

Виктор Борисович Лужков,
доктор химических наук, главный научный сотрудник



Молекулярное моделирование физиологически активных соединений

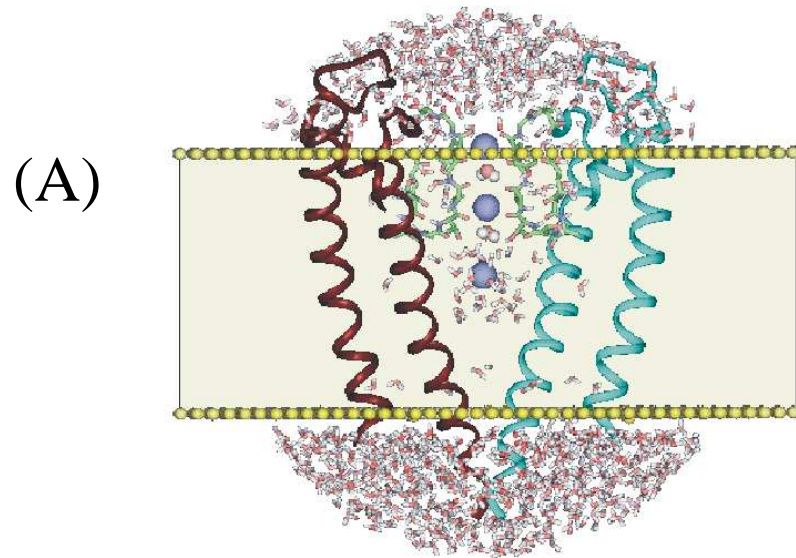
Виктор Борисович Лужков,
доктор химических наук, главный научный сотрудник



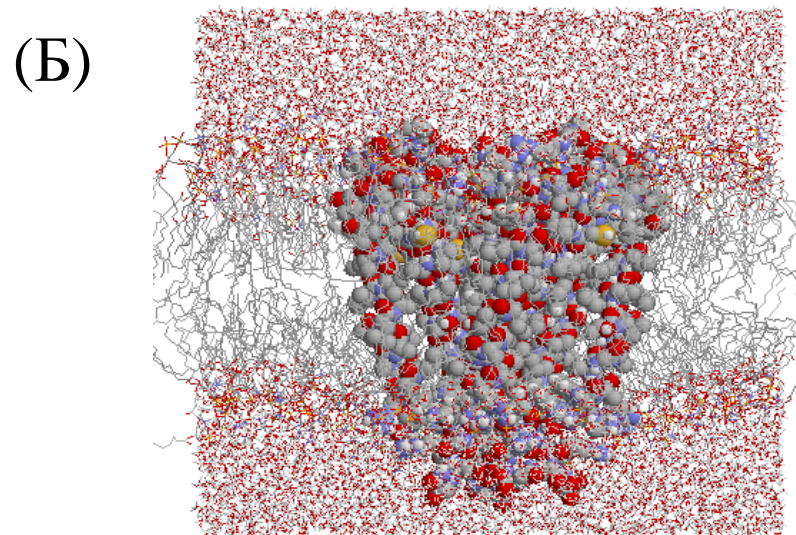
Молекулярное моделирование физиологически активных соединений

- Расчеты свободных энергий микроскопических моделей
- Изучение связывания ингибиторов с калиевым каналом

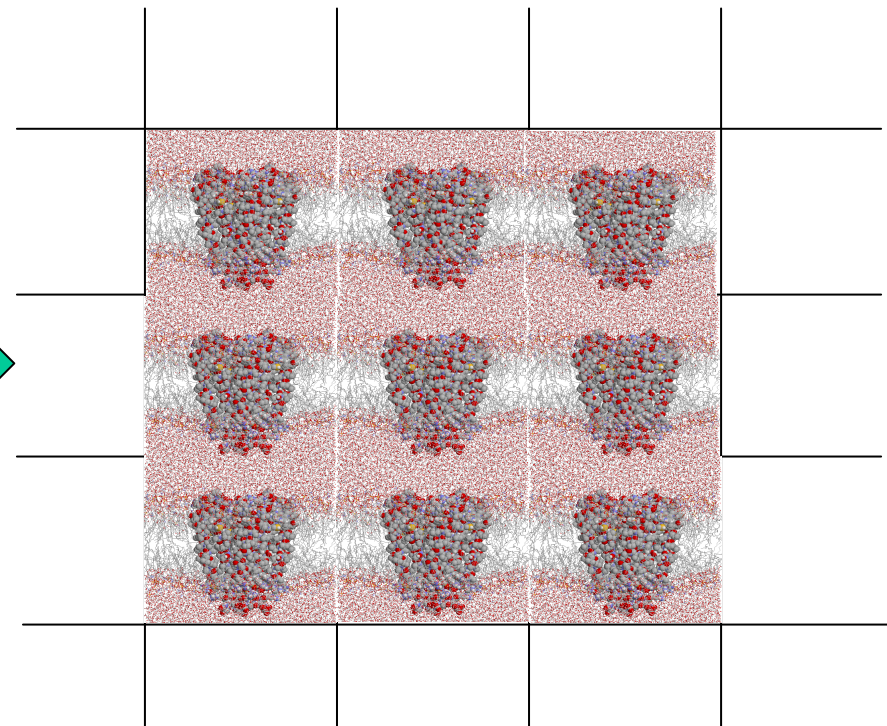
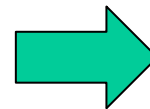
Молекулярные модели мембранных белков



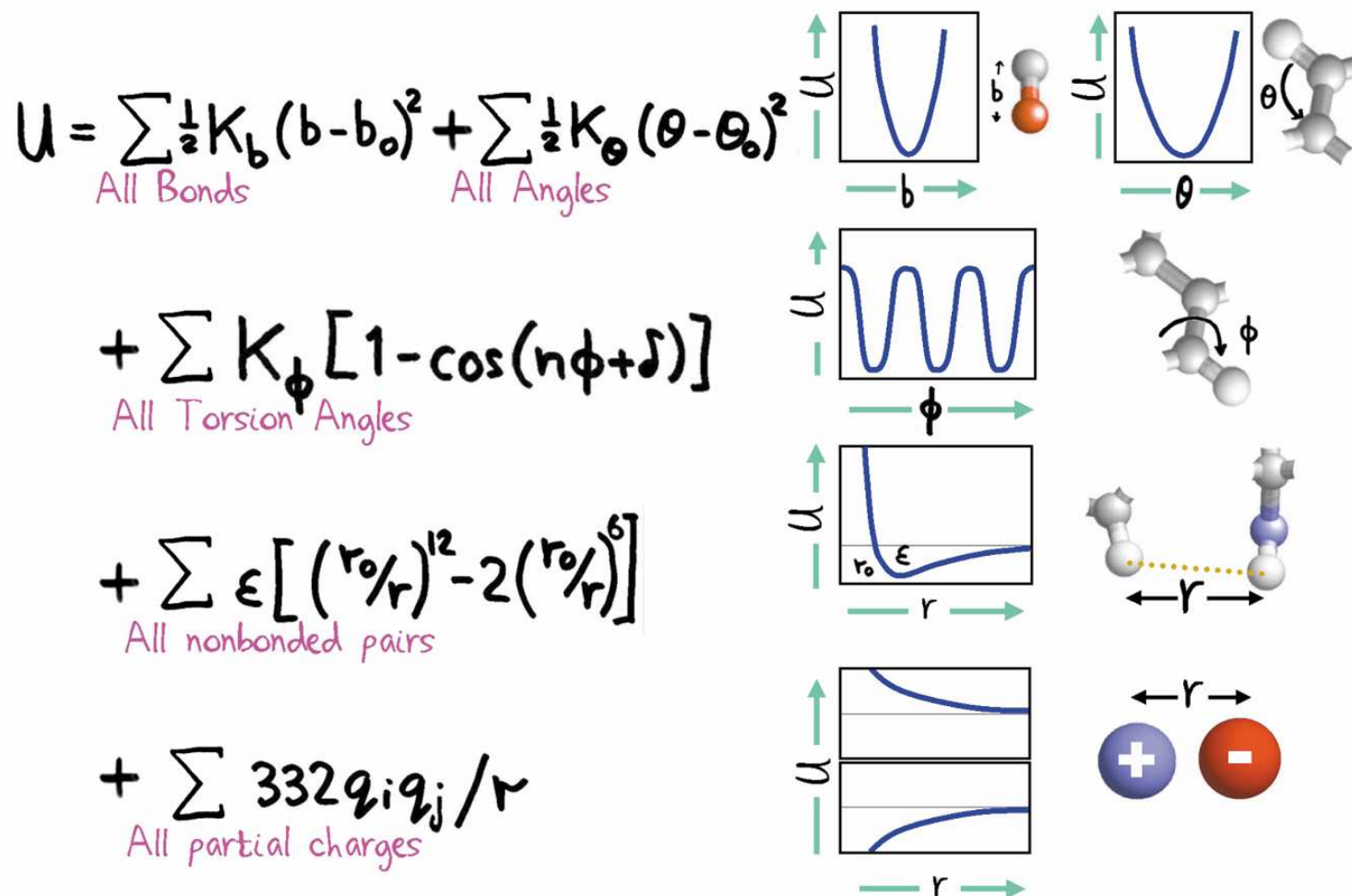
(А) Канал в модельной мембране и сферической водной оболочке



