

Mgr inż. Karol Kamel

Warszawa, 25 stycznia 2013 r.

Pracownia Teorii Biopolimerów

Wydział Chemii

Uniwersytet Warszawski

Autoreferat rozprawy doktorskiej pt.:

Modelowanie molekularne procesów dokowania – struktura i oddziaływania

Promotor rozprawy: prof. dr hab. Andrzej Koliński

Choroby nowotworowe stanowią znaczący procent chorób cywilizacyjnych i są jedną z głównych przyczyn zgonów w krajach rozwiniętych. Opracowanie skuteczniejszych środków terapeutycznych jest zatem jednym z priorytetowych zadań oraz wielkim wyzwaniem, które stoi przed współczesną chemią medyczną.

W niniejszej rozprawie, zastosowałem metody modelowania molekularnego w celu analizy dwóch układów istotnych z punktu widzenia terapii przeciwnowotworowej: β -tubuliny oraz ludzkiego receptora witaminy D (VDR).

Cele mojej pracy były dwojakie. W pierwszej części chciałem otrzymać spójny model wiązania cząsteczki epotilonu A do β -tubuliny, ponieważ pomimo wielu badań eksperymentalnych nie istniał model zgodny z wszystkimi opublikowanymi wynikami badań SAR. W drugiej części pracy, moim celem było obliczenie energii swobodnej wiązania 1,25-dihydroksywitaminy D₃ oraz jej trzech wybranych analogów (EB 1089, KH 1060 i RO 25-9022). Następnie zająłem się porównaniem wartości otrzymanych energii ze sobą, skorelowaniem ich z danymi eksperymentalnymi oraz oszacowaniem wartości względnego powinowactwa do receptora VDR cząsteczki RO 25-9022.

W celu uzyskania nowego modelu wiązania epotilonu A do β -tubuliny wykorzystałem metody mechaniki molekularnej (pole siłowe AMBER99), dokowania molekularnego oraz

semiempirycznej mechaniki kwantowej (PM6-DH2). Otrzymałem model różniący się jakościowo od struktur uzyskanych metodami doświadczalnymi.

Główne cechy otrzymanego modelu, ważne z perspektywy wiązania epotilonu A do β -tubuliny to:

- oddziaływanie z kluczowymi dla bioaktywności epotilonów aminokwasami: Thr274 i Arg282,
- gęsta sieć wiązań wodorowych, stabilizująca kompleks epotilon A/ β -tubulina i znacząco zwiększająca energię oddziaływania w porównaniu z innymi modelami,
- znacznie mniejsza podatność na solwatację, z powodu głębszego położenia w kieszeni wiążącej fragmentu hydrofilowego (C3-C7) oraz ze względu na dodatkowe zabezpieczenie jakie stanowią grupy metylowe przy C4, C6 i C8,
- wyjaśnienie znaczącej liczby rezultatów badań SAR oraz brak jawnej sprzeczności wobec wszystkich spośród rozważanych.

Powyższe cechy otrzymanego modelu mogą okazać się bardzo istotne dla projektowania nowej generacji analogów epotilonów.

W dalszej części pracy wykonałem obliczenia energii swobodnej wiązania receptor-ligand dla 1,25-dihydroksywitaminy D₃ i jej trzech wybranych analogów, wykazujących silne działanie przeciwnowotworowe. Zastosowałem metody analogiczne do wykorzystanych w modelowaniu układu epotilon A/ β -tubulina oraz dodatkowo metodę dynamiki molekularnej w celu przeszukania przestrzeni konformacyjnej ligandów.

Wykazałem, że dla wszystkich spośród rozważanych ligandów, odnosząc się do energii oddziaływania, kluczową rolę pełnią interakcje grupy hydroksylowej O25-H z łańcuchami bocznymi His305 i His397. Różnica w liczbie kontaktów van der Waalsa pomiędzy łańcuchami bocznymi poszczególnych ligandów nie miała znaczącego wpływu na energię swobodną wiązania receptor-ligand. Wspomniane wcześniej interakcje mają również kluczowy wpływ na bioaktywność danego związku, która bardzo dobrze koreluje z uzyskanymi przeze mnie wynikami obliczeń.

Zaobserwowałem również, że w przypadku cząsteczki RO 25-9022, za silne oddziaływanie z receptorem jest odpowiedzialny efekt przeniesienia protonu z grupy O25-H na atom azotu grupy bocznej His305. W celu zweryfikowania otrzymanych rezultatów, skonstruowałem dwa uproszczone układy, składające się z łańcuchów bocznych His305 i His397, a także z fragmentu łańcucha bocznego (C23-C27) RO 25-9022 oraz

1,25-dihydroksywitaminy D₃. Wykonałem obliczenia metodą semempiryczną (PM6-DH2) i DFT (B3LYP/3-21G). W układzie zawierającym fragment łańcucha bocznego RO 25-9022, następował transfer protonu dla stałej dielektrycznej $\epsilon = 4$ w przypadku obliczeń metodą semiempiryczną oraz dla $\epsilon = 8$ w przypadku DFT. Wartości stałych, dla których obserwowany był wspomniany efekt, odpowiadają stałym dielektrycznym we wnętrzach białek. Przyczyna opisanego efektu leży najprawdopodobniej w obecności grup trifluorometylowych przy węglu C25. Jest to spowodowane bardzo dużą zdolnością $-CF_3$ do akceptowania elektronów. Układ z fragmentem 1,25-dihydroksywitaminy D₃ był układem referencyjnym, w którym efekt przeniesienia protonu nie został zaobserwowany, ze względu na elektrodonorowe właściwości grup metylowych.

Na podstawie wykonanych obliczeń określiłem liczbę oraz rodzaj kontaktów między atomami łańcuchów bocznych ligandów, a atomami kieszeni wiążącej VDR. Oszacowałem ponadto wartość względnego powinowactwa cząsteczki RO 25-9022, której wysoka bioaktywność jest rezultatem nie tylko wysokiej trwałości metabolicznej, ale najprawdopodobniej także unikalnego sposobu oddziaływania z receptorem witaminy D.

Uzyskane informacje mogą ułatwić projektowanie kolejnych generacji analogów 1,25-dihydroksywitaminy D₃ wykazujących jeszcze silniejszą aktywność biologiczną.

Rezultaty badań przeprowadzonych w ramach mojej pracy doktorskiej poszerzają wiedzę o układach biologicznych mających szczególne znaczenie w nowoczesnej terapii przeciwnowotworowej.