

Célpont-ligandum kölcsönhatások számítása

*az akadémiai doktori értekezés
tézisei*

Hetényi Csaba



Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
2024

Az értekezés tárgya

A gyógyszertervezés célja a farmakodinámia szempontjából nézve egy olyan ligandum meg- vagy kitalálása, amely erősen és szelektíven kötődik a célponthoz, hogy azon hatását kifejthesse. Farmakokinetikai elvárás, hogy a ligandum eljusson az adminisztráció helyétől a célponthoz, majd pedig a megfelelő idő elteltével távozzon a szervezetből. A ligandumok teljes farmakológiai (farmakodinámiai és farmakokinetikai) hatékonysága alapvetően függ a szerkezetüktől és a célponthoz, valamint testünk egyéb molekuláival való kölcsönhatásaik térbeli elrendeződésétől és erősségétől.

Ennek megfelelően, dolgozatomban elején az anyagszerkezetre vonatkozó eredményeimet mutatom be, a célpont-ligandum kölcsönhatásokra fókuszálva. A ligandum farmakológiai profiljának felrajzolásakor, az atomi felbontású szerkezetek birtokában az első logikus lépés a célponthoz kialakítható kölcsönhatások erősségének a meghatározása. Erre lehetőséget nyújt a szerkezeti alapú energiaszámítás és végső soron a termodinamikai potenciálfüggvények változásainak meghatározása a kölcsönhatás során. Dolgozatomban második része ezért a célpont-ligandum kölcsönhatások energiájával foglalkozik. Mivel a szerkezeti számítások is igénylik egyes energiatípusok használatát, a szerkezet és energia területei természetesen átfednek és az eredményeket jellegük szerint soroltam e két külön fejezetbe. Az energiáról szóló fejezetben azokat az eredményeimet is sorra veszem, amelyek az előzőekre épülve a ligandum farmakológiai hatékonyságával kapcsolatosak.

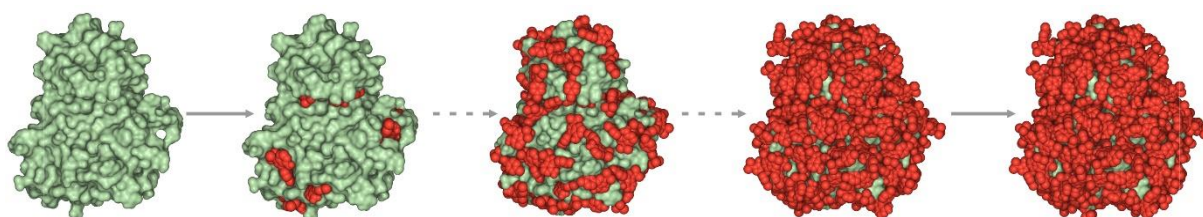
A racionális, célpont-alapú gyógyszertervezés tehát a szerkezet-energia kapcsolatok feltárásával és alkalmazásával jut el jó eséllyel a farmakológiailag hatékony ligandumokig. A dolgozatban az ilyen kapcsolatokra épülő, új eszközök kidolgozásáról, valamint a meglévők praktikus alkalmazásairól számolok be.

A gyógyszerkutatás elméleti módszertana az értekezésben áttekintett közel két évtized alatt nagy változáson ment keresztül, köszönhetően a rendelkezésre álló informatikai eszköztár fejlődésének is. Kezdetben jórészt személyi számítógépek álltak rendelkezésünkre és az alkalmazott szoftverek párhuzamosítása gyerekcipőben járt. Ma már a hazai szuperszámítógépes központban is kihasználhatjuk a jól megírt, párhuzamosított kódok adta gyorsaságot, amely a hatékony, reprodukálható munkának is szükséges alapfeltétele lett.

