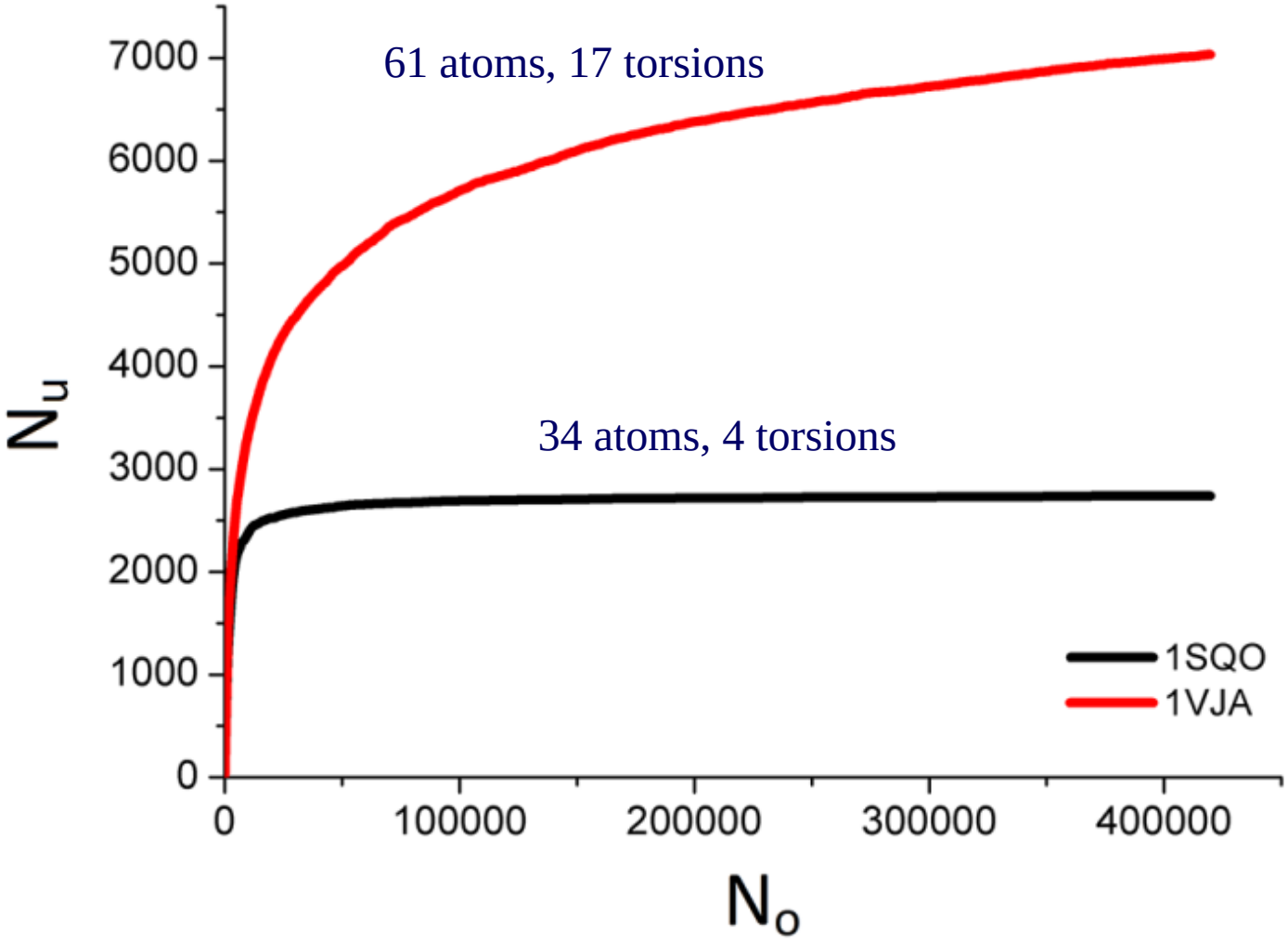
Программа FLM



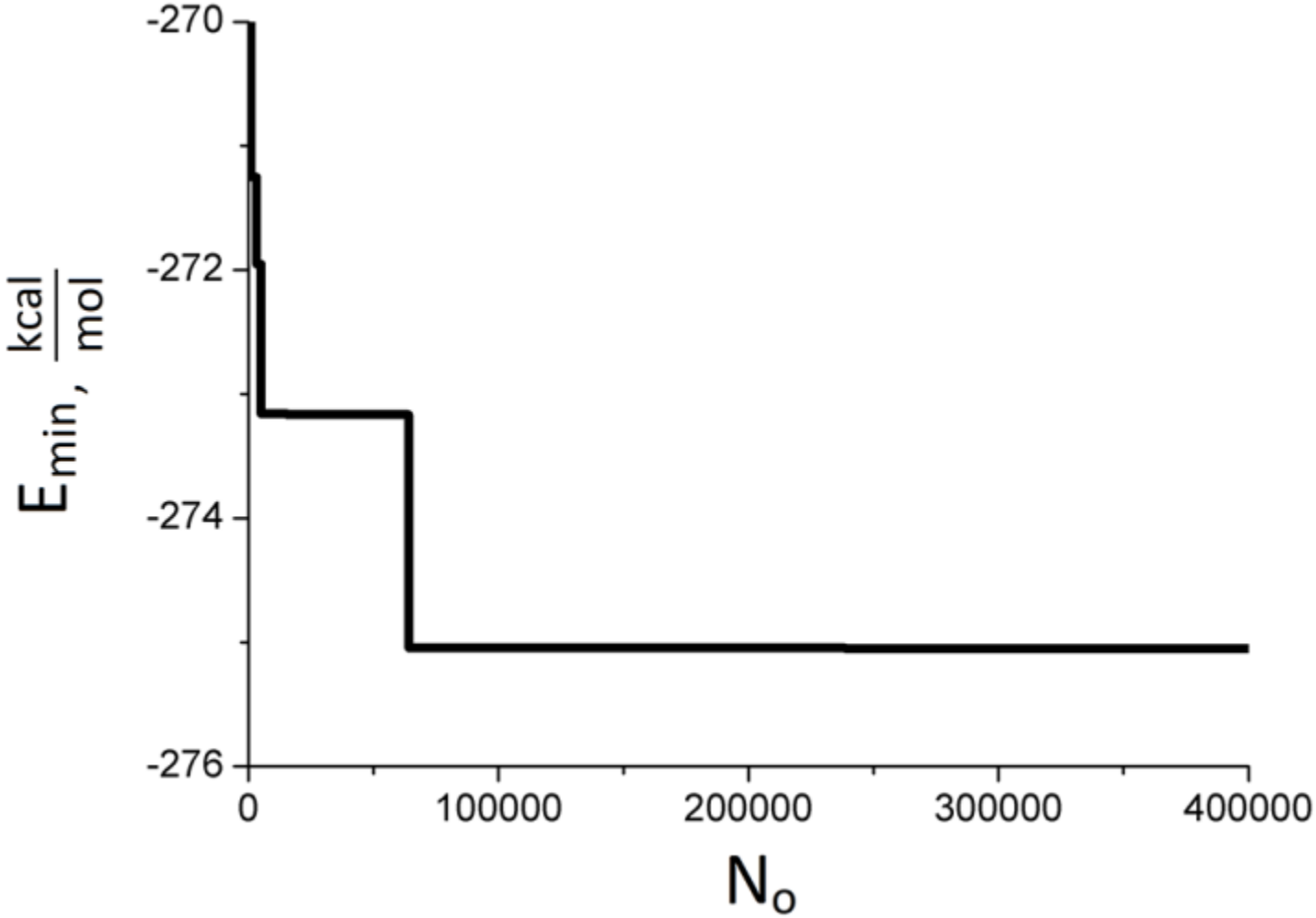




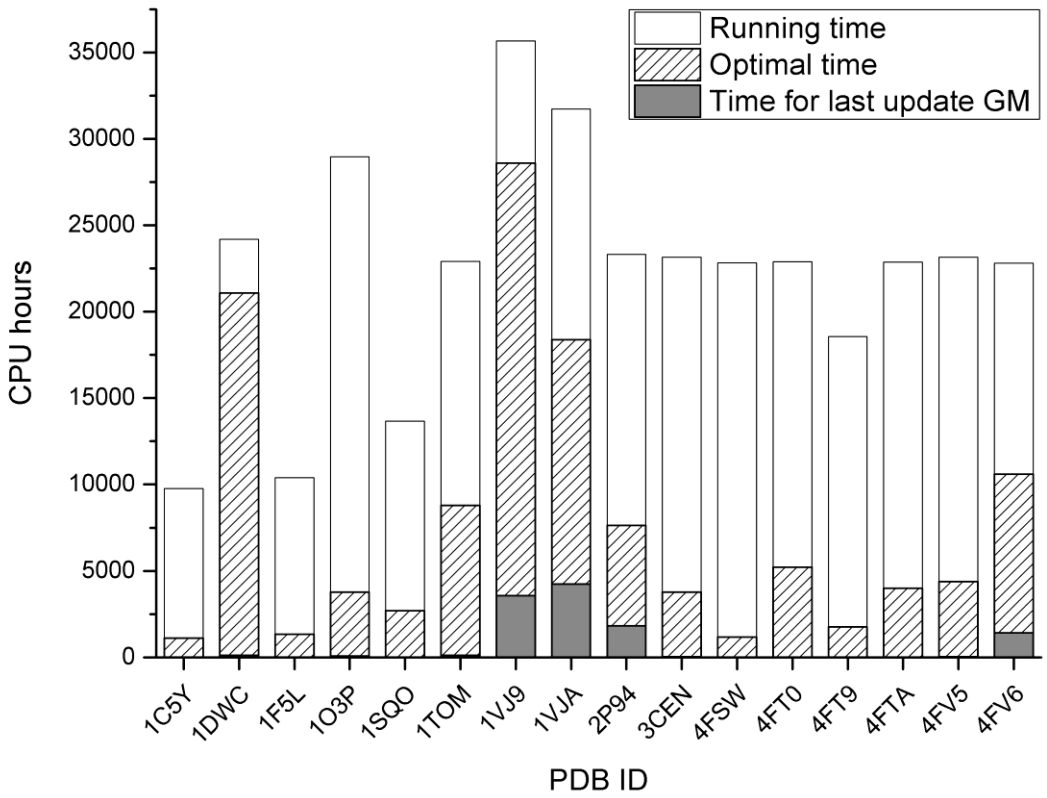
Nu – число обновлений пула уникальных низкоэнергетических минимумов
No – число оптимизаций



