

# Célpont-ligandum komplexek számítása fragmens alapú molekulatervezési eljárásokkal

*Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei*

**Horváth István**

Témavezető  
Dr. Habil. Hetényi Csaba  
*egyetemi docens*  
*PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet*



Szegedi Tudományegyetem  
Kémia Doktori Iskola  
Szeged  
2019.

## 1. Bevezetés

Az elmúlt fél évszázadban a számítógépes kémiai eljárások lehetővé tették, hogy proteinek és ligandumjaik szerkezetét és azok kölcsönhatásait atomi, vagy még részletesebb szinten gyorsan modellezzük. A molekulamechanika (MM) a vizsgált molekulákat az atomok szintjén kezeli, szemben a kvantummechanikai (QM) eljárásokkal, amelyek az elektronok és atommagok kölcsönhatásainak leírására is képesek. A komplexek kialakulását dokkoló eljárásokkal tudjuk modellezni és előrejelezni. Dokkolásnak azokat a MM-szintű módszereket nevezzük, amelyekkel megjósoljuk egy molekula preferált kötési helyét egy másik molekula felületén, miközben egy stabil komplex alakul ki. Az előnyben részesített kötőhely ismeretében - amely lehet kísérleti eredmény vagy korábbi számolás eredménye - pedig meghatározhatjuk a kötéseerősséget a két molekula között. A molekuláris dokkolást általában kisebb ligandum és nagyobb célpontmolekulák közötti kölcsönhatások vizsgálatára alkalmazzák.

Mivel a biomolekulák vizes közegben, oldott állapotban fejtik ki hatásukat és mivel a víz nem csak mint oldószer, hanem a célpont-ligandum rendszerek kölcsönhatásaiban mint közvetítő médium is szerepel, fontos a vizet is bevonni ezekbe a vizsgálatokba. A számítógépes molekuladinamika (MD) továbbfejlesztése lehetővé teszi a nagy biomolekuláris rendszerek gyors vizsgálatát vizes környezetükben. A biomolekuláris felületek és komplex interfészek hidratációs hálózatainak előrejelzésének új megközelítései szintén a molekuladinamikán alapulnak.

## 2. Célkitűzések

A jelen munkában bemutatott vizsgálataink célja volt:

1. Célpont-ligandum komplexek szerkezeti és termodinamikai tulajdonságainak vizsgálatára szabványosított eljárásokat kerestünk mind a célpont, mind a ligandum szerkezetének szétvágásával.
2. Közvetlen kapcsolatot kerestünk a célpont-ligandum komplexek szerkezete és termodinamikai tulajdonsága, a kötési entalpia között. Azért, hogy az ezzel kapcsolatos számolások reális időn belül befejeződjenek, a vizsgált rendszerek méretét lecsökkentettük, amit vágással, fragmentálással oldottunk meg. Kidolgoztunk egy szabványos protokollt, amely

a célpont-ligandum komplexnek a célpont ligandum körüli részét úgy vágja ki, hogy az interfészben elhelyezkedő vízmolekulákat is tartalmazza.

3. Egy olyan hibrid vízmodellt is kerestünk, amely megfelelő számú vízmolekulát tartalmaz a kivágott szerkezetben, így jó korrelációt nyújt a kísérleti eredményekkel összehasonlítva.

4. Célunk volt, hogy a kifejlesztett protokollt egy webszerveren bárki által elérhetővé tegyük.

5. Hisztonpeptid-komplexek szerkezetének meghatározása a ligandum szétvágásával, blind docking módszerrel a célpont beborításával és a kapott szerkezetek összeillesztésével.

6. A hidratációban részt vevő vízmolekulák hálózatainak szerkezetének kiszámolása és azok hőmérsékletfüggésének feltárása komplex interfészek és teljes fehérjefelszín esetében.

7. Próbáltunk értelmezést adni a vízszerkezet molekuláris dinamikai számításának sikerére vonatkozólag.

### **3. Alkalmazott módszerek**

A számolások során a vizsgált rendszerek, komplexek hidratációja volt az első lépés, ezt a MobyWat program segítségével végeztük el, amely molekuladinamikán alapul. Segítségével mind a felületi, mind az interfaciális explicit vizek pozícióit meg tudtuk határozni. A rendszerekre implicit vízmodellként a COSMO modellt használtuk.

