

Projektowanie związków
biologicznie czynnych **wykład 12**

Łukasz Berlicki

Projektowanie wspomagane komputerowo

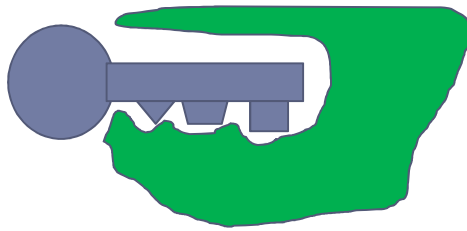
- ▶ **Ligand-based design** – QSAR i 3D-QSAR

- ▶ **Structure-based design** – projektowanie oparte na strukturze celu molekularnego



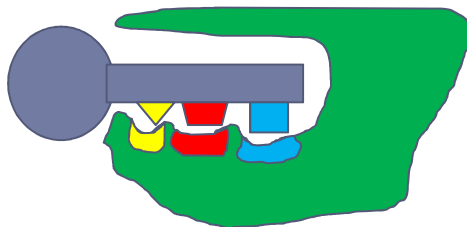
Klucz - Zamek

- ▶ Kształt liganda musi pasować do celu molekularnego jak klucz do zamka – efekty steryczne.



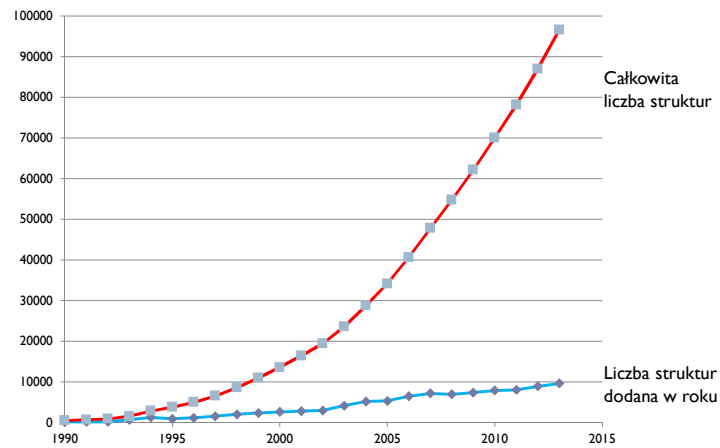
Klucz - Zamek

- ▶ Kształt liganda musi pasować do celu molekularnego jak klucz do zamka – **efekty steryczne**.
- ▶ Ligand musi tworzyć sieć oddziaływań z celem molekularnym – **efekty elektronowe**.



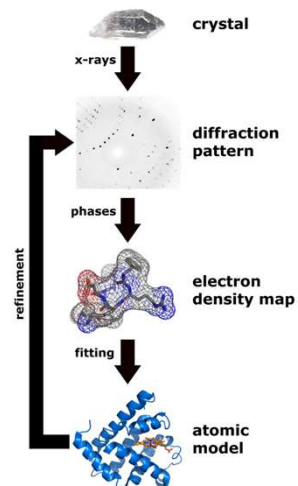
Struktury makromolekuł

- ▶ **Protein Data Bank** (pdb.org) – baza danych gromadząca struktury makromolekuł



Krystalografia białek

- ▶ Otrzymanie i oczyszczenie białka
- ▶ Krystalizacja
- ▶ Zebranie danych dyfrakcyjnych
- ▶ Otrzymanie mapy gęstości elektronowej
- ▶ Dopasowanie modelu

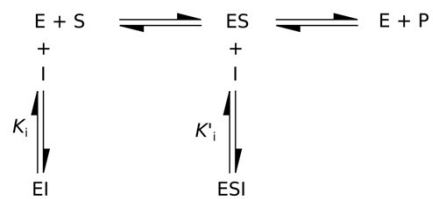


Stała inhibicji

- ▶ Stała inhibicji jest miarą proporcjonalną do energii wiązania liganda do białka

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = RT \ln K_i$$

- ▶ ΔG – energia swobodna
- ▶ ΔH – entalpia
- ▶ ΔS – entropia

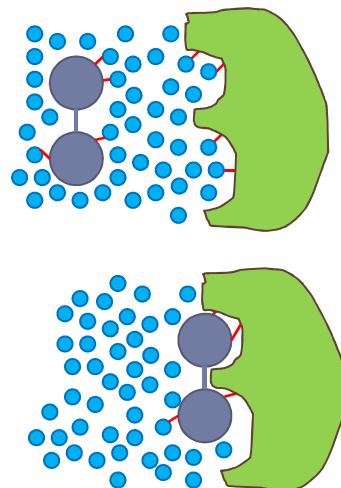


- ▶ K_i w zakresie 10^{-6} do 10^{-12} M, co odpowiada -4 do -17 kcal/mol



Wiązanie liganda

- ▶ Waznym elementem równowagi inhibitor – enzym jest rozpuszczalnik (woda), który także oddziałuje z ligandem.
- ▶ Oddziaływania ligand-białko powodują zmniejszenie entalpii układu.
- ▶ Wszystkie zerwane oddziaływania ligand-woda i woda-białko powinny być odtworzone w kompleksie ligand-białko.
- ▶ Wiązanie liganda przez białko powoduje zmianę entropii.

