



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΦΑΡΜΑΚΩΝ



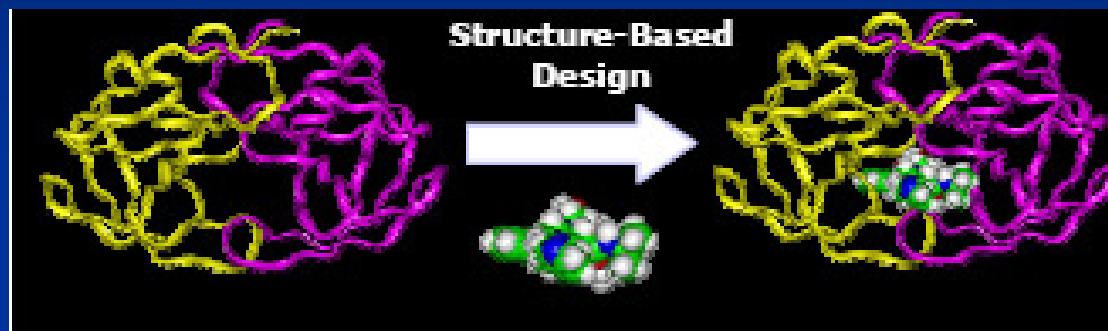
ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ & ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ



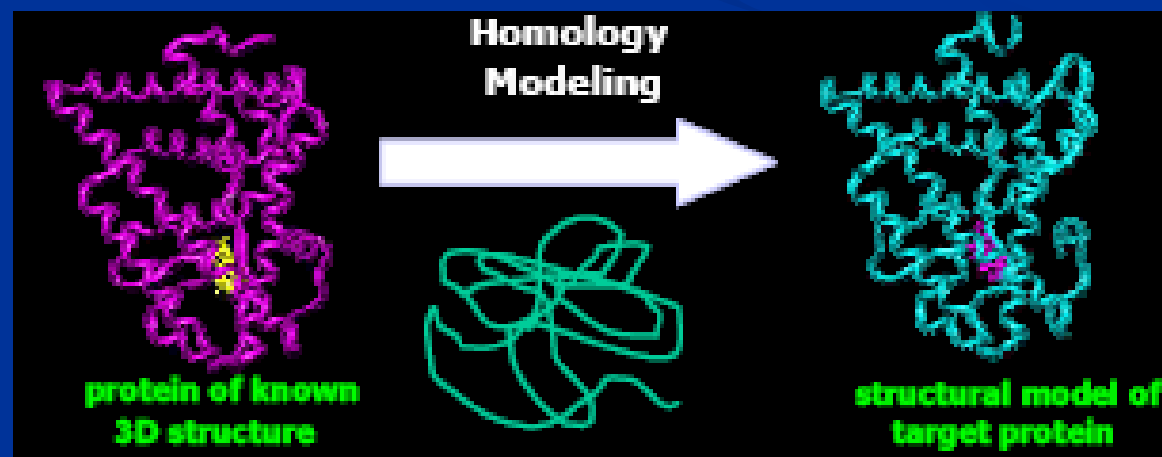
WORKSHOP ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ
ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Βασικές στρατηγικές Στο σχεδιασμό νέων φαρμακευτικών μορίων

- Η 3D δομή του υποδοχέα είναι γνωστή



- Η 3D δομή του υποδοχέα ΔΕΝ είναι γνωστή



- Η 3D δομή του υποδοχέα ΔΕΝ είναι γνωστή και δεν μπορεί να προκύψει με άλλον τρόπο
- Έχει συντεθεί και αποτιμηθεί βιολογικά μεγάλος αριθμός αναλόγων μορίων

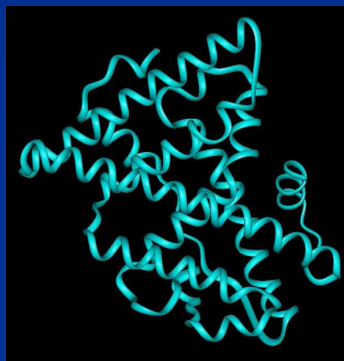
Q S A R



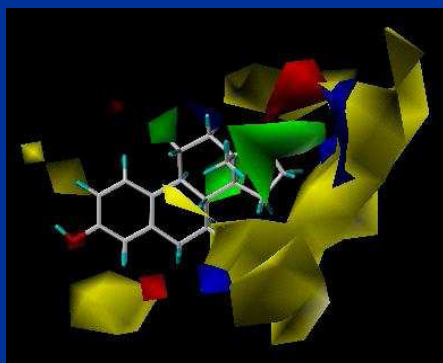
Ποσοτικές μελέτες συσχέτισης
Δομής-Δράσης

