

# Načrtovanje in sinteza učinkovin - VAJE

- Računalniško podprto načrtovanje učinkovin
  - 1. vaja
    - Filtriranje in priprava kemijskih knjižnic
    - Iskanje spojin v kemijskih knjižnicah na osnovi 2D in 3D podobnosti
  - 2. vaja
    - Virtualno reševanje in analiza vezave učinkovine v aktivno mesto
- Načrtovanje sinteze
  - 3. vaja
    - Alternativna sinteza izbrane zdravilne učinkovine – obvod patenta
- Kolokvija ni, je pa lahko kakšno vprašanje na izpitu
- Opravljene vaje pogoj za pristop k izpitu



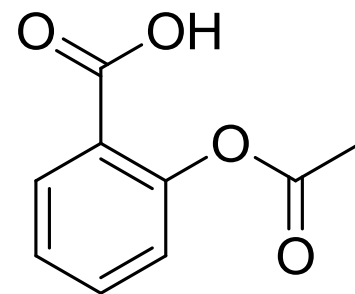
Katedra za farmacevtsko kemijo

# Filtriranje in priprava kemijskih knjižnic

Načrtovanje in sinteza učinkovin

# Računalniški zapisi molekul

- Kako predstavimo molekulo računalniku?
  - SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) koda:
    - C metan
    - CC etan
    - C=C eten
    - Oc1ccccc1 fenol
    - OC(=O)c1ccccc1OC(=O)C acetilsalicilna kislina
  - “Connection table” zapisi: npr.: sdf, mol2, pdb, ...



asa ← Ime molekule

OpenBabel10051108313D

x,y,z koordinate in tip atoma

```

13 13 0 0 0 0 0 0 0 0999 V2000
 1.8850 -1.0360 -0.1120 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 0.8070 -0.4630 0.5610 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 2.9210 -1.6310 0.6080 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 0.7640 -0.4840 1.9550 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 2.8780 -1.6520 2.0020 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 1.8000 -1.0790 2.6760 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 3.9700 -2.2780 2.7350 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 2.3310 0.0260 4.6460 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 2.2130 -0.0810 6.1380 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 3.8680 -2.8320 3.8330 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 2.8710 0.9580 4.0640 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 5.1550 -2.1930 2.0720 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 1.7390 -1.0910 4.0370 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

```

```

1 2 2 0 0 0 0
1 3 1 0 0 0 0
2 4 1 0 0 0 0
3 5 2 0 0 0 0
4 6 2 0 0 0 0
5 6 1 0 0 0 0
5 7 1 0 0 0 0
6 13 1 0 0 0 0
7 10 2 0 0 0 0
7 12 1 0 0 0 0
8 9 1 0 0 0 0
8 11 2 0 0 0 0
8 13 1 0 0 0 0

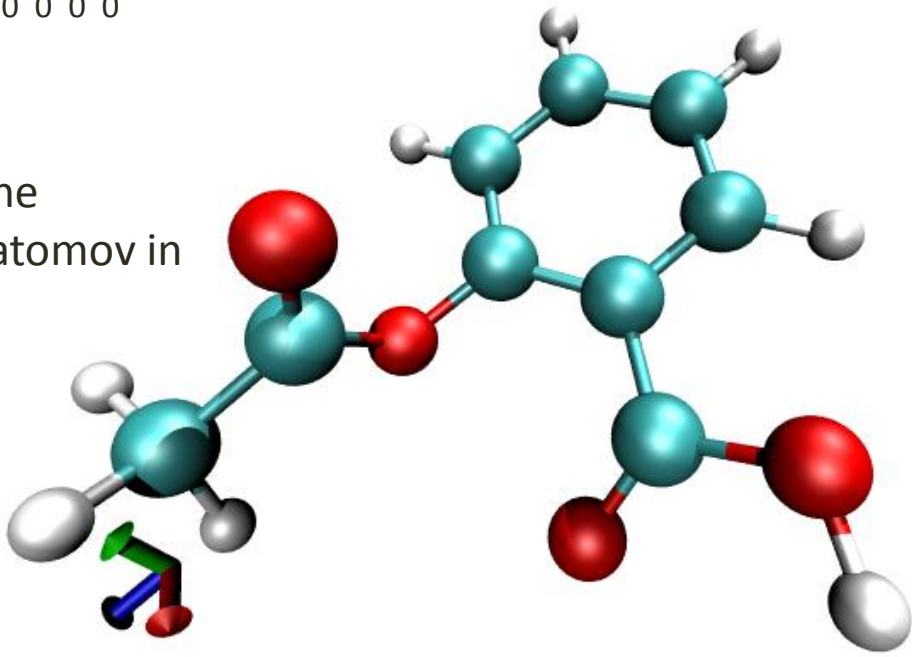
```

Medsebojne  
povezave atomov in  
tip vezi

```

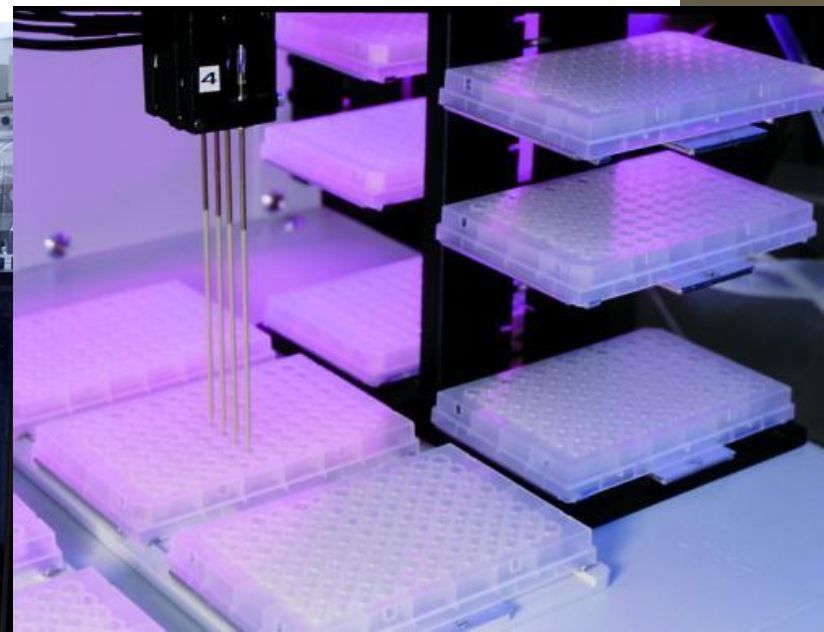
M END
> <COMPND>
asa