A tartalomból

Szerkezet

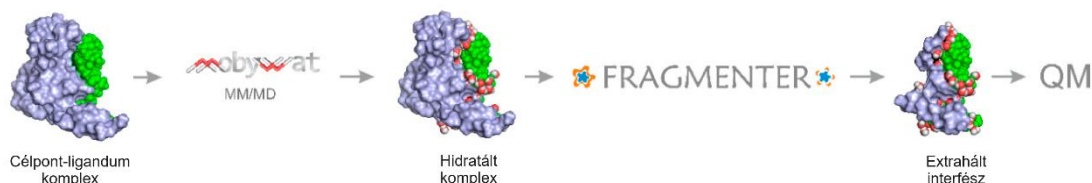
A dolgozat első részében olyan munkák eredményeiről számolok be, amelyeket konkrét gyakorlati igények motiváltak: többnyire a kísérletes szerkezetmeghatározás korlátai. A munka során a célpont-ligandum komplexek szerkezeti számításainak fejlesztésére összpontosítottunk. Folytattuk és lényegében befejeztük az egyetemi doktori disszertációmban megkezdett munkát a számítógépes dokkolás területén (**1. ábra**), majd ennek eredményeire építettük a prerekvizit (előfeltételi) kötőhelyek feltérképezését. A fehérje-peptid komplexek és a hidrát szerkezet számítására irányuló eljárások a szerkezetmeghatározás nagy kihívásaira adnak válaszokat.



1. ábra A Wrap 'n' Shake egy szisztematikus *blind docking* módszer, amelynek csomagoló algoritmus a célpontot (zöld) a ligandum (piros) másolataival több ciklusban, monomolekulás, hézagmentes réteggel vonja be. Majd a rázó lépésben (nem mutatva) a gyengén kötött ligandumok eltávolítására kerül sor.

Energia

A célpont-ligandum komplexek szerkezetének ismeretében a megfelelő molekulamechanikai (MM) potenciálisenergia-függvények birtokában és/vagy kvantummechanikai (QM) alapon elvégezhető a partnerek közötti kölcsönhatás erősségének számítása. Eredményeink mindkét szinten végpont módszerek fejlesztésére és alkalmazására épülnek, amelyekkel a ligandumok termodinamikai profilját (ujjlenyomatát) viszonylag gyorsan prediktálni tudjuk. Az explicit vagy hibrid vízmodellek alkalmazása a QM szintű kalkulátoroknál jelentősen csökkenti a predikciók hibáját, a fragmens-alapú megközelítés pedig a számítások gyorsaságát növeli meg (**2. ábra**).



2. ábra A célpont (szürke) – ligandum (zöld) komplex MobyWat-tal történt hidratálása után a célpont ligandumhoz kapcsolódó részeit az interfész vízmolekulákkal (piros-fehér) együtt a Fragmenter-rel kivágva a QM számítás céljaira előkészített szerkezethez jutunk.

