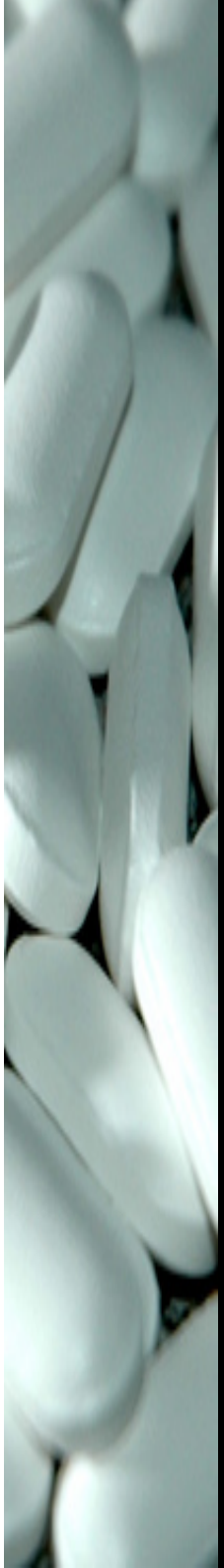
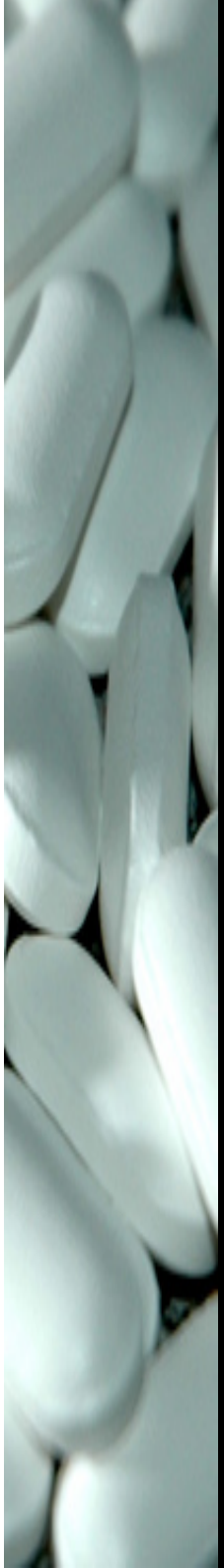
Komputerowe wspomaganie projektowania leków



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 jadrem atomu. Mamy metody ab initio i półemipryczne (AM1, PM3, itp)



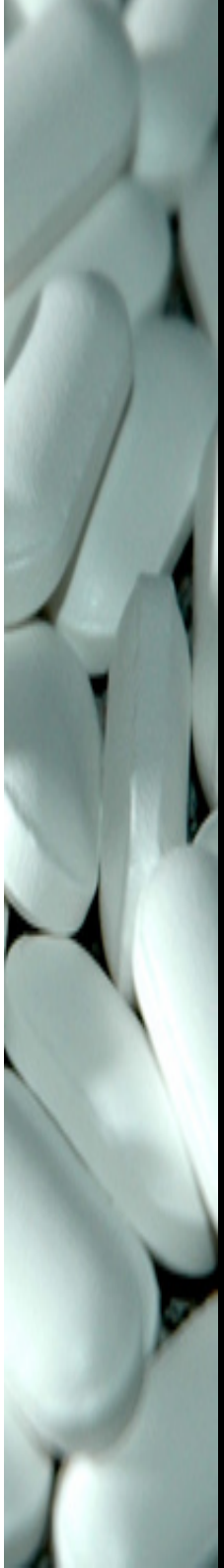
MECHANIKA MOLEKULARNA I KWANTOWA

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.

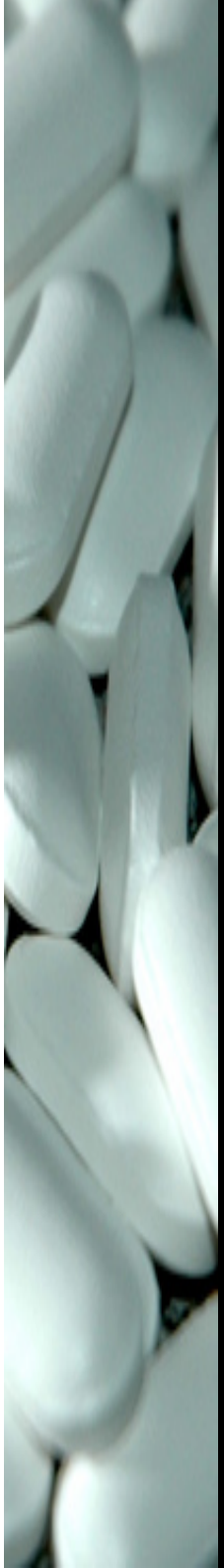
Mechanika kwantowa:

-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

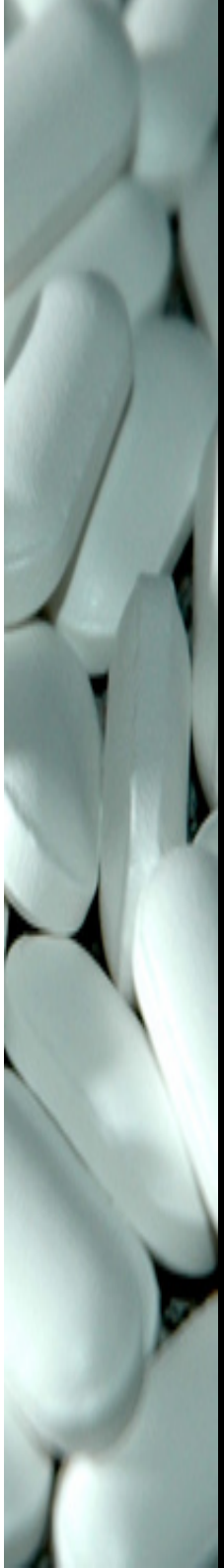
Dokowanie – metoda modelowania molekularnego, pozwalająca na znalezienie położenia (i konformacji) ligandu w miejscu wiążącym receptora. Informacja ta pozwala na ocenę energii swobodnej wiązania (entalpii swobodnej) ΔG i obliczenie stałej powinowactwa Ka.
Dokowaniem można nazwać również znalezienie odpowiednich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