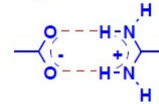
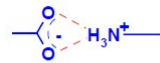


Oddziaływania niekowalencyjne

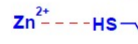
▶ Wiązania wodorowe



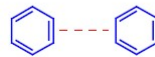
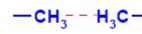
▶ Wiązania jonowe



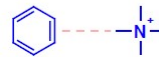
▶ Kompleksowanie jonów metali



▶ Oddziaływania hydrofobowe

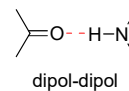
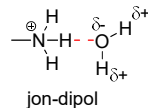
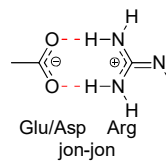
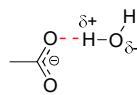
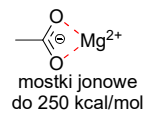
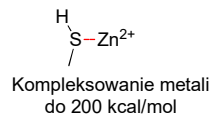


▶ Oddziaływania π-kation



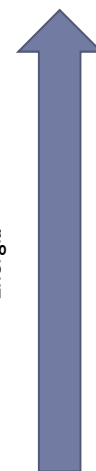
Wiązania elektrostatyczne – silne i średnie

$$E = \frac{q_1 q_2}{\epsilon_r r}$$



wiazania wodorowe
do 8 kcal/mol

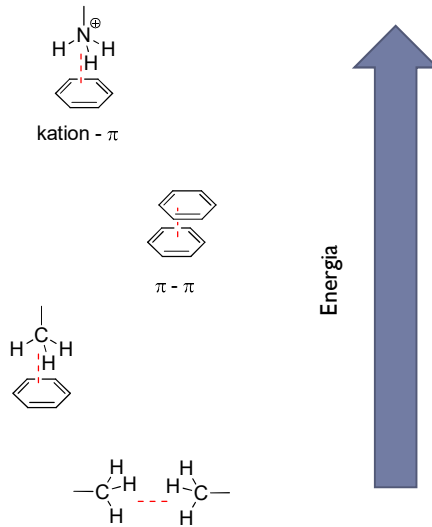
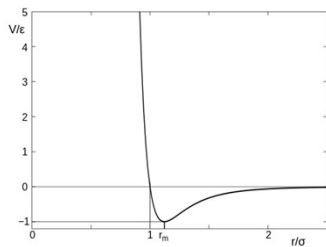
Energia



Oddziaływania hydrofobowe, van der Waalsa

- ▶ Oddziaływania hydrofobowe opisuje potencjał Lennarda-Jonesa

$$V_{LJ} = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right]$$

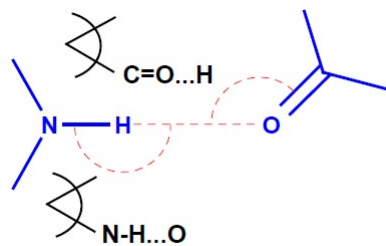


Energia



Wiązanie wodorowe

- ▶ Wiązanie wodorowe jest jednym z najważniejszych oddziaływań ligand-białko.
- ▶ Energia wiązania wodorowego silnie zależy od jego geometrii (odległości i kątów).
- ▶ Energia wiązania jest odwrotnie proporcjonalna do jego długości



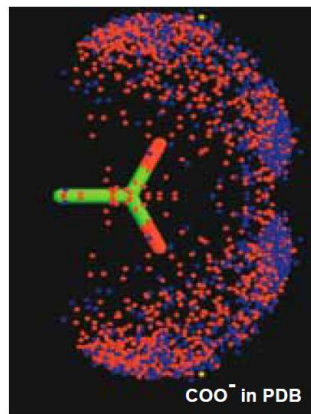
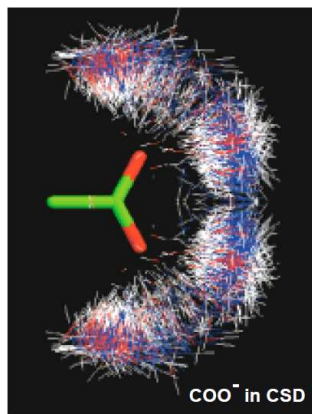
Odległość N-H...O	2.8-3.2 Å
Kąt N-H...O	150-180°
Kąt C=O...H	100-180°





