



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΦΑΡΜΑΚΩΝ



ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ & ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ



WORKSHOP ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ
ΦΑΡΜΑΚΩΝ



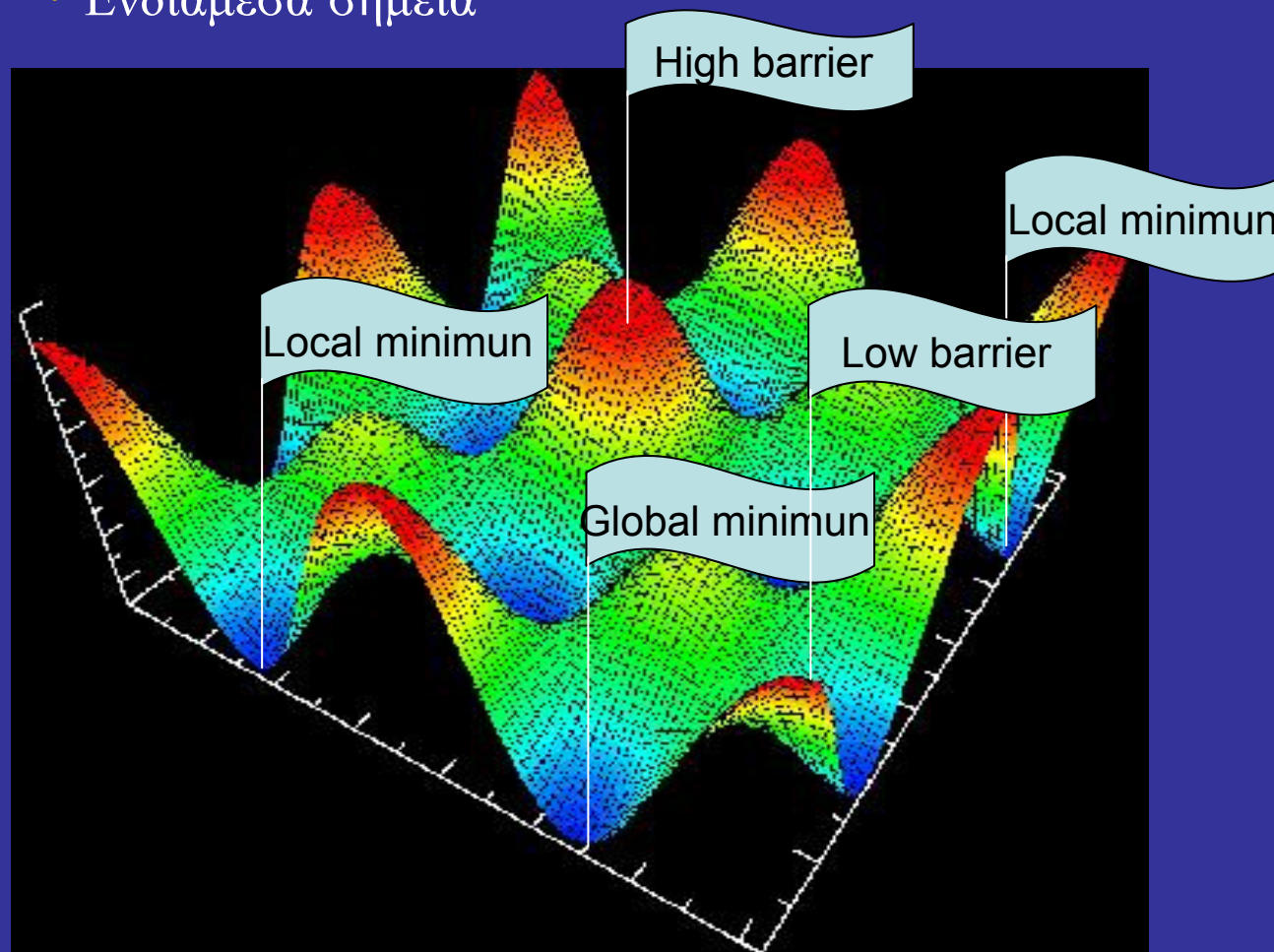
2^ο εργαστήριο

Διαμορφωτική Ανάλυση

- Συστηματική αναζήτηση
- Τυχαία δειγματοληψία
- Μοριακή Δυναμική

Σημεία της PES

- Το PES χαρακτηρίζεται από:
 - Ελάχιστα (χαμηλής ενέργειας διαμορφώσεις)
 - Μέγιστα ή ενεργειακά φράγματα
 - Ενδιάμεσα σημεία

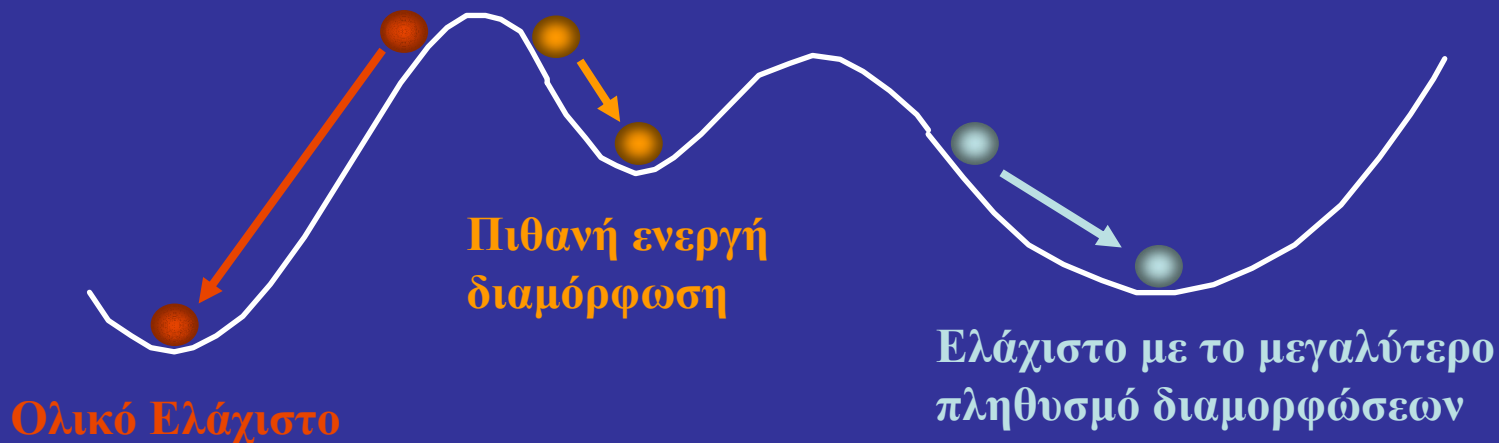


Διαμορφωτική Ανάλυση

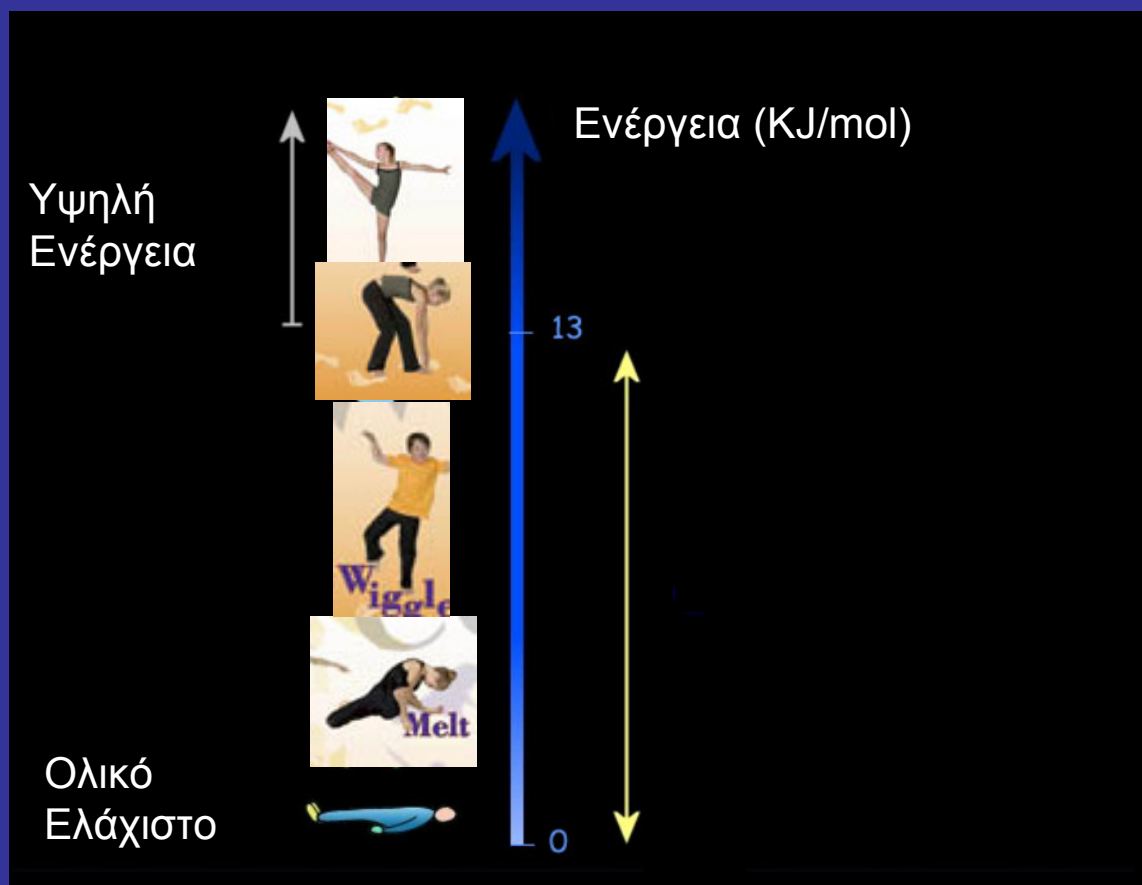
Εύρεση του **διαμορφωτικού χώρου** ενός μορίου με χρήση υπολογιστικής χημείας και μοριακής μοντελοποίησης.

Γιατί;

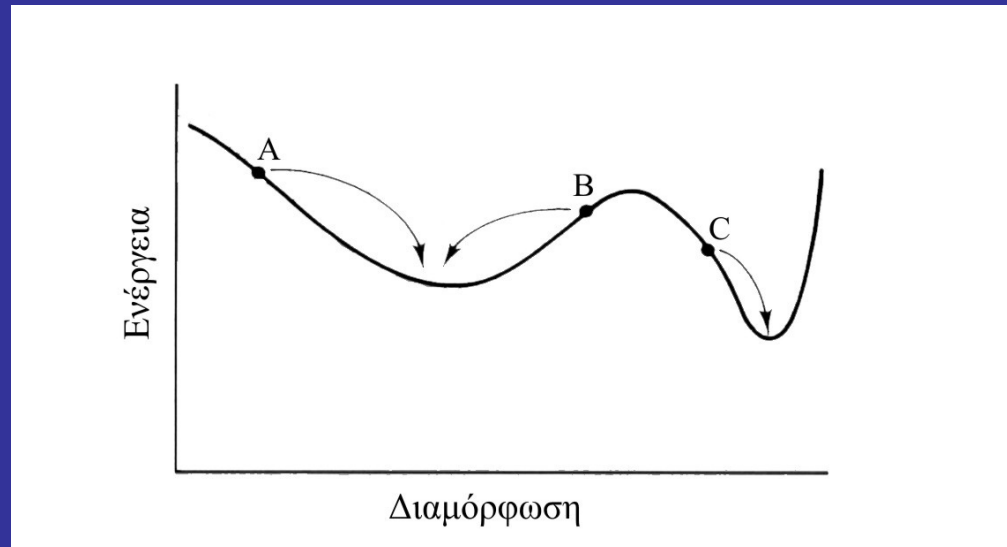
Εύρεση των ενεργειακών ελαχίστων (αντιπροσωπευτικών).