E_{min} – глобальный минимум энергии
N_o – число оптимизаций, комплекс 1VJA



Время счета FLM



- CPU зависит от числа атомов лиганда и от числа внутренних вращательных степеней свободы
- Глобальный минимум находится гораздо быстрее, чем весь пул низкоэнергетических минимумов

Докинг с помощью программы FLM

- FLM опирается на парадигму докинга: лиганд связывается с белком вблизи глобального минимума системы белок-лиганд
- FLM – это инструмент для тестирования применимости энергетических функций системы белок-лиганд для докинга
- FLM – это инструмент для тестирования эффективности алгоритмов глобальной оптимизации энергии системы белок-лиганд
- FLM нужно около 10 000 CPU*часов для докинга 1 лиганда
  - **FLM не может быть использована для скрининга больших баз данных – докинг только отдельных лигандов**
  - **FLM не может быть использована для докинга с учетом подвижности атомов белка**
  - **FLM для проведения квантово-химического докинга - квазидокинг**

Квазидокинг – путь к квантово-химическому докингу

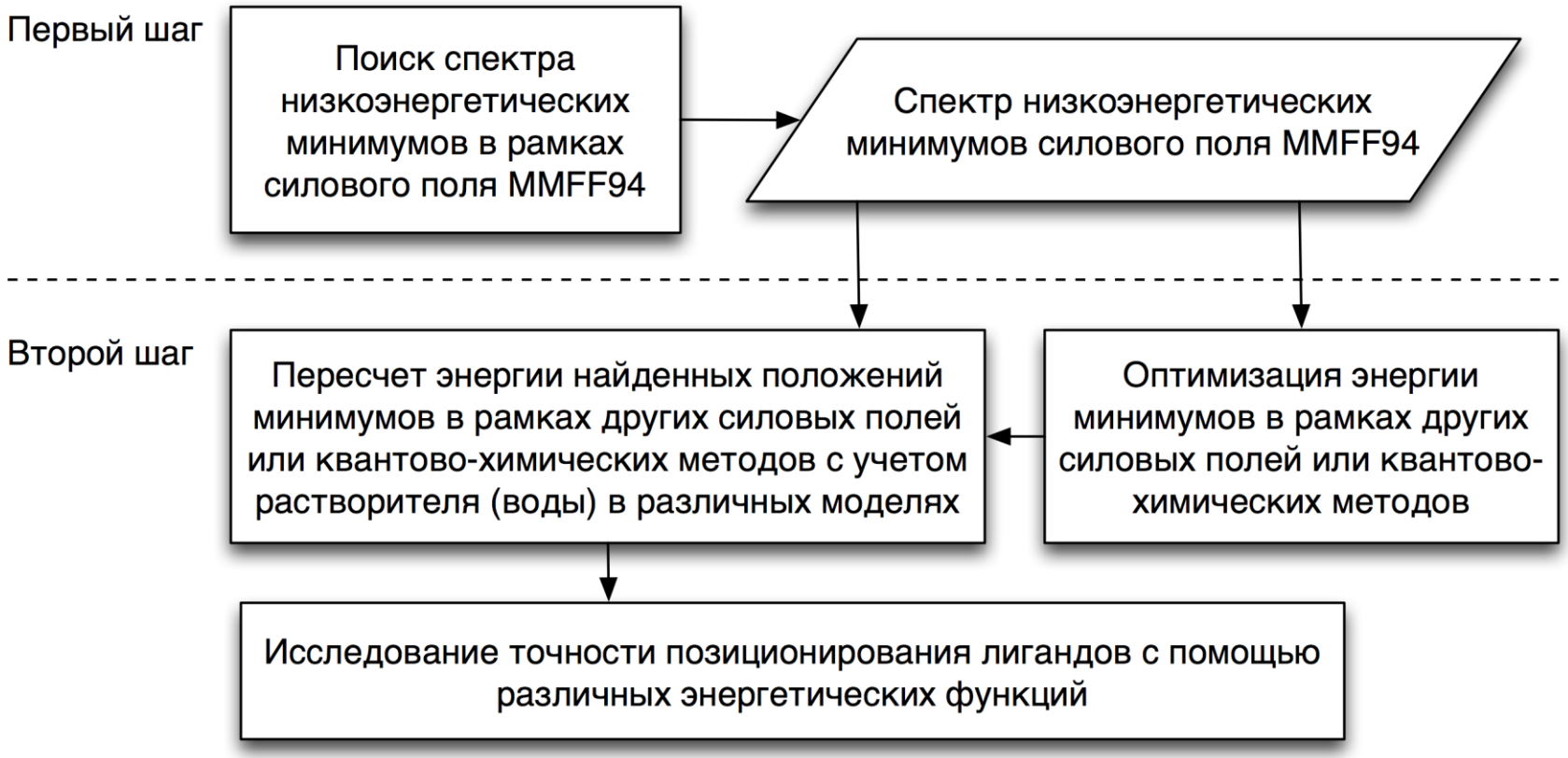
Рельеф многомерной поверхности энергии белок-лиганд слабо зависит от выбора силового поля или метода квантовой химии – минимумы находятся примерно там же

- Используя программу **FLM** в вакууме, находим несколько тысяч низкоэнергетических минимумов комплекса белок-лиганд в силовом поле MMFF94 – обычно 4 тысяч минимумов хватает – это показали исследования десятков комплексов белок-лиганд
- Энергия каждого найденного минимума вычисляется с помощью полуэмпирического квантово-химического метода **PM7** без дополнительной локальной оптимизации
- Выявляется поза с самой низкой энергией PM7. Парадигма докинга выполняется почти для всех (нескольких десятков) тестовых комплексов
- Проводится локальная оптимизация энергии **PM7** из позы лиганда с наинизшей энергией при варьировании положений атомов лиганда. Это и есть лучшая поза лиганда

Квантово-химический пакет MOPAC

- Полуэмпирические методы квантовой химии: на основе физических соображений некоторые интегралы в матричном уравнении Шредингера заменяются нулями, некоторые вычисляются, другие заменяются аналитическими формулами; эти методы развиваются около 50 лет
- Недостатки этих упрощений компенсируются введением параметров, которые подгоняются, либо под эксперимент, либо под точные расчета ab initio
- Новый квантово-химический полуэмпирический метод PM7:
  - Улучшенные описания межмолекулярных взаимодействий
- Можно проводить расчеты комплексов белок-лиганд – несколько тысяч атомов
- Для каждого расчета комплекса белок-лиганд необходимо:
  - При оптимизации лиганда около **10 часов на 1 вычислительном ядре**
  - Без оптимизации лиганда (1SCF) **несколько минут**

Процедура квазидокинга



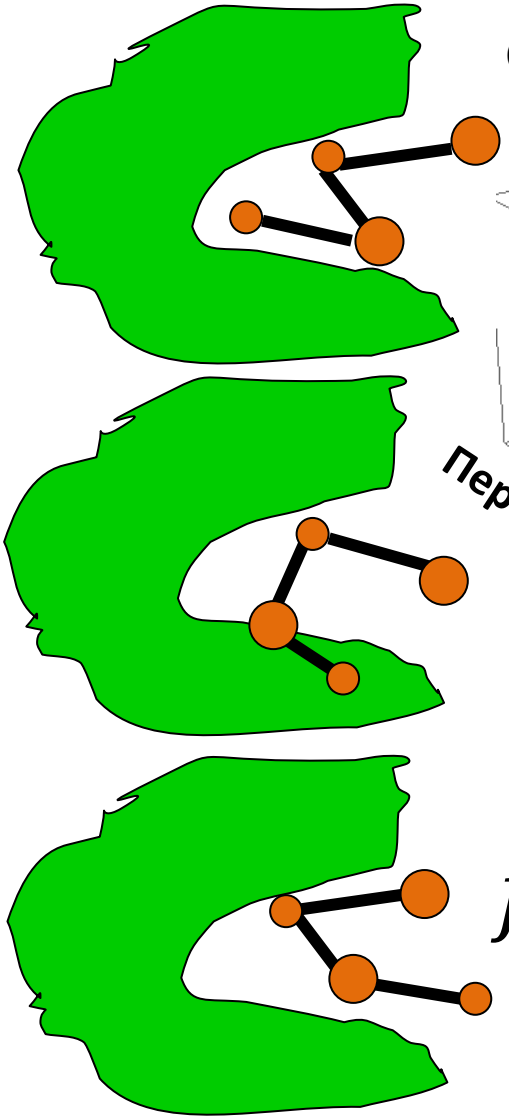
A.V.Sulimov et al. Journal of Molecular Graphics and Modelling, 2017, 78:139-147

