

Komputerowe wspomaganie projektowania leków

MECHANIKA MOLEKULARNA I KWANTOWA

W **MM** korzysta się z równań wynikających z praw fizyki klasycznej i stosuje się je do jader atomów z pominięciem elektronów, a w większych uogólnieniach z pominięciem protonów.

W **MK** korzysta się z praw fizyki kwantowej, i rozpatruje się oddziaływania między elektronami i jadem atomu. Mamy metody ab initio i półempiryczne (AM1, PM3, itp)



MECHANIKA MOLEKULARNA I KWANTOWA

Mechanika molekularna:

- minimalizacja energii,
- określenie stabilnej konformacji,
- obliczenie energii dla specyficznego konformacji,
- generowanie konformacji,
- badanie ruchu cząsteczki,
- badanie stabilności kompleksu,
- określenie energii oddziaływania białko-białko, białko-ligand.

Mechanika kwantowa:

- obliczenie energii i współczynników orbitali molekularnych,
- określenie ciepła tworzenia specyficznych konformacji,
- obliczenie częściowych ładunków atomów obliczanych ze współczynników orbitali molekularnych,
- obliczenie potencjałów elektrostatycznych,
- obliczenie momentów dipolowych,
- wyznaczenie geometrii i energii stanów przejściowych,
- obliczenie dysocjacji wiązań.

DOKOWANIE

Dokowanie – metoda modelowania molekularnego, pozwalająca na znalezienie położenia (i konformacji) ligandu w miejscu wiążącym receptora. Informacja ta pozwala na ocenę energii swobodnej wiązania (entalpii swobodnej) ΔG i obliczenie stałej powinowactwa K_a . Dokowaniem można nazwać również znalezienie odpowiednich oddziaływań pomiędzy białkami.





DOKOWANIE BIAŁKO-BIAŁKO

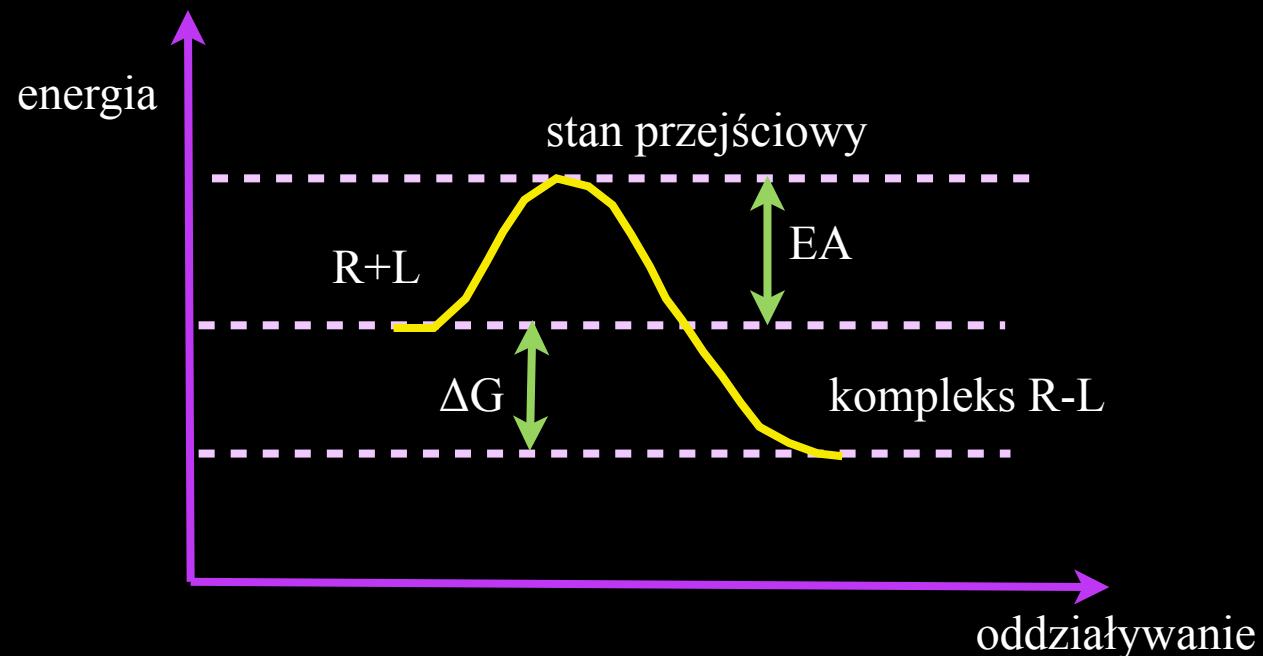
DockingShop : protein-protein docking

PDB : 4HVP

KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Jeżeli energia kompleksu Receptor (R) - Ligand (L) jest niższa niż energia L i R oddzielnie, kompleks R-L utworzy się spontanicznie. Zmiana energii swobodnej Gibbsa, która towarzyszy temu procesowi opisana jest równaniem:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$



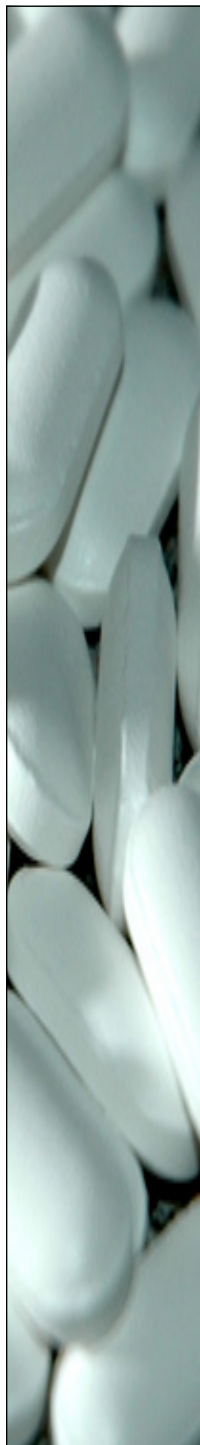
KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Wiązanie ligandu z receptorem opisuje równanie odwracalne dla tego procesu:



a stała równowagi K dla tego procesu:

$$K = [R-L]/[R]*[L]$$





KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Równanie Gibbsa w funkcji temperatury i stałej równowagi przybiera postać:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K$$

gdzie ΔG° jest standardową energią oddziaływania, tzn. zmianą ΔG , która towarzyszy tworzeniu kompleksu R-L w warunkach standardowych ($t = 25^\circ\text{C}$, $p = 100\text{kPa}$), R jest stałą gazową, T - temperaturą w stopniach K.



KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Równanie Gibbsa w funkcji temperatury i stałej równowagi przybiera postać:

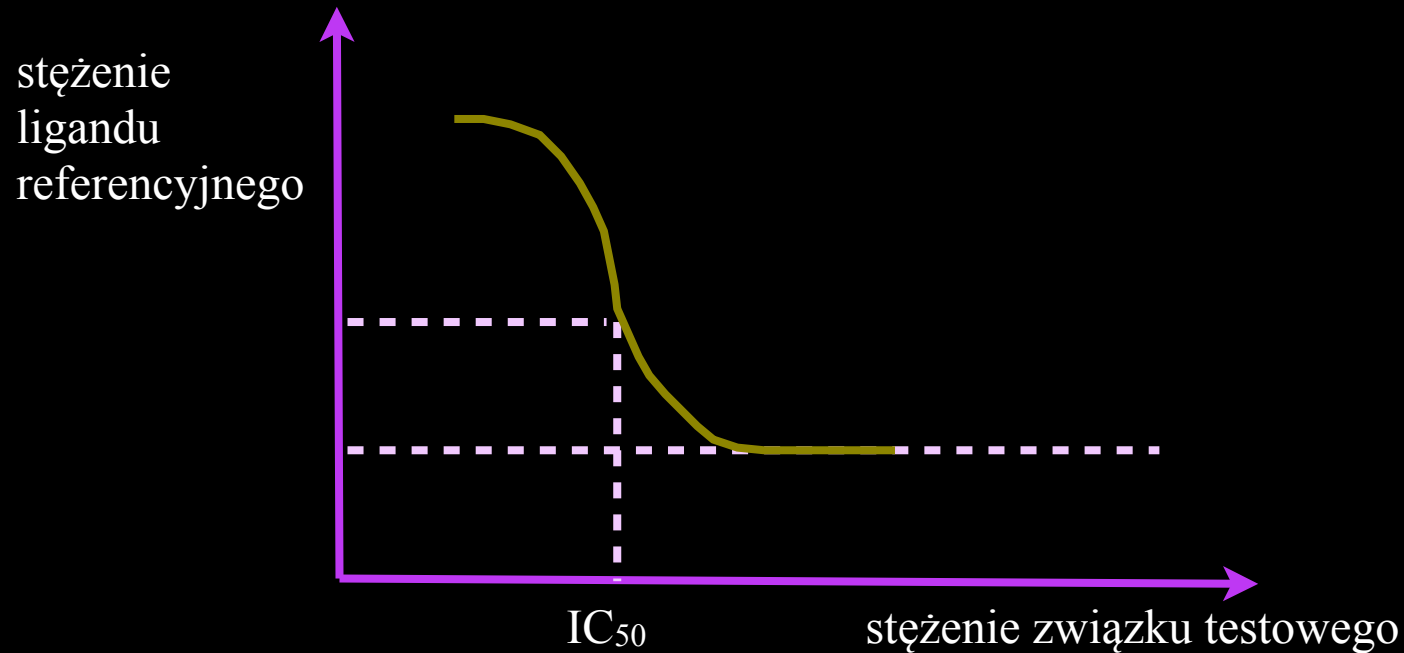
$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K$$

gdzie ΔG° jest standardową energią oddziaływania, tzn. zmianą ΔG , która towarzyszy tworzeniu kompleksu R-L w warunkach standardowych ($t = 25^\circ\text{C}$, $p = 100\text{kPa}$), R jest stałą gazową, T - temperaturą w stopniach K.

W warunkach równowagi termodynamicznej:

$$\Delta G^\circ = 2,303 RT \log K_i$$

KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND



Zwykle L_{ref} używa się radioaktywnego ligandu, którego stężenie jest łatwe do oznaczenia. Powinowactwo badanego związku wyraża się zwykle podając wartość IC₅₀ czyli stężenie L_{bad} , przy którym wypierane jest 50% L_{ref} .



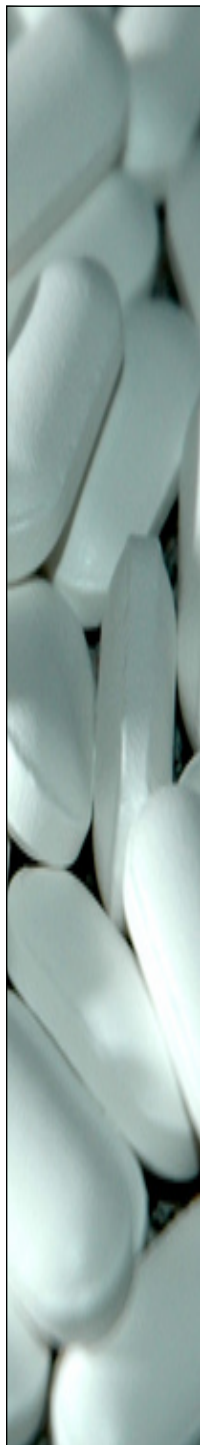
MIEJSCE WIĄZANIA

Przed rozpoczęciem procedury dokowania, trzeba określić położenie miejsca wiążącego:

- zastosowanie metod homologicznych,
- zastosowanie metod solwatacyjnych,
- zastosowanie metod dyskretnych (na siatce).

MIEJSCE WIĄZANIA

Metody homologiczne - porównanie sekwencji receptora z sekwencjami pokrewnych białek



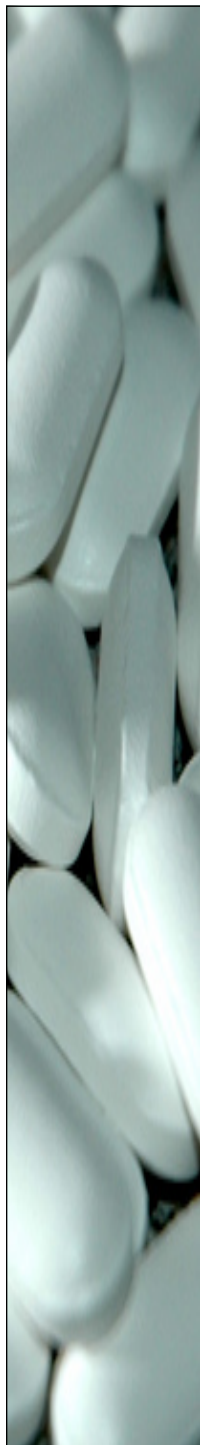
MIEJSCE WIĄZANIA

Metody solwatacyjne - ta grupa metod służy do odnajdywania zagłębień w powierzchni molekularnej białka



MIEJSCE WIĄZANIA

Metody dyskretne - Struktura białka otaczana jest punktami leżącymi w węzłach sieci sześciennej. Spośród tych punktów eliminowane są te, w których otoczeniu (sześciennym obszarze o zadanym boku) nie ma ani jednego atomu białka. Dzięki temu pozostawiane są tylko punkty leżące blisko powierzchni białka. W kolejnym kroku usuwane są te punkty, w których sąsiedztwie (o innym niż poprzednio rozmiarze) znajduje się mniej niż określona liczba atomów białka. Następnie punkty łączone są w grupy. Te z nich, które zawierają zbyt mało punktów są eliminowane, a resztę pozostawia się bez zmian, lub łączy w większe grupy jeśli odległość między nimi jest mniejsza od zadanego progu.





MIEJSCE WIĄZANIA

Często zdarza się, że otrzymamy kilka trafień na powierzchni receptora, które mogą być miejscem wiążącym. Dobrze jest wtedy przeprowadzić poszukiwania innymi metodami i przeanalizować wyniki, i/lub przeprowadzić dokowanie do wszystkich wytypowanych miejsc i na podstawie wartości oceny programu do dokowania i/lub wyników poszukiwań miejsca aktywnego wybrać odpowiednie.

LIGANDY

- znane związki,
- związki otrzymane sztucznie
- związki z baz danych



LIGANDY

Przeszukiwanie 2D:

Oparte o deskryptory strukturalne , np. grupy funkcyjne, rodzaje wiązań itp. Bez uwzględniania relacji przestrzennych między nimi. Często interesują nas nie tylko cząsteczki spełniające wszystkie kryteria (szczególnie jeśli są one bardzo szczegółowe), ale też cząsteczki o pewnym podobieństwie ($\neq 100\%$)

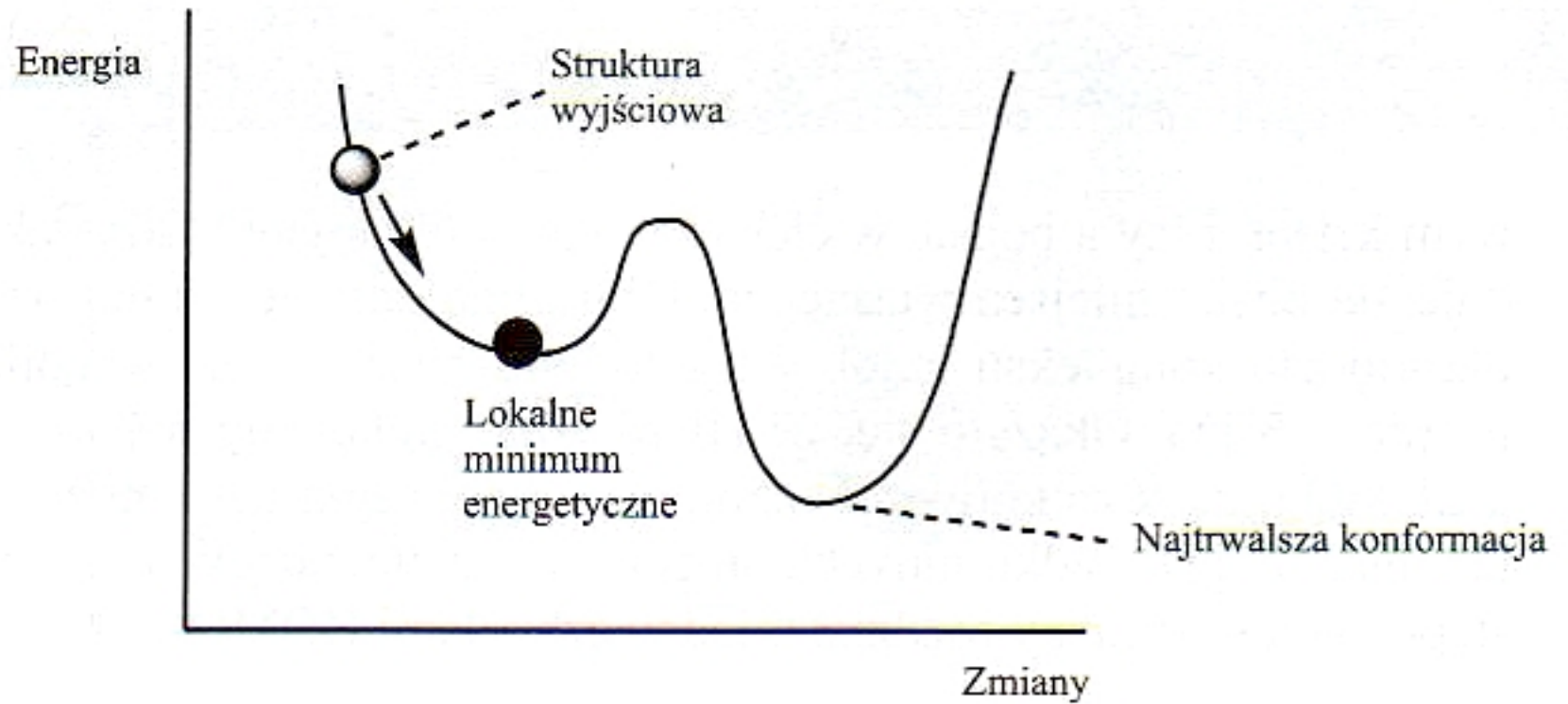
Przeszukiwanie 3D:

Generowanie struktur trójwymiarowych z wzorów strukturalnych poprzez rozbięcie cząsteczki na fragmenty, których struktury są znane i łączenie ich w taki sposób, żeby uniknąć poważnych zawałd sterycznych.