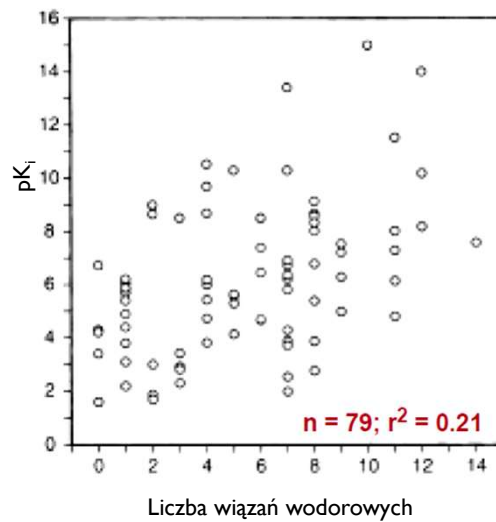
Wiązanie wodorowe

- ▶ Ułożenie donorów wiązania wodorowego wokół grupy karboksylowej wskazuje preferencje w jego geometrii.



Wiązanie wodorowe

- ▶ Wiązania wodorowe są kluczowym elementem oddziaływania ligand-białko i silnie wpływają na stałą inhibicji



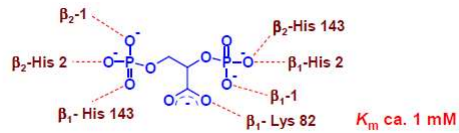
Wiązanie wodorowe

- ▶ Neutralne wiązania wodorowe: 2-6 kJ/mol, zwiększają wiązanie liganda 2-15 krotnie
- ▶ Jonowe wiązania wodorowe: do 20 kJ/mol, zwiększają wiązanie liganda do 3 000 razy

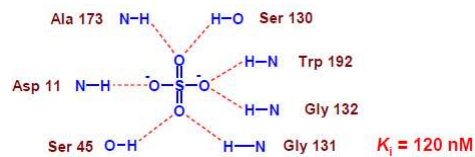


Wiązanie wodorowe - przykłady

- ▶ Wiązanie kwasu 2,3-difosfoglicerynowego do hemoglobiny

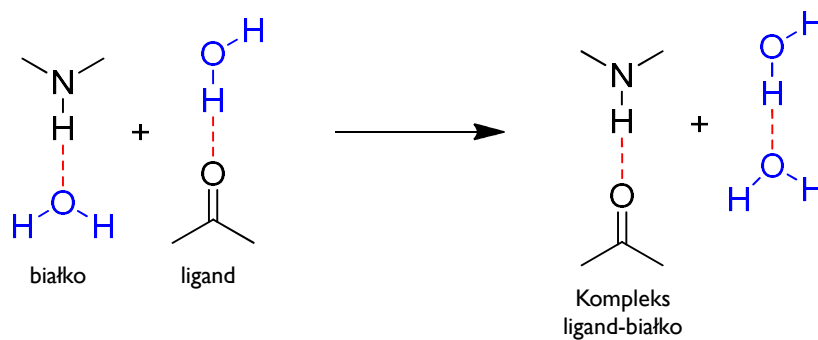


- ▶ Wiązanie siarczanu do SBP (*sulfate binding protein*)



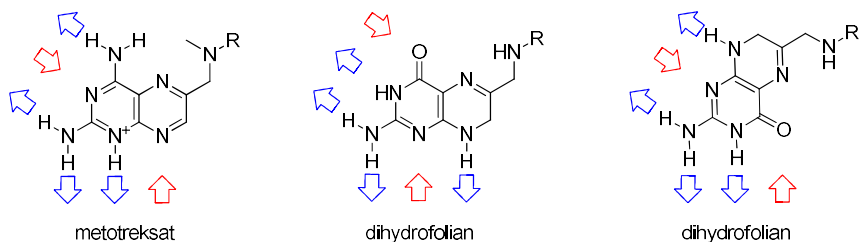
Wiązanie wodorowe

- ▶ Wszystkie donory i akceptory w roztworze wodnym tworzą wiązania wodorowe z rozpuszczalnikiem



Wiązanie wodorowe - przykład

- ▶ Wiązanie ligandów do reduktazy dihydrofolianu

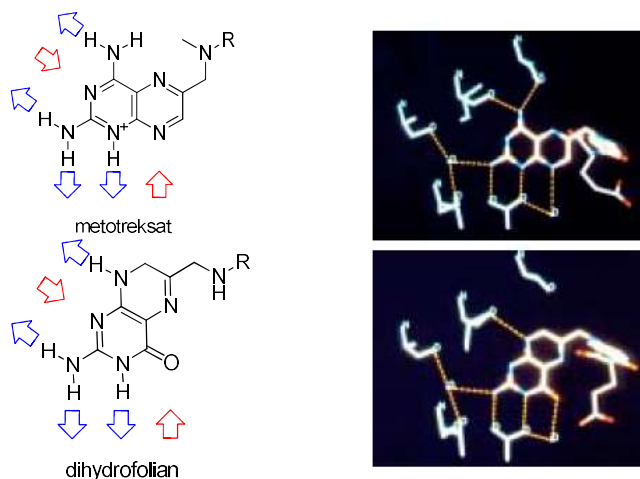


- ▶ Schemat wiązań wodorowych wskazuje, że dihydrofolian wiąże się do enzymu w innej konformacji niż metotrexat.