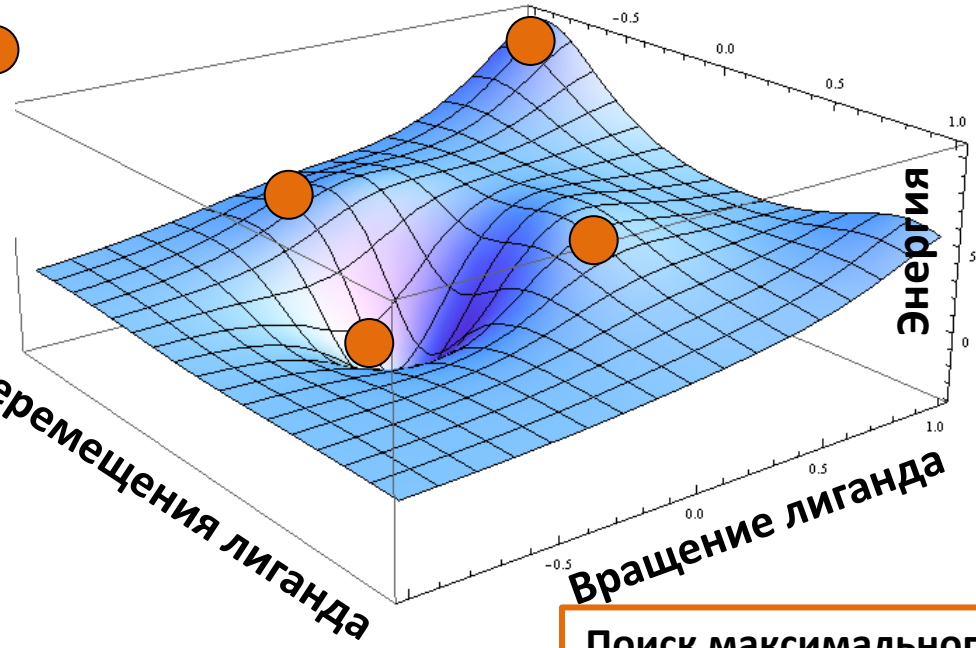
Суперкомпьютерная программа докинга SOL-P: ТТ-алгоритм докинга основан на методе глобальной оптимизации с использованием разложение тензоров в тензорные поезда – Tensor Trains

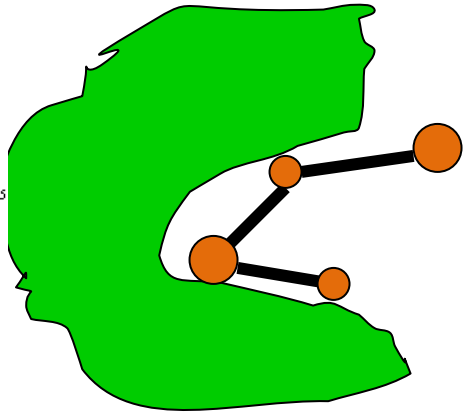
- Классическое силовое поле MMFF94, без упрощений, без подгоночных параметров
- Нет сетки потенциалов взаимодействия белок-лиганд
- Многопроцессорные параллельные вычисления: несколько сотен вычислительных ядер
- Непрерывная функция энергии системы белок-лиганд преобразуется с помощью очень мелкой сетки в многомерный тензор большого размера
- К этому тензору применяются современные методы тензорного анализа, развитые в Институте вычислительной математики РАН, для поиска максимального по модулю элемента тензора – он и будет соответствовать глобальному оптимуму исходной непрерывной функции

Программа докинга SOL-P: Преобразование непрерывной функции энергии в многомерный тензор Число измерений = Числу степеней свободы системы

Сетка дискретизации энергии: $n = 2^{16}$ – по каждому измерению







Поиск максимального по модулю элемента многомерного тензора

$$f(x_1, x_2, \ldots, x_d) \Rightarrow A(i_1, i_2, \ldots i_d)$$

Поиск глобального минимума непрерывной функции

i=1, 2, 3,…2^{16}

Разложение тензора в тензорный поезд

Многомерный массив (тензор) $A \in \mathbb{R}^{n_1 \times \cdots \times n_d}$ может быть представлен в форме:

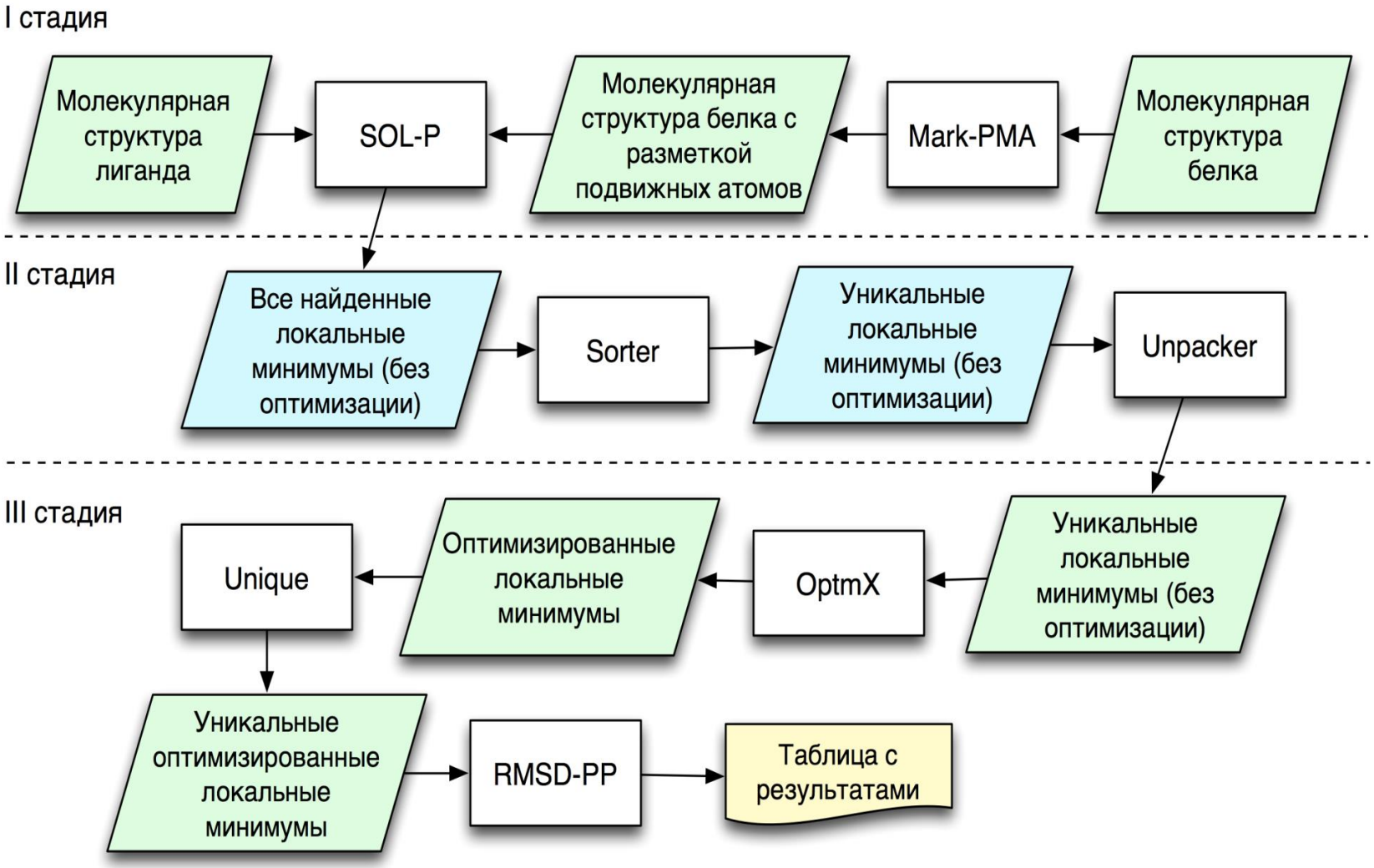
$$A(i_1, \dots, i_d) =$$

$$= \sum_{\alpha_1=1,\dots,\alpha_{d-1}=1}^{r_1,\dots,r_d} G_1(i_1, \alpha_1) G_2(\alpha_1, i_2, \alpha_2) \dots G_{d-1}(\alpha_{d-2}, i_{d-1}, \alpha_{d-1}) G_d(\alpha_{d-1}, i_d)$$

- $r_1, \dots, r_{d-1}$ - **TT**-ранги данного тензора
- 3х мерные тензоры $G_i \in \mathbb{R}^{r_{i-1} \times n_i \times r_i}$ - вагоны

Если тензор получен при дискретизации регулярной гладкой функции – например, энергии комплекса белок-лиганд, то **TT ранги – небольшие числа**