```



# Reševanje visokih zmogljivosti (HTS)

- Robotsko podprto iskanje novih spojin vodnic
- Robot z biokemijskimi metodami preveri aktivnost tudi več 10000 spojin na določeni tarči na dan



# Virtualno rešetanje (Virtual Screening -VS)

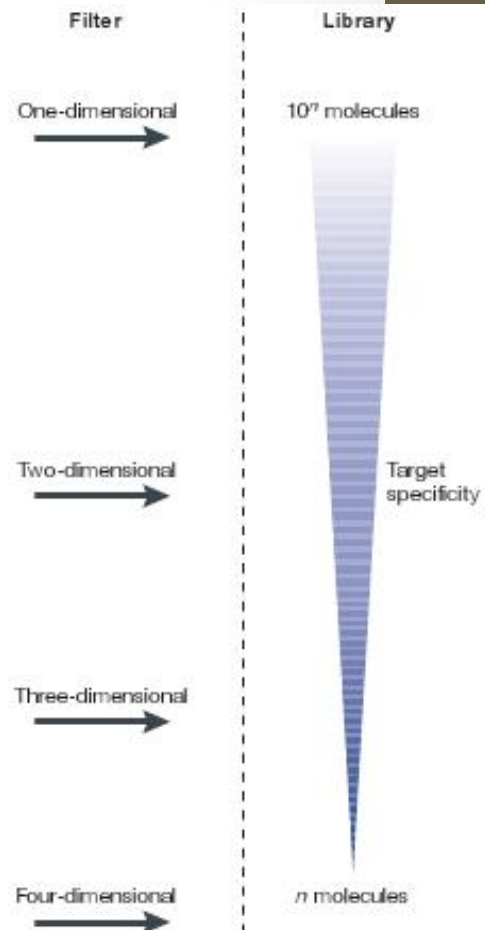
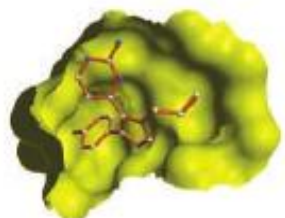
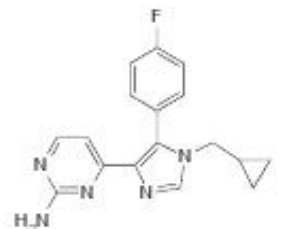
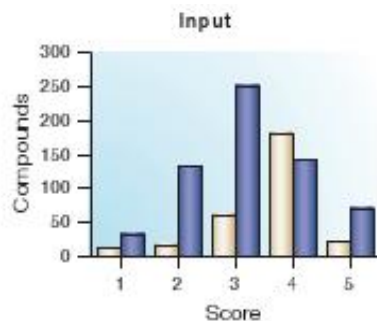
- Zakaj ga sploh potrebujemo?
  - Farmacevtska podjetja v glavnem iščejo nove učinkovine s pomočjo HTS, ki pa je drag in časovno zahteven
  - Knjižnica spojin farmacevtskega podjetja lahko vsebuje tudi nekaj milijonov spojin
  - Dejstvo je, da vse spojine gotovo niso primerne kot zdravilne učinkovine in ravno teh se z VS znebimo

# Virtualno rešetanje

- Nadomestek visoko zmogljivega rešetanja (High Throughput Screening - HTS)
- Omogoča pripravo boljših knjižnic spojin za HTS (obogatitev knjižnic)
- S pomočjo virtualnega rešetanja izločimo spojine, ki skoraj gotovo niso aktivne
- Rezultat je knjižnica spojin skrčena iz nekaj milijonov na nekaj 1000, katero lahko potem testiramo v laboratoriju

# Virtualno rešetanje

- Več oblik:
  - Filtriranje s pomočjo osnovnih deskriptorjev
  - 2D rešetanje na osnovi podobnosti
  - 3D rešetanje na osnovi podobnosti
  - Strukturno podprto virtualno rešetanje





# 1. Filtriranje na osnovi preprostih deskriptorjev

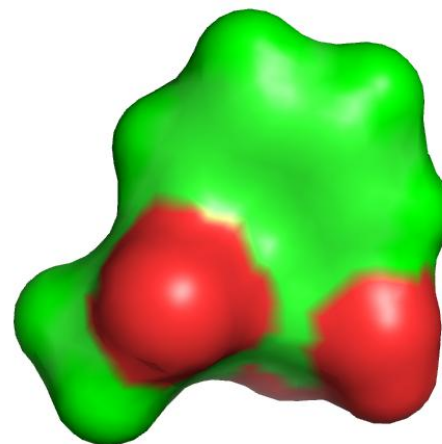
- Najbolj preprosta metoda in zato uporabna v najbolj zgodnjih fazah priprave knjižnice spojin
- Računsko nezahtevno (1000000 spojin v nekaj urah na povprečnem računalniku)
- Temelji na uporabi preprostih deskriptorjev (MW, logP, PSA, ...)

## 1.2. Deskriptorji

- Deskriptor je vsaka eksperimentalno določena ali izračunana številčna vrednost, ki je povezana s strukturo molekule
- Molekulski deskriptor je končni rezultat logičnega in matematičnega postopka, ki pretvori kemično informacijo, zapisano (kodirano) v simbolni kemični formuli, v uporabno številčno vrednost

# 1.2. Deskriptorji

- **MW** – direktno odvisena od števila in tipa atomov
- **Porazdelitveni koeficient (P oz. LogP)**
  - Povezan z ADME lastnostmi!
- **Ploščina polarne površine molekule (PSA)**
  - Prehajanje skozi membrane (črevesni epitelij, hematoencefalna bariera)
  - Definirana je kot vsota površin polarnih atomov (O, N, S) v molekuli.
- **Število donorjev H-vezi**
- **Število akceptorjev H-vezi**
- **Število vrtljivih vezi**
- Obstaja že več kot 1000 deskriptorjev!