Διαμόρφωση ελάχιστης ενέργειας = Βιοδραστική διαμόρφωση;



Αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης της ενέργειας



- Οι περισσότεροι αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης της ενέργειας απλώς «κυλούν» μέχρι να συναντήσουν το πλησιέστερο ενεργειακό ελάχιστο.
- Καμία μέθοδος δε μπορεί να εγγυηθεί για την εύρεση του ολικού ελάχιστου.
- Δεν υπάρχει καλύτερη μέθοδος. Η κάθε μία είναι καλή για συγκεκριμένο πρόβλημα.

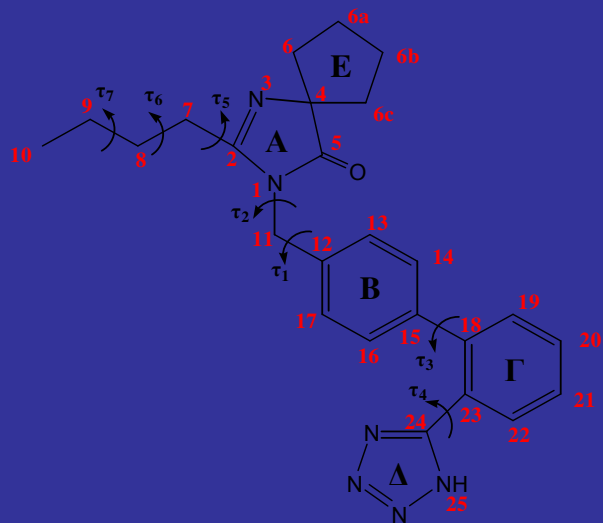
Μεθοδολογία



- **ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ** (Εξονυχιστική μελέτη όλων των δίδρων γωνιών) - Διεξοδική, Αργή διαδικασία (Grid Scan)
- **ΤΥΧΑΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ** Σύντομη, ενδεχομένως ατελής (Random Sampling)

Εφαρμογή Grid Scan στο irbesartan

- α. Η διαμόρφωση του διφαινυλίου.
- β. Ο προσανατολισμός του τετραζολίου σχετικά με το φαινυλικό δακτύλιο Γ.
- γ. Ο προσανατολισμός του δακτυλίου Α σε σχέση με το διφαινυλικό σύστημα.
- δ. Η διαμόρφωση και η ευκινησία της αλκυλικής αλυσίδας.



- τ_1 : N1-C11-C12-C17
- τ_2 : C2-N1-C11-C12
- τ_3 : C14-C15-C18-C19
- τ_4 : C22-C23-C24-N25
- τ_5 : C8-C7-C2-N1
- τ_6 : C9-C8-C7-C2
- τ_7 : C10-C9-C8-C7

Ορισμός δίεδρης **C14-C15-C18-C19**

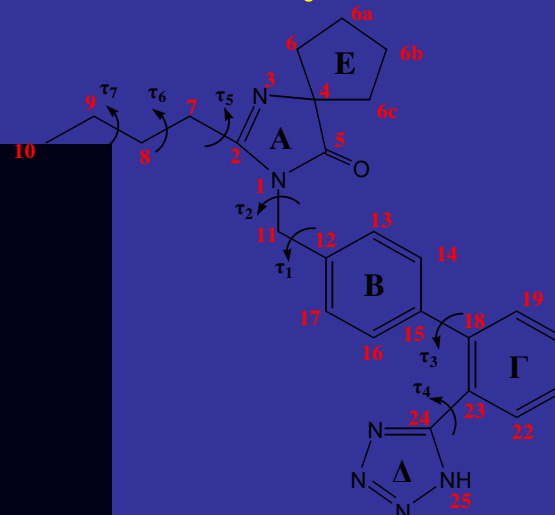
Ορισμός μεταβολής της τιμής της
0-355° ανά 5°

Επιλογή αλγόριθμου ελαχιστοποίησης
Conjugate Gradient

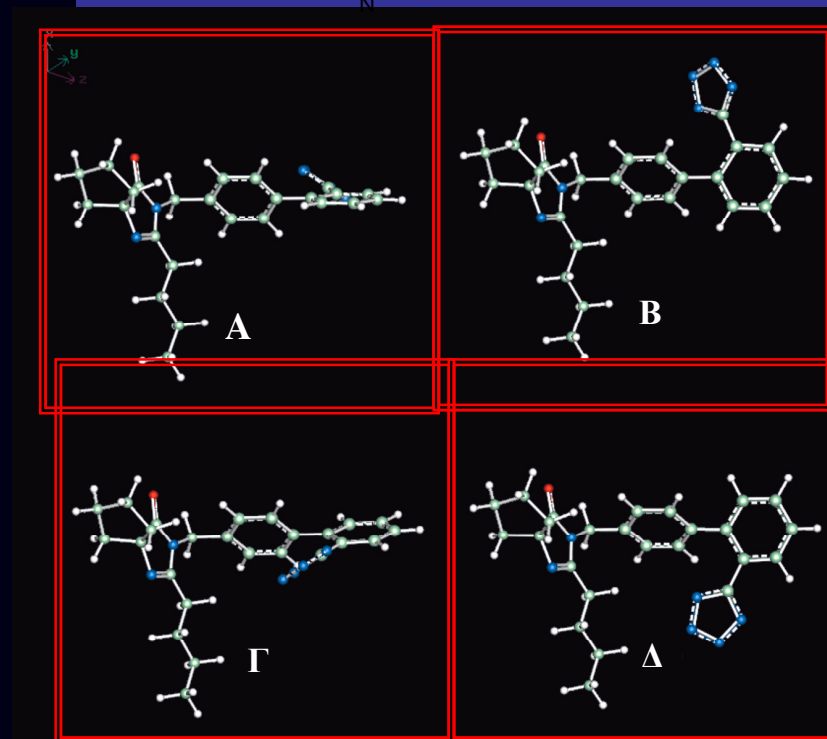
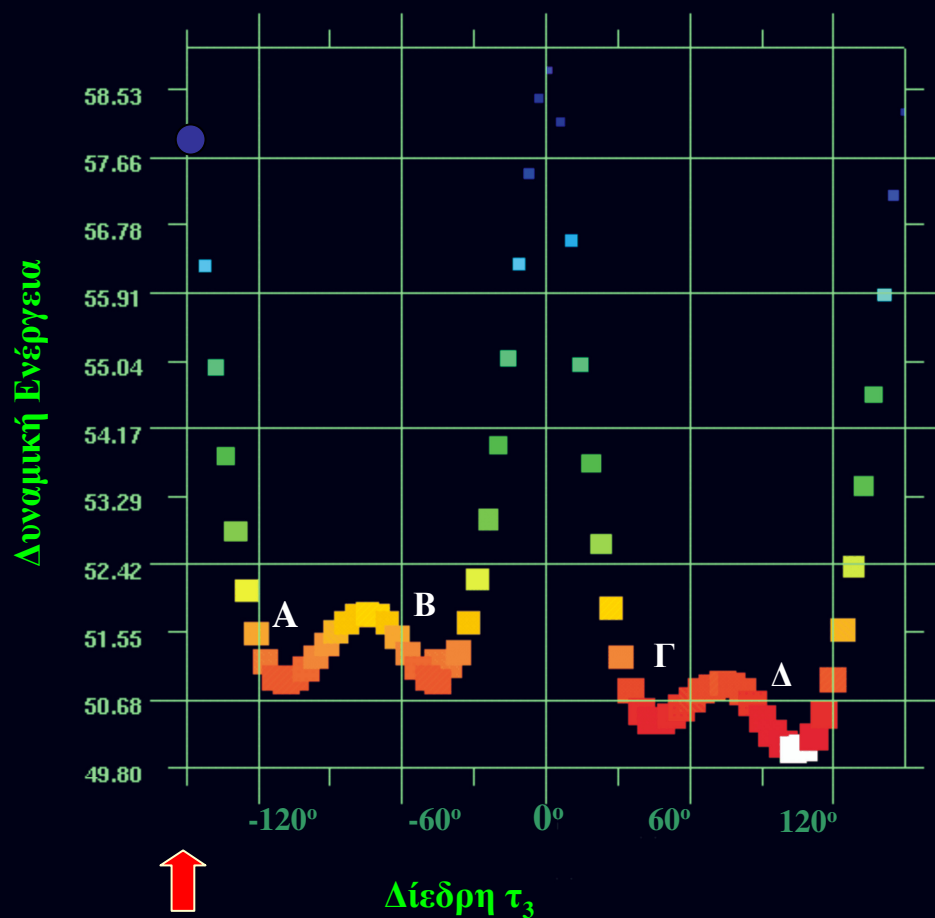
Ομαδοποίηση των διαμορφώσεων

Ανάλογα με τη δίεδρη ή τις ατομικές συν/νες

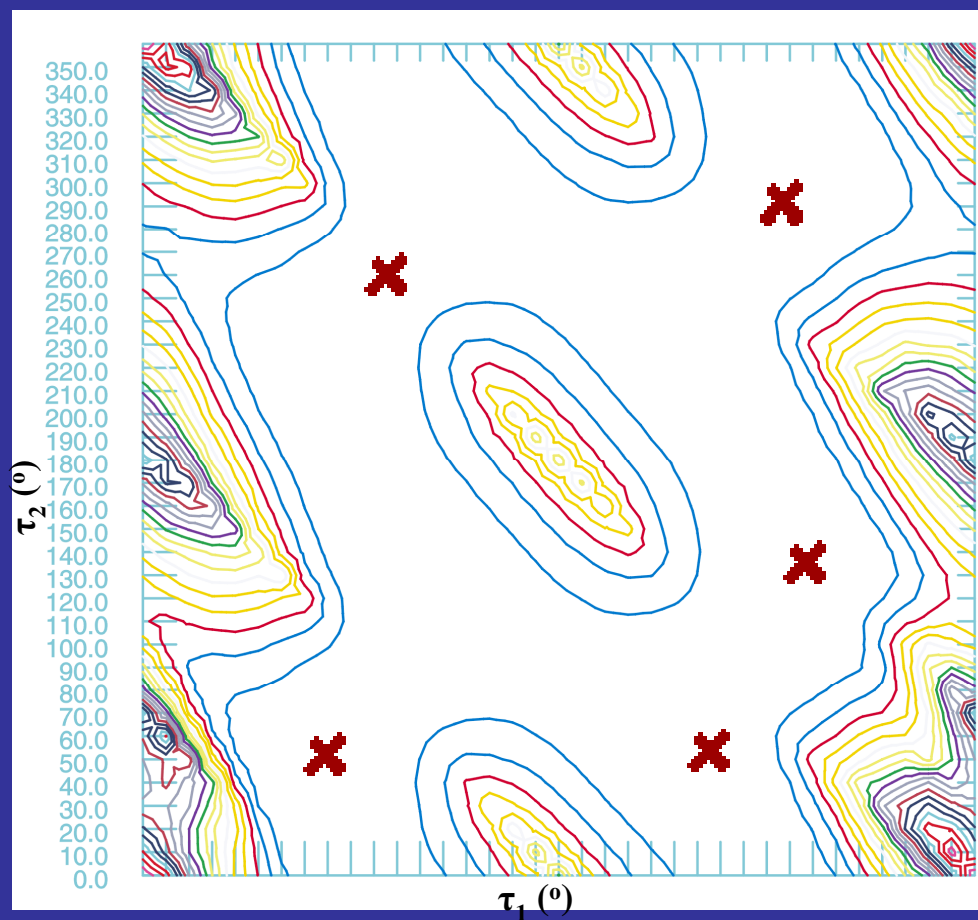
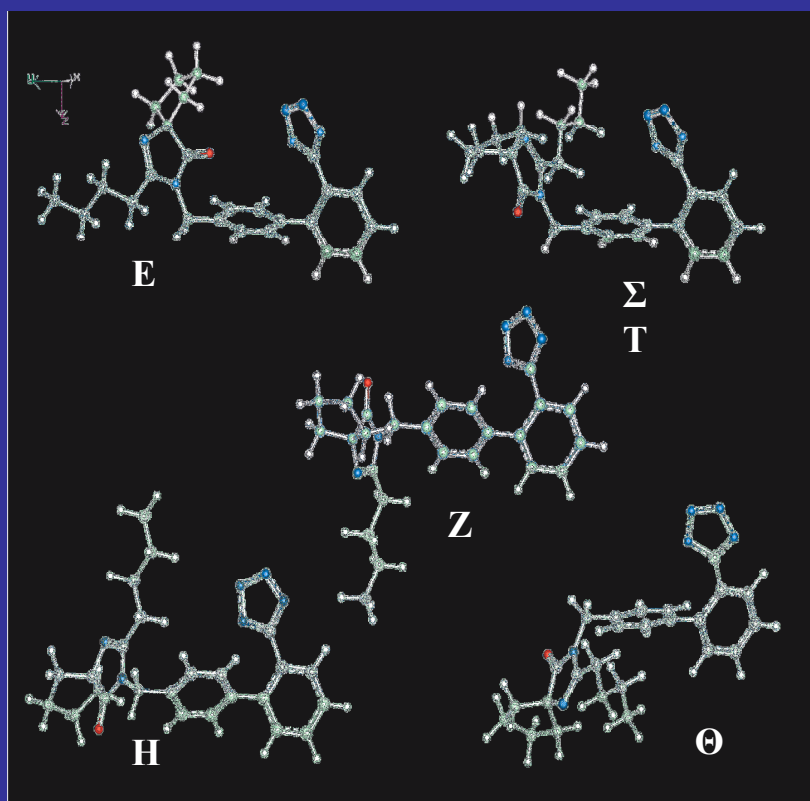
Εφαρμογή σε 1 δίοεδρη