Giętkie przeszukiwanie 3D:

Oprócz generowania struktury trójwymiarowej, generowane są różne konformacje cząsteczki poprzez określone rotacje kątów torsyjnych. Jest to metoda dobra, ale czasochłonna.

LIGANDY



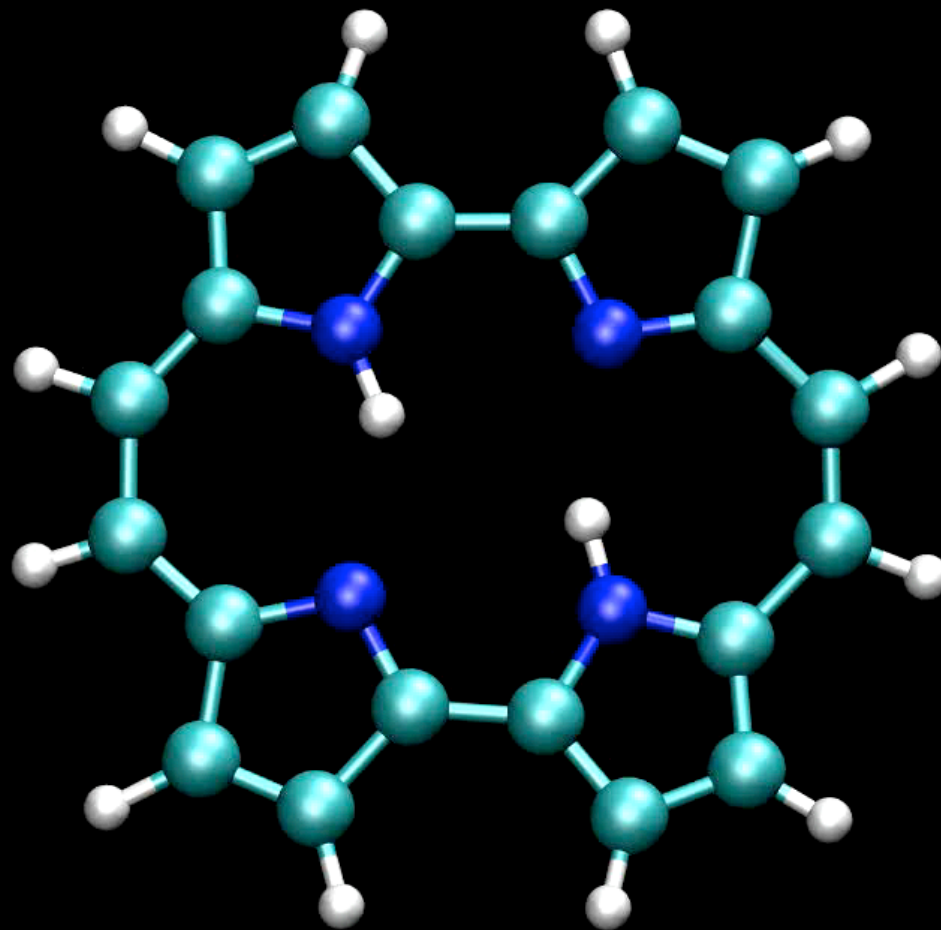
LIGANDY

Mając strukturę możemy obliczyć:

- energie steryczną (mierzona przy minimalizacji),
- ciepło tworzenia,
- moment dipolowy,
- gęstość ładunku,
- potencjał elektrostatyczny,
- gęstość spinów elektronowych,
- ładunki cząstkowe,
- polaryzowalność,
- częstość drgań w podczerwieni



PRZESKOK PROTONU



LIGANDY

Stabilna konformacja:

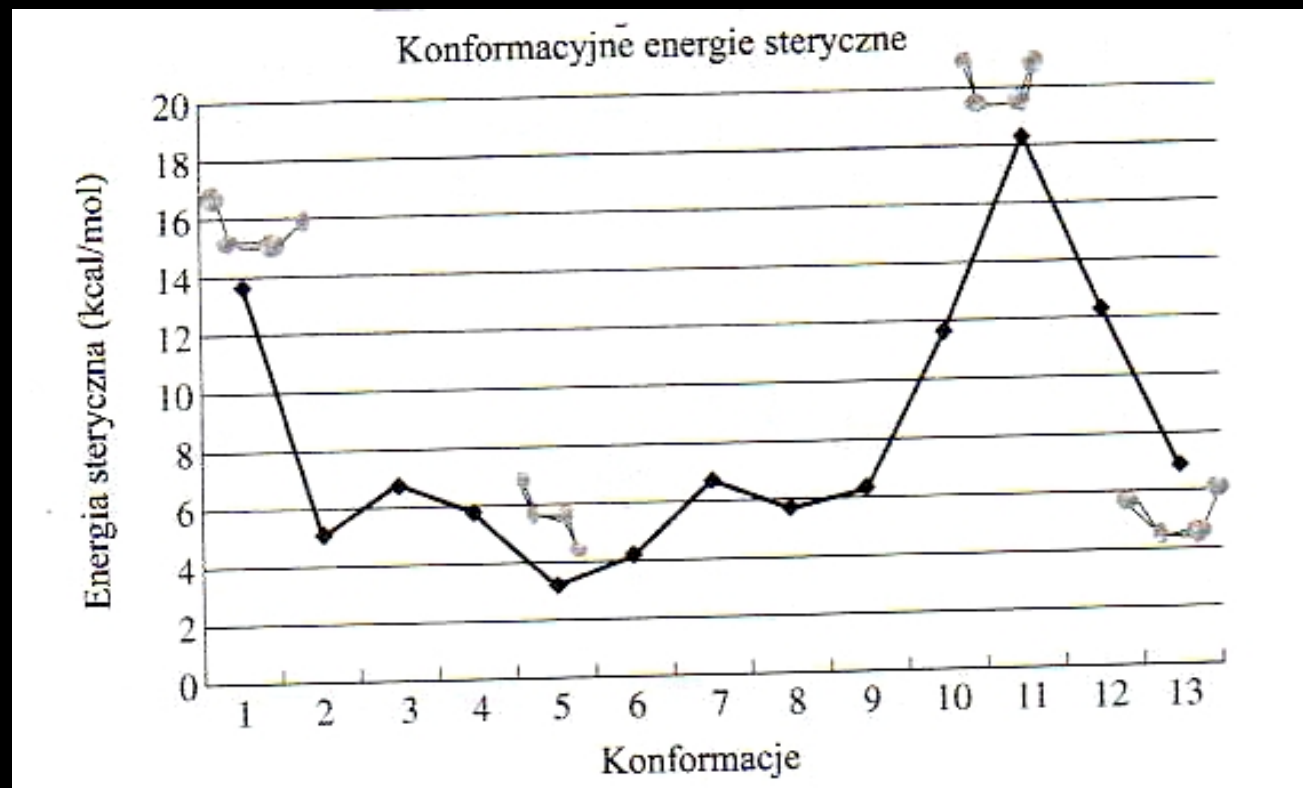
- dynamika molekularna,
- stopniowa rotacja wokół wiązania.



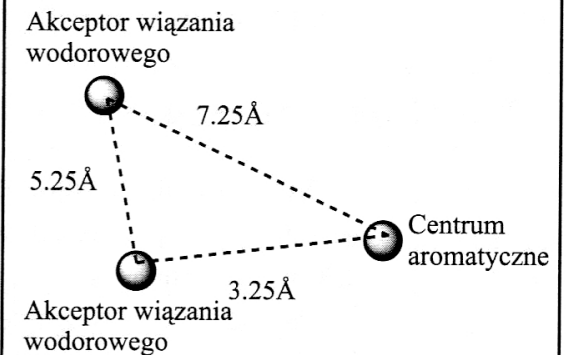
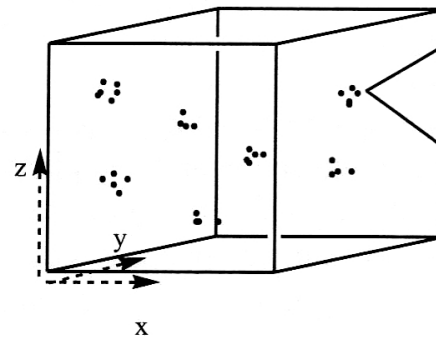
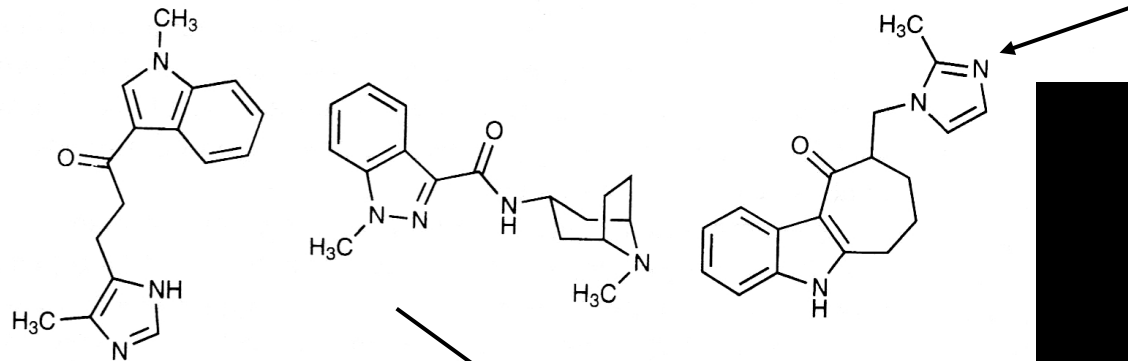
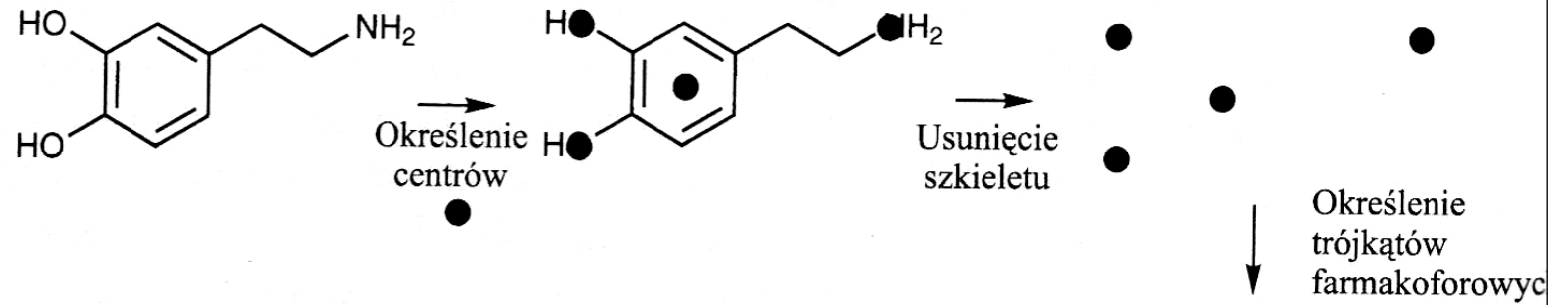
LIGANDY

Stabilna konformacja:

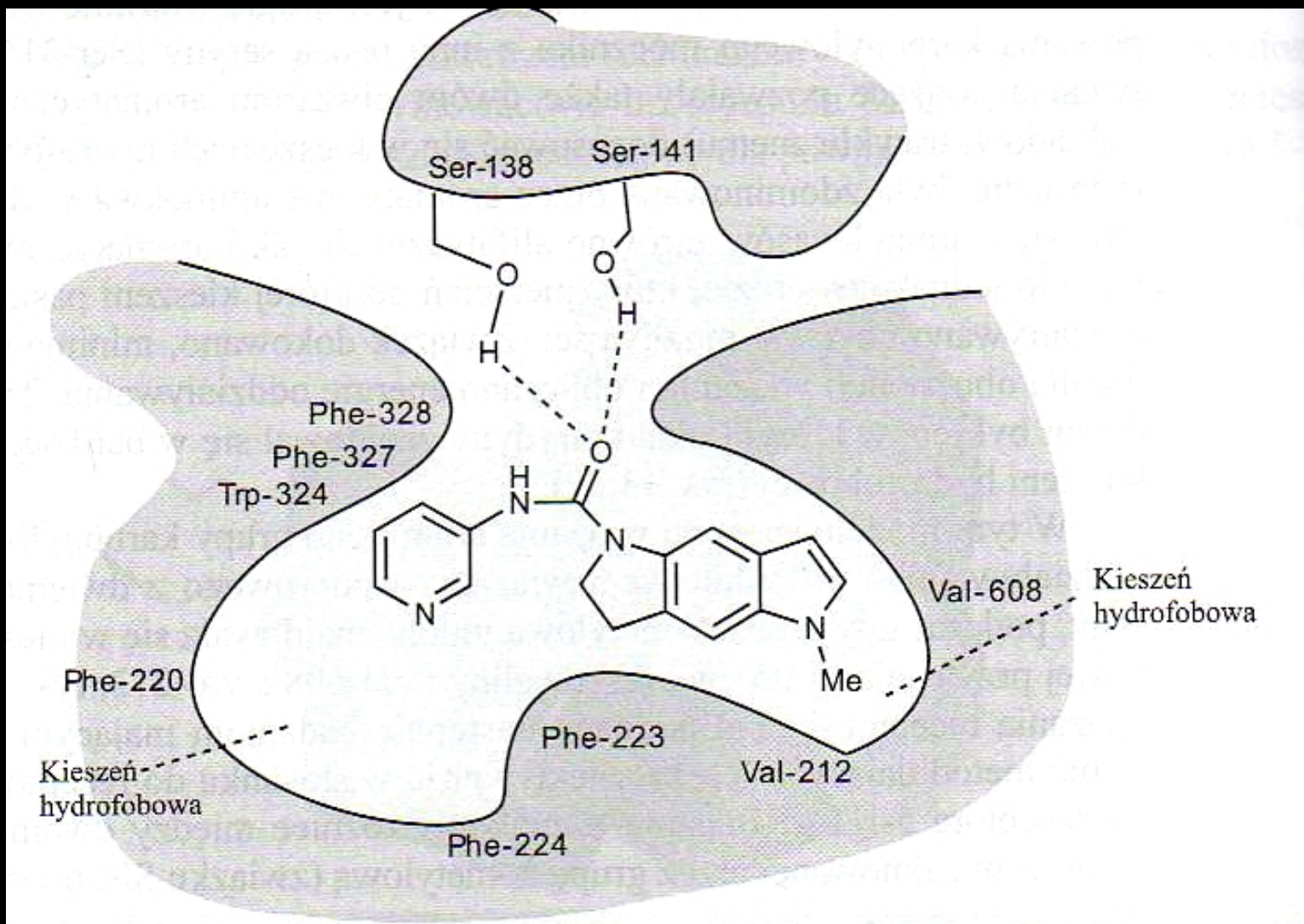
- dynamika molekularna,
- stopniowa rotcja wokół wiązania.



MODYFIKACJA FARMAKOFORÓW



PROJEKTOWANIE DE NOVO



DOKOWANIE

Miejsce wiążące należy odpowiednio przygotować:

Do struktury krystalograficznej należy dodać atomy wodoru, sprawdzić ich kierunkowość. Jest to szczególnie ważne dla atomów wodoru przyłączonych do silnie elektroujemnych atomów (tworzenie wiązań wodorowych).

Określić stany protonacyjne aminokwasów (Lys, Arg, His, Asp, Glu) .

Przypisać ładunki do atomów receptora oraz liganda.



DOKOWANIE

Dokowanie sztywne – konformacje receptora i liganda nie podlegają zmianie w czasie dokowania, cząsteczka liganda poddawana jest jedynie rotacjom i translacjom.

Dokowanie „semi-giętkie” – konformacja receptora jest niezmienna, natomiast cząsteczka liganda podlega translacjom, rotacjom oraz zmianom konformacyjnym.

Dokowanie giętkie – zarówno konformacja receptora jak i liganda są zmienne, a cząsteczka liganda jest dodatkowo poddawana rotacjom i translacjom.



DOKOWANIE

Metody dokowania sztywnego:

Metoda grafów – polega na połączeniu odpowiadających sobie cech receptora i liganda (węzły grafu). Ma to miejsce, gdy kompatybilne ze sobą cechy są w tej samej odległości (geometrycznej) w ligandzie, jak i receptorze.

Najlepsze dopasowanie charakteryzuje się największym połączonym podgrafem wyjściowego grafu (czyli układu ligand-receptor).

Metoda pola molekularnego – polega na wypełnieniu miejsca wiązania sferami, stykającymi się z powierzchnią miejsca wiążącego a następnie dopasowaniu przy pomocy metody najmniejszych kwadratów atomów liganda do środków tych sfer. Po każdym dopasowaniu obliczana jest energia oddziaływania i jako najlepsze uznane zostaje dopasowanie charakteryzujące się najniższą energią.



DOKOWANIE

Metody dokowania „semi-giętkiego”:

Metody stochastyczne – Monte Carlo – generowanie losowych konformacji i położeń liganda i akceptacja wg. kryterium Metropolis'a (względem energii oddziaływania).

Metody podziału liganda – ligand jest dzielony na fragmenty sztywne (miejscami podziału są wiązania rotujące), następnie dokowany jest główny fragment, a następnie dobudowywane są do niego pozostałe fragmenty, w taki sposób, żeby odtworzyć wyjściowy układ wiązań w cząsteczce, lub dokowane są wszystkie od razu i sprawdzana jest możliwość odbudowy układu wiązań.



DOKOWANIE

Metody dokowania giętkiego:

Uwzględniają możliwości zmian konformacyjnych łańcuchów bocznych aminokwasów w miejscu wiążącym receptora. Najczęściej liczbę możliwości zmian konformacyjnych ogranicza się do konformacji występujących w bazach rotamerów (np. Dunbrack'a).