□ Συνδυαστική Προσέγγιση

Σχεδιασμός βασιζόμενος στη
διαμόρφωση του υποδοχέα



Σχεδιασμός βασιζόμενος στη
Συσχέτιση δομής-δράσης

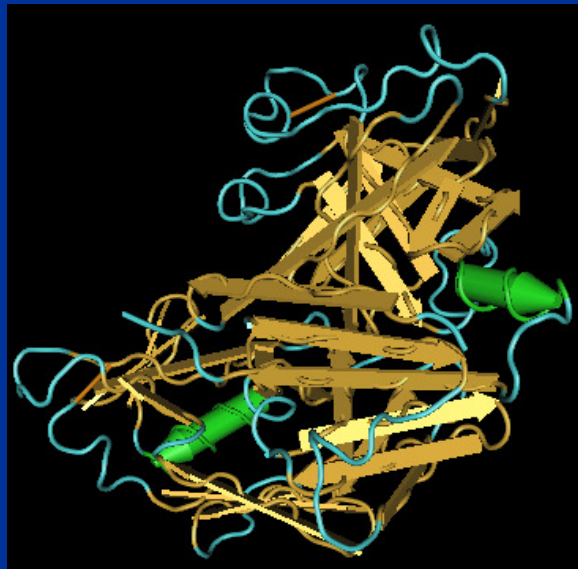




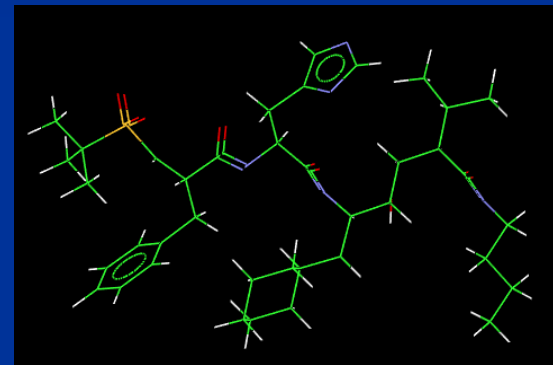
In silico Molecular Docking - Προσομοίωση Μοριακής Πρόσδεσης



- Πρόκειται για μια υπολογιστική μέθοδο, με την οποία προσπαθούμε να βρούμε τον τρόπο με τον οποίο αλληλεπιδρούν δύο βιολογικά μόρια χρησιμοποιώντας αρχικά ως δεδομένα τις συντεταγμένες των δύο μορίων



Υποδοχέας (πρωτεΐνη)
(Receptor)



Μόριο Προσδέτης
(Ligand)



Molecular Docking

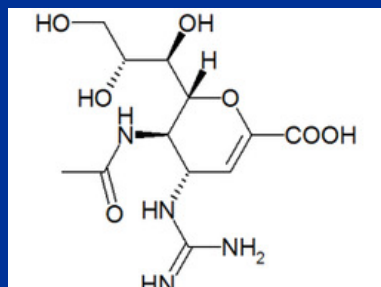
Τα δύο μόρια που αλληλεπιδρούν (υποδοχέας ή ένζυμο-προσδέτης)
μπορούν να είναι:

- δύο πρωτεΐνες
- μια πρωτεΐνη και ένα μικρότερο μόριο

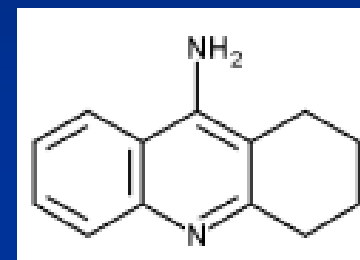
□ Δομές υποδοχέα - προσδέτη :