Tézispontok

- 1) Kiterjesztettük a teljes célmolekulán végzett, gyors dokkoló algoritmusra épülő kötési mód keresés (*blind docking*, BD) alkalmazhatóságának a határait [D1, D2]. Ennek keretében kimutattuk, hogy a BD a kisebb, gyógyszerméretű ligandumok esetében akár ezer aminosavas célfehérjéken is képes a kötési módokat megtalálni (kis mértékű indukált illeszkedés mellett) [D1], valamint, hogy a BD egyszerre több kötőhely feltérképezésére is alkalmas [D1]. A BD alkalmazhatóságának korlátaiként a kis méretű ligandumok esetében a másodlagos kötőhelyek és ligandumok, valamint a szerkezeti vízmolekulák hatását azonosítottuk [D2]. Kimutattuk, hogy a kötőzsebkereső algoritmusok és a BD konszenzusos alkalmazása megnöveli a kötőzseb predikciók megbízhatóságát [D2].
- 2) A BD megközelítésünk alkalmazásával feltérképeztük [D3] fontos szex szteroidok (17- β -ösztadiol és egy ösztrén) kötési hálózatait a humán ösztrogén receptor α -n, amelynek során azonosítottuk az alternatív kötőzsebet mind a két szteroid esetében. Kimutattuk, hogy a szteroidok klasszikus kötőzsebbe történő kötődése, valamint a koaktivátor peptid hiánya elősegítik a szteroidok alternatív kötőzsebbe történő kötődését. A ligandumok disszociációjának követésével az egyes zsebeknél képződő komplexek kinetikus stabilitását kvantitatívan összehasonlítottuk, valamint megadtuk a kötőzsebeknél megfigyelhető csapóajtó-mechanizmus atomi szintű magyarázatát.
- 3) Eljárást dolgoztunk ki Wrap 'n' Shake néven [D4, D5] amely a gyors dokkoló módszerek korlátait (a globális kereső algoritmusok tökéletlensége, az explicit vízmodell hiánya, a célpont merevsége) meghaladva megoldást nyújt a BD problémára az összes lehetséges kötőhely és kötési mód szisztematikus megtalálásával.
- 4) Elvégeztük a tranziens receptor potenciál ankyrin 1 (TRPA1) nevű polimodális nociszenzor agonistái prerekvizit kötőhelyeinek feltérképezését és megmutattuk [D6], hogy a kovalens agonisták esetében a prerekvizit kötőhelyekhez történő kötődés módja előrejelzi a végső, kovalens kötési mód kialakulását. Megállapítottuk, a prerekvizit kötési módok szerepét az agonisták asszociációs/disszociációs mechanizmusaiban, például az A-hurok régió felnyílásának szabályozásán keresztül.
- 5) Kidolgoztunk a NetBinder nevű eljárást [D7], amellyel nem csupán feltérképezhetőek, de osztályozhatóak és hálózatba is kapcsolhatóak a prerekvizit kötőhelyek egy adott célponton. Az eljárás segítségével a teljes kötési mechanizmus feltárható, a fehérje felszínéről elindulva egészen a végső (ortoszterikus) kötőzsebig, kijelölve a kulcsfontosságú prerekvizit

- kötőhelyeket is, amelyek a későbbi tervezésben mint új célpontok használhatók fel.
- 6) Előállítottam [D9] a hiszton H3 N-terminális peptid szakaszának az autoimmun regulátor fehérje (AIRE) PHD ujjal alkotott szerkezetét atomi felbontásban. Megállapítottam, hogy a hiszton H3 peptid gerince az AIRE PHD ujjban meglévő, két sávból álló antiparallel β -redőzött réteg mellé orientálódva egy harmadik, antiparallel lefutású sávot képezve kapcsolódik. Molekuláris dinamikai (MD) számításokkal megmutattam [D9], hogy a H3K4-metilált hisztonok esetében a metil csoportok térigénye miatt nem tud kialakulni a kötés az AIRE PHD ujj kötőzsebével.
 - 7) Előállítottuk [D10] a hiszton H4 protein arginin metiltranszferáz 5 (PRMT5) és metiloszóma protein 50 (MEP50) partnerekkel alkotott komplexének atomi felbontású szerkezetét, amelynek segítségével MD számításokat is alkalmazva szerkezeti magyarázatot adtunk a T80 helyen történő foszforiláció metiltranszferáz aktivitást növelő hatására, valamint arra is, hogy a hiszton H4-nek miért a szabad (nukloszóma-hoz nem kötött) formáját tudja a PRMT5 metilálni.
 - 8) Kidolgoztuk a fragment blind docking (FBD) és a PepGrow nevű protokollokat célmolekula-peptid komplexek szerkezetének fragmens dokkoláson alapuló gyors előállításához. Az FBD [D11] a teljes célmolekula felszínre dokkolt fragmensek összekötésével állítja elő a ligandumnak a célmolekulához kötött konformációját. A PepGrow [D12] az FBD-t továbbfejlesztve, a peptid egy bedokkolt horgonyzó fragmenséből „növeszti meg” a kötőzsebben a teljes ligandumot.
 - 9) Előállítottuk a szomatosztatin nevű endogén peptid 4-es altípusú receptorával (SSTR4) képzett komplexét [D13] a PepGrow protokollunkat alkalmazva. Továbbá MD számítások bevonásával a szomatosztatin teljes kötődési mechanizmusát végig tudtuk kísérni az SSTR4 célpontra és így lehetőség nyílt olyan prerekvizit kötőhelyek feltérképezésére, amelyek az ortoszterikus kötőhelyen túl megcélozhatóak a jövőbeli tervezési projekteknél.
 - 10) Módszert dolgoztunk ki MobyWat néven [D16] a fehérje célpontok felszíni hidrátszerkezetének kiszámításához. A módszer MD segítségével legenerált trajektóriákból nyeri ki a vízmolekulák pozícióit és mobilitási alapon rangsorolja őket. Elvégeztük az MD számítások paramétereinek szisztematikus kalibrálását [D18] és megállapítottuk az optimálisan használható értékeiket a hidrátszerkezet számításokhoz.
 - 11) A MobyWat módszert kiterjesztettük célpont-ligandum interfészek kavitásoktól mentes hidrátszerkezetének számítására [D17]. A hálózatelmélet eszközeit adaptáltuk a hidrátszerkezetek kölcsönhatási rendszereinek kvantitatív leírására [D17]. Bevezettük a statikus és dinamikus

