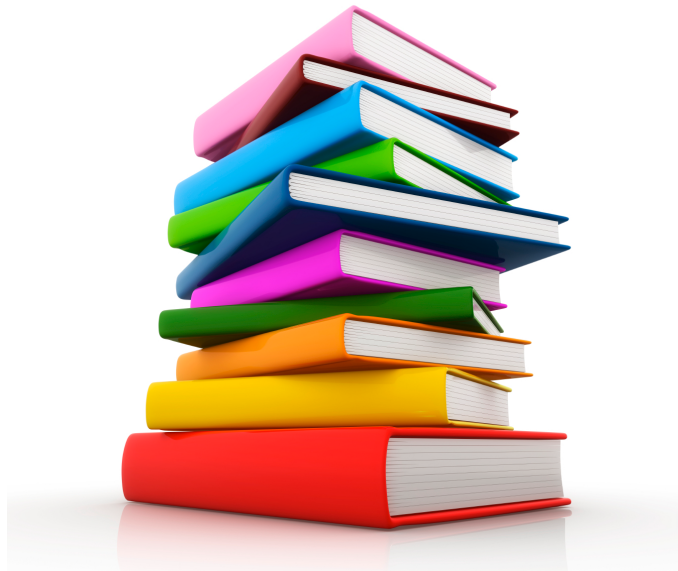




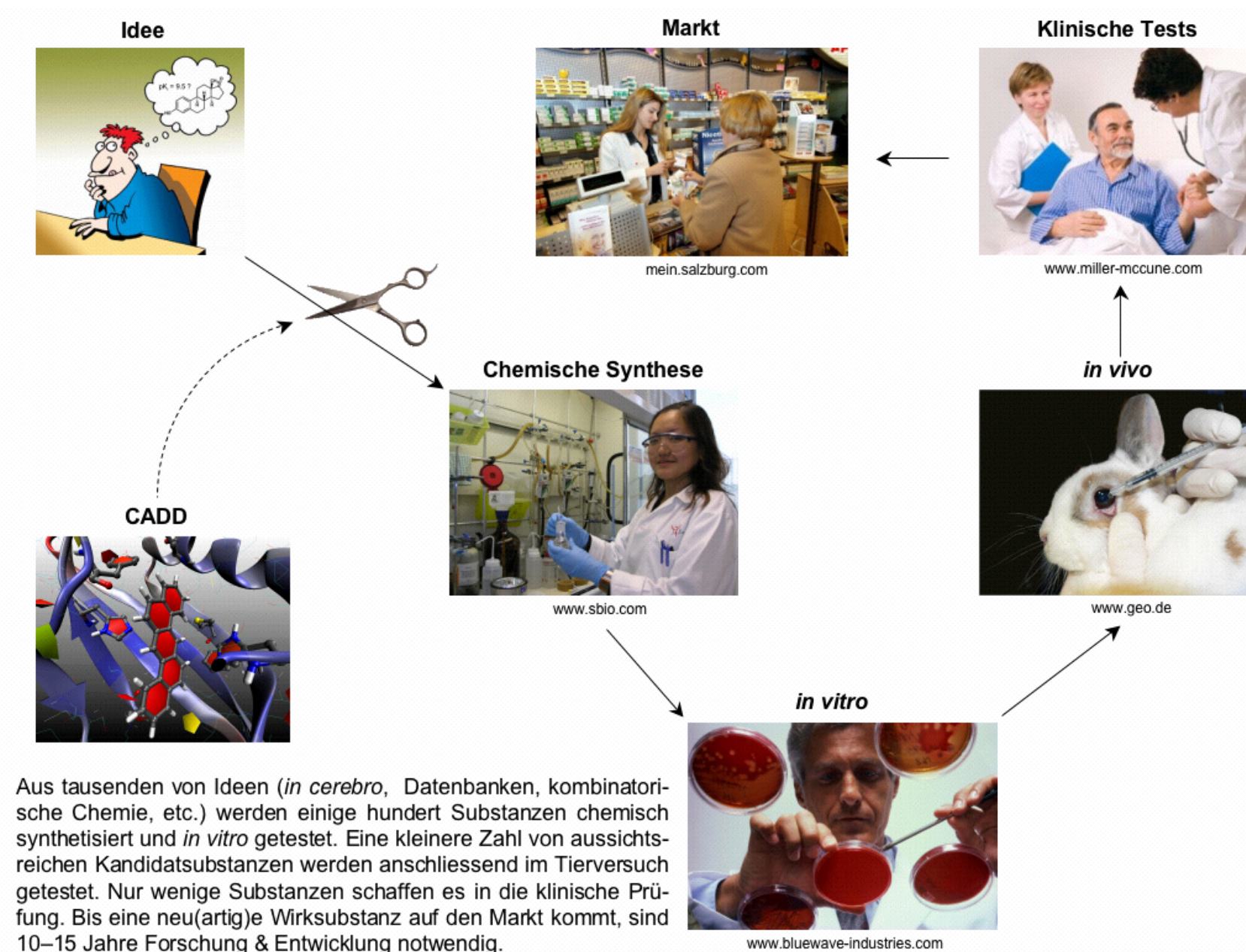
Repetitorium



<http://cliparts.co/pile-of-books-cartoon>



Molecular Modeling: Computergestützte Verfahren in der modernen Arzneistoffentwicklung





nobelprize.org

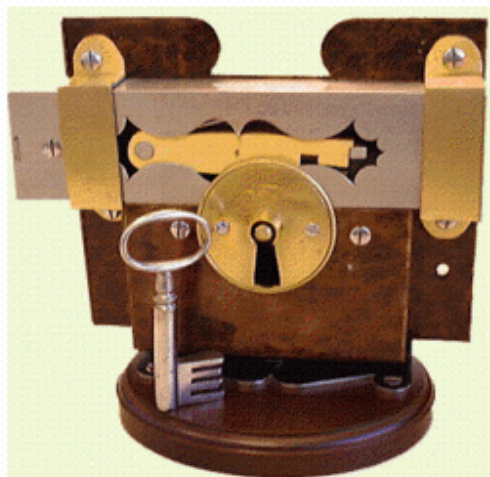
Schloss-Schlüssel-Prinzip (1894)

Emil Fischer (1852–1919)

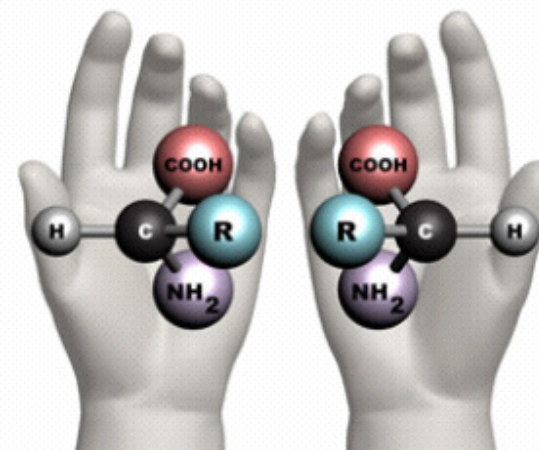
1902: Nobelpreis für Chemie



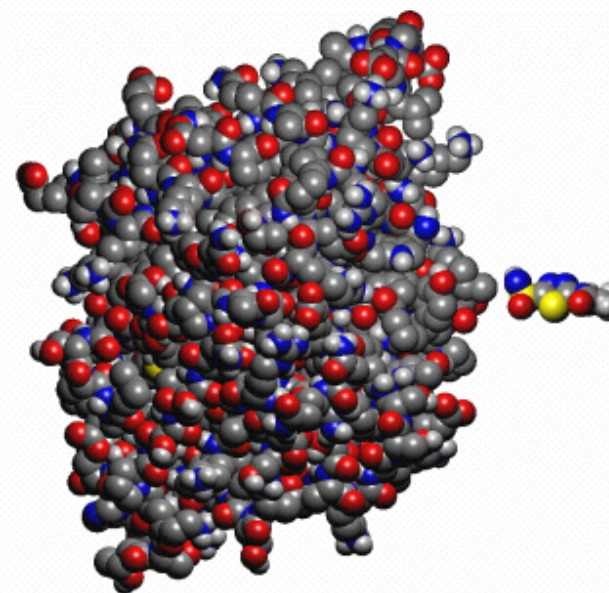
muarchives.missouri.edu



oldlockandkeyco.co.uk



enantiomorphie.blogspot.com



Carboanhydrase (Schloss) + Acetazolamid (Schlüssel)

“Um ein Bild zu gebrauchen, will ich sagen, dass Enzym und Glykosid zueinander passen müssen, wie Schloss und Schlüssel, um eine chemische Wirkung aufeinander ausüben zu können.”

Emil Fischer (1894)



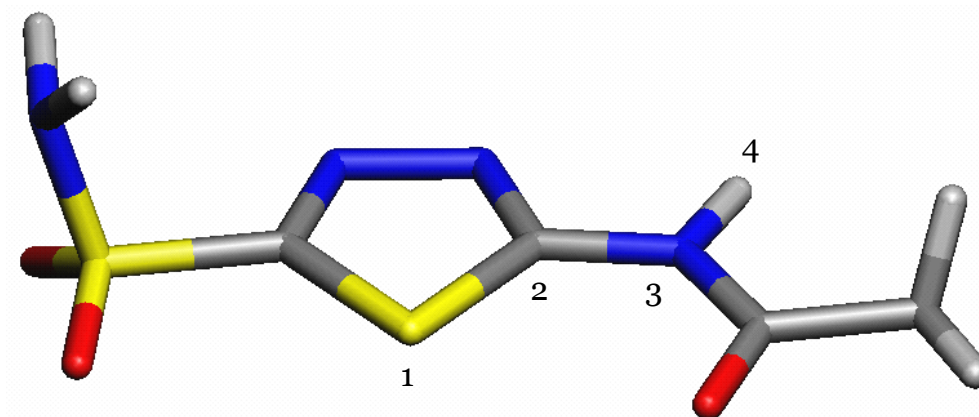
Das Kraftfeld (force field)

$$\begin{aligned} E_{total} = & \sum_{bonds} K_r (r - r_{eq})^2 + \sum_{angles} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{torsions} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \\ & \sum_{nb\ pairs} \frac{q_i \cdot q_j}{4 \pi \epsilon_0 D(r) r_{ij}} + \sum_{nb\ pairs} \left(\frac{A}{r_{ij}^{12}} - \frac{B}{r_{ij}^6} \right) + \\ & \sum_{H\ bonds} \left(\frac{C}{r_{ij}^{12}} - \frac{D}{r_{ij}^{10}} \right) \cdot \cos^2(\theta_{Don-H \cdots Acc}) \cdot \cos^n(\omega_{H \cdots Acc-LP}) + \\ & \sum_{metal\ pairs} \frac{q_i^{CT} \cdot q_j^{CT}}{4 \pi \epsilon_0 D(r) r_{ij}} + \sum_{metal\ pairs} \left(\frac{E}{r_{ij}^{12}} - \frac{F}{r_{ij}^{10}} \right) + \\ & (E_{MC} + E_{LFS}) \cdot \prod_{angles} \cos^2(\Psi_{Lig-Met-Lig'} - \Psi_{eq}) \cdot \frac{1}{n} \sum_{ligands} \cos^n(\omega_{Met \cdots Lig-LP}) \end{aligned}$$

Die Kraftfeldgleichung erstellt die Beziehung zwischen Struktur und Energie



Gebundene und nicht-gebundene Wechselwirkungen



Gebundene Wechselwirkungen

- 1–2: Bindungslängen
- 1–3: Bindungswinkel
- 1–4: Torsionswinkel

Total $\approx 3.5 \times \text{Anzahl Atome}$

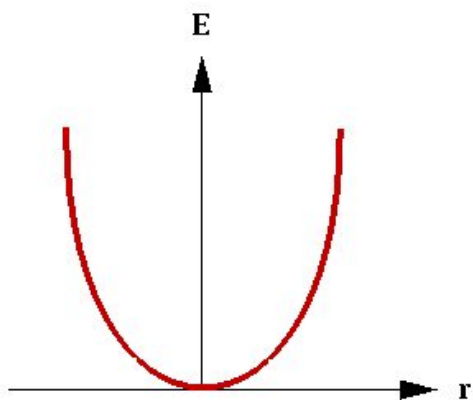
Nicht-gebundene Wechselwirkungen

- Elektrostatische WW
- van der Waals Kräfte
- Wasserstoffbrücken
- WW mit Metallzentren
- Dipol–Dipol-WW
- Polarisierungseffekte

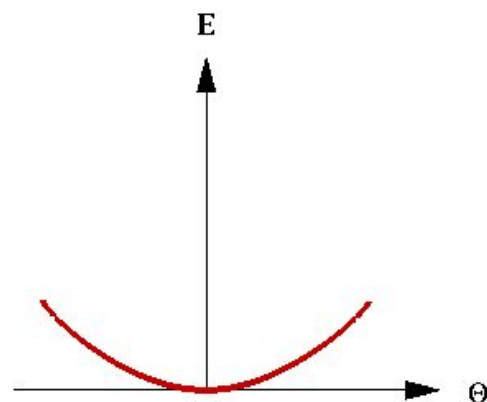
Total $\approx 0.5 \times n \times (n-1)$; $n = \text{Anzahl Atome}$



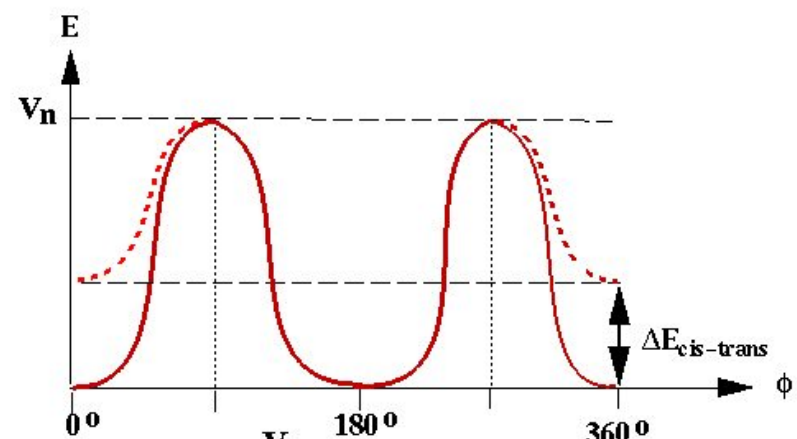
Gebundene und nicht-gebundene Wechselwirkungsterme



