

Mgr Prashant Kumar
Pracownia Krystalochemii
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

Warszawa, 20.02.2020 r.

Autoreferat rozprawy doktorskiej pod tytułem:

Application of aspherical atom databank in biomolecular simulations and crystal engineering

Tytuł w języku polskim:

Zastosowanie banku asferycznych atomów do symulacji biomolekularnych i w inżynierii krystalicznej

Promotor:

dr hab. Paulina Dominiak, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

W ostatnich kilku dekadach badania rozkładu gęstości ładunku w fazie krystalicznej stanowiły wiodące zagadnienie w dziedzinie krystalografii. Model niezależnych atomów (ang. Independent Atom Model, IAM) jest najczęściej stosowanym podejściem do udokładnień strukturalnych danych z dyfrakcji rentgenowskiej, w zakresie małych cząsteczek i krystalografii białek. Jednakże model ten nie bierze pod uwagę informacji dotyczących przeniesienia ładunku i deformacji gęstości ładunku walencyjnego wynikającego z tworzenia wiązań chemicznych, obecności wolnych par elektronowych lub oddziaływań wewnątrz- i międzycząsteczkowych. Dla danych eksperymentalnych o wysokiej jakości możliwe staje się wyznaczenie w sposób ilościowy rozkładu gęstości elektronowej i oszacowanie własności fizycznych będących pochodną tych gęstości. Bardziej złożony model multipolowy asferycznych pseudoatomów zaproponowany przez Hansena i Coppensa umożliwia opisanie asferycznych deformacji gęstości ładunku. Jednak rozdzielczość eksperymentalna, której wymaga ten model nadal jest trudna do osiągnięcia w przypadku większości kryształków białek.

Jednocześnie wykazano, że atomy w podobnym środowisku chemicznym zwykle nie różnią się znacznie pod względem opisu gęstości ładunku. Dlatego został wprowadzony pomysł przenoszenia atomowych parametrów multipolowych (modelu pseudoatomu) pomiędzy różnymi cząsteczkami. Ta obserwacja zainicjowała powstanie banku danych asferycznych pseudoatomów, takich jak UBDB (University at Buffalo Databank), Invariom i ELMAM (Experimental Library of Multipole Atom Model). Podejście to zostało użyte w mojej rozprawie doktorskiej do rekonstrukcji gęstości ładunku kompleksów białkowych w celu uzyskania ich energii oddziaływań elektrostatycznych i innych właściwości fizycznych, takich jak potencjał elektrostatyczny. Na podstawie rezultatów przeprowadzonych przeze mnie badań można wnioskować, że podejście UBDB prowadzi do wyników jakościowo niewiele gorszych od tych pochodzenia kwantowo-mechanicznego, przy czym uzyskuje się je znacznie szybciej. W ramach doktoratu podejście UBDB porównywałem również z metodami pól siłowych w celu sprawdzenia, czy jakościowo właściwości elektrostatyczne pochodzące z UBDB bardziej przypominają te otrzymane za pomocą metod kwantowo-mechanicznych, czy przy użyciu pól siłowych.

Mój doktorat w pierwszej kolejności, poświęcony jest szeroko zakrojonym badaniom weryfikacyjnym oraz dalszej rozbudowie asferycznego banku pseudoatomów UBDB w aspekcie projektowania leków i inżynierii krystalicznej. W celu weryfikacji opisywanej metody testowałem różne właściwości fizyczne dla kilkunastu małych dimerów molekularnych, możliwe do uzyskania przy zastosowaniu UBDB, by następnie porównać je do wyników otrzymanych metodą DFT-SAPT. Kolejnym celem mojego projektu doktorskiego było znalezienie rozkładu gęstości ładunku i zbadanie go pod kątem podobieństw we własnościach elektrostatycznych dla związków z bazy ZINC oraz, na podstawie podobieństwa do znanych już inhibitorów proteazy HIV, zaproponowanie odpowiedniego nowego związku prowadzącego do zaprojektowania nowego leku. Istotą podejścia obliczeniowego do znalezienia odpowiedniego związku (lead compound) była analiza kształtu i porównania elektrostatyczne między cząsteczkami.

Na początku moich studiów doktoranckich wykonałem rozległe badania weryfikujące UBDB a także przeprowadziłem analizę porównawczą oddziaływań elektrostatycznych (Ees) między zestawem dimerów molekularnych, pochodzących z testowego zestawu S66. Wykorzystałem przy tym rozkład gęstość ładunku z UBDB oraz metodę EPMM do obliczeń Ees. Obliczenia z udziałem ładunków punktowych wykonałem przy pomocy popularnych pól siłowych General Amber Force Field (GAFF) z ładunkami punktowymi AM1-BCC, RESP (Restrained ElectroStatic Potential) w próżni, samouzgodnionego pola reakcyjnego (SCRF) oraz Charmm General Force Field (CGenFF). W tym celu bank UBDB został poszerzony o 8 nowych rodzajów atomów. Oprócz analizy geometrii równowagowej analizowany był również zestaw danych S66x8, w którym cząsteczki z zestawu S66 rozmieszczone są na ośmiu punktach krzywej dysocjacji dla każdego z kompleksów, łącznie 528 punktów. Dokładny opis całej powierzchni energii potencjalnej ma wielkie znaczenie dla każdej metody wykorzystywanej do obliczania geometrii nierównowagowej lub do minimalizacji geometrii, analizy drgań, symulacji dynamiki molekularnej. Przeprowadzając powyższe obliczenia otrzymałem ciekawe wyniki, które pokazują wyraźnie, jak pola siłowe nieprawidłowo szacują energię, często przypisując jej błędny znak. Biorąc pod uwagę rodzaj dominujących oddziaływań, największe błędy bezwzględne zaobserwowano dla kompleksów tworzących wiązania wodorowe. Energie oddziaływań elektrostatycznych dla wiązań wodorowych wydają się być najbardziej czułe na wszelkie uproszczenia w opisie gęstości elektronowej. Z drugiej strony, Ees w kompleksach dyspersyjnych wydaje się być najmniej wrażliwa na sposób oszacowania ładunków punktowych. W następnym etapie rozszerzyłem nasze badania weryfikacyjne UBDB o oddziaływania elektrostatyczne dimerów między S66x8 i S66a8 z wykorzystaniem DFT-SAPT, aby lepiej zrozumieć rolę udziału elektrostatyki w całkowitej energii oddziaływań, i jej stosunku do wkładów wymiennych, odpychających i indukcyjnych. Najciekawszym wynikiem jest zrozumienie energii penetracji, która jest uwzględniana w UBDB. Wyniki uzyskane z powyższych badań mogą mieć duży wpływ na rozwój pól siłowych.