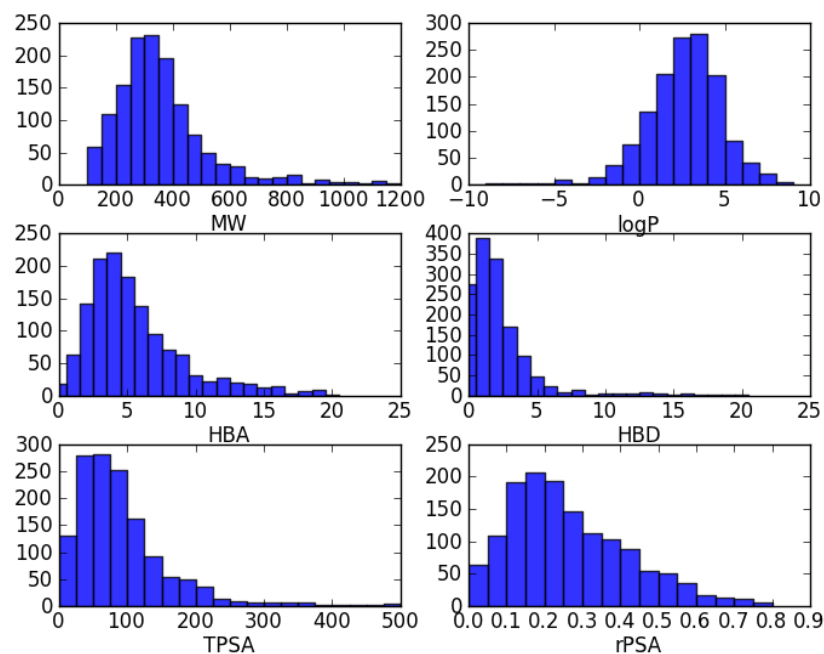


# 1.3. Pravila Lipinskega

- HTS ni prinesel željenih rezultatov (spojine predvsem niso imele ugodnih ADME lastnosti)
- Lipinski razišče, katere lastnosti definirajo zdravilne učinkovine
- S sodelavci analizira prek 2000 znanih ZU
- S pomočjo rezultatov sestavijo preprosta pravila, ki veljajo za večino ZU

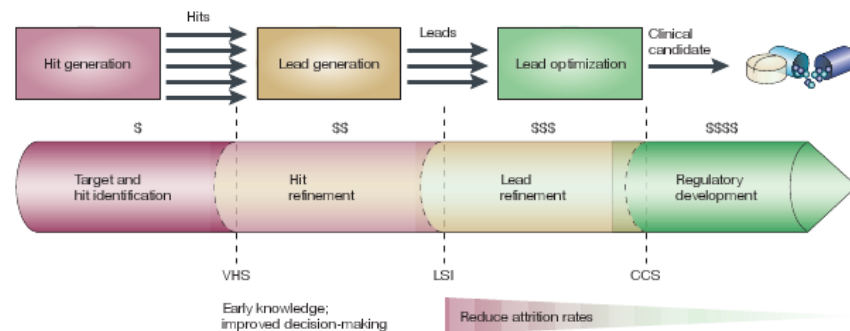
# 1.3. Pravila Lipinskega

- $MW < 500$
- $-2 < \log P < 5$
- Donorji H-vezi  $\leq 5$
- Akceptorji H-vezi  $\leq 10$
- Dodatne omejitve:
  - Ar obroči  $\leq 5$
  - Št. vrtljivih vezi  $\leq 5$
- Ta pravila definirajo t.i. “drug-like” molekule



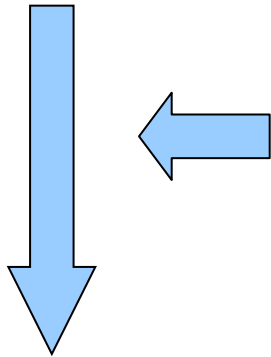
# 1.4. “Lead-like” pravila

- Z analizo parov spojina vodnica – ZU so ugotovili, da pride pri optimizaciji spojine vodnice do povečanja MW, logP, ...
- Zato sestavijo “lead-like” pravila:
  - $MW < 450$
  - $-3,5 < \log P < 4,5$
  - Donorji H-vezi  $\leq 4$
  - Akceptorji H-vezi  $\leq 10$
  - Št. Ar obročev  $\leq 4$



# 1.5. Filtriranje

**~1000000  
spojin**



**~500000  
spojin**

Začetna knjižnica spojin (vsebuje vse spojine nekega podjetja, vse komercialno dostopne spojine..)

Definiramo lastnosti, katere želimo, da imajo spojine za določen projekt (MW, logP, itd...)

Nova knjižnica spojin, kjer so samo spojine, ki imajo take lastnosti, kot jih želimo.

# 1.5. Filtriranje

- Rezultat:
  - Manjša knjižnica (cenejši HTS)
  - Če se bo katera od spojin iz nove knjižnice izkazala za aktivno v nadaljih fazah, skoraj gotovo ne bo imela problematičnih ADME lastnosti



# OpenEye



- <http://www.eyesopen.com/>
- programski paket za molekularno modeliranje in kemijsko informatiko
- omogoča virtualno reševanje na osnovi strukture liganda in strukturno podprto virtualno reševanje
  - FILTER – filtriranje kemijskih knjižnic spojin
  - QUACPAC – generiranje tautomerov in določitev naboja
  - OMEGA – generiranje 3D konformerov molekul
  - ROCS – iskanje ligandov na osnovi 3D podobnosti
  - EON – primerjava elektrostatske podobnosti molekul
  - BROOD – iskanje bioizosternih zamenjav
  - FRED – sidranje ligandov
  - VIDA – grafično pregledovanje/prikaz rezultatov

# DrugBank

- <http://drugbank.ca/>

**DRUGBANK**  
Open Data Drug & Drug Target Database



- podatkovna baza zdravilnih učinkovin in njihovih tarč
  - 6707 učinkovin
    - struktura
    - farmakološki podatki
    - farmakoekonomika
    - fizikalno-kemijske lastnosti
    - literatura
  - 4228 proteinov
    - tarče učinkovin
    - encimi
    - transporterji

- Vsaka skupina dobi svojo učinkovino:
- Lovastatin
- Celekoksib
- Gefitinib
- Nifedipin
- Klorokin
- Diazepam
- Paracetamol
- Omeprazol