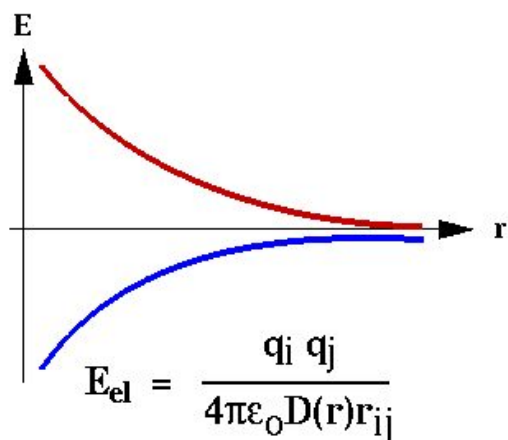
$$E_{12} = K_r (r - r_0)^2$$



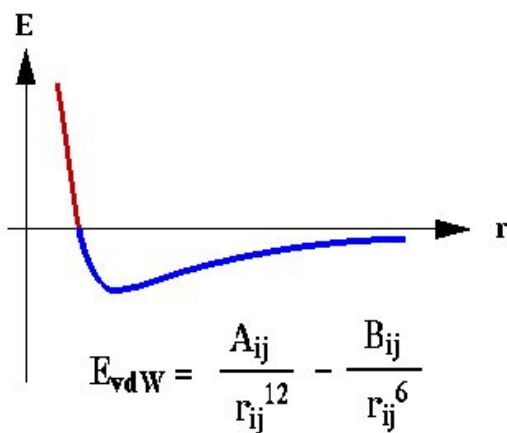
$$E_{13} = K_\Theta (\Theta - \Theta_0)^2$$



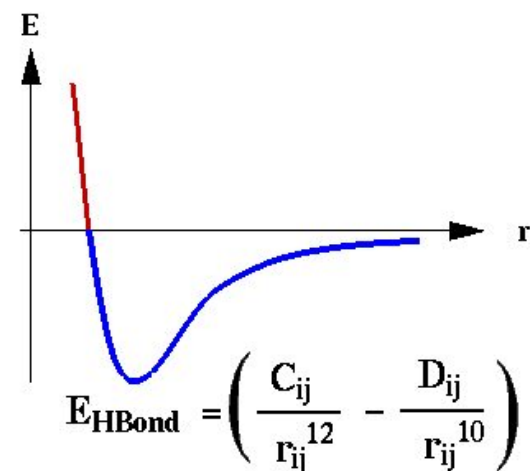
$$E_{14} = \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)]$$
$$E_{14} = \frac{V_2}{2} [1 + \cos(2\phi - \gamma)] + \frac{V_1}{2} [1 + \cos(\phi - \gamma)]$$



$$E_{el} = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 D(r) r_{ij}}$$



$$E_{vdW} = \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6}$$



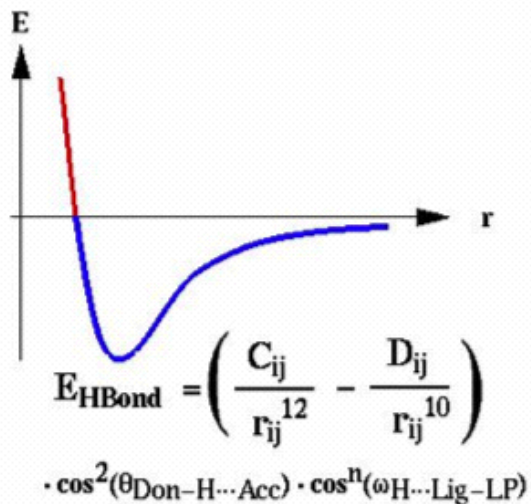
$$E_{HBond} = \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right)$$

$$\cdot \cos^2(\theta_{Don-H \cdots Acc}) \cdot \cos^n(\omega_{H \cdots Lig-LP})$$



Wasserstoffbrücken

- der “kovalente” Anteil wird mit einem 12/10-Lennard–Jones-Potential berechnet
- die Linearität mit einem $\cos^2$ -Term
- die Direktionalität mit einem $\cos^n$ -Term ($n = 2,4$)

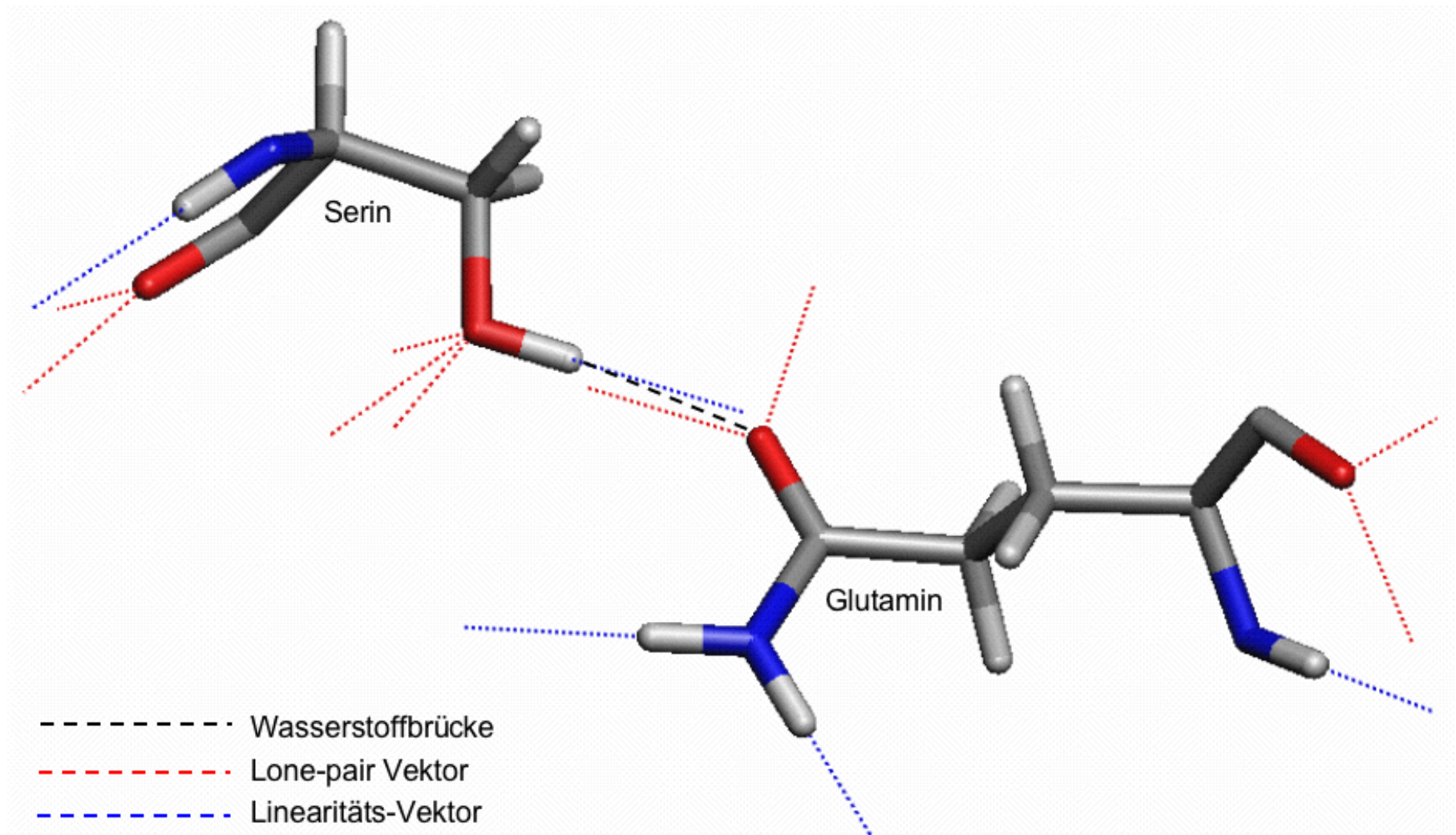


12/10-Energien

Typ	Optimaler H⋯Akzeptor-Abstand [in Å]	Energie [in kcal/mol]
O-H⋯O	1.79	−4.95
O-H⋯N	1.89	−4.65
O-H⋯S	2.54	−1.75
N-H⋯O	1.89	−4.10
N-H⋯N	1.99	−3.50
N-H⋯S	2.64	−1.50
S-H⋯O	2.09	−2.30
S-H⋯N	2.19	−2.00
S-H⋯S	2.84	−1.20



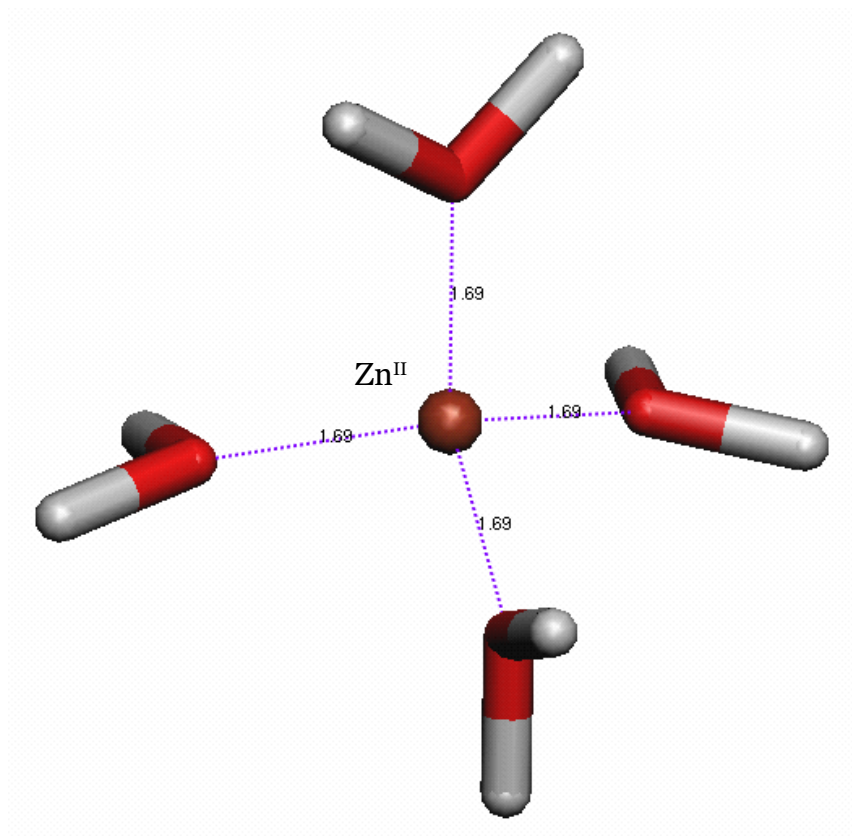
Wasserstoffbrücken



Wasserstoffbrücken sind gerichtete Kräfte



Metall–Ligand-Bindungen: kovalent oder ionisch?

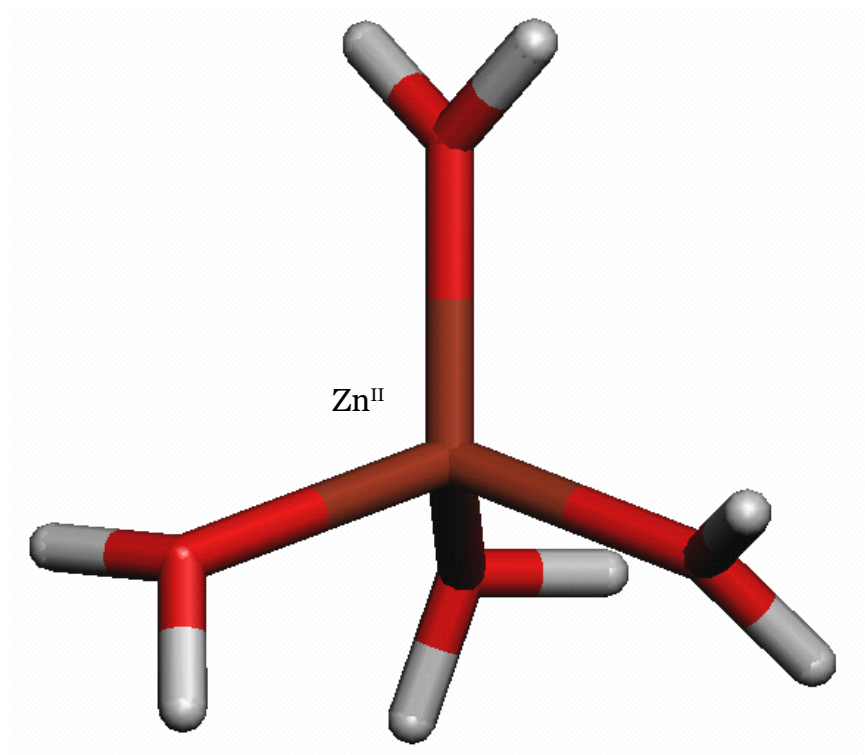


Metall-Ligand-Bindung = ionisch

$$E_{\text{Lig-Met}} = E_{\text{elektrostatisch}} + E_{\text{van der Waals}}$$

→ unrealistisch kurze Bindungen

Experiment: $d_{\text{Zn-O}} = 1.91\text{--}2.04 \text{ \AA}$



Metall-Ligand-Bindung = kovalent

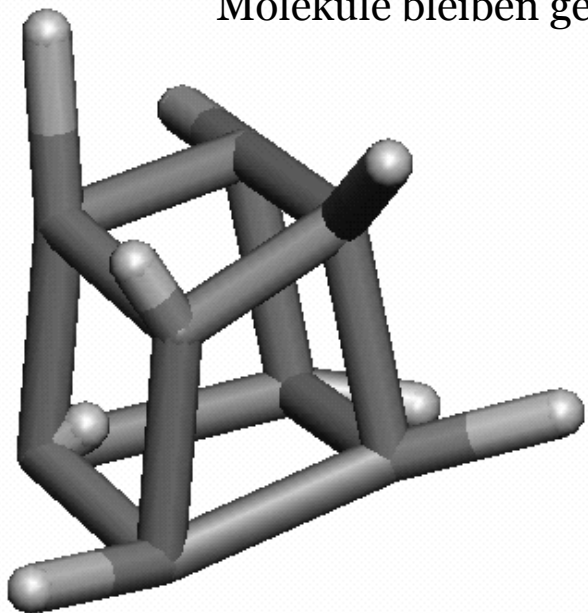
$$E_{\text{Lig-Met}} = E_{1-2} + E_{1-3} + E_{1-4}$$