DOKOWANIE BIAŁKO-LIGAND

DockingShop : protein-ligand docking

PDB : 2PCB





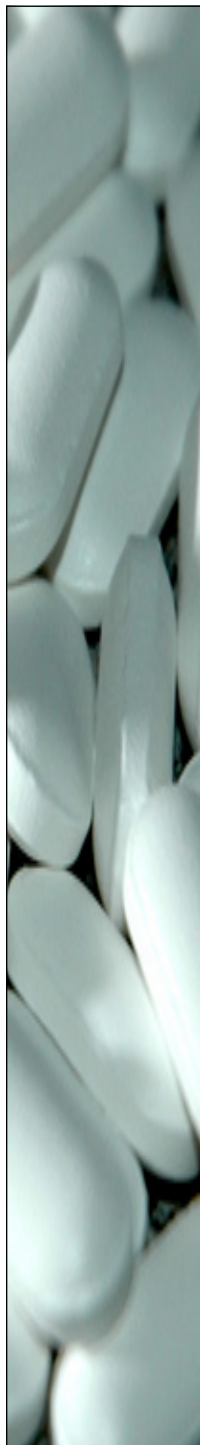
DOKOWANIE

W metodach CAMD wyróżnia się dwie podstawowe strategie postępowania zależne od dostępu do informacji strukturalnej:

- 1. polega na poszukiwaniu niskocząsteczkowego bioefektora jako komplementarnego dopełnienia receptora**
- 2. polega na badaniu analogii w zbiorze aktywnych ligandów z utworzeniem trójwymiarowej mapy oddziaływań tzw. farmakofora.**

DOKOWANIE

- Procedura dokowania składa się z dwóch części:
1. procesu określania geometrii kompleksu receptor-ligand, który oparty jest na algorytmie poszukiwania właściwej konformacji ligandu i receptora
 2. funkcji oceny dopasowania





DOKOWANIE

Optymalizacja procedury dokowania polega na porównaniu przestrzennego rozmieszczenia referencyjnych atomów ligandu w kieszeni receptora (najczęściej pobranych z PDB) do tych otrzymanych przy zastosowaniu konkretnej techniki dokowania.

Jakość procedury dokowania oceniana jest liczbowo przez obliczanie wartości RMSD dla zadokowanego modu oraz ligandu referencyjnego. Wartość $RMSD < 2\text{Å}$, wskazuje, iż określona technika poprawnie dokuje ligand w określonym receptorze.



DOKOWANIE

Funkcje oceniające:

Pozwalają ocenić powinowactwo ligandu do receptora. Ponieważ dokładne obliczenia termodynamiczne są bardzo czasochłonne, funkcje oceniające oparte są częściowo na polach siłowych, a częściowo na potencjałach empirycznych (wyprowadzanych w oparciu o znane struktury określone eksperymentalnie).

DOKOWANIE

Trzy kategorie funkcji oceniającej:

- funkcje oparte na polu siłowym

-funkcje empiryczne

-funkcje bazujące na znajomości oddziaływań ligandu w kieszeni receptora





DOKOWANIE

Funkcja oceniająca oparta na polu siłowym składa się z członu oceny wiążących oddziaływań ligand - receptor oraz niewiążącego członu energii ligandu. Funkcja przedstawiana jest sumarycznie jako kombinacja potencjału van der Waalsa oraz potencjału elektrostatycznego.



DOKOWANIE

Funkcja oceniająca oparta na polu siłowym składa się z członu oceny wiążących oddziaływań ligand - receptor oraz niewiążącego członu energii ligandu. Funkcja przedstawiana jest sumarycznie jako kombinacja potencjału van der Waalsa oraz potencjału elektrostatycznego.

D-Score, G-Score, GoldScore, AutoDock, AMBER, CHARMM, GROMOS, OPLS

DOKOWANIE

Funkcja oceniająca oparta na funkcji empirycznej:
w tych funkcjach energia swobodna wiązania ligand -
receptor przybliżana jest przez liniową kombinację
nieskorelowanych wzajemnie członów
odzwierciedlających dane otrzymane eksperymentalnie
wg. wzoru:

$$\Delta G_{\text{wiązania}} = \sum \Delta G_i f_i$$

gdzie f_i - funkcja opisująca konkretne oddziaływanie, które zależne
jest od cech strukturalnych kompleksu ligand-receptor, ΔG_i -
określa współczynnik wagowy konkretnego członu oddziaływań
obliczony metodami analizy regresji dla eksperymentalnie
wyznaczonych energii wiązań kompleksów ligand-receptor zbioru
treningowego

DOKOWANIE

Funkcja oceniająca oparta na funkcji empirycznej:
w tych funkcjach energia swobodna wiązania ligand - receptor przybliżana jest przez liniową kombinację nieskorelowanych wzajemnie członów odzwierciedlających dane otrzymane eksperymentalnie wg. wzoru:

$$\Delta G_{\text{wiązania}} = \sum \Delta G_i f_i$$

gdzie f_i - funkcja opisująca konkretne oddziaływanie, które zależne jest od cech strukturalnych kompleksu ligand-receptor, ΔG_i - określa współczynnik wagowy konkretnego członu oddziaływań obliczony metodami analizy regresji dla eksperymentalnie wyznaczonych energii wiązań kompleksów ligand-receptor zbioru treningowego

F-Score, SCORE1, ChemScore, SCORE, Fresno, X-Score



DOKOWANIE

Funkcja oceniająca oparta na znajomości oddziaływań ligandu w kieszeni receptora bazują na statystycznej analizie danych strukturalnych znanych kompleksów ligand-receptor przechowywanych w bazach danych. Funkcje te zawierają zredukowane człony oddziaływań międzyatomowych, które umożliwiają wydajne przeszukiwanie znacznej liczby danych.



DOKOWANIE

Funkcja oceniająca oparta na znajomości oddziaływań ligandu w kieszeni receptora bazują na statystycznej analizie danych strukturalnych znanych kompleksów ligand-receptor przechowywanych w bazach danych. Funkcje te zawierają zredukowane człony oddziaływań międzyatomowych, które umożliwiają wydajne przeszukiwanie znacznej liczby danych.

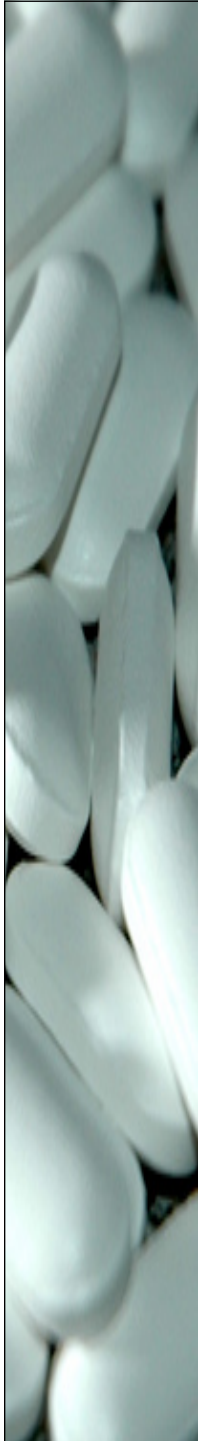
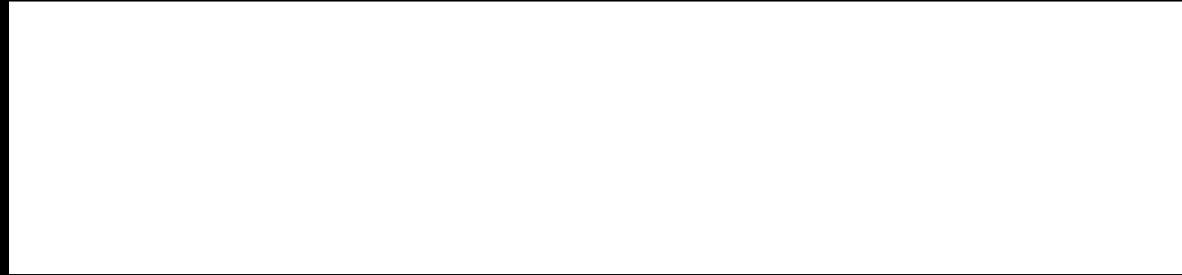
DrugScore, SMOG, BLEEP, PMF

DOKOWANIE

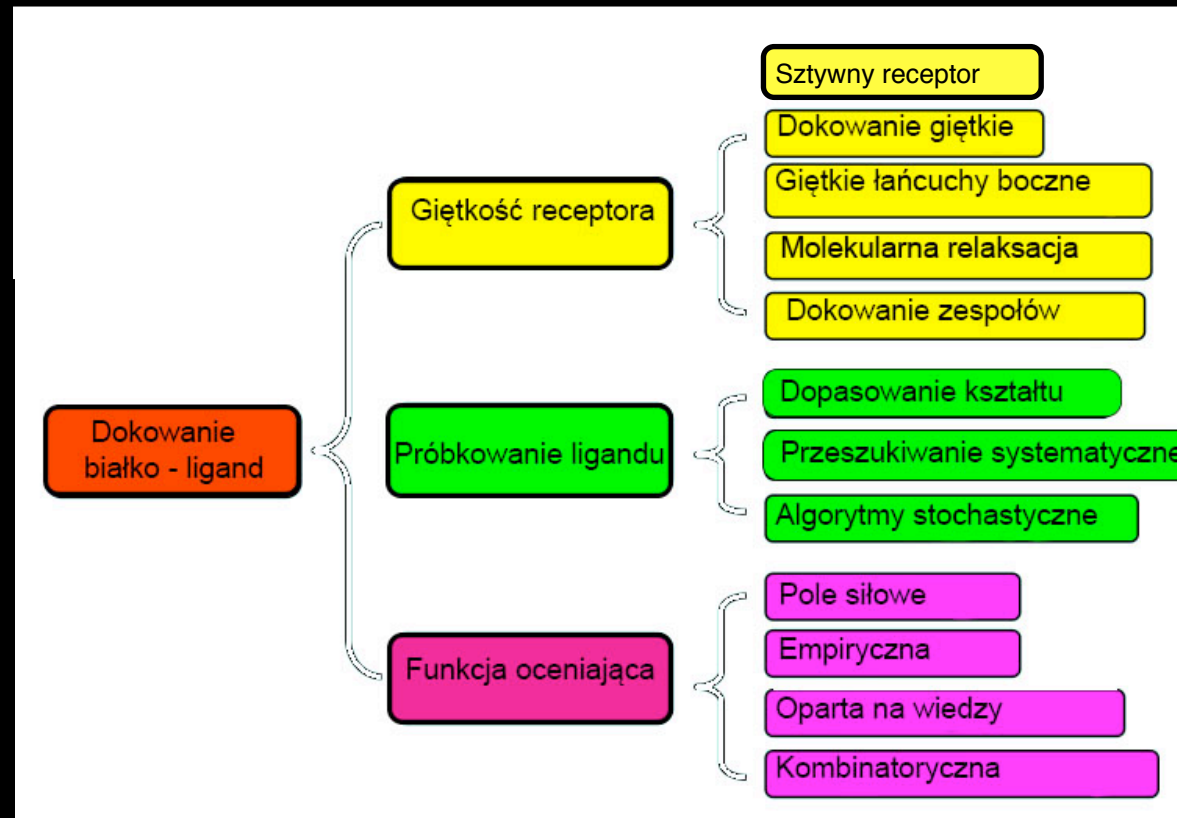
Obecnie w większości pakietów do dokowania przewiduje na poziomie 70 - 80% geometrię ligandu referencyjnego w kieszeni receptora wygenerowanej na podstawie struktury krystalograficznej pobranej z PDB.