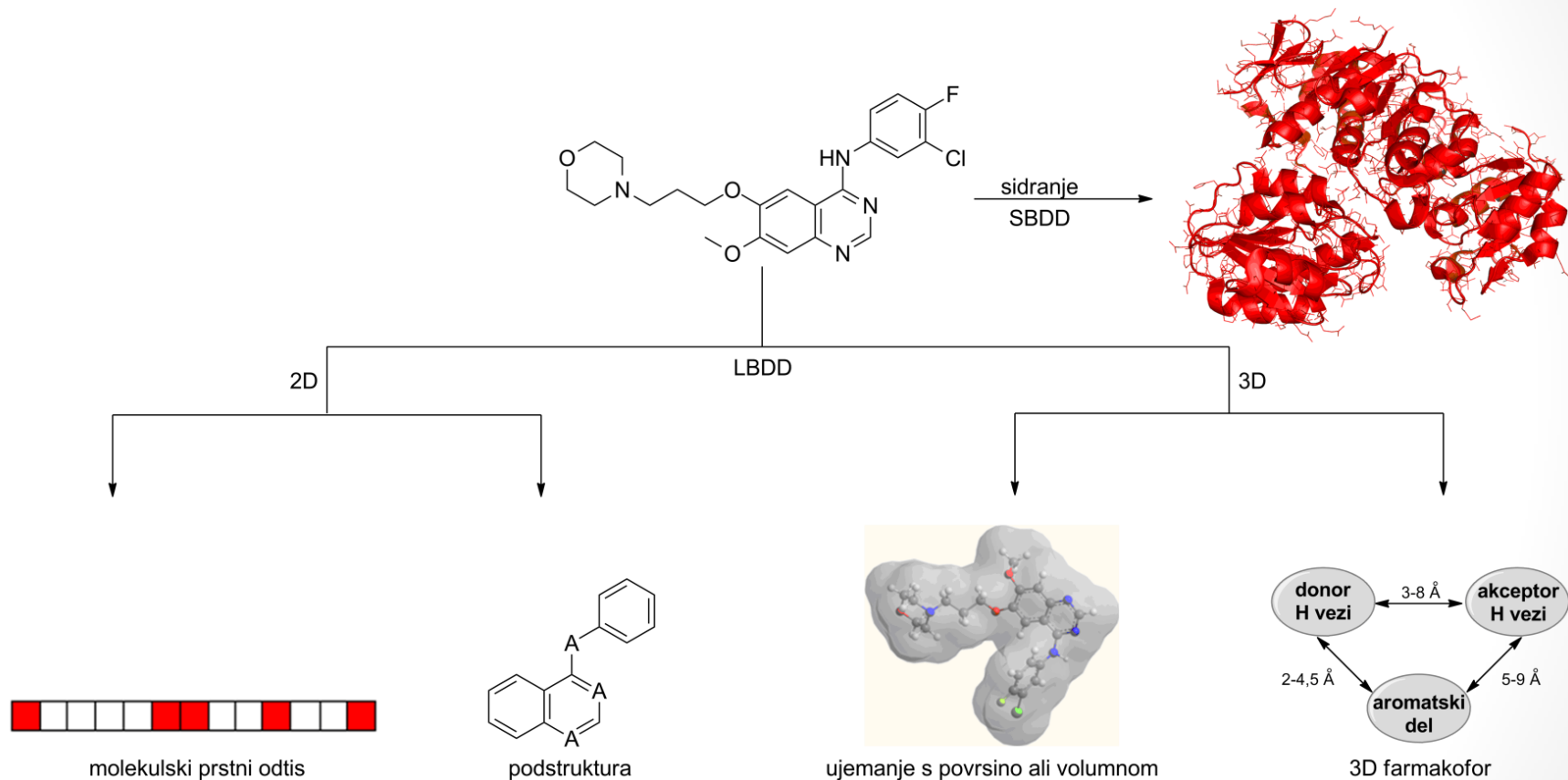


Katedra za farmacevtsko kemijo

# Iskanje spojin v kemijskih knjižnicah na osnovi 2D in 3D podobnosti

Načrtovanje in sinteza učinkovin

# 2. Rešetanje na osnovi liganda



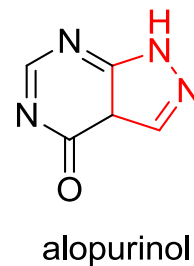
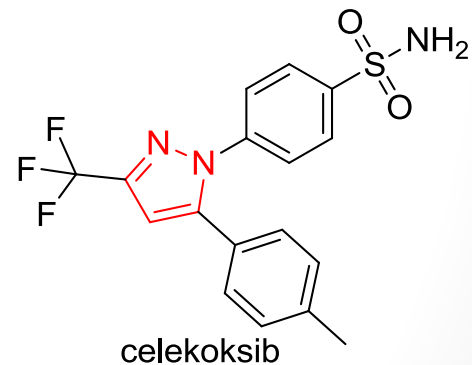
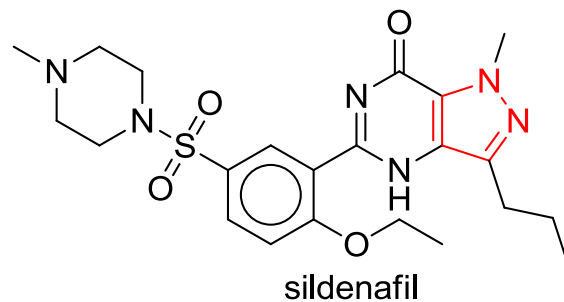
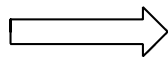
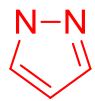
- 2D metode
- 3D metode

## 2. Rešetanje na osnovi liganda

- Glavni namen – najti spojine, ki so podobe izhodni spojini ob predpostavki, da imajo spojine s podobno strukturo podobno aktivnost
- Izhodna spojina (predloga): inhibitor, substrat, agonist, antagonist
- Uporabimo, če ni znana struktura tarče na katero deluje spojina oz. če hočemo dodatno obogatiti knjižnico za HTS

# 2.0. Rešetanje na osnovi podstrukture

- Iščemo spojine ki imajo točno določen strukturni element – običajno nas zanima skelet
- Primer: predloga pirazol