→ keine Simulation, da Werte vorgegeben

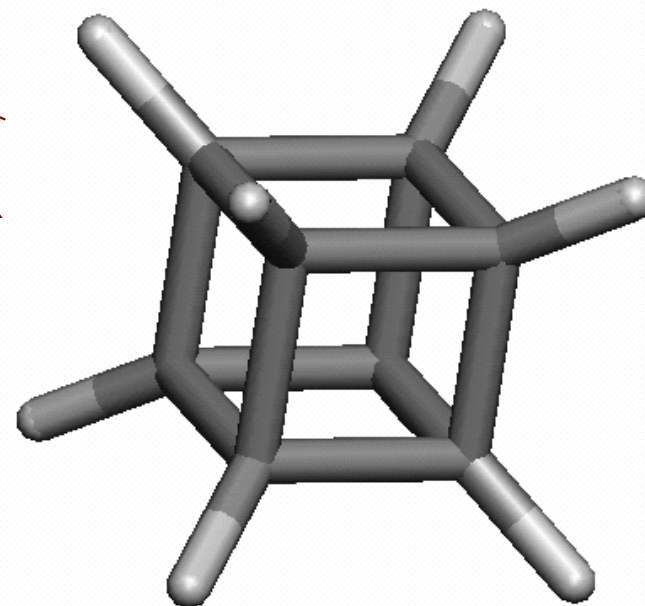


Struktur und Energie eines Moleküls sind direkt verbunden

Moleküle bleiben gern „cool“ - in einem tiefen energetischen Zustand B)



Energieminimierung
Strukturoptimierung



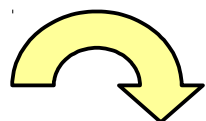
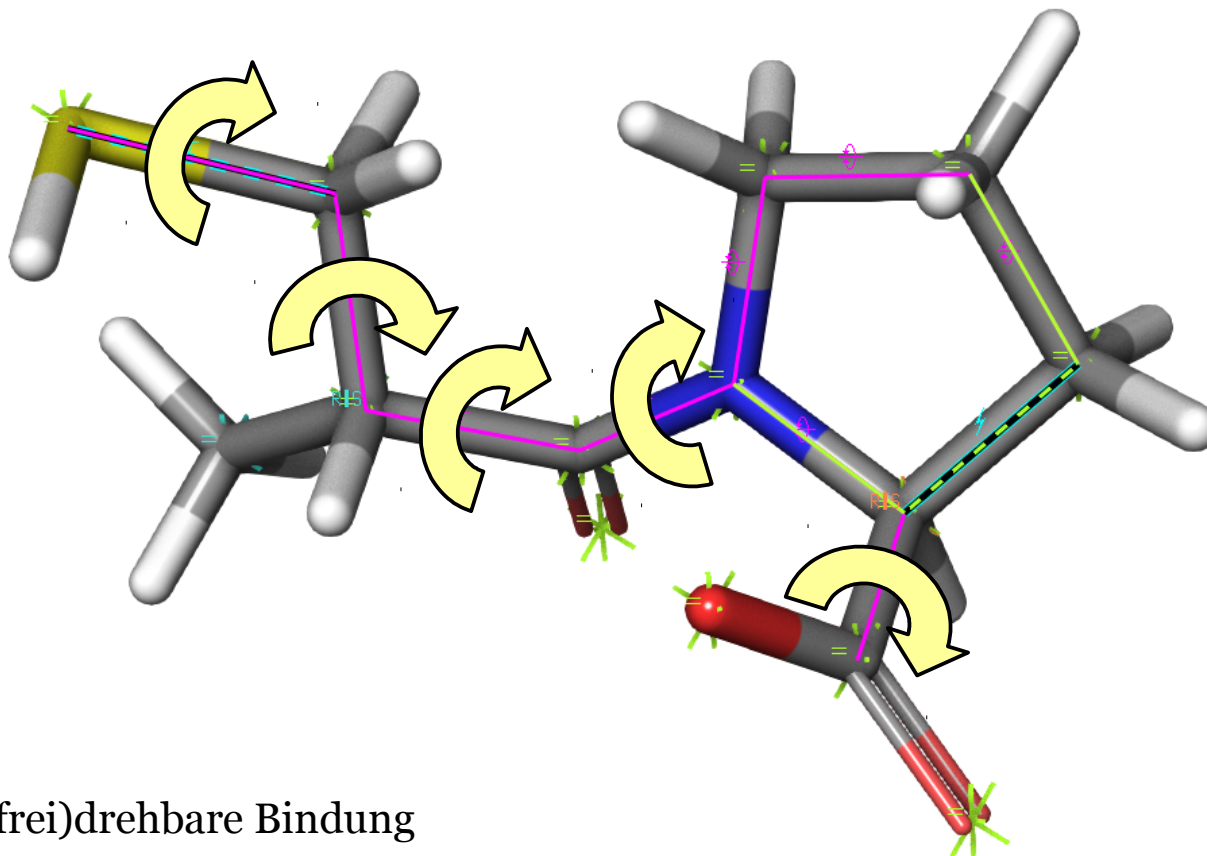
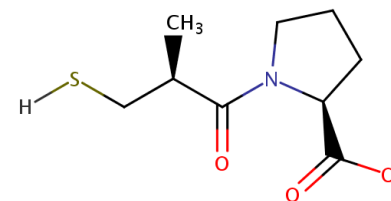
Definition: Hohe Energie = Instabiles System

Die Energie von Molekülen lässt sich mit Molekülmechanikrechnungen (Kraftfeld-Rechnungen, molecular-mechanics calculations) minimieren. Dabei wird deren Struktur optimiert.

Tiefe Energie = Stabiles System



Einfache Konformationssuche



= (frei)drehbare Bindung

$$N_{\text{Konf.}} = (360^\circ/30^\circ)^5 = 12 \cdot 12 \cdot 12 \cdot 12 \cdot 12 = 248\,832$$



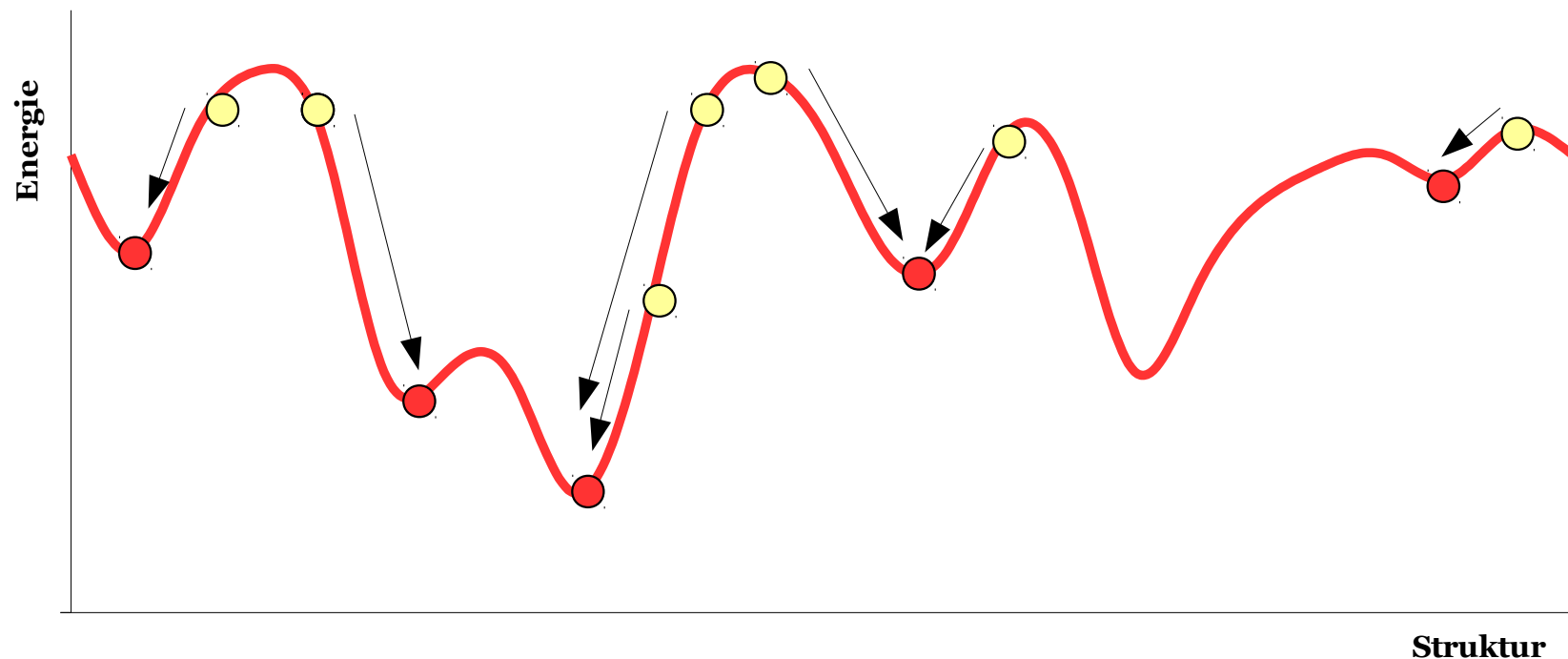
Konformationssuche

Zweck: Auffinden von energetisch günstigen Zuständen (→ globales Minimum und lokale Minima) eines Moleküls oder eines kleineren Systems

Ablauf:

- 1) Generieren von der Startkonformation (gelb; zufällig, systematisch, rationell...)
- 2) Strukturoptimierung zum nächsten Minimum (rot; Gradient Methoden)

Die Zeitfolge ist nicht wichtig, nur ob das globale Minimum und alle relevante lokale Minima gefunden wurden

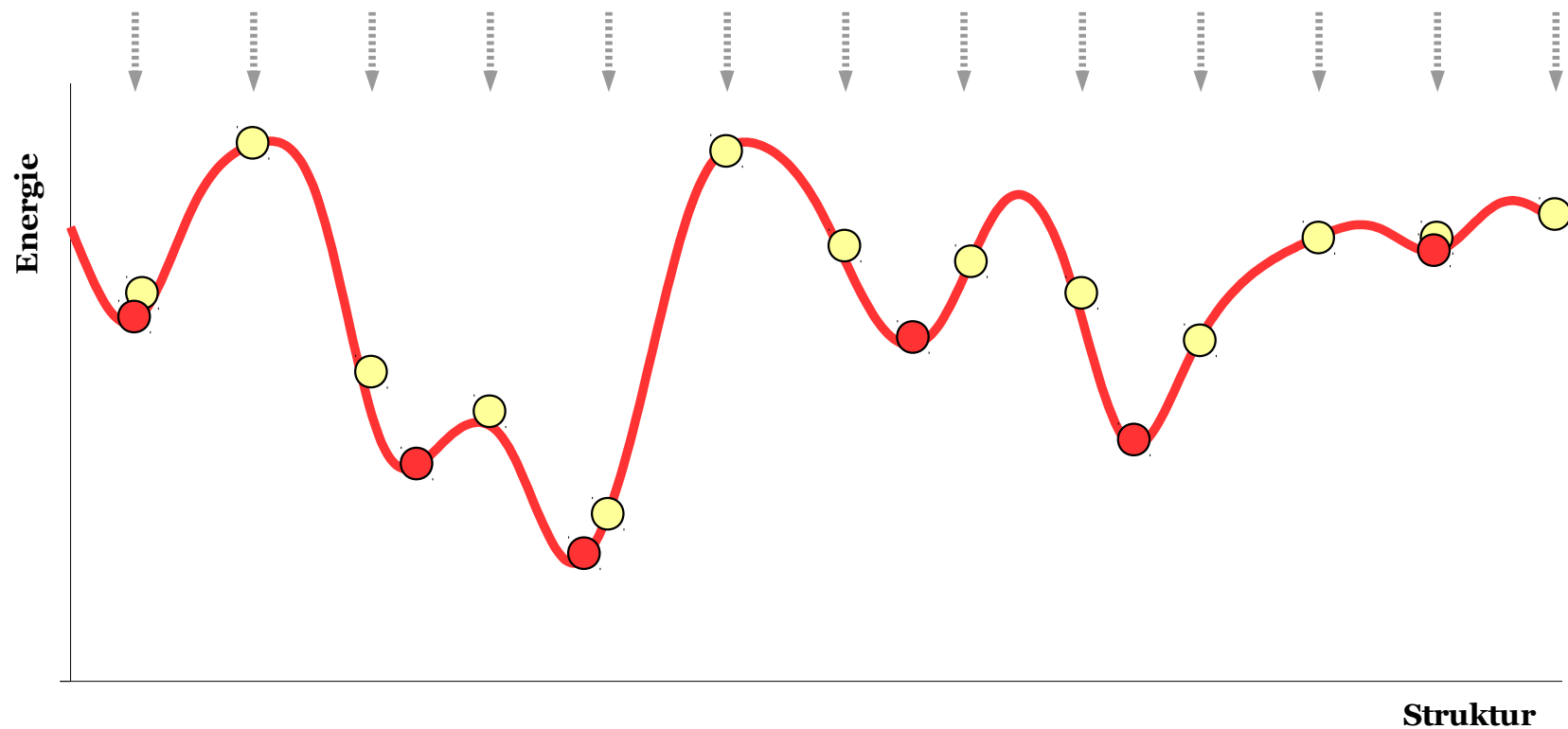




Systematische Konformationssuche

- fähig alle Minima (globales + alle lokale) zu finden
- alle Freiheitsgrade **n** (Torsionswinkeln → frei-drehbare Bindungen) werden systematisch variiert (Kleinmoleküle: **n** < 10; Proteine **n** > 500 !!! → n/a)
- nur für kleine Systeme: z.B. Molekül mit 5 frei-drehbaren Bindungen, Schrittweite 30°, N = $(360^\circ/30^\circ)^5 = 12^5 = 248\,832$ Konformere