DOKOWANIE BIAŁKO-BIAŁKO

DockingShop : protein-protein docking

PDB : 4HVP



DOKOWANIE BIAŁKO-BIAŁKO

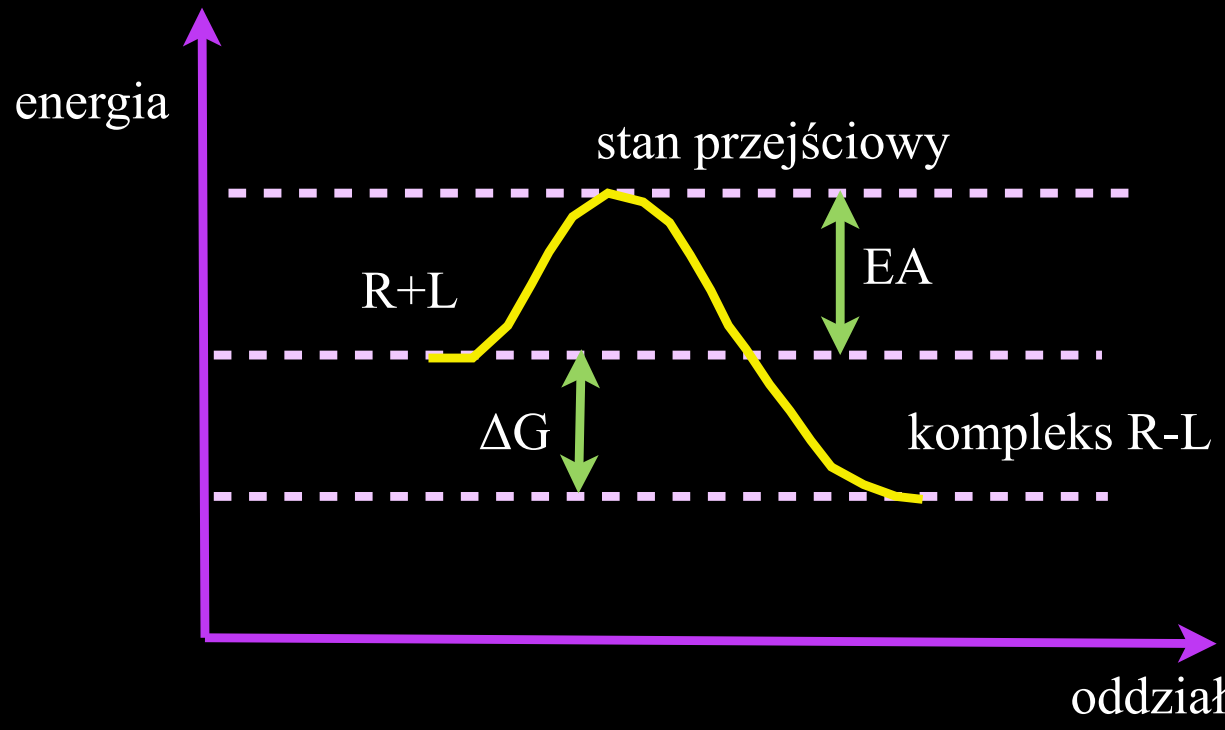
DockingShop : protein-protein docking

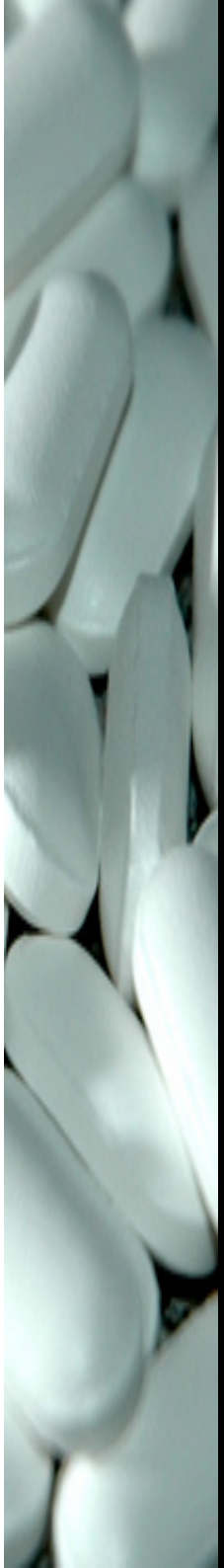
PDB : 4HVP

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:

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





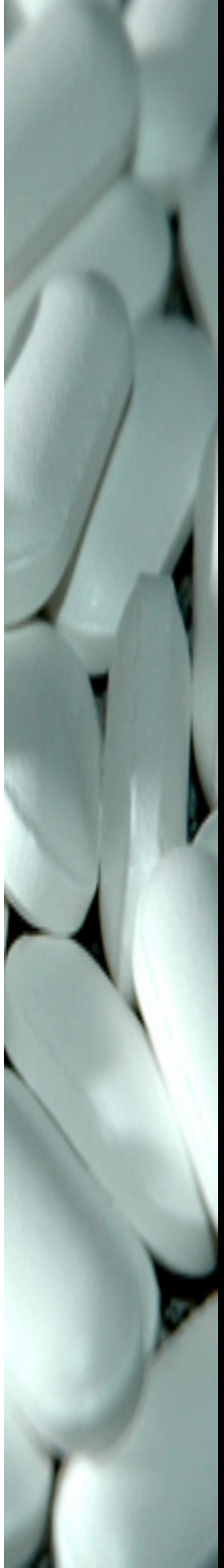
KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Wiązanie ligandu z receptorem opisuje równanie odwracalne dla tego procesu:

$$R + L \Leftrightarrow R\text{-}L$$

a stała równowagi K dla tego procesu:

$$K = [R\text{-}L]/[R]*[L]$$

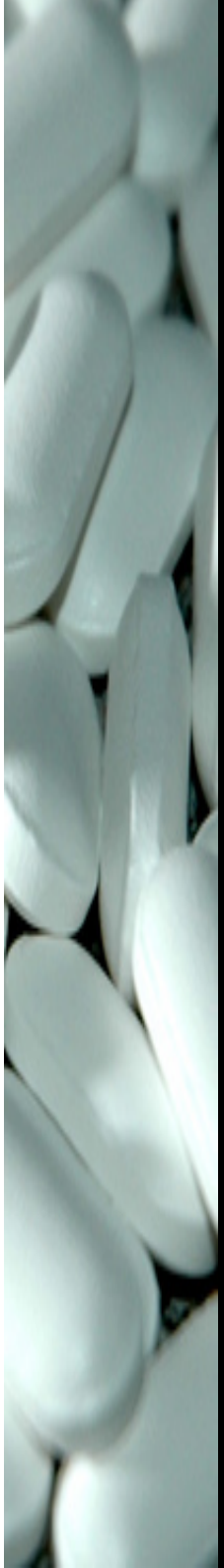


KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Równanie Gibbsa w funkcji temperatury i stałej równowagi przybiera postać:

$$\Delta G = \Delta G^{o} + RT\ln K$$

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



KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND

Równanie Gibbsa w funkcji temperatury i stałej równowagi przybiera postać:

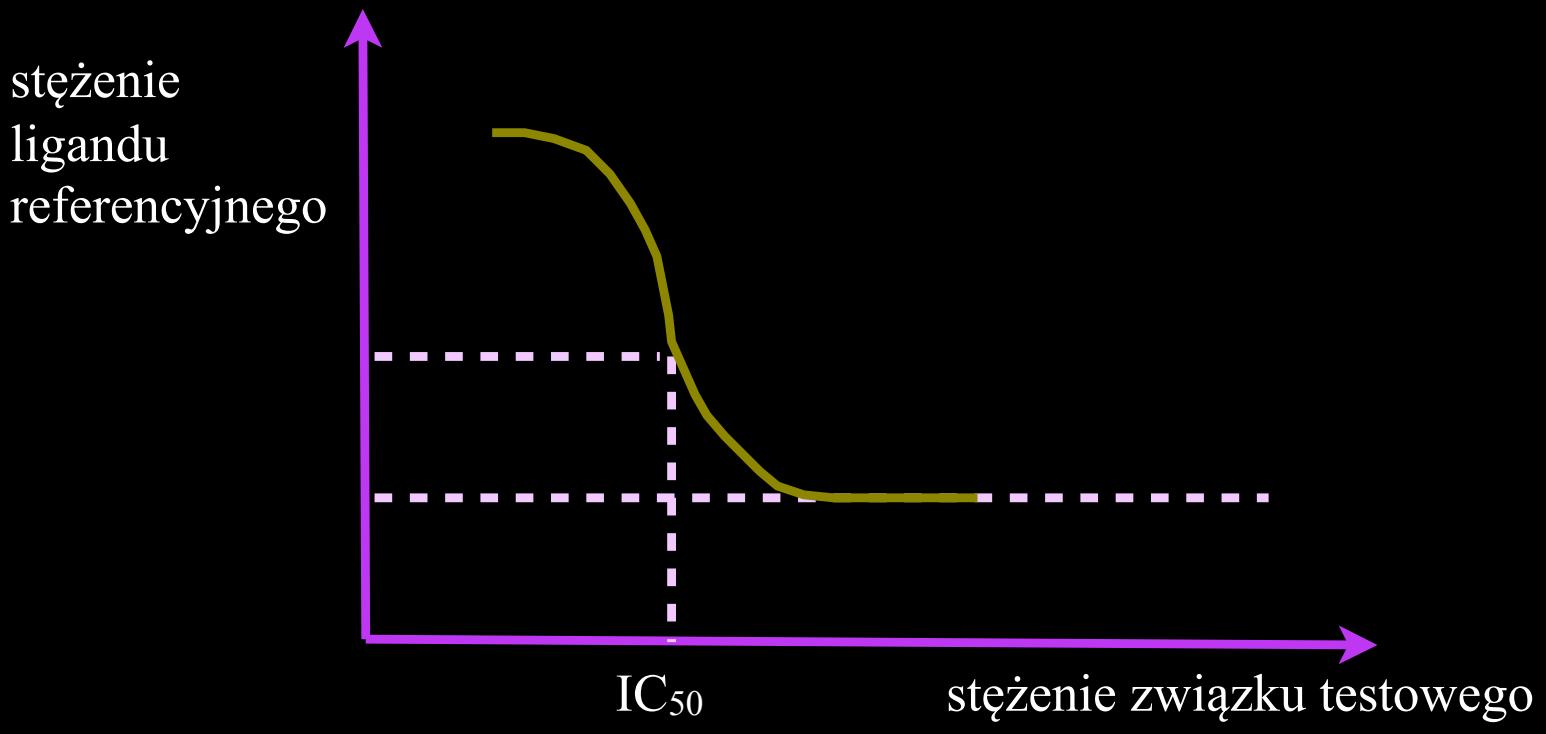
$$\Delta G = \Delta G^{o} + RT\ln K$$

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

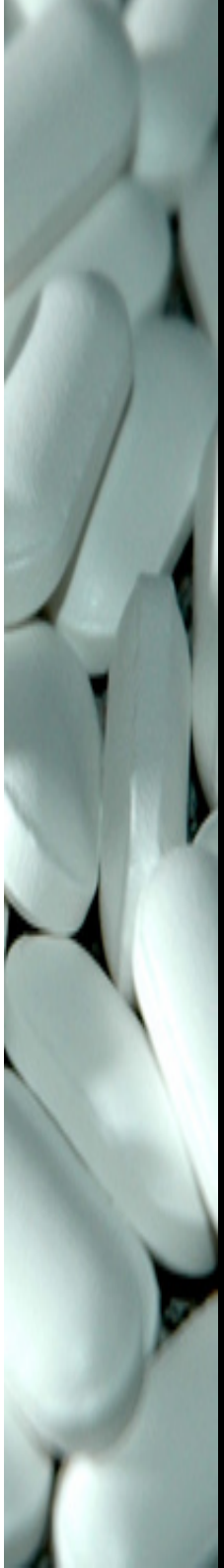
W warunkach równowagi termodynamicznej:

$$\Delta G^{o} = 2{,}303\ RT\log K_i$$

KOMPLEKS RECEPTOR-LIGAND



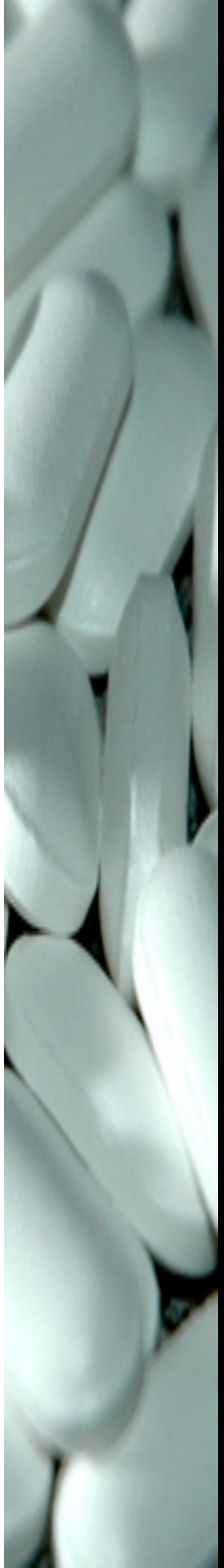
Zwykle L_{ref} używa się radioaktywnego ligandu, którego stężenie jest łatwe do oznaczenia. Powinowactwo badanego związku wyraża się zwykle podając wartość IC_{50} czyli stężenie L_{bad}, przy którym wypierane jest 50% L_{ref}.



MIEJSCE WIĄZANIA

Przed rozpoczęciem procedury dokowania, trzeba określić położenie miejsca wiążącego:

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

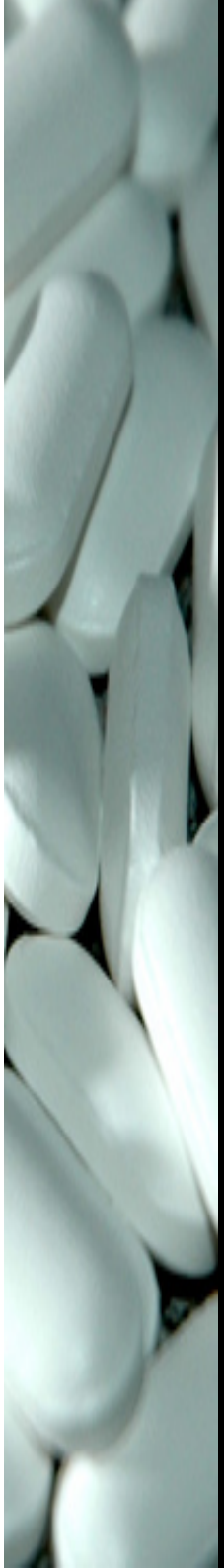


MIEJSCE WIĄZANIA

Metody homologiczne - porównanie sekwencji receptora z sekwencjami pokrewnych białek

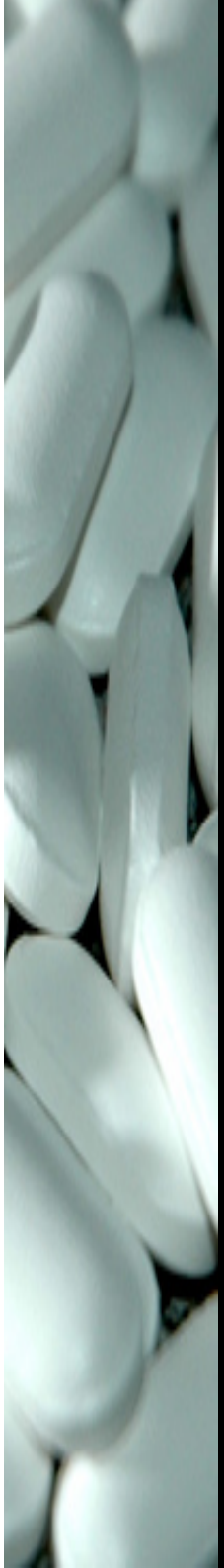
MIEJSCE WIĄZANIA

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



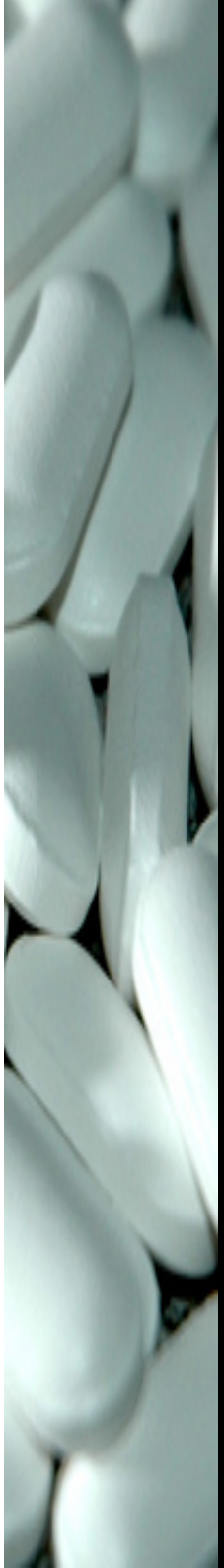
MIEJSCE WIĄZANIA

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.**



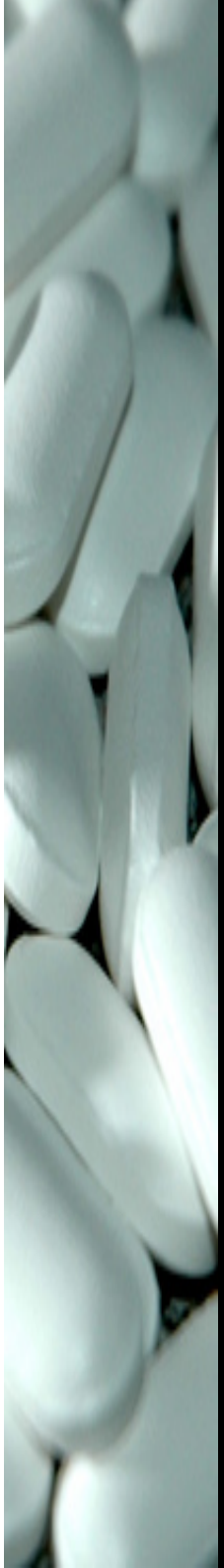
MIEJSCE WIĄZANIA

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 (≠ 100%)