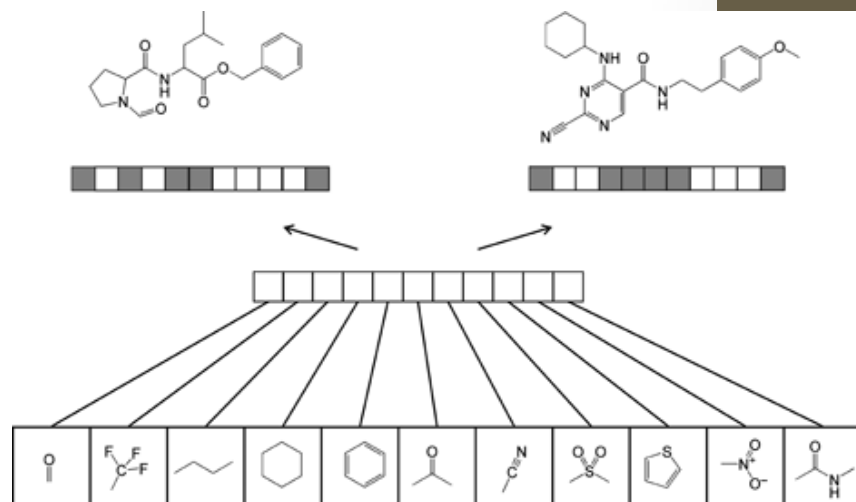
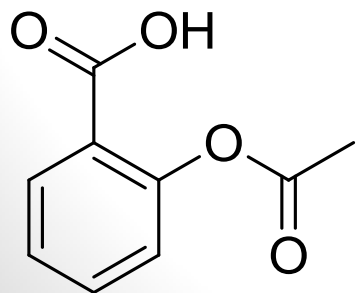
# 2.1. 2D rešetanje na osnovi liganda

- Iščemo spojine z nekim skeletom ali pa spojine, ki so strukturno podobne izhodni spojini (predlogi)
- Algoritem išče strukturne elemente, podobno kot pri iskanju na osnovi podstrukture
- Spojine so predstavljene kot binarni bitni zapisi (“fingerprints”), vsak bit predstavlja strukturni element
- Več bitov kot imata dve spojini skupnih, bolj sta si podobni
- Merilo za podobnost je **Tanimotov index**



# 2.1. 2D rešetanje na osnovi liganda

- MACCS (Molecular ACCess System)
- Na podlagi vprašanj dodeli računalnik molekuli bitni zapis
  - Primer:
    - Vsebuje 4 O? Da -> 1
    - Vsebuje aromatski sistem? Da -> 1
    - Vsebuje S-S? Ne -> 0
    - Vsebuje estersko vez? Da -> 1
    - Itd..
  - Dobimo: 1101



Substructure is present  or absent

# 2.1. 2D rešetanje na osnovi liganda

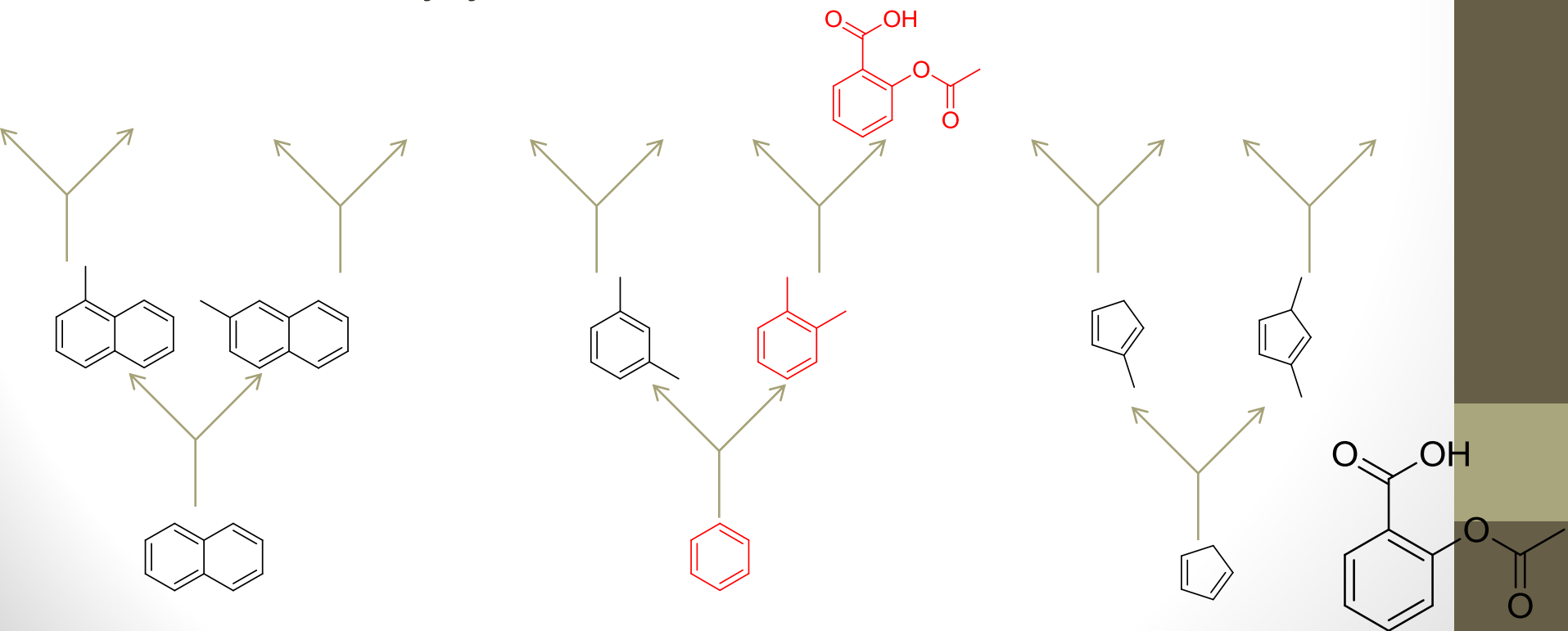
- Če želimo primerjati dve spojini A in B, izračunamo “fingerprint” za obe in skupni fingerprint C

struct A:	00010100010101000101010011110100	13 bits on (A)
struct B:	00000000100101001001000011100000	8 bits on (B)
A AND B:	00000000000101000001000011100000	6 bits on (C)