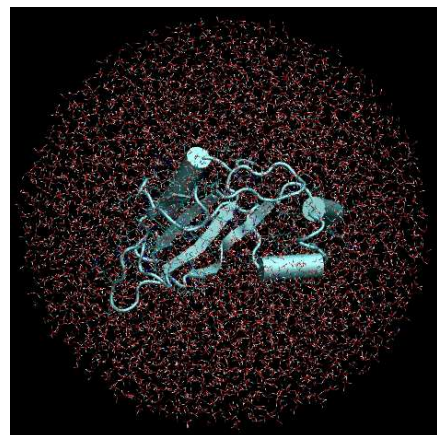
(Б) Периодические ячейки «канал-мембрана-вода»



Молекулярная механика и расчеты потенциальной энергии



Молекулярная динамика

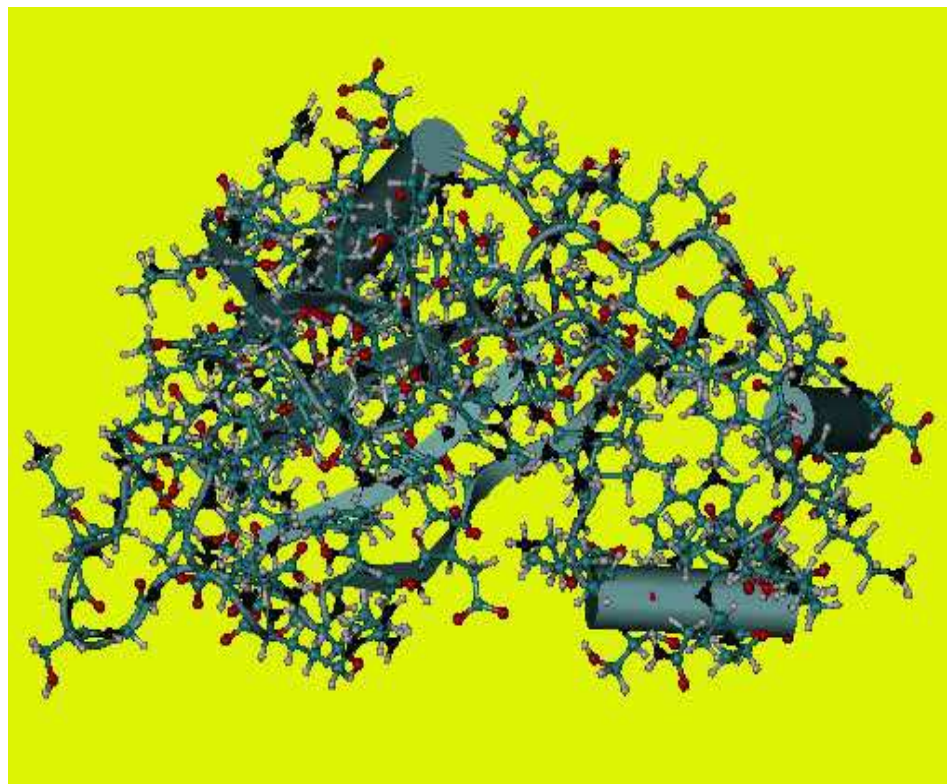


1700 атомов, 2Cl⁻,
5475 H₂O (R_w~35 Å)

Симуляция динамики
барназы в
водно-ионном окружении:

T=300K, t=10 ps,
steps:
MD=2fs, trj= 40fs

Траектории движения: NPT, NVT
усреднение структур, RMSD, колебательные моды



Статистическая механика равновесных систем

$$p(\Gamma_i) = e^{-\beta H(\Gamma_i)} / Q$$

-вероятность i состояния и
средние значения функций
(распределение Больцмана)

$$Q_{NVT} = \int e^{-\beta H(\Gamma)} d\Gamma$$

$$\langle Y(\Gamma) \rangle = \int p(\Gamma) Y(\Gamma) d\Gamma$$

$$H(\Gamma) = T(\dot{\mathbf{X}}) + U(\mathbf{X}) \quad , \quad \beta = 1/kT$$

$$\int e^{-\beta(H(\Gamma)-A)} d\Gamma = 1$$

$$A = E - TS$$

$$E = kT^2 \left(\frac{\partial \ln Q}{\partial T} \right)_{V,N}$$

-термодинамические потенциалы:
свободная энергия, внутренняя
энергия, энтропия

$$S = kT \left(\frac{\partial \ln Q}{\partial T} \right)_{V,N} + k \ln Q$$

Расчет относительных свободных энергий. 1.

$$A = -\frac{1}{\beta} \ln \left(\int e^{-\beta H(\Gamma)} d\Gamma \right) = \frac{1}{\beta} \ln \left(\int e^{+\beta H(\Gamma)} p(\Gamma) d\Gamma \right) + const$$

Метод термодинамического интегрирования,
thermodynamic integration.

Д. Кирквуд, М. Борн – 1930-е

$$A(\lambda = 1) - A(\lambda = 0) = \int_0^1 \left(\frac{\partial A(\lambda)}{\partial \lambda} \right)_{\lambda} d\lambda = \dots \frac{\partial A(\lambda)}{\partial \lambda} = -\frac{1}{\beta Q} \frac{\partial Q(\lambda)}{\partial \lambda} \dots$$

$$= \int_0^1 \left\langle \frac{\partial H(\Gamma, \lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle_{\lambda} d\lambda$$

версии SC-TI, MC-TI

Расчет относительных свободных энергий. 2.

Метод возмущения свободной энергии (Пиерлс-1933, Ландау-1951)

$$\begin{aligned} A_2 &= - - \frac{1}{\beta} \ln(Q_2) = \\ &= - \frac{1}{\beta} \ln \left(\int e^{-\beta(U_1(\Gamma) + \Delta U_{21}(\Gamma))} d\Gamma \right) = - \frac{1}{\beta} \ln(Q_1) + \frac{Q_1'}{Q_1} + \left[\frac{Q_1''}{2Q_1} - \left(\frac{Q_1'}{Q_1} \right)^2 \right] \dots = \\ &= A_1 + \langle \Delta U_{21}(\Gamma) \rangle_1 - \frac{\beta}{2} \left(\langle \Delta U_{21}^2(\Gamma) \rangle_1 - \langle \Delta U_{21}(\Gamma) \rangle_1^2 \right) + \dots \end{aligned}$$

Расчет относительных свободных энергий. 3.

Метод возмущения свободной энергии, free energy perturbation (FEP).
Р. Цванциг - 1954

$$\frac{Q_2}{Q_1} = \frac{\int e^{-\beta U_2(\Gamma)} d\Gamma}{\int e^{-\beta U_1(\Gamma)} d\Gamma} = \frac{\int e^{-\beta \Delta U_{21}(\Gamma)} e^{-\beta U_1(\Gamma)} d\Gamma}{\int e^{-\beta U_1(\Gamma)} d\Gamma} = \left\langle e^{-\beta \Delta U_{21}(\Gamma)} \right\rangle_1$$

$$A_2 - A_1 = -\frac{1}{\beta} \ln \left(\frac{Q_2}{Q_1} \right) = -\frac{1}{\beta} \ln \left\langle e^{-\beta \Delta U_{21}(\Gamma)} \right\rangle_1$$

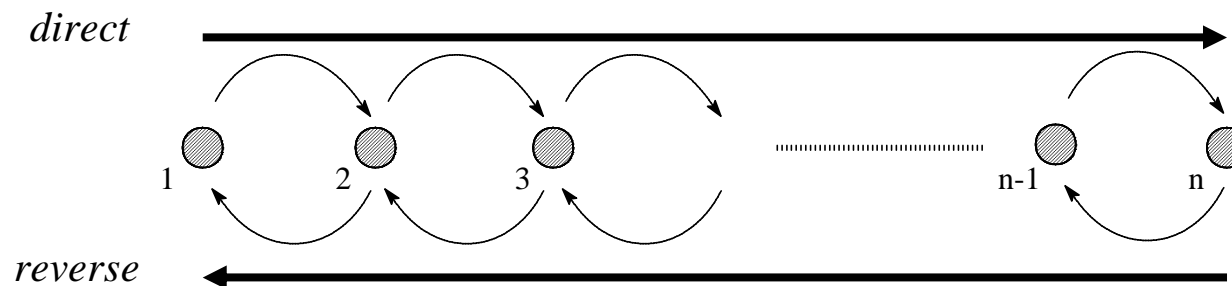
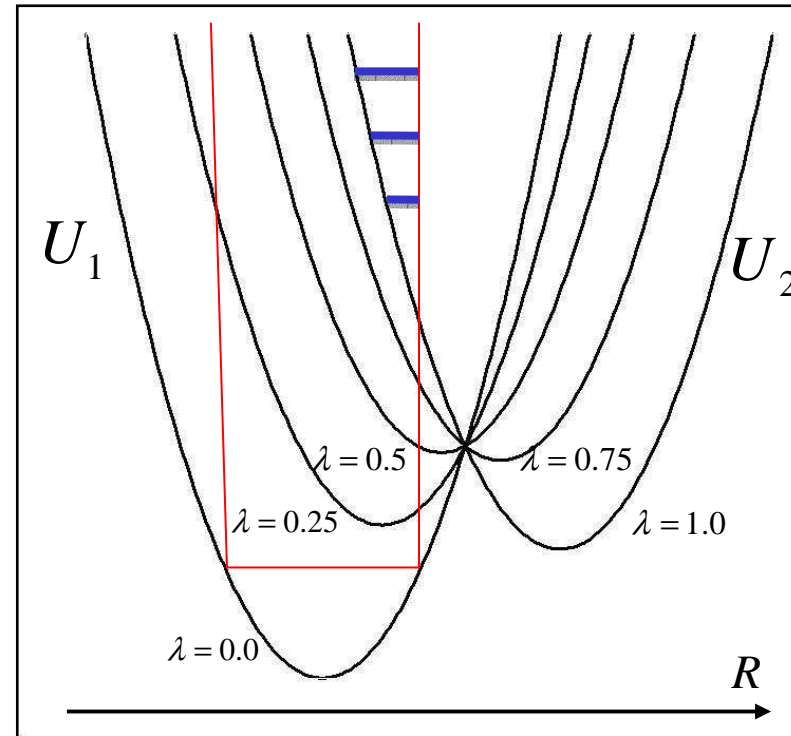
Метод возмущения свободной энергии (FER)

$$A_2 - A_1 = -\frac{1}{\beta} \ln \left\langle e^{-\beta(U_2(\Gamma) - U_1(\Gamma))} \right\rangle_1 =$$

$$= -\frac{1}{\beta} \sum_{m=1}^{n-1} \ln \left\langle e^{-\beta(U(\Gamma, \lambda_{m+1}) - U(\Gamma, \lambda_m))} \right\rangle_m$$

$$U(\Gamma, \lambda_m) = (1 - \lambda_m)U_1(\Gamma) + \lambda_m U_2(\Gamma)$$

$$\lambda_m = 0 \rightarrow 1, m = 1, \dots, n$$



Расчет относительных свободных энергий. 4.