$$N_{\text{Konf.}} = (360^\circ/\text{Schrittweite})^n$$

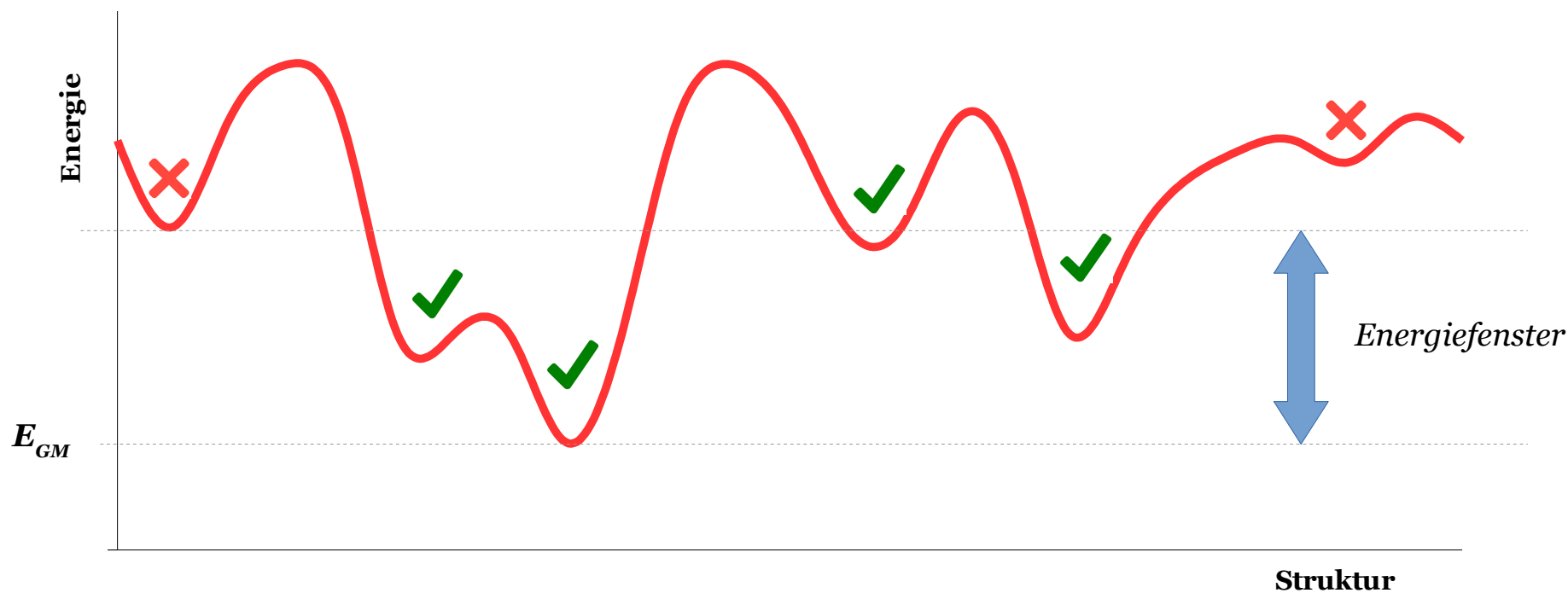
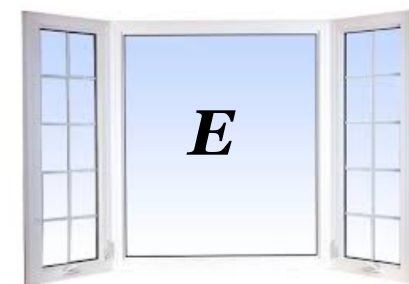




Energiefenster

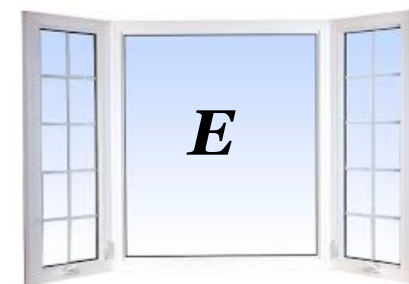
• (energy window)

- relativ zum globalen Minimum
- Typische Grösse (Kleinmoleküle): 5-10 kcal/mol
- filtert Konformere mit hohen E vom finalen Konformersatz

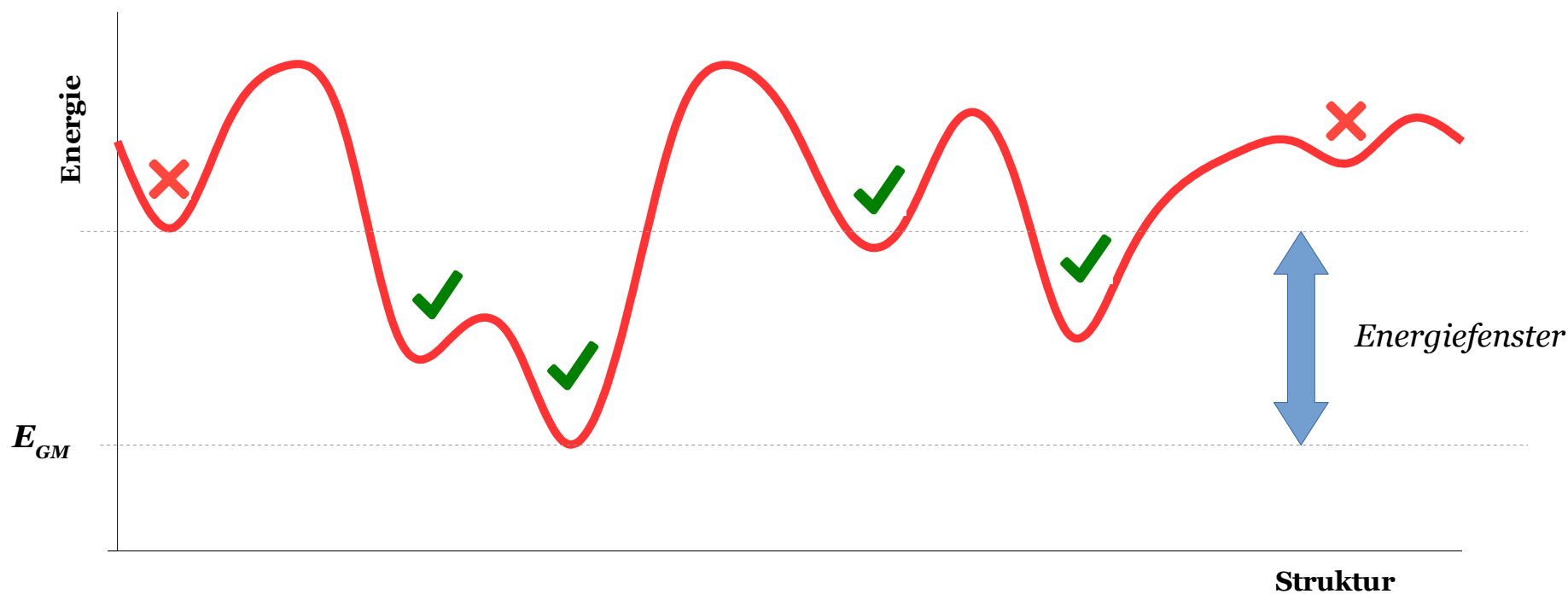




Energiefenster (energy window)



- relativ zum globalen Minimum
- Typische Grösse (Kleinmoleküle): 5-10 kcal/mol
- filtert Konformere mit hohen E vom finalen Konformersatz





Was ist Molekulares Docking?

- **Auffinden** von der bevorzugten Orientierung und Konformation – der **bioaktiven Pose** – eines (typischerweise kleinen) **Moleküls innerhalb von der Bindungsstelle** eines anderen (Makro)Moleküls mittels einer **Computer Simulation**
- folgt das **Schloss-Schlüssel** Konzept (Komplementarität der wechselwirkenden Moleküle); heute beinhaltet auch *Induced Fit* → **Hand-und-Handschuhe Konzept**
- ist **von fundamentaler Bedeutung für den rationellen Arzneistoffdesign** (Virtual Screening) und Voraussage von *Off-Target* Bindung (Nebenwirkungen, Protein-vermittelte Toxizität)

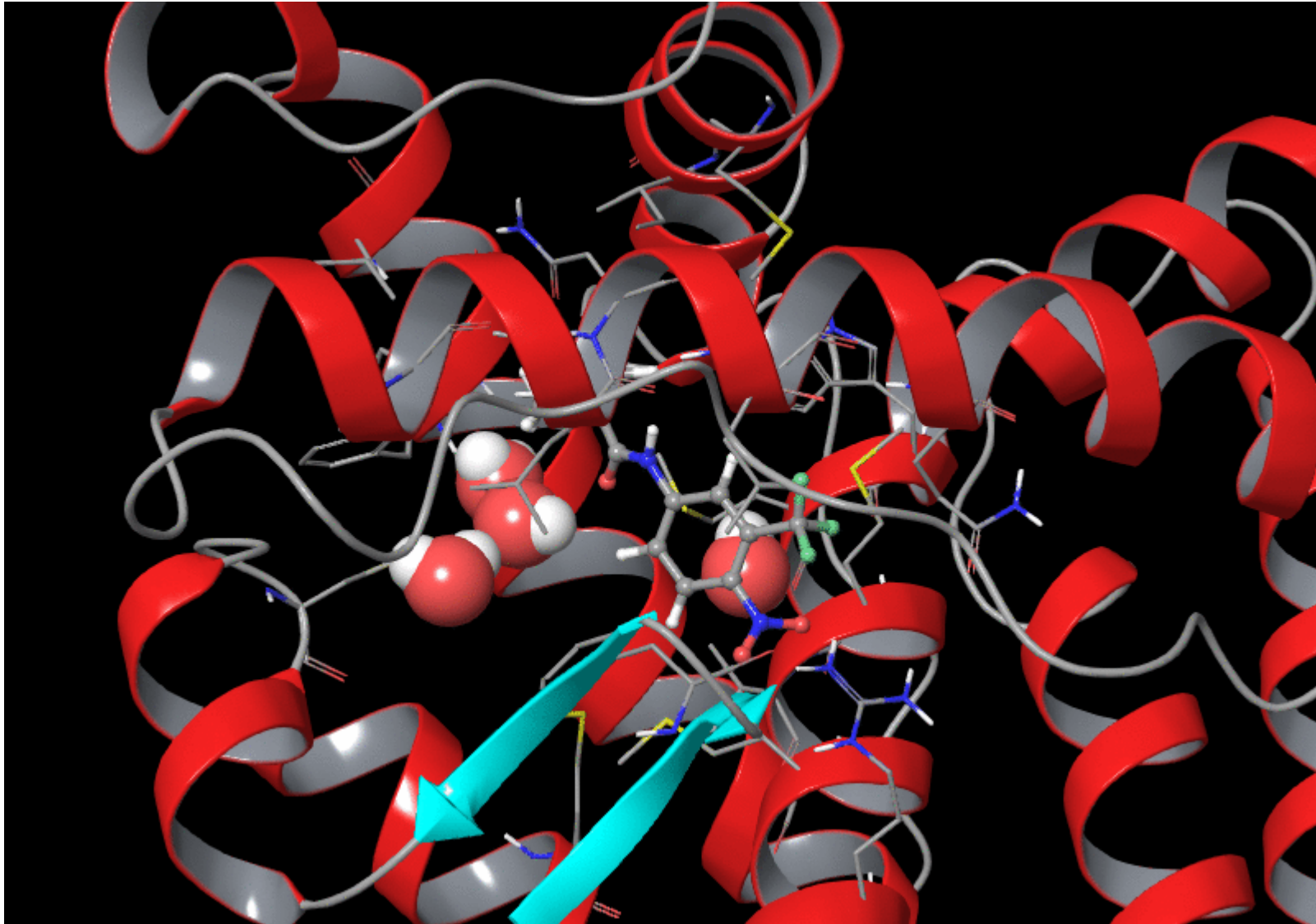
Terminologie

- **Rezeptor** (Gastgeber, Schloss, Handschuh) = empfangendes Molekül, meistens Protein oder NS
- **Ligand** (Gast, Schlüssel, Hand) = das komplementäre Partnermolekül, das am Rezeptor bindet
- **Bindungsmodus** = die Orientierung des Ligandes relativ zum Rezeptor und auch die Konformation des Ligandes und des Rezeptors, wenn zusammengebunden
- **Scoring** = Auswertung der Pose durch Quantifizieren der intermolekularen Wechselwirkungen (z.B. Wasserstoffbrücken, hydrophobe Kontakte, Elektrostatik...)
- **Ranking** = Anordnen der Liganden basierend auf das Score (typischerweise $\Delta G_{\text{binding}}$)