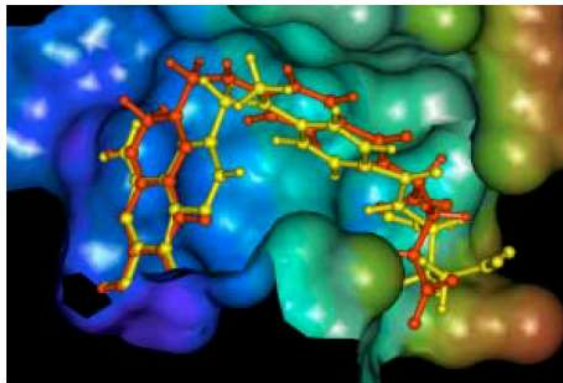
Wiązanie wodorowe - przykład

- ▶ Wiązanie ligandów do reduktazy dihydrofolianu



Wiązanie wodorowe - przykład

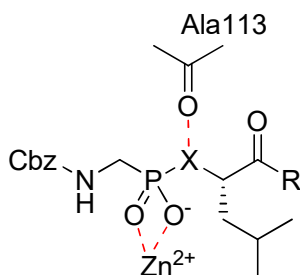
- ▶ Wiązanie ligandów do reduktazy dihydrofolianu



Wiązanie wodorowe

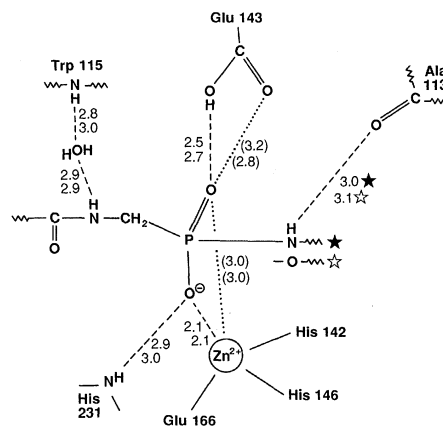
- ▶ Fosfonowe inhibitory termolizyny

R	-NH-	-O-	-CH ₂ -
-OH	0.76	660	1.4
-Gly-OH	0.27	230	0.3
-Leu-OH	0.01	9	0.01



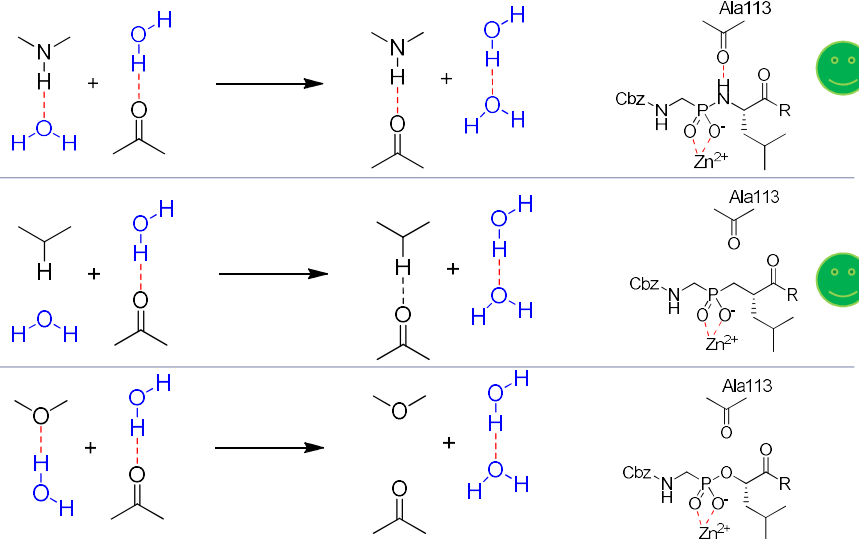
Wiązanie wodorowe

► Fosfonowe inhibitory termolizyny



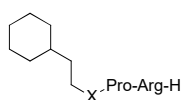
Struktura krystaliczna

Wiązanie wodorowe

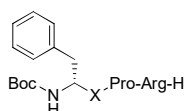


Wiązanie wodorowe

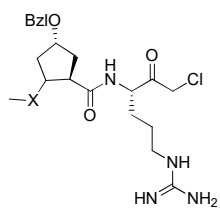
- ▶ Przykłady różnic stałych wiązania dla C=O i CH₂