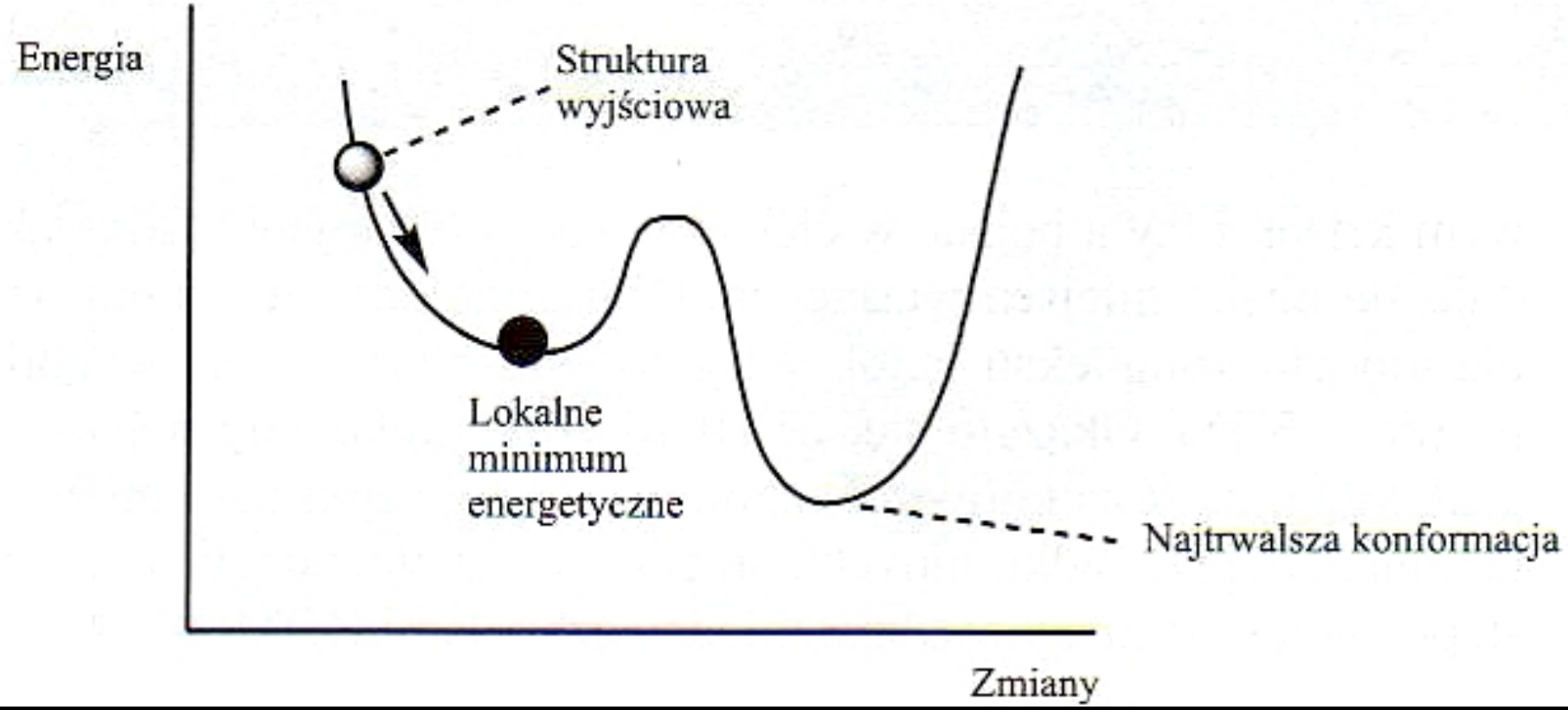
Przeszukiwanie 3D:

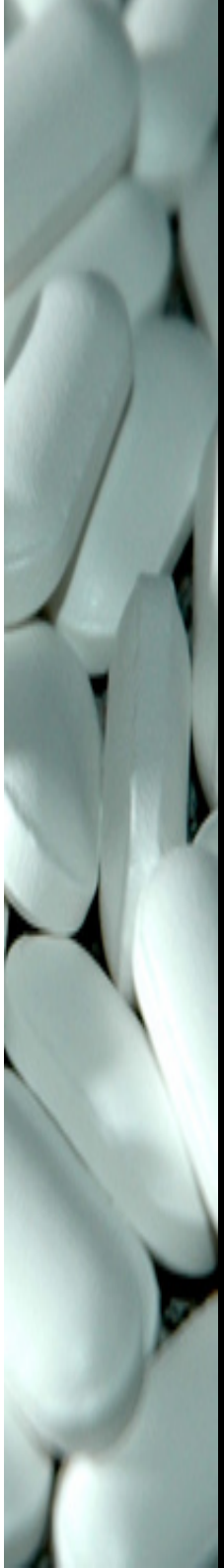
Generowanie struktur trójwymiarowych z wzorów strukturalnych poprzez rozbicie cząsteczki na fragmenty, których struktury są znane i łączenie ich w taki sposób, żeby uniknąć poważnych zawad sterycznych.

Giętkie przeszukiwanie 3D:

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

LIGANDY


Energia
Struktura
wyjściowa
Lokalne
minimum
energetyczne
Najtrwalsza konformacja
Zmiany