A dokkolás blind docking módszerrel történt, mind a dokkolást, mind a képződéshő számítását a szegedi, debreceni, budapesti szuperszámítógépek valamelyikén végeztük el.

A képződéshőt a MOPAC programcsomag segítségével számítottuk, a blind docking eredményeit hétköznapi asztali számítógépeken dolgoztuk fel.

A webszerver egy felhőben futó Ubuntu Linux szerveren érhető el, a weboldal HTML- és PHP-alapú, a kivágott szerkezetet a java script alapú JSmol segítségével jelenítjük meg.

A szerkezeti konverziókat az Open Babel program végezte el.

A hiszton ligandum összekötését Java nyelven írt programmal automatizáltuk. A vízhálózatok számolását a MobyWat NetDraw módja végezte el, a vízhálózati gráf megjelenítésre a Gephi nevű programot használtuk.

## 4. Eredmények és értékelésük

### 4.1. A reakcióhő és a kötési entalpia közötti egyszerű faktor kiszámítása célpont-ligandum komplexekre

1. Kidolgoztunk egy új, fragmentáló eljárást, a Fragmentert, amelynek segítségével a molekulamechanikai szinten optimalizált fehérje-ligandum komplex-szerkezetek interfész régiója standardizált és automatizált módon extrahálható kvantummechanikai számításokhoz.
2. Extrahált interfész szerkezetek felhasználásával, szisztematikus vizsgálatok során kimutattuk, hogy a szemempirikus kvantumkémiai szinten számolt reakcióhők és a kísérleti fehérje-ligandum kötési entalpiaváltozások között a legjobb korrelációt egy hibrid vízmodell segítségével érhetjük el. Ezen új modellben a COSMO implicit vízmodellt és a korábban általunk publikált MobyWat módszerrel számolt explicit interfész vízmolekulákat ötvöztük.
3. Megállapítottuk azt a szükséges távolságot, amelyen belül explicit vízmolekulák és implicit vízmodell (ezek kombinációja egy hibrid vízmodell lett) segítségével magas korrelációt kaptunk a számolt képződéshő és a mért kötési entalpiaértékek között.
4. Kiszámítottunk egy skálázó faktort, amely a szemempirikus kvantumkémiai szinten számolt reakcióhők és a kísérleti fehérje-ligandum kötési entalpiaváltozások között egyszerű lineáris kapcsolatot teremt tengelymetszet alkalmazása nélkül. Ezáltal egy új, direkt kapcsolat jött létre a molekulaszerkezet és a kötési termodinamika területei között.
5. A fragmentáló protokoll, a hidratációs modell és a skálázó faktor automatikus, szabványosított eszköztárként használható gyógyszerjelöltek entalpiikus optimalizációjára.
6. Ezt a protokollt mindenki által szabadon elérhetővé tettük egy webszerveren.

### 4.2. Az FBD (Fragment Blind Docking) módszer

1. Kidolgoztuk és hisztonpeptid-komplexek felhasználásával teszteltük a fragment blind docking (FBD) algoritmust, amely egy új módszerben ötvözi a blind docking megközelítésünket és a fragmens dokkolás technikát.
2. Az FBD általános algoritmusán belül a célmolekulát a csomagolási lépés után betérítő peptid fragmensek összekötésére és összeforrasztására alkalmazható eljárást dolgoztunk ki, kódoltunk és kalibráltunk be.

#### *4.3. Biomolekulák komplexeinek felületi és interfaciális vízmolekulái által kialakított hálózatok vizsgálata molekuladinamikai (MD) számolások során*

1. Megmutattuk, hogy a MD-számolások során a hidratációs szerkezet meghatározásának hatékonysága és reprodukálhatósága főképp a hőmérséklettől függ.
2. A MobyWat program hatékonyan képes a MD-trajektóriák segítségével a hidratációs szerkezet előrejelzésére és a vízmolekulák alkotta hálózatok létrehozására.
3. Kiszámítottuk hidratációban részt vevő vízmolekulák hálózatainak szerkezetét és feltártuk azok hőmérsékletfüggését komplex interfészek és teljes fehérje felszín esetében. Hálózati megfontolások segítségével értelmezést adtunk a vízszerkezet molekuláris dinamikai számításának sikerére vonatkozólag.