- X-ray (PDB : 20946 αρχεία)
- NMR
- Resolution $< 2.5 \text{ \AA}$

Παραδείγματα φαρμάκων που αναπτύχθηκαν με τη βοήθεια των Υπολογιστικών μεθόδων

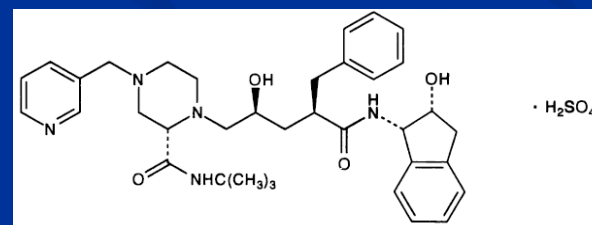


➤ **Tacrine** (Alzheimer)



➤ **Relenza** (Γρίπη)

➤ **Invirase, Norvir, Crixivan** (HIV αναστολείς)



Απαντήσεις που μπορούν να εξαχθούν:

- Αλληλεπιδρούν τα δύο μόρια μεταξύ τους ; (Υποδοχέας - Φ Μ)
- Αν ΝΑΙ. Πως ;
- Ποιες είναι οι κρίσιμες αλληλεπιδράσεις για τη δραστικότητα;
- Πόση είναι η ενέργεια πρόσδεσης;
- Ποιες οι διαφορές στη διαμόρφωση του προσδέτη (διάλυμα-υποδοχέα)

Ο σκοπός είναι :

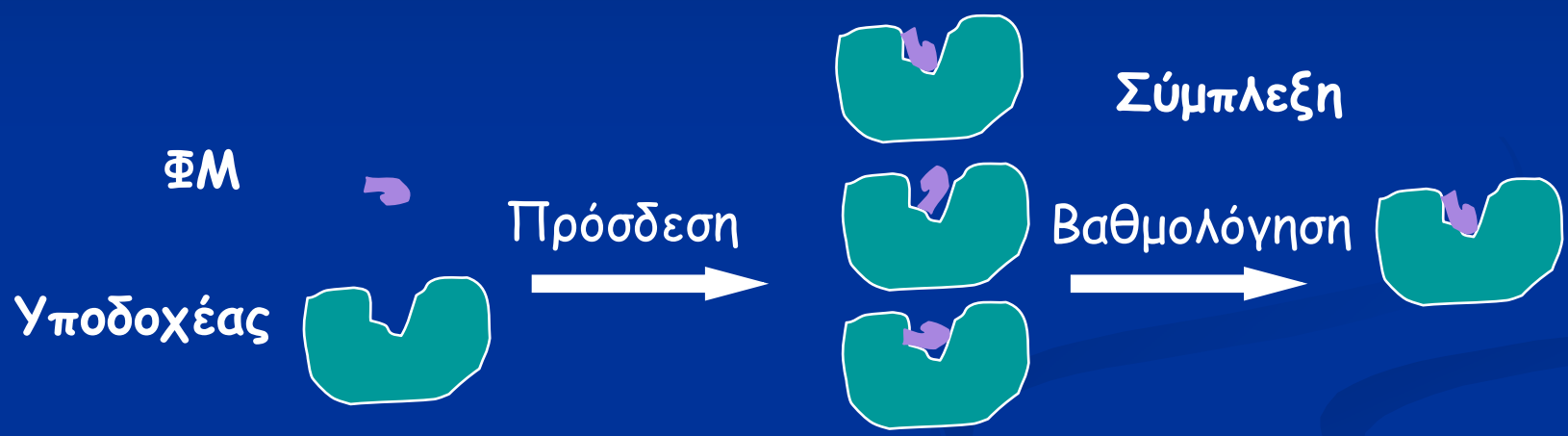
- Κατανόηση της μοριακής βάσης της πρόσδεσης
- Τροποποιήσεις των μορίων που έχουν ήδη συντεθεί
- Σχεδιασμός νέων μορίων οδηγών



Μοριακή Πρόσδεση

- Τοποθέτηση (μικρού σε μέγεθος) φαρμακευτικού μορίου (ΦΜ) στο ενεργό κέντρο ενός υποδοχέα με τον κατάλληλο τρόπο ώστε να επιτυγχάνονται οι μέγιστες αλληλεπιδράσεις.
- Βαθμολόγηση της Πρόσδεσης