Метод выборки перекрывания состояний, overlap sampling.
Бенет - 1976

$$\frac{Q_2}{Q_1} = \frac{\langle W e^{-\beta U_2(\Gamma)} \rangle_1}{\langle W e^{-\beta U_1(\Gamma)} \rangle_2} \quad , \text{ при условии } \min(\text{var}(\Delta(A_2 - A_1))) \Rightarrow$$

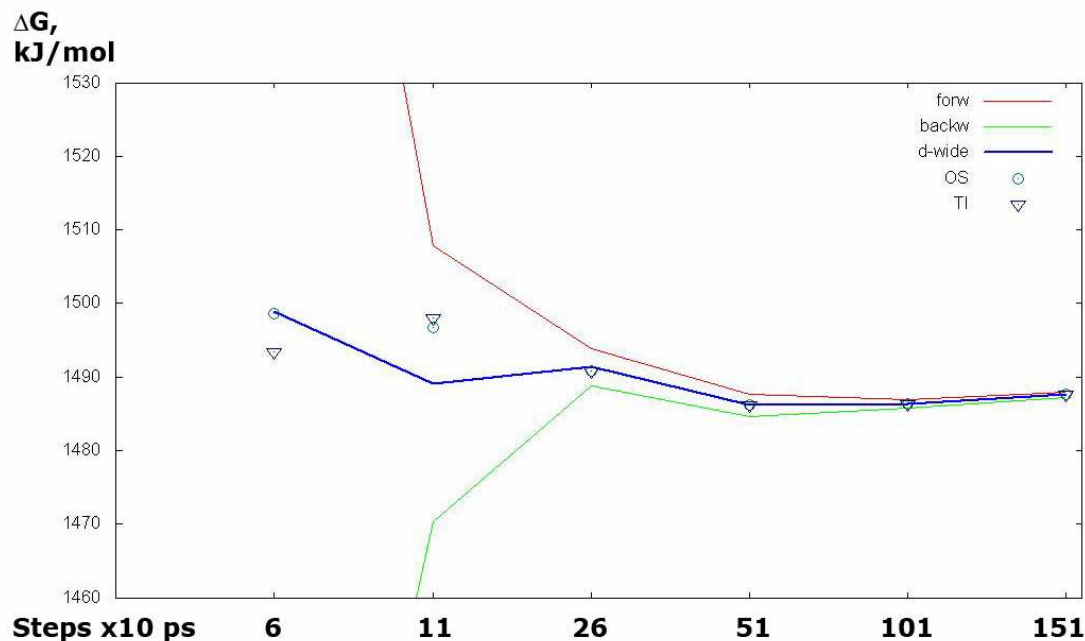
$$\beta(A_2 - A_1) = \ln \frac{\langle f(U_1(\Gamma) - U_2(\Gamma) + C) \rangle_2}{\langle f(U_2(\Gamma) - U_1(\Gamma) - C) \rangle_1} + C \quad , \text{ где } f(x) = 1/(1 + e^x)$$

$$C = \ln \left(\frac{Q_1 n_2}{Q_2 n_1} \right)$$

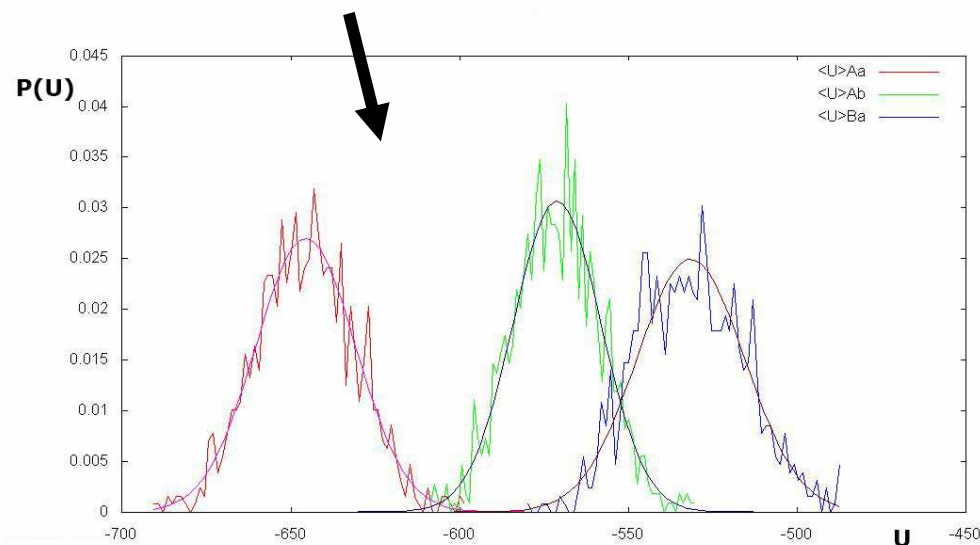
Сходимость расчетов свободных энергий.

Свободные энергии
мутации
 $\text{Ca}^{++} \rightarrow \text{OW}(\text{TIP3P})$

SCAAS model,
 $R(\text{water})=19\text{\AA}$



Распределение энергий
взаимодействия
«ион-окружение» для
1-го шага FEP

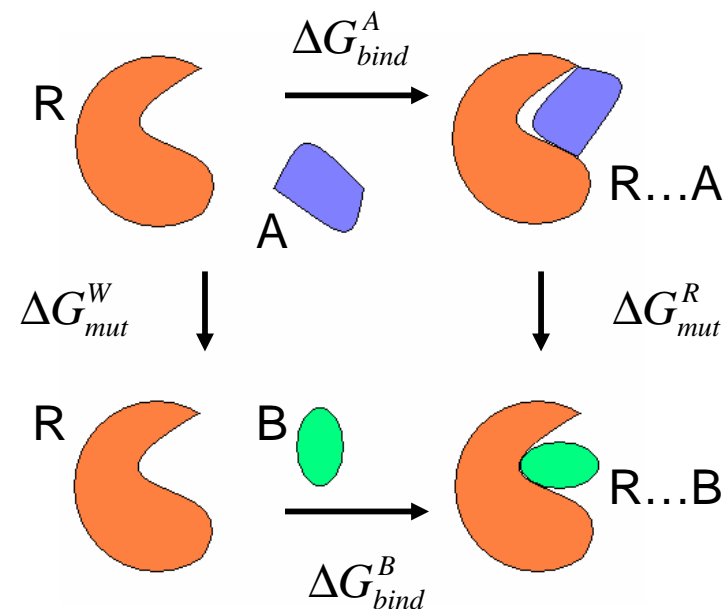


Расчеты свободных энергий комплексов белков с лигандами методом FEP/MD

Свободная энергия связывания лигандов с рецептором

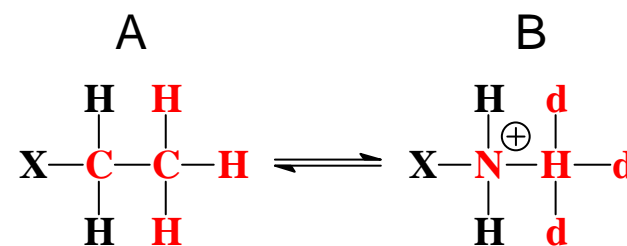
$$\begin{aligned} \Delta\Delta G_{bind} &\equiv \Delta G_{bind}^B - \Delta G_{bind}^A = \\ &= \Delta G_{mut}^R - \Delta G_{mut}^W \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta\Delta G_{mut}^{R,W} &= \Delta G_B^{R,W} - \Delta G_A^{R,W} = \\ &= -kT \ln \left\langle e^{-(U_B(\mathbf{X}) - U_A(\mathbf{X})) / kT} \right\rangle_A \end{aligned}$$