### **5. Összefoglalás**

Az első témakör molekulatervezés volt, amelynek során az atomi felbontású szerkezetek ismerete elengedhetetlen a gyógyszerjelöltek (ligandumok) célpontjaikhoz történő kötési affinitásának előrejelzéséhez. A célpont-ligandum komplexek nagy mérete és hiányzó hidratációs szerkezete nehezítik a szimulálásukat kvantummechanikai (QM) szinten, amely gyakran szükségessé teszi az elektronikus hatások megfelelő kezelését is. Az új gyógyszerek QM-tervezésének elősegítése érdekében komplex interfészszerkezetek kivágására bevezettünk egy protokollt, amely meghatározott számú explicit vízmolekulával rendelkezik konkrét pozíciókban. A protokoll elősegítette a ligandumkötő entalpiák gyors számításának sorozatát szemiepirikus QM-szinten. A szisztematikus vizsgálatokhoz különféle ligandumokat választottunk ki, kezdve a kis aromás vegyületektől a háromezer molekulatömegű peptidhélixig. A különféle oldószermodellek összehasonlítása azt mutatta, hogy a pontosan előre jelzett pozíciójú vízmolekulák jelenléte a komplex interfészben jelentősen javította a kísérleti eredményekkel való egyezést. Egy egyszerű skálázó faktort kaptunk a QM-ban számolt képződéshő és a kötési entalpia értékek közti összefüggésre. Ez a faktor QM-számítások segítségével teremt kapcsolatot a molekuláris szerkezet és a kötés termodinamikája között. A kivágási protokoll, a hidratációs modell és a méretezési tényező eredményei automatizált és szabványosított eszközkészletként felhasználhatók a gyógyszerjelölt komplexek entalpiás optimalizálásához.

A második téma a hisztonolvasó komplexek szerkezetének meghatározása volt egy új módszerrel, mivel ez az információ kulcsfontosságú a hisztonkód feltárásához és új

gyógyszerek tervezéséhez. A lehetséges hiszton-komplex variációk nagy száma azonban igazi kihívást jelent a kísérleti szerkezet-meghatározási technikák számára. Az ilyen komplexek számolása nehéz a peptidek jelentős mérete és rugalmassága, valamint az olvasók sekély kötőfelületei miatt. Sőt, a kötőhelyek elhelyezkedése gyakran ismeretlen, ami blind docking keresést igényel a célpontfehérje teljes felületén. Az ezen a területen végzett munka felgyorsítása érdekében új megközelítést mutattunk be a célpontjaikhoz rögzített hiszton H3 peptid fark szerkezetének meghatározására.

Mindkét témához szorosan kötődik a bevezetésben már említett víz, annak szerepe mint oldószer, mint közvetítő és mint hálózatépítő a komplex szerkezetek kialakítása során. Az explicit oldószermodellekkel végzett számítások során a vízmolekulákat valós idejű skálán, egyenként tudjuk nyomon követni, így információkat szolgáltatnak mobilitásukról és megjósolhatjuk a biomolekuláris oldott anyagokkal és más vízpartnerekkel történő hálózatépítésüket. Itt megvizsgáltuk a molekuladinamikai szimulációk kulcsfontosságú paramétereinek hatását az ilyen jellegű előrejelzések minőségére, szisztematikusan vizsgáltuk a hőmérsékletet hatását.

## **6. Az értekezés alapját képező referált szakcikkek (MTMT-azonosító: 10052611)**

**Horváth, I.;** Jeszenői, N.; Bálint, M.; Paragi, G.; Hetényi, C., A fragmenting protocol with explicit hydration for calculation of binding enthalpies of target-ligand complexes at a quantum mechanical level. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 4384. IF<sub>2018</sub>: 4,183

Bálint, M.; **Horváth, I.;** Mészáros, N.; Hetényi, C., Towards unraveling the histone code by fragment blind docking. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 422. IF<sub>2018</sub>: 4,183

Jeszenői, N.; Schilli, G.; Bálint, M.; **Horváth, I.;** Hetényi, C., Analysis of the influence of simulation parameters on biomolecule-linked water networks. *J. Mol. Graph. Model.* **2018**, 82, 117-128. IF: 1,863

Az értekezés alapját képező referált szakcikkek összesített impakt faktora: 10,229

## **7. Az értekezés témájához kapcsolódó referált szakcikkek**

Bálint, M.; Jeszenői, N.; **Horváth, I.;** van der Spoel, D.; Hetényi, C., Systematic exploration of multiple drug binding sites. *J. Cheminform.* **2017**, 9, Article number: 65.