- vízhálózatok fogalmát és felhasználtuk célpont-ligandum komplexek stabilitásának jellemzésére.
- 12) Kidolgoztuk a HydroDock protokollt [D19], amellyel lehetővé vált, hogy a hidratált célpont-ligandum komplexet a különálló alkatrészeiből kiindulva (célpont, ligandum, vizek) építsük össze a gyors ligandum-dokkolás és a MobyWat-alapú felszíni vízszerkezet-számítás kombinálásával.
 - 13) Szerkezeti alapú kölcsönhatási energiaszámítás segítségével megadtuk [D20] különböző fajokhoz tartozó tripszinek inhibitor-szelektivitásának atomi szintű magyarázatát.
 - 14) Elvégeztük az AutoDock 3.0 dokkoló eljárás kötési szabadentalpiaváltozás (ΔG_b) függvényének átalakítását és újrakalibrálását, használhatóvá téve azt nagy méretű (peptid) ligandumok számítására is. Új, hibrid ΔG_b függvényt hoztunk létre, amelybe a bimolekulás, entalpiikus és deszolvatációs tagok mellé ligandum-alapú deskriptorokat vontunk be [D21].
 - 15) Megépítettük a humán α_{2A} -adrenoceptor atomi felbontású szerkezetét, valamint a receptorhoz történt dokkolással agonisták komplex szerkezeit állítottuk elő. A komplex szerkezetek felhasználásával a tervezéshez új ΔG_b kalkulátort hoztunk létre [D22].
 - 16) Kis méretű ligandumok esetében (44 célpont-ligandum komplexen) elvégeztük az AutoDock 3.0 dokkoló eljárás validálását és e validált bázison bevezettük a ΔG_b alapú molekuláris kölcsönhatási ujjlenyomatokat (MIF) a ligandumok szelektivitásának számszerű jellemzésére [D23].
 - 17) Új ΔG_b dekompozíciós megközelítést írtunk le ciklodextrin-gyógyszer komplexeken [D24], amelynek alapját explicit vízmodelles, teljes MD mintázáson alapuló számítások adták. A ΔG_b dekompozíciós eljárást ligandum templátok köré szerveződő, ciklodextrin alapú nanoszerkezetek termodinamikai jellemzésére alkalmaztuk [D25].
 - 18) Automatizált, célpont-fragmentálós eljárást dolgoztunk ki Fragmenter néven [D26] célpont-ligandum kötődés entalpiaváltozásának (ΔH_b) a számítására. Emellett sor került egy MobyWat alapú, hibrid vízmodell bevezetésére a ΔH_b számításokba szemiempirikus kvantumkémiai szinten.
 - 19) MM-optimalizált szerkezetekre végzett szemiempirikus kvantumkémiai végpont számítással működő ΔH_b kalkulátort hoztunk létre [D27], amelyet ligandum-alapú deskriptorokkal kibővítve új, gyors ΔG_b kalkulátort dolgoztunk ki, QMH-L néven.
 - 20) Új ligandum hatékonysági indexeket (EI) vezettünk be és kidolgoztuk ezek szerkezeti alapú számítását [D28]. Megmutattuk, hogy egyes EI-k (mint például a Wiener-index alapján definiált), képesek a gyógyszerek elkülönítésére egy adott ligandum szettben, valamint a molekulakönyvtárak szűrési hatékonyságát javítják. A bevezetett EI-eket több dokkoló eljárásra (AutoDock, Gold, Glide) is adaptáltuk [D29].