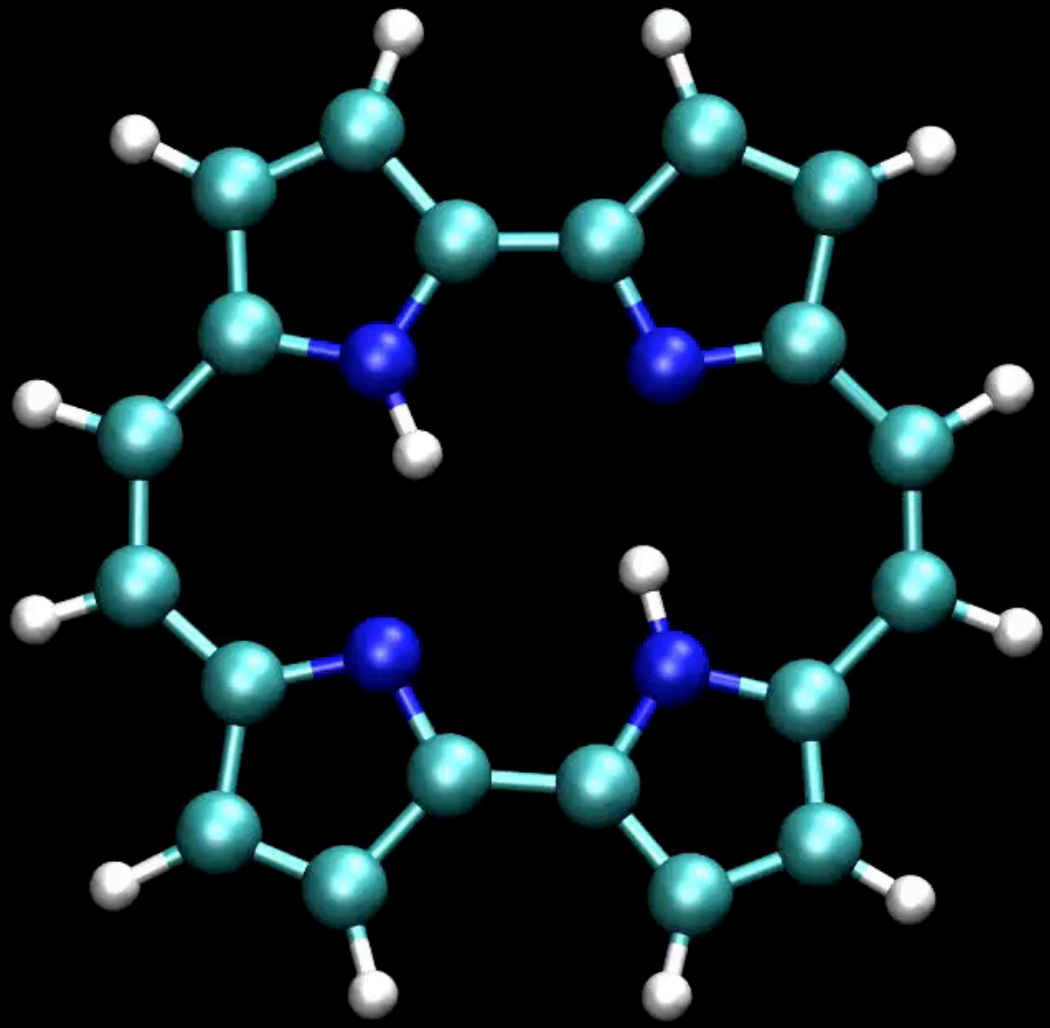


LIGANDY

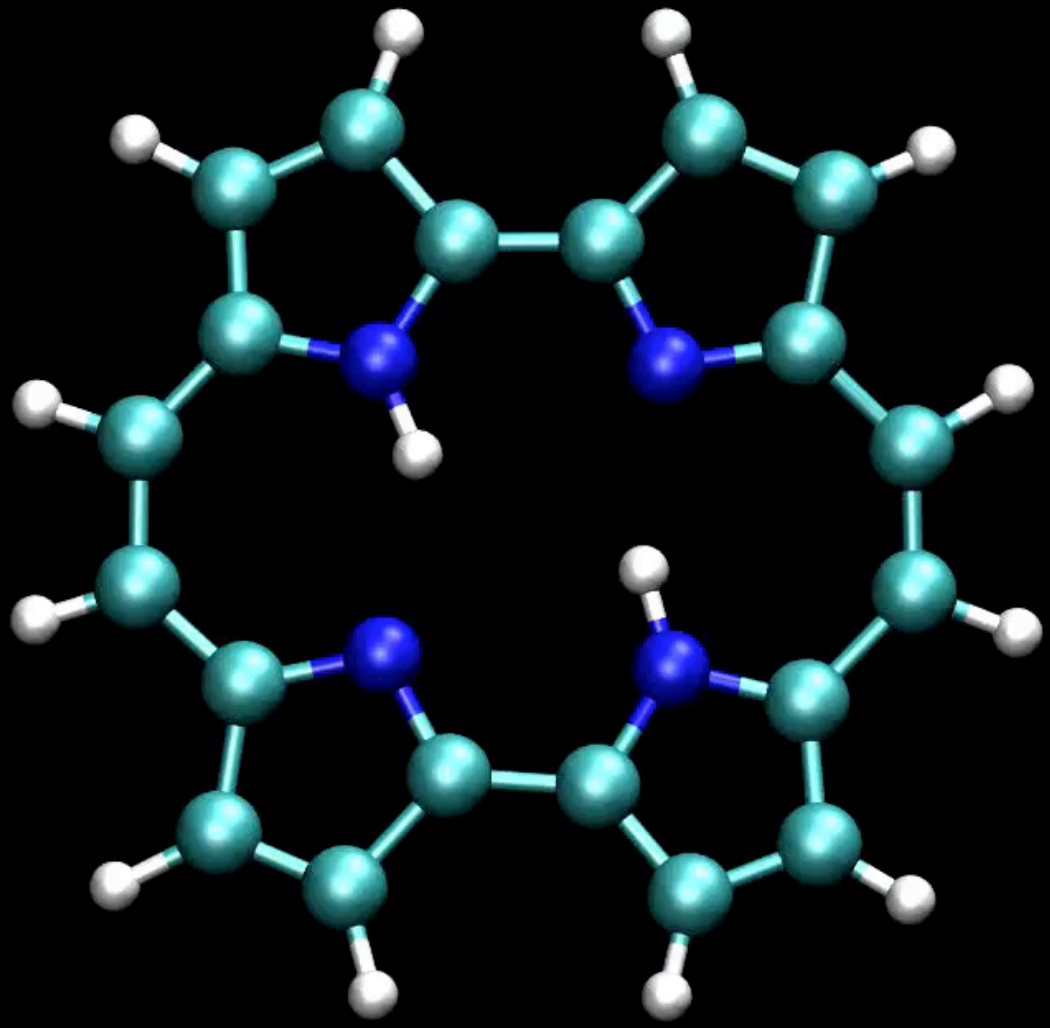
Mając strukturę możemy obliczyć:

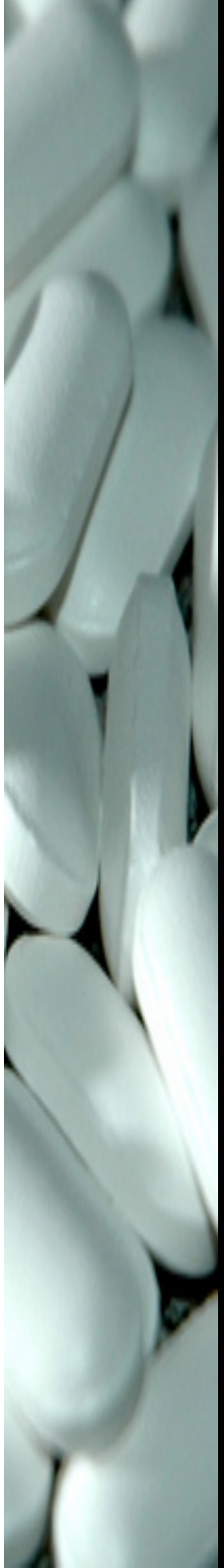
-energie steryczną (mierzona przy minimalizacji),
- ciepło tworzenia,
-moment dipolowy,
-gęstość ładunku,
-potencjał elektrostatyczny,
-gęstość spinów elektronowych,
-ładunki cząstkowe,
-polaryzowalność,
-częstość drgań w podczerwieni

PRZESKOK PROTONU



PRZESKOK PROTONU





LIGANDY

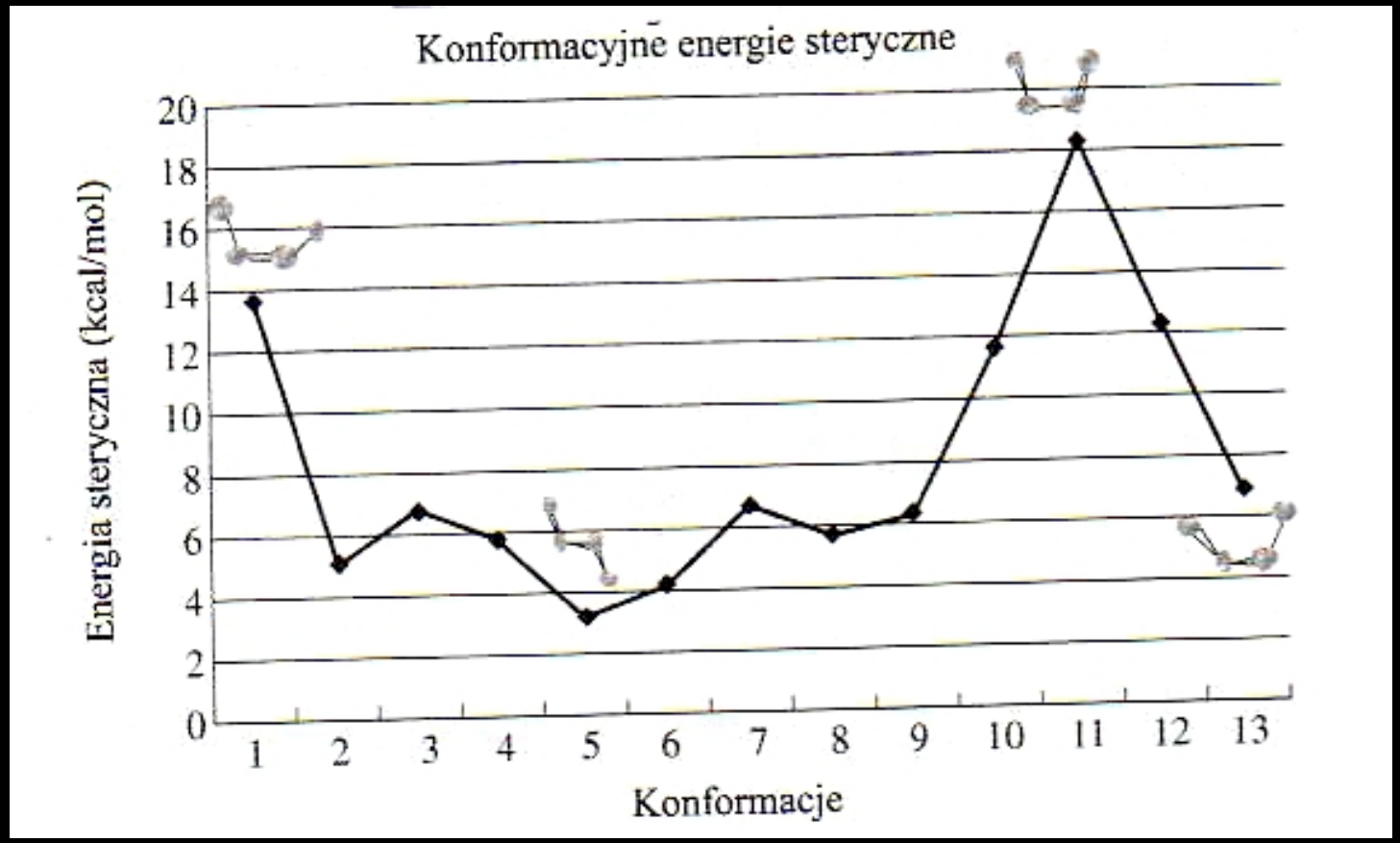
Stabilna konformacja:

-dynamika molekularna,
-stopniowa rotcja wokół wiązania.