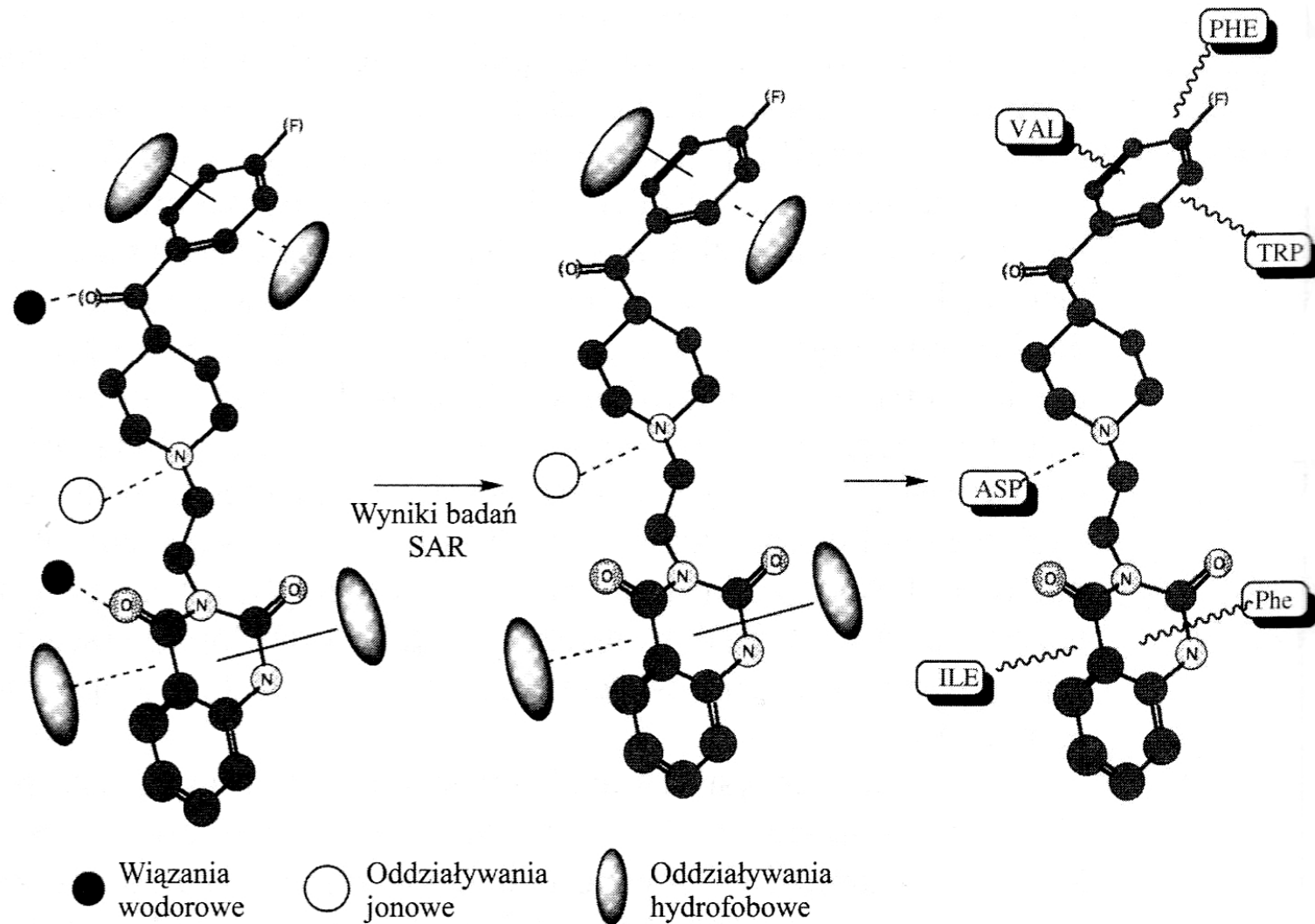
DOKOWANIE



DOKOWANIE

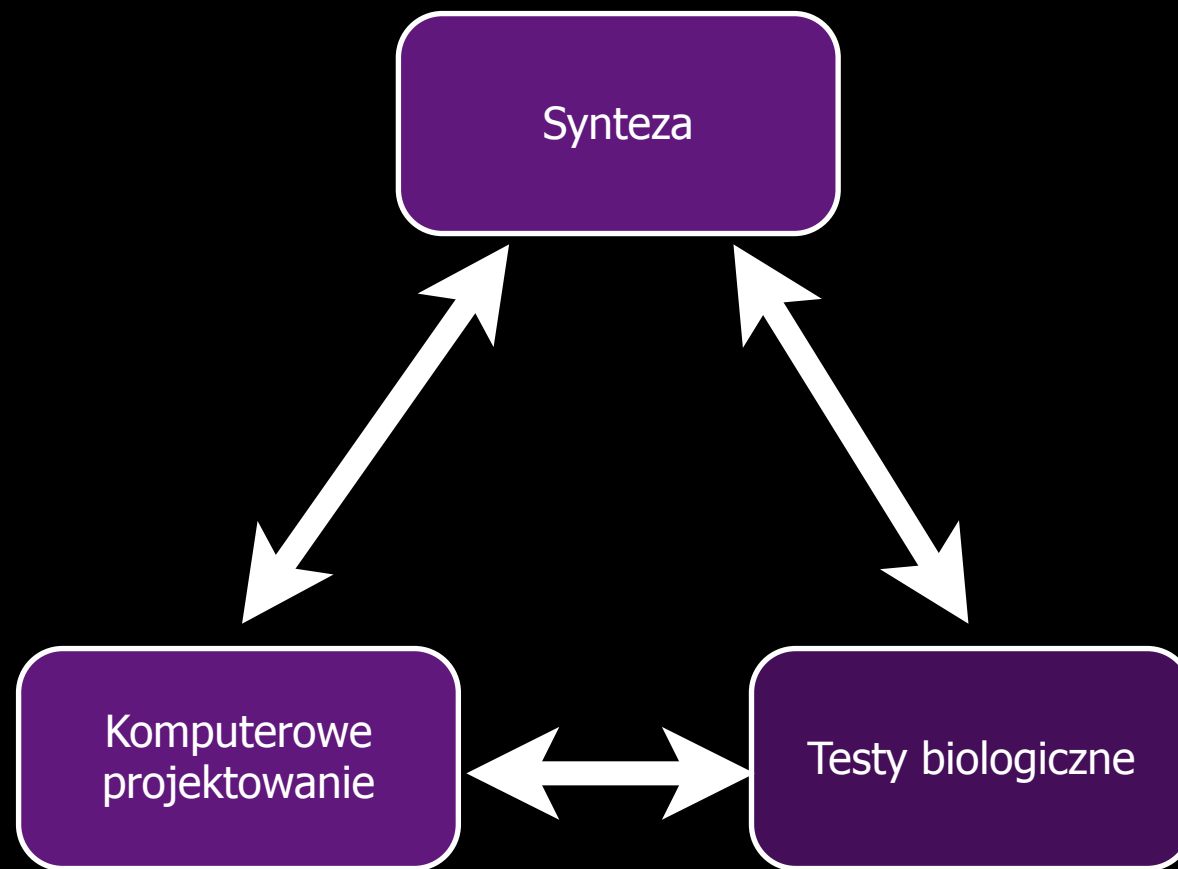


BUDOWANIE MODELU MIEJSCA WIĄZĄCEGO



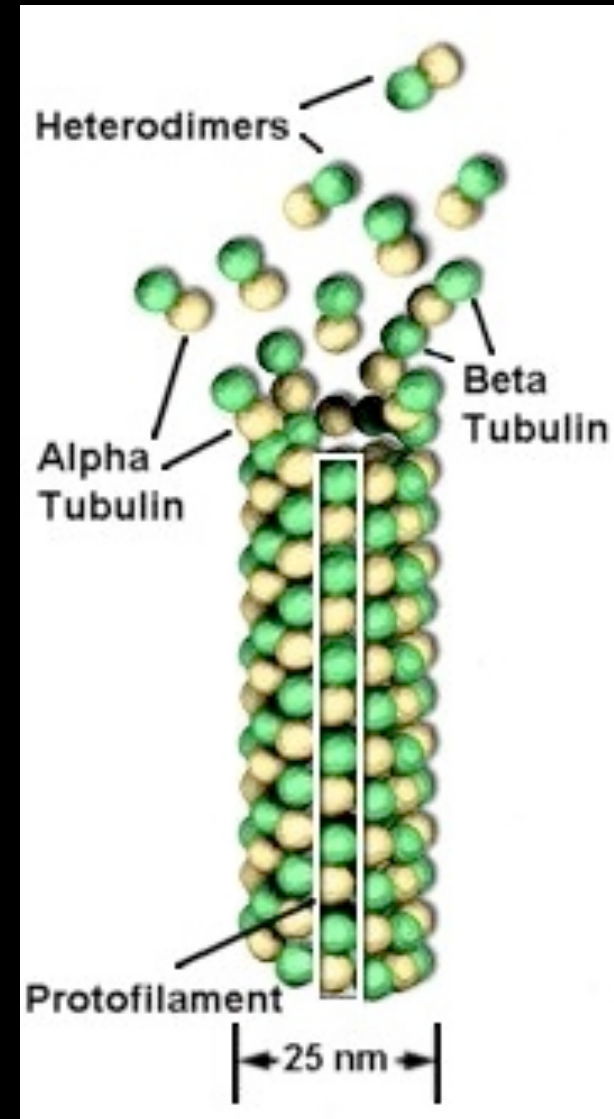
ETAP BADAŃ PRZEDKLINICZNYCH

modyfikacja struktury wiodącej



STRUKTURA I FUNKCJE MIKROTUBUL

- Podstawową jednostką jest tubulina powiązana z GTP
- *Alfa-* i *beta-* tubuliny tworzą dimer
- Dimery tworzą cylindryczną strukturę zbudowaną z 13 równoległych protofilamentów
- Struktura protofilamentu jest polarna

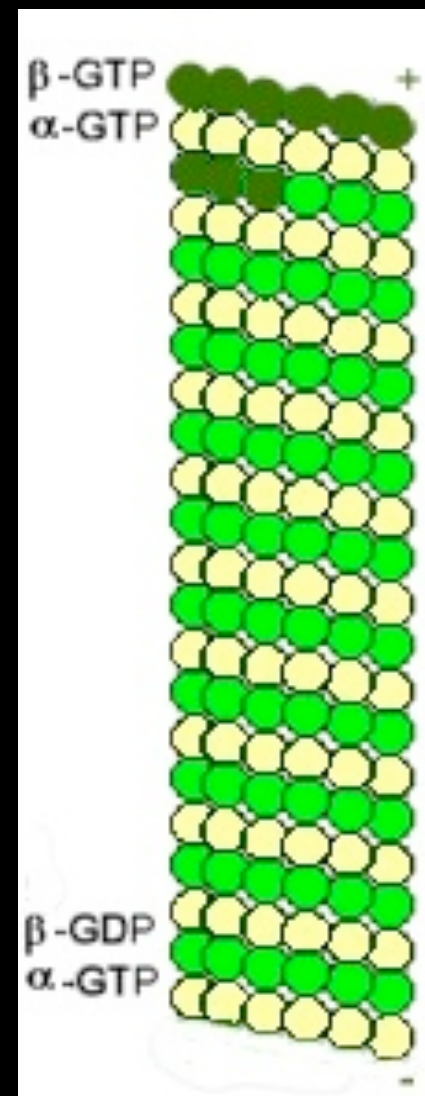


STRUKTURA I FUNKCJE MIKROTUBUL

Obie tubuliny posiadają GTP

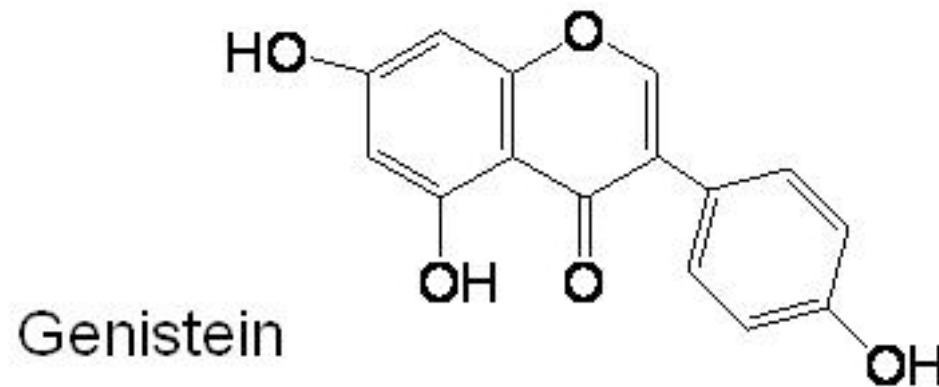
Gdy mikrotubula rośnie powoli, cząsteczka GTP hydrolizuje do GDP efektem tego jest skracanie się mikrotubuli.

Jeśli w pobliżu znajduje się duża ilość GTP-tubuliny wówczas nie dochodzi do hydrolizy i nowo przyłączone cząsteczki są zakrywane kolejnymi cząsteczkami GTP-tubuliny, powstaje wtedy ochronna „czapeczka” zwana GTP-cap chroniąca przed depolimeryzacją.



GENISTEINA

Genisteina - łatwo dostępny związek z grupy izoflawonoidów, którego naturalnym źródłem jest soja (łac. *Glycine max*).



GENISTEINA

Korzystne działania genisteiny w komórkach:

- jest silnym inhibitorem kinaz tyrozynowych
- wpływa na podział, różnicowanie komórek, oraz na indukcję apoptozy
- jest potencjalnym antyoksydantem
- wiąże się z niewielkim powinowactwem do receptora estrogenu
- indukuje apoptozę w nowotworowych liniach komórkowych



GENISTEINA

Korzystne działania genisteiny w komórkach:

- jest silnym inhibitorem kinaz tyrozynowych
- wpływa na podział, różnicowanie komórek, oraz na indukcję apoptozy
- jest potencjalnym antyoksydantem
- wiąże się z niewielkim powinowactwem do receptora estrogenu
- indukuje apoptozę w nowotworowych liniach komórkowych



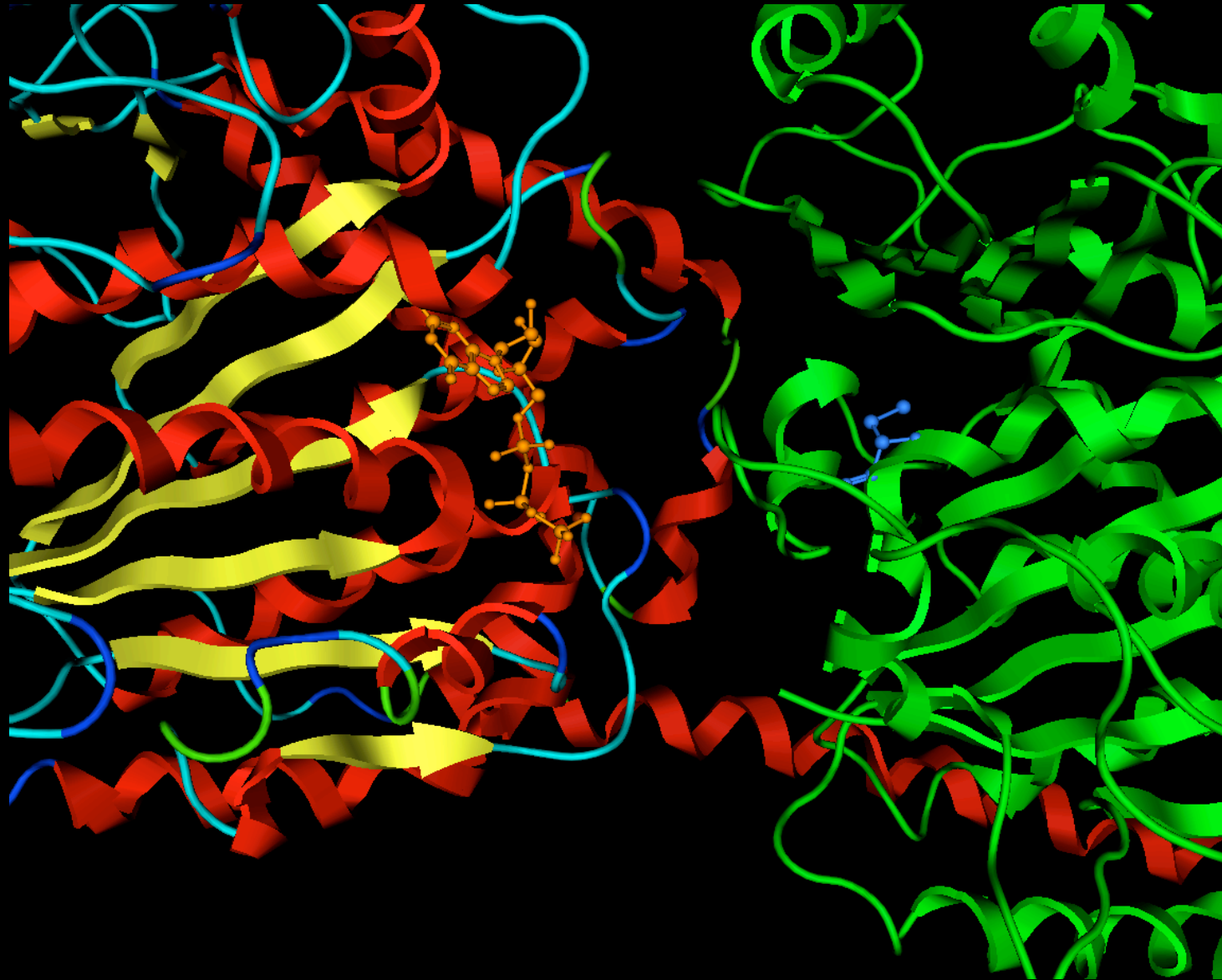
GENISTEINA

Ale:

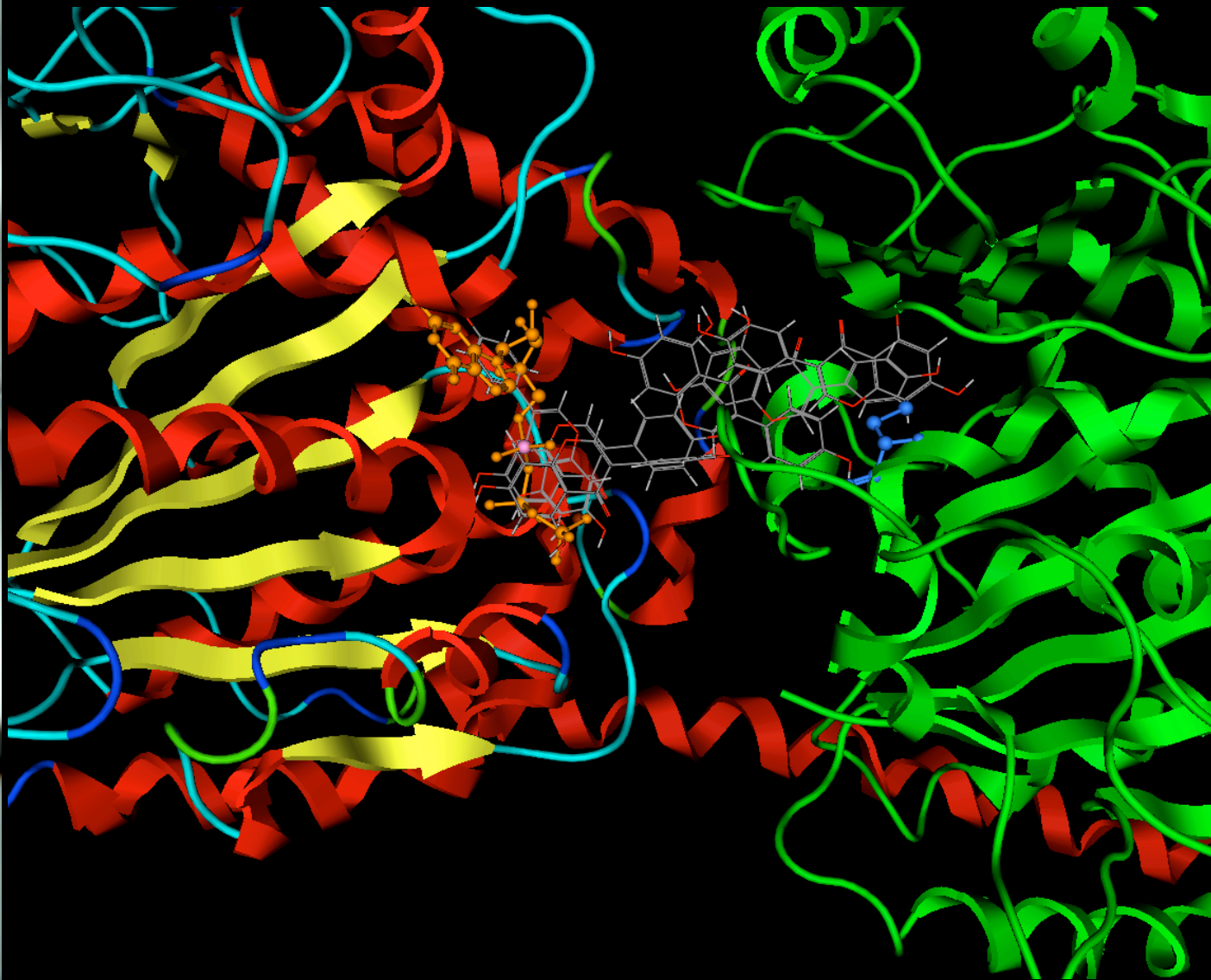
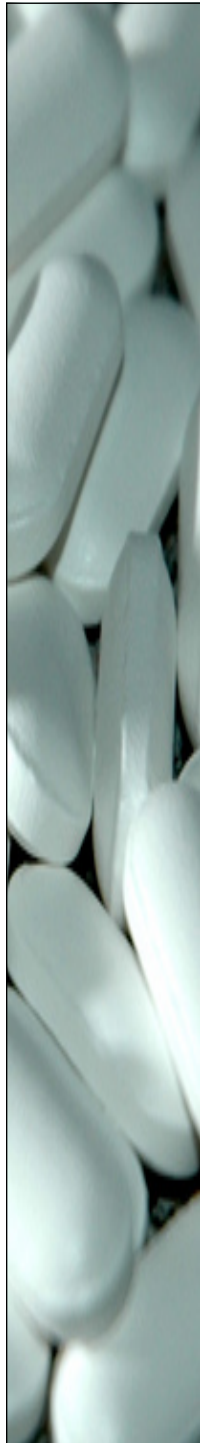
- słabo rozpuszcza się w wodzie i ulega szybkiej biotransformacji do nieaktywnych metabolitów (skutkiem tego jest niewystarczająca koncentracja w docelowych komórkach)
- małą specyficznością w stosunku do komórek nowotworowych



GENISTEINA



GENISTEINA



GENISTEINA



	mol	mseq	S	E_conf	E_place	E_score	E_ASE
1	ifg.pdb.X	1	-11.8980	0.0000	-9.7633	-11.8980	-17.5040
2	ifg.pdb.X	1	-11.4717	0.0000	-9.6364	-11.4717	-11.0620
3	ifg.pdb.X	1	-11.3772	0.0000	-11.8288	-11.3772	-13.8468
4	ifg.pdb.X	1	-11.3361	0.0000	-10.5112	-11.3361	-9.7030
5	ifg.pdb.X	1	-11.3180	0.0000	-10.1522	-11.3180	-9.2373
6	ifg.pdb.X	1	-11.0687	0.0000	-10.4553	-11.0687	-12.6568
7	ifg.pdb.X	1	-10.7500	0.0000	-11.5876	-10.7500	-7.5551
8	ifg.pdb.X	1	-10.7373	0.0000	-12.4553	-10.7373	-12.3568
9	ifg.pdb.X	1	-10.6928	0.0000	-10.8046	-10.6928	-10.6263
10	ifg.pdb.X	1	-10.6575	0.0000	-12.6987	-10.6575	-13.7229
11	ifg.pdb.X	1	-10.6313	0.0000	-12.1218	-10.6313	-9.4498
12	ifg.pdb.X	1	-10.6080	0.0000	-12.7135	-10.6080	-12.3278
13	ifg.pdb.X	1	-10.6041	0.0000	-10.4480	-10.6041	-9.0798
14	ifg.pdb.X	1	-10.4993	0.0000	-11.0819	-10.4993	-9.4539
15	ifg.pdb.X	1	-10.4069	0.0000	-9.6774	-10.4069	-12.2244
16	ifg.pdb.X	1	-10.3666	0.0000	-10.7792	-10.3666	-12.4282
17	ifg.pdb.X	1	-10.3073	0.0000	-12.8782	-10.3073	-10.6175
18	ifg.pdb.X	1	-10.1782	0.0000	-12.8155	-10.1782	-13.1144
19	ifg.pdb.X	1	-10.1340	0.0000	-9.5741	-10.1340	-15.2405
20	ifg.pdb.X	1	-10.1232	0.0000	-12.3028	-10.1232	-9.1828
21	ifg.pdb.X	1	-10.0769	0.0000	-12.5761	-10.0769	-7.5531
22	ifg.pdb.X	1	-10.0485	0.0000	-12.5837	-10.0485	-13.5483
23	ifg.pdb.X	1	-10.0162	0.0000	-10.1366	-10.0162	-9.0048
24	ifg.pdb.X	1	-10.0156	0.0000	-12.0462	-10.0156	-9.7308
25	ifg.pdb.X	1	-9.9828	0.0000	-11.2623	-9.9828	-7.1350
26	ifg.pdb.X	1	-9.9795	0.0000	-11.7403	-9.9795	-9.2251
27	ifg.pdb.X	1	-9.9741	0.0000	-11.4048	-9.9741	-12.1756
28	ifg.pdb.X	1	-9.9696	0.0000	-10.1063	-9.9696	-10.6628
29	ifg.pdb.X	1	-9.9635	0.0000	-12.5509	-9.9635	-9.6473
30	ifg.pdb.X	1	-9.9114	0.0000	-9.7475	-9.9114	-10.1776