21) Megvizsgáltuk a ligandum méretét, flexibilitását, hidrofobicitását, H-kötési képességét jellemző deskriptorok és a belőlük származtatott EI-k alkalmazhatóságát a „drug likeness” (DL) koncepcióban [D30]. Bevezettük a deskriptorok és EI-k szelektivitására és érzékenységére vonatkozó, ΔG_b -tól független statisztikai jellemzését az általános DL esetre és kvantitatíven kifejeztük alkalmazhatóságukat az egyes betegségtípusoknál is.

Kitekintés

A célpont-ligandum kölcsönhatások számítása a racionális, szerkezetalapú gyógyszertervezés egyik legfontosabb lépése. A dolgozatban felvonultatott elméleti megközelítések az elmúlt évtizedekben igen nagy változásokon mentek át, sok esetben pozitív irányban. A számítástechnikai eszköztár mennyiségi és minőségi növekedésével e fejlődés világszerte egyre gyorsul. Ennek egyik következménye a korábban igen költségesnek tartott fizikai-kémiai alaptörvényeken nyugvó eljárások, például a hosszabb molekuláris dinamikai számítások mennyiségének örvendetes növekedése a gyógyszertervezésben.

A fizikai-kémiai alapú módszerek sokszor már most is kellő pontosságot adnak és korlátaik ismeretében a jövőbeli fejlődési irányaik jól kivehetőek az erőterek, a kereső módszerek és a vízmodellek terén is. A tervezésben az explicit vízmodellekre épülő technikák fejlesztése, valamint a kvantummechanikára épülő eljárások hatékonyságának és rutin alkalmazhatóságának növelése tűnnek a legfontosabb feladatoknak.

A Nobel-díjas R. Henderson és társai véleménye, amely szerint *„... solving the protein-folding problem means making accurate predictions of structures from amino acid sequences **starting from first principles** based on the underlying **physics and chemistry** ...”* jó iránytűként szolgál a gyógyszertervezés nyitott kérdéseinek megoldásában is, ahol a célpont-ligandum komplexek és a kapcsolt hidrátszerkezetek számításában a jövőben is építeni tudunk majd a fizikai-kémiai alaptörvényekre.