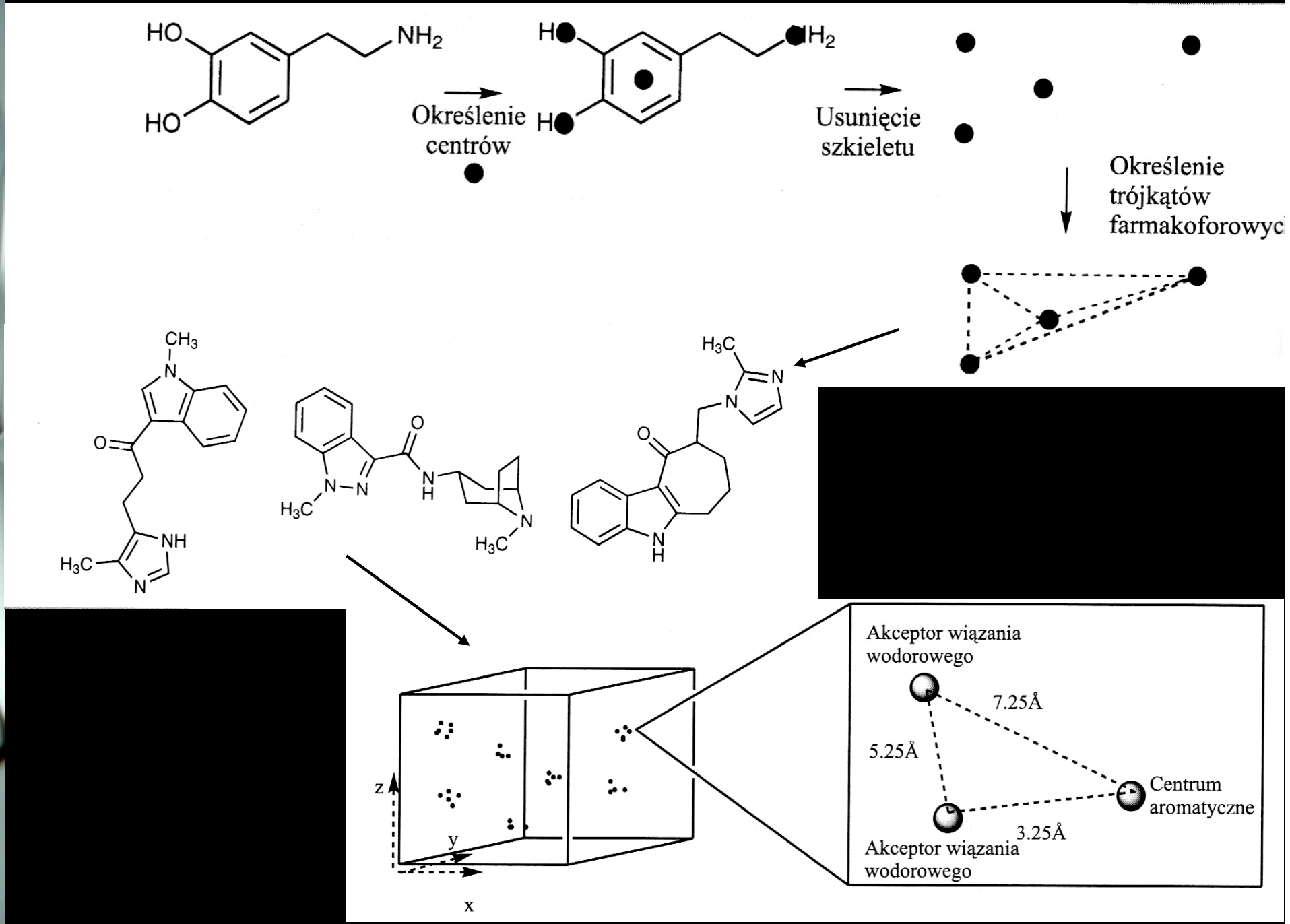
LIGANDY

Stabilna konformacja:

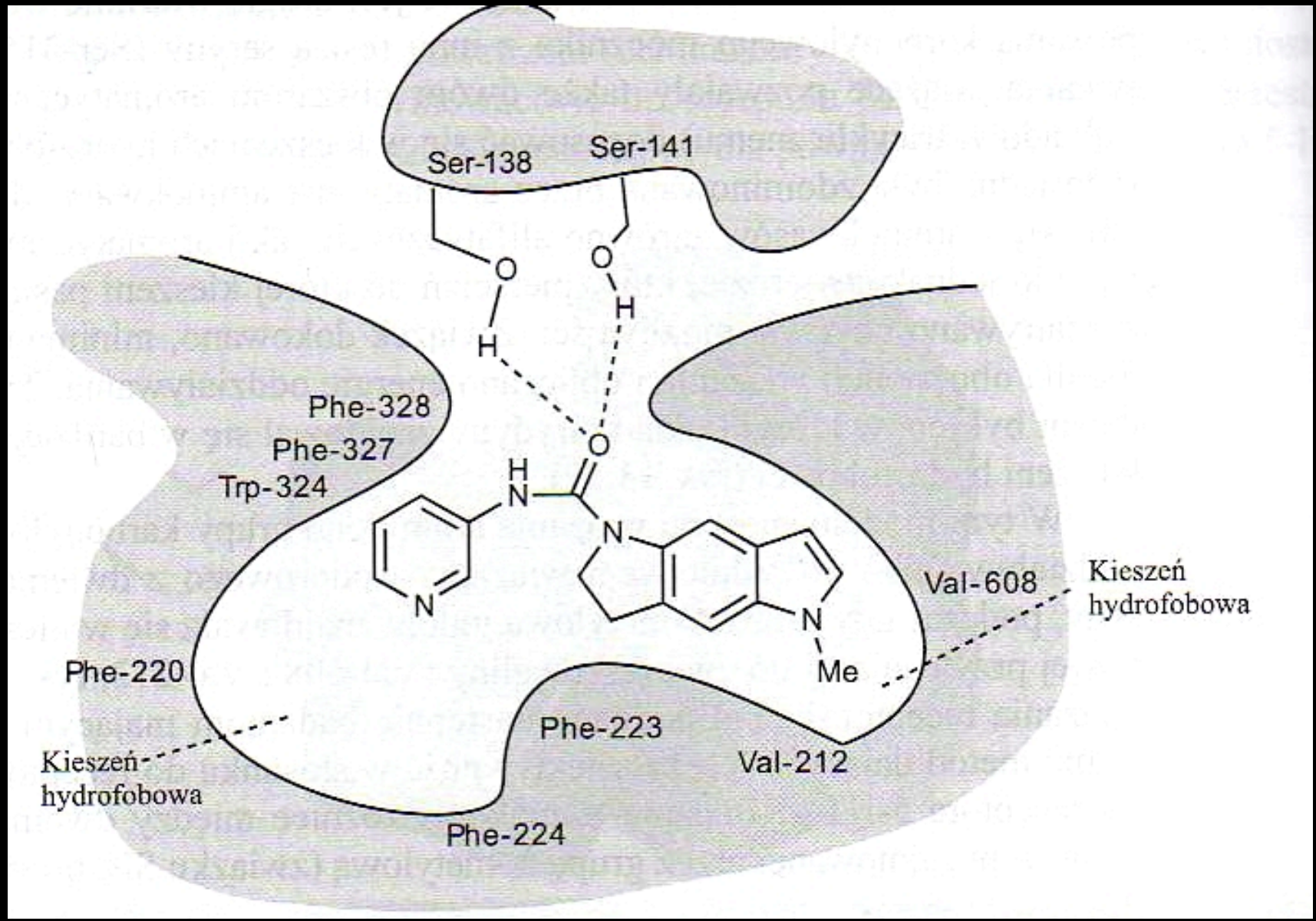
-dynamika molekularna,
-stopniowa rotcja wokół wiązania.