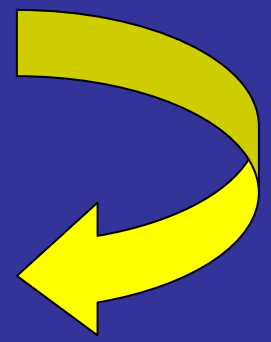
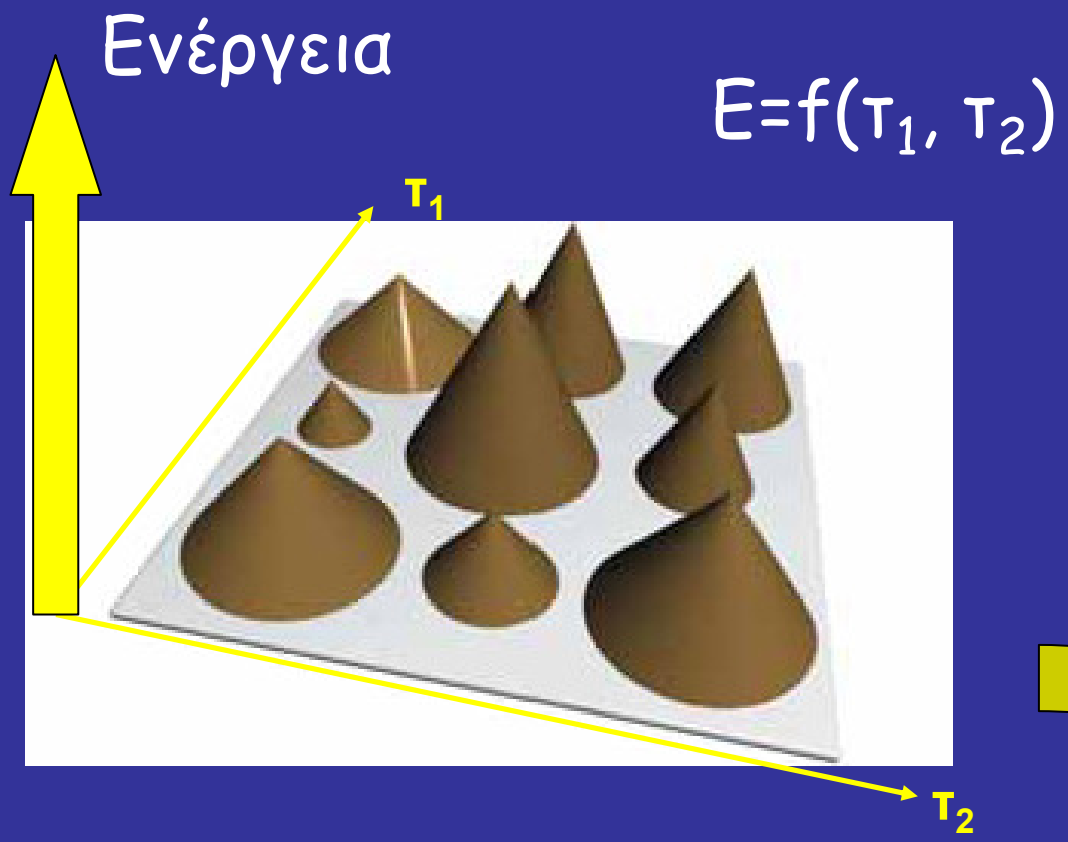
- τ_1 : N1-C11-C12-C17
- τ_2 : C2-N1-C11-C12
- τ_3 : C14-C15-C18-C19
- τ_4 : C22-C23-C24-N25
- τ_5 : C8-C7-C2-N1
- τ_6 : C9-C8-C7-C2
- τ_7 : C10-C9-C8-C7



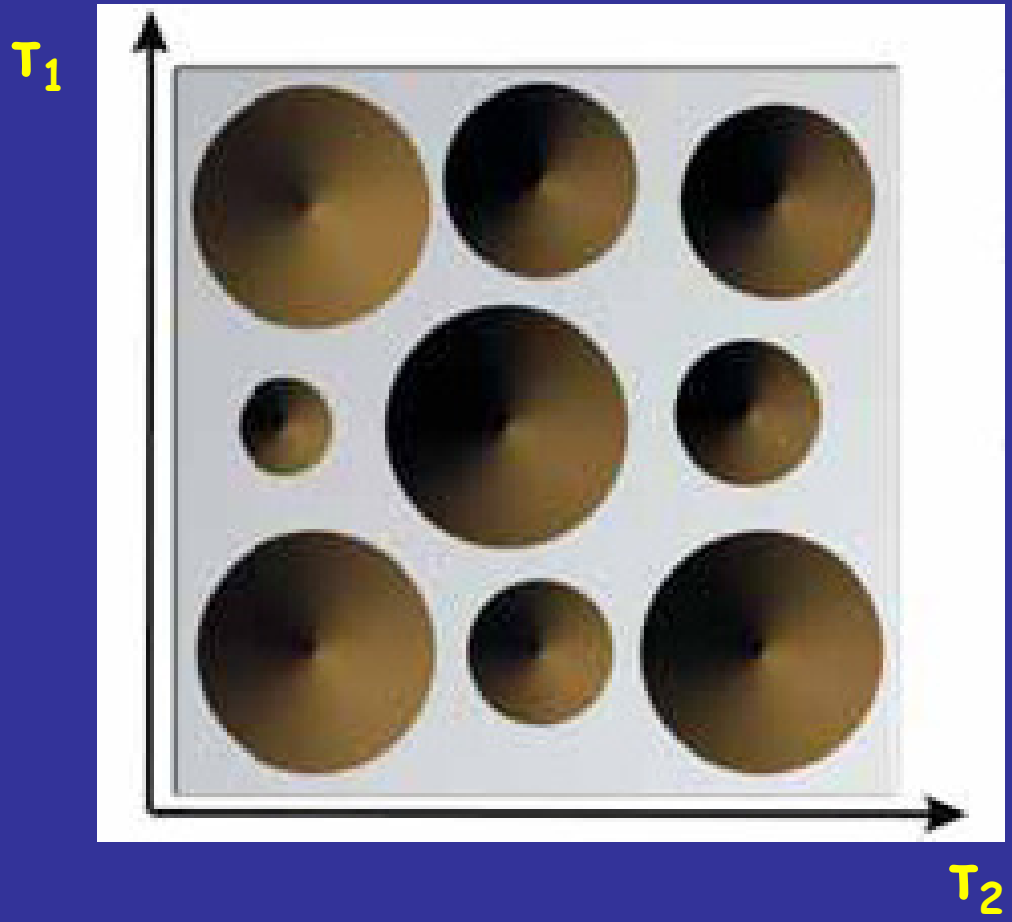
Εφαρμογή σε 2 δίεδρες



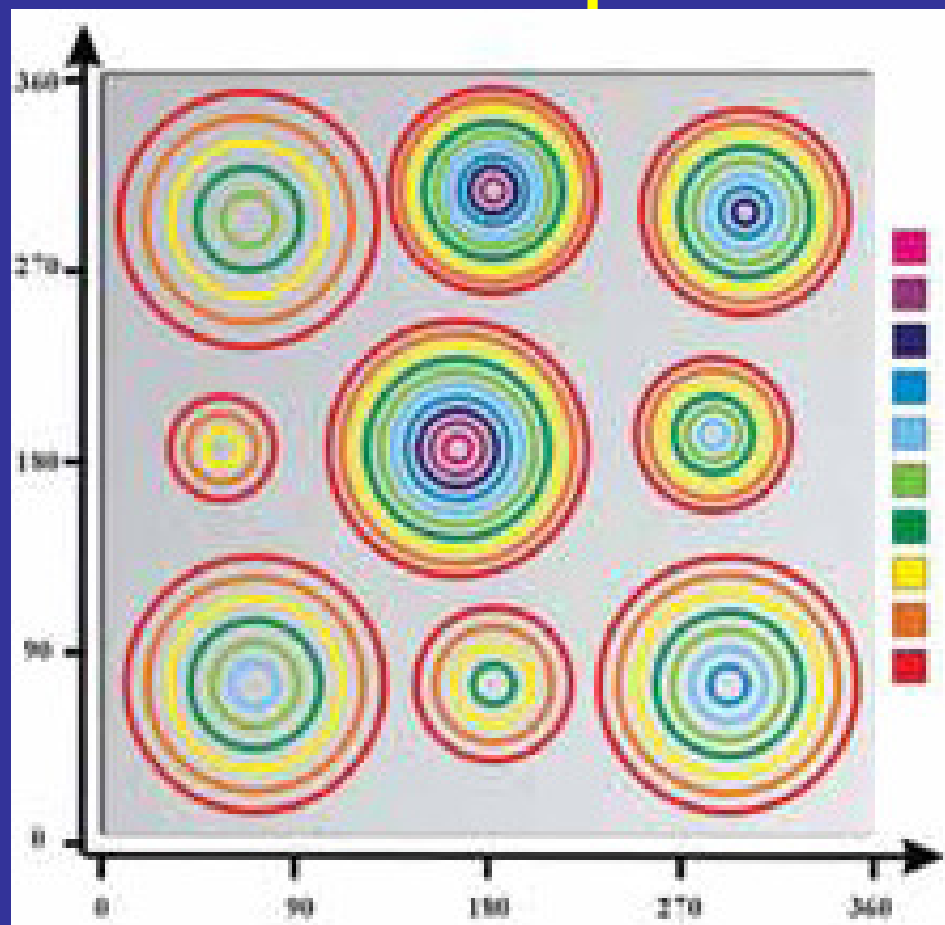
Απεικόνιση σε 3 διαστάσεις



Περιστροφή...



Διάγραμμα 2 διαστάσεων ισοενεργειακών καμπυλών Contour plot



Συνδυαστική έκκριση

5 διεδρες - 0-360° - /30°

7 διεδρες - 0-360° - /30°

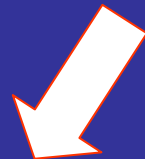


12^5
248832



~36 εκ.