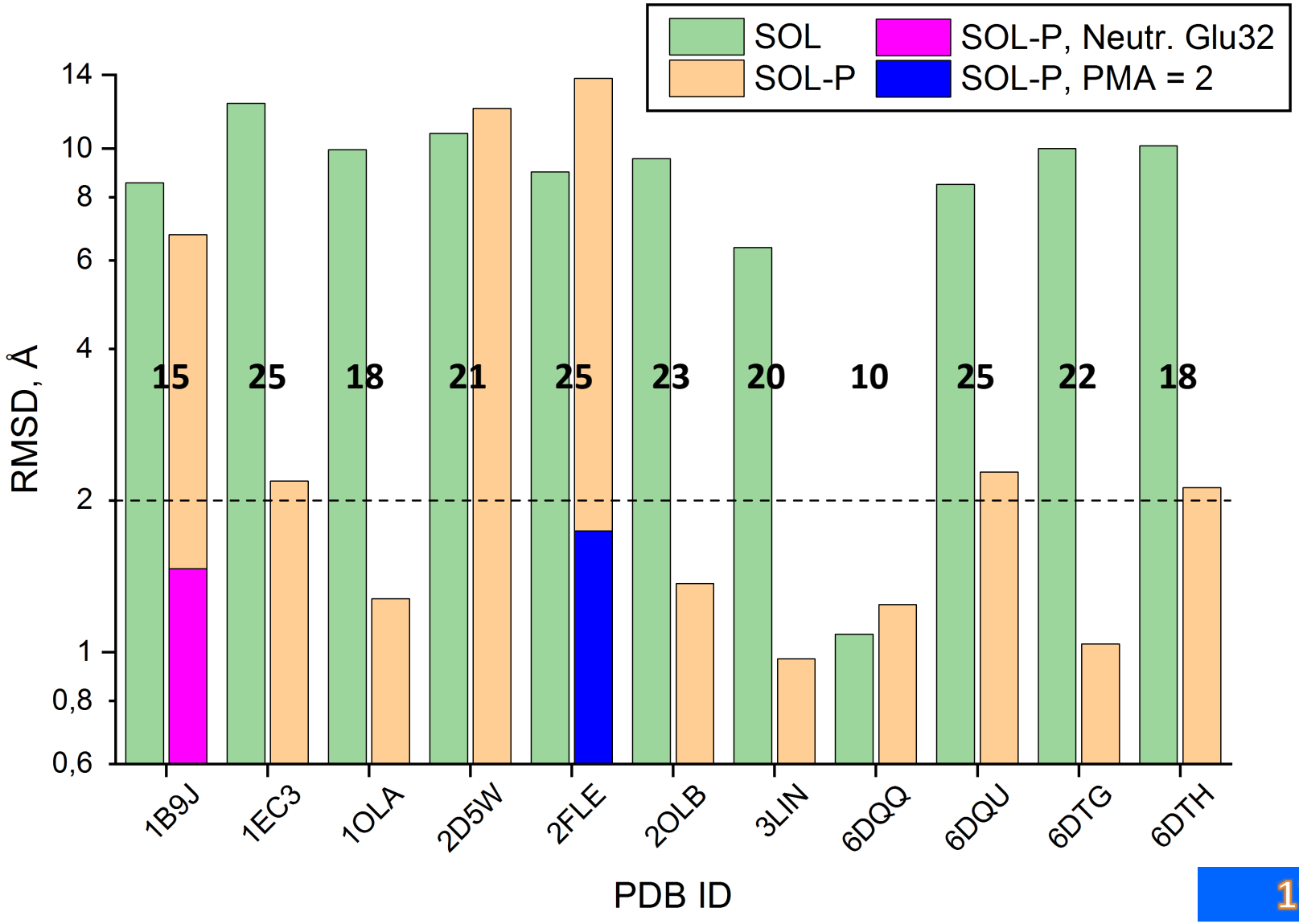
Блок-схема программы SOL-P



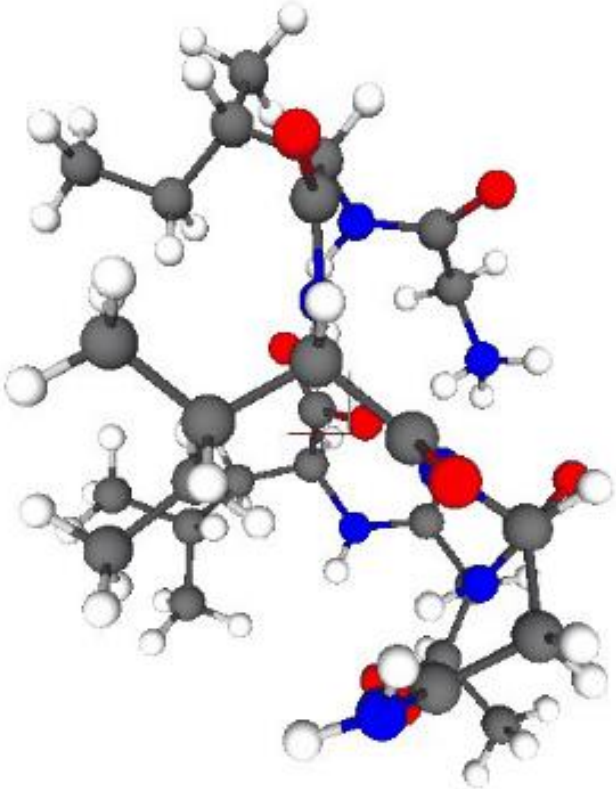
SOL-P суперкомпьютерная программа докинга Tensor Глобальная оптимизация энергии с помощью тензорных поездов Tensor Trains

- Почти для всех тестовых комплексов SOL-P находит тот же глобальный минимум энергии, который находит FLM
- Для жесткого белка SOL-P работает гораздо быстрее, чемFLM:
  - SOL-P нужно 100 CPU*часов
  - FLM нужно 10 000 CPU*часов
- SOL-P успешно проводит докинг лигандов, имеющих до 25 торсионов; для сравнения
  - Для SOL максимальное число торсионов 10-15,
  - Для Glide, GOLD and ICM max торсионов 10
- SOL-P может проводить докинг гибких лигандов в белки с несколькими десятками подвижных атомов: до 157 степеней свободы белка

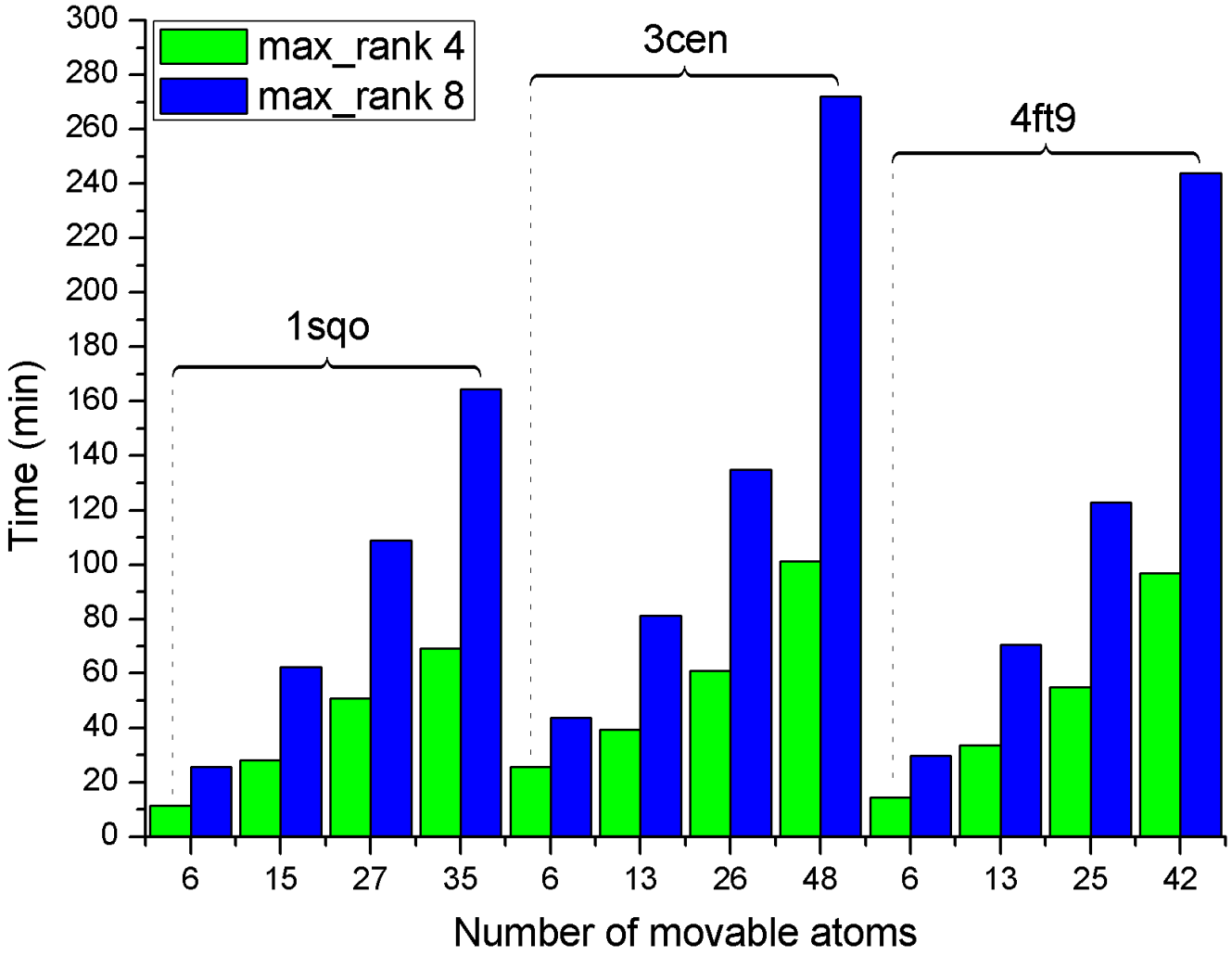
Докинг гибких лигандов



Гибкий олигопептид Gly-Ile-Ile-Asn-Thr-Leu
25 внутренних вращательных степеней свободы



SOL-P: времена докинга 1 лиганда на 256 cores



Наши программы докинга

- SOL_GRID – SOL – докинг на сетке заранее рассчитанных потенциалов. Генетический алгоритм. Находит глобальный минимум. Без локальной оптимизации. Жесткий белок. Это рабочая версия.
- FLM – докинг без сетки. Монте Карло. Локальная оптимизация по атомам лиганда. Жёсткий белок. При наличии достаточных суперкомпьютерных ресурсов находит весь спектр низкоэнергетических локальных минимумов системы белок-лиганд.

Наши программы докинга

- SOL-P - бессеточный докинг. Новый ТТ алгоритм глобальной оптимизации на основе тензорных поездов. Гибкий лиганд и выбранные атомы белка-мишени могут быть подвижны. Локальная оптимизация по всем атомам лиганда и выбранным атомам белка. Время докинга: 100 минут при лиганде с 7 торсионами и 48 подвижными атомами белка на 256 вычислительных ядрах

Источники информации о трехмерной структуре малых молекул:

- Рентгеноструктурный анализ, Спектроскопия ЯМР
- Информация о трехмерных структурах малых молекул собрана в Кембриджской базе данных – Cambridge Structural Database (CSD) **http://www.ccdc.cam.ac.uk/**
- Protein Data Bank - PDB: **www.rcsb.org/pdb**

Однако, если мы разрабатываем новое лекарственное средство, то оно еще не получено, и следовательно, мы не можем использовать экспериментальную трехмерную структуру!

- Самый верный способ правильно найти 3D структуру лиганда – это провести *ab initio* квантово-химический расчет
- А если таких лигандов тысячи, что делать?

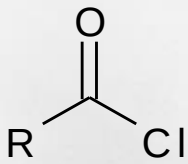
Какие молекулы могут быть лекарствами?