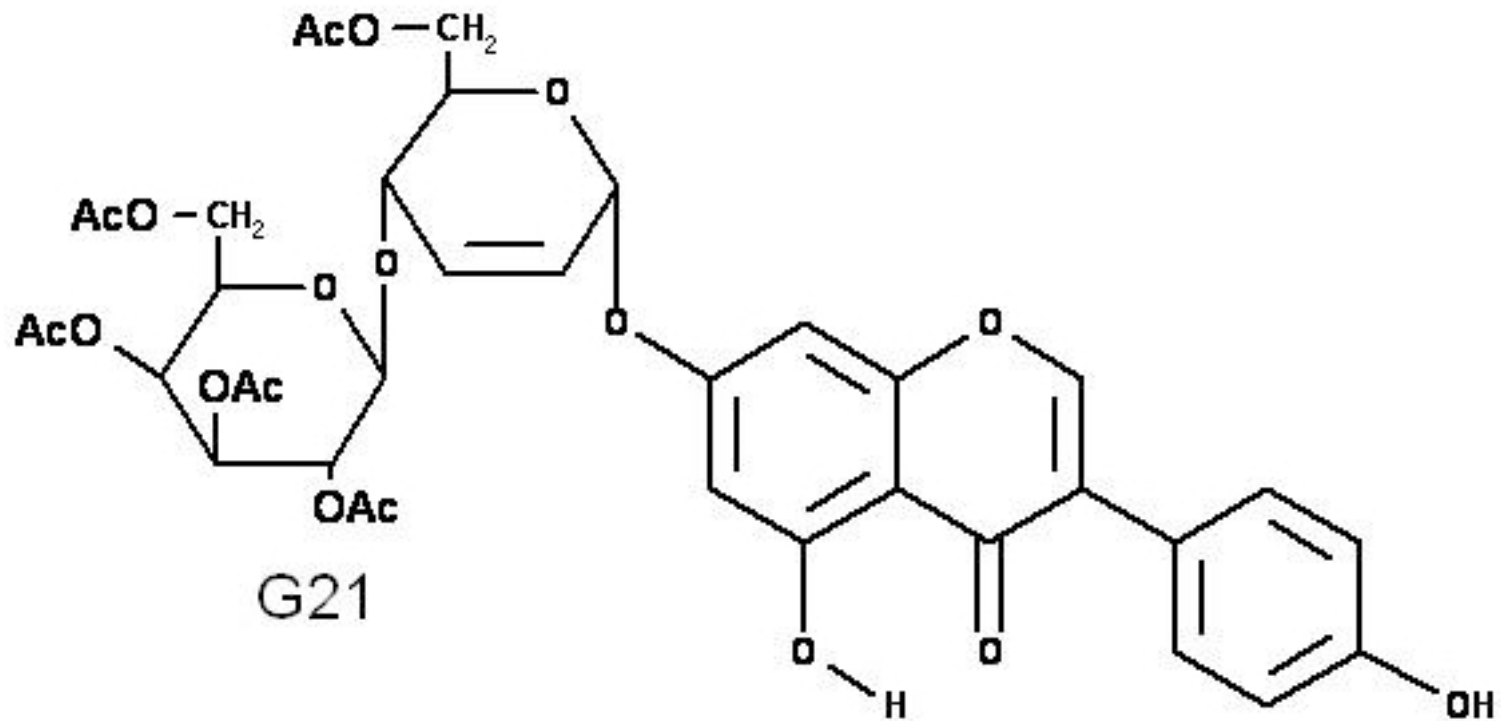
G21

Cząsteczka G21:

- hamuje polimeryzację tubuliny w układzie bezkomórkowym przez zaburzenie dynamiki mikrotubul
- indukuje aberrację wrzeciona podziałowego
- hamuje aktywność kinaz tyrozynowych Abl, Flt3 i Lck



G21



KINAZY TYROZYNOWE: ABL I LCK



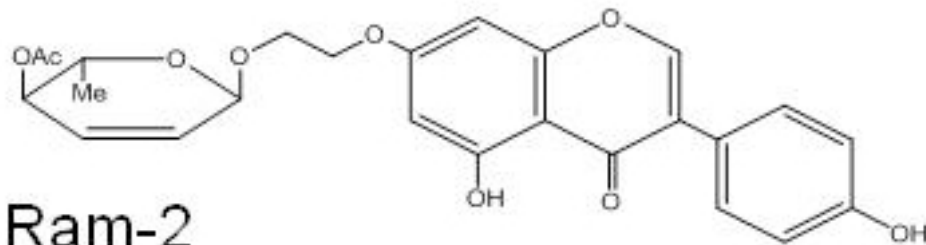
Lck



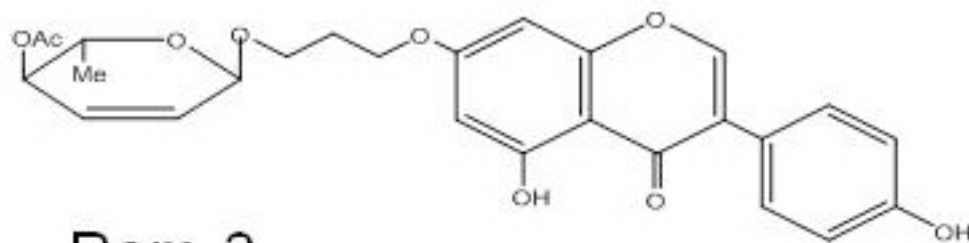
Abl



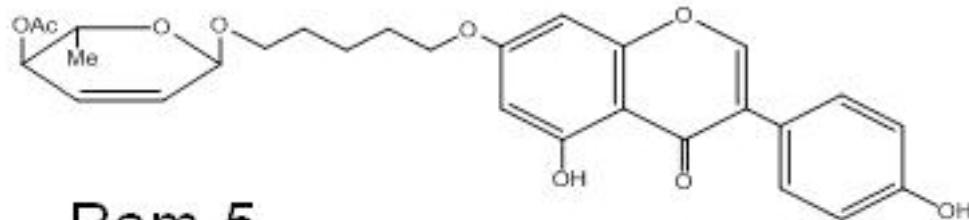
RAM 1-5



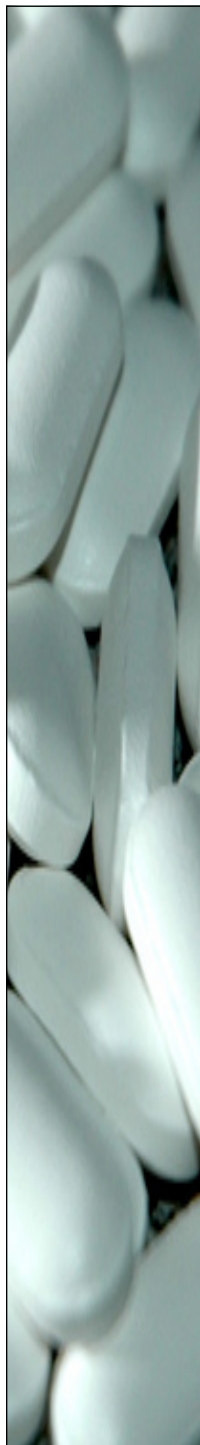
Ram-2



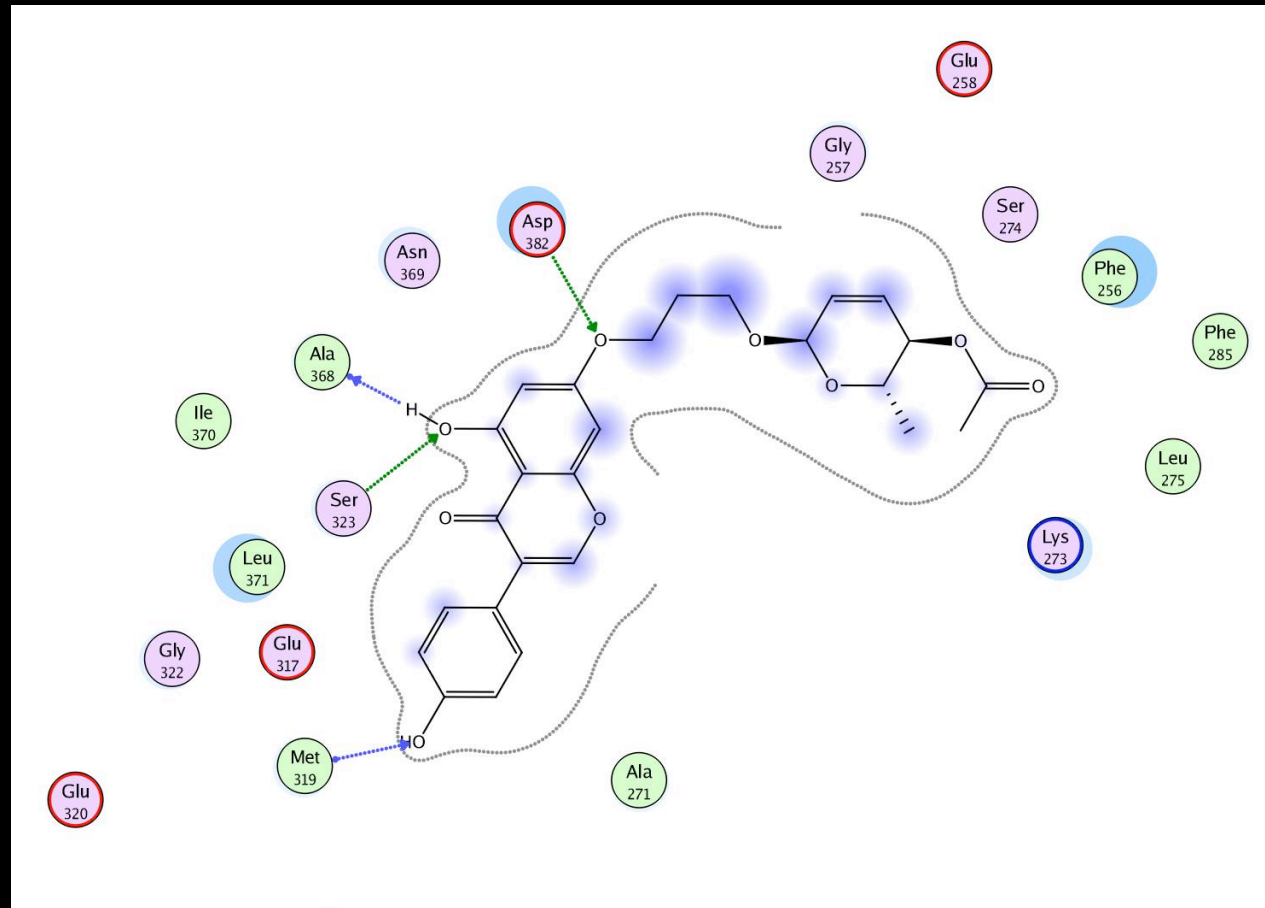
Ram-3



Ram-5

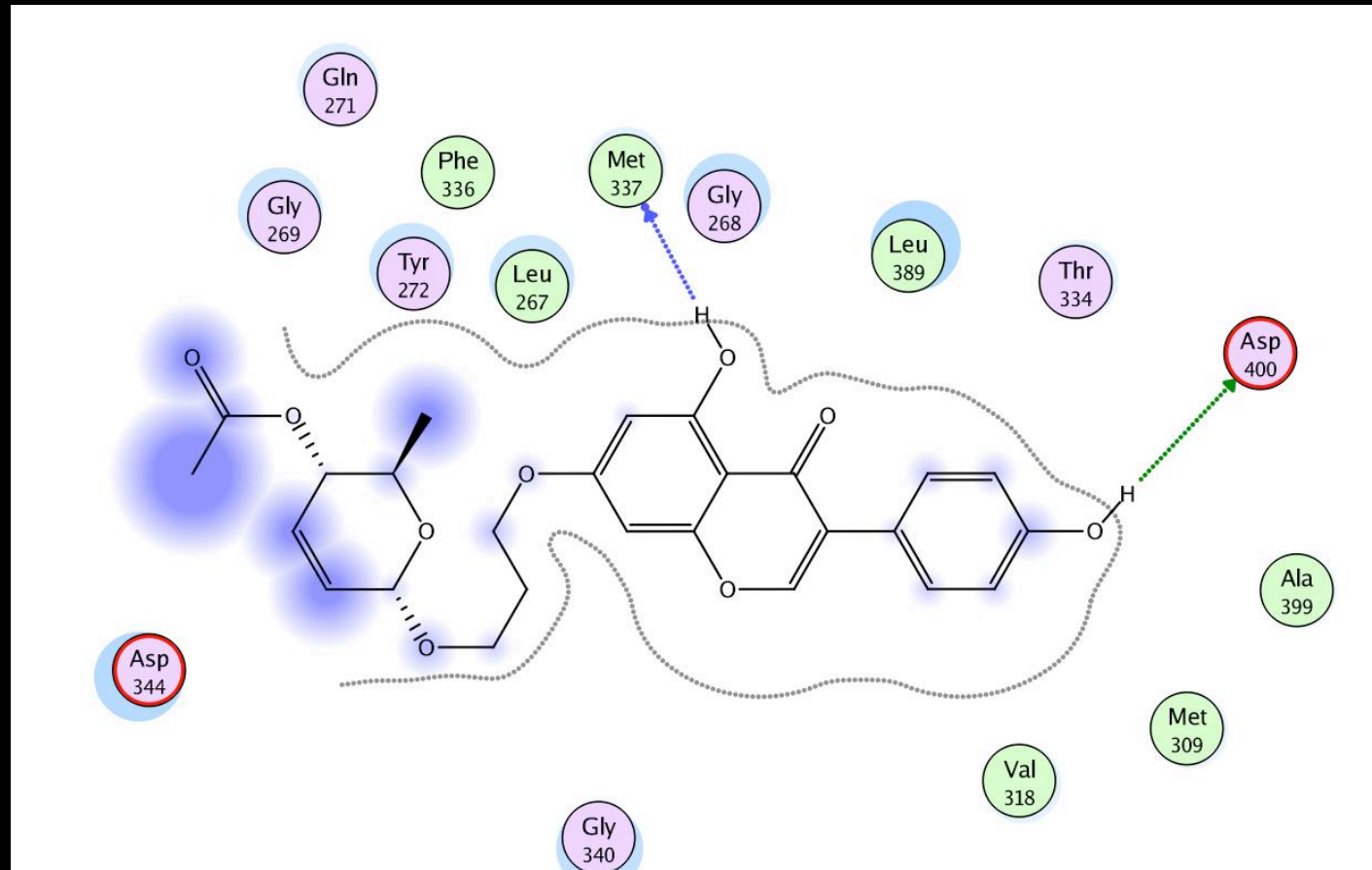


DOKOWANIE DO KINAZY LCK



- | | | |
|-------------------|--------------------|-------------------|
| polar | sidechain acceptor | solvent residue |
| acidic | sidechain donor | metal complex |
| basic | backbone acceptor | solvent contact |
| greasy | backbone donor | metal contact |
| proximity contour | ligand exposure | receptor exposure |