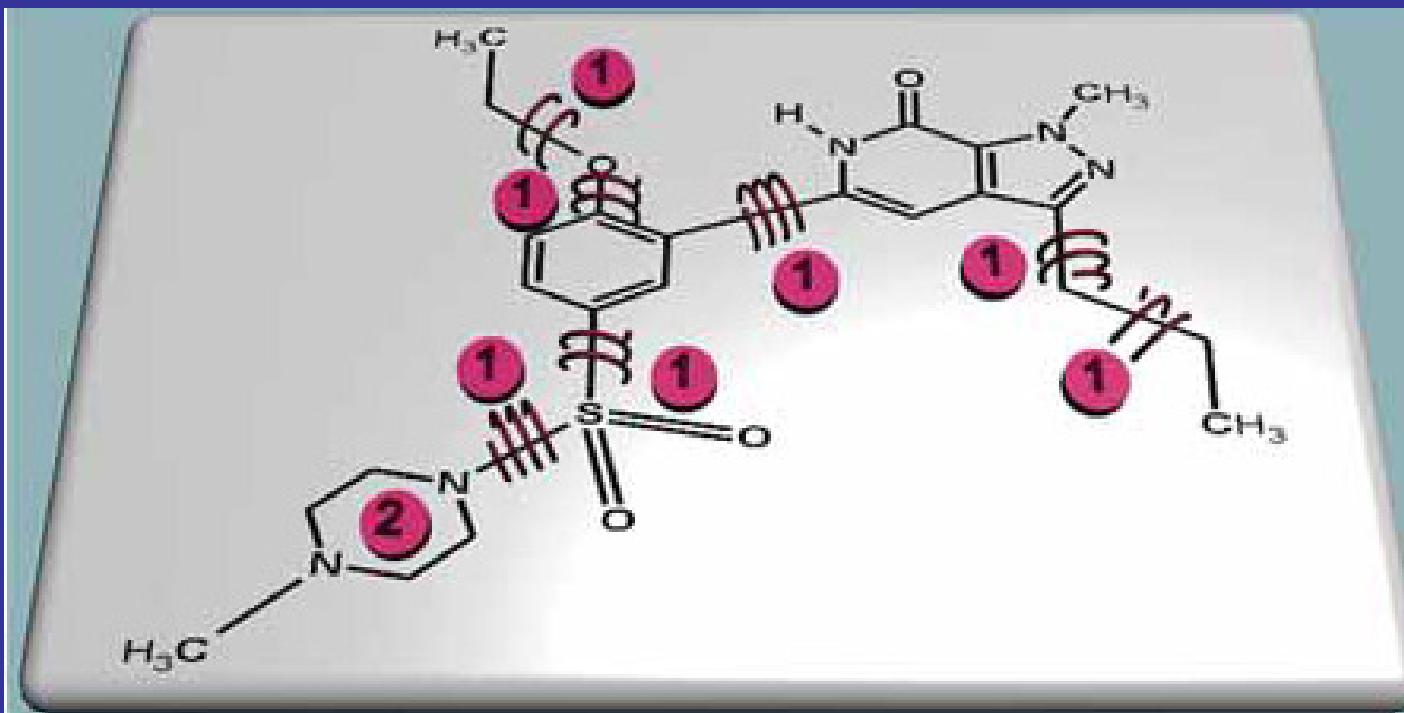
1sec/διαμόρφωση



70 ώρες

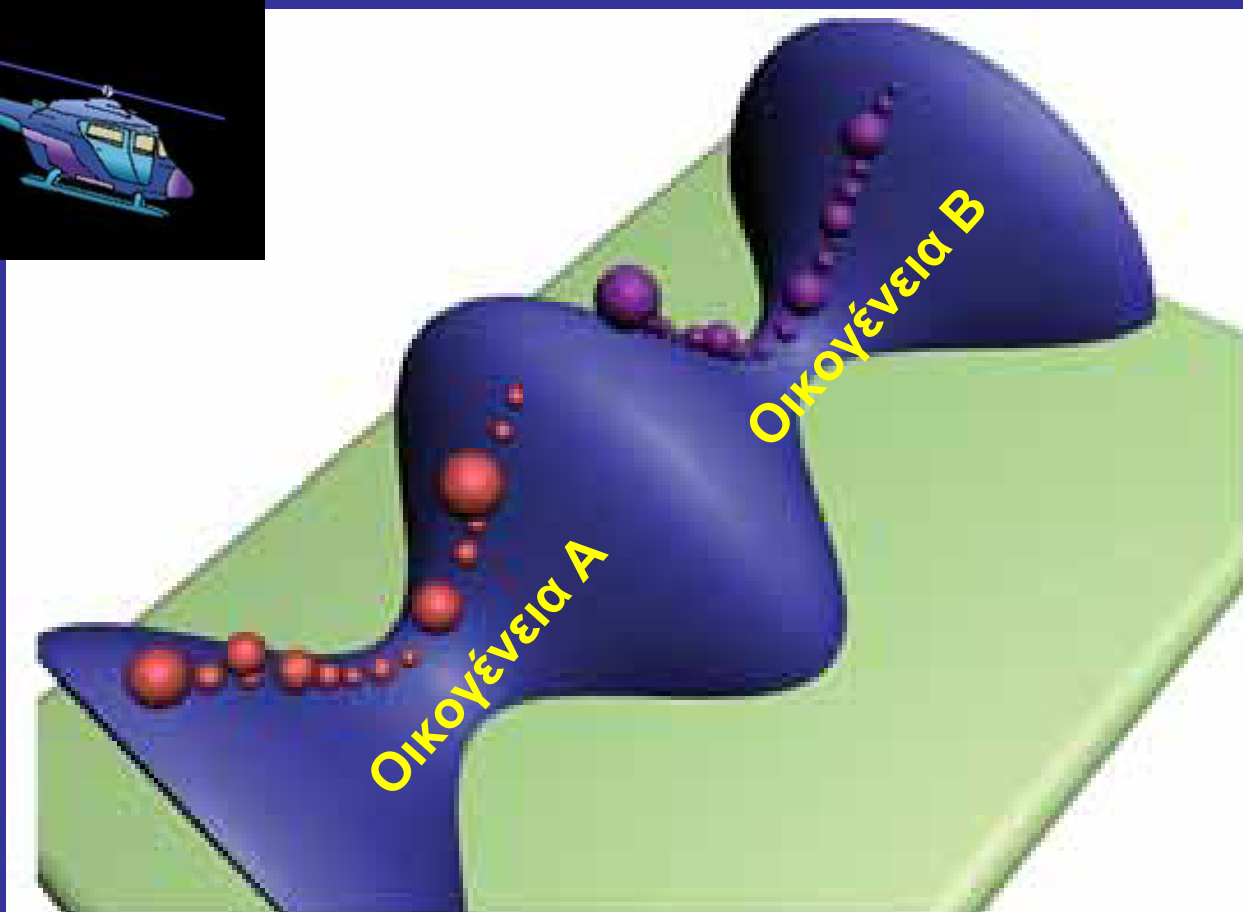


400 μέρες!!!

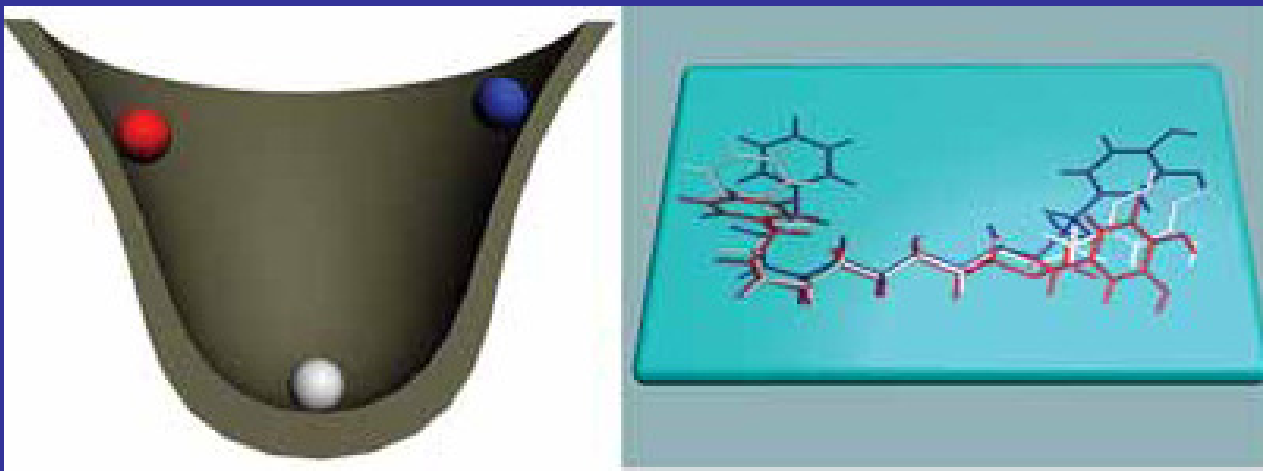


300 δις!!!

Οικογένειες διαμορφώσεων

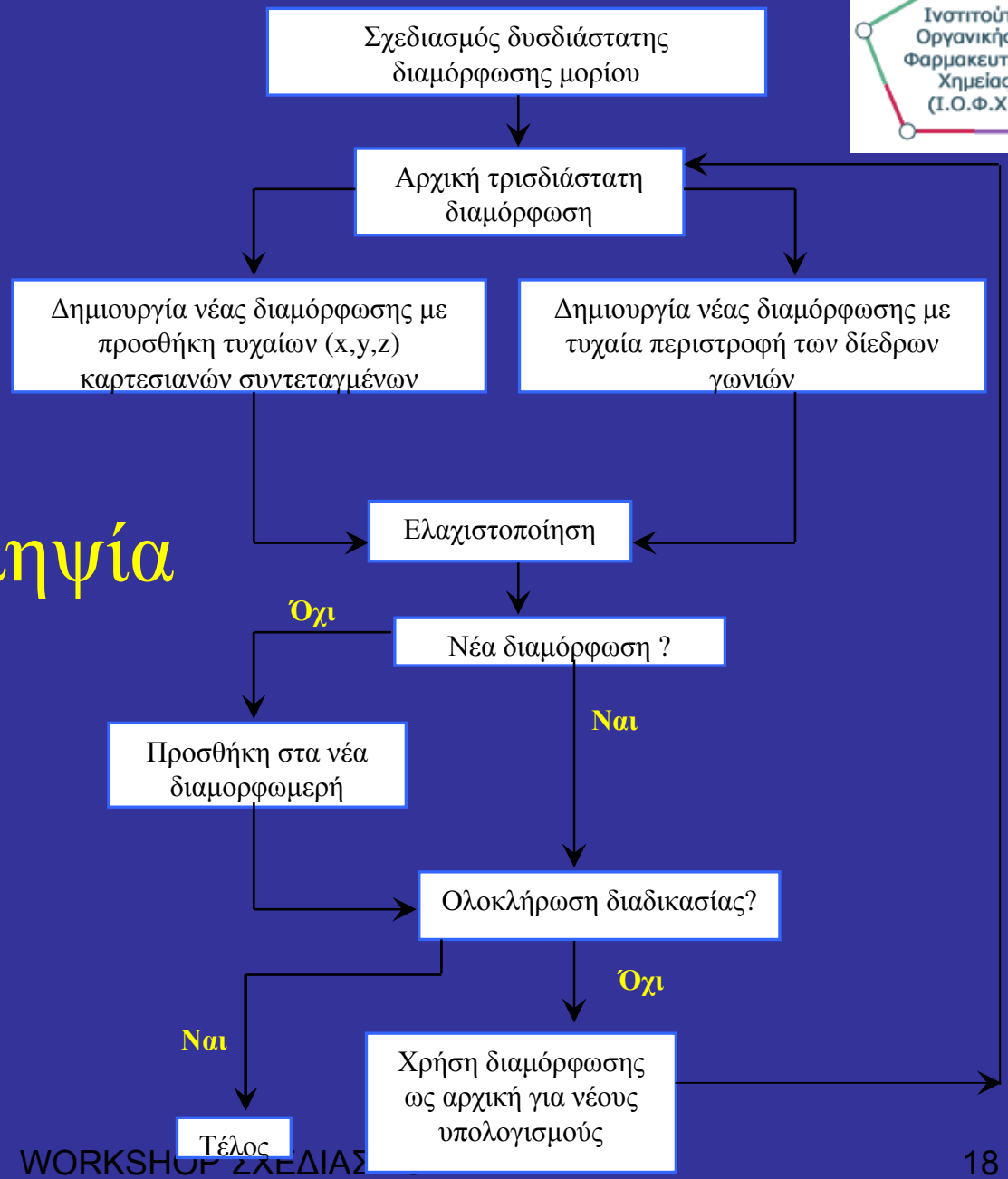


Διαμορφωμερή που εντοπίζονται στο ίδιο φρέαρ δυναμικού





Τυχαία δειγματοληψία





ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ



“διαδικασία που επιχειρεί να περιγράψει ένα πραγματικό σύστημα μέσα από τη μοντελοποίησή του.”