- Одна молекула может быть в различных пространственных 3D-конформациях
- Изомеры – молекулы одинакового химического состава, но разной структуры
- Таутомерия – обратимая изомерия: изомеры легко переходят друг в друга
- Растворимость в воде
- А если молекула в воде нестабильна и распадается на части?
- Коэффициент распределения октанол-вода
- Corina – преобразование молекул 2D -> 3D
- Зарядовые состояния молекулярных групп – основные идеи, протонирование

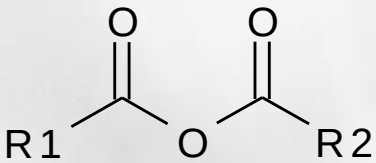
Не все органические вещества могут быть потенциальными лекарствами
Причины, по которым вещество не может быть лекарством:

- Вещество нестабильно в водных растворах или в присутствии компонентов плазмы крови
- Вещество вступает в неспецифичные химические реакции с биологическими субстратами организма
- Вещество нерастворимо или очень плохо растворимо в воде – не удается достичь терапевтических концентраций
- Вещество обладает плохими фармакокинетическими характеристиками (ADME – Adsorption, Distribution, Metabolism, Excretion)
- Вещество токсично, канцерогенно и т.д.
- Содержат тяжелые или токсичные элементы – свинец, таллий, ртуть, сурьму, мышьяк и т.д.

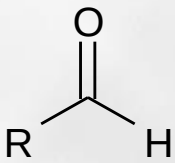
Вещества, нестабильные в водных растворах или в присутствии компонентов плазмы крови, вступающие в неспецифичные реакции с биологическими субстратами:



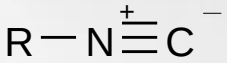
Хлорангидриды



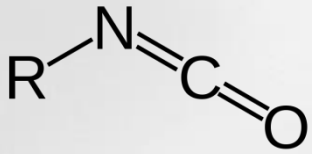
ангидриды



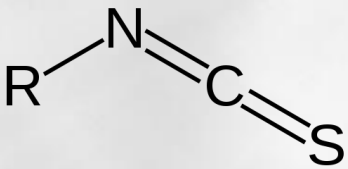
альдегиды



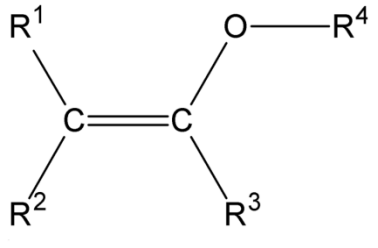
изоцианиды



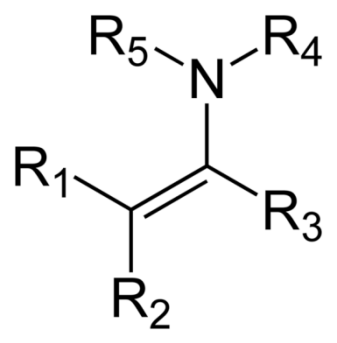
Изоцианаты



Изотиоцианаты



эфиры енолов

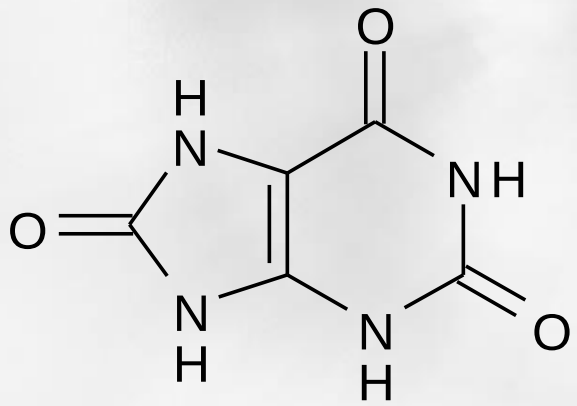


енамины

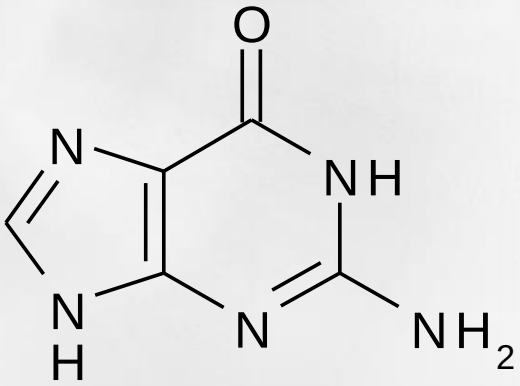
И многие другие реакционноспособные органические соединения

Растворимость в воде – проблема!

1. **Следует избегать молекул составленных лишь из неполярных функциональных групп, таких как углеводородные, незамещенная ароматика и т.д.**
2. **Однако даже наличие в составе молекулы большого количества «гидрофильных» групп не означает, что вещество хорошо растворяется. Например, следующие вещества практически нерастворимы в воде:**



Мочевая кислота



Гуанин

Растворимость в воде – проблема!

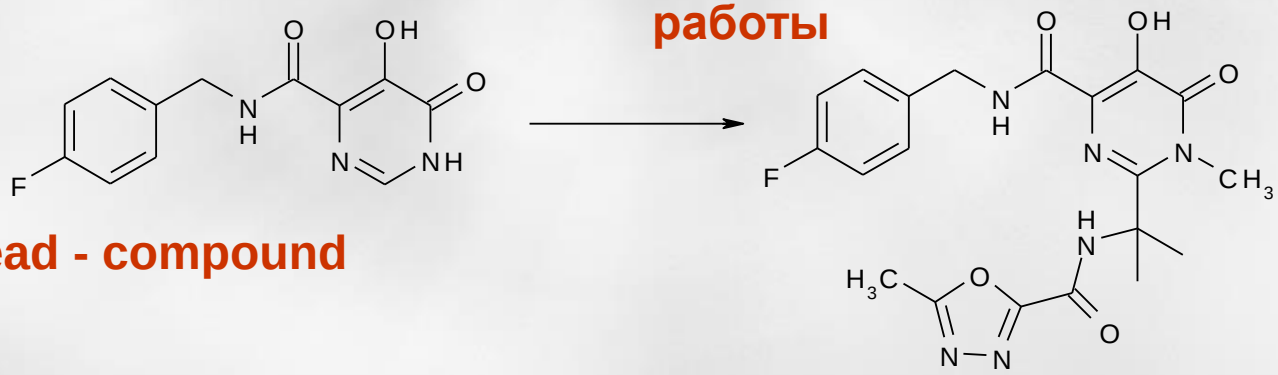
- Предсказать заранее растворимость вещества достаточно сложно, так как для этого необходимо оценить изменение свободной энергии молекулы при переходе из кристаллического состояния в растворенное: $\Delta G = (G_{solv} - G_{cryst})$.

- В свою очередь, свободная энергия молекулы в кристаллическом состоянии зависит от упаковки молекул в кристалле, предсказать которую практически невозможно.

- Более того, есть лекарственные средства, существующие в нескольких полиморфных кристаллических модификациях, каждая из которых характеризуется своим параметром растворимости в воде!

Большинство биологически-активных веществ, найденных в процессе поиска новых лекарственных веществ (**Lead compounds**) обладают недостаточной растворимостью. В процессе оптимизации **lead compounds** обычно встает задача повышения растворимости **для создания из lead compound настоящего лекарственного средства**. Обычно это достигается введением гибких гидрофильных групп в молекулу, но так, чтобы требуемая биологическая активность молекулы не ухудшилась. Этот процесс – своего рода искусство ☺

Несколько лет работы



Lead - compound

лекарство

Приемлемые фармакокинетические характеристики вещества (ADME – Adsorbtion, Distribution, Metabolism, Excretion) – поглощение, распределение, метаболизм, выведение.

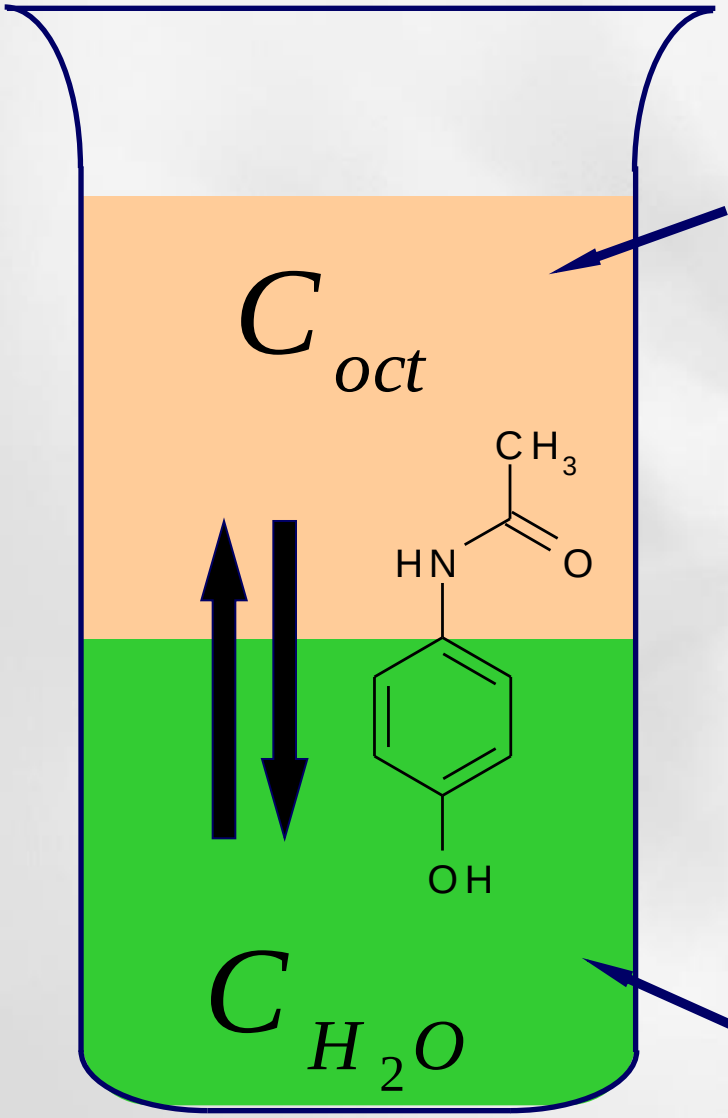
В 1997 году Кристофер Липински (Christopher Lipinski, Pfizer) проанализировав структуры известных лекарственных средств получил 4 правила, которым должны подчиняться структуры молекул, чтобы с большой долей вероятности иметь приемлемые параметры ADME и быть лекарственно-подобными. Сейчас есть несколько трактовок этих правил. Одна из них:

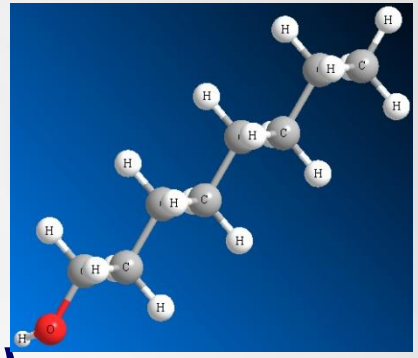
Правила Липинского

1. Молекула должна содержать не более 5 доноров водородной связи
2. Молекула должна содержать не более 10 акцепторов водородной связи
3. Молекулярный вес вещества не должен превышать 500
4. Коэффициент распределения октанол-вода в пределах:

   $-0.4 < \log P < +5.6$ (распределение в системе октанол-вода имитирует распределение вещества в бислойной липидной мембране – вещества с указанным logP способны проходить через такие мембраны и проникать внутрь клеток)

Что такое коэффициент распределения октанол-вода (LogP) и почему он так важен?