Az értekezés alapját képező saját közlemények jegyzéke

- [D1] **Hetenyi, C***; van der Spoel, D. Blind Docking of Drug-Sized Compounds to Proteins with up to a Thousand Residues. *FEBS Lett.* **2006**, 580 (5), 1447–1450. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.01.074>.
- [D2] **Hetenyi, C***; van der Spoel, D. Toward Prediction of Functional Protein Pockets Using Blind Docking and Pocket Search Algorithms. *Protein Sci.* **2011**, 20 (5), 880–893. <https://doi.org/10.1002/pro.618>.
- [D3] Balint, M.; Jeszenoi, N.; Horvath, I.; Abraham, I. M*.; **Hetenyi, C***. Dynamic Changes in Binding Interaction Networks of Sex Steroids Establish Their Non-Classical Effects. *Sci Rep* **2017**, 7, 14847. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14840-9>.
- [D4] Balint, M.; Jeszenoi, N.; Horvath, I.; van der Spoel, D.; **Hetenyi, C***. Systematic Exploration of Multiple Drug Binding Sites. *J. Cheminformatics* **2017**, 9, 65. <https://doi.org/10.1186/s13321-017-0255-6>.
- [D5] **Hetenyi, C***; Balint, M. Systematic Exploration of Binding Modes of Ligands on Drug Targets. In: *Structural bioinformatics: methods and protocols*; Methods in Molecular Biology, Humana Press Inc: Totowa, Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2020; Vol. 2112, pp 107–121. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0270-6_8.
- [D6] Zsido, B. Z.; Borzsei, R.; Pinter, E.; **Hetenyi, C***. Prerequisite Binding Modes Determine the Dynamics of Action of Covalent Agonists of Ion Channel TRPA1. *Pharmaceuticals* **2021**, 14 (10), 988. <https://doi.org/10.3390/ph14100988>.
- [D7] Balint, M.; Zsido, B. Z.; van der Spoel, D.; **Hetenyi, C***. Binding Networks Identify Targetable Protein Pockets for Mechanism-Based Drug Design. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23 (13), 7313. <https://doi.org/10.3390/ijms23137313>.
- [D8] Zsido, B. Z.; **Hetenyi, C***. Molecular Structure, Binding Affinity, and Biological Activity in the Epigenome. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, 21 (11), 4134. <https://doi.org/10.3390/ijms21114134>.
- [D9] Org, T.; Chignola, F.; **Hetenyi, C.**; Gaetani, M.; Rebane, A.; Liiv, I.; Maran, U.; Mollica, L.; Bottomley, M. J.; Musco, G.; Peterson, P. The Autoimmune Regulator PHD Finger Binds to Non-Methylated Histone H3K4 to Activate Gene Expression. *EMBO Rep.* **2008**, 9 (4), 370–376. <https://doi.org/10.1038/embor.2008.11>.
- [D10] Börzsei, R.; Bayarsaikhan, B.; Zsidó, B. Z.; Lontay, B.; **Hetényi, C***. The Structural Effects of Phosphorylation of Protein Arginine Methyltransferase 5 on Its Binding to Histone H4. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23 (19), 11316. <https://doi.org/10.3390/ijms231911316>.
- [D11] Balint, M.; Horvath, I.; Meszaros, N.; **Hetenyi, C***. Towards Unraveling the Histone Code by Fragment Blind Docking. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20 (2), 422. <https://doi.org/10.3390/ijms20020422>.
- [D12] Zsidó, B. Z.; Bayarsaikhan, B.; Börzsei, R.; **Hetényi, C***. Construction of Histone–Protein Complex Structures by Peptide Growing. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, 24 (18), 13831. <https://doi.org/10.3390/ijms241813831>.
- [D13] Börzsei, R.; Zsidó, B. Z.; Bálint, M.; Helyes, Z.; Pintér, E.; **Hetényi, C***. Exploration of Somatostatin Binding Mechanism to Somatostatin Receptor Subtype 4. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23 (13), 6878. <https://doi.org/10.3390/ijms23136878>.
- [D14] Zsidó, B. Z.; **Hetényi, C***. The Role of Water in Ligand Binding. *Current Opinion in Structural Biology* **2021**, 67, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.08.002>.
- [D15] Zsidó, B. Z.; Bayarsaikhan, B.; Börzsei, R.; Szél, V.; Mohos, V.; **Hetényi, C***. The Advances and Limitations of the Determination and Applications of Water Structure in Molecular Engineering. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, 24 (14), 11784. <https://doi.org/10.3390/ijms241411784>.