Τα τρία χαρακτηριστικά της πρόσδεσης



Λογισμικά Πρόσδεσης

Διαμορφωτική Ευκαμψία

Μέθοδος Πρόσδεσης

Μέθοδος Βαθμολόγησης
της Πρόσδεσης

Rigid vs Flexible Docking

Αυξανόμενη δυσκολία

- Άκαμπτος υποδοχέας + Άκαμπτος προσδέτης
Κλειδί - κλειδαριά
- Άκαμπτος υποδοχέας + Ευέλικτος προσδέτης
- Ευέλικτος υποδοχέας + Άκαμπτος προσδέτης
- Ευέλικτος υποδοχέας + Ευέλικτος προσδέτης

Χρησιμοποιούμενες
Τεχνικές



Rigid vs Flexible Docking



- Πρόσδεση = Δυναμική Διαδικασία -- Διαμορφωτικές αλλαγές
- Συνήθως οι διαμορφωτικές αλλαγές είναι μικρές $RMSD = 1-2 \text{ \AA}$, υπάρχουν όμως εξαιρέσεις με μεγαλύτερες διαμορφωτικές αλλαγές
- Εφαρμογή πλήρους ευελιξίας στον υποδοχέα είναι ανέφικτη, ΤΙΣ περισσότερες περιπτώσεις και άσκοπη.



Λογισμικά Πρόσδεσης



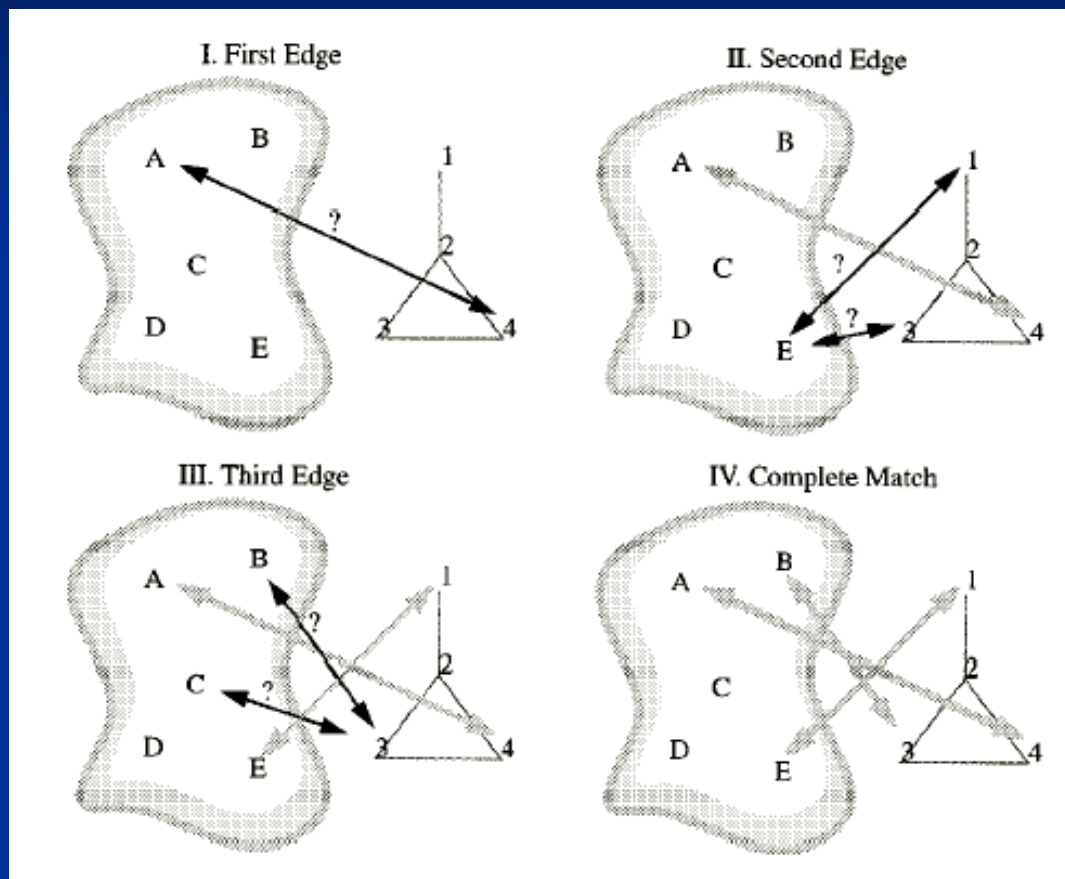
- DOCK
 - Tak Kuntz's group at UCSF
 - Οι τελευταίες εκδόσεις επιτρέπουν την ευελιξία του προσδέτη