DOKOWANIE DO KINAZY ABL



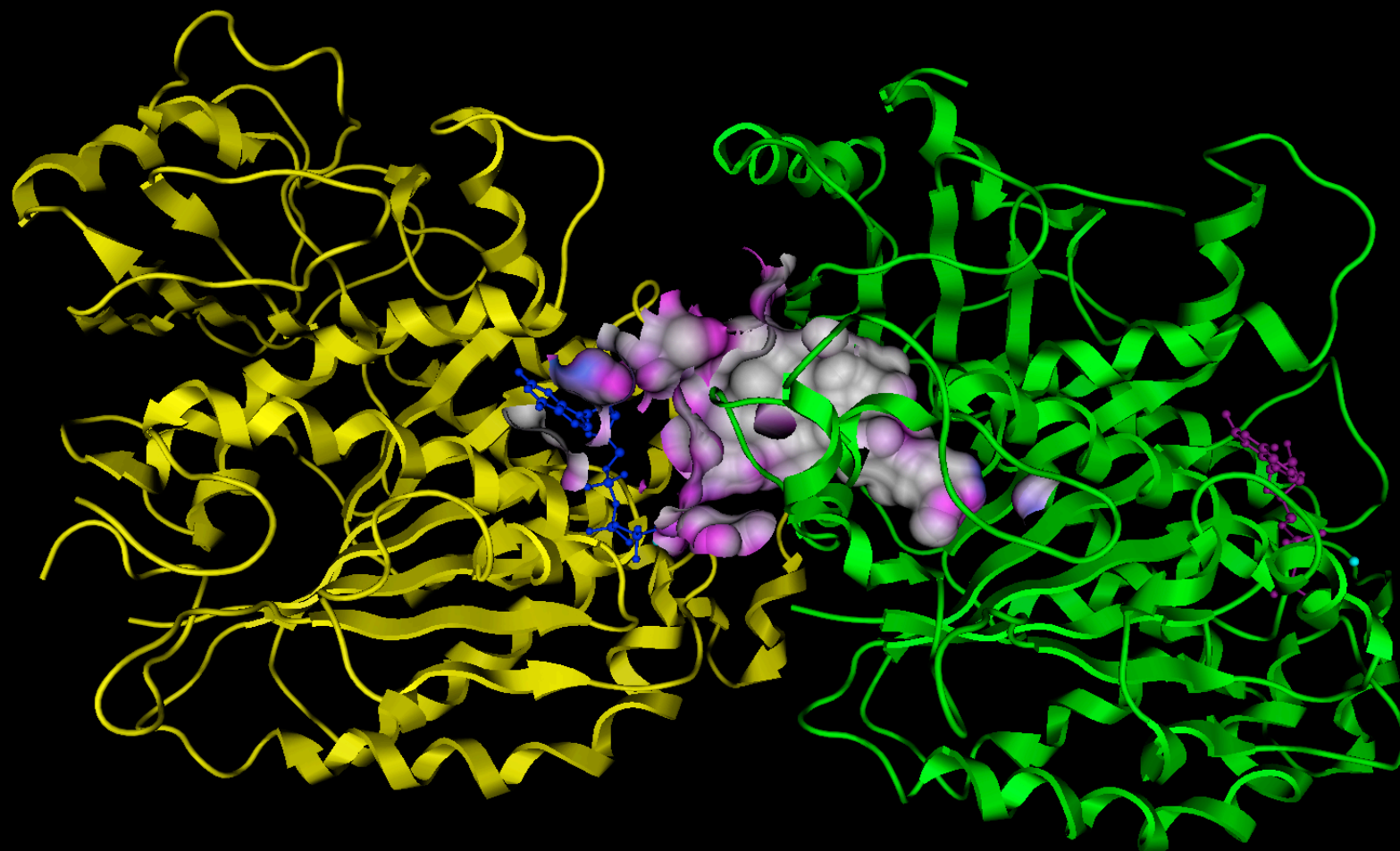
- | | | |
|---------------------|----------------------|-----------------------|
| ○ polar | → sidechain acceptor | ○ solvent residue |
| ○ acidic | ← sidechain donor | ○ metal complex |
| ○ basic | → backbone acceptor | solvent contact |
| ○ greasy | ← backbone donor | metal contact |
| ○ proximity contour | ● ligand exposure | ○ receptor exposure |



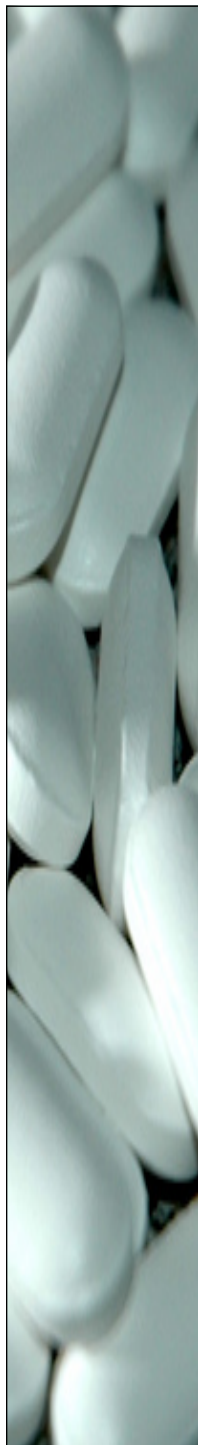
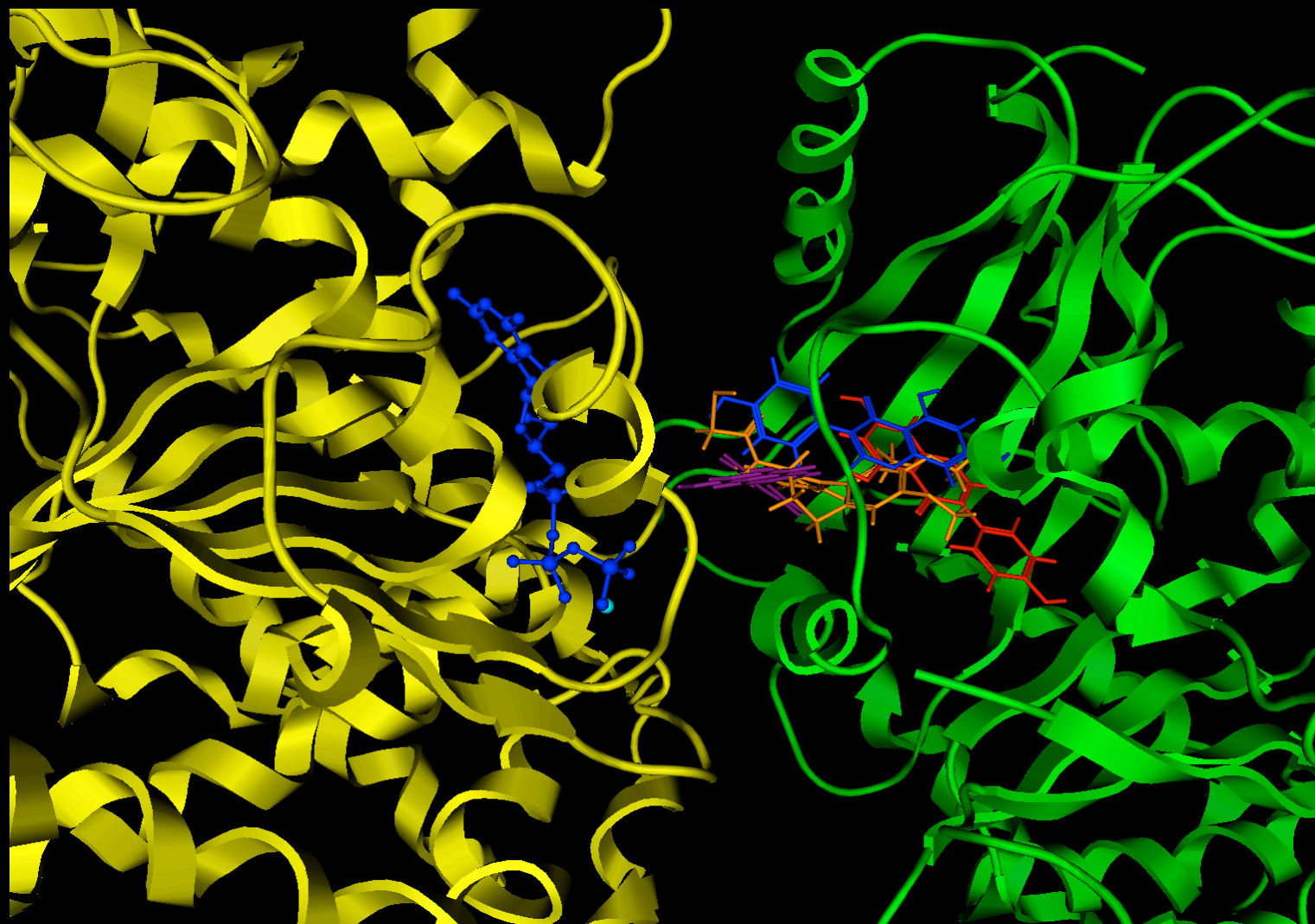
WNIOSKI Z DOKOWANIA DO KINAZ

- spośród nowych pochodnych najsilniejsze kompleksy z kinazami powinien tworzyć związki Ram3 i Ram4, co wskazuje że pochodne te mogą być dobrymi inhibitorami kinaz

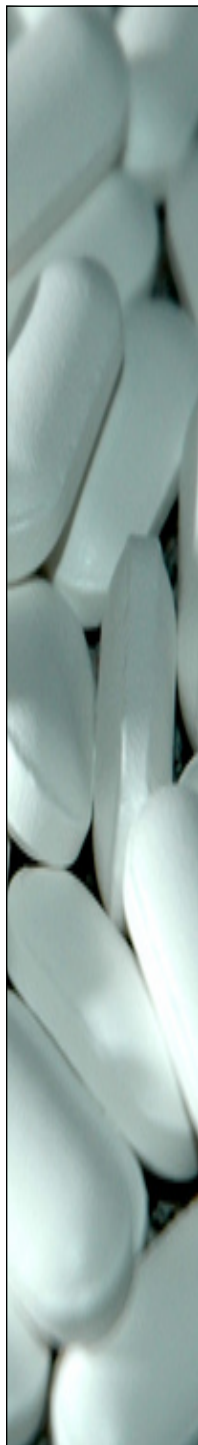
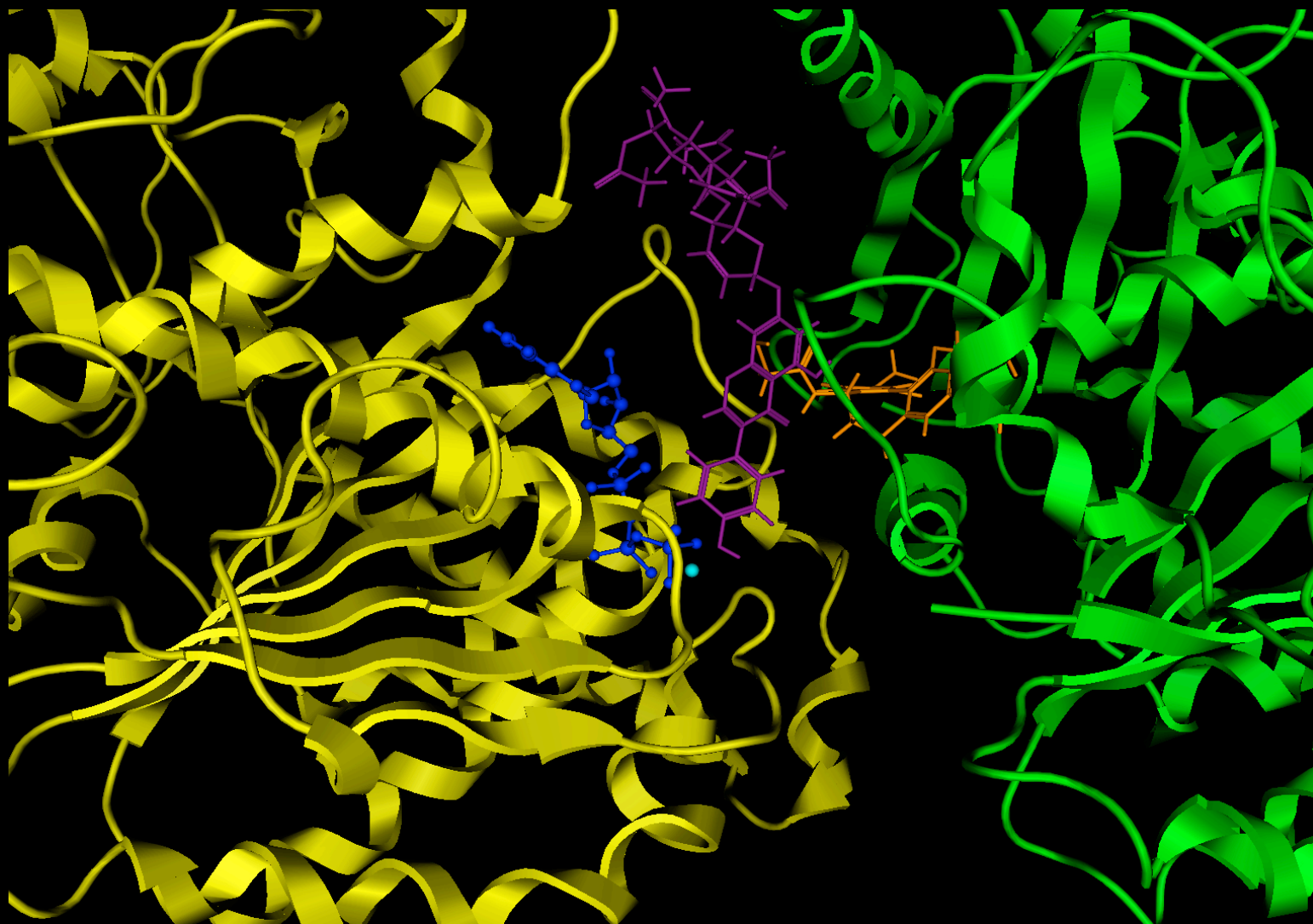
DOKOWANIE DO DIMERU TUBULINY



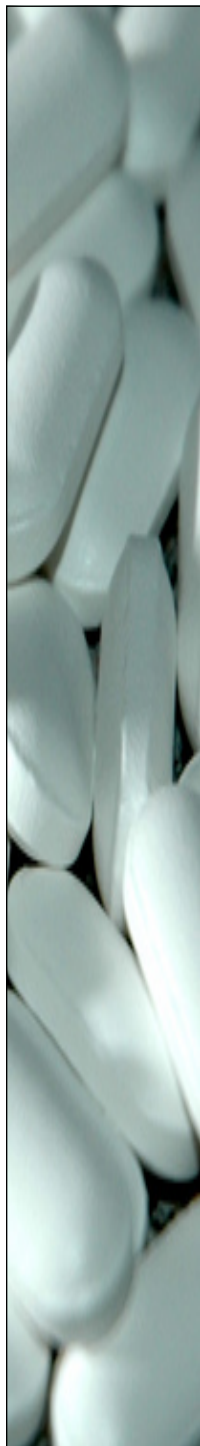
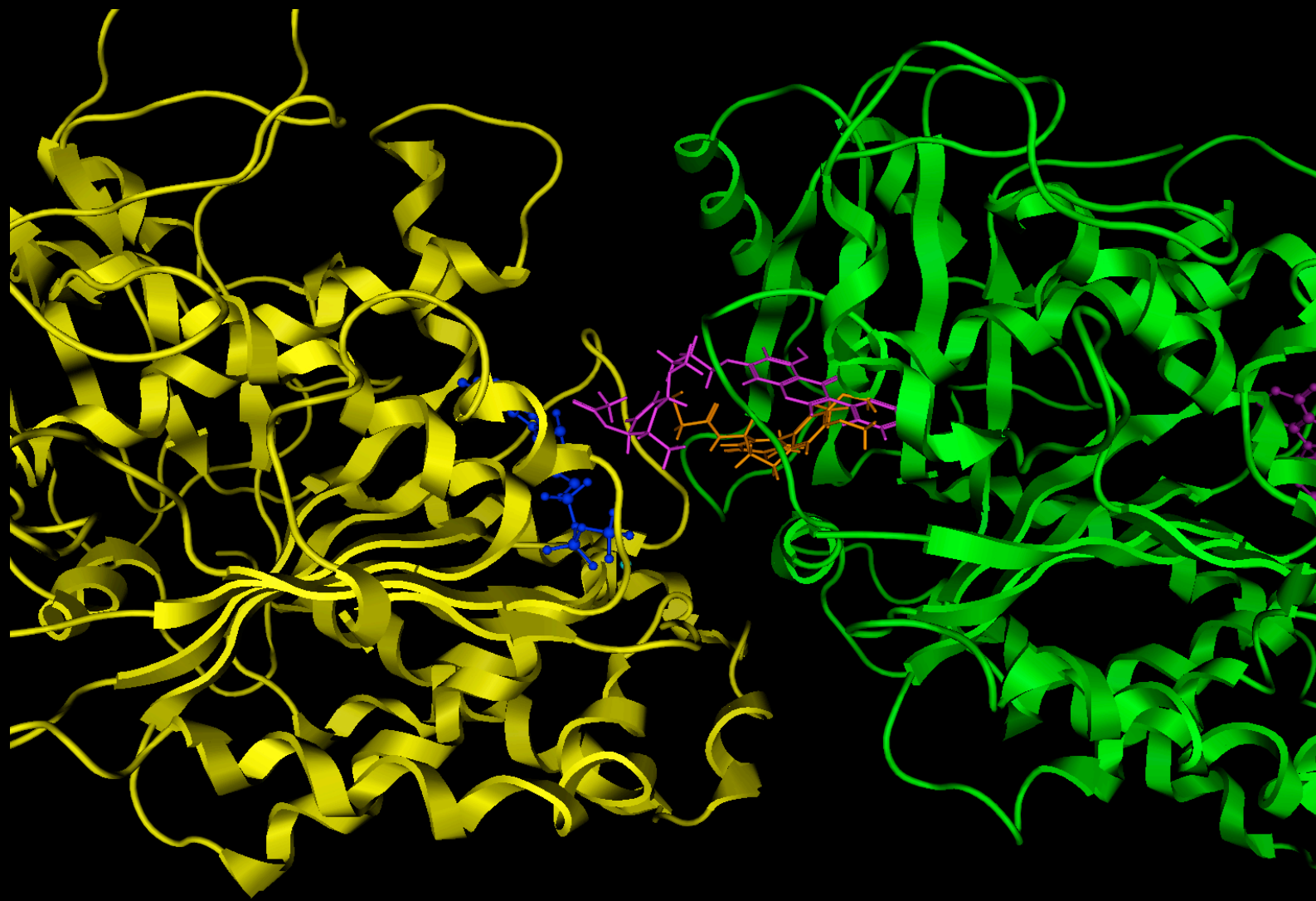
DOKOWANIE DO DIMERU TUBULINY