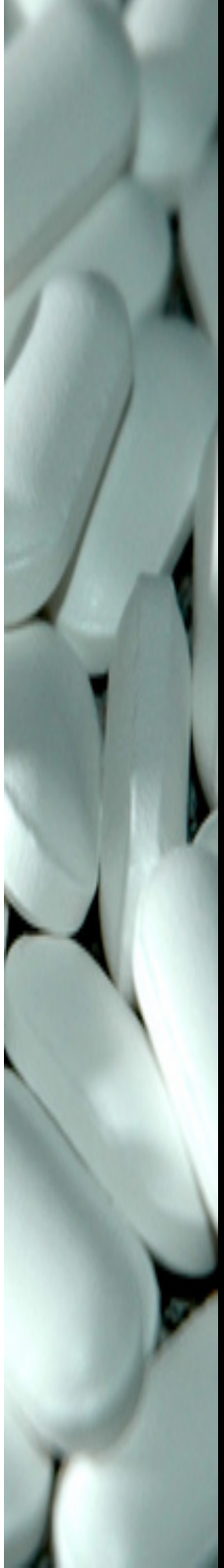


MODYFIKACJA FARMAKOFORÓW



PROJEKTOWANIE DE NOVO





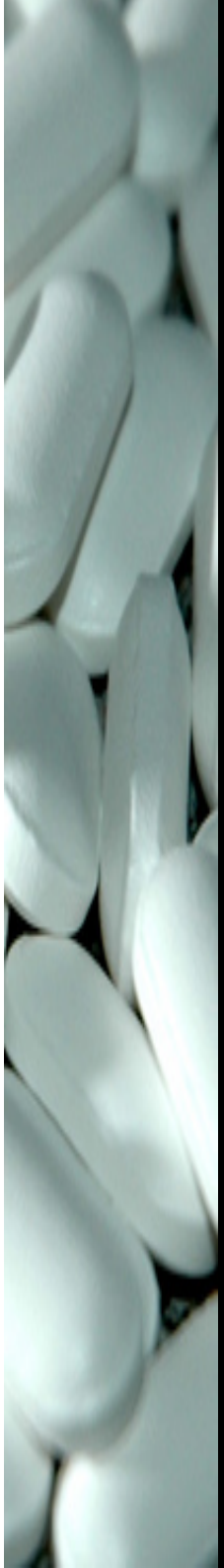
DOKOWANIE

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.

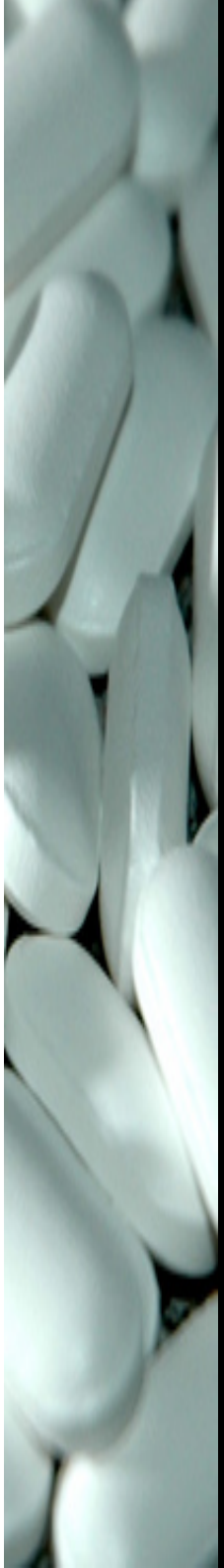


DOKOWANIE

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.

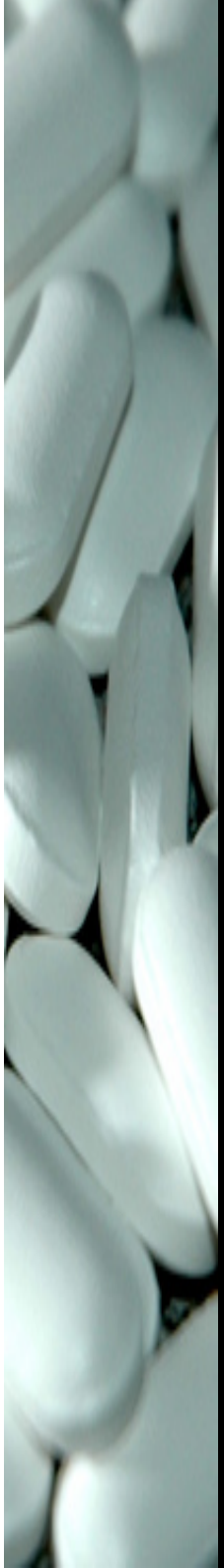


DOKOWANIE

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.

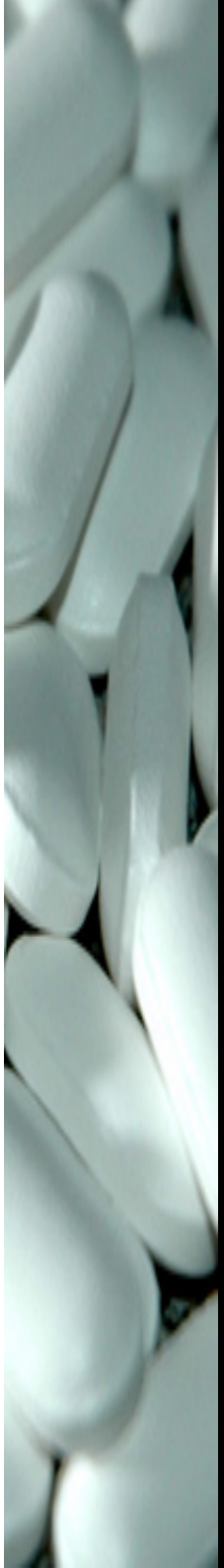


DOKOWANIE

Metody dokowania „semi-giętkiego”:

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

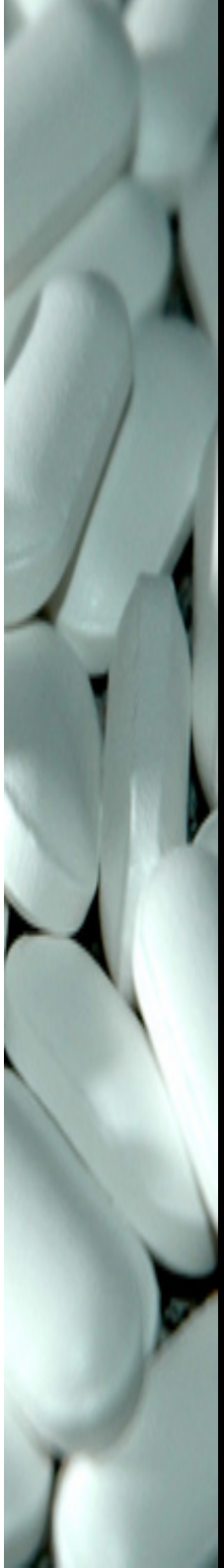
Metody podziału liganda – ligand jest dzielony na fragmenty sztywne (miejscami podziału są wiązania rotujące), następnie dokowany jest główny fragment, a następnie dobudowywane są do niego pozostałe fragmenty, w taki sposób, żeby odtworzyć wyjściowy układ wiązań w cząsteczce, lub dokowane są wszystkie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



DOKOWANIE

Metody dokowania giętkiego:

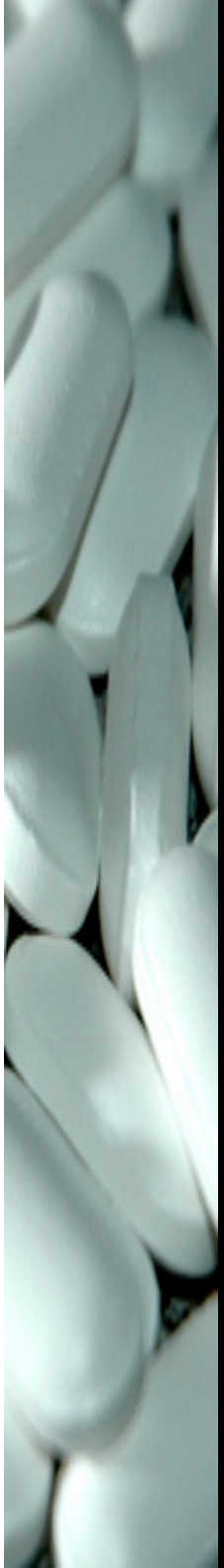
Uwzględniają możliwości zmian konformacyjnych łańcuchów bocznych aminokwasów w miejscu wiążącym receptora. Najczęściej liczbę możliwości zmian konformacyjnych ogranicza się do konformacji występujących w bazach rotamerów (np. Dunbrack'a).