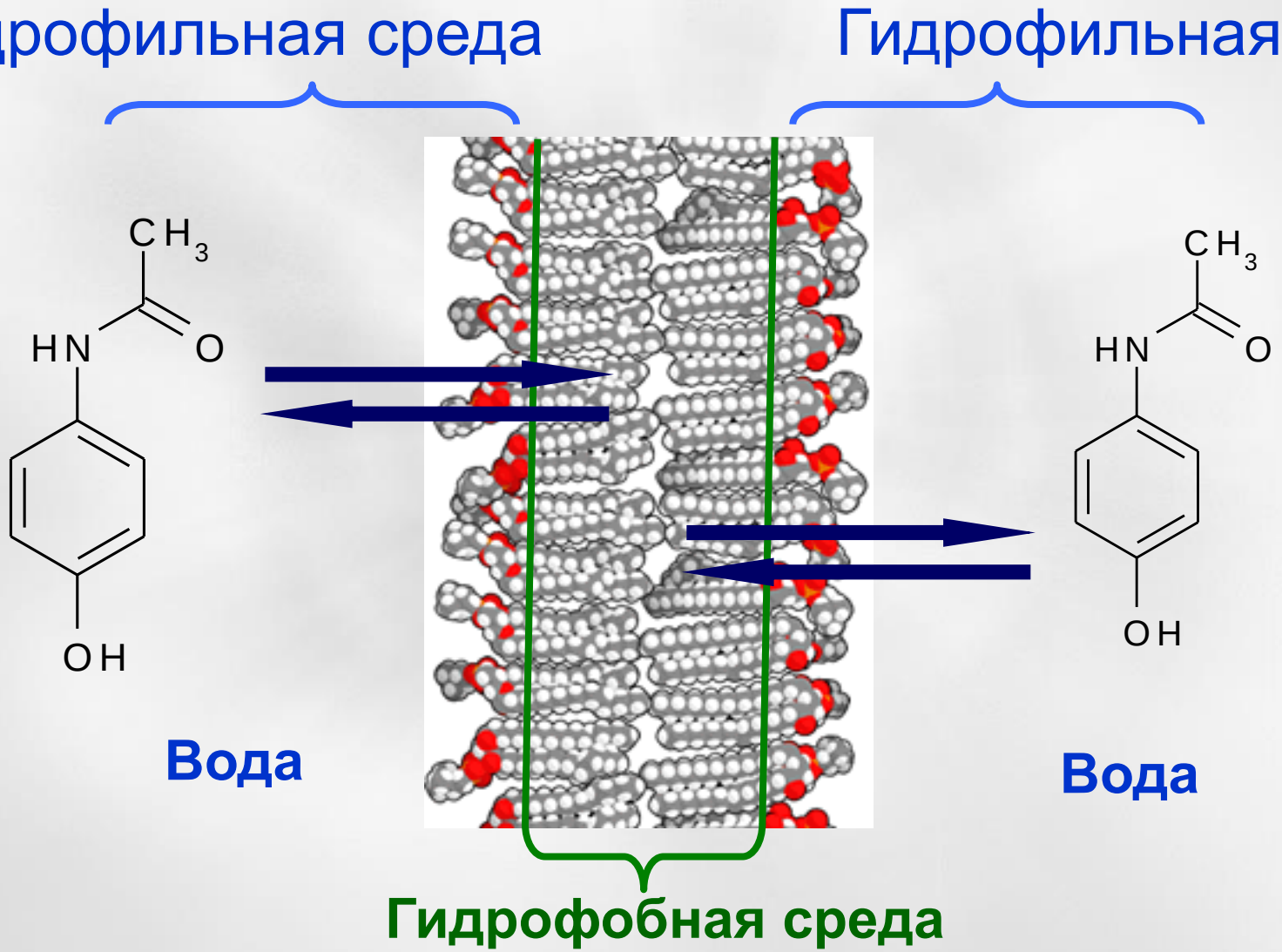


N-октанол
(гидрофобная среда)

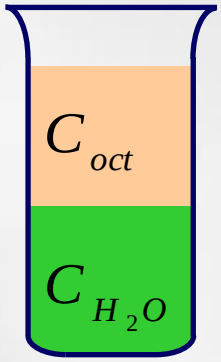
$$\log P = \log_{10} \frac{C_{oct}}{C_{H_2O}}$$

Вода
(гидрофильная среда)

logP характеризует процесс диффузии лекарственного вещества через бислойную липидную мембрану. Для эффективной диффузии необходимо, чтобы вещество находилось в достаточных концентрациях как в гидрофильной, так и в гидрофобной средах.



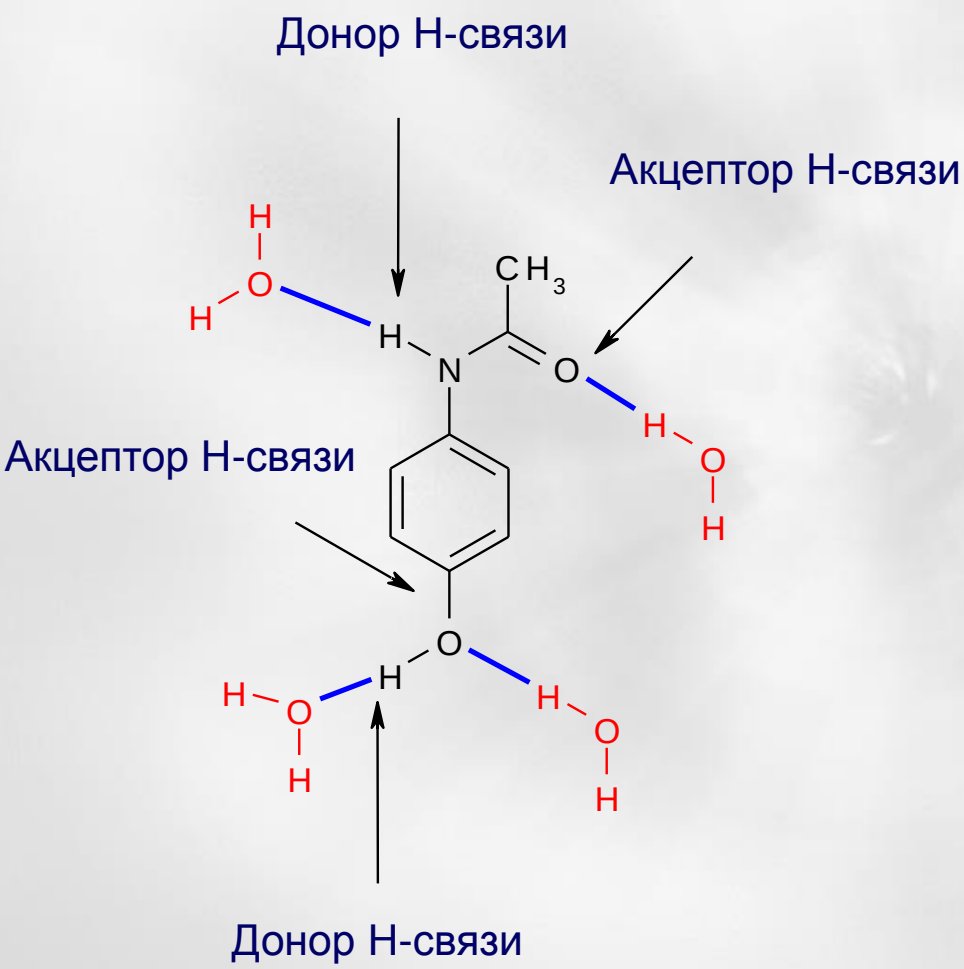
Способы определения LogP



- **Экспериментальное измерение**
(смешивание, встряхивание, определение концентрации в обеих фракциях, хроматографические методы)

- **Расчетные методы**
Программы для расчета LogP (например, CLogP)
A.Leo *Chem. Rev.* 1993, **93**, 1281-1308