Molecular Docking

extrem komplexes, aber gleichzeitig extrem attraktives rechnerisches Konzept





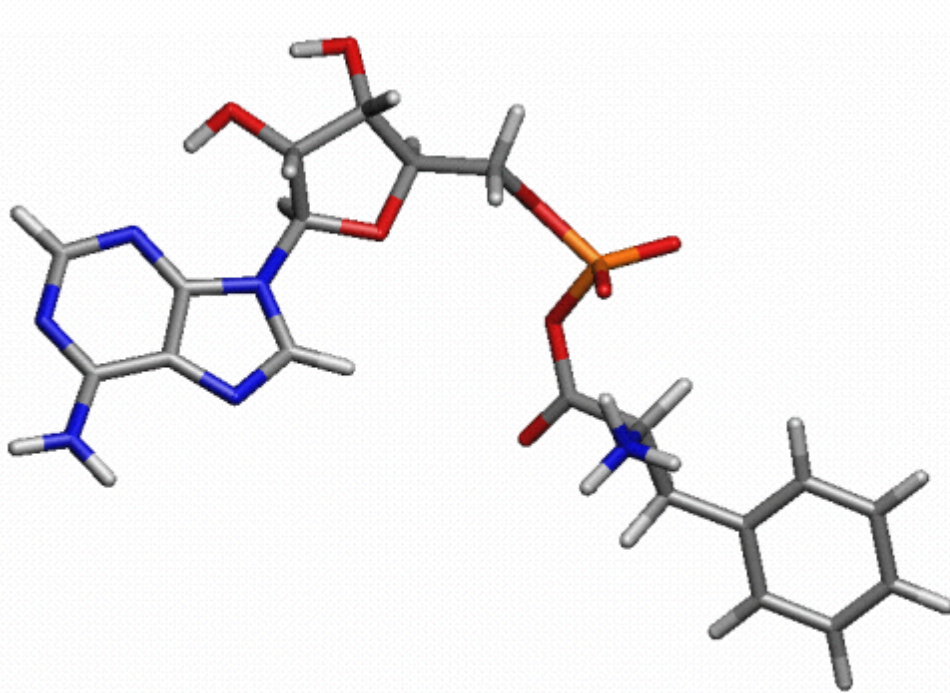
Die bioaktive Pose mittels Docking zu finden, aber wie?

- **Sampling** = ausforschen aller (?) möglichen Bindungsmodi eines kleinen Moleküls in der Bindungsstelle eines Proteins
- **Manuelles Docking** = “fundierte Vermutung”, subjektiv, nicht reproduzierbar, aufwändig, limitierter Datendurchlauf
- **Random Sampling** = ineffektiv, könnte theoretisch zur besten Lösung führen, aber Wahrscheinlichkeit ist sehr gering selbst für kleine flexible Moleküle
- **Rationell (Regel) basiert** = man versucht die rechnerische Komplexität vom Docking zu reduzieren → ähnliche Moleküle binden mit einem ähnlichen Bindungsmodus:
 - Überlagerung des gedockten Moleküls mit dem Templatmolekül (co-kristallisiert)
 - Überlagerung des gedockten Moleküls mit dem Pharmacophore (Bindungsstellenabdruck)
 - Fragmentieren des gedockten Moleküls, platzieren der Fragmente in die idealen Lagen und Wiederaufbau des Moleküls innerhalb der Bindungsstelle
 - viele verschiedene Algorithmen wurden entwickelt (verschiedene Vorteile/Nachteile)
- **Kombinatorische Explosion** = 3 Translationen + 3 Rotationen + drehbare Bindungen (Ligand) + Rotamere der Seitenketten (Protein) + explizite Wassermoleküle (+ Kofaktoren, Hauptkette...)

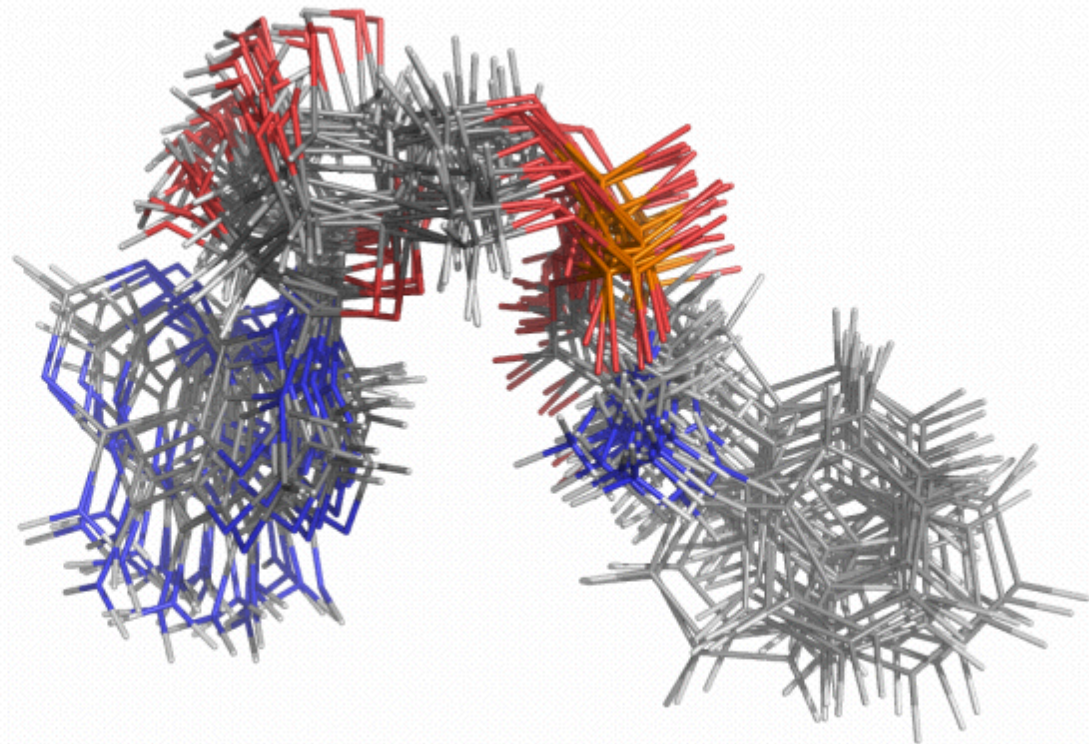


Moleküldynamik-Simulationen

Newton'sche Bewegungsgleichung (1687): $r(t+\Delta t) = r(t) + \partial r / \partial t \cdot \Delta t + 0.5 \cdot \partial^2 r / \partial t^2 \cdot \Delta t^2$



Minimums-Energie-Struktur von Phe-AMP



120 ps Moleküldynamik-Simulation von Phe-AMP

Moleküldynamik simuliert molekulare Bewegungen auf atomarer Ebene



Zeitskala biophysikalischer Vorgänge

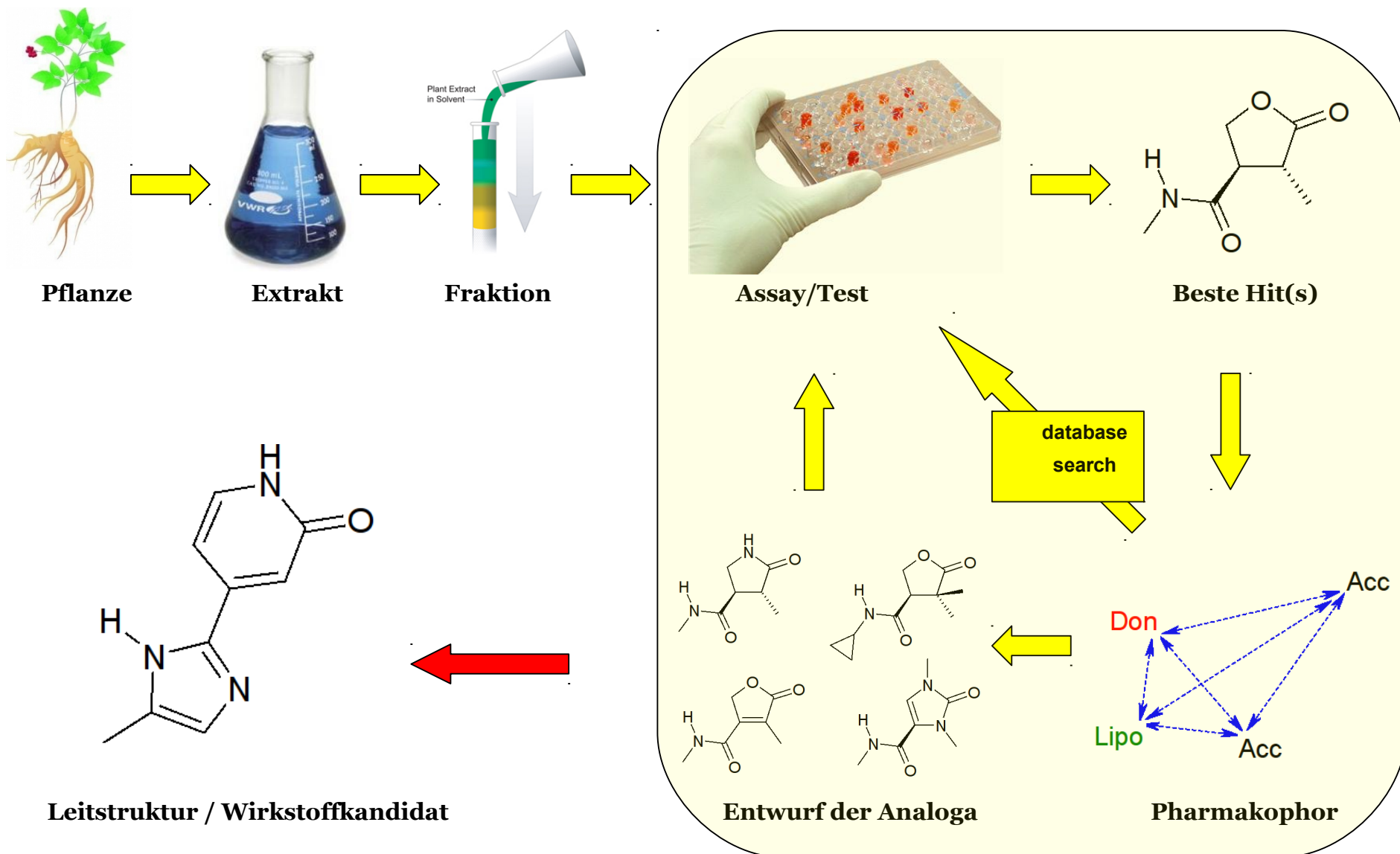
Newton'sche Bewegungsgleichung (1687): $r(t+\Delta t) = r(t) + \partial r / \partial t \cdot \Delta t + 0.5 \cdot \partial^2 r / \partial t^2 \cdot \Delta t^2$

Biophysikalischer Vorgang	Zeitdauer [sec]
Vibration gebundener Atome	$10^{-14} - 10^{-13}$
Longitudinale Bewegung von Basen in einer DNA	$10^{-14} - 10^{-12}$
Globale Dehnung einer DNA	$10^{-13} - 10^{-11}$
Drehung einer Protein-Seitenkette an der Proteinoberfläche	$10^{-11} - 10^{-10}$
„Befreiung“ einer verborgenen Seitenkette durch Torsionsänderungen	$10^{-11} - 10^{-9}$
Relative Bewegung globulärer Regionen in Proteinen	$10^{-11} - 10^{-7}$
Drehung einer mittelgrossen Seitenkette im Innern des Proteins	$10^{-4} - 1$
Allosterische Übergänge	$10^{-5} - 1$
Lokale Denaturierung	$10^{-5} - 10$
Diffusion kleiner Moleküle in die Bindungstasche	$10^{-6} - 10^{-3}$

Zeitintervall für die Integration $\Delta t = 2 \times 10^{-15}$ sec



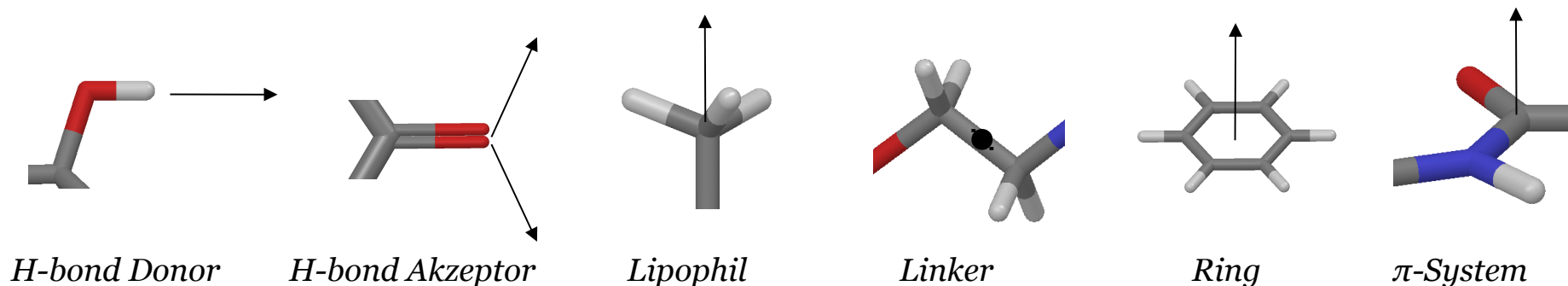
Ligand-basiertes Design





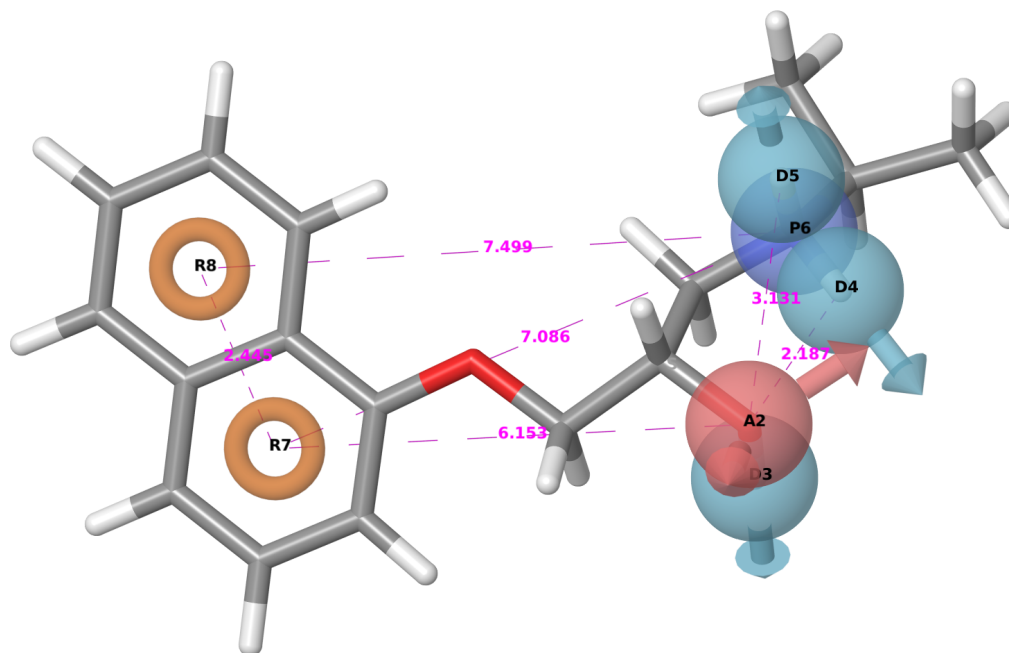
Pharmakophor - Eigenschaften

Typische molekulare Eigenschaften (funktionelle Gruppen) erkannt im Modeling Software