“Προβλέπει τη συμπεριφορά των συστημάτων λαμβάνοντας υπόψη παραμέτρους της αρχικής τους θέσης και κατάστασης καθώς και του περιβάλλοντος μέσα στο οποίο βρίσκονται. “



Manhattan Project



Εφαρμογές της προσομοίωσης

Βιολογία

Φυσική

Χημεία

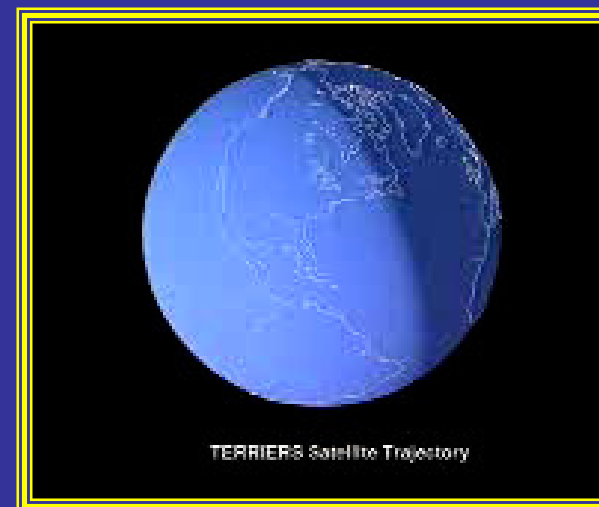
Μετεωρολογία

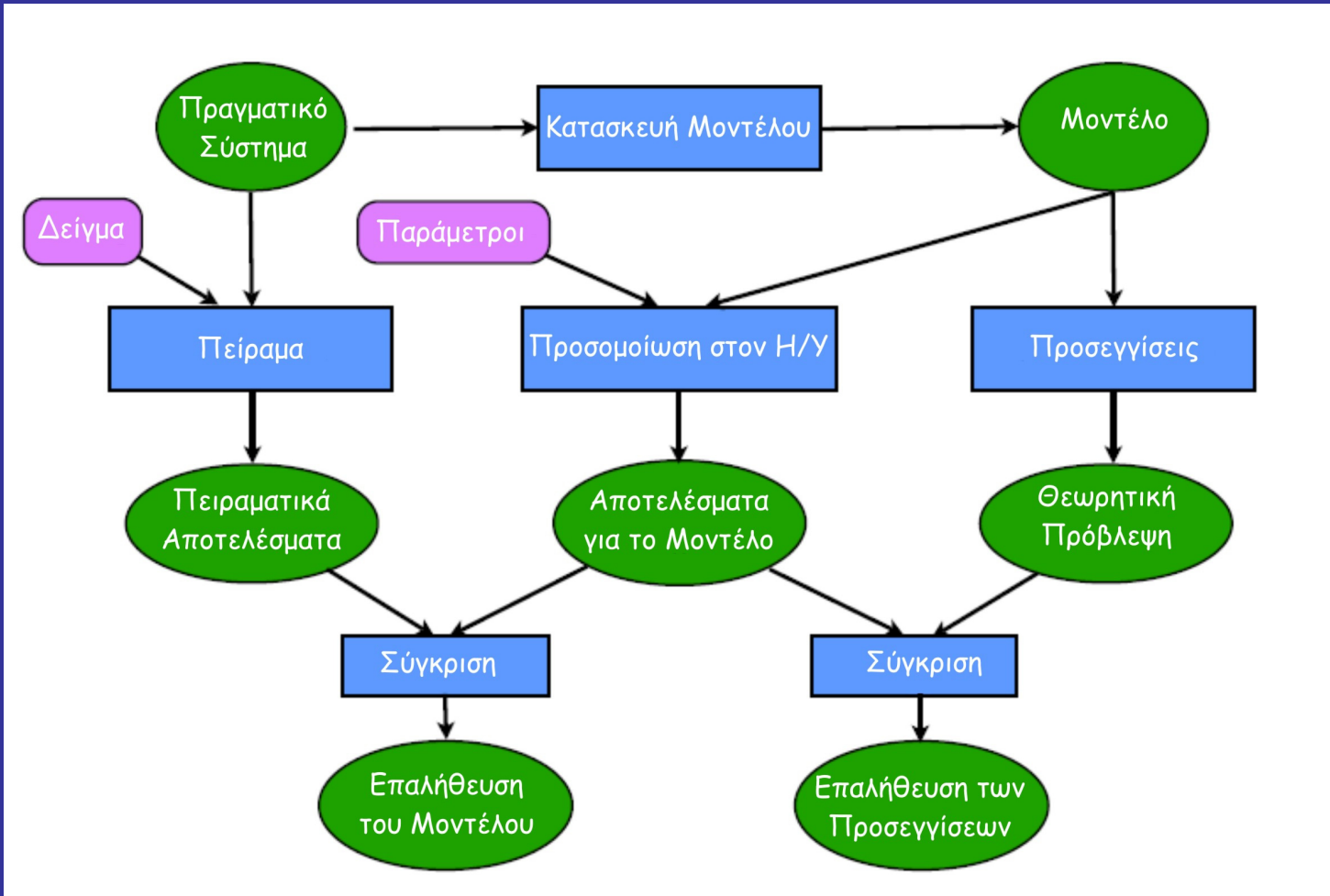
Διαστημική

Μηχανολογία

Ψυχολογία

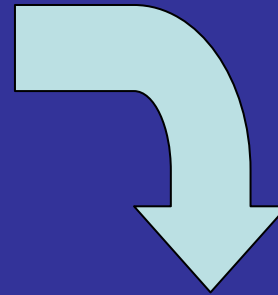
Κοινωνιολογία





Προσομοίωση Βιολογικών Συστημάτων

Αναστολέας της παγκρεατικής Θρυψίνης
από βοοειδές (BPTI -Bovine Pancreatic
Trypsin Inhibitor)
MM, κενό, 9,2 ps,
1975: Κρυσταλλογραφική δομή



Πρωτεΐνες ≠ Άκαμπτες δομές

*Διαμορφώσεις από NMR και X-ray
αντιπροσωπεύουν μια στατική εικόνα
ή το μέσο όρο των διαμορφώσεων
του μοριακού συστήματος.*