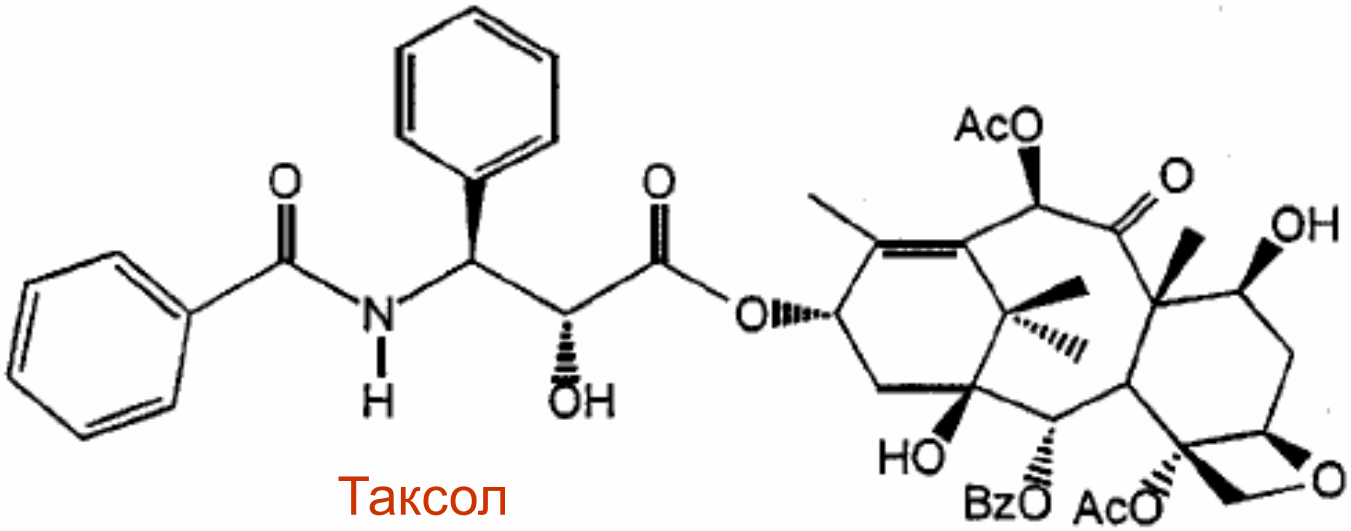
Рассмотрим выполнение правил Липински на примере молекулы простого лекарственного вещества – парацетамола (панадол)



1. Количество доноров Н-связи: 2 (проходит!)
2. Количество акцепторов Н-связи: 2 (проходит!)
3. Молекулярная масса: M = 151.16 (проходит!)
4. Log P = 0.34 (проходит!)

Итак, молекула парацетамола удовлетворяет всем правилам Липински и может гипотетически рассматриваться, как лекарственное средство!

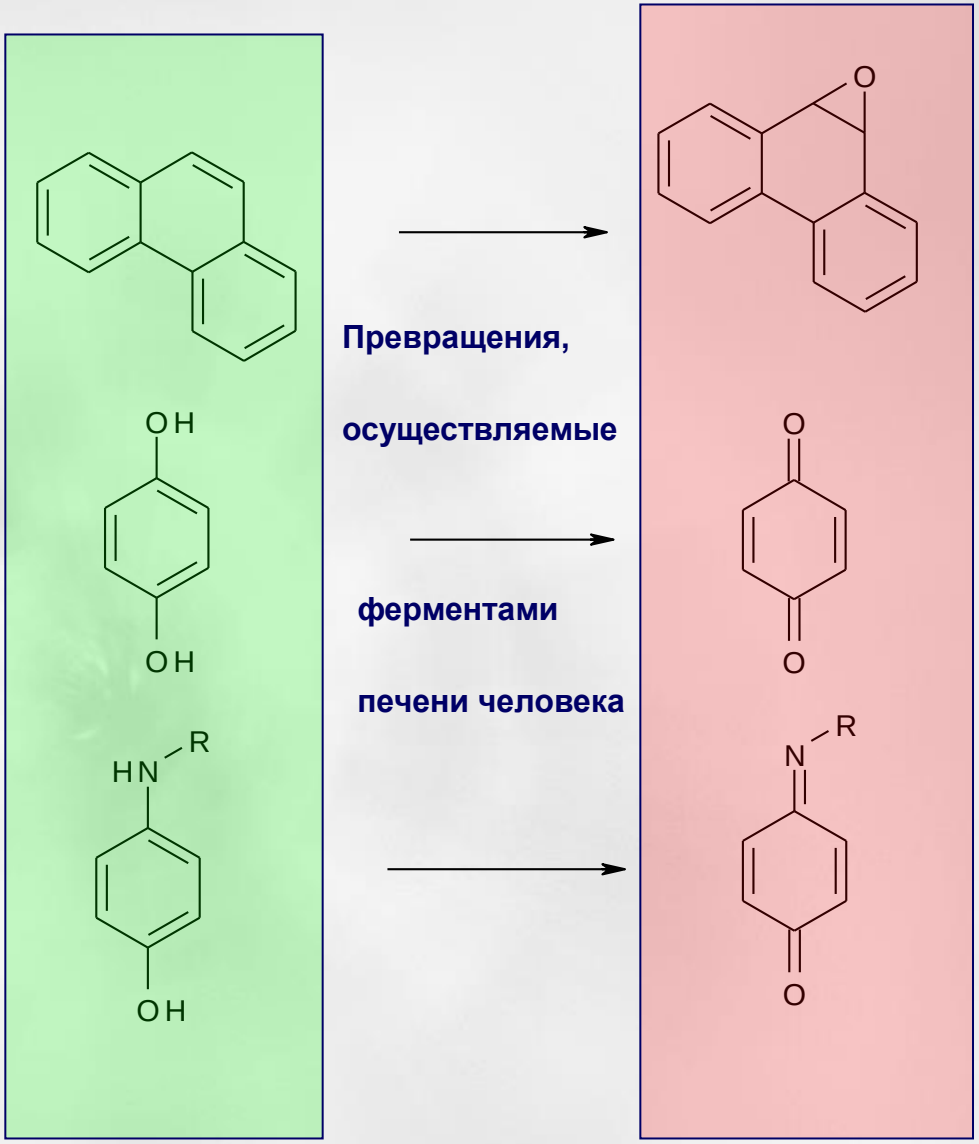
Правила Липински – не физические законы, а эмпирические, поэтому возможны и исключения, напимер - лидер продаж среди лекарственных веществ – таксол – противоопухолевый препарат (паклитаксел компании Bristol-Myers Squibb) – имеет молекулярную массу M=854, что нарушает 3 правило: M<500. Существуют и более точные способы оценки лекарственно-подобия органических веществ, однако они достаточно сложны или требуют привлечения экспериментальных методик



Таксол

Токсичность.

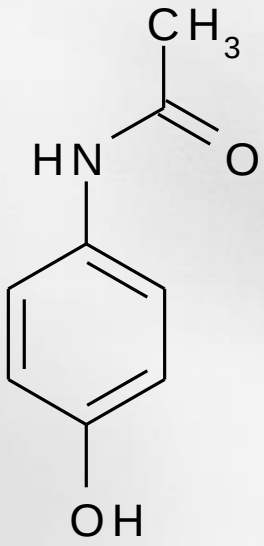
Многие вещества в процессе химических реакций (метаболизма) в организме человека могут превращаться в токсичные метаболиты. Известно несколько молекулярных мотивов, способных претерпевать такие нежелательные превращения. Их необходимо избегать!



Безвредные исходные вещества

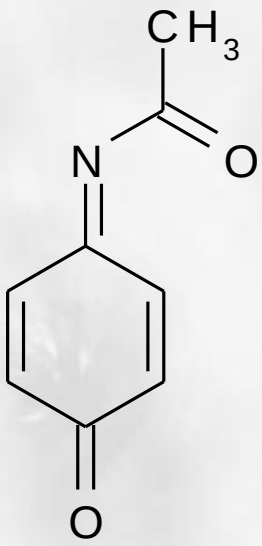
Токсичные метаболиты

Можно заметить, что структура парацетамола такова, что может проявлять нежелательную токсичность:



Парацетамол

Ферменты печени человека

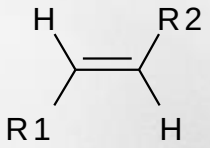


Токсичный хинонимин

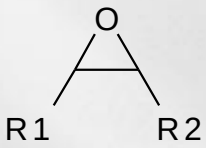
Действительно, показанное превращение обусловливает высокую токсичность парацетамола. Парацетамол довольно токсичен – в дозах выше 200 мг/кг вызывает необратимые повреждения печени и почек. Для кошек он – сильный яд. Если бы он разрабатывался сейчас, а не 100 лет назад – то был бы снят с испытаний из-за токсичности!

Итак, чтобы стать лекарством, вещество должно одновременно удовлетворять многим требованиям – по растворимости, фармакокинетике и токсичности!

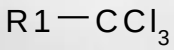
Нежелательные структуры, которые могут привести к общей токсичности лекарственного вещества



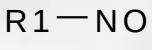
алкены



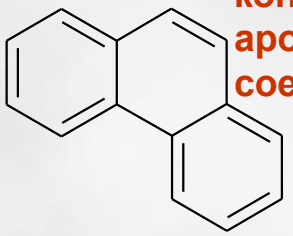
эпоксиды



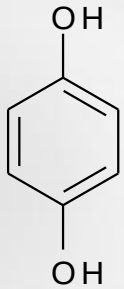
полигалоген-производные



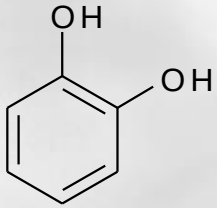
нитрозо-соединения



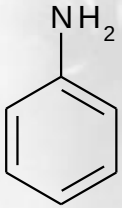
конденсированные ароматические соединения



