

# **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 specyficznej 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)  $\Delta G$  i obliczenie stałej powinowactwa  $K_a$ . Dokowaniem można nazwać również znalezienie odpowiednich oddziaływań pomiędzy białkami.**

# DOKOWANIE BIAŁKO-BIAŁKO

*DockingShop : protein-protein docking*

PDB : 4HVP

# DOKOWANIE BIAŁKO-BIAŁKO

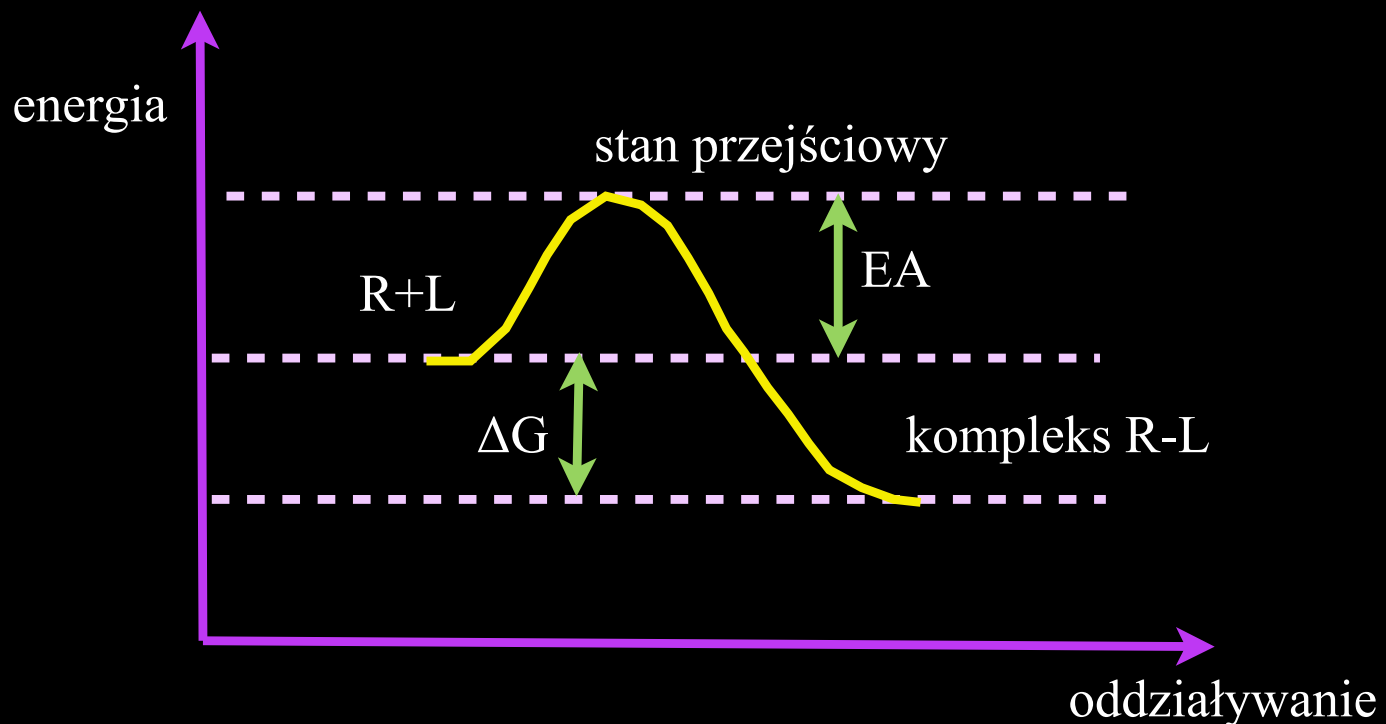
*DockingShop : protein-protein docking*

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:

$$K = \frac{[R-L]}{[R] \cdot [L]}$$



# KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Równanie Gibbsa w funkcji temperatury i stałej równowagi przybiera postać:

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

gdzie  $\Delta G^\circ$  jest standardową energią oddziaływania, tzn. zmianą  $\Delta G$ , 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:

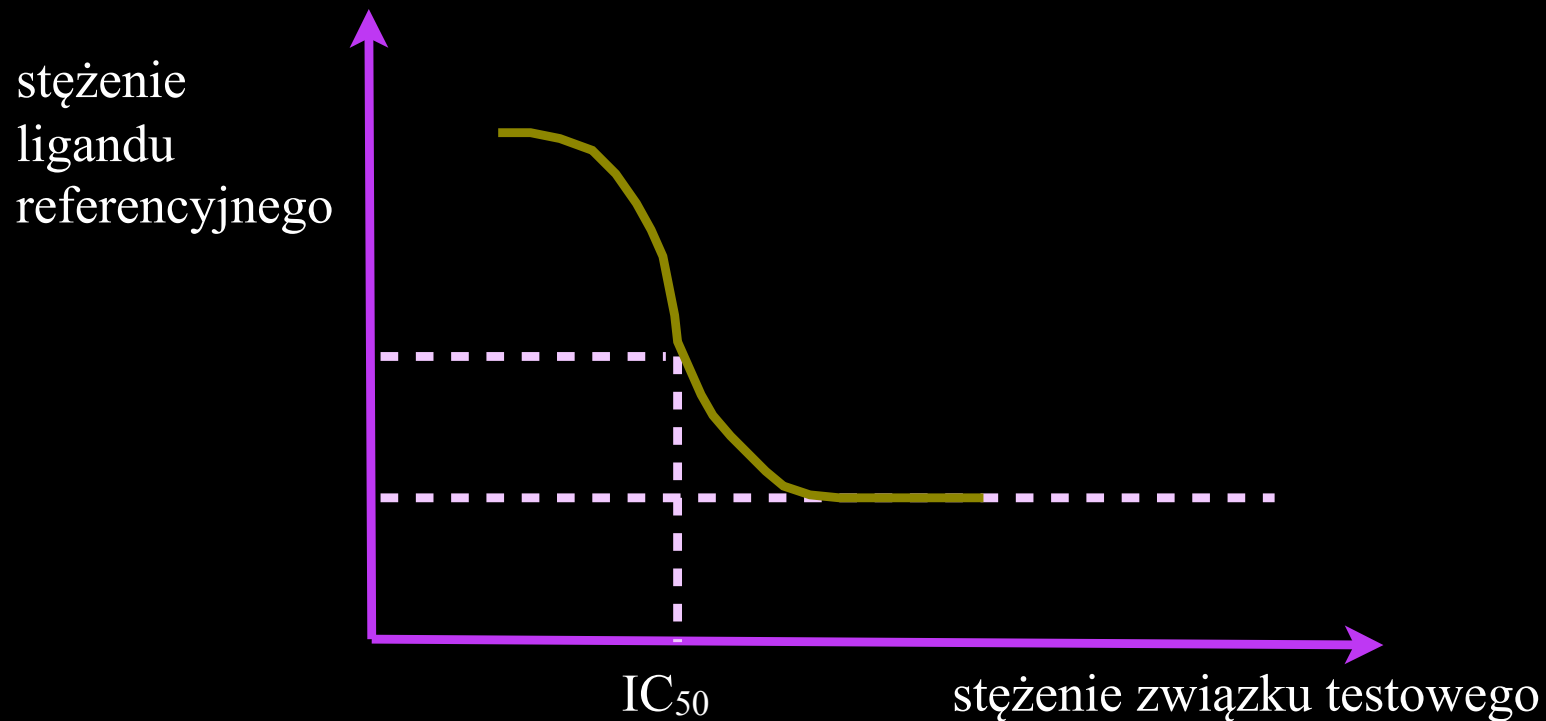
$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K$$

gdzie  $\Delta G^\circ$  jest standardową energią oddziaływania, tzn. zmianą  $\Delta G$ , 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  $IC_{50}$  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 ( $\neq 100\%$ )