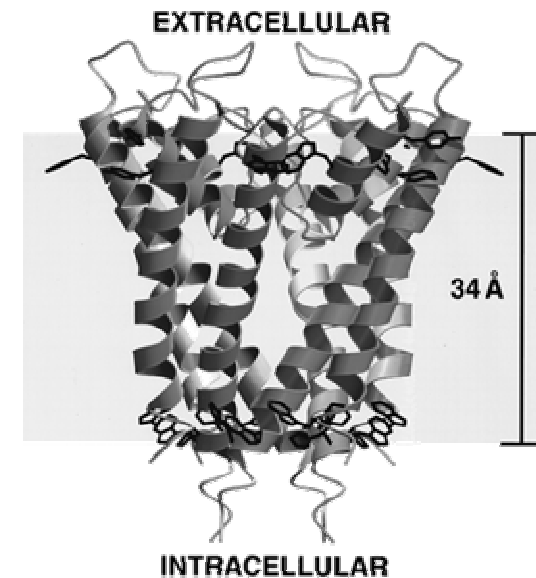
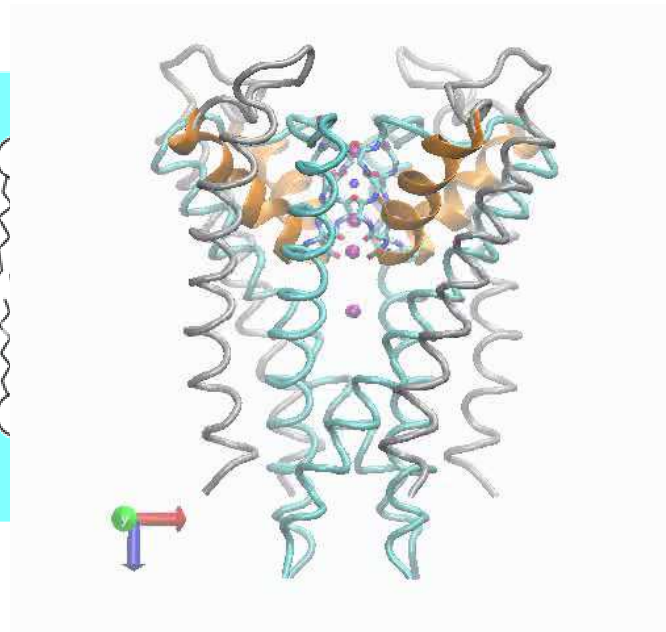
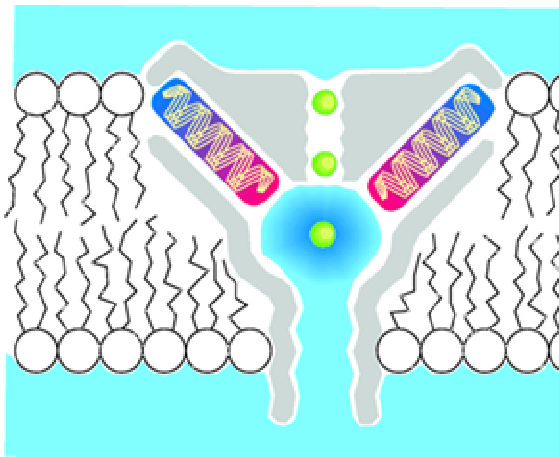
Превращения молекулярной топологии:

- мутации атомов
- изменения химических связей, валентных и торсионных углов



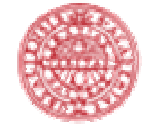
1998: структура калиевого ионного канала KcsA

17.6 kDa белок из
Streptomyces lividans

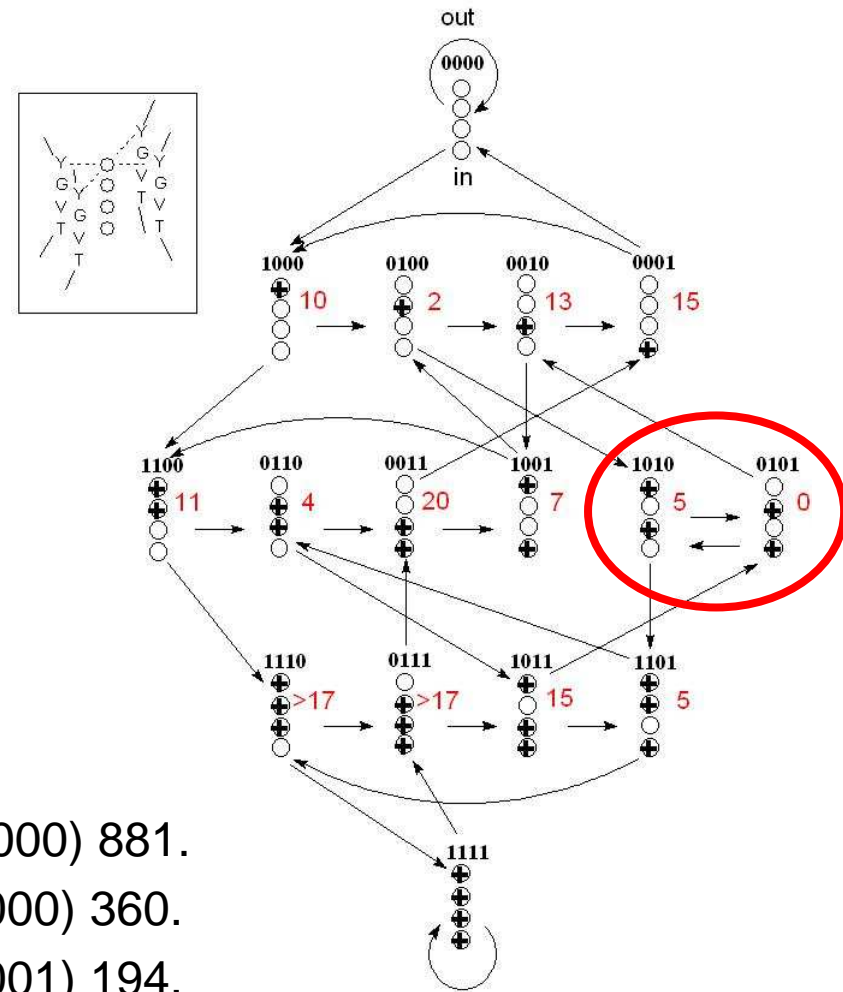
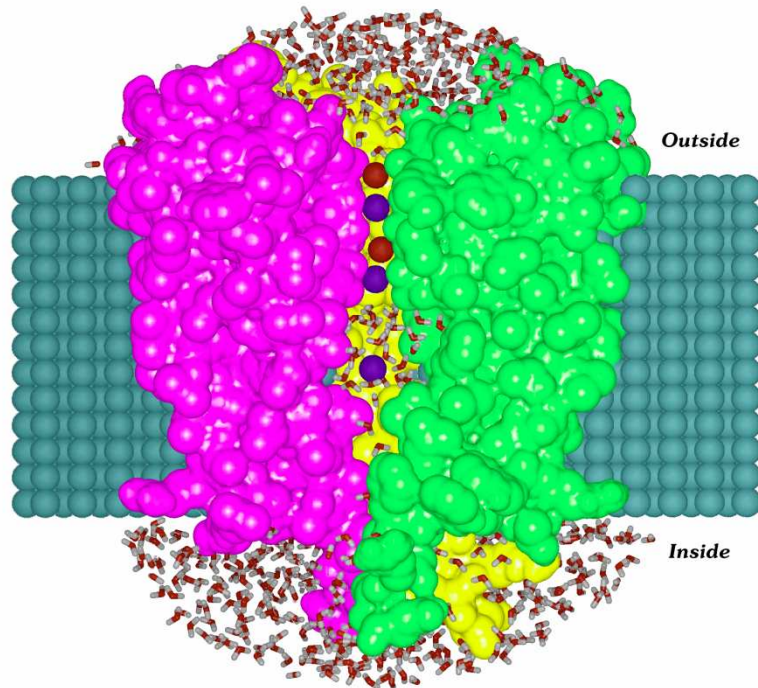


- Schrempf et al. *The EMBO J.* **14** (1995) 5170.
- Doyle, MacKinnon, et al. *Science* **280** (1998) 69.