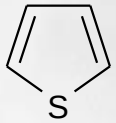
гидрохиноны



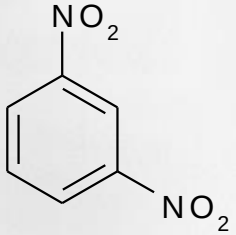
катехолы



незамещенные ароматические амины

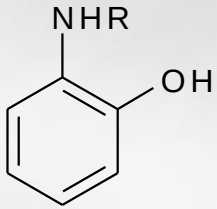


тиофены

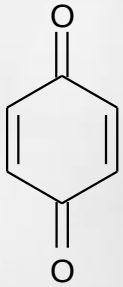


полинитросоединения

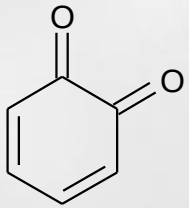
пара-аминофенолы



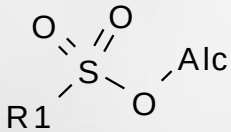
орто-аминофенолы



пара-хиноны

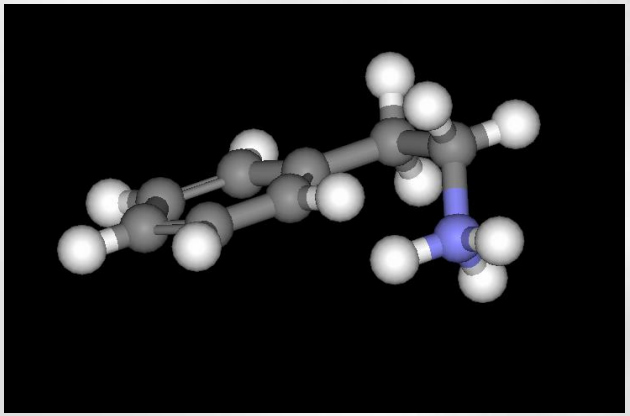


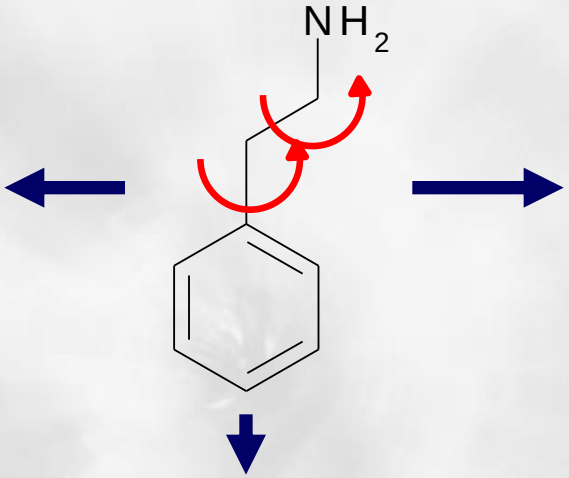
орто-хиноны

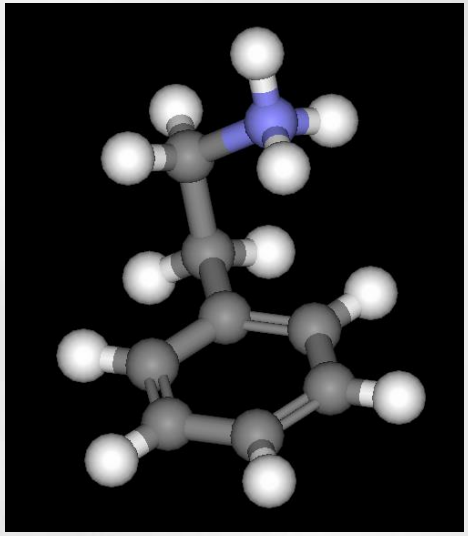


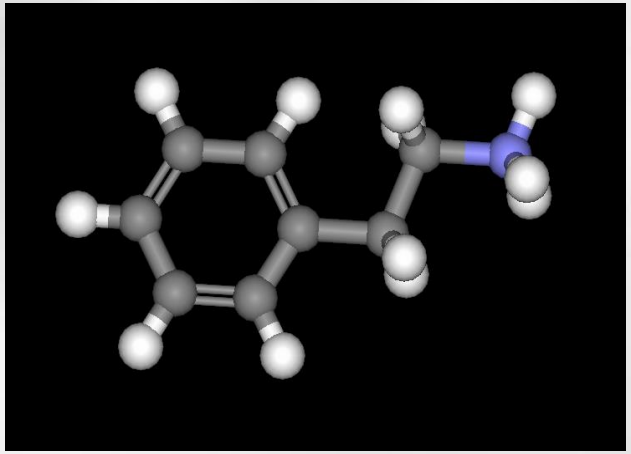
алкил-сульфаты

Для того, чтобы осуществлять дизайн лекарственных средств нужно правильно представлять их трехмерную структуру







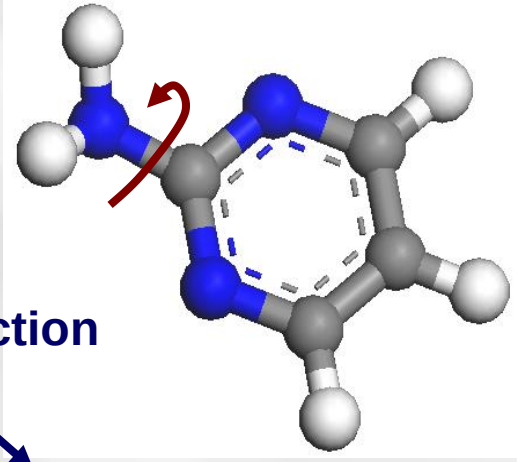


Многие органические молекулы существуют виде неразделимой смеси конформеров – разновидностей молекулы, образованных вращениями вокруг химических связей

Относительное содержание конформеров подчиняется статистике Больцмана

Насколько точно можно рассчитать энергию различных конформеров? Пример с внутренним вращением аминогруппы в 2-аминопиримидине. Высота барьера вращения в kcal/mol

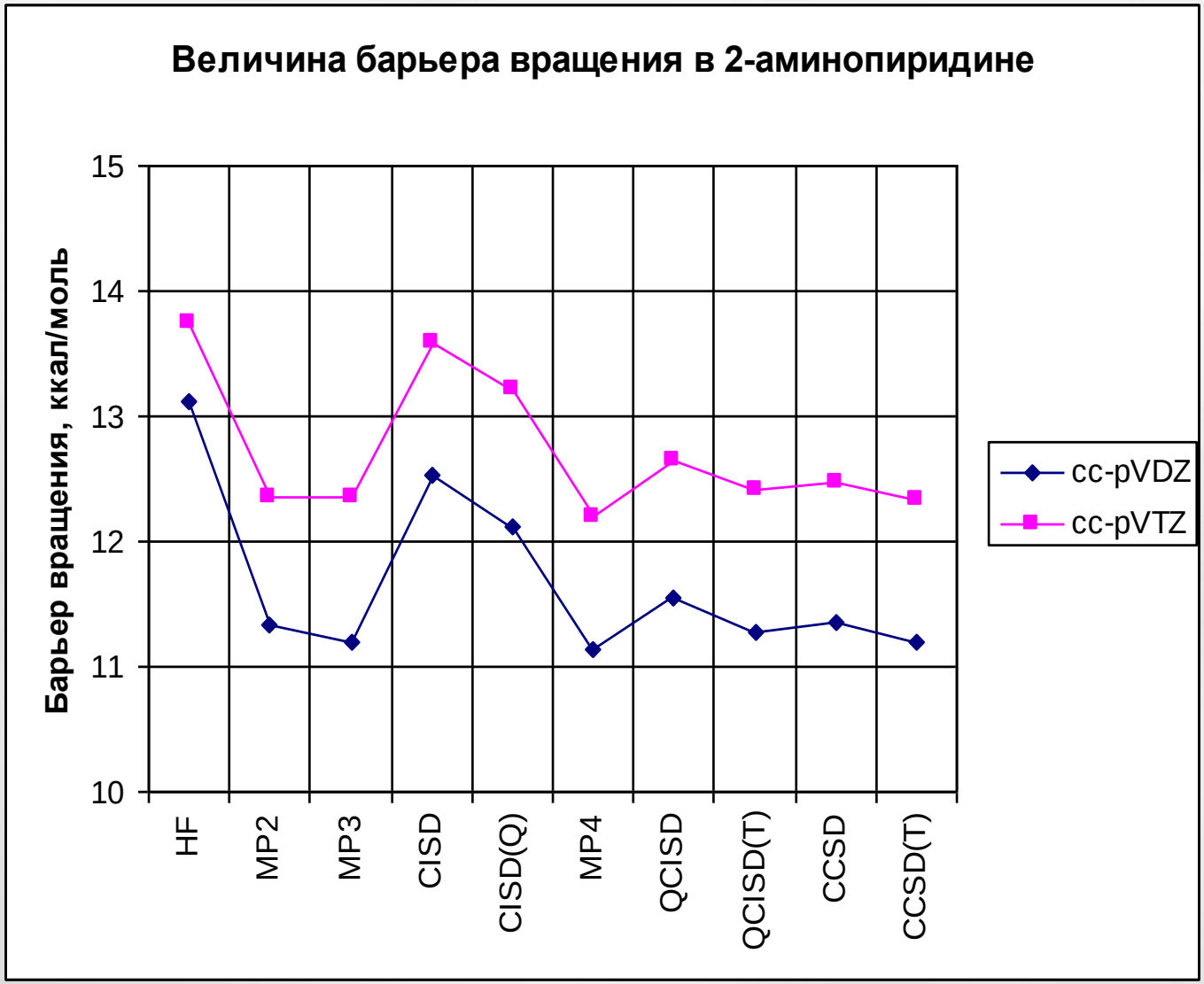
	HF	MP2	MP3	CISD	CISD(Q)
cc-pVDZ	13,108	11,340	11,194	12,522	12,111
cc-pVTZ	13,748	12,362	12,349	13,579	13,207

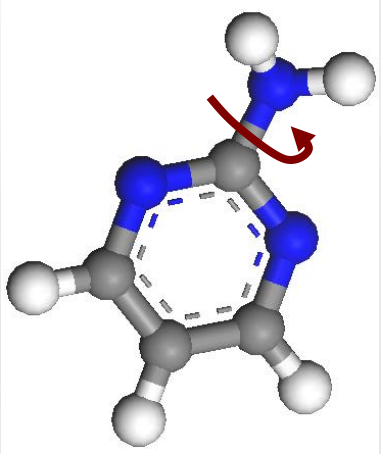


Quadratic configuration interaction

	MP4	QCISD	QCISD(T)	CCSD	CCSD(T)
cc-pVDZ	11,128	11,554	11,266	11,346	11,188
cc-pVTZ	12,204	12,644	12,406	12,468	12,329

Высота барьера вращения в 2-аминопиримидине, рассчитанная различными методами квантовой химии





Спасибо за внимание

- ***…Surely every medicine is an innovation; and he that will not apply new remedies, must expect new evils…***
- ***…Каждый медицинский метод есть инновация; а кто не хочет применять новые средства, должен ждать новых бед…***

Sir Francis Bacon (1561-1626)

OF INNOVATIONS