Δυναμικά συστήματα

οι εσωτερικές κινήσεις παίζουν
καθοριστικό ρόλο στη λειτουργικότητα
του μορίου

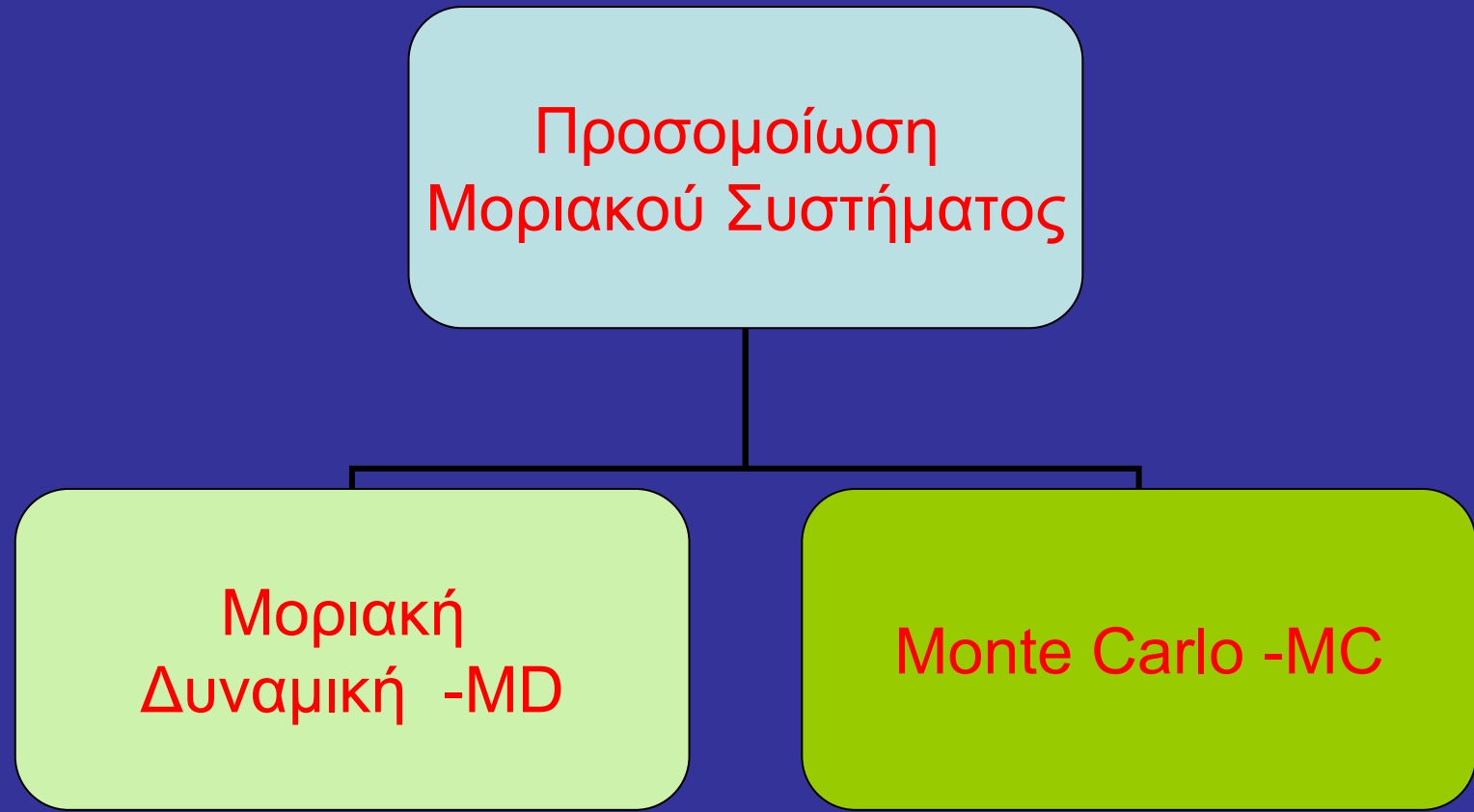
Προσομοίωση Μοριακών Συστημάτων

Μοριακή Μοντελοποίηση

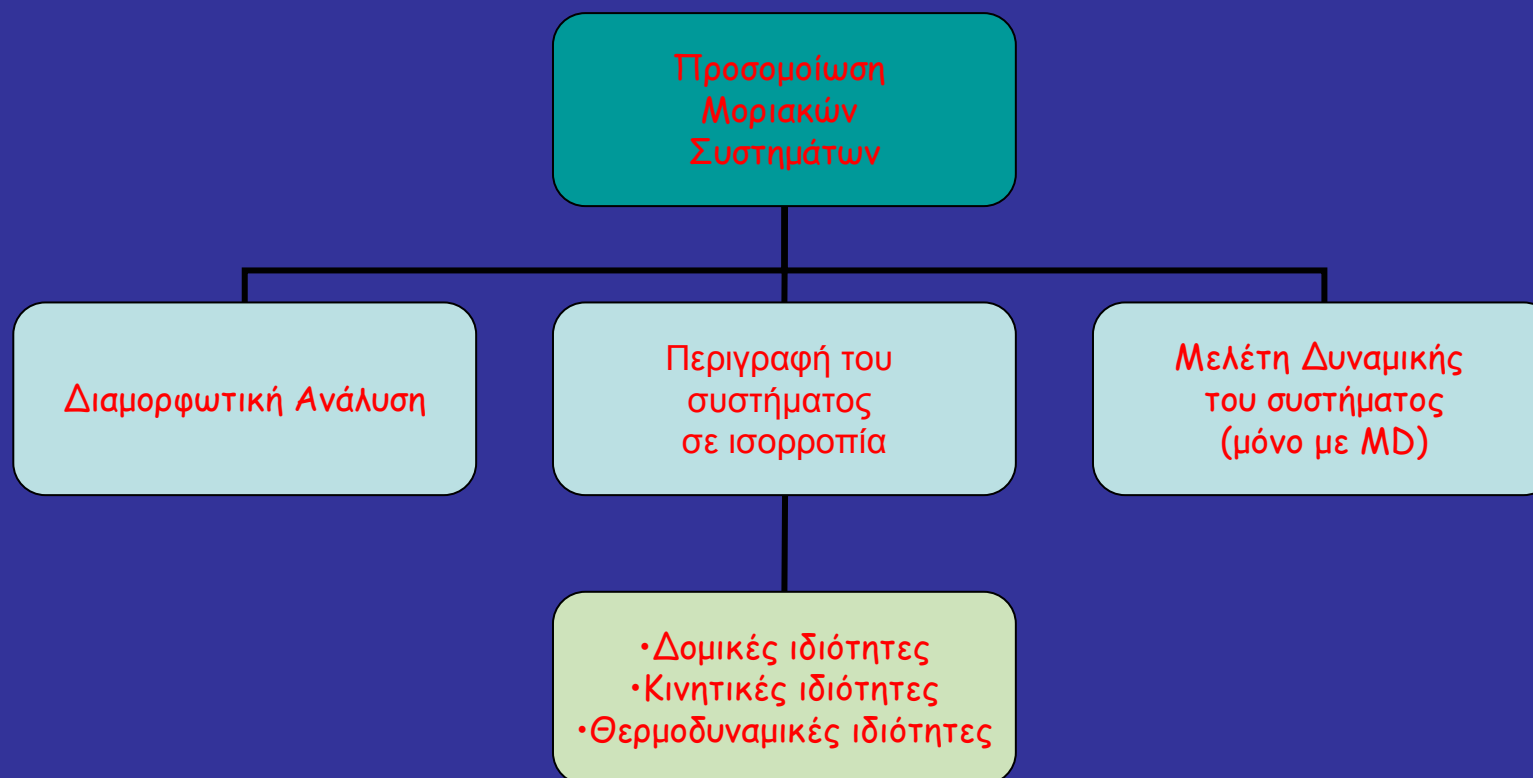
Προσομοίωση σε Η/Υ

Μοριακό σύστημα = Δυναμικό σύστημα

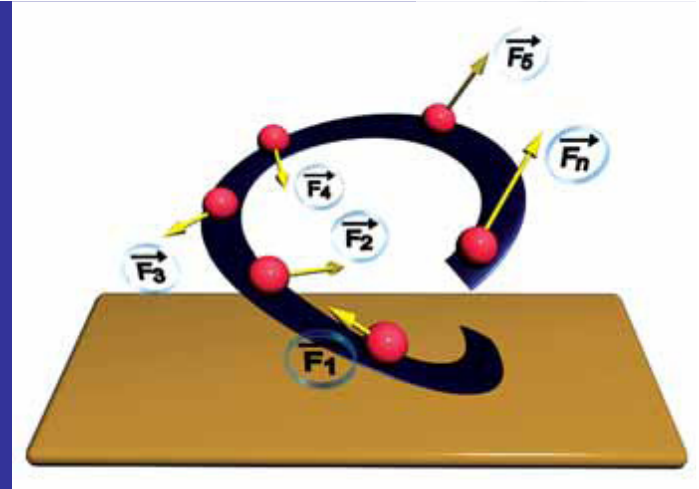
Τεχνικές Προσομοίωσης



Εφαρμογές προσομοίωσης σε Μοριακά Συστήματα



Μοριακή Δυναμική (Molecular Dynamics)

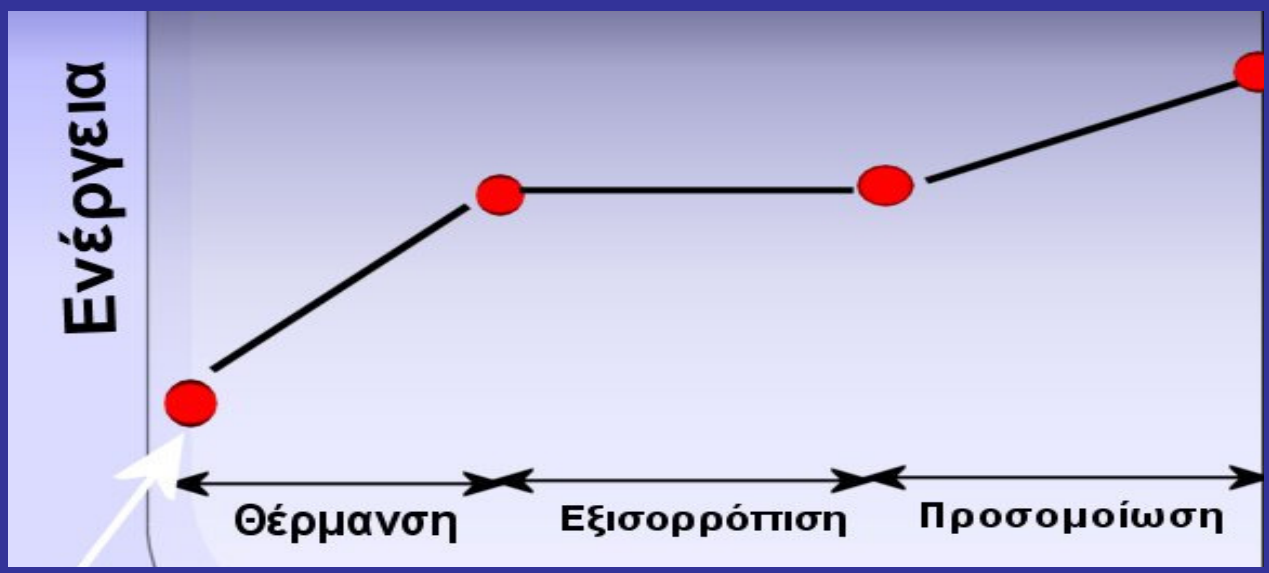


- Προσομοίωση των δυναμικών κινήσεων του μορίου σε σχέση με το χρόνο σε δεδομένη θερμοκρασία
- Αποτελεί μια επέκταση της Μοριακής Μηχανικής
- Γίνεται χρήση πεδίου δυνάμεων για τον προσδιορισμό των δυνάμεων σε κάθε άτομο
- Ακολουθώντας τη μηχανική του Νεύτωνα, υπολογίζεται η επιτάχυνση και η ταχύτητα των ατόμων από τις ασκούμενες δυνάμεις.
(Δύναμη = Μάζα x επιτάχυνση)
- Ολική ενέργεια = Δυναμική + Κινητική

Βασικές αρχές Μοριακής Δυναμικής

- Επιλέγονται οι αρχικές θέσεις (συντεταγμένες) των ατόμων του μοριακού συστήματος. Για πρωτεϊνικά μόρια οι συντεταγμένες συνήθως λαμβάνονται από κρυσταλλογραφικά δεδομένα.
- Επιλέγονται οι αρχικές ταχύτητες των ατόμων. Συνήθως επιλέγονται τιμές που ικανοποιούν την κατανομή Boltzmann σε συγκεκριμένη θερμοκρασία ενώ στη συνέχεια κανονικοποιούνται προκειμένου η συνολική ορμή του συστήματος να είναι μηδέν.
- Υπολογίζεται η ορμή του κάθε ατόμου από την ταχύτητα και τη μάζα του.
- Υπολογίζονται οι δυνάμεις που ασκούνται σε κάθε άτομο ως αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεών του με άλλα άτομα από την εξίσωση της ενέργειας.
- Μετά από Δt (βήμα της προσομοίωσης) υπολογίζονται οι νέες θέσεις των ατόμων στο χώρο.
- Υπολογίζονται οι νέες ταχύτητες και οι επιταχύνσεις των ατόμων.
- Επαναλαμβάνονται τα βήματα ώστε το σύστημα να φτάσει σε ισορροπία.
- Αφού το σύστημα έλθει σε ισορροπία καταγράφονται οι ατομικές συντεταγμένες του συστήματος σε μικρά διαστήματα. (trajectory file)
- Συνεχίζεται η καταγραφή των δεδομένων μέχρις ότου είναι αρκετά για να δώσουν αποτελέσματα με την απαιτούμενη ακρίβεια.
- Αναλύονται τα αρχεία τροχιάς και αντλούνται πληροφορίες για το μοριακό σύστημα.

Μοριακή Δυναμική στον Η/Υ



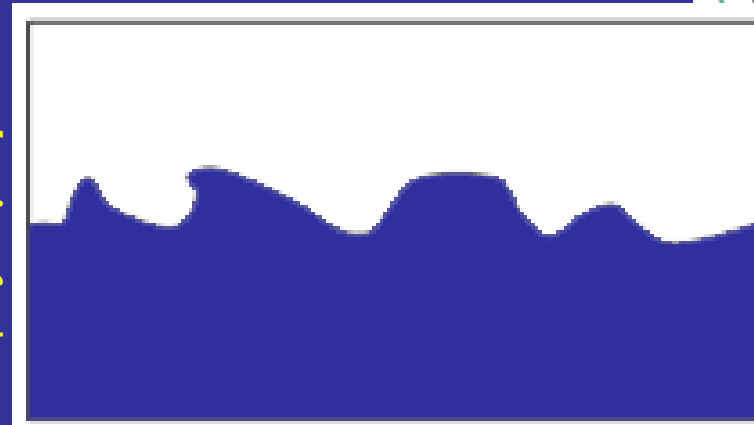
Αρχική Διαμόρφωση

Monte Carlo



Ύψος: 4 μέτρα

Μήκος: 10 μέτρα



Πόση είναι η επιφάνεια που καλύπτει το μπλε?

1. Τυχαία επιλογή μιας θέσης εντός του παραλληλόγραμμου
2. Εάν βρίσκεται εντός της μπλε περιοχής, το σημείο καταγράφεται
3. Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται 10,000 φορές

$$\text{Μπλέ περιοχή} = \frac{\text{Αριθμός μπλε σημείων}}{10000} \times 40 \text{ τμ}^2$$

Monte Carlo

- Έναρξη με διαμόρφωση A (ενέργειας E_A)
- Τυχαία μεταβολή στη διαμόρφωση B (ενέργειας E_B)
- Κίνηση αποδεκτή όταν:
 $E_B < E_A$



Βασικές αρχές προσομοίωσης Monte Carlo

- Επιλέγονται οι αρχικές συντεταγμένες των ατόμων του συστήματος.
- Υπολογίζεται η ενέργεια του συστήματος.
- Επιλέγεται μια τυχαία κίνηση του συστήματος στο χώρο.
- Υπολογίζεται η ενέργεια του συστήματος για τη νέα του διαμόρφωση.
- Ελέγχεται αν θα διατηρηθεί η νέα διαμόρφωση ή θα απορριφθεί και τα άτομα θα επιστρέψουν στις προηγούμενες θέσεις τους. Με τον τρόπο αυτό διασφαλίζεται ότι τα αποτελέσματα αναπαράγουν μια κατανομή Boltzmann.
- Επαναλαμβάνονται τα βήματα 3 έως 5 μέχρι το σύστημα να έρθει σε ισορροπία.
- Συλλέγονται τα δεδομένα κατά τη διάρκεια της επαναληπτικής διαδικασίας για τον υπολογισμό της ζητούμενης ιδιότητας.



Κριτήρια Επιλογής ή Απόρριψης της κίνησης



• Κίνηση αποδεκτή όταν: $E_B < E_A$

• Αν $E_B > E_A$ τότε υπολογίζεται ο συντελεστής Boltzmann της διαφοράς της ενέργειας. $\exp [-(V_{\nu\acute{\epsilon}\alpha}(rN) - V_{\pi\rho\omicron\gamma}(rN)) / kBT]$

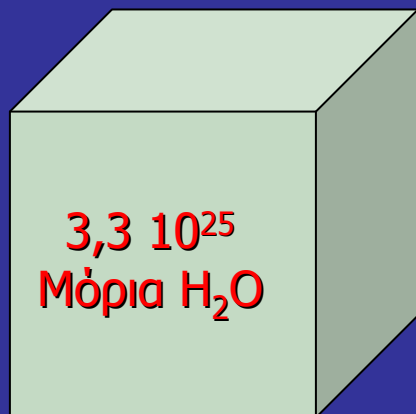
Κατόπιν παράγεται ένας αριθμός X τυχαία μεταξύ του 0 και του 1 και συγκρίνεται με το αποτέλεσμα του συντελεστή Boltzmann.