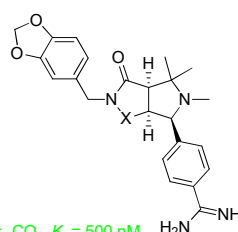
X = -CO-, IC₅₀ = 150 nM
X = -CH₂-, IC₅₀ = 56 000 nM



X = -CO-, IC₅₀ = 28 ng/ml
X = -CH₂-, IC₅₀ = 52 000 ng/ml



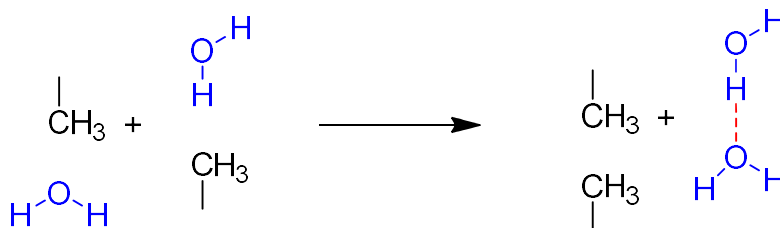
X = -CO-, IC₅₀ = 0.9 nM
X = -CH₂-, IC₅₀ = 8 600 nM



X = -CO-, K_i = 500 nM
X = -CH₂-, K_i = 2 000 nM

Lipofilowość

- ▶ Tworzenie wiązań wodorowych w rozpuszczalniku jest ważnym elementem efektu hydrofobowego, który wzmacnia oddziaływania hydrofobowe (van der Waalsa, π-π, kation-π)

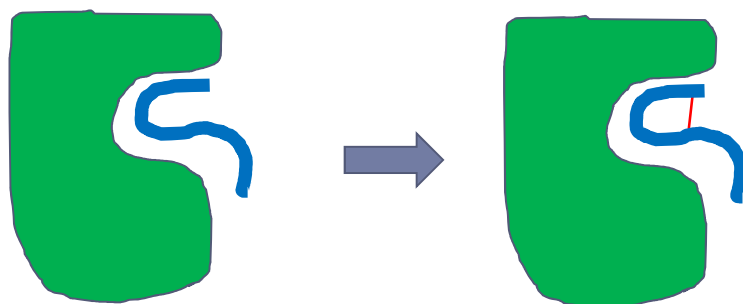


Entropia

- ▶ Wiązanie liganda powoduje zmniejszenie jego entropii w związku z:
 - ▶ Zmniejszeniem swobody ruchów translacyjnych (x, y, z)
 - ▶ Zmniejszeniem swobody rotacji (dookoła wiązań pojedynczych). Każde wiązanie pojedyncze (pomiędzy atomami niewodorowymi) w ligandzie zmniejsza energię wiązania o ok. 1.0 kcal/mol
- ↓
- ▶ Korzystne jest projektowanie związków o małej swobodzie konformacyjnej (sztywnych).

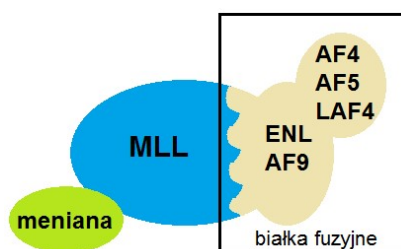
Zmniejszanie swobody konformacyjnej

- ▶ Jeżeli znana jest konformacja liganda w miejscu aktywnym korzystnie jest zaprojektować związki o usztywnionej strukturze i analogicznej konformacji.



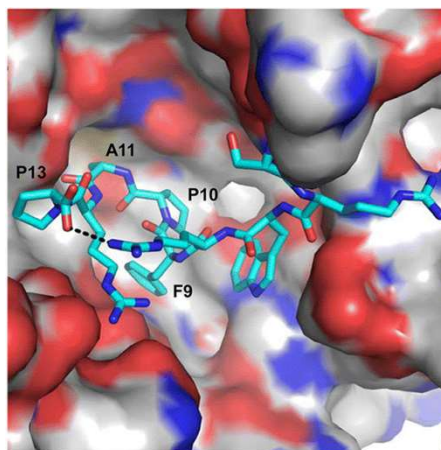
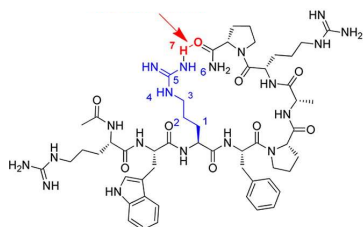
Menina-MLL

- ▶ Menina jest białkiem supresorowym nowotworu
- ▶ Menina specyficznie oddziałuje z białkiem MLL
- ▶ Zablokowanie oddziaływania menina-MLL powoduje zmniejszenie właściwości onkogennych białek fuzyjnych oddziałujących z MLL
- ▶ Inhibitory oddziaływania menina-MLL są potencjalnymi lekami na ostrą białaczkę.