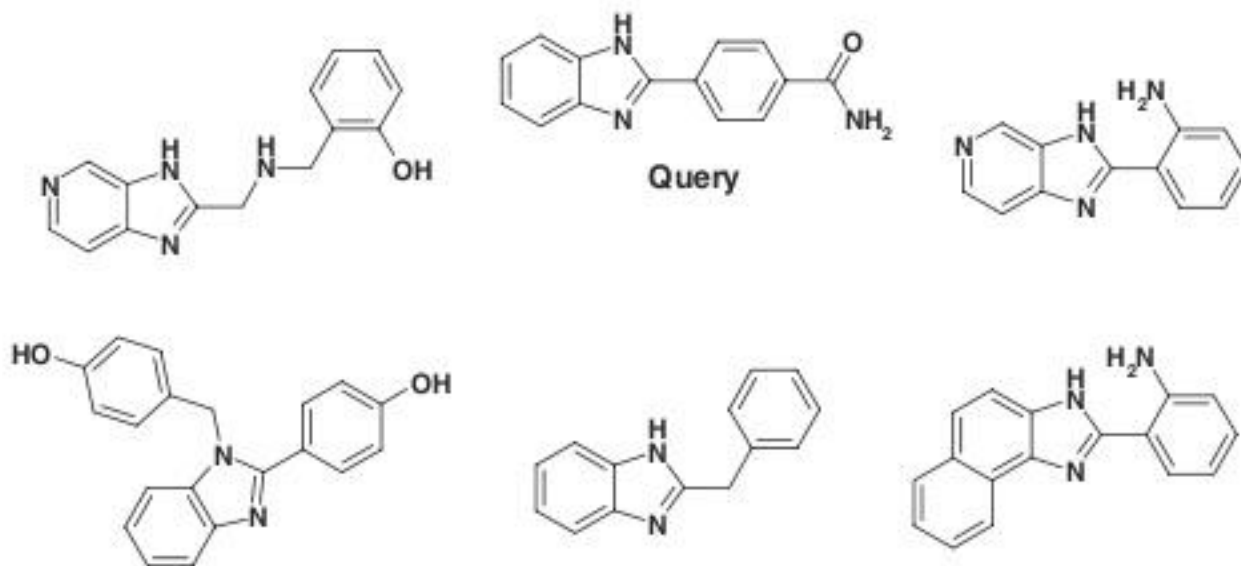
- Podobnost opišemo s Tanimotovim koeficientom:
- $T_i = C / (A + B - C) = 6 / (13 + 8 - 6) = 0,4$
- Vrednosti Tanimotovega koeficienta so med 0 in 1

# 2.1. 2D rešetanje na osnovi liganda

- FTrees
  - Knjižnica shranjena v drevesni strukturi
  - Ker programu ni treba iskati po celi knjižnici, ampak samo po določeni veji, je zelo hiter



# 2.1. 2D rešetanje na osnovi liganda

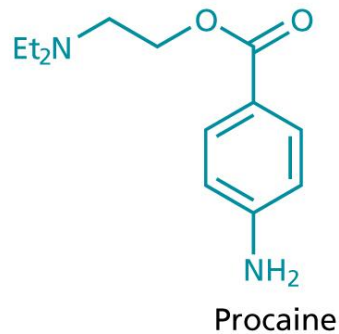
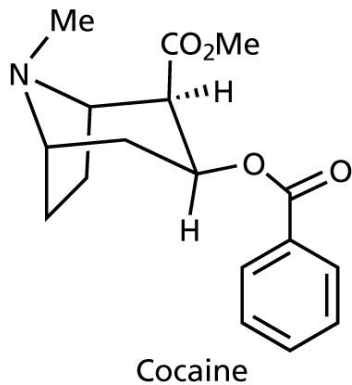


**Figure 8.3** Example of a 2D similarity search, showing a query molecule and five of its nearest neighbors. The similarity measure for the search is based on 2D fragment bit-strings and the Tanimoto coefficient.

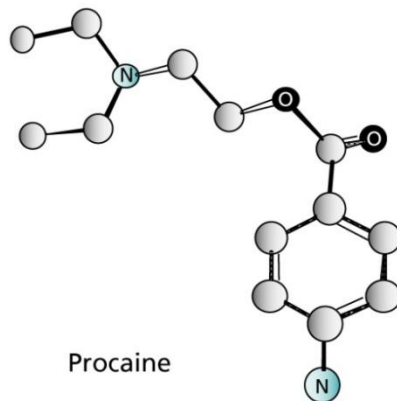
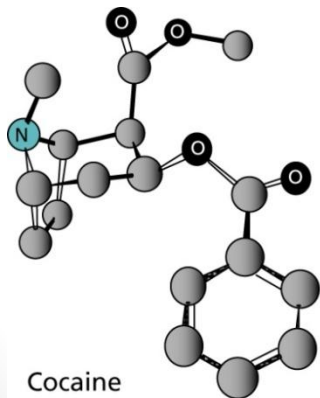
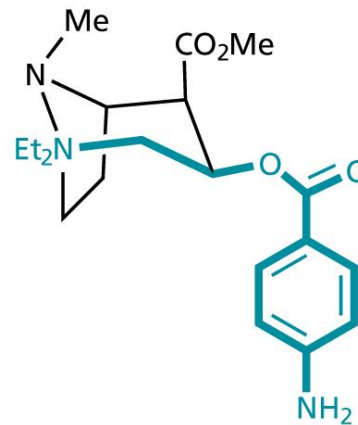
- Primer knjižnic, ki so prosto dostopne na internetu:
  - <http://zinc.docking.org>
  - <http://www.emolecules.com/>

# 2.2. 3D rešetanje na osnovi liganda

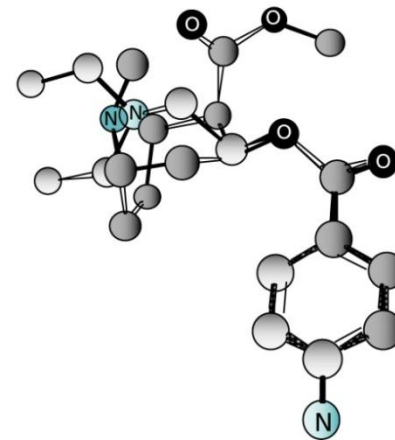
- Zakaj 2D včasih ni dovolj?
- Molekule so 3D objekti!



