



DOCKING MOLECULAR. PREDICCIÓN DE INTERACCIONES INTERMOLECULARES.

Dr. Alexis Salas Burgos
Departamento de Farmacología
Universidad de Concepción

v 2.0



Capítulo 1:

Biofísica de las Interacciones Proteína Ligando

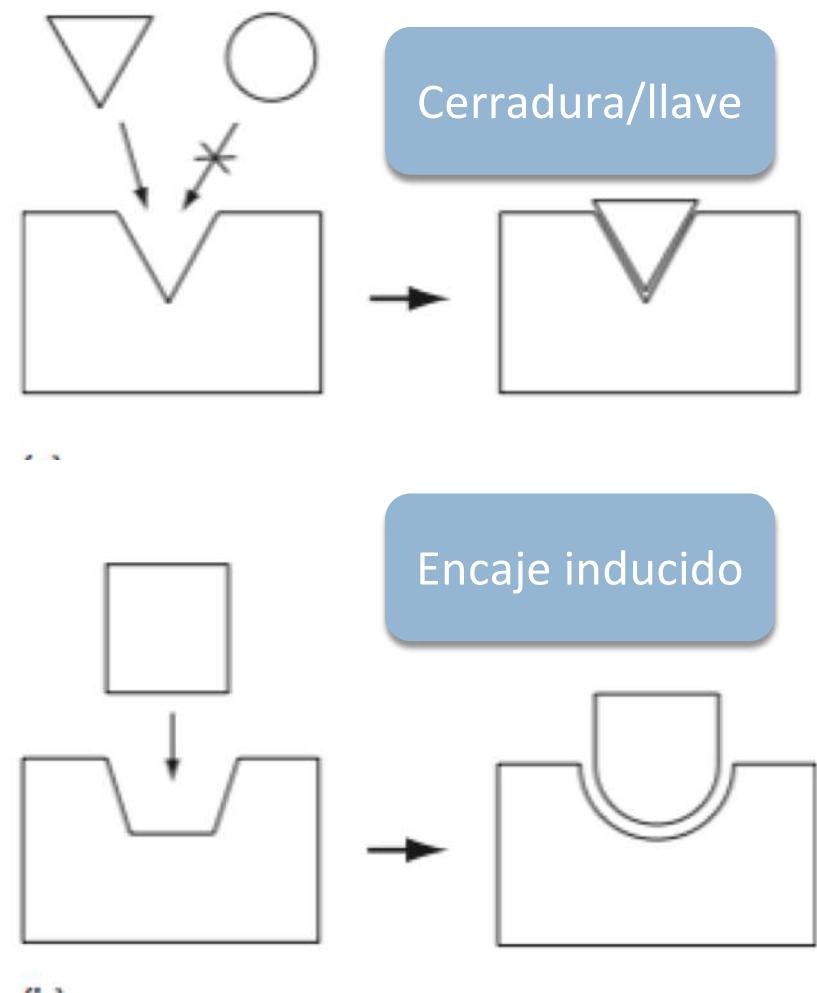
¿Cómo los fármacos trabajan?

- **Antibióticos y antivirales** son venenos específicos, ellos necesitan eliminar a un agente patogénico sin afectar al paciente, generalmente estas bloquean maquinaria necesaria para la sobrevivencia o multiplicación del agente:
 1. D-alanil-D-alanina carboxypeptidase con penicilina (1pwc).
 2. Proteasa del VIH con saquinavir (1hxb).
- **Quimioterapia contra el cáncer**, células cancerígenas crecen descontroladamente y losfármacos van dirigidos contra blancos que actúan en célula creciendo activamente como bleomicina, que actúa clivando la cadena de ADN y paclitaxel (Taxol) que se une a tubulina.
 3. DNA con bleomicina (1mxk).
 4. Tubulin con taxol (1jff).
- **Efecto sobre proteínas de señalización.** Loratadina (Claritin) es usada para el tratamiento de alergias debido a que bloquea el receptor de histamina; losartan (Cozaar) es usado para el tratamiento de la alta presión sanguínea, debido a que bloquea el receptor de angiotensina II; y carazolol es uno de los bloqueadores beta que se une al receptor adrenérgico. Aspirina bloquea el dolor inhibiendo la enzima COX, que media la liberación de moléculas de prostaglandinas.
 5. Receptor adrenérgico con carazolol (2rh1).
 6. Prostaglandina H2 sintasa con aspirina (1pth).
- **Estilo de vida.** El orlistat (Xenical o alli) bloquea la acción de la lipasa pancreática, entonces reduce la cantidad de grasa absorbida desde la comida. La atorvastatina (Lipitor) y simvastatina (Zocor) bajan el colesterol por bloqueo de la acción de la reductasa de HMG-CoA.
 7. Lipasa Pancreática con un inhibidor (similar a orlistat) (1lpb).
 8. Reductasa de HMG-CoA con atorvastatina (1hwk).
- **Metabolismo de drogas.** Enzimas como el citocromo P450 continuamente buscan drogas y las destruyen. Esto es importante para evitar intoxicações de la dieta, medioambiente o medicación.
 9. Citocromo P450 3A4 con eritromicina (2j0d).



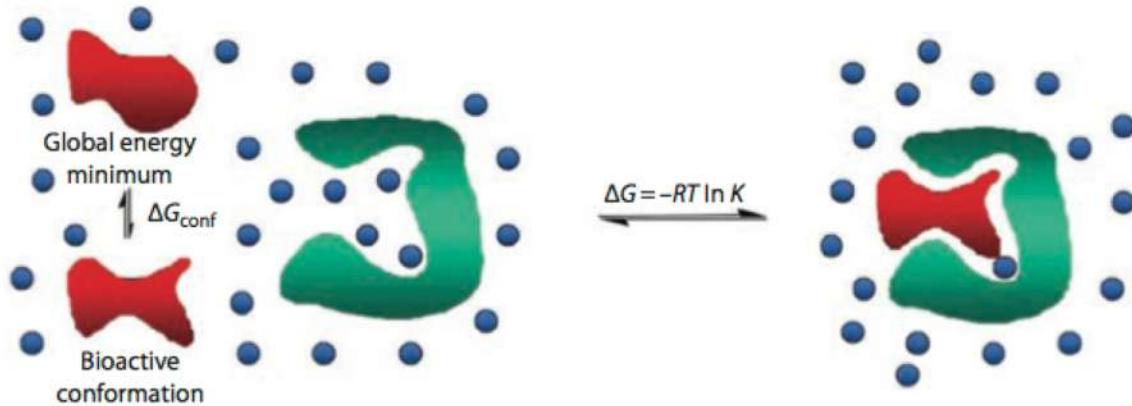
Hipótesis de interacciones proteína ligando

- Hipótesis de la “cerradura y llave” por Emil Fischer (1894).
- Hipótesis de “encaje inducido” por Koshland (1958).
- Complejo unido no covalentemente.



Afinidad del ligando

- La afinidad de un ligando esta determinada por la diferencia de energía libre: ΔG .
- La afinidad es medida en diseño de fármacos como una constante de inhibición (K_i) o por un valor de concentración inhibitoria que desplaza al 50% del ligando unido (IC_{50}).
- Los valores se encuentran generalmente en el orden de μM o nM , lo que produce valores de ΔG cada vez más negativos.



$$\Delta G = RT \ln K_i$$

Ki de 1 nM produce ΔG -53.4 kJ/mol
Ki de 1 μM produce ΔG -35.6 kJ/mol
 ΔG de 5.9 kJ/mol altera Ki por un factor de 10

310K

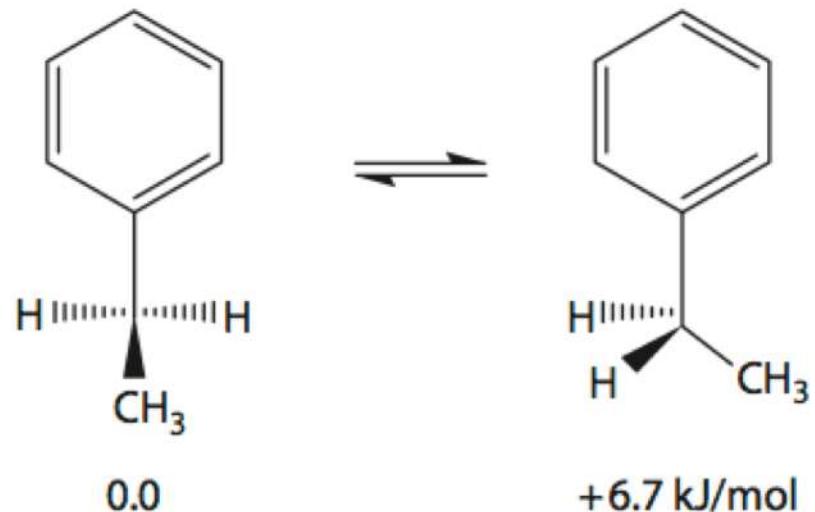
$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Cheng–Prusoff

$$K_i = \frac{IC_{50}}{\left(1 + \frac{[L]}{K_D}\right)}$$

L: Concentración radio ligando
KD: Constante de disociación radio ligando

Cambio de Energía



Cambios sutiles en los ligandos pueden producir grandes variaciones de energía libre.

Componentes de ΔG

$$\Delta G = \Delta G_{\text{transl+rot}} + \Delta G_{\text{conf}} + \Delta G_{\text{polar}} + \Delta G_{\text{hidrofob}} + \Delta G_{\text{vdW}}$$

$\Delta G_{\text{transl+rot}}$: “La inmovilización global de las moléculas”. Cambio de energía utilizado al perder los grados de libertad del ligando, no depende de la naturaleza del ligando. Es de 12kJ/mol para un complejo débil hasta 45kJ/mol para un complejo fuerte.

ΔG_{conf} : “Cambios conformacionales del ligando y el receptor”. Cambio de energía utilizado al perder la flexibilidad el ligando o la proteína. Se estima de 1–6kJ/mol.

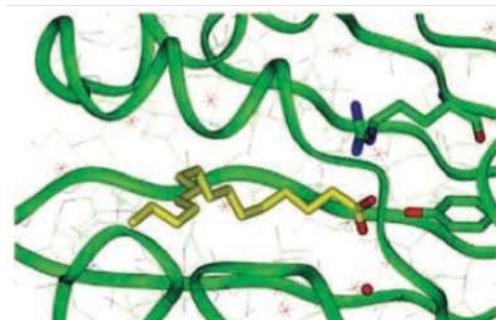
ΔG_{polar} : “Interacciones electrostáticas y puente hidrógenos”. Cambio de energía debido a interacciones entre grupos funcionales polares. Frecuentemente también se observan interacciones mediadas por moléculas de agua.

$\Delta G_{\text{hidrofob}}$: “El efecto hidrofóbico”. Es la energía de transferencia una molécula o grupo no polar desde el agua a una fase orgánica. La energía depende del área de la superficie hidrofóbica y puede ir desde 0.1 hasta 0.24kJ/Å² mol.

ΔG_{vdW} : “Interacciones atractivas y repulsivas de vdW”. Es la energía de interacción no polar dependiente de la distancia de interacción, donde a corta distancia es repulsiva por el solapamiento de las nubes electrónicas y es responsable de la baja en afinidad de moléculas con solapamientos de los radios de vdW. A mayor distancia la interacción es de estabilización con baja energía de 0.2 kJ/mol, pero el número de interacciones por molécula puede llegar a ser alto convirtiendo a este componente de la energía en un valor significativo.

ΔG_{conf}

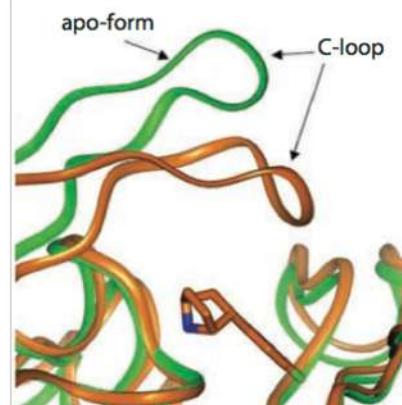
Cambios en el ligando



Bioactiva conf. +10.5 kJ/mol

1LIE

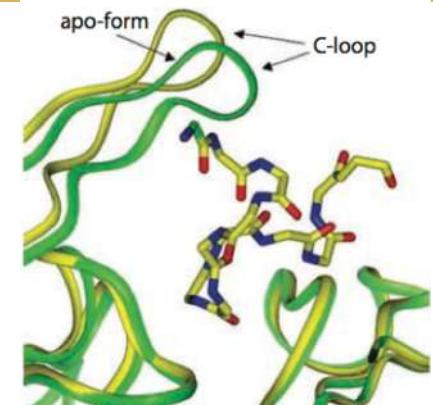
Cambios en la proteína



Epibatidina
enlazada a
AChBP.

2BYQ

2BYN



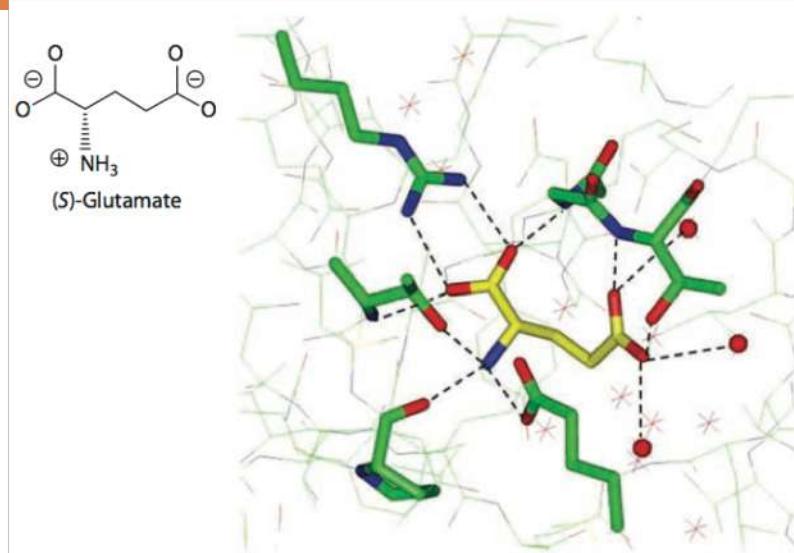
α -conotoxina
Iml
enlazada a
AChBP.

2BYP

2BYN

ΔG_{polar}

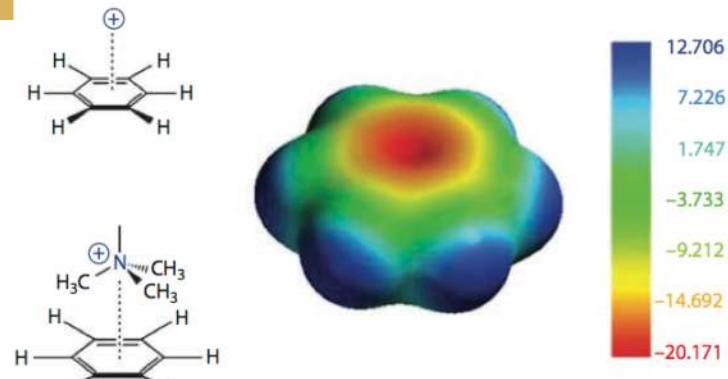
Puentes Hidrógeno



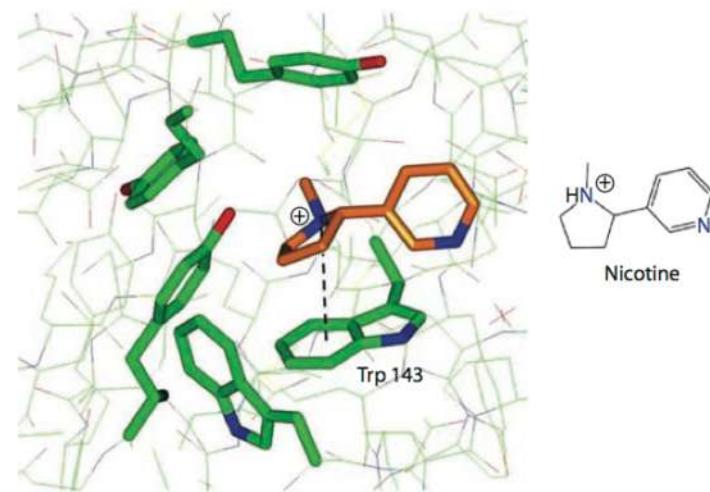
(S)-Glutamato
unido a
iGluR.

1FTJ

Pi-Pi /Catión-Pi

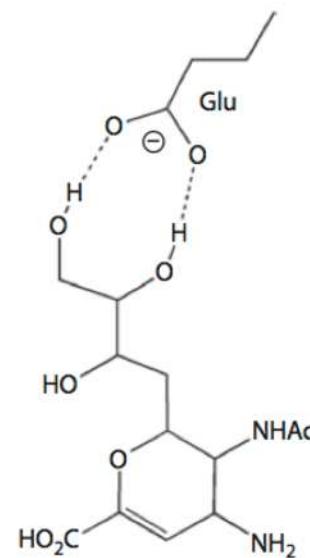
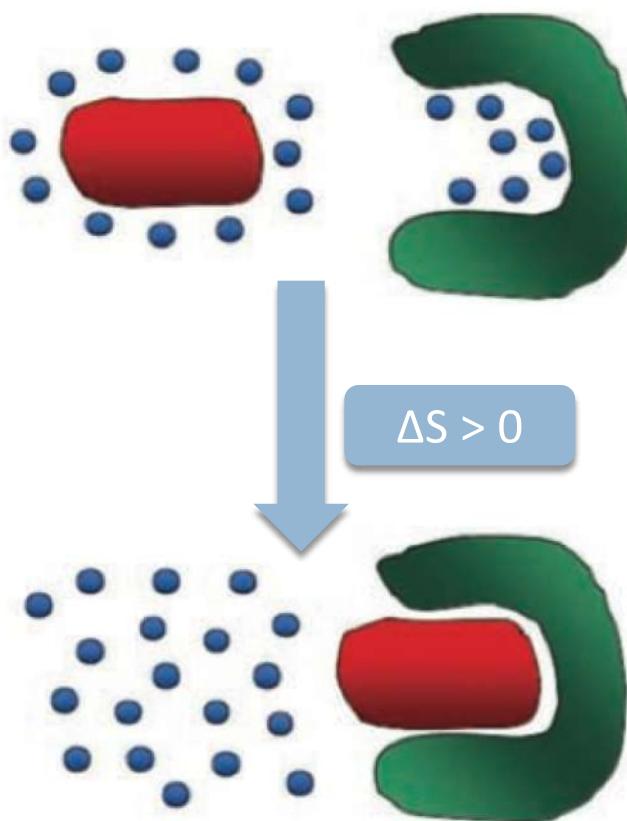


Potencial electrostático

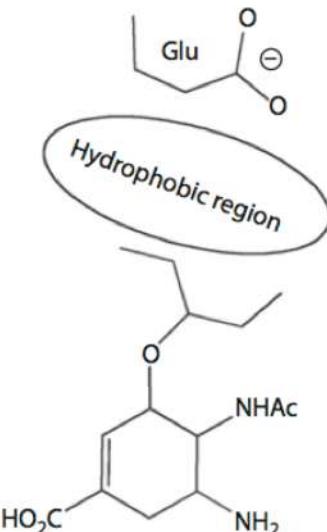


Nicotina
unido a
AChBP.

$\Delta G_{\text{hidrofob}}$



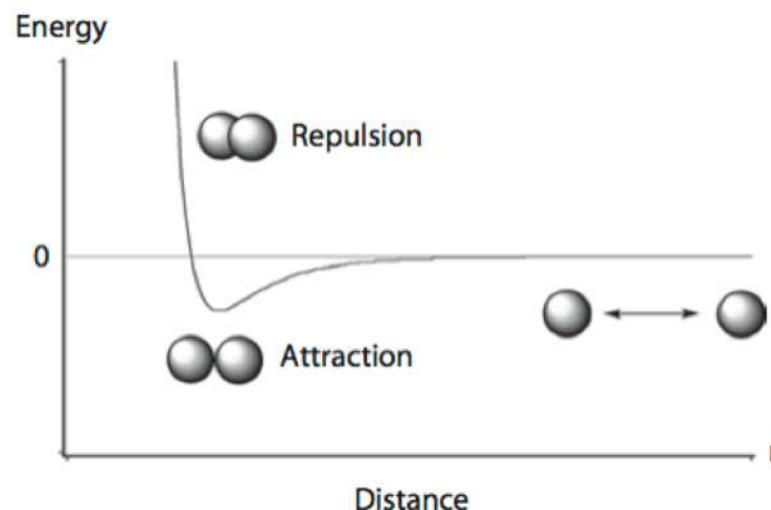
1.1
 $IC_{50}=150 \text{ nM}$



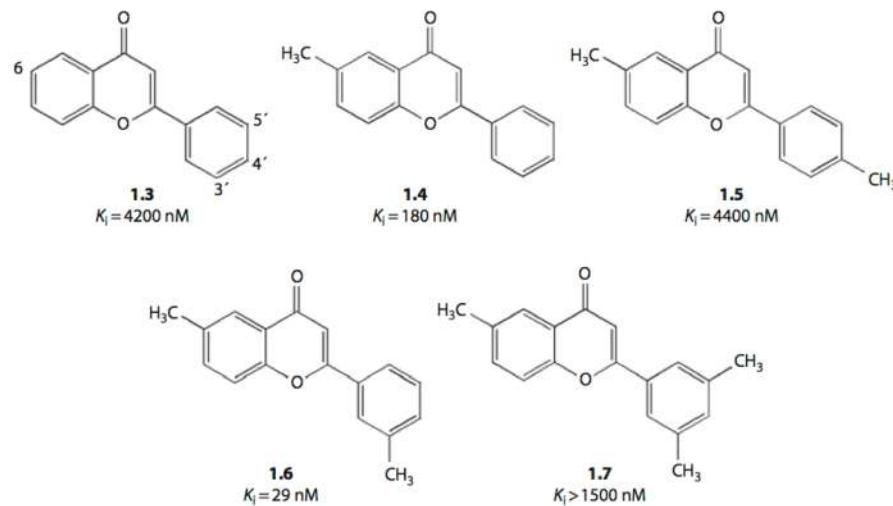
1.2
 $IC_{50}=1 \text{ nM}$

Inhibidores de la
neuraminidasa

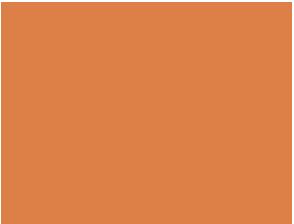
ΔG_{vdW}



Curva de E^a de vdw



Unión de flavonas al
Receptor de GABA



Capítulo 2:

Diseño de Drogas Basado en Bio-Estructuras

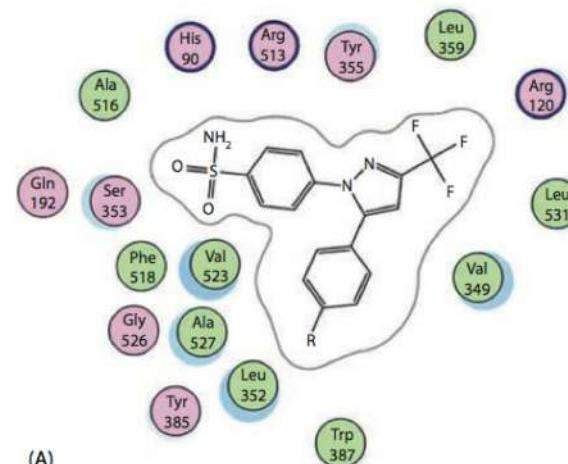
Diseño de drogas basado en estructura

Utiliza la información de la forma y propiedades del sitio de unión de la molécula blanco para diseñar moléculas con alta especificidad y afinidad.

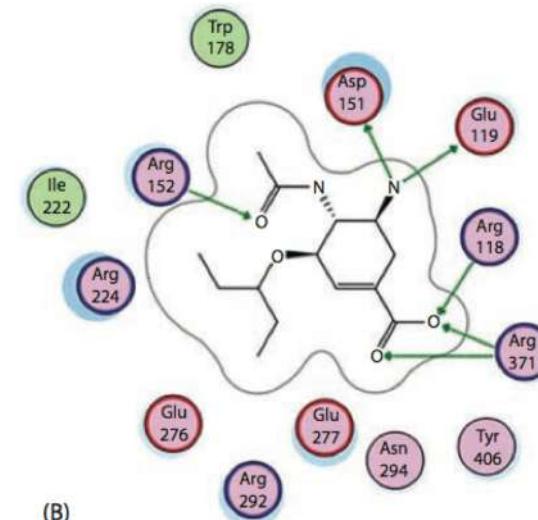
Este tipo de diseño racional necesita del conocimiento 3D de la proteína blanco por: cristalografía y rayos X, espectroscopía RMN ó por métodos computacionales de predicción como el modelamiento por homología.

La resolución es importante:

- 1.2 Å es ideal y resuelve H-bonds.
- 2.0 Å es lo más común y se utiliza con frecuencia.
- > 3.0 Å se debe utilizar con precaución.



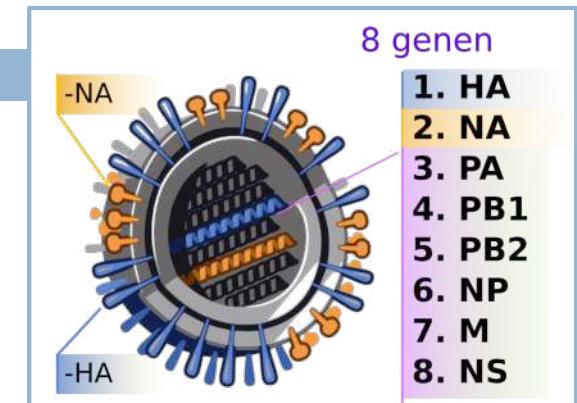
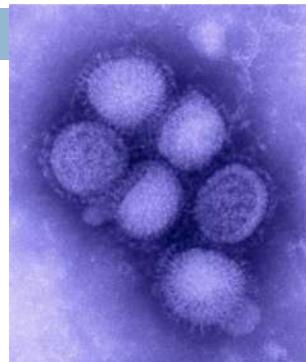
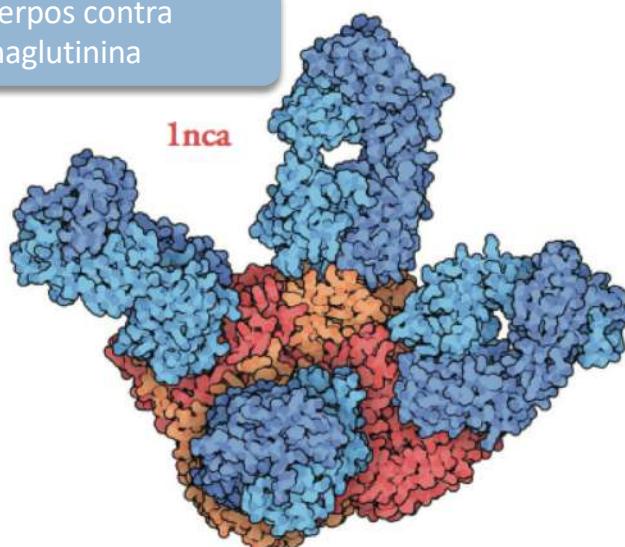
Celecoxid unido a COX-2



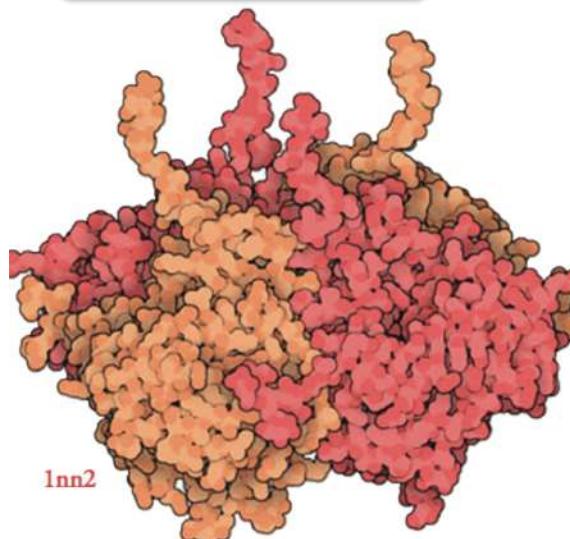
Oseltamivir unido a Neuraminidasa

Drogas anti-influenza

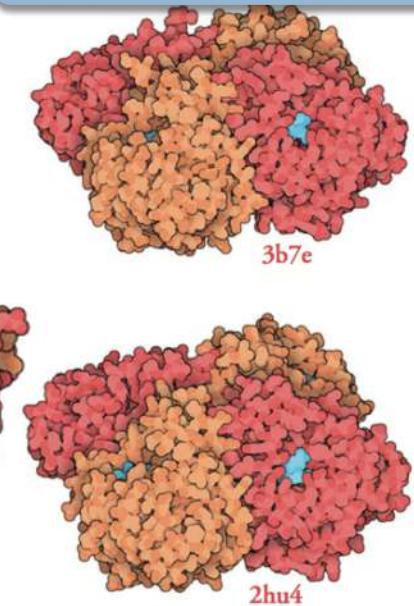
- El virus de la influenza está continuamente cambiando. Cada década aparece una nueva cepa con potencial de generar pandemias. En el 2009 fue la cepa H1N1.
- La influenza posee dos proteínas que son blancos terapeúticos, la hemaglutinina y la neuranimidasa.



Neuraminidasa (4x)



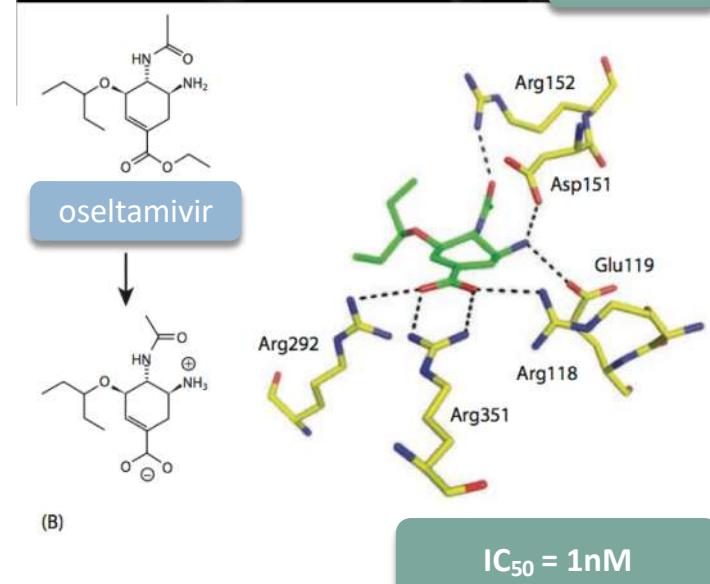
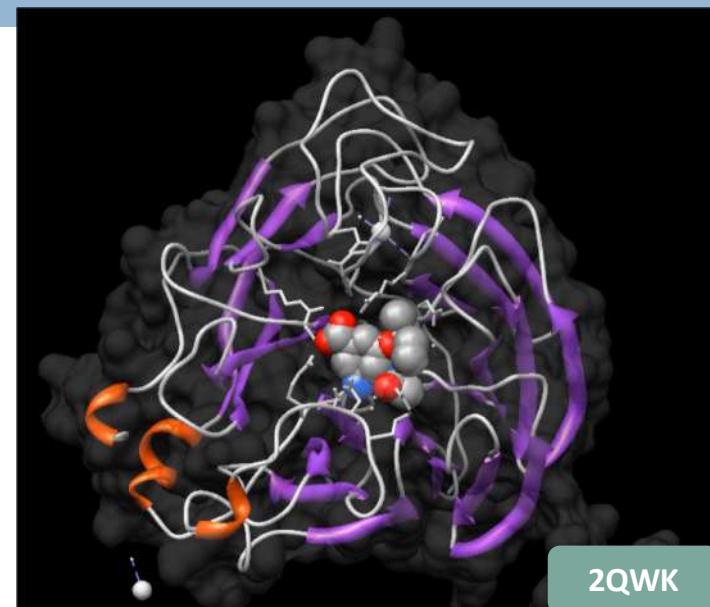
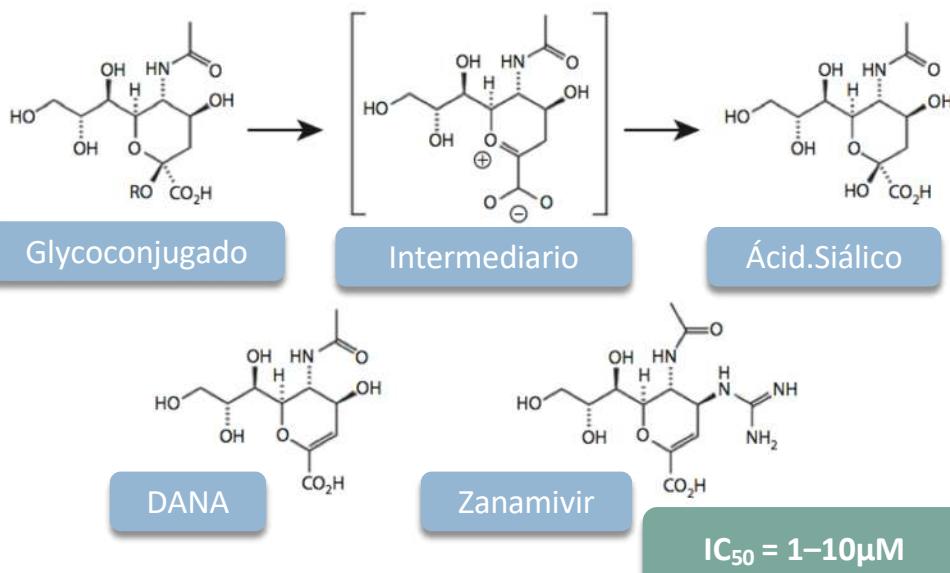
Flu Española
Neuranimidasa/Zanimivir



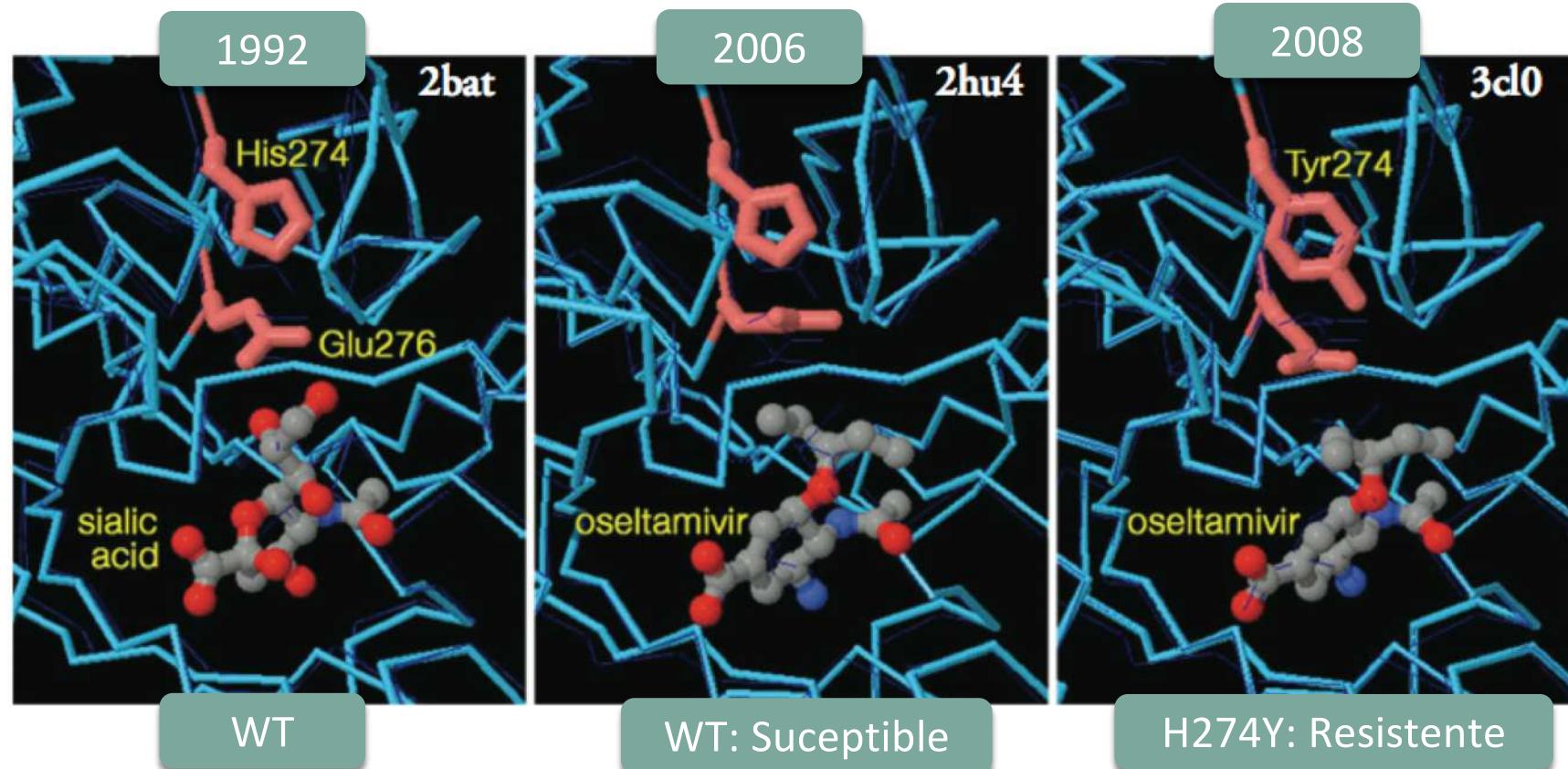
Flu Aviar
Neuranimidasa/Oseltamivir

Drogas anti-influenza

- Inhibidores con el anillo de piranosa fueron reemplazados por anillos carbocíclicos con mayores afinidades y con sustituyentes que mejoraron la biodisponibilidad oral.



Drogas anti-influenza

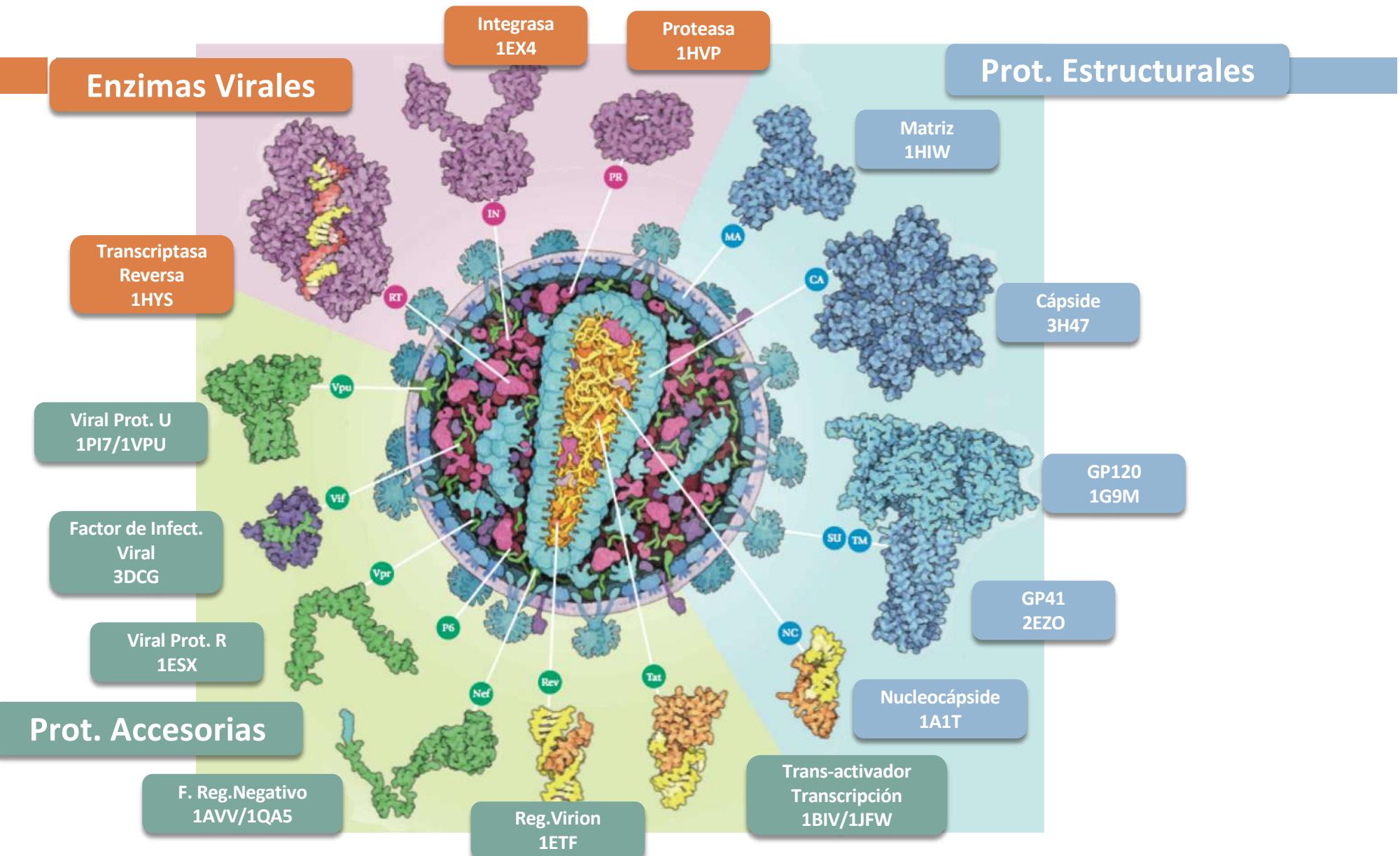


Referencias Drogas anti-Influenza

- 1nn2: J.N. Varghese, P.M. Colman (1991) Three-dimensional structure of the neu- raminidase of influenza virus A/Tokyo/3/67 at 2.2 Å resolution. *J.Mol.Biol.* 221: 473-486.
- 3b7e: X. Xu, X. Zhu, R.A. Dwek, J. Stevens, I.A. Wilson (2008) Structural characterization of the 1918 influenza virus H1N1 neuraminidase *J.Virol.* 82: 10493-10501
- 2hu4: R.J. Russell, L.F. Haire, D.J. Stevens, P.J. Collins, Y.P. Lin, G.M. Blackburn, A.J. Hay, S.J. Gamblin, J.J. Skehel (2006) The structure of H5N1 avian influenza neu- raminidase suggests new opportunities for drug design. *Nature* 443: 45-49
- 1nca: W.R. Tulip, J.N. Varghese, W.G. Laver, R.G. Webster, P.M. Colman (1992) Refined crystal structure of the influenza virus N9 neuraminidase- NC41 Fab complex. *J.Mol.Biol.* 227: 122-148
- 2bat: J.N. Varghese, J.L. McKimm-Breschkin, J.B.Caldwell,A.A.Kortt,P.M.Colman (1992) The structure of the complex between influenza virus neuraminidase and sialic acid, the viral receptor. *Proteins* 14: 327-332
- 3cl0: P.J. Collins, L.F. Haire, Y.P. Lin, J. Liu, R.J. Russell, P.A. Walker, J.J. Skehel, S.R. Martin, A.J. Hay, S.J. Gamblin (2008) Crystal structures of oseltamivir-resistant influenza virus neuraminidase mutants. *Nature* 453: 1258-1261

- Topics for Further Exploration
 - 1. Structures are available for several of the 9 different subtypes of neuraminidase. Can you find examples of different ones?
 - 2. Many structures of neuraminidase bound to inhibitors are available in the PDB. Can you find similarities and differences between them and sialic acid?
- Additional Reading about Neuraminidase
 - 1. P. M. Colman (1994) Influenza virus neuraminidase: structure, antibodies, and inhibitors. *Protein Science* 3, 1687-1696.
 - 2. M. von Itzstein (2007) The war against influenza: discovery and development of sialidase inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery* 6, 967-974.

Inhibidores de proteasas de VIH



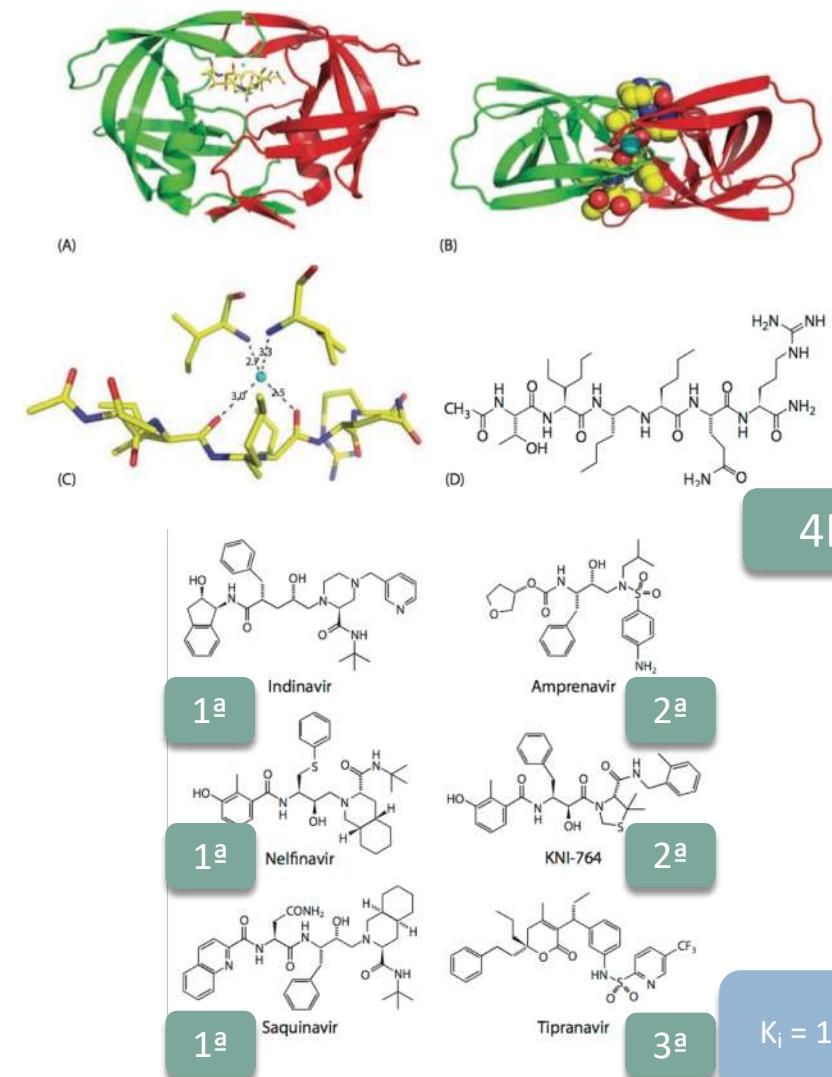
- 1984 fue descubierto que el virus de la inmundeficiencia humana (VIH) causante del SIDA.

Diseño de inhibidores contra VIH

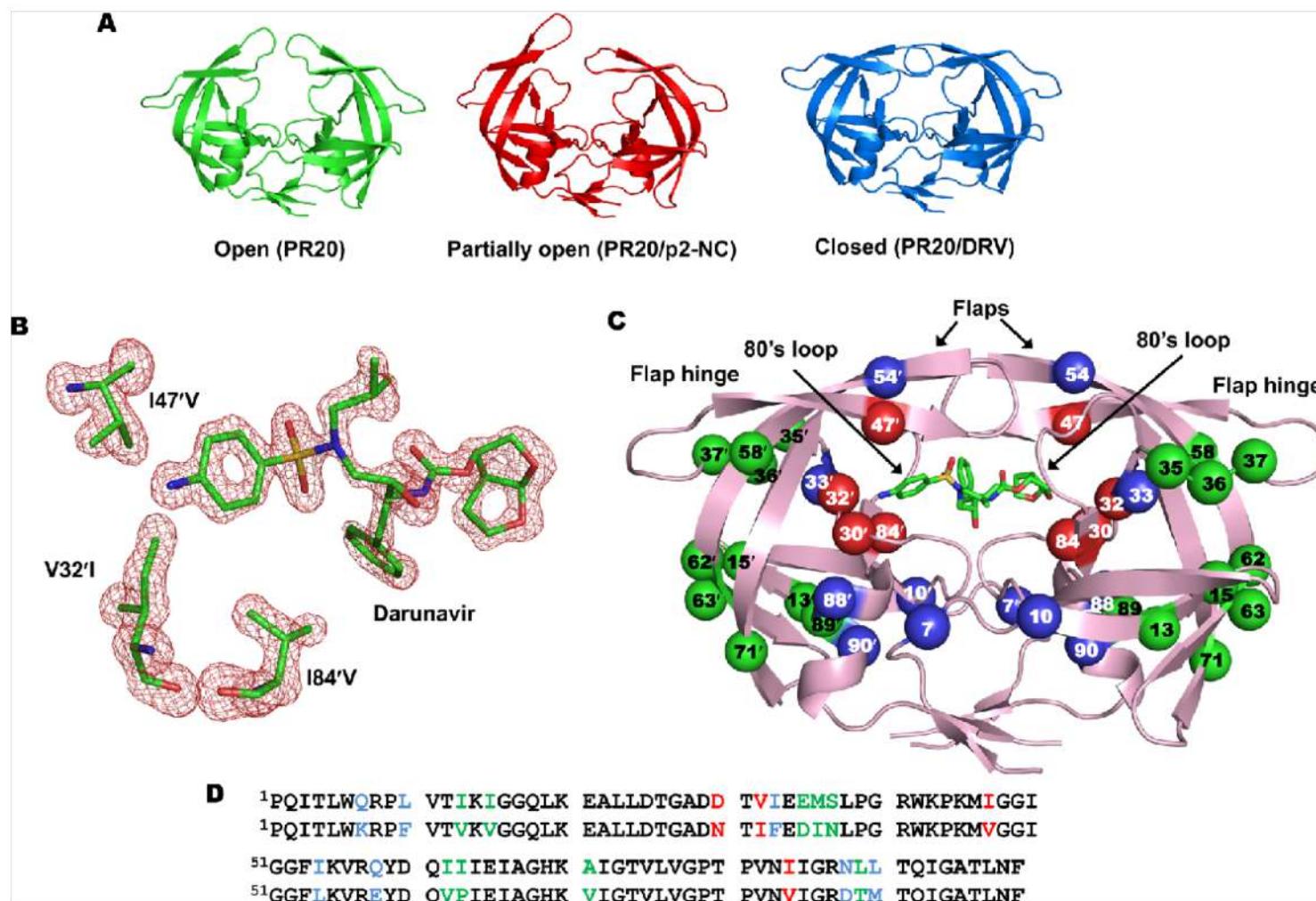


Inhibidores de proteasas de VIH

- La primera estructura 3D de una proteasa de VIH-1 en complejo con un inhibidor, MVT-101.
- Actualmente, cerca de 300 estructuras de complejos entre proteasas de VIH-1 y ligandos han sido determinadas, lo que lo convierte en una de las proteínas más extensivamente estudiadas.
- VIH rápidamente desarrolló resistencia contra inhibidores de primera generación. Debido a que la forma del bolsillo hidrofóbico es muy sensible a mutaciones generando la resistencia.
- Para la primera generación de inhibidores de la proteasa de VIH la mayoría de la energía de unión corresponde a la entropía de llenar un bolsillo hidrofóbico. La segunda generación posee componentes de entalpía y entropía, siendo más complicada la generación de resistencia.
- **Tipranavir**, este compuesto de tercera generación posee un inusualmente alta energía de unión al remover moléculas de agua internalizadas desde el sitio activo de la proteasa y reemplazar sus interacciones.



Inhibidores de proteasas de VIH