Jeszenői, N.; Bálint, M.; **Horváth, I.**; van der Spoel, D.; Hetényi, C., Exploration of interfacial hydration networks of target–ligand complexes. *J. Chem. Inf. Model.* **2016**, 56 (1), 148-158.

Jeszenői, N.; **Horváth, I.**; Bálint, M.; van der Spoel, D.; Hetényi, C., Mobility-based prediction of hydration structures of protein surfaces. *Bioinformatics.* **2015**, 31 (12), 1959-1965.

## **8. Az értekezés témájához kapcsolódó konferenciaközlemények**

Hetényi, C.; Bálint, M.; Schilli, G. ; **Horváth, I.**, Computational blind docking of ligands to drug targets: Methodology and applications (**2018**), 2nd Edition of Global Conference on Pharmaceutics and DrugDelivery Systems 2018, Róma, Olaszország.

Bálint, M.; Hetényi, C.; Schilli, G. ; **Horváth, I.**, Discovering multiple drug binding sites and modes with Wrap ‘n’ Shake (**2018**), 2nd Edition of Global Conference on Pharmaceutics and DrugDelivery Systems, Róma, Olaszország.

Mészáros, N.; **Horváth, I.**; Bálint, M.; Hetényi, C., Unraveling the histone code by fragment blind docking (**2017**), ECBS 2017 5th European Chemical Biology Symposium, Budapest, Magyarország.

Hetényi, C.; Bálint, M.; Jeszenői, N.; **Horváth, I.**, Improvements of computational optimization of drug-target interactions, 93 p. (**2017**), Global Conference on Pharmaceutics and Drug Delivery Systems (PDDS 2017), Valencia, Spanyolország.

Jeszenői, N.; Bálint, M.; **Horváth, I.**; Hetényi, C., Komplex szerkezetek vízhálózatai (**2016**) Előadás, KeMoMo–QSAR Szimpózium (**2016**), Az MKE Szerves- és Gyógyszerkémiai Szakosztályának QSAR és Modellezési Szakcsoportja és az MTA Szegedi Akadémiai Bizottságának Kemometria és Molekulamodellezés Munkabizottsága által szervezett kétnapos szimpózium, Miskolc, Magyarország.

Jeszenői, N.; Ábrahám, I.; Bálint, M.; **Horváth, I.**; Hetényi, C., Az ösztrogén receptor alfa nem- klasszikus ösztrogén hatásokért felelős kötőhelyének azonosítása: in silico szerkezeti biokémiai vizsgálatok (**2016**), III. Magyar Neuroendokrin Szimpózium, Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XXVI. Kongresszusának szatellit rendezvénye, Szeged, Magyarország.

Hetényi, C.; Jeszenői, N.; Bálint, M.; **Horváth, I.**; Lopata, A. (szerk.) Fehérjék hidrátszerkezete: modellezem vagy mérjem? (2015), Előadás, KeMoMo–QSAR Szimpózium.

### 9. Egyéb közlemények

Bálint, M.; Jeszenői, N.; **Horváth, I.**; Ábrahám, M. I.; Hetényi, C., Dynamic changes in binding interaction networks of sex steroids establish their non-classical effects. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, Article number: 14847.

Hetenyi, C.; Jeszenoi, N.; Balint, M.; **Horvath, I.**, Answers to current challenges in target-based drug design, In: Laszlo, Gelencser; Zoltan, Horvath (szerk.) (2016), BJMT Conference of Applied Mathematics 2016: Book of Abstracts.

Solymosi, F.; Bugyi, L.; Oszkó, A.; Horváth, I., Generation and Reactions of CH<sub>2</sub> and C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> Species on Mo<sub>2</sub>C/Mo(111). *J. Catal.* **1999**, *1*, 160-169.