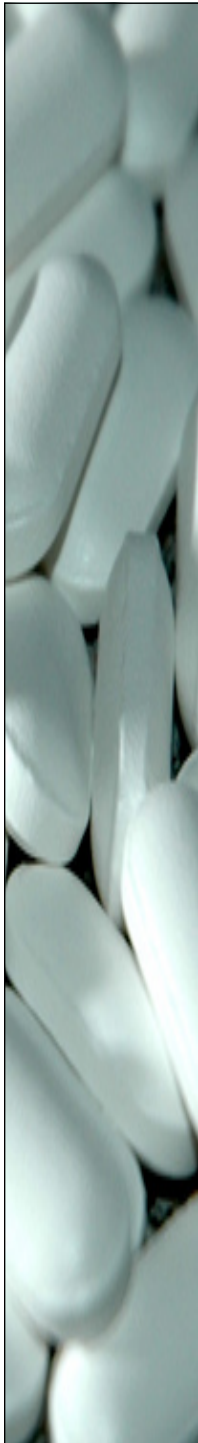
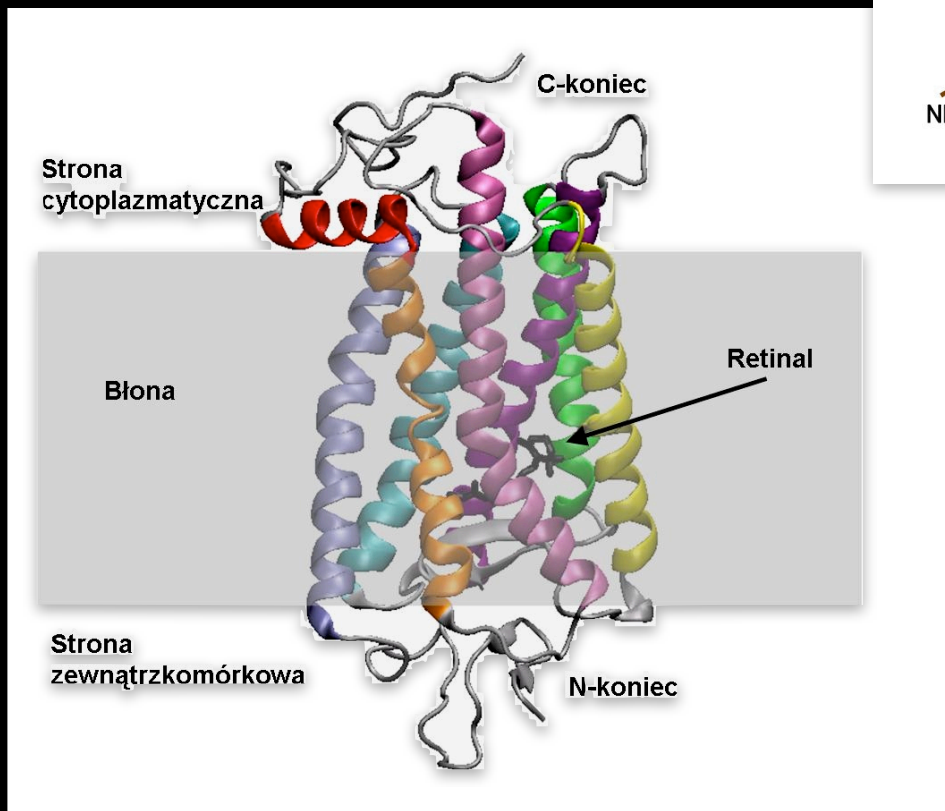
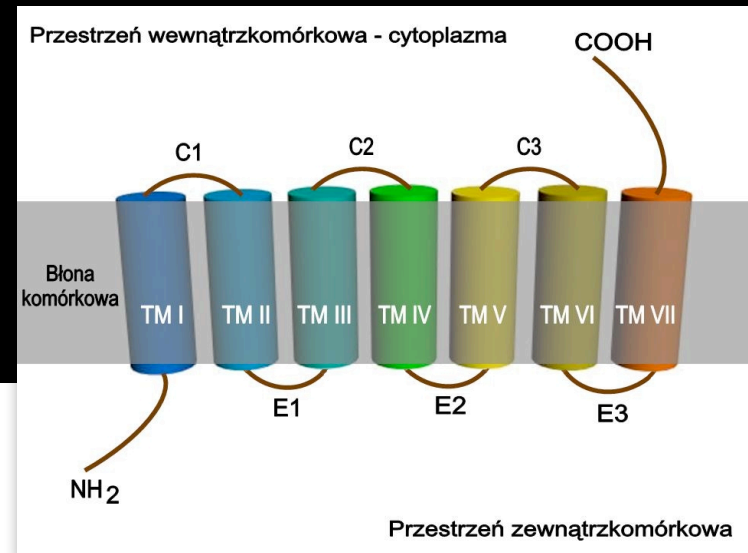
DOKOWANIE DO DIMERU TUBULINY



DOKOWANIE DO DIMERU TUBULINY



RECEPTORY GPCR



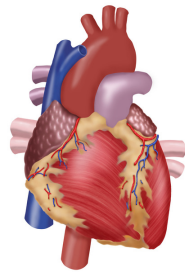
LOKALIZACJA β 1AR I β 2AR

- Receptory β 1AR zlokalizowane są głównie **w sercu**: w układzie bodźcoprzewodzącym oraz mięśniówce przedsionków i komór. Są także obecne w nerkach, w ich aparacie przykłębuszkowym. Występują też **w układzie oddechowym**, dokładnie na powierzchni gruczołów śluzowych i pneumocytach typu I i II.
- Receptory β 2AR zlokalizowane są głównie **w układzie oddechowym**: w błonach komórek mięśni gładkich oskrzeli, a także śródbłonku naczyń płucnych, w nabłonku oddechowym oraz w ścianie pęcherzyków płucnych. Receptory β 2AR występują też w takich komórkach, jak: mastocyty, makrofagi, neutrofile, limfocyty oraz eozynofile. Znajdują się także w: **sercu**, mięśniówce macicy, ścianie naczyń krwionośnych, żołądku, jelitach, wątrobie i pęcherzu moczowym.



LOKALIZACJA β 1AR I β 2AR

- Receptory β 1AR zlokalizowane są głównie **w sercu**: w układzie bodźcoprzewodzącym oraz mięśniówce przedsionków i komór. Są także obecne w nerkach, w ich aparacie przykłębuszkowym. Występują też **w układzie oddechowym**, dokładnie na powierzchni gruczołów śluzowych i pneumocytach typu I i II.
- Receptory β 2AR zlokalizowane są głównie **w układzie oddechowym**: w błonach komórek mięśni gładkich oskrzeli, a także śródbłonku naczyń płucnych, w nabłonku oddechowym oraz w ścianie pęcherzyków płucnych. Receptory β 2AR występują też w takich komórkach, jak: mastocyty, makrofagi, neutrofile, limfocyty oraz eozynofile. Znajdują się także w: **sercu**, mięśniówce macicy, ścianie naczyń krwionośnych, żołądku, jelitach, wątrobie i pęcherzu moczowym.

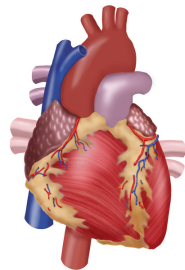


β 1AR	4:1	β 2AR
β 1AR	1:4	β 2AR



LOKALIZACJA β_1 AR I β_2 AR

- Receptory β_1 AR zlokalizowane są głównie **w sercu**: w układzie bodźcoprzewodzącym oraz mięśniówce przedsionków i komór. Są także obecne w nerkach, w ich aparacie przykłębuszkowym. Występują też **w układzie oddechowym**, dokładnie na powierzchni gruczołów śluzowych i pneumocytach typu I i II.
- Receptory β_2 AR zlokalizowane są głównie **w układzie oddechowym**: w błonach komórek mięśni gładkich oskrzeli, a także śródbłonku naczyń płucnych, w nabłonku oddechowym oraz w ścianie pęcherzyków płucnych. Receptory β_2 AR występują też w takich komórkach, jak: mastocyty, makrofagi, neutrofile, limfocyty oraz eozynofile. Znajdują się także w: **sercu**, mięśniówce macicy, ścianie naczyń krwionośnych, żołądku, jelitach, wątrobie i pęcherzu moczowym.



β_1 AR 4:1

β_2 AR

β_1 AR 1:4

β_2 AR



W wyniku aktywacji β_1 zwiększa się częstość akcji serca, wzrasta kurczliwość mięśnia sercowego, zwiększa się przewodnictwo i automatyzm układu bodźcoprzewodzącego oraz wydłuża się czasu rozkurczu.

Efektom pobudzenia β_2 jest rozkurcz oskrzeli, zwiększenie transportu jonowego w obrębie nabłonka, ale także wytwarzanie nabłonkowego czynnika relaksującego mięśnie gładkie oraz pobudzenie oczyszczenia oskrzelowego.

RÓŻNICE W KIESZENI WIĄŻĄCEJ β₁AR I β₂AR

PI - oddziaływania polarne, HI - oddziaływania hydrofobowe,
COV - wiązanie kowalencyjne

PDB ID	β ₂ AR																	
	Asp113	Asn312	Ser203	Ser207	Phe193	Phe289	Phe290	Val114	Val117	Trp109	Cys93	Asn293	Tyr308	Ile309	Tyr316	Tyr199	Trp286	Thr118
2RH1	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI			HI		PI	HI	HI	HI
3D4S	PI	PI			HI	HI	HI			HI		PI			PI			PI
3P0G	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI	HI	HI	PI			
3PDS	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI		HI	COV	PI			PI			
3NY8	PI	PI			HI	HI	HI	HI	HI	HI					PI			
3NY9	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI			PI			
3NYA	PI	PI			HI	HI	HI	HI	HI	HI					PI			
3SN6	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI	HI	HI	PI			
PDB ID	β ₁ AR																	
	Asp121	Asn329	Ser211	Ser215	Phe201	Phe306	Phe307	Val122	Val125	Trp117	Leu101	Asn310	Phe325	Val326	Tyr333	Tyr207	Trp303	Thr126
2Y01	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI	HI	PI			HI			
2Y02	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI			PI			
2Y03	PI	PI	PI	PI		HI	HI	HI							PI			
2Y04	PI	PI	PI			HI	HI	HI				PI			PI			
2YCW	PI	PI			HI		HI	HI	HI			PI			PI			

RÓŻNICE W KIESZENI WIĄŻĄCEJ β₁AR I β₂AR

PI - oddziaływania polarne, HI - oddziaływania hydrofobowe,
COV - wiązanie kowalencyjne

PDB ID	β ₂ AR																	
	Asp113	Asn312	Ser203	Ser207	Phe193	Phe289	Phe290	Val114	Val117	Trp109	Cys93	Asn293	Tyr308	Ile309	Tyr316	Tyr199	Trp286	Thr118
2RH1	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI			HI		PI	HI	HI	HI
3D4S	PI	PI			HI	HI	HI			HI		PI			PI			PI
3P0G	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI	HI	HI	PI			
3PDS	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI		HI	COV	PI			PI			
3NY8	PI	PI			HI	HI	HI	HI	HI	HI					PI			
3NY9	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI			PI			
3NYA	PI	PI			HI	HI	HI	HI	HI	HI					PI			
3SN6	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI	HI	HI	PI			
PDB ID	β ₁ AR																	
	Asp121	Asn329	Ser211	Ser215	Phe201	Phe306	Phe307	Val122	Val125	Trp117	Leu101	Asn310	Phe325	Val326	Tyr333	Tyr207	Trp303	Thr126
2Y01	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI	HI	PI			HI			
2Y02	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI			PI			
2Y03	PI	PI	PI	PI		HI	HI	HI							PI			
2Y04	PI	PI	PI			HI	HI	HI				PI			PI			
2YCW	PI	PI			HI		HI	HI	HI			PI			PI			

RÓŻNICE W KIESZENI WIĄŻĄCEJ β₁AR I β₂AR

PI - oddziaływania polarne, HI - oddziaływania hydrofobowe,
COV - wiązanie kowalencyjne

PDB ID	β ₂ AR																	
	Asp113	Asn312	Ser203	Ser207	Phe193	Phe289	Phe290	Val114	Val117	Trp109	Cys93	Asn293	Tyr308	Ile309	Tyr316	Tyr199	Trp286	Thr118
2RH1	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI			HI		PI	HI	HI	HI
3D4S	PI	PI			HI	HI	HI			HI		PI			PI			PI
3P0G	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI	HI	HI	PI			
3PDS	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI		HI	COV	PI			PI			
3NY8	PI	PI			HI	HI	HI	HI	HI	HI					PI			
3NY9	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI			PI			
3NYA	PI	PI			HI	HI	HI	HI	HI	HI					PI			
3SN6	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI	HI	HI	PI			
PDB ID	β ₁ AR																	
	Asp121	Asn329	Ser211	Ser215	Phe201	Phe306	Phe307	Val122	Val125	Trp117	Leu101	Asn310	Phe325	Val326	Tyr333	Tyr207	Trp303	Thr126
2Y01	PI	PI	PI		HI	HI	HI	HI	HI	HI	HI	PI			HI			
2Y02	PI	PI	PI	PI	HI	HI	HI	HI	HI	HI		PI			PI			
2Y03	PI	PI	PI	PI		HI	HI	HI							PI			
2Y04	PI	PI	PI			HI	HI	HI				PI			PI			
2YCW	PI	PI			HI		HI	HI	HI			PI			PI			

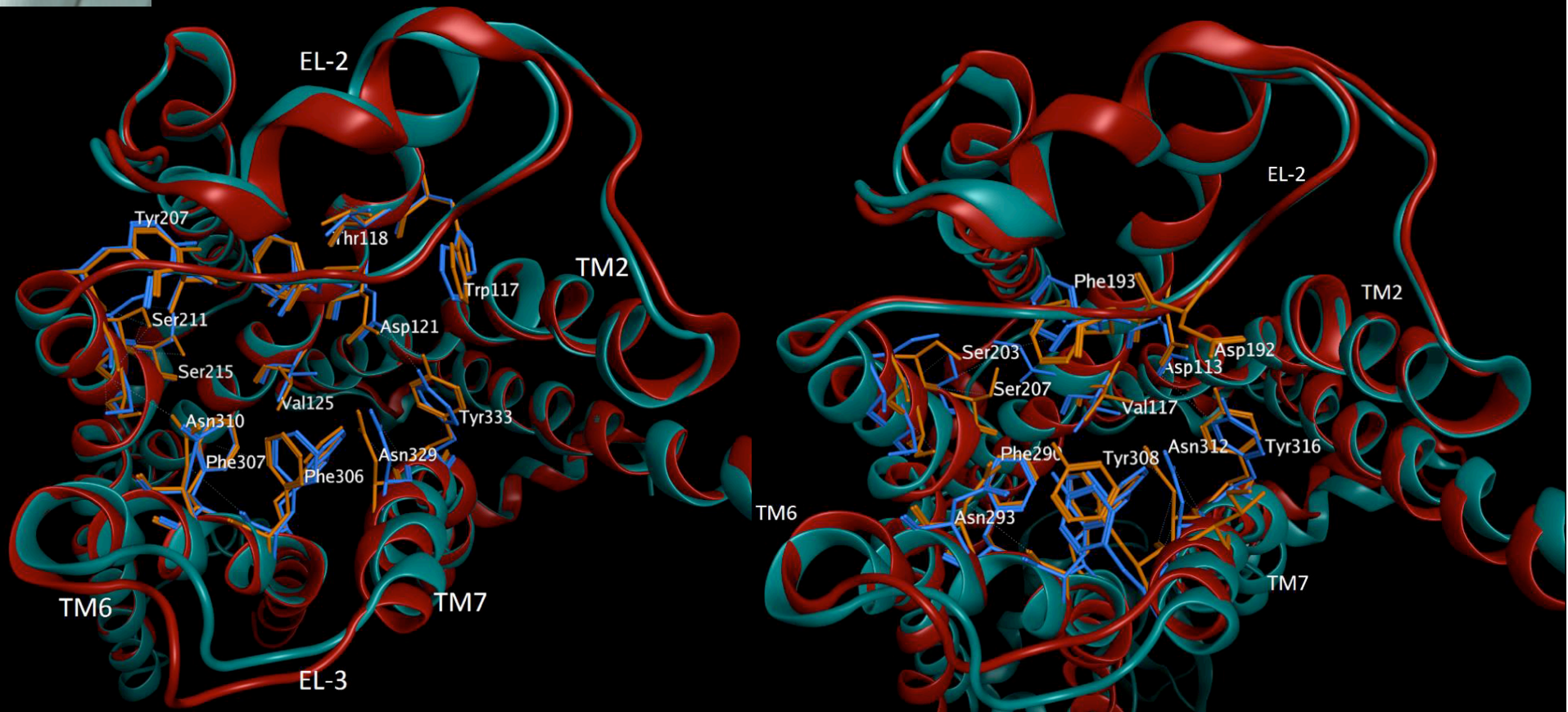
receptor w formie aktywnej
receptor w formie nieaktywnej

M. Kolinski, A. Plazinska and K. Jozwiak, *Recent Progress in Understanding of Structure, Ligand Interactions and the Mechanism of Activation of the β₂-Adrenergic Receptor*, *Current Medicinal Chemistry*, 2012, 19, 1155-1163.

RÓŻNICE FORMY AKTYWNEJ I NIEAKTYWNEJ β 1AR I β 2AR

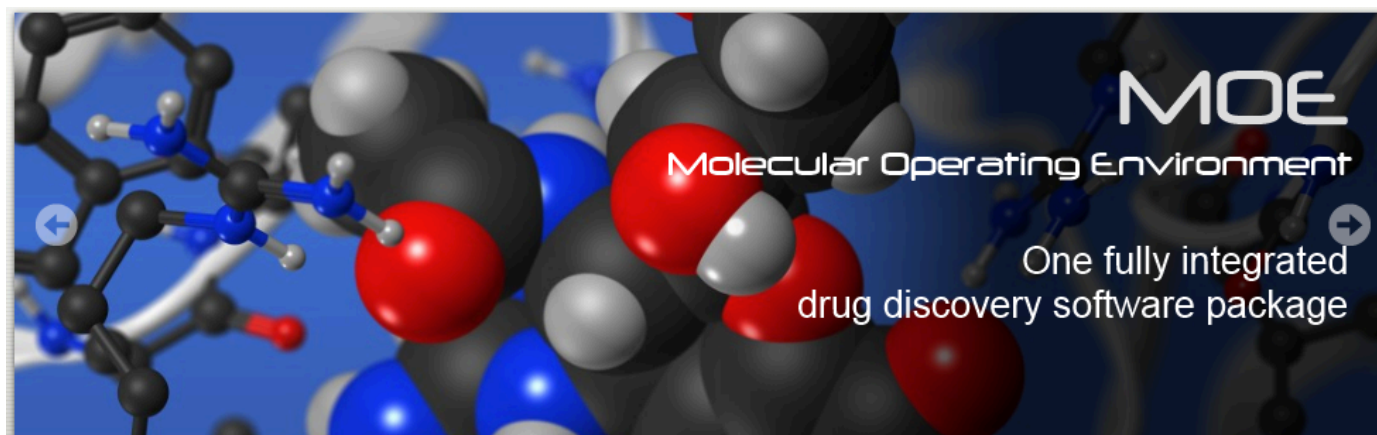
β 1AR

β 2AR



Uliniowanie strukturalne formy aktywnej (łańcuch główny w kolorze czerwonym, łańcuchy boczne aminokwasów w kolorze pomarańczowym) i nieaktywnej (łańcuch główny w kolorze turkusowym, łańcuchy boczne aminokwasów na niebiesko).