2D  
overlay

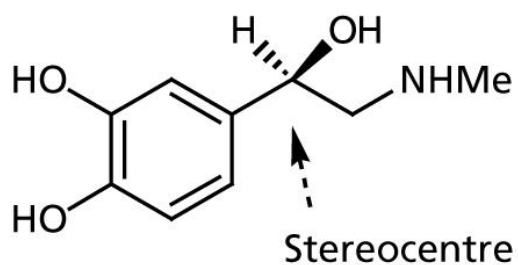


Overlay

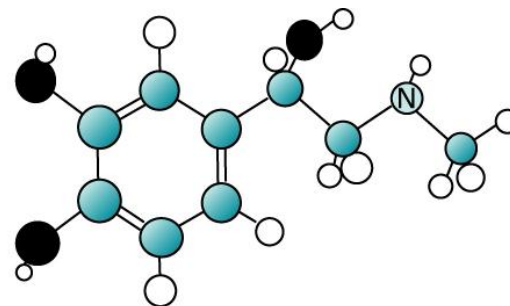


## 2.2. 3D rešetanje na osnovi liganda

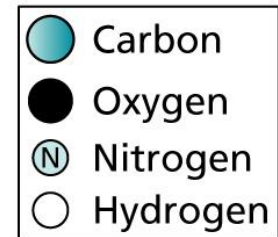
- Spojine morajo biti shranjene v 3D obliki
- Pretvorba iz 2D v 3D je običajno narejena s pomočjo molekulske dinamike (minimizacija)



Prepared in ChemDraw

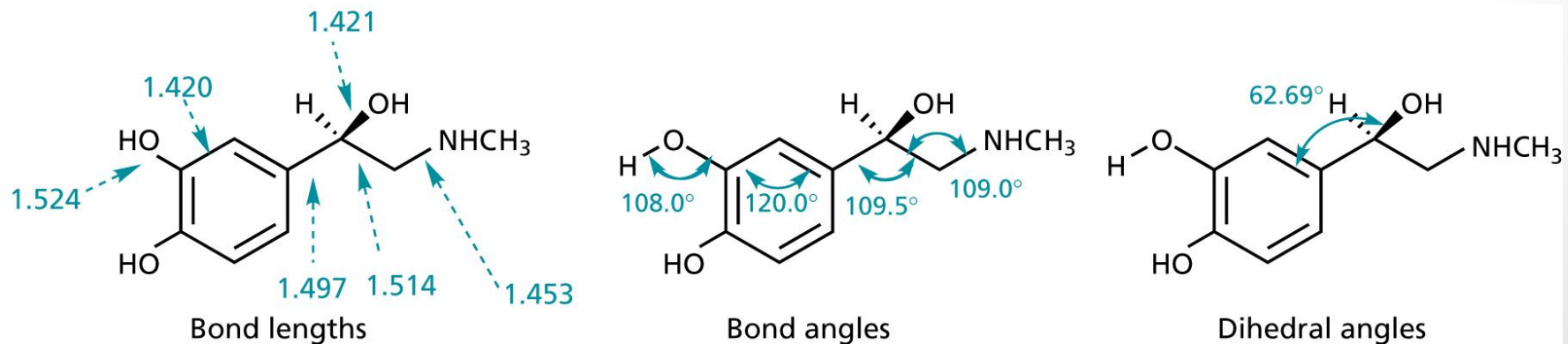


Converted to 3D in Chem3D



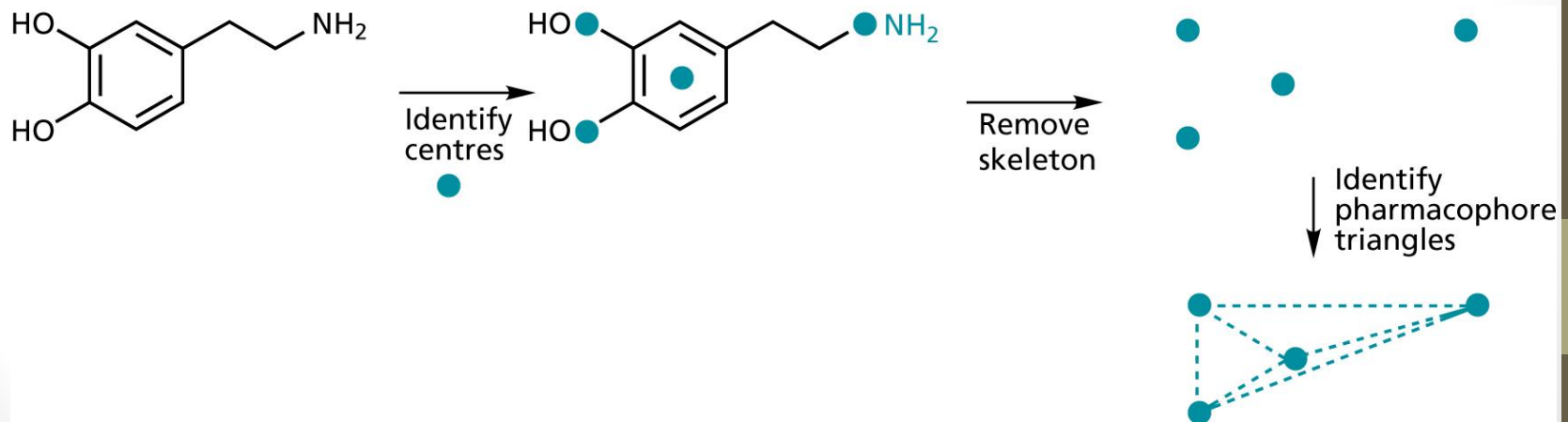
## 2.2. 3D rešetanje na osnovi liganda

- Dolžine vezi, koti med atomi in možna odstopanja so eksperimentalno določeni
- S pomočjo MD najdemo konformacijo, ki je najbolj ugodna, torej je seštevek energijskih prispevkov kotov med atomi in dolžin vezi najmanjši (energetski minimum)