Εάν $X >$ συντελεστή Boltzmann, η νέα διαμόρφωση απορρίπτεται και ανακτάται η προηγούμενη προκειμένου να χρησιμοποιηθεί για το επόμενο βήμα.

Εάν $X <$ συντελεστή Boltzmann, η νέα διαμόρφωση γίνεται αποδεκτή και το επόμενο βήμα ξεκινά από αυτή.

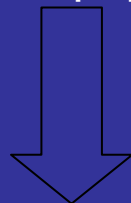
Μέσω της διαδικασίας αυτής επιτρέπεται η κίνηση σε στάθμες υψηλότερης ενέργειας. Όσο μικρότερη είναι η κίνηση προς τις στάθμες αυτές (δηλαδή μικρότερη τιμή της $V_{\nu\acute{\epsilon}\alpha}(rN) - V_{\pi\rho\omicron\gamma}(rN)$), τόσο πιο πιθανή είναι η αποδοχή της κίνησης αυτής και κατά συνέπεια της παραγόμενης διαμόρφωσης.

Προσομοίωση μορίου σε διαλύτη με χρήση περιορισμών (boundaries)



1,5 10⁶
Μόρια στα τοιχώματα

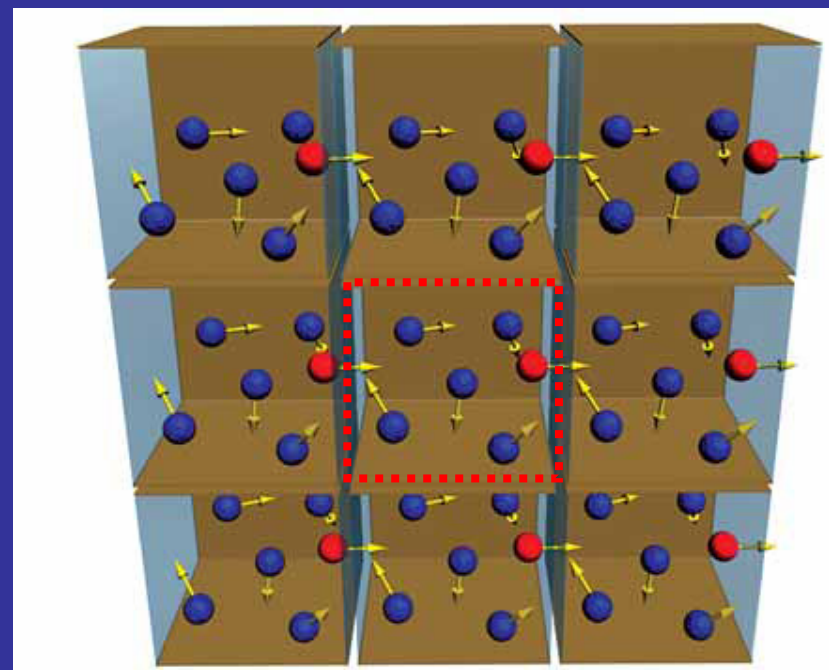
MD – MC
1000 μόρια



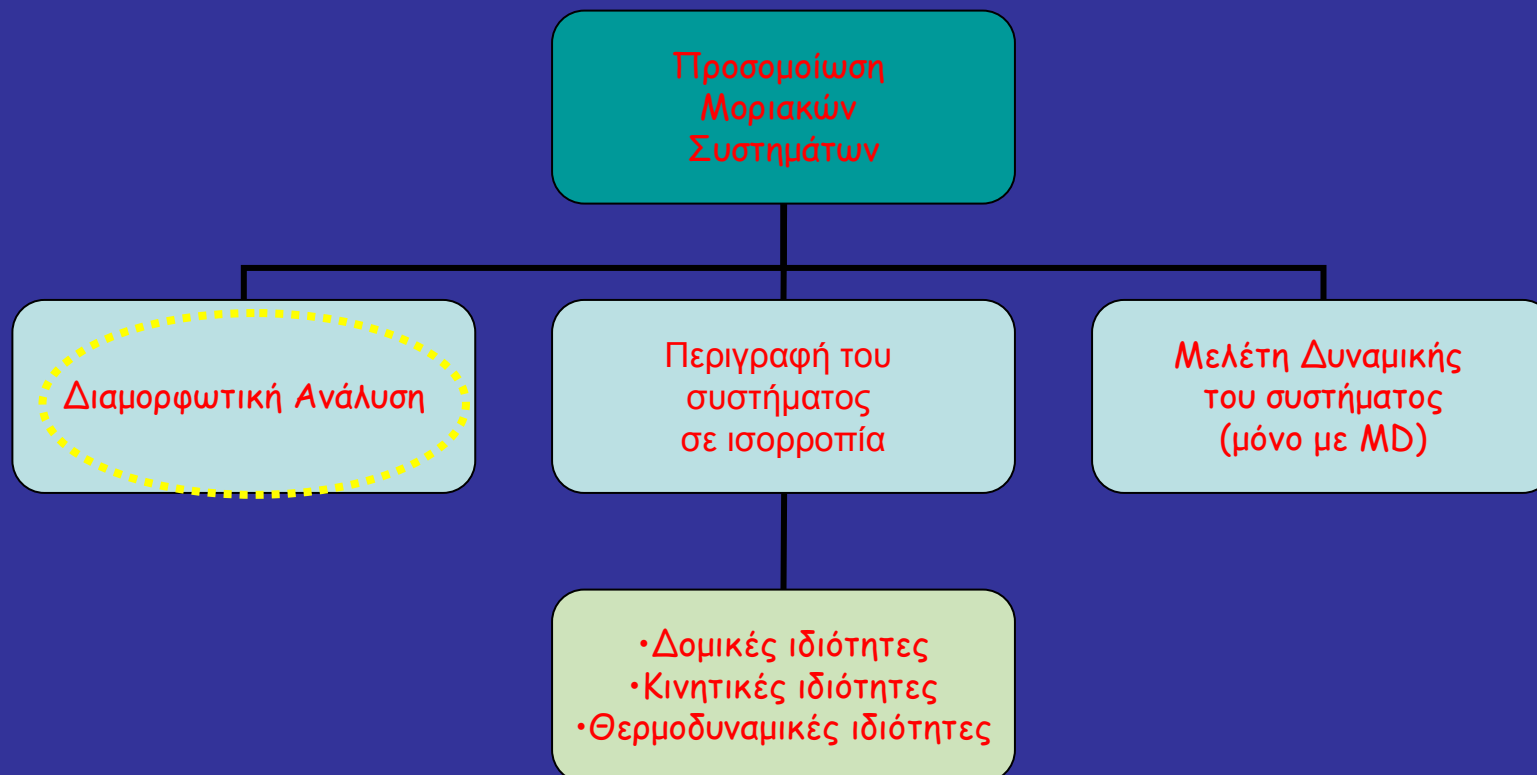
Όλα έχουν επαφή
με τα τοιχώματα



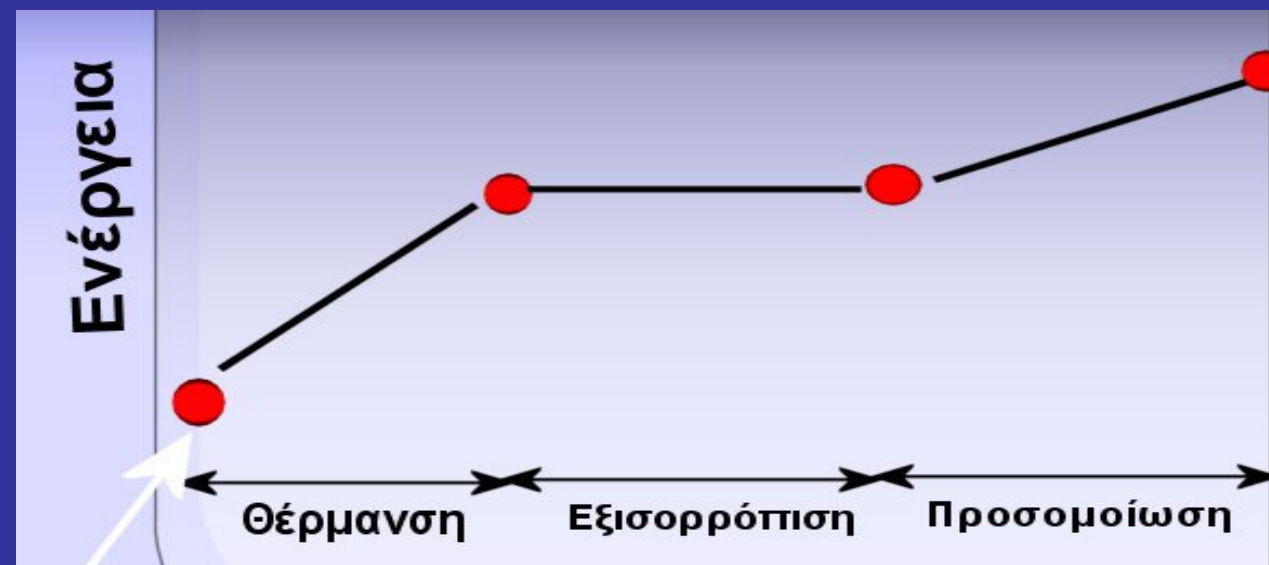
Τιμές των ιδιοτήτων
των μορίων στο εσωτερικό