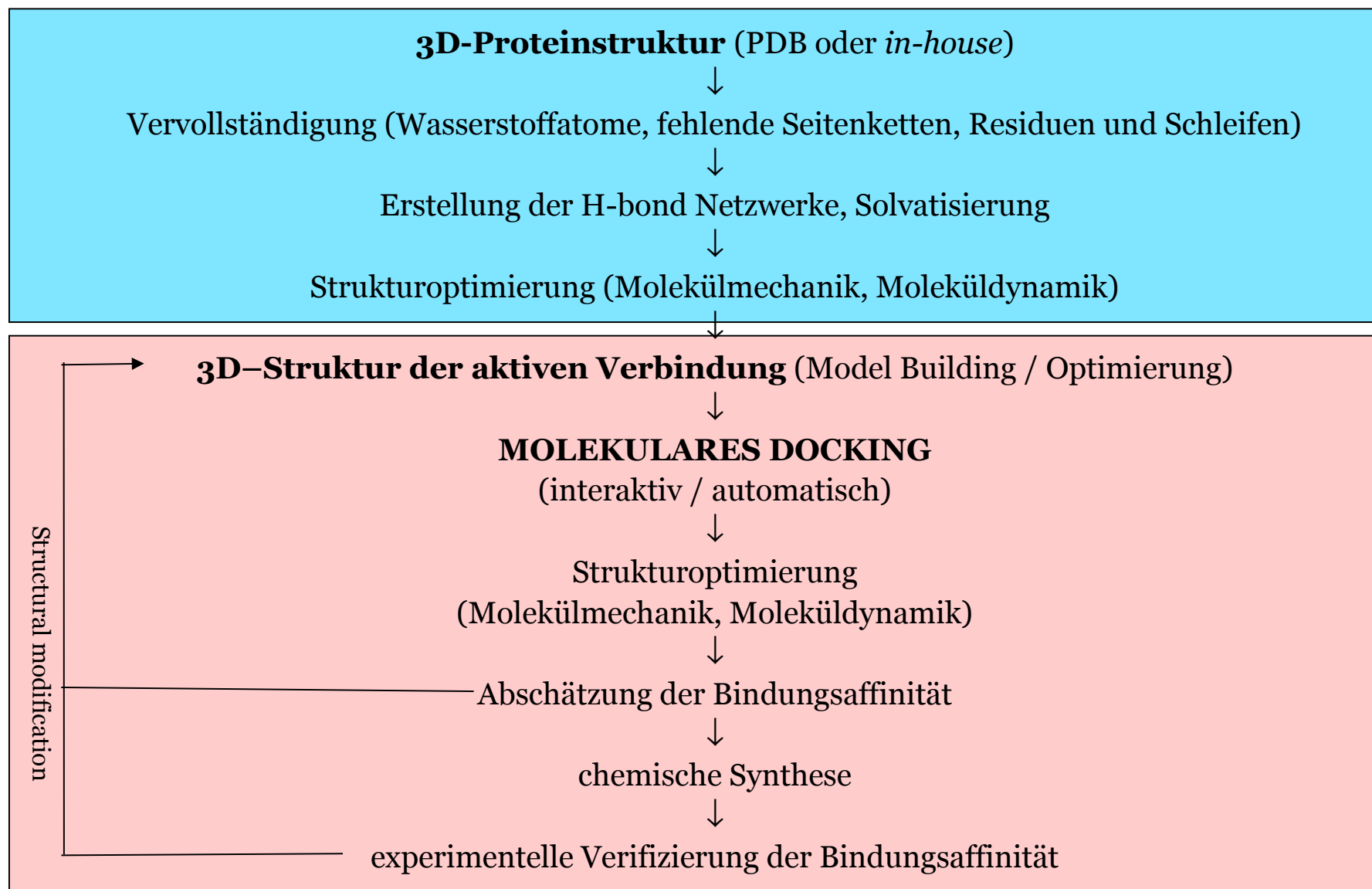
Erweiterte Pharmakophor-Repräsentation

- Räumlich Ausgeschlossene Zonen
- Direktionale Eigenschaften:
Extension Vektore, Ringnormalen, π -Systeme
- Winkeln, Dihedralwinkeln zwischen Eigenschaften
- Speziell entwickelte Deskriptoren/Eigenschaften





Struktur-basiertes Design: Workflow





Strukturoptimierung: $E_{\text{ligand-Protein}}$

Ligand – Rezeptor Komplementarität!

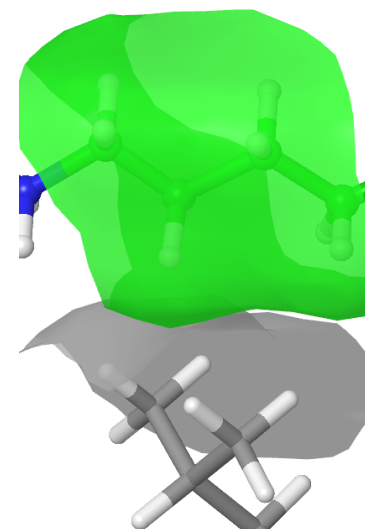
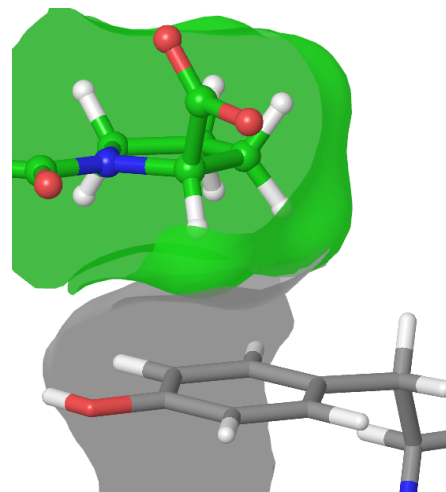
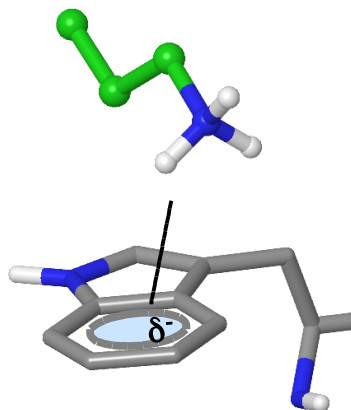
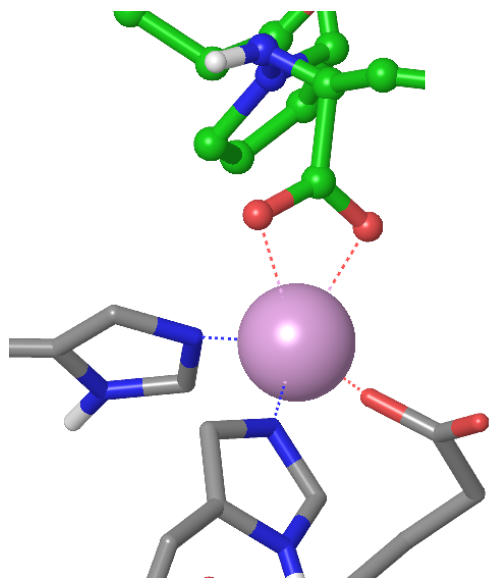
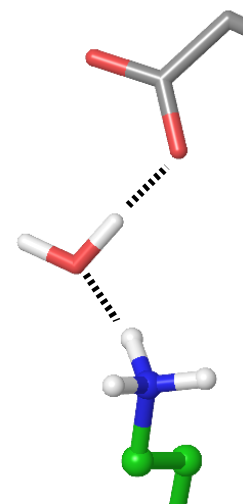
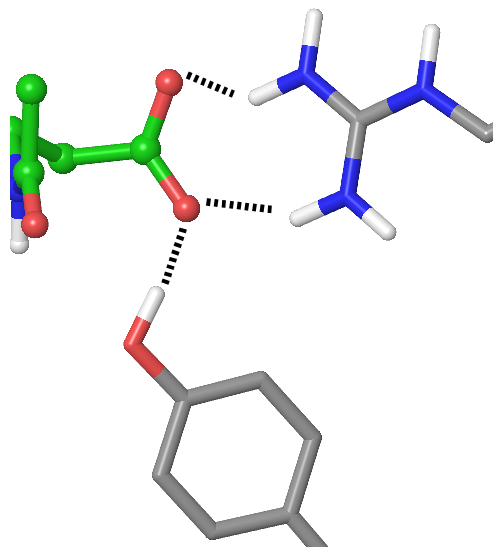
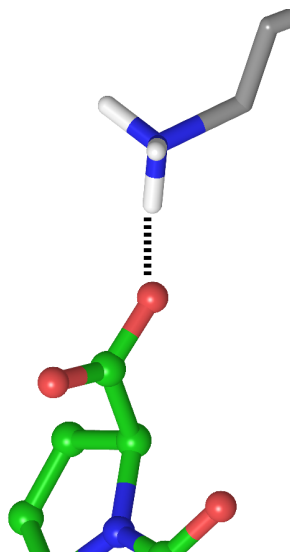
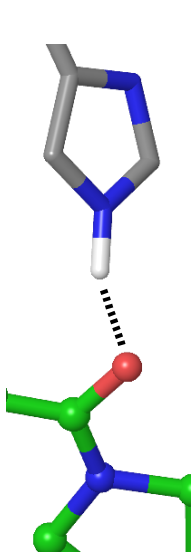


- hydrophobe Wechselwirkungen
- Verdrängung am Protein gebundener Wassermoleküle (Entropischer Effekt)
- Salzbrücken
- Wechselwirkungen mit den Metallen
- doppelte H-brücken
- Carbonylgruppen: $>C=O$
- Stickstoffatome in aromatischen Ringen: $-N=$
- überbrückende Wassermoleküle
- Hydroxygruppen: $-OH$ (3 H-brücken im Wasser!)
- geladene Gruppen (Ausnahme: richtige Salzbrücken, Metalle)

Entscheidend ist die Differenz der Interaktionen (Stärke) mit Wasser (in wässriger Umgebung) und mit Protein (in der Bindungsstelle) $\rightarrow \Delta G$



Ligand-Rezeptor Komplementarität

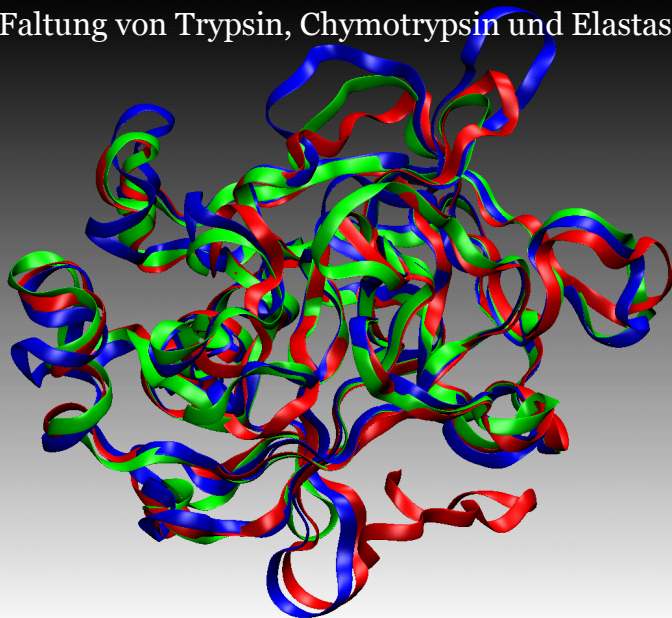




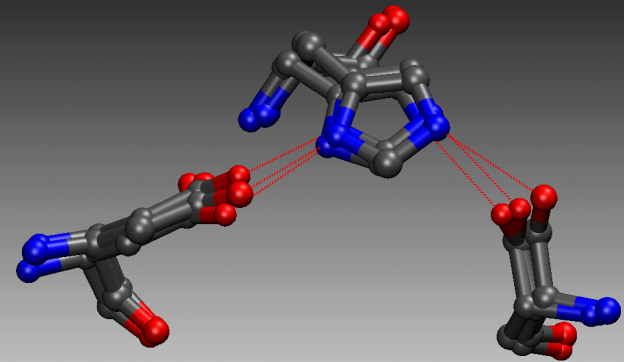
Homologie-Modellierung

- Proteine mit vergleichbarer Aminosäuresequenz → vergleichbare biologische Funktionen
- die Tertiärstruktur ist oft besser konserviert als die Primärstruktur