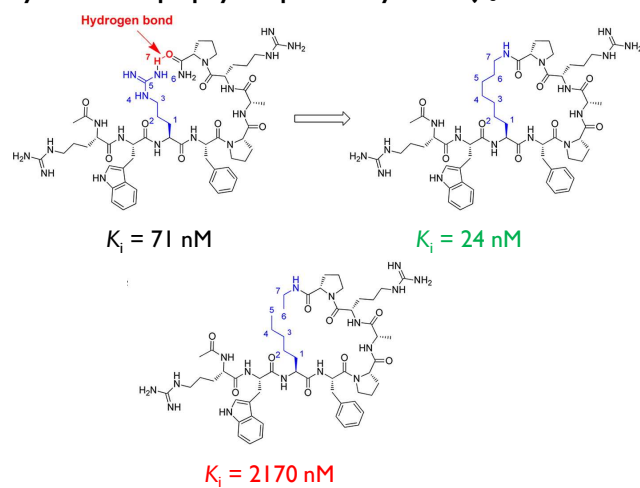
Menina-MLL

- ▶ Struktura krystaliczna fragmentu białka MLL z meniną pokazuje konformację aktywną tego peptydu.
- ▶ Reszta C-końcowa oddziałuje z łańcuchem bocznym arginy



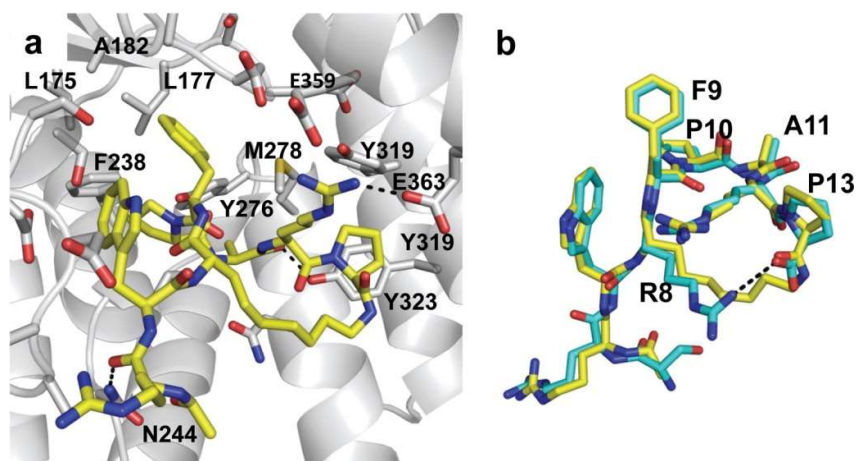
Menina-MLL

► Usztywnienie peptydu przez cyklizację



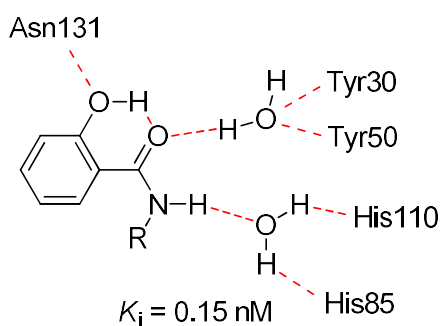
Menina-MLL

► Usztywnienie peptydu przez cyklizację



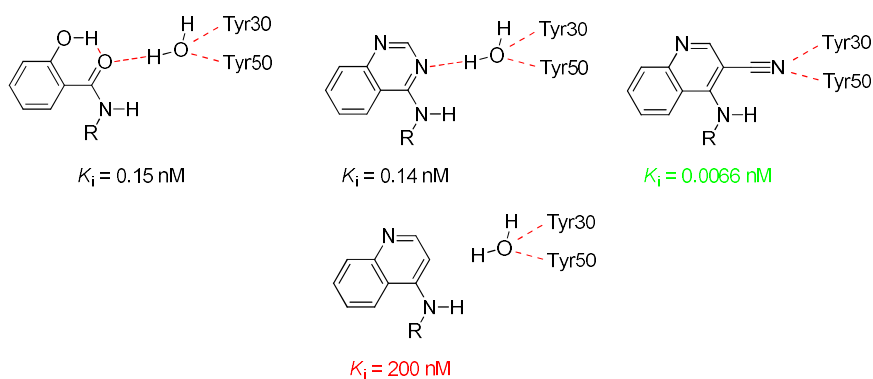
Cząsteczka wody w miejscu aktywnym

- ▶ Wprowadzenie do związku grupy funkcyjnej, która zastępuje cząsteczkę wody w miejscu aktywnym powoduje korzystny **efekt entalpowy** (zwiększenie energii oddziaływania) i **entropowy**.