Механизм пропускания ионов в канале KcsA



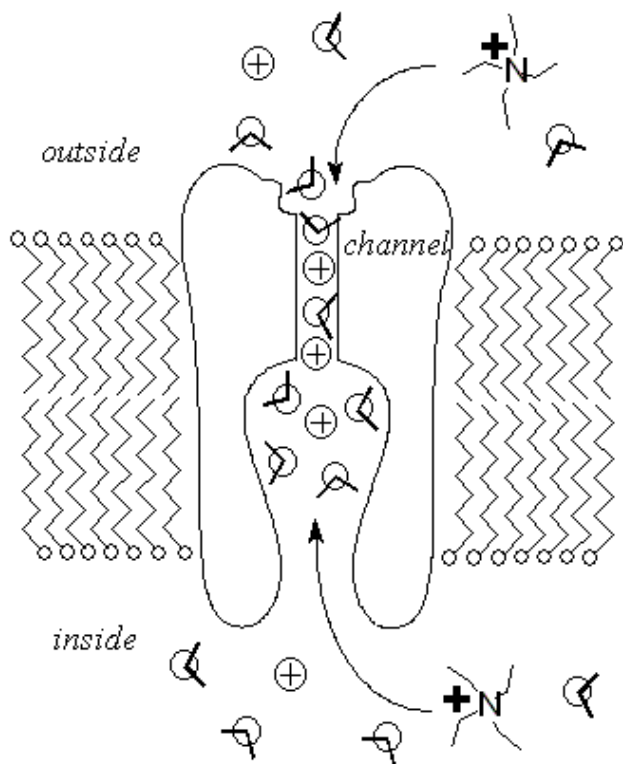
UPPSALA
UNIVERSITET



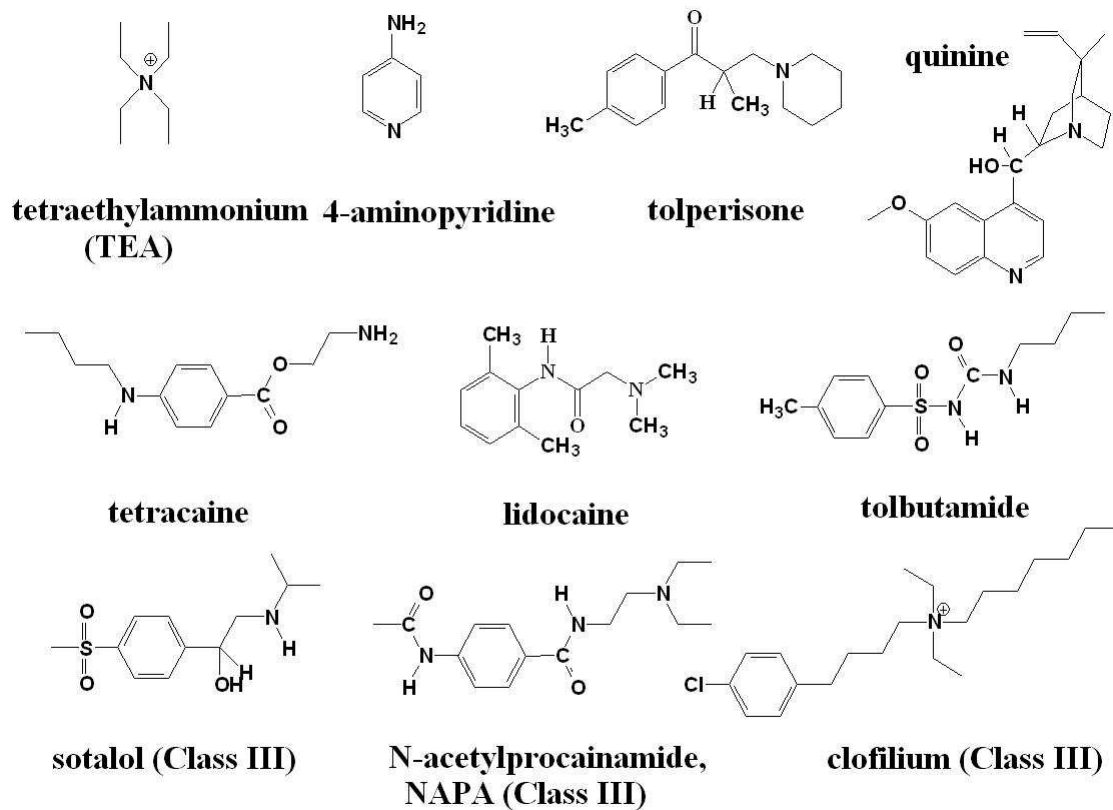
- Åqvist J. and Luzhkov V.B. *Nature* **404** (2000) 881.
- Luzhkov V.B. and Åqvist J. *BBA* **1481** (2000) 360.
- Luzhkov V.B. and Åqvist J. *BBA* **1548** (2001) 194.
- Luzhkov V.B. and Åqvist J. *BBA* **1747** (2005) 109.

Примеры блокаторов калиевых каналов и лекарственных соединений

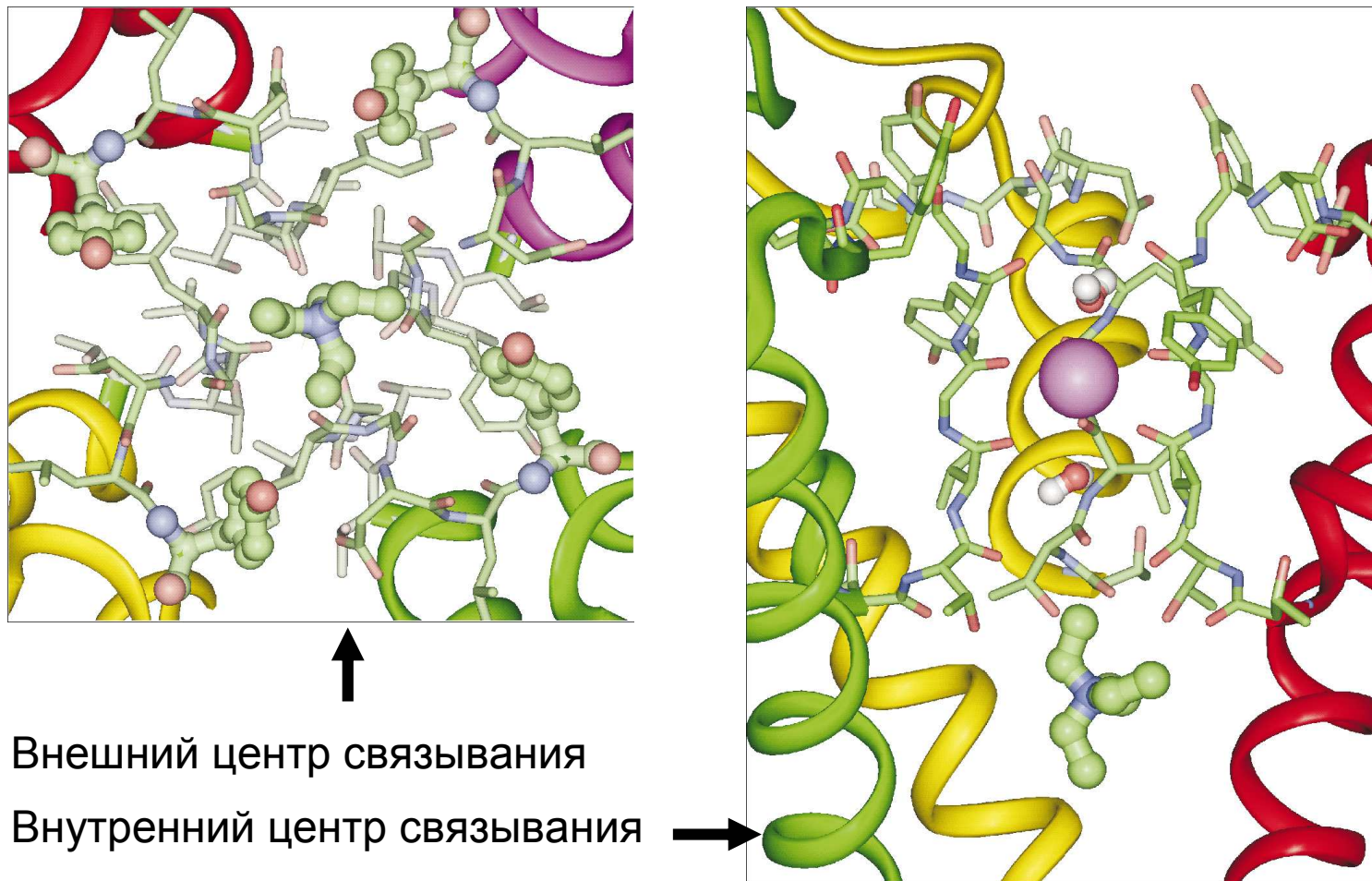
Пути связывания блокаторов



Примеры структур молекул блокаторов

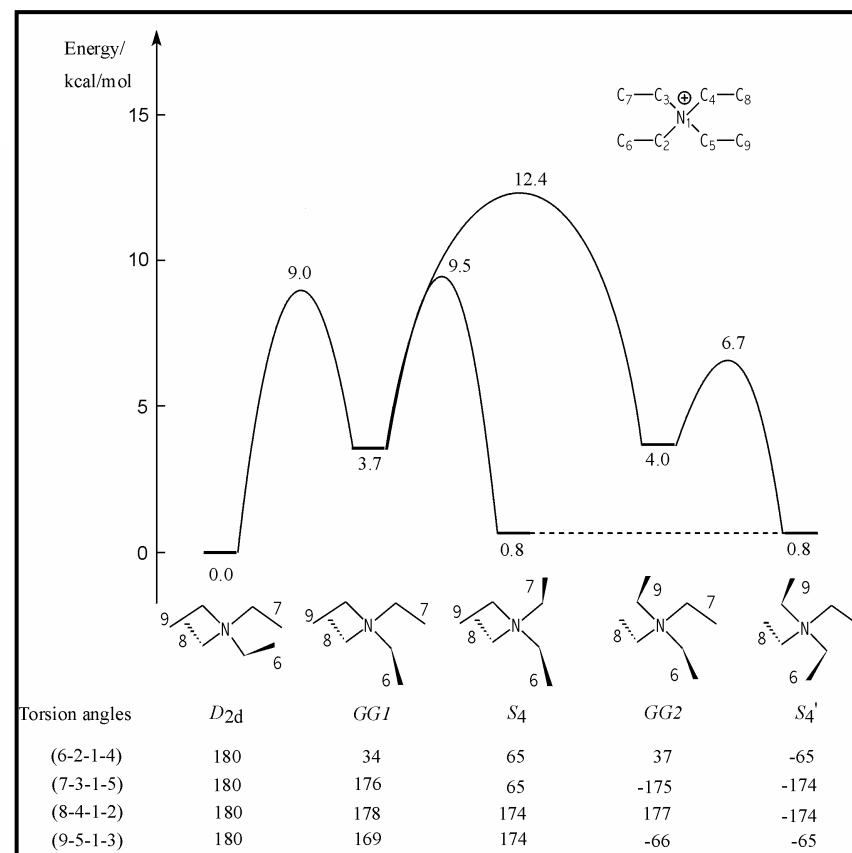
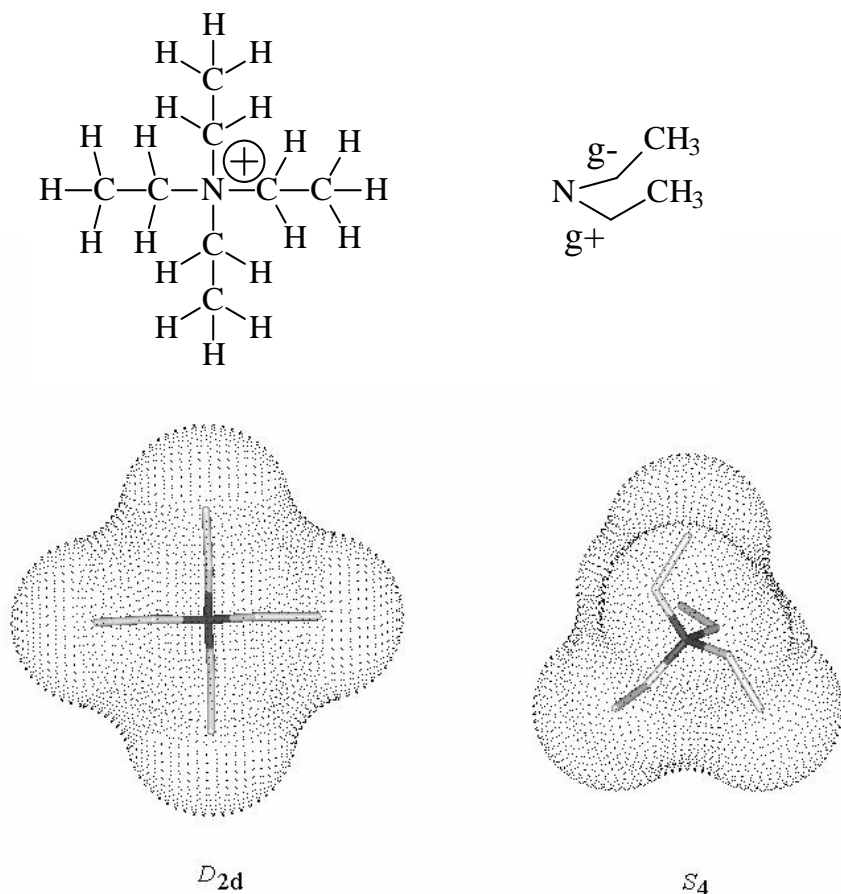