DOKOWANIE MOLEKULARNE



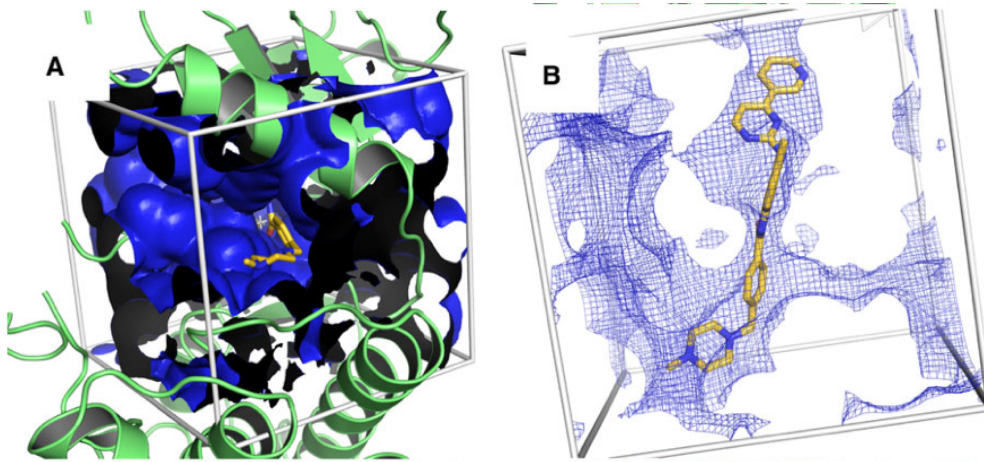


PRZYGOTOWANIE DOKOWANIA PARAMETRY

- Oznaczenie miejsca wiążącego:
 - AutoDock - za pomocą trójwymiarowej siatki
 - MOE - za pomocą metody geometrycznej opartej na alfa sferach i komórkach Woronoja

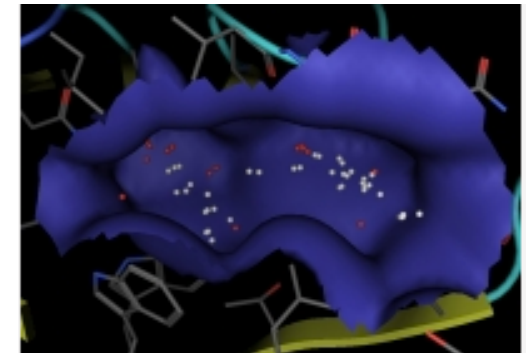
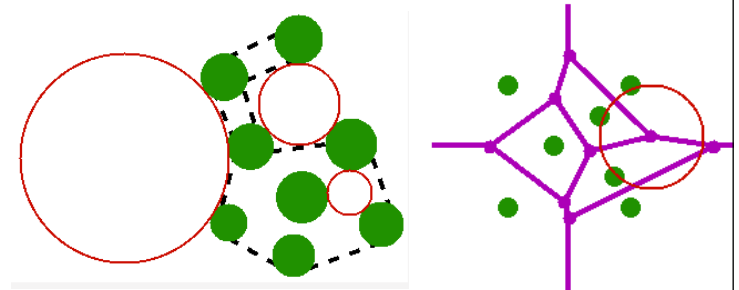
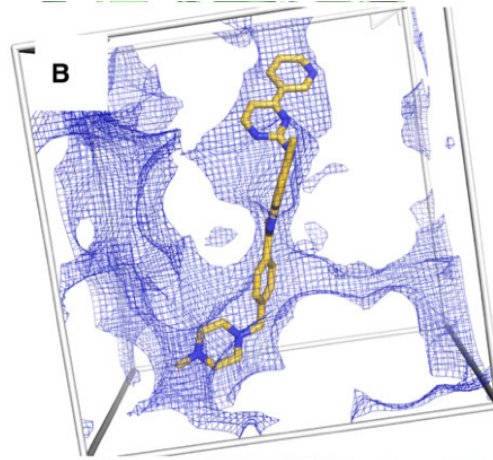
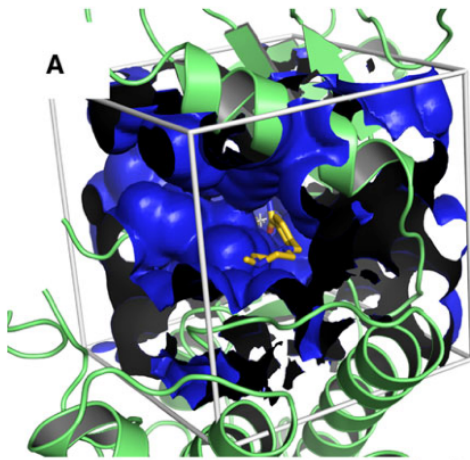
PRZYGOTOWANIE DOKOWANIA PARAMETRY

- Oznaczenie miejsca wiążącego:
AutoDock - za pomocą trójwymiarowej siatki
MOE - za pomocą metody geometrycznej opartej na alfa sferach i komórkach Woronoja



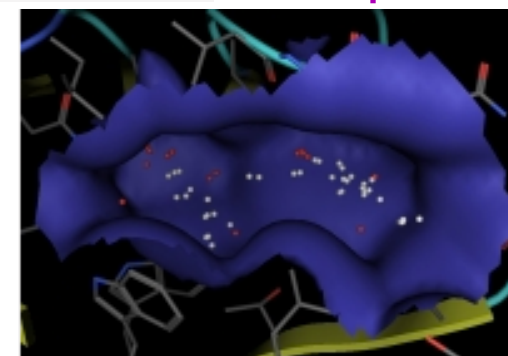
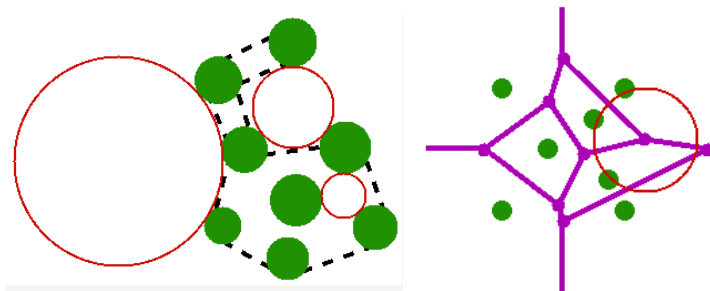
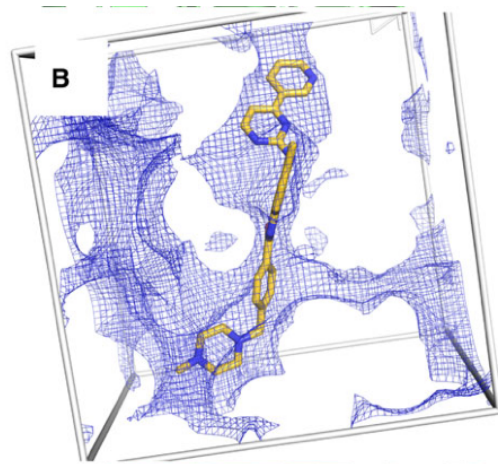
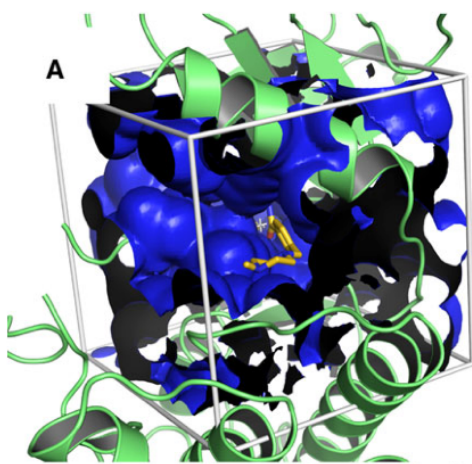
PRZYGOTOWANIE DOKOWANIA PARAMETRY

- Oznaczenie miejsca wiążącego:
AutoDock - za pomocą trójwymiarowej siatki
MOE - za pomocą metody geometrycznej opartej na alfa sferach i komórkach Woronoja



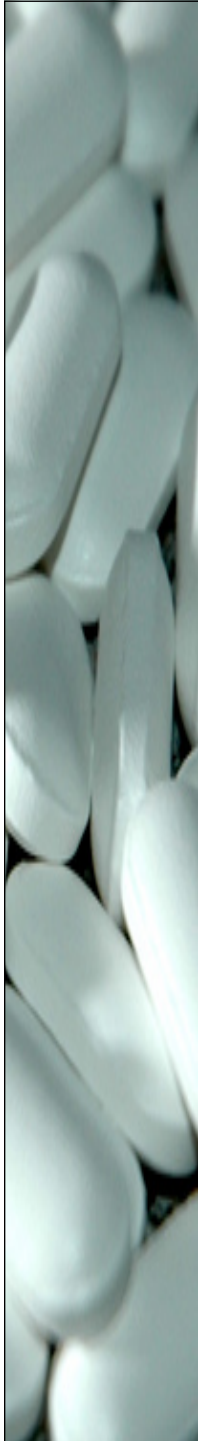
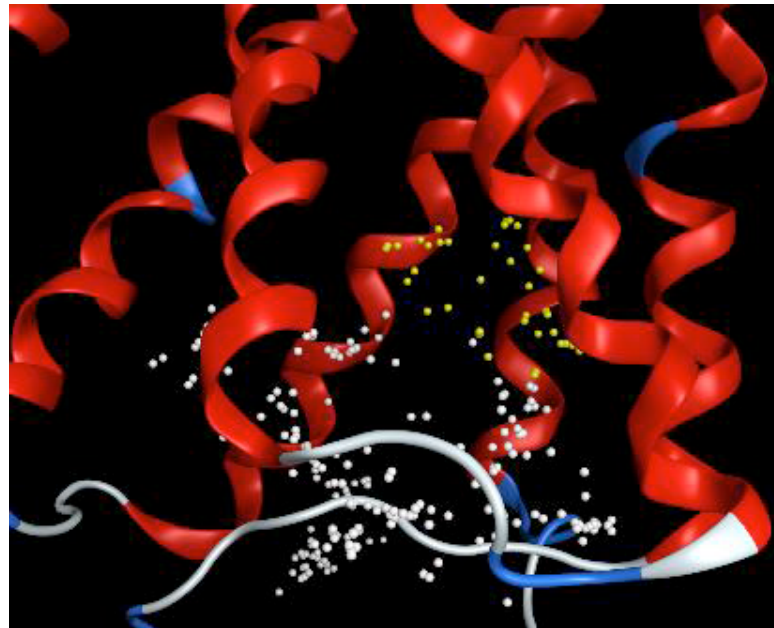
PRZYGOTOWANIE DOKOWANIA PARAMETRY

- Oznaczenie miejsca wiążącego:
AutoDock - za pomocą trójwymiarowej siatki
MOE - za pomocą metody geometrycznej opartej na alfa sferach i komórkach Woronoja

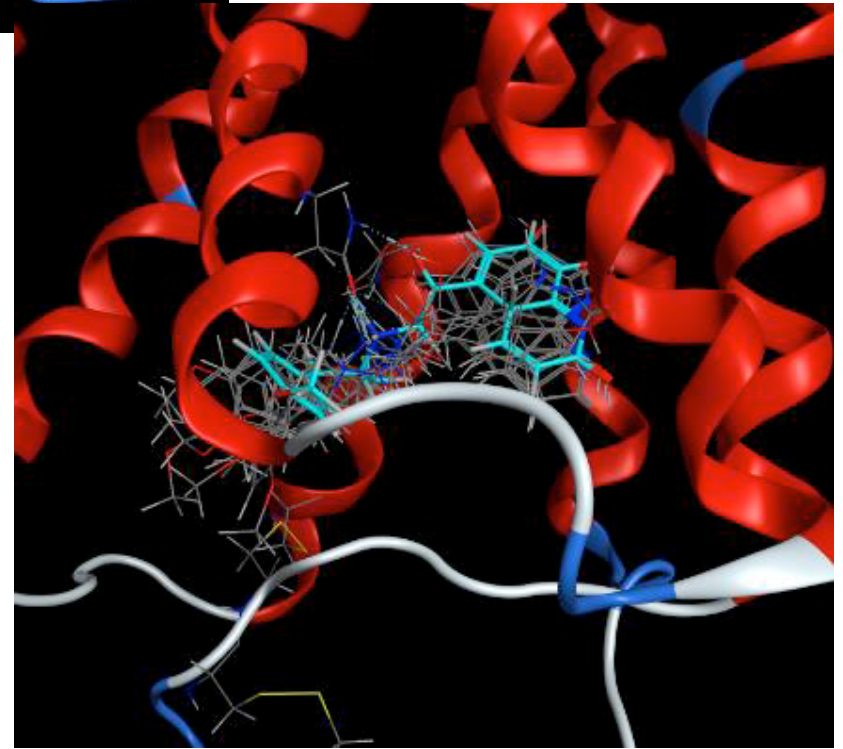
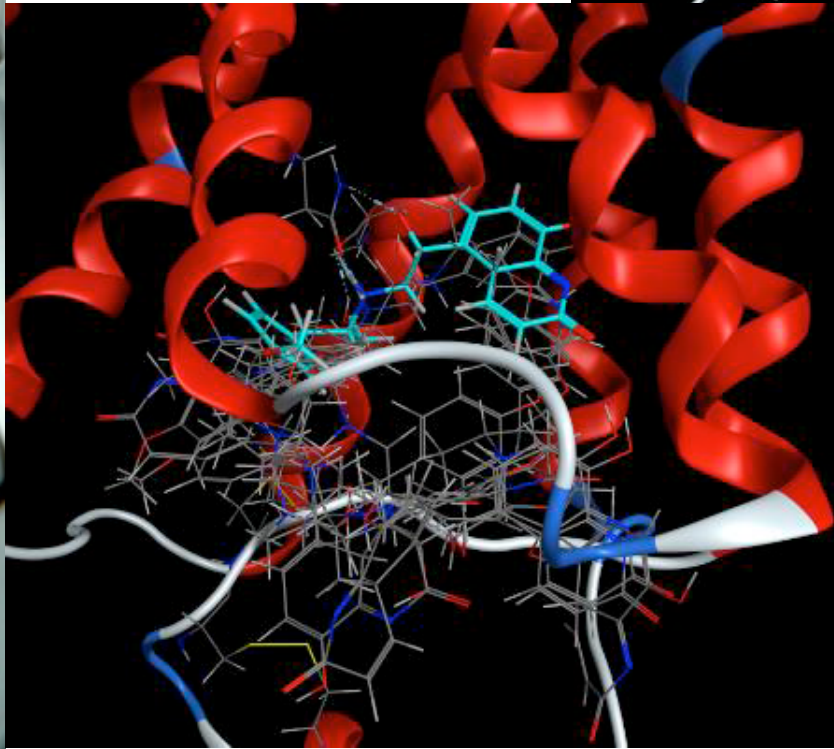
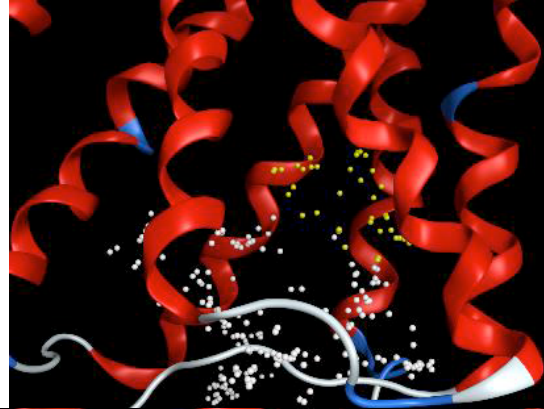
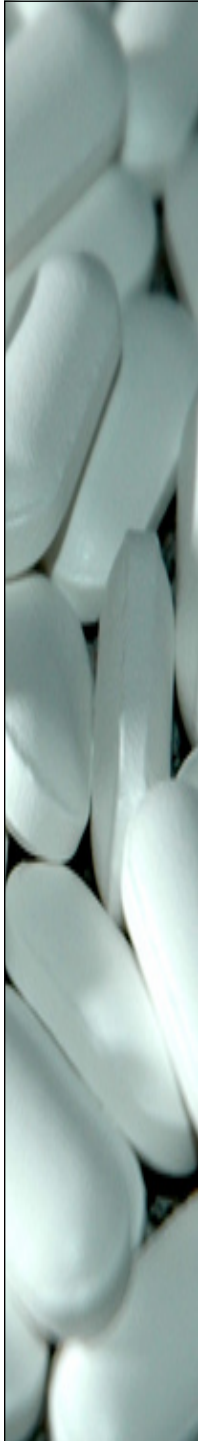


- Wybranie odpowiednich parametrów do dokowania bazy ligandów na podstawie struktur z PDB:
AutoDock - określić rozmiar oczek siatki
MOE - ???

DEFINICJA MIEJSCA WIĄŻĄCEGO



DEFINICJA MIEJSCA WIĄŻĄCEGO



PRZYGOTOWANIE UKŁADU

- A. struktura receptora po minimalizacji energii i krótkiej dynamice w programie YASARA, struktura ligandu z pliku 2Y02.
- B. struktura receptora z pliku 2Y02 i zaburzona struktura ligandu.
- C. struktura receptora po zminimalizowaniu kieszeni wiążącej i struktura ligandu z pliku 2Y02.