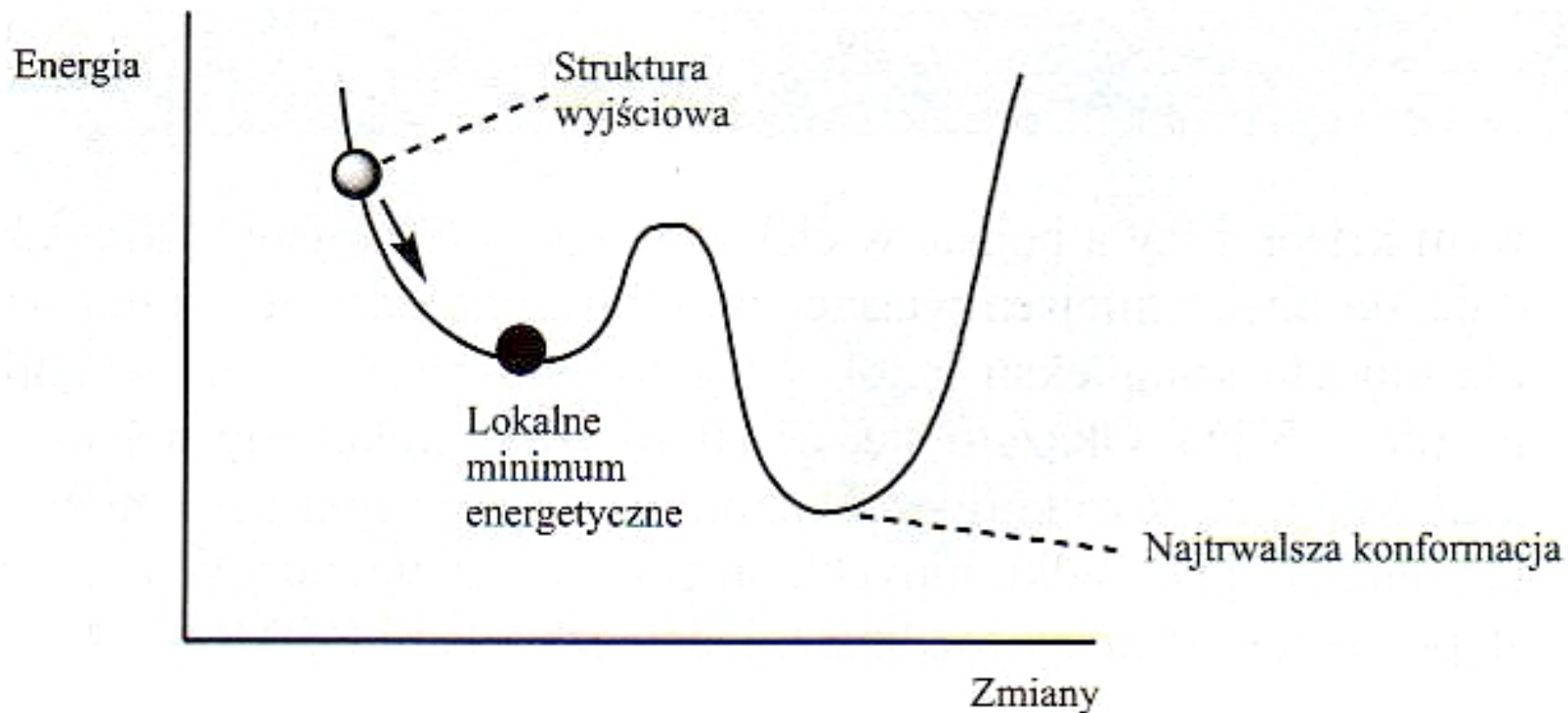
## Przeszukiwanie 3D:

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

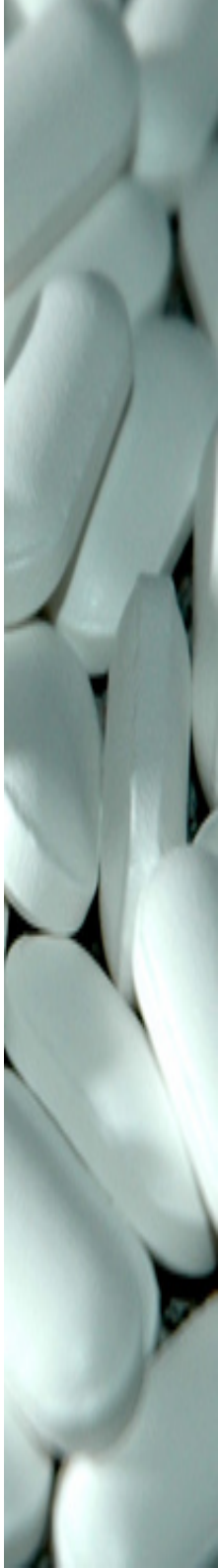
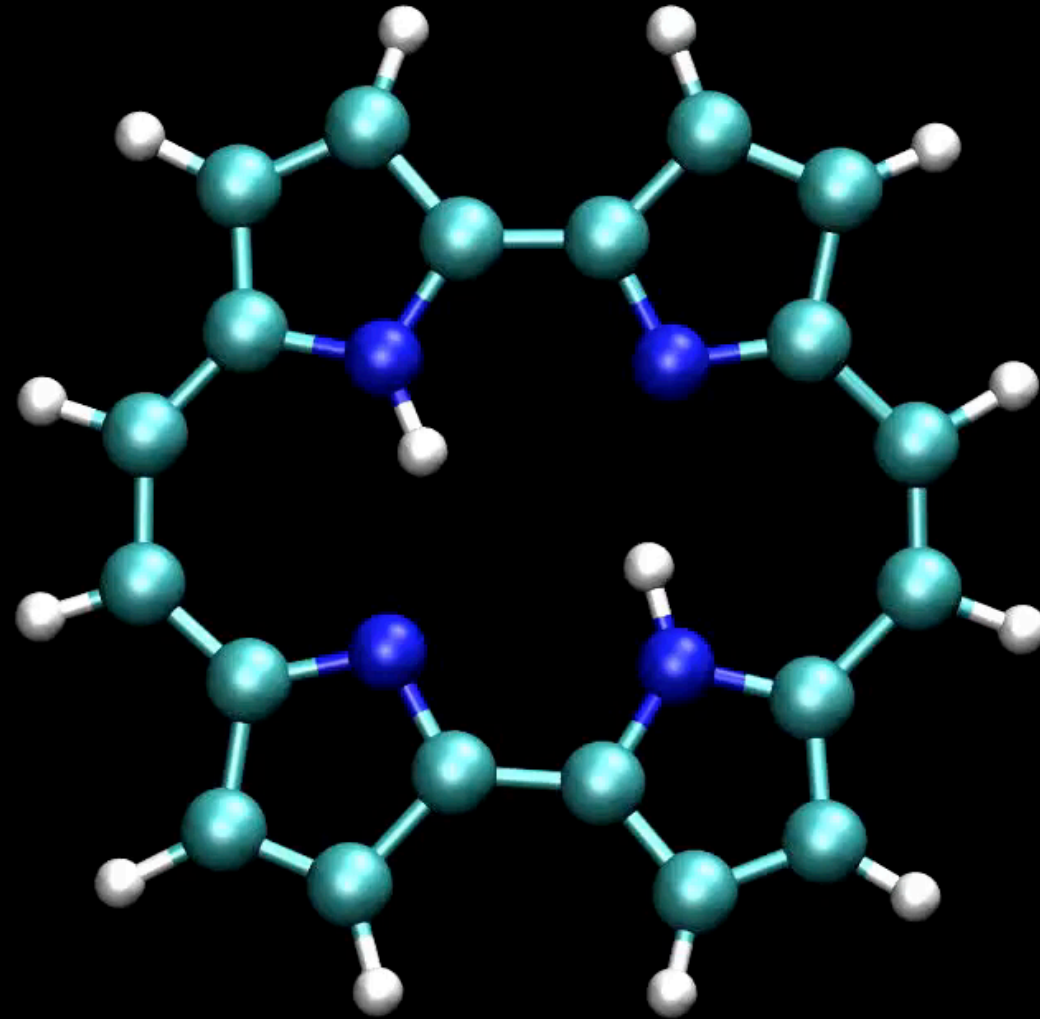


# LIGANDY

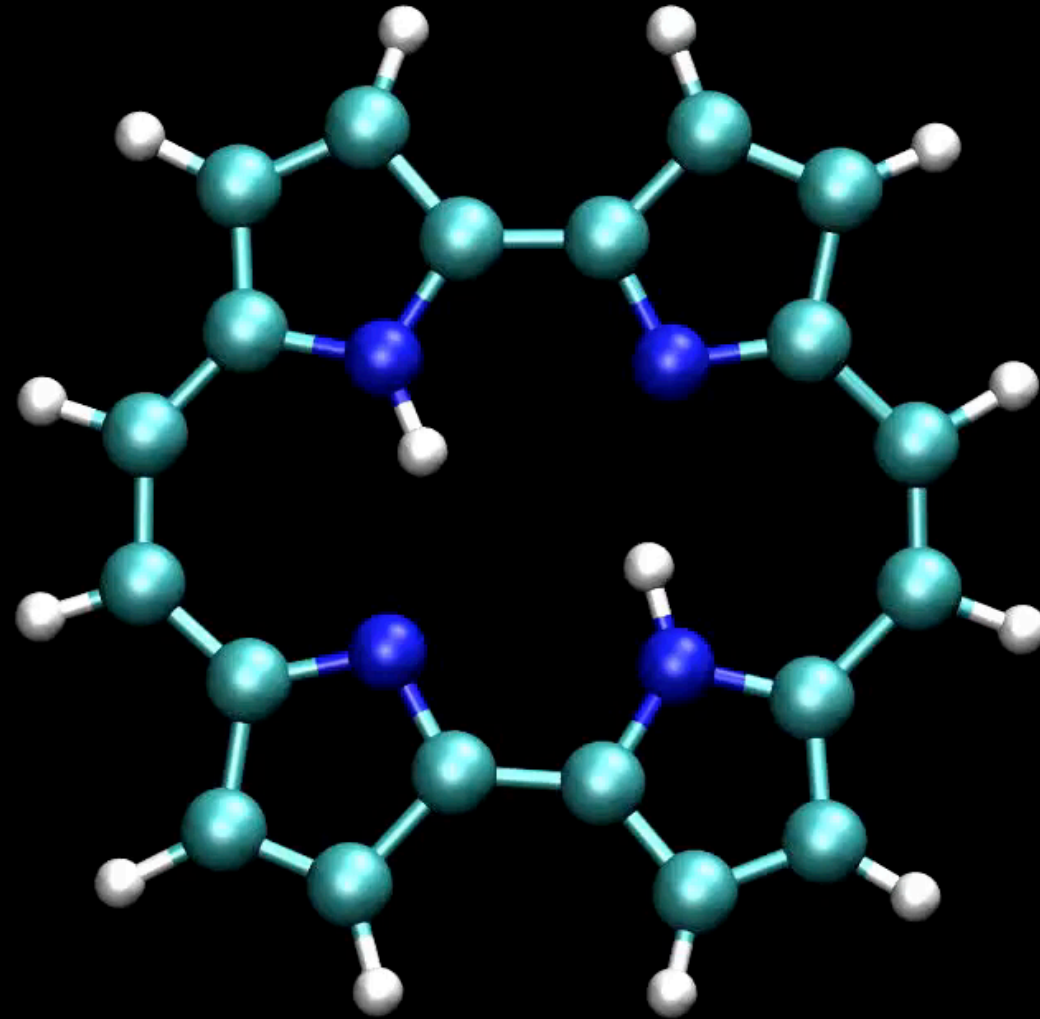
Mając strukturę możemy obliczyć:

- 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



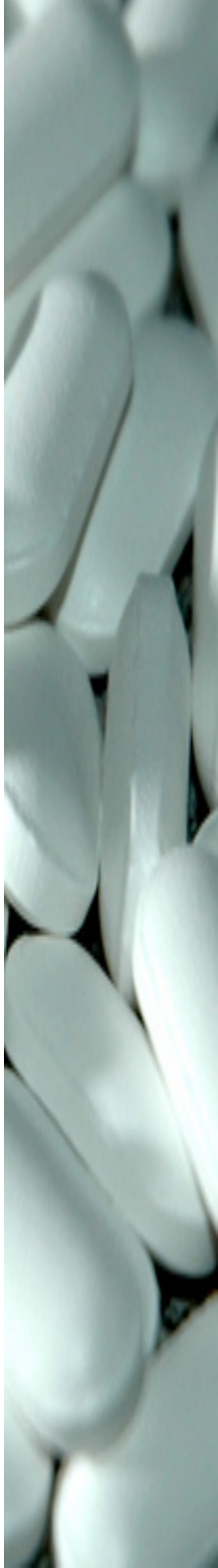
# PRZESKOK PROTONU



# LIGANDY

**Stabilna konformacja:**

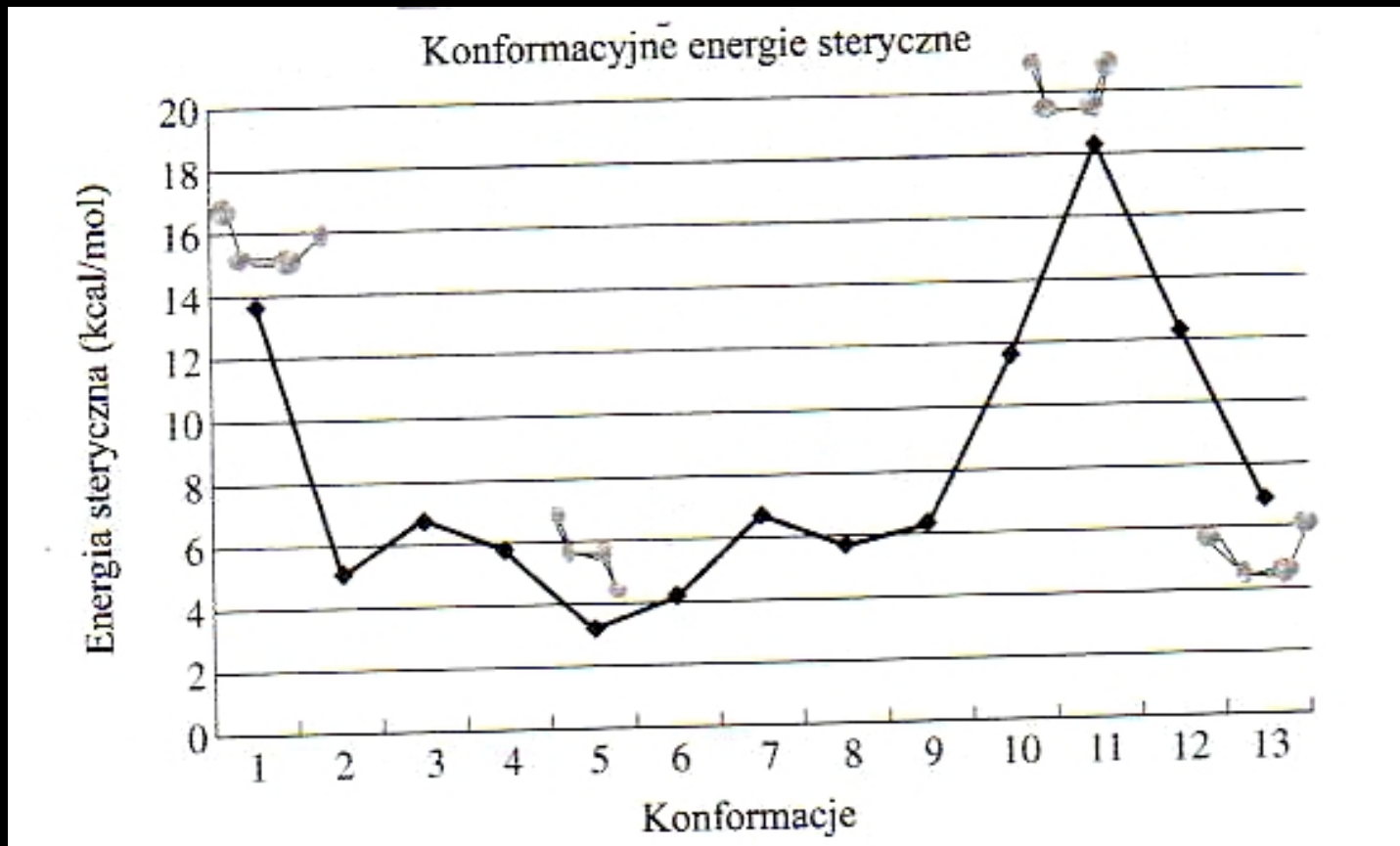
- dynamika molekularna,
- stopniowa rotacja wokół wiązania.



# LIGANDY

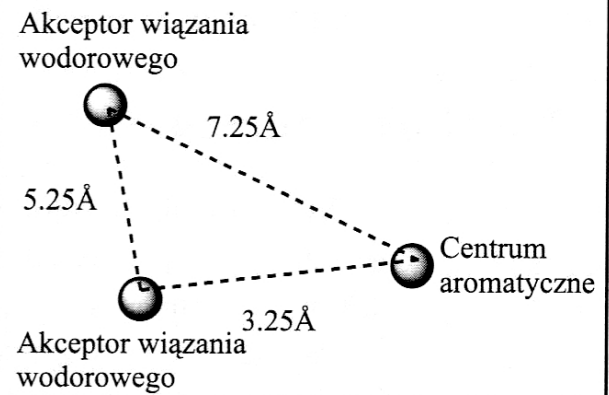
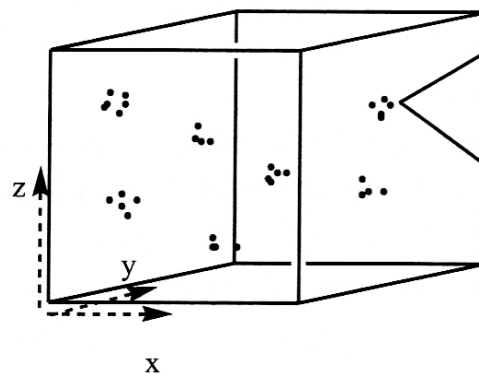
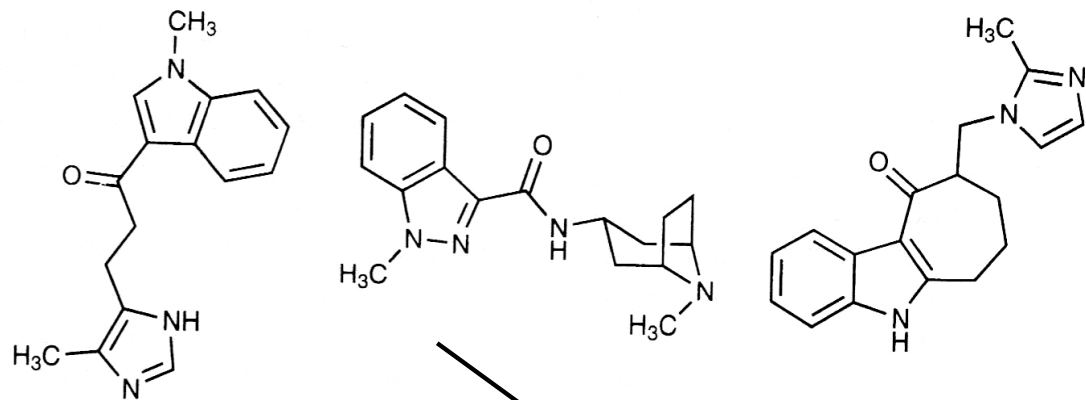
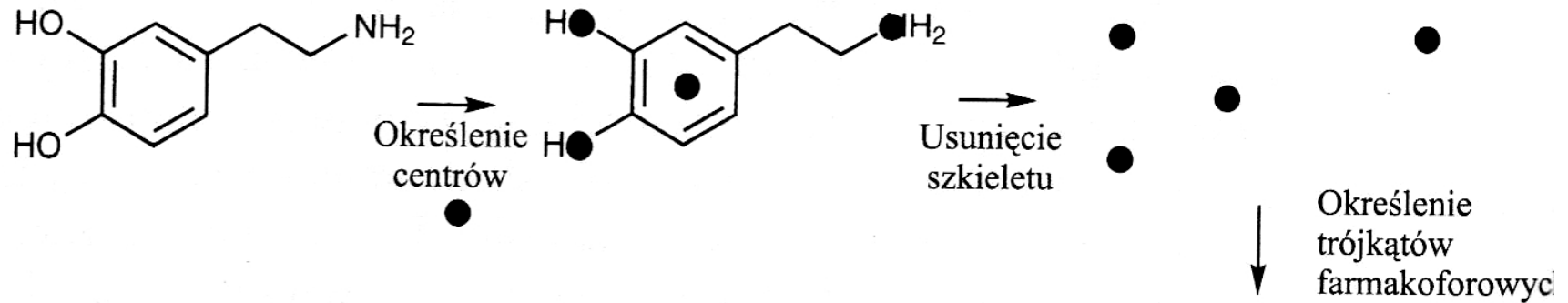
## Stabilna konformacja:

- dynamika molekularna,
- stopniowa rotcja wokół wiązania.

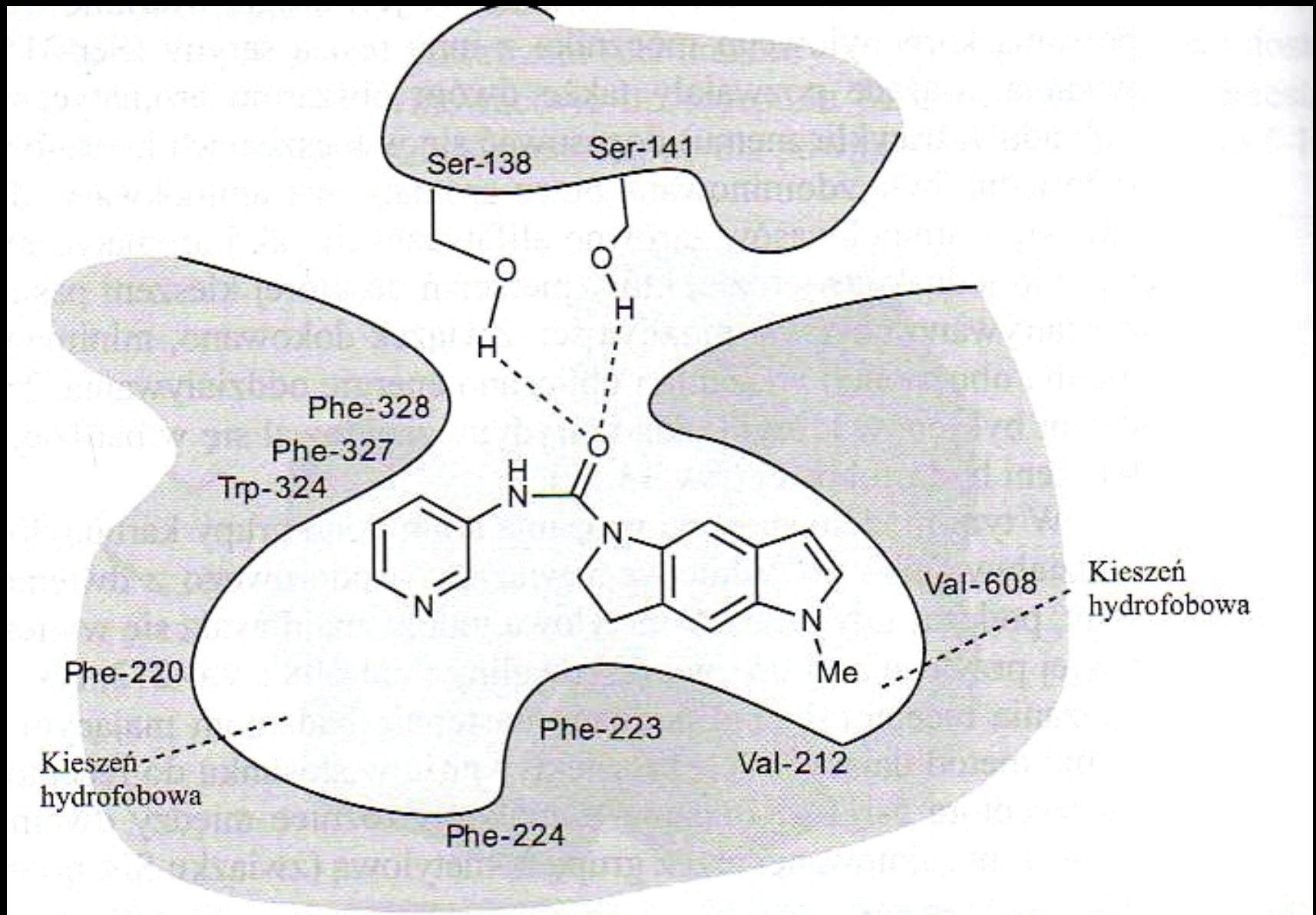




# MODYFIKACJA FARMAKOFORÓW



# 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 Metropolisisa (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 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  $\text{RMSD} < 2\text{\AA}$ , 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,  $\Delta G_i$  - 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,  $\Delta G_i$  - 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.

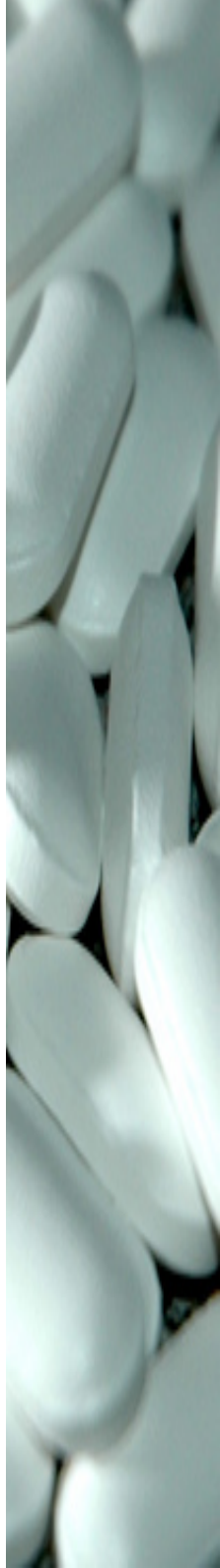
# DOKOWANIE

**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