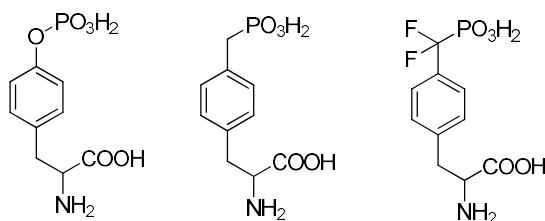
Cząsteczka wody w miejscu aktywnym

- ▶ Jeżeli nowowprowadzona grupa funkcyjna odtwarza oddziaływania zastąpionej cząsteczki wody, to otrzymamy związek o wyższej aktywności.



PTP (*protein tyrosine phosphatase*)

- ▶ Fosfataza tyrozyn białkowych (PTP, *protein tyrosine phosphatase*) – enzym kontrolujący przekazywanie sygnałów poprzez defosforylację reszt tyrozylowych białek.
- ▶ Inhibitory PTP IB mogą być efektywnymi lekami cukrzycy typu 2 i otyłości.

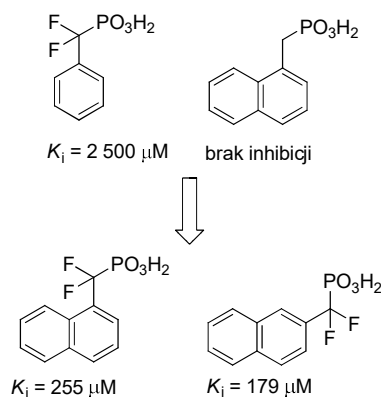
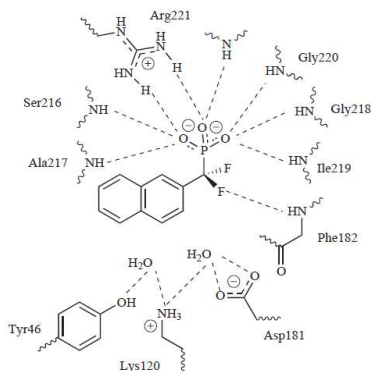


Podstawienia izosteryczne



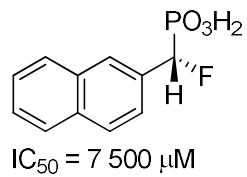
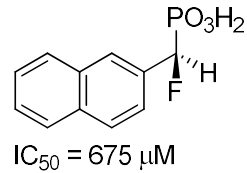
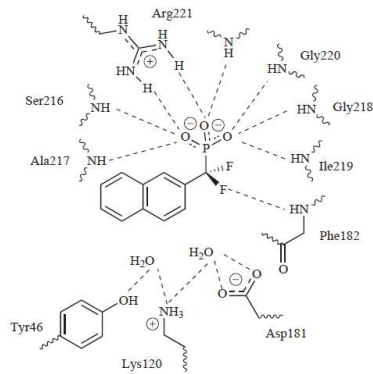
PTP (*protein tyrosine phosphatase*)

- ▶ Grupa fosfonowa jest wiązana przez 8 wiązań wodorowych
- ▶ Wiązanie wodorowe tworzy także jeden z atomów fluoru



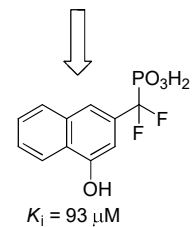
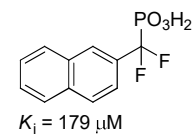
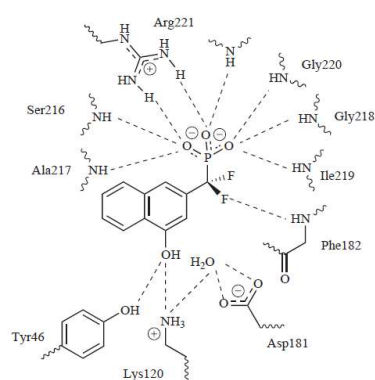
PTP (*protein tyrosine phosphatase*)

- ▶ Grupa fosfonowa jest wiązana przez 8 wiązań wodorowych
- ▶ Wiązanie wodorowe tworzy także jeden z atomów fluoru



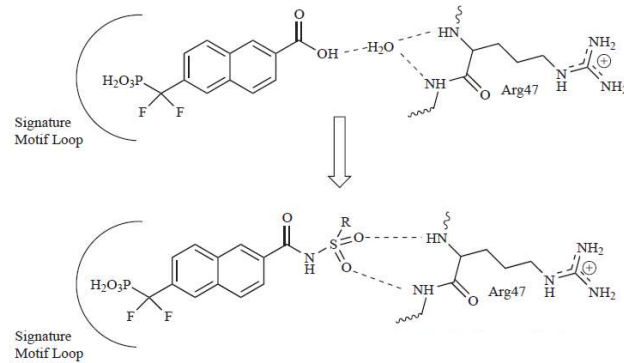
PTP (*protein tyrosine phosphatase*)

- ▶ Zastąpienie jednej cząsteczki wody związanej w miejscu aktywnym przez grupę $-\text{OH}$ inhibitora zwiększa jego aktywność.