## 2.2. 3D rešetanje na osnovi liganda

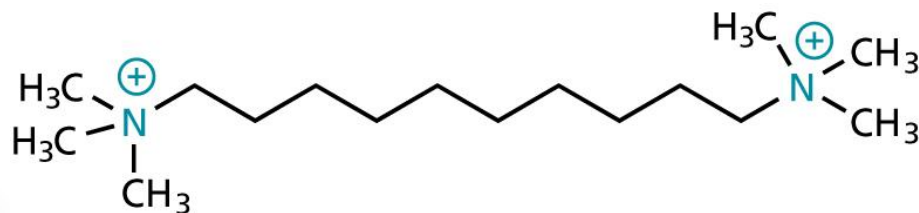
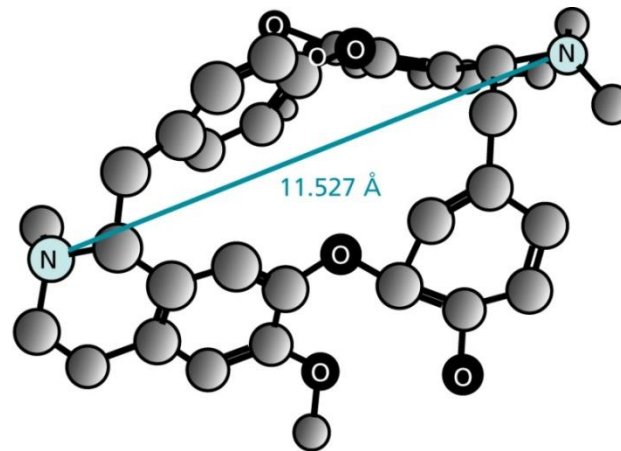
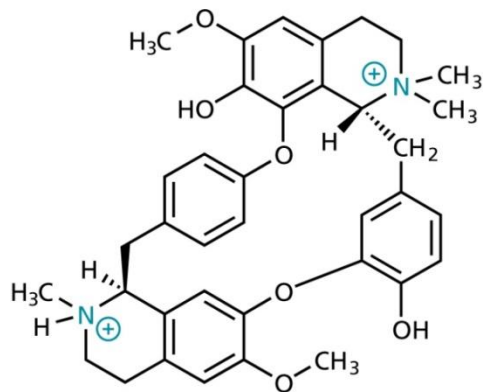
- Najbolj običajen način so **farmakoforne točke**
- Definiramo farmakofor, program poišče vse spojine, ki ustrezajo temu farmakoforu
- Primer programa: UNITY, Tripos Inc.





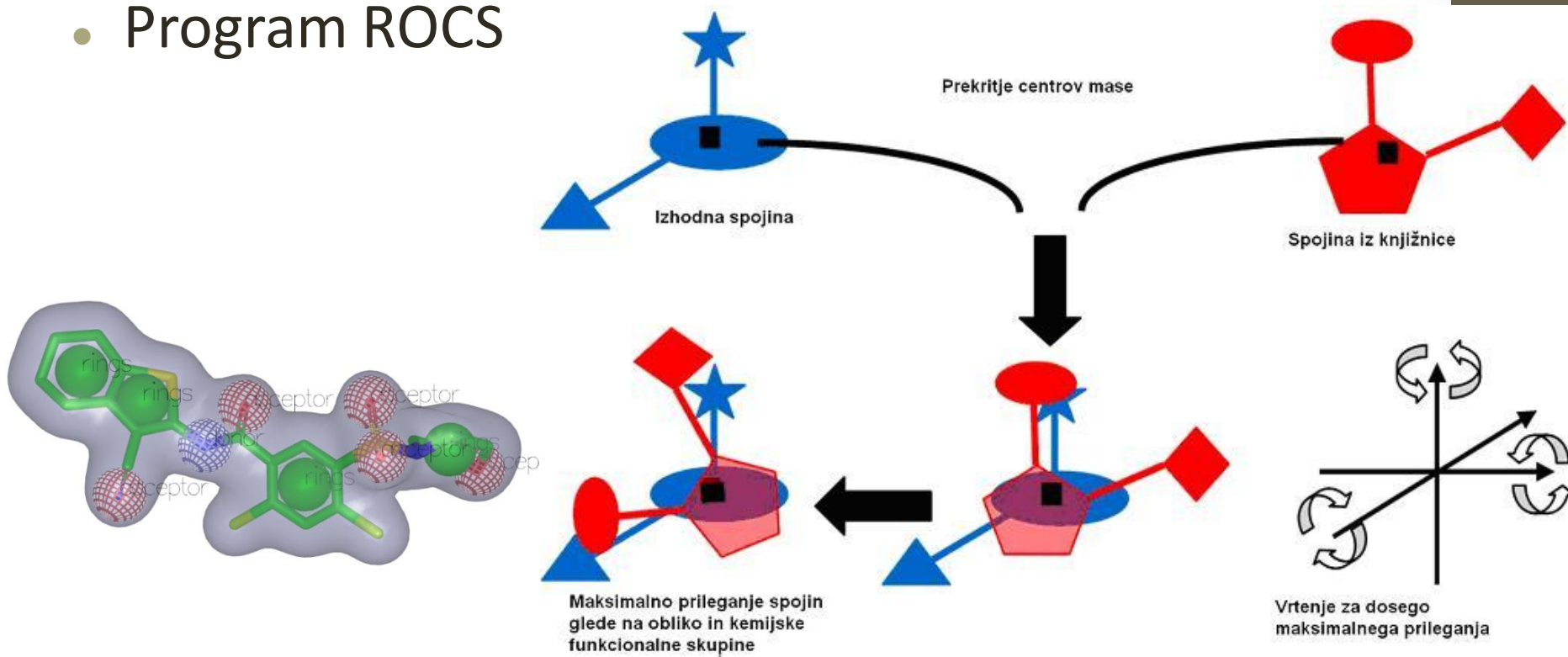
## 2.2. 3D rešetanje na osnovi liganda

- Zadetki, ki jih dobimo na ta način se lahko med seboj zelo razlikujejo. Pomembno je samo, da ustrezajo farmakoforu



# 2.2. 3D rešetanje na osnovi liganda

- Drugi način je **primerjava volumnov, oblike in barve** (color matching – H-akceptorji, H-donorji, obročni sistemi) molekul
- Program ROCS



## 2.2. 3D rešetanje na osnovi liganda

- Prednosti:
  - Bolj natančno, kot 2D rešetanje
  - Dobimo strukturno različne spojine (scaffold hopping)
- Slabosti:
  - Časovno bolj zahtevno
  - Moramo poznati vsaj osnoven SAR, da lahko definiramo farmakofofor
  - Ni rečeno, da je aktivna konformacija enaka minimizirani

- Vsaka skupina dobi svojo učinkovino (priporočen nivo podobnosti pri 2D iskanju)
- Lovastatin (0,8)
- Celekoksib (0,8)
- Gefitinib (0,7)
- Nifedipin (0,7)
- Klorokin (0,7)
- Diazepam (0,8)
- Paracetamol (0,8)
- Omeprazol (0,8)