Докинг и молекулярная динамика тетраэтиламмония во внешнем и внутреннем центрах калиевого канала



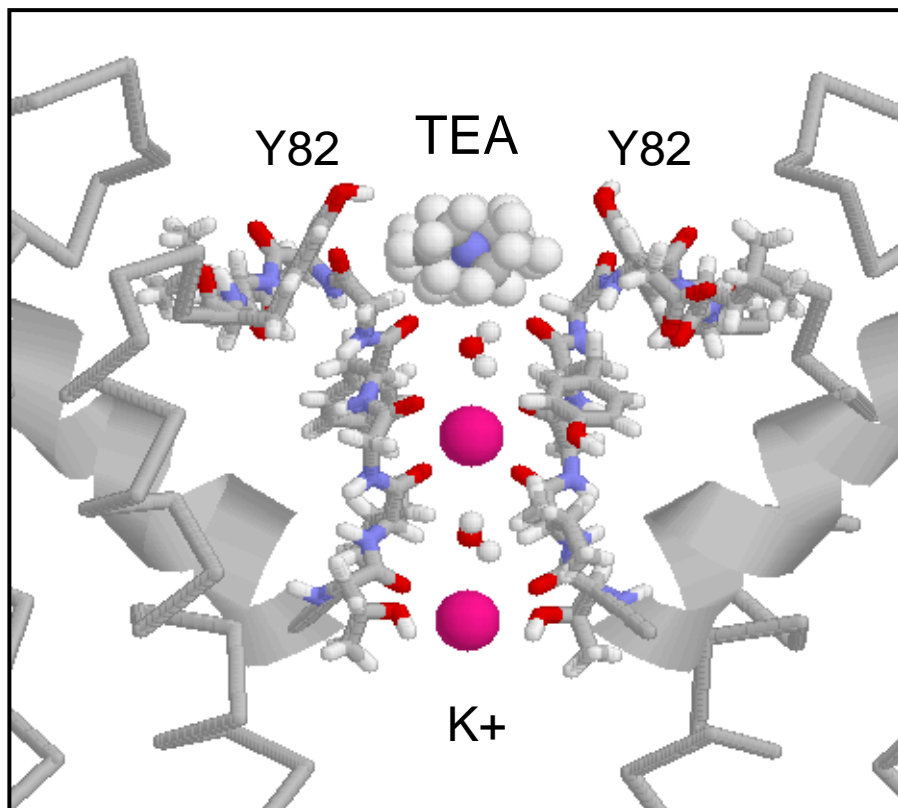
$$\Delta G_{bind} = \alpha(\langle V_{l-s}^{vdw} \rangle_{bound} - \langle V_{l-s}^{vdw} \rangle_{free}) + \beta(\langle V_{l-s}^{el} \rangle_{bound} - \langle V_{l-s}^{el} \rangle_{free})$$

Исследование конформаций ТЭА методами вычислительной химии и ЯМР

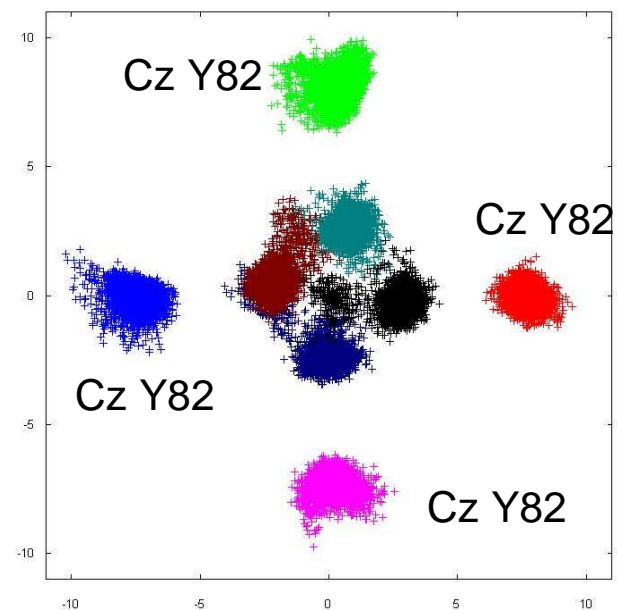


Luzhkov et al., *Phys.Chem.Chem.Phys.* 4 (2002) 4640.

Внешний комплекс D_{2d} ТЭА с КсА



МД D_{2d} ТЭА во внешнем месте связывания с КсА (1000 ps траектория)



Luzhkov et al., *FEBS Letters* (2003) v.554, p.159.