Faltung von Trypsin, Chymotrypsin und Elastase



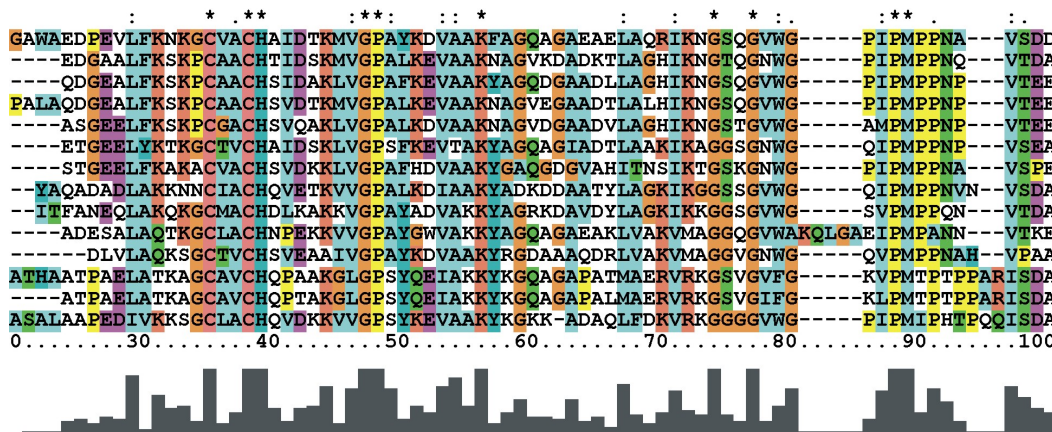
Katalytische Triade: Asp102–His57–Ser195



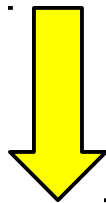
Überlagerung drei Serinproteasen : Trypsin, Chymotrypsin und Elastase
Übereinstimmung der Primärsequenzen : 30–35%



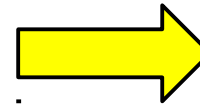
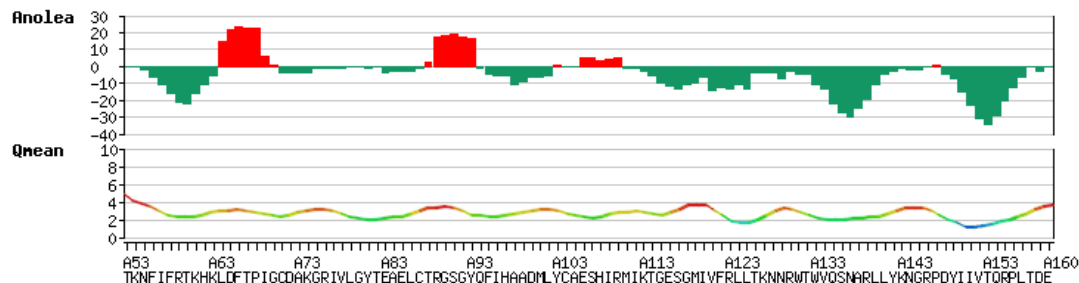
Homologie-Modellierung



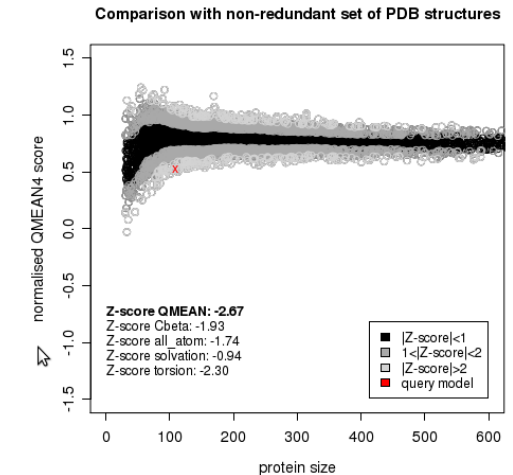
Überlagerung der Primärsequenzen



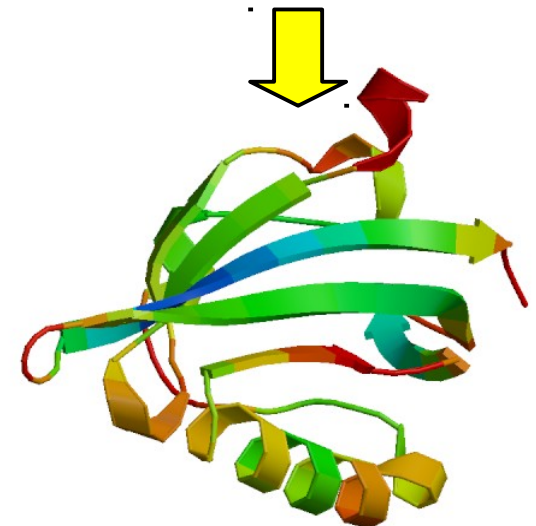
Validierung/Scoring: Energie



Validierung/Scoring: Struktur

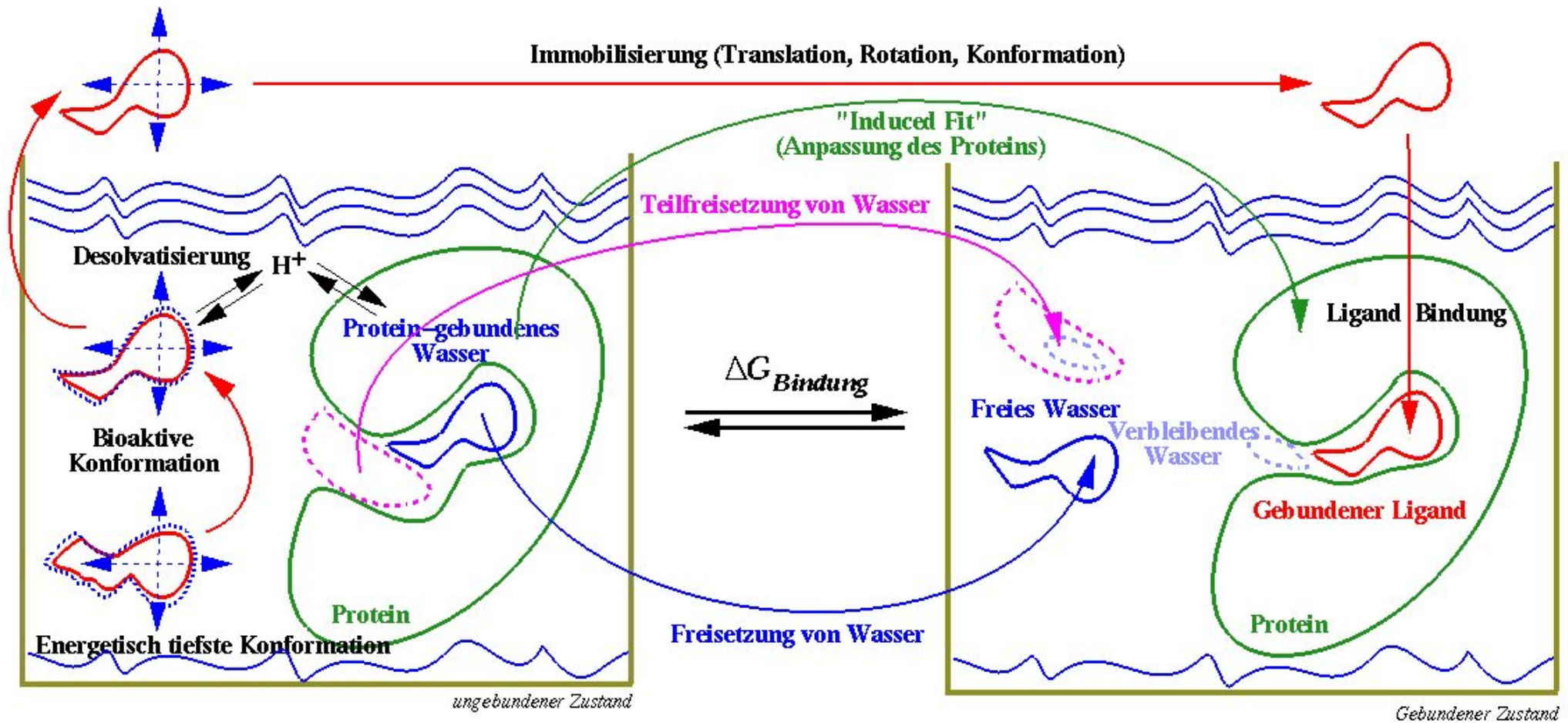


Homologie Model





Abschätzung der Bindungsaffinität von Wirkstoffen



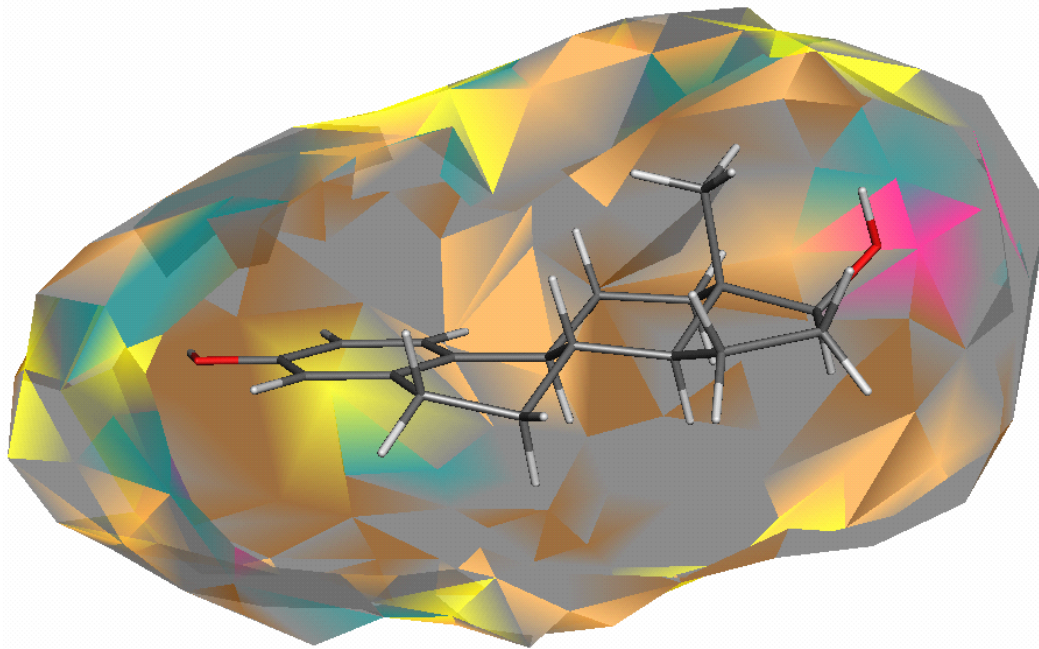
$$E_{\text{Bindung}} = E_{\text{Ligand-Protein}} + E_{\text{Ligand-Solvens}} - E_{\text{Innere Spannung}} - E_{\text{Ligand-Desolvatation}} - T\Delta S$$



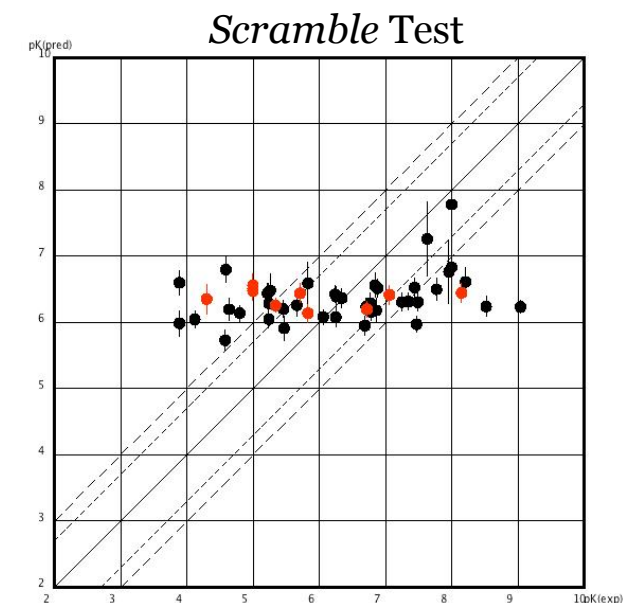
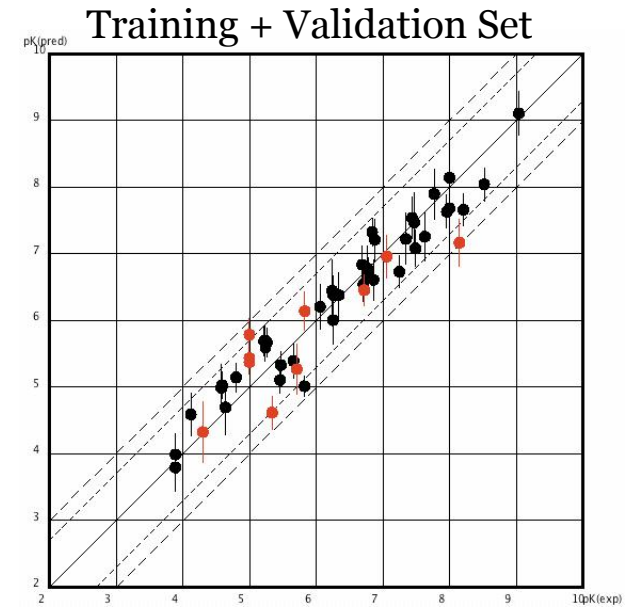
Abschätzung der Bindungsaffinität von Wirkstoffen

QSAR

mQSAR-Modell (*Rezeptorsurrogat*) für den Östrogenrezeptor α



Vorteil: wenn richtig trainiert und validiert, gute Leistung
Nachteil: eingeschränkte Anwendbarkeit