Συνολικός αριθμός σωματιδίων στο κέντρο ct

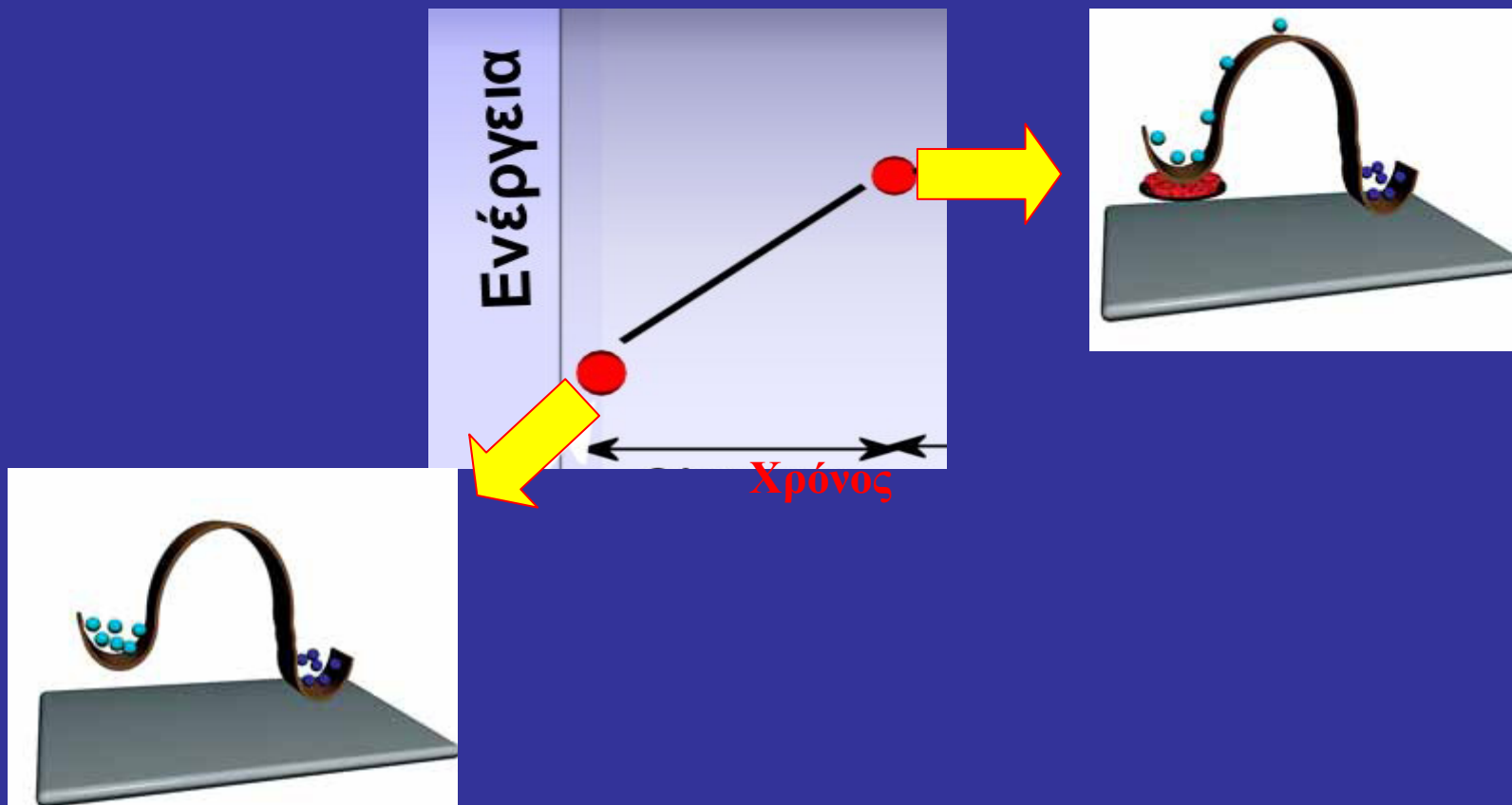


Εφαρμογή της MD σε τρία στάδια



Αρχική Διαμόρφωση

1^ο ΒΗΜΑ: ΘΕΡΜΑΝΣΗ





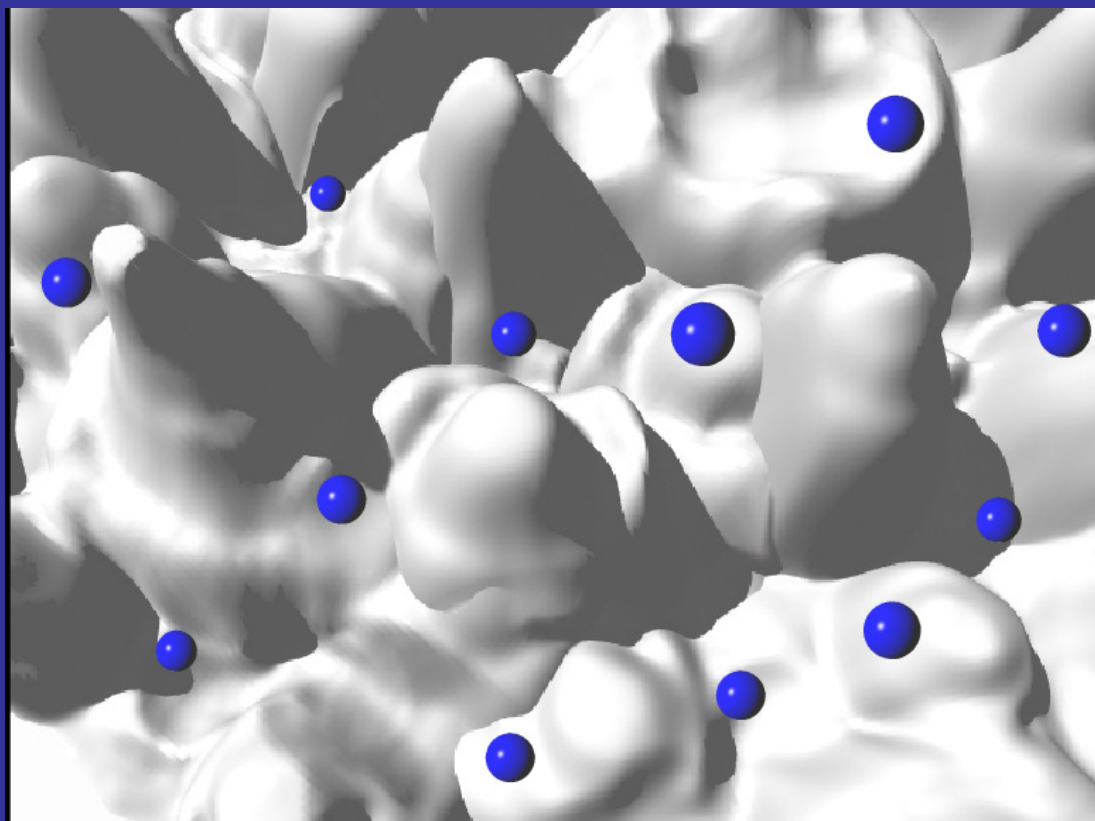
2^ο ΒΗΜΑ: ΕΞΙΣΟΡΡΟΠΙΣΗ



3^ο ΒΗΜΑ: ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ

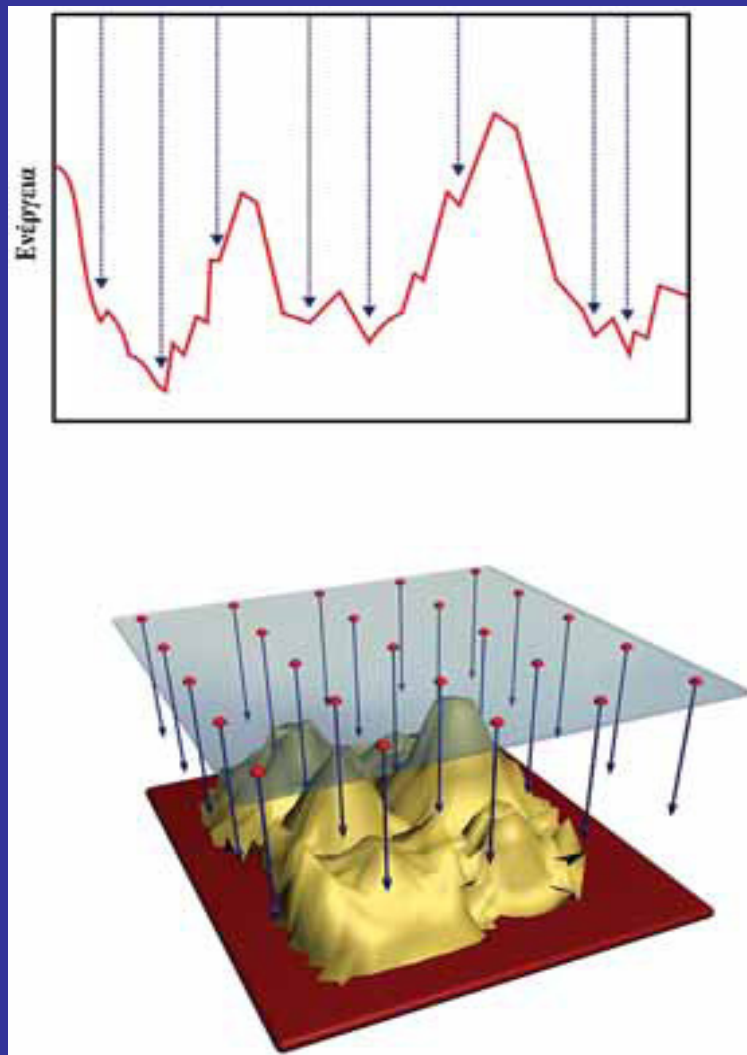
4^ο ΒΗΜΑ: ????

Διαμορφώσεις στο αρχείο τροχιάς

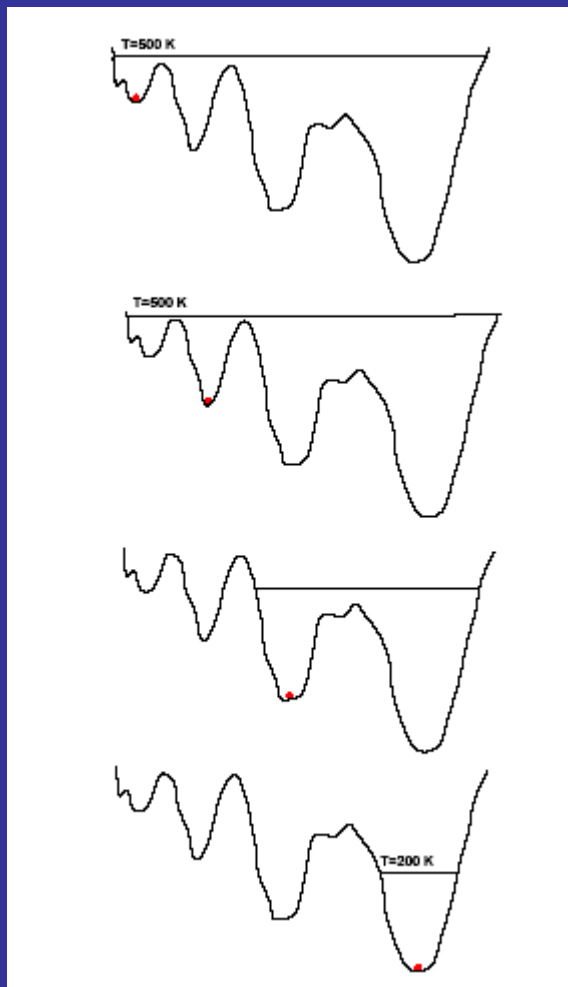




Εύρεση τοπικών ενεργειακών ελαχίστων με χρήση Μοριακής Δυναμικής



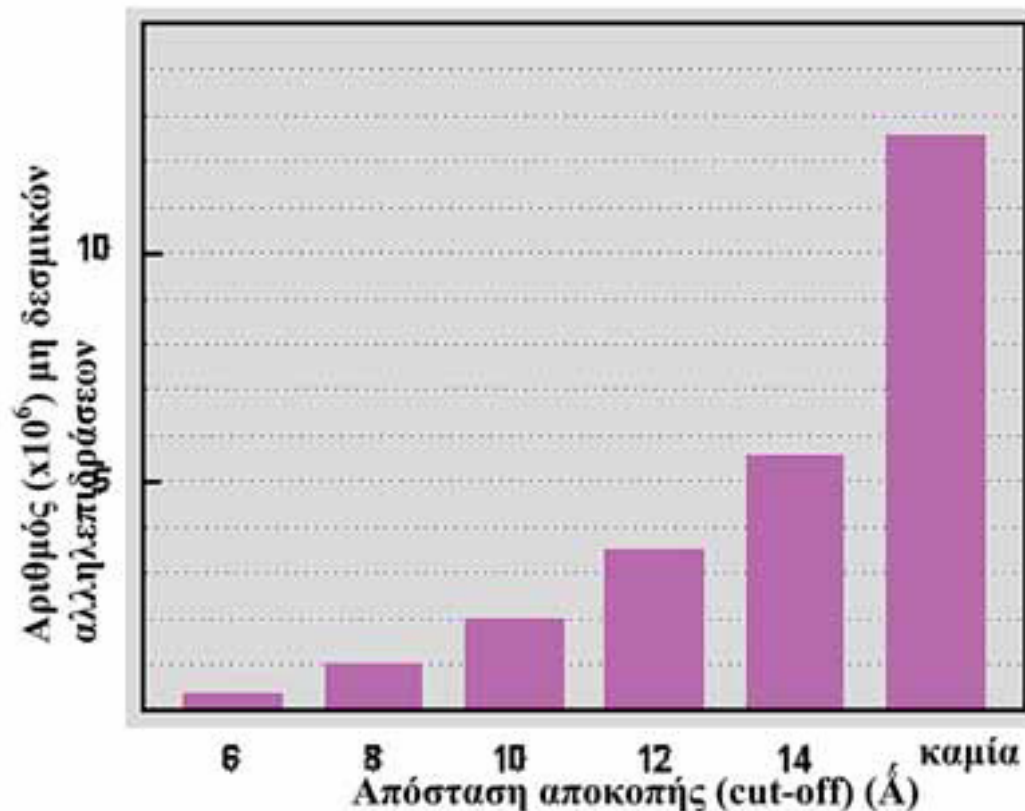
Simulated Annealing (SA)



↓
ψύξη

Εύρεση ενεργειακού ελαχίστου
με ελάττωση της θερμοκρασίας
κατά την προσομοίωση Monte Carlo ή MD

Αποκοπή μη-δεσμικών αλληλεπιδράσεων



Πληροφορίες από τη ΜΔ

- Ολική Ενέργεια (Δυναμική και Κινητική)
- Θερμοκρασία
- Διεδρες γωνίες
- Ενδομοριακές Αποστάσεις