Трансформации четвертичных ионов аммония в водном окружении и активном центре

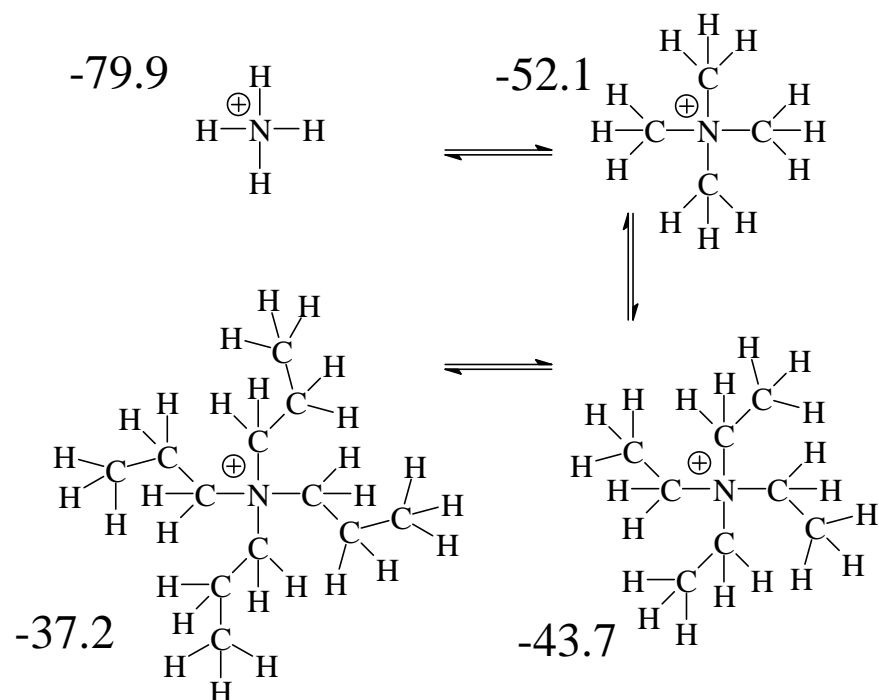
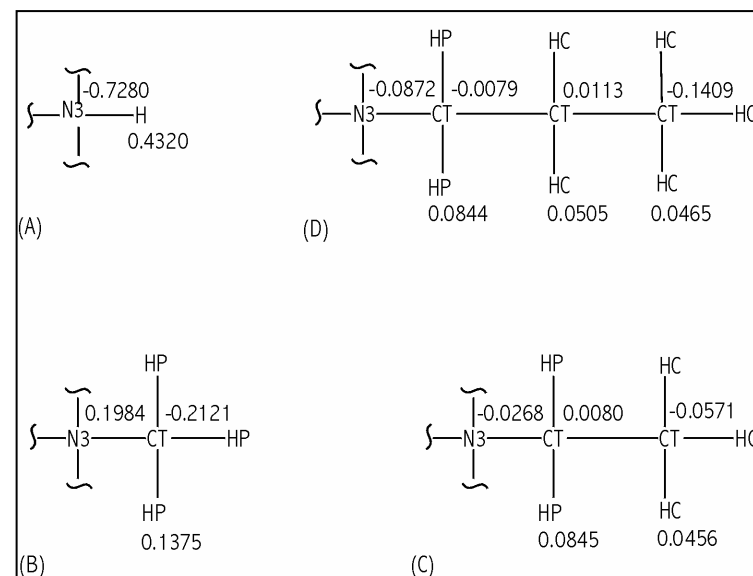
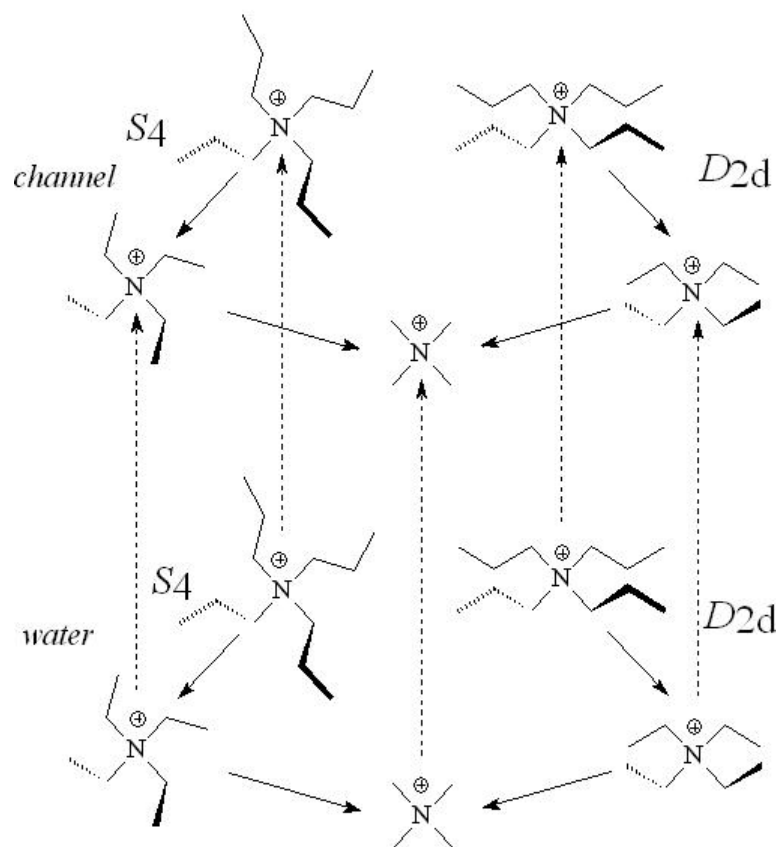


Схема мутаций и энергии сольватации (ккал/моль) ионов (*D2d*)



Заряды на атомах из квантовомеханических расчетов (Amber)

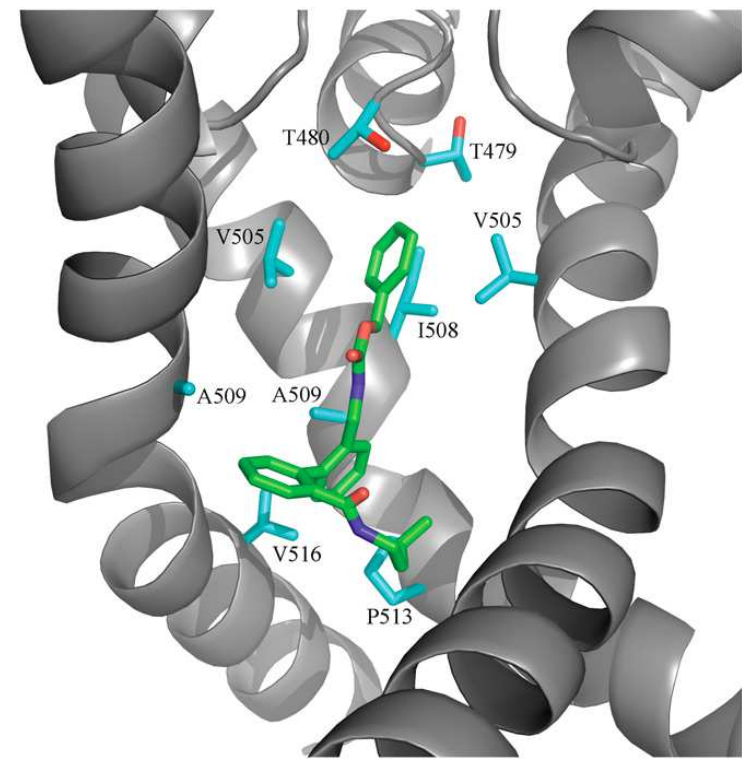
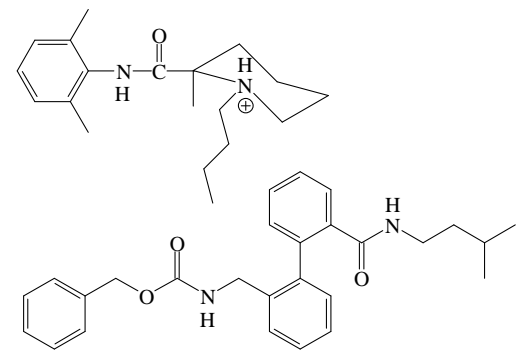
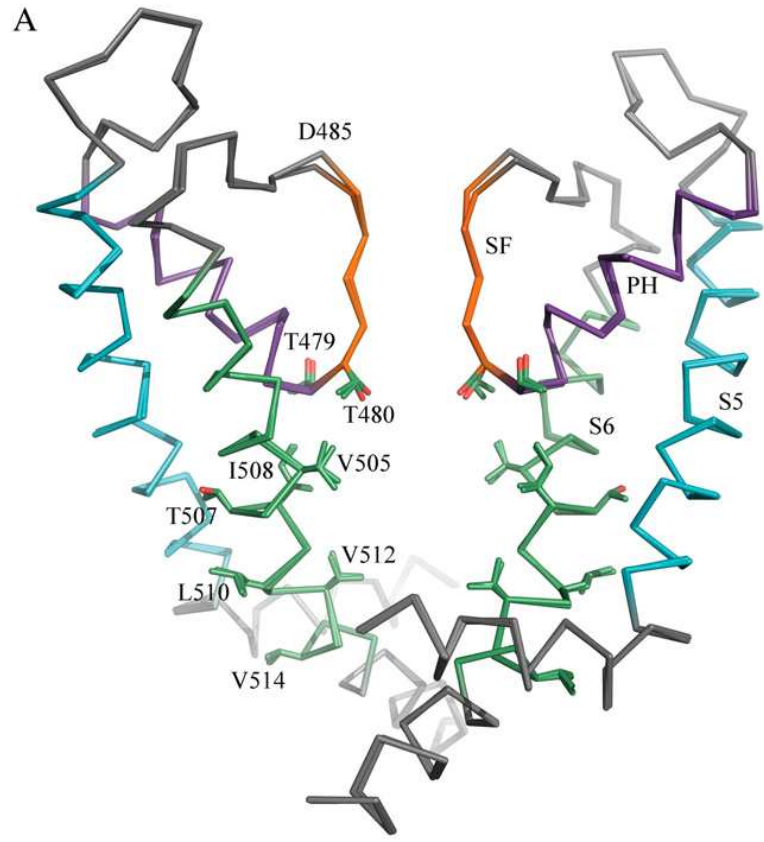
Корреляции структура-активность для внешнего связывания производных аммония с KcsA



энергия связывания	TMA	TEA	TPrA
IC50, mM абсолютная относительная	300 -0.7 (3.0)	2.0 -3.7 (0.0)	50 -1.8 (1.9)
абсолютная (AutoDock)	-3.0	-5.1 (<i>D2d</i>) -4.6 (<i>S4</i>)	-5.5 (<i>D2d</i>) -5.0 (<i>S4</i>)
относительная (FEP/MD)	2.44	0.00 (<i>D2d</i>) 3.79 (<i>S4</i>)	1.64 (<i>D2d</i>) 4.54 (<i>S4</i>)

Luzhkov et al., *FEBS Letters* (2003)
v.554, p.159.