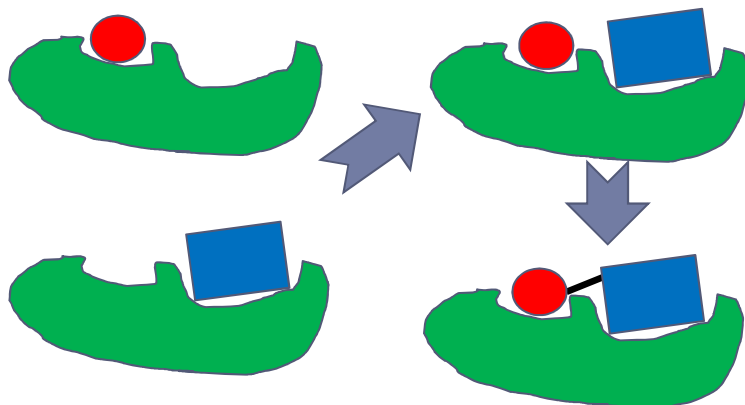
PTP (*protein tyrosine phosphatase*)

▶ Zastąpienie cząsteczki wody



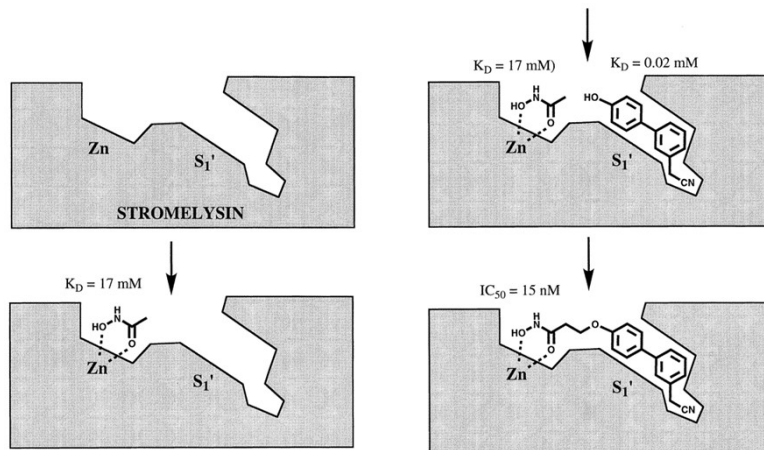
Konstruowanie inhibitorów z fragmentów

- ▶ *Fragment-based drug design* – łączenie fragmentów które oddziałują z różnymi częściami miejsca aktywnego prowadzi do związków o wysokiej aktywności.



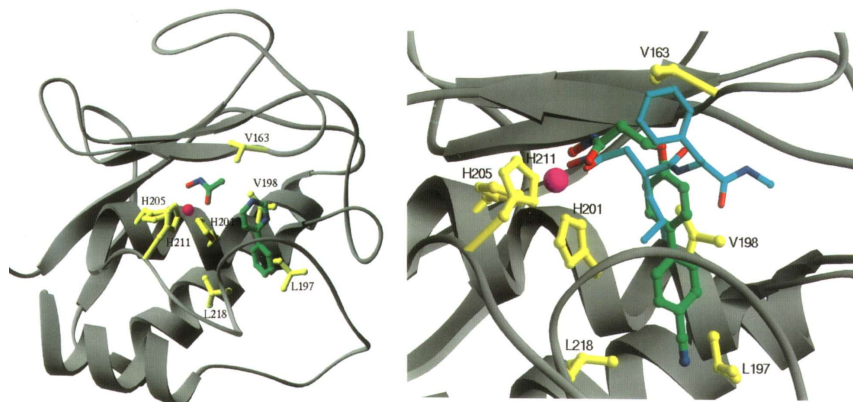
Inhibitory stromelizyny

- ▶ Stromelizyna jest metalo-zależną proteazą z jodem Zn^{2+} w miejscu aktywnym



Inhibitory stromelizyny

- ▶ Struktura kompleksu z 2 fragmentami (po lewej) i nowym inhibitorem (po prawej)



Podsumowanie

- ▶ Znajomość struktury celu molekularnego znacząco zwiększa efektywność projektowania ligandów
- ▶ Niezbędne jest dopasowanie pod względem strukturalnym jak i elektronowym
- ▶ Utworzenie specyficznego zestawu oddziaływań białko-inhibitor daje szansę na otrzymanie wysokoaktywnego i specyficznego inhibitora.