Następnym krokiem było zastosowanie UBDB w inżynierii krystalicznej. W tym celu wykrystalizowane zostały kationy zasad kwasów nukleinowych z anionami chlorkowymi i cząsteczkami wody, (chlorek cytozyny (CC), półwodny chlorek adeniny (ACH), dichlorek guaniny (GDC)). Otrzymane geometrie analizowano szczegółowo za pomocą analizy topologicznej oraz przeprowadzono liczne obliczenia w celu zrozumienia energetyki upakowania cząsteczek w kryształach. Obok pełnego udokładnienia multipolowego z zastosowaniem modelu Hansena-Coppensa, również Bank UBDB został wykorzystany jako źródło atomowych asferycznych czynników rozpraszania. Dlatego też, dane rentgenowskie dla badanych układów zostały poddane udokładnianiu z użyciem modelu przenaszalnych asferycznych atomów (Transferable Aspherical Atom Model, TAAM). Wykonałem następnie szereg obliczeń umożliwiających oszacowanie energii elektrostatycznej (PIXEL, DFT-SAPT i UBDB+EPMM) i energii sieci krystalicznej (CRYSTAL14). Zaskakujące jest to, że energie uzyskane przy pomocy programów PIXEL są bardzo podobne (rozbieżności ze względu na użycie różnych funkcji bazy) i bardzo dobrze korelują z danymi DFT-SAPT

oraz UBDB, natomiast odbiegają znacząco od energii z udokładnienia multipolowego, czego powodem jest niepełna jonizacja cząsteczek w kryształach. Powyższe odkrycia mają wielkie znaczenie z biologicznego punktu widzenia. Nasze badania sugerują, że protonowana adenina, jako część kwasu nukleinowego, może formować stabilny homodimer obserwowany w badanym kryształach (trans Hoogsteen/Hoogsteen edge base pairs). W przypadku protonowanej cytozyny para zasad obserwowana w kryształach nie może być formowana przez kwas nukleinowy z powodu oddziaływania atomów azotu, które są związane z resztą cukrową kwasu nukleinowego.

Kolejnym etapem projektu było zastosowanie banku asferycznych pseudoatomów, wykorzystać tę informację w projektowaniu leków. Na podstawie opisanych badań możliwe było wykazanie, że aktualna wersja UBDB jest wystarczająco dokładna, aby zrekonstruować gęstość elektronową i potencjał elektrostatyczny wielu ważnych molekuł z dokładnością znacznie bliższą metodom kwantowo-mechanicznym, niż w przypadku prostych metod opartych na ładunkach punktowych. Wnioskować można również, że UBDB pozwala na szybkie modelowanie całego molekularnego potencjału elektrostatycznego, zarówno wewnątrz, jak i na zewnątrz cząsteczki. W ten sposób UBDB umożliwia równoczesne określanie zarówno kształtu potencjału, jak i redystrybucji ładunku specyficznego dla konkretnej cząsteczki. Dokładność zrekonstruowanych potencjałów cząsteczki na powierzchni van der Waalsa i poza nią jest na granicy akceptowalności. Na podstawie badań przeprowadzonych w ramach mojej rozprawy doktorskiej można również wnioskować, że bank UBDB może zostać użyty do wzmocnienia znaczenia fizycznego deskryptorów molekularnych elektrostatycznych stosowanych do skonstruowania modeli quantitative structure–activity relationship/quantitative structure–property relationship (QSAR/QSPR) wykorzystywanych do badań nad nowymi lekami.

Praca doktorska była realizowana w ramach projektu: Extending the power of X-ray analysis of macromolecular crystal data, finansowanego przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej (POMOST/2010-2/4) oraz projektu: Strukturalne i dynamiczne aspekty oddziaływan elektrostatycznych proteazy HIV-1, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (PRELUDIUM-UMO-2014/13/N/ST4/03851)

Bibliografia:

1. Extension of transferable aspherical pseudoatoms databank towards comparison of molecular electrostatic potentials for structure-activity studies. Kumar, P., Gruza, B., Bojarowski, S. A., Dominiak, P. M., Accepted Article, Acta Crystallographica Section A FOUNDATIONS AND ADVANCES 75 (2), 398-408.
2. Protonated nucleobases are not fully ionized in their chloride salt crystals and form metastable base pairs further stabilized by the surrounding anions. Kumar, P., Cabaj, M., Pazio, A., Dominiak, P. M., IUCrJ (2018), 5(4), 449-469.
3. A Comparative Study of Transferable Aspherical Pseudoatom Databank and Classical Force Fields for Predicting Electrostatic Interactions in Molecular Dimers. Kumar, P. et al. J. Chem. Theory Comput., 2014, 10 (4), 1652–1664.