- [D16] Jeszenoi, N.; Horvath, I.; Balint, M.; van der Spoel, D.; **Hetenyi, C***. Mobility-Based Prediction of Hydration Structures of Protein Surfaces. *Bioinformatics* **2015**, *31* (12), 1959–1965. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv093>.
- [D17] Jeszenoi, N.; Balint, M.; Horvath, I.; van der Spoel, D.; **Hetenyi, C***. Exploration of Interfacial Hydration Networks of Target Ligand Complexes. *J. Chem Inf. Model.* **2016**, *56* (1), 148–158. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00638>.
- [D18] Jeszenoi, N.; Schilli, G.; Balint, M.; Horvath, I.; **Hetenyi, C***. Analysis of the Influence of Simulation Parameters on Biomolecule-Linked Water Networks. *J. Mol. Graph.* **2018**, *82*, 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2018.04.011>.
- [D19] Zsido, B. Z.; Borzsei, R.; Szel, V.; **Hetenyi, C***. Determination of Ligand Binding Modes in Hydrated Viral Ion Channels to Foster Drug Design and Repositioning. *J. Chem Inf. Model.* **2021**, *61* (8), 4011–4022. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00488>.
- [D20] Fodor, K.; Harmat, V.; **Hetenyi, C.**; Kardos, J.; Antal, J.; Perczel, A.; Patthy, A.; Katona, G.; Graf, L. Extended Intermolecular Interactions in a Serine Protease-Canonical Inhibitor Complex Account for Strong and Highly Specific Inhibition. *J. Mol. Biol.* **2005**, *350* (1), 156–169. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.04.039>.
- [D21] **Hetenyi, C***; Paragi, G.; Maran, U.; Timar, Z.; Karelson, M.; Penke, B. Combination of a Modified Scoring Function with Two-Dimensional Descriptors for Calculation of Binding Affinities of Bulky, Flexible Ligands to Proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (4), 1233–1239. <https://doi.org/10.1021/ja055804z>.
- [D22] Balogh, B.; **Hetenyi, C***; Keseru, M. G.; Matyus, P*. Structure-Based Calculation of Binding Affinities of Alpha(2A)-Adrenoceptor Agonists. *ChemMedChem* **2007**, *2* (6), 801–805. <https://doi.org/10.1002/cmdc.200600251>.
- [D23] **Hetenyi, C***; Maran, U.; Karelson, M. A Comprehensive Docking Study on the Selectivity of Binding of Aromatic Compounds to Proteins. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43* (5), 1576–1583. <https://doi.org/10.1021/ci034052u>.
- [D24] Zhang, H.; Tan, T.; **Hetenyi, C.**; van der Spoel, D. Quantification of Solvent Contribution to the Stability of Noncovalent Complexes. *J. Chem. Theory Comput.* **2013**, *9* (10), 4542–4551. <https://doi.org/10.1021/ct400404q>.
- [D25] Zhang, H.; Tan, T.; **Hetenyi, C.**; Lv, Y.; van der Spoel, D. Cooperative Binding of Cyclodextrin Dimers to Isoflavone Analogues Elucidated by Free Energy Calculations. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118* (13), 7163–7173. <https://doi.org/10.1021/jp412041d>.
- [D26] Horvath, I.; Jeszenoi, N.; Balint, M.; Paragi, G.; **Hetenyi, C***. A Fragmenting Protocol with Explicit Hydration for Calculation of Binding Enthalpies of Target-Ligand Complexes at a Quantum Mechanical Level. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20* (18), 4384. <https://doi.org/10.3390/ijms20184384>.
- [D27] Szél, V.; Zsidó, B. Z.; Jeszenői, N.; **Hetényi, C***. Target–Ligand Binding Affinity from Single Point Enthalpy Calculation and Elemental Composition. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2023**, *25* (46), 31714–31725. <https://doi.org/10.1039/D3CP04483A>.
- [D28] **Hetenyi, C***; Maran, U.; Garcia-Sosa, A. T.; Karelson, M. Structure-Based Calculation of Drug Efficiency Indices. *Bioinformatics* **2007**, *23* (20), 2678–2685. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm431>.
- [D29] Garcia-Sosa, A. T.; **Hetenyi, C.**; Maran, U. Drug Efficiency Indices for Improvement of Molecular Docking Scoring Functions. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31* (1), 174–184. <https://doi.org/10.1002/jcc.21306>.
- [D30] Garcia-Sosa, A. T.; Maran, U.; **Hetenyi, C***. Molecular Property Filters Describing Pharmacokinetics and Drug Binding. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19* (11), 1646–1662. <https://doi.org/10.2174/092986712799945021>.