DOKOWANIE BIAŁKO-LIGAND

DockingShop : protein-ligand docking

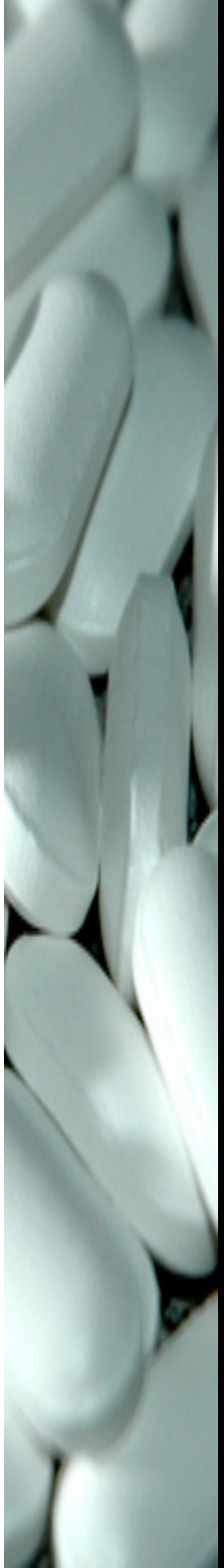
PDB : 2PCB



DOKOWANIE BIAŁKO-LIGAND

DockingShop : protein-ligand docking

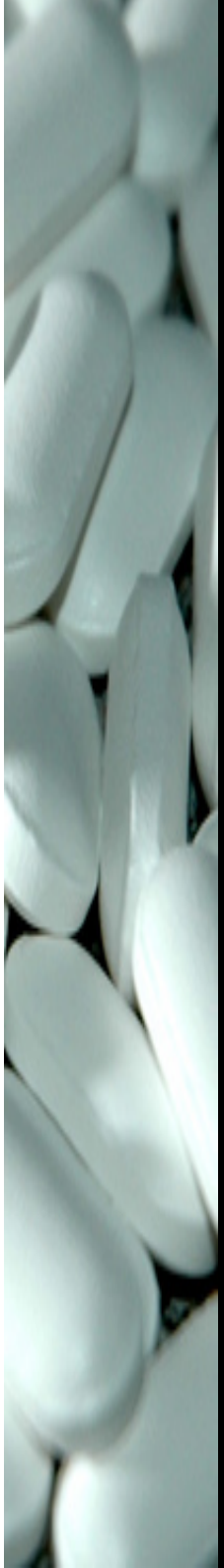
PDB : 2PCB



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.

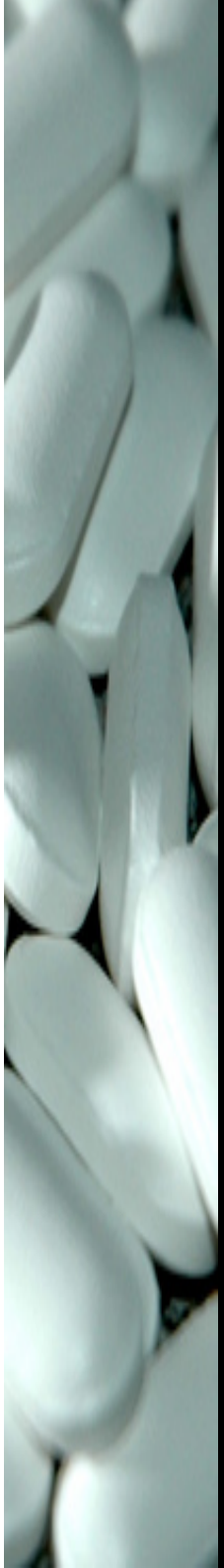


DOKOWANIE

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

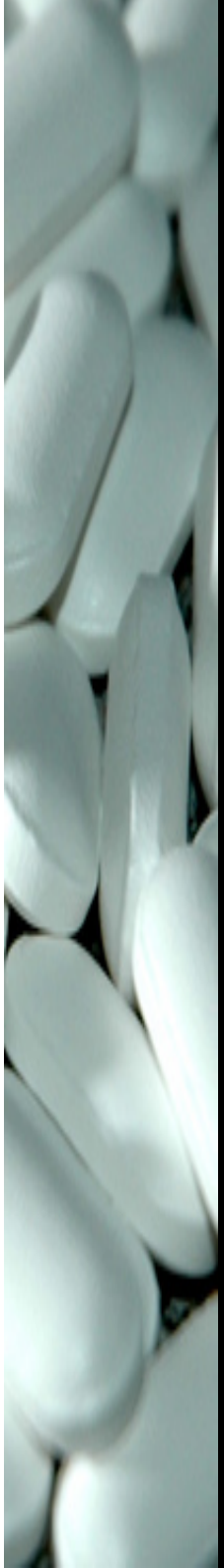
2. funkcji oceny dopasowania



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.

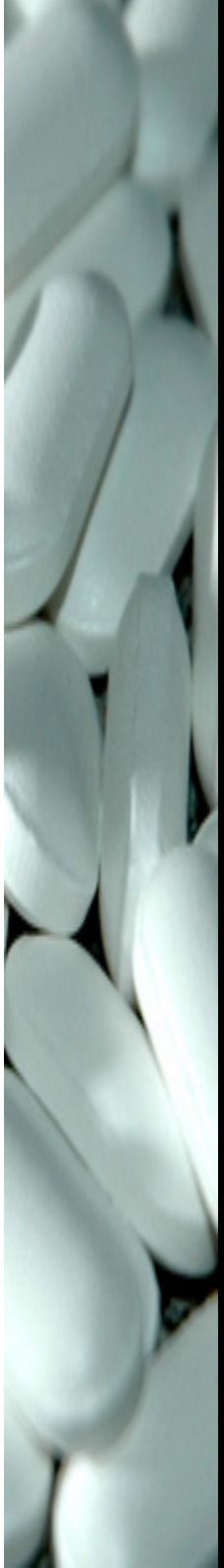
Jakość procedury dokowania oceniana jest liczbowo przez obliczanie wartości RMSD dla zadokowanego modu oraz ligandu referencyjnego. Wartość RMSD < 2A, wskazuje, iż określona technika poprawnie dokuje ligand w określonym receptorze.



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).



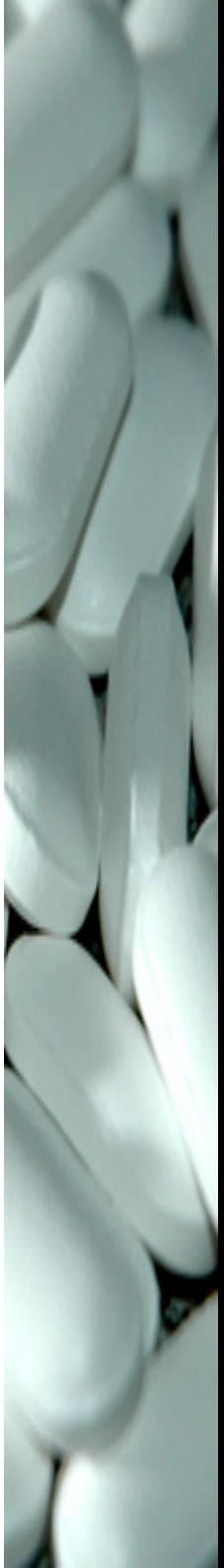
DOKOWANIE

Trzy kategorie funkcji oceniającej:

- funkcje oparte na polu siłowym

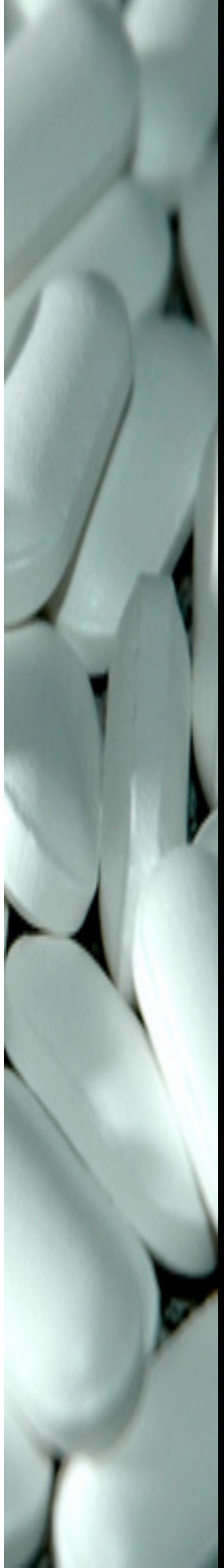
-funkcje empiryczne

-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