- GOLD
 - Sheffield University, distributed by CCDC
 - Ευελιξία προσδέτη εν μέρη του υποδοχέα

- FLEXX / AUTODOCK
 - Tripos
 - Ευελιξία προσδέτη

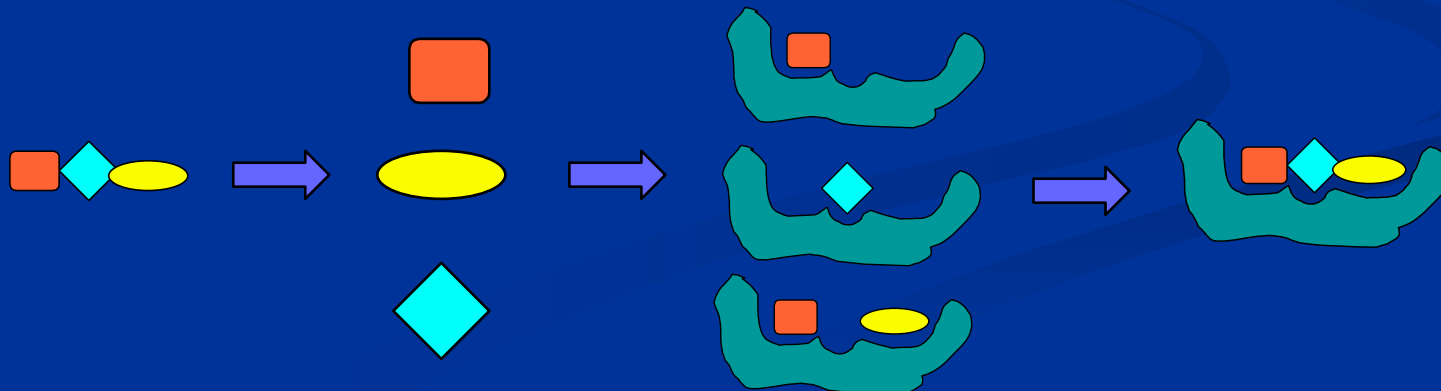
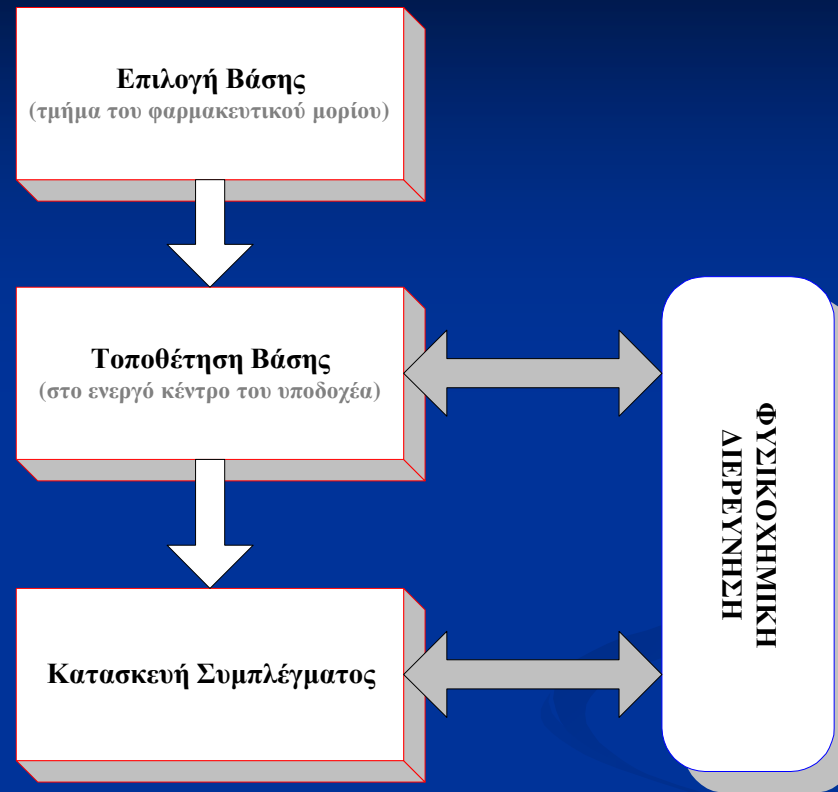
- MC Prodock
 - Ευελιξία προσδέτη / ευελιξία υποδοχέα

Λογισμικό DOCK



(Ewing and Kuntz 1997):

Λογισμικό FlexX





Γενετικοί Αλγόριθμοι (GA) :

Τι είναι ;

- Αλγόριθμοι επίλυσης προβλημάτων που βασίζονται στις αρχές της Βιολογικής Εξέλιξης



Οι βασικές αναλογίες :

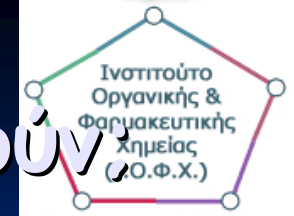


► Πραγματική Βιολογία :

- **Γενετική**: εφαρμοζόμενη σε πληθυσμούς χρωμοσωμάτων
- **Χρωμοσώματα**: αντιπροσωπεύουν πληθυσμούς οργανισμών
- **Πληθυσμοί**: ανταγωνίζονται για να επιβιώσουν

► Τεχνητή Βιολογία :

- **Γενετική**: εφαρμοζόμενη σε εικονικούς πληθυσμούς
- **Χρωμοσώματα**: αντιπροσωπεύουν πληθυσμούς λύσεων
- **Πληθυσμοί λύσεων**: επιλέγονται για να ικανοποιήσουν τους σκοπούς του χρήστη (βελτιστοποίηση μιας διαδικασίας)

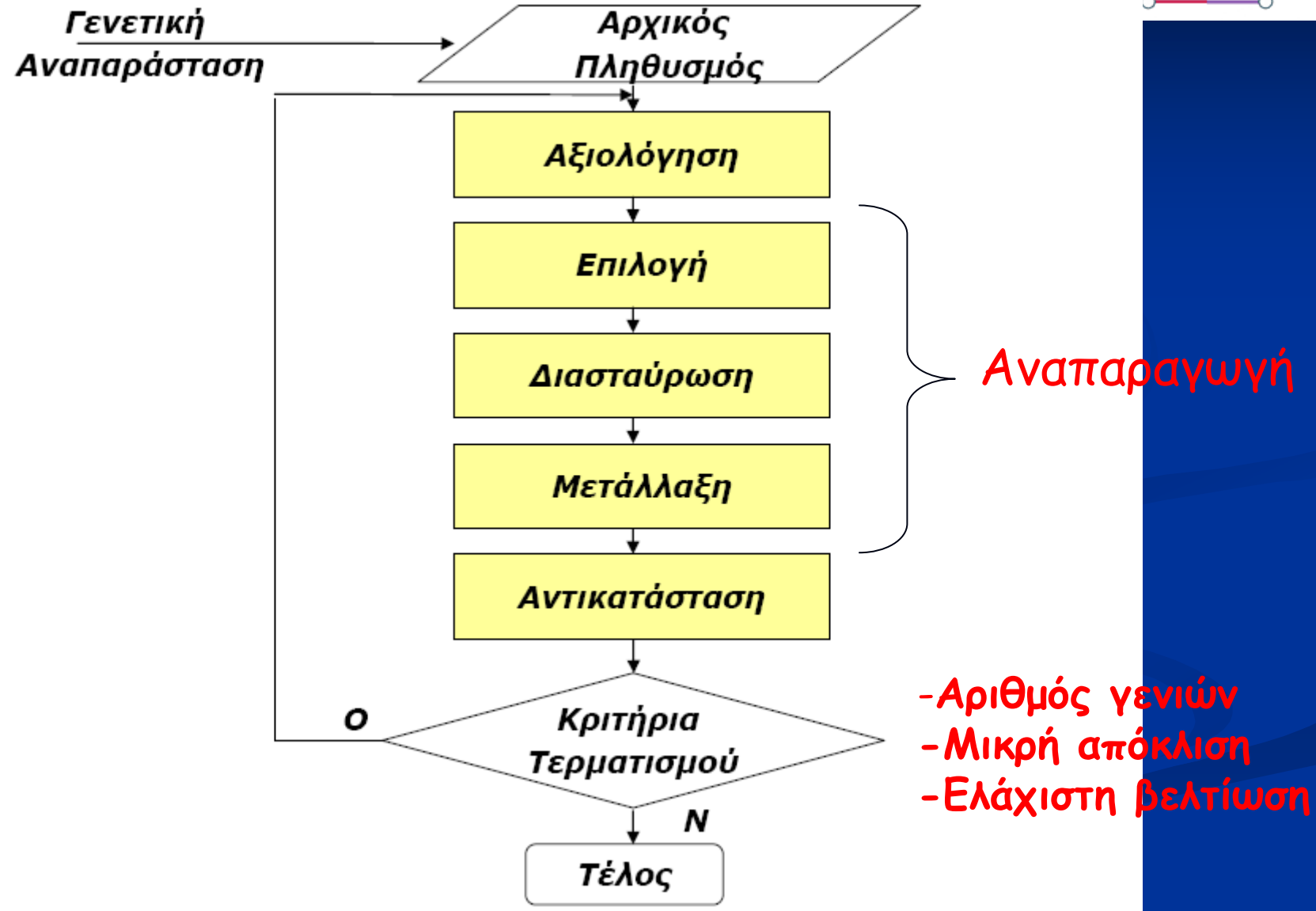


Γενετικοί αλγόριθμοι: Πώς λειτουργούν;

- Διατηρούν έναν πληθυσμό κωδικοποιημένων πιθανών λύσεων
- Εξελίσσουν τον πληθυσμό εφαρμόζοντας σ αυτόν διάφορες γενετικές διαδικασίες:
 - Διαδικασίες επιλογής,
 - Διαδικασίες αναπαραγωγής,
 - Διαδικασίες μετάλλαξης.
- Δημιουργούν νέο πληθυσμό που αντικαθιστά τον προηγούμενο.
- Επαναλαμβάνουν τη διαδικασία έως ότου «βρουν λύση».

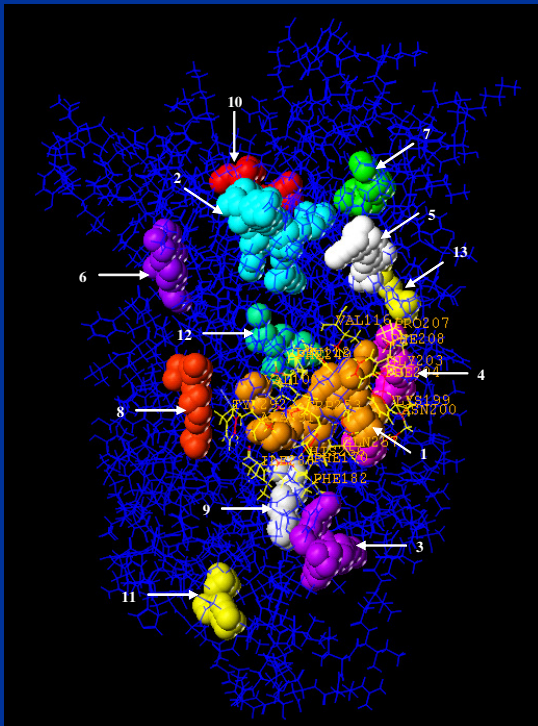
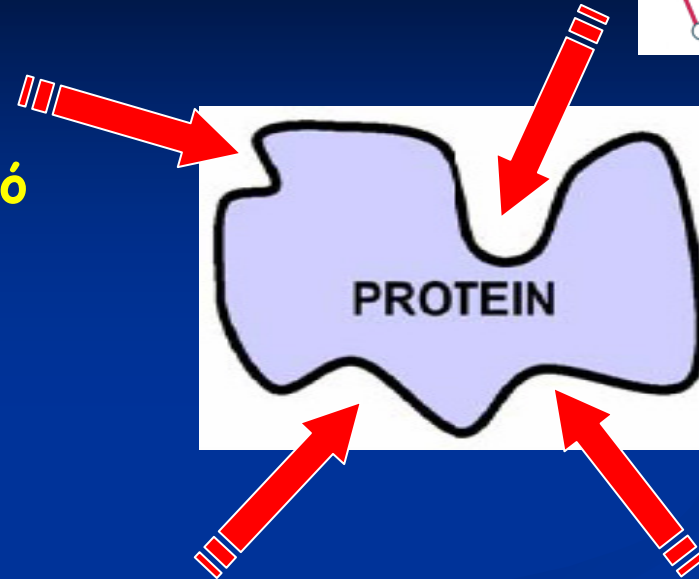


Διάγραμμα ροής



Πιθανά σενάρια μιας μελέτης

- Το ενεργό κέντρο δεν είναι γνωστό



- ◆ Κρυσταλλογραφικά δεδομένα (Protein Data Bank)
- ◆ In vitro μελέτες μεταλλάξεων
- ◆ Κατάλληλα λογισμικά (SiteID)

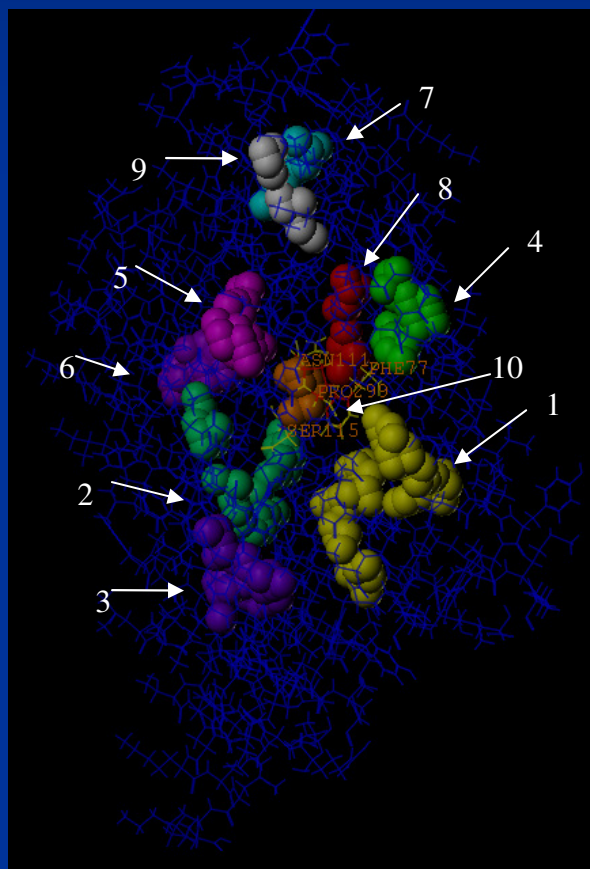


Χαρτογράφηση των ενεργών κέντρων του υποδοχέα

Μέθοδος	Λογισμικό
<i>Επιδιαλύτωσης</i>	DynaPharm MOLCAD PASS (Putative Active Site with Spheres) SiteID
<i>Πλέγματος</i>	Cerius-LigandFit LigSite (Ligand Site) Site Finder SiteID
<i>Ψευδο-υποδοχέα</i>	Cerius-Receptor GERM (Genetically Evolved Receptor Models) HASL (Hypothetical Active Site Lattice) PARM (Pseudoatomic Receptor Model) Quasi-atomistic receptor surface models

- Αναγνώριση περιοχών με δυνατότητα σχηματισμού δεσμών H
- Υπολογισμός επιφάνειας επαφής του μορίου με το ενεργό κέντρο του υποδοχέα.
- Υπολογισμός του όγκου και του βάθους της κοιλότητας ή της σχισμής των τμημάτων πρόσδεσης
- Απεικόνιση των τμημάτων πρόσδεσης στο χώρο

Παραγόμενες θήκες πρόσδεσης



Αριθμός θήκης	Χρώμα θήκης	Σφαίρες δ/τη	AA στε 3 Å	AA στε 4 Å
1	Κίτρινο	55	Κανένα	Leu300
2	Πρασινομπλε	37	Κανένα	Κανένα
3	Μοβ	36	Κανένα	Κανένα
4	Πράσινο	23	Κανένα	Leu300
5	Ματζέντα	22	Asn295	His256, Phe301, Asn295
6	Βιολετί	18	Κανένα	Lys199
7	Κυανό	13	Κανένα	Κανένα
8	Κόκκινο	13	Asn111	Asn111
9	Λευκό	12	Κανένα	Κανένα
10	Πορτοκαλί	10	Asn111	Asn111, Asn295, His256

Θήκες πρόσδεσης