Pharmakokinetik

- **Orale Verfügbarkeit** : am häufigsten gebraucht (Pharmaindustrie)

Lipinski's rule of 5

MW ≤ 500

nHB-Donor ≤ 5

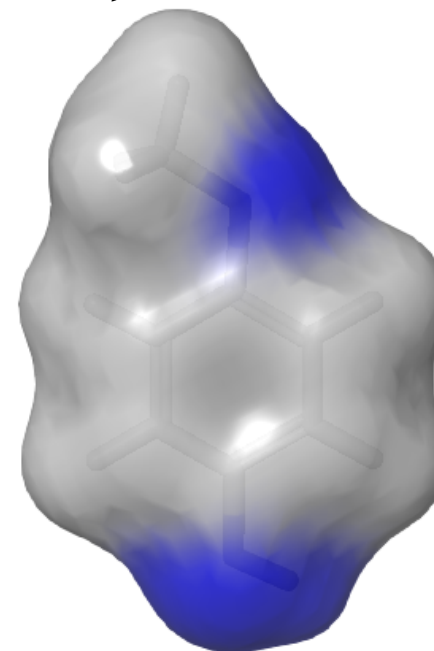
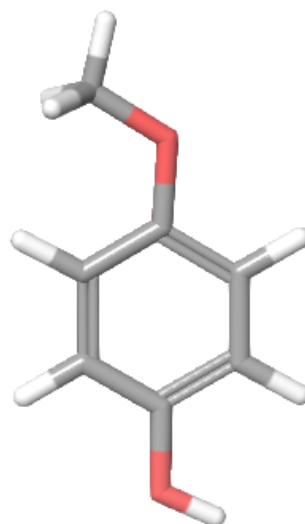
nHB-Akzeptor ≤ 10

LogP ≤ 5

Veber rules

- PSA $< 140 \text{ \AA}^2$

- nRotBond < 10



$MW = 124$, $nHBdon = 1$, $nHBacc = 2$, $LogP = 1.2$, $PSA = 31 \text{ \AA}^2$, $nRotBond = 1$

- **Haut** : transdermale Patches (z.B. Hormone oder opioidale Analgetika)
- **Inhalation** : Schwebstaub (Abgase, Fentanyl), volatile Verbindungen, Gase...
- **Speziell** : okular, bukkal, ...
- **Weitere wichtige Eigenschaften**: logS, pK_a , (gesammte) Ladung...



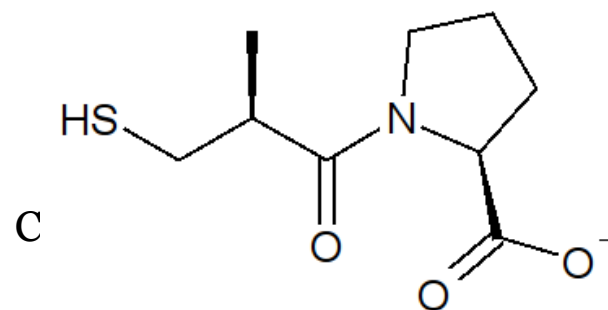
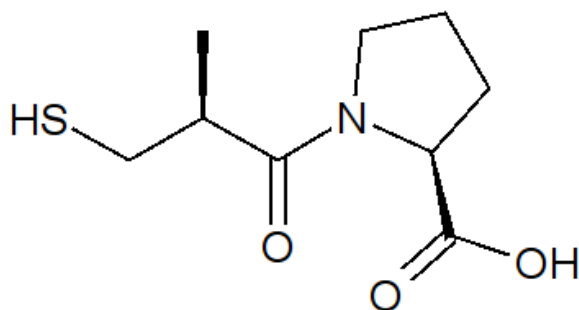
Distribution Coefficient LogD - including protonation

$$D = c_{\text{octanol}} / (c_{\text{water ionized}} + c_{\text{water neutral}})$$

LogD depends on pH as it includes de/protonated states

LogD $\approx$ LogP (for neutral at pH far from pKa)

pKa's $\rightarrow$ carboxyl 4.0, sulfhydryl 10.0



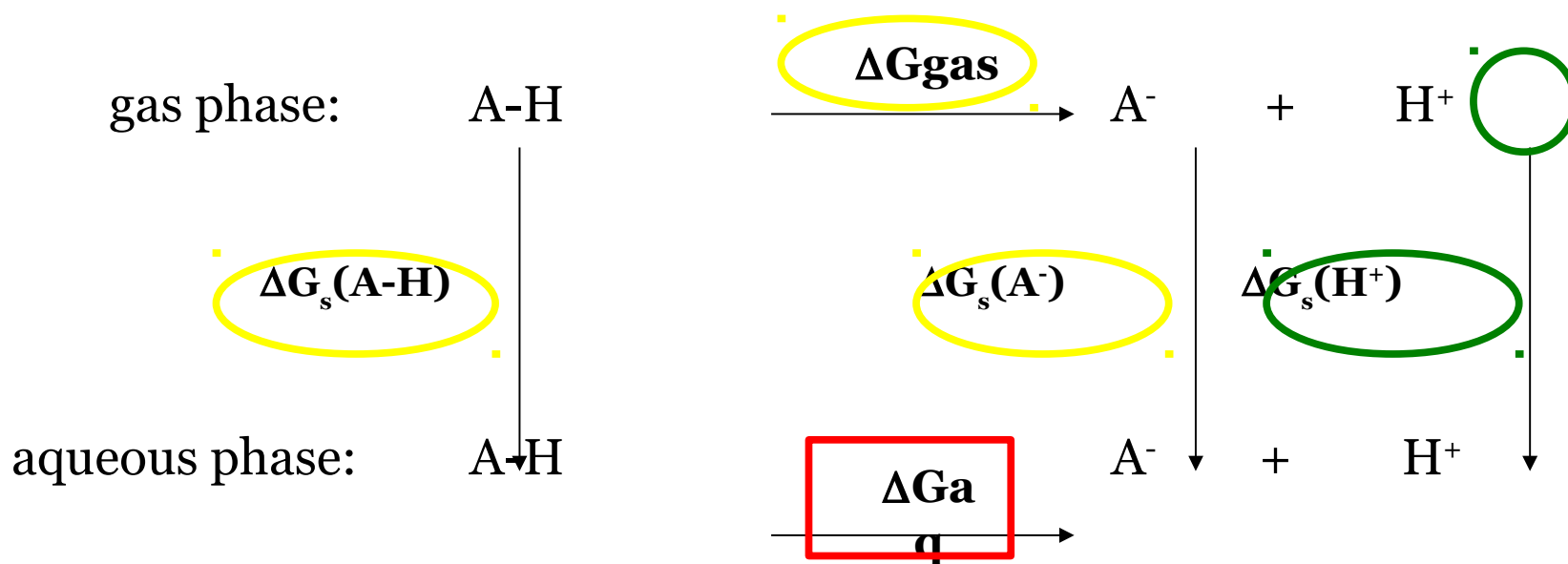


Proton dissociation constant - pK_a

$$pK_a = -\log K_a$$

$$\Delta G = -RT \ln K_a = -2.303 \cdot RT \log K_a$$

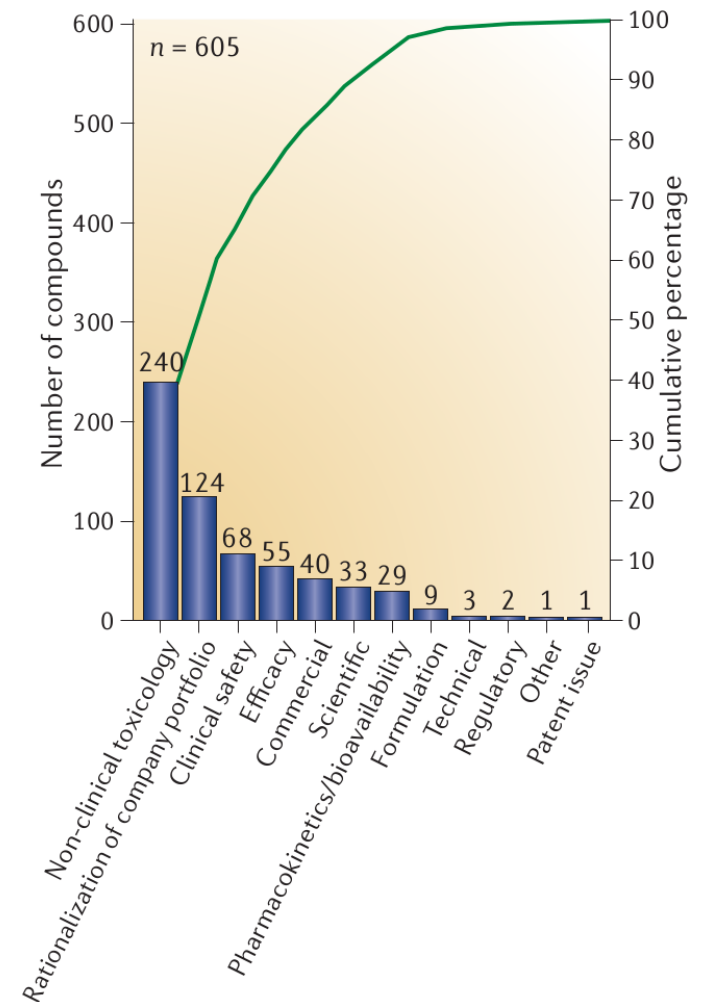
$$pK_a = \Delta G_{aq} / -2.303 RT$$





Warum braucht es in silico Toxikologie?

- Vor der Massenproduktion muss jede Substanz detailliert charakterisiert und getestet sein:
 - Arzneistoffe
 - Kosmetika (UV Filter, Parfum..)
 - Additiva (Polymer, Flame Retardants...)
 - Agrochemikalien
 - Farbstoffe & Pigmente
- 3R (Reduction, Replacement, Refinement)
- Regulatorische Behörden EC, EPA... (REACH Programm)
- gesammelte Kenntnisse kann man nutzen um die toxische Phänomene zu erklären und vermeiden
- Drug Attrition Rates

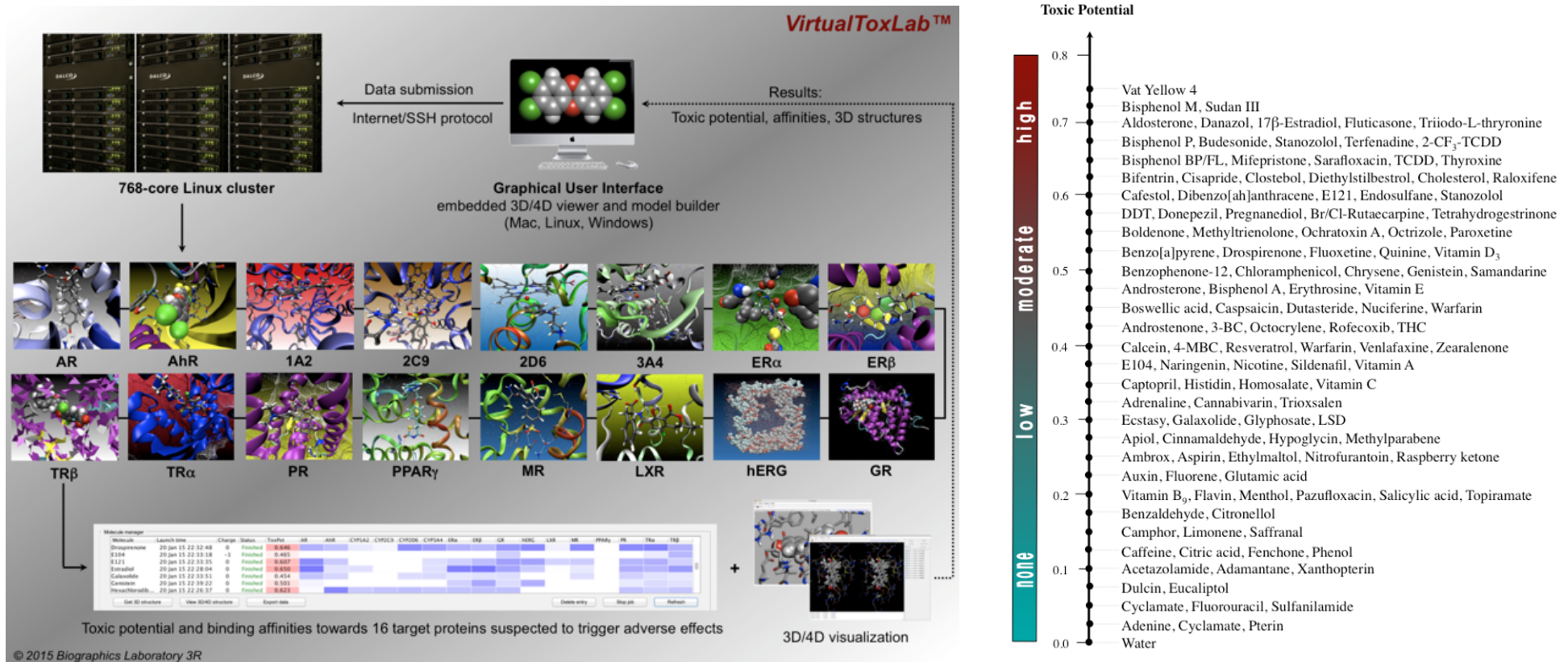


Waring M.J. et al. *Nature Reviews: Drug Discovery* (2015), 14, 475.



VirtualToxLab : *In silico* Test auf Nebenwirkungen und Toxizität

Automatisches Docking und Abschätzung der Bindungsaffinität an 16 Antitargets



Nukleare (z.B. Androgen-, Östrogen-) Rezeptoren → *endokrine Störungen*; HERG Rezeptor → *Kardiotoxizität*;
 Cytochrome P450 → *metabolische Störungen*; Arylhydrocarbon Rezeptor → *Karzinogenizität*;
Das toxische Potenzial



VirtualToxLab – Technisches Flussdiagramm