Структура открытого состояния каналов Kv1.2 и Kv1.5 и пример комплекса с блокатором



B

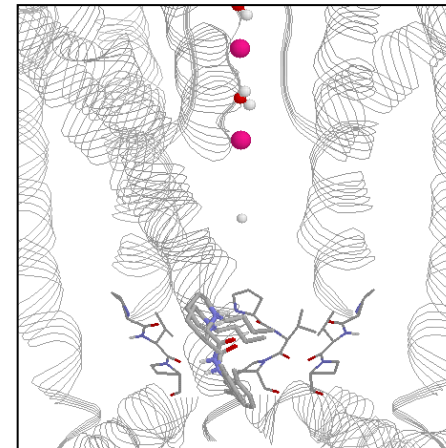
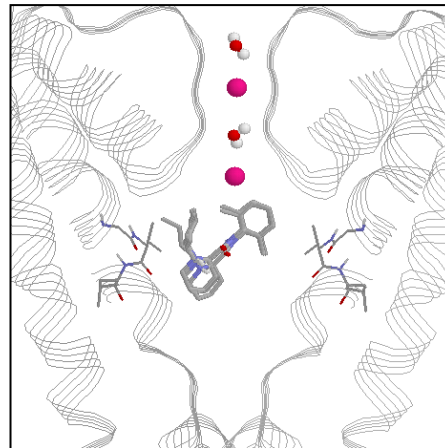
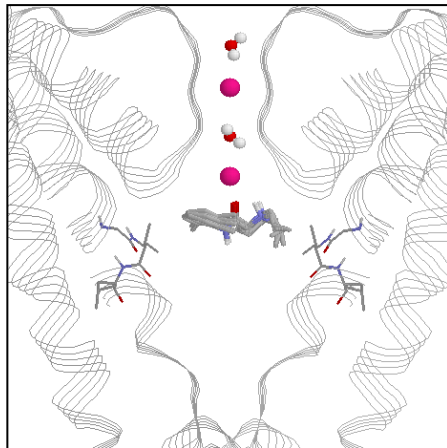
		<u>S5</u>		
Kv1.2	SKGLQILGQT	LKASMRELGL	LIFFLFIGVI	LFSSAVYFAE
Kv1.5	SKGLQILGKT	LQASMRELGL	LIFFLFIGVI	LFSSAVYFAE
		<u>P</u>	<u>SF</u>	<u>S6</u>
	ADERDSQFPS	IPDAFWWAVV	SMTTVGYGDM	VPTTIGGKIV
	ADNQGTHFSS	IPDAFWWAVV	TMTTVGYGDM	RPITVGGKIV
	<u>GSLCAIAGVL</u>	<u>TIALPVPVIV</u>	SNFNIFYHRE	T
	<u>GSLCAIAGVL</u>	<u>TIALPVPVIV</u>	SNFNIFYHRE	T

Комплексы модели Kv1.5 “PVP-изгиб” с бупивакаином

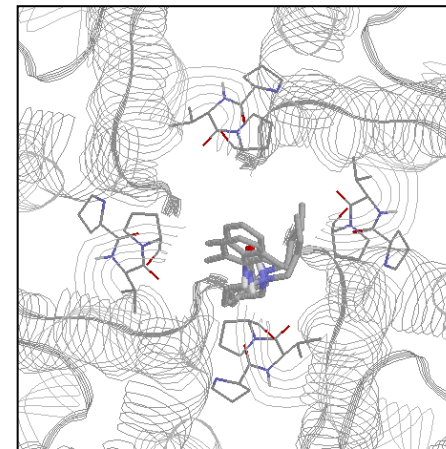
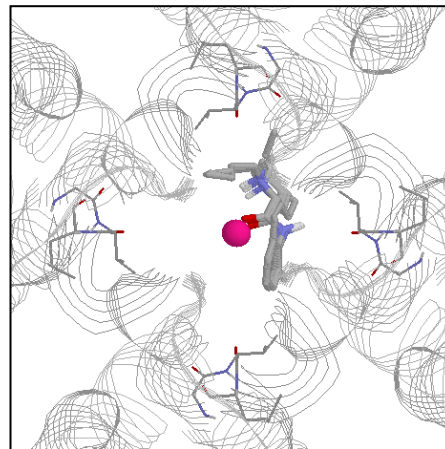
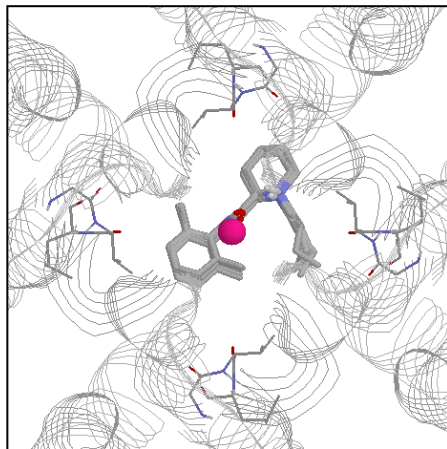
Устье фильтра

Центр полости

PVP-изгиб



Боковой
вид



Аксиаль-
ный вид

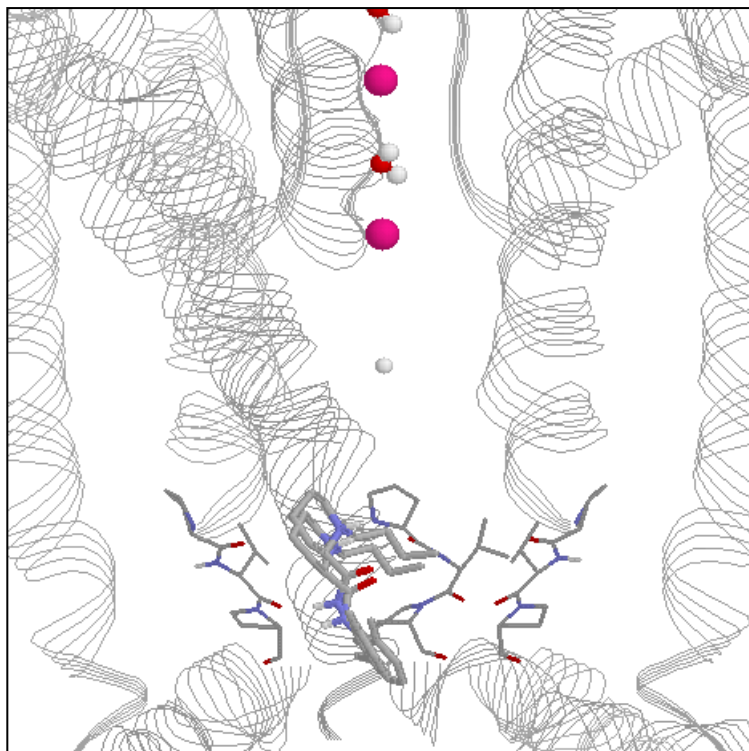
4.0 /-0.7

-4.3 /-5.3

-7.2 /-9.0

ΔG_{bind}
kcal/mol

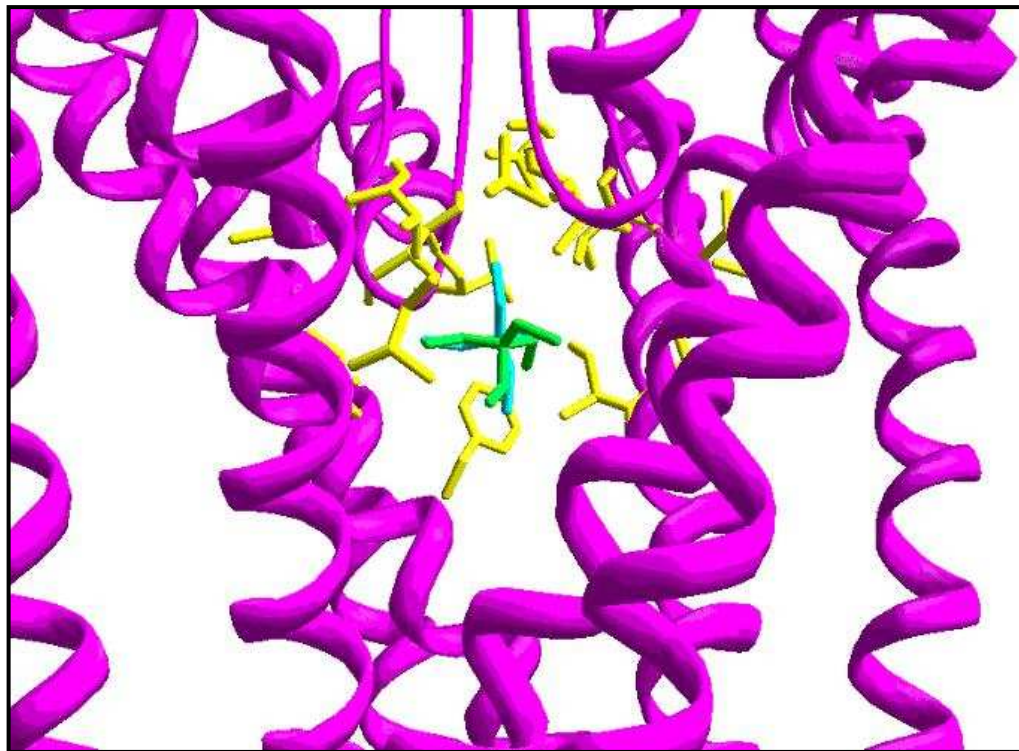
Internal complexes of bupivacaine and TEA with potassium channels



Experiment: $\Delta G_{\text{bind}} = -7.4$ kcal/mol

Calculation: $\Delta G_{\text{bind}} = -3.3 - -9.0$ kcal/mol

Luzhkov V.B., Nilsson J., Århem P.,
Åqvist J. *BBA* **1652** (2003) 35.



Experiment: $\Delta G_{\text{bind}} = -4.8$ kcal/mol

Calculation: $\Delta G_{\text{bind}} = -2.1 - -7.2$ kcal/mol

Luzhkov V.B., Åqvist J.
FEBS Letters **495** (2001) 191.

Выводы

- ❖ Из траекторий молекулярной динамики удастся определить разности свободных энергий состояний в сложных модельных биохимических системах**
- ❖ Расчеты свободных энергий позволяют судить о молекулярных механизмах биохимических процессов. В частности, удастся правильно описать блокаду каналов с помощью докинга, молекулярной динамики и FEP**
- ❖ В задачах по конструированию лекарств из расчетных значений свободных энергий возможно корректное определение влияния структурных параметров соединений на константы связывания**
- ❖ Вычисление свободных энергий технически сложно, требует значительных вычислительных затрат и рекомендуется для применения на завершающих стадиях поиска физиологически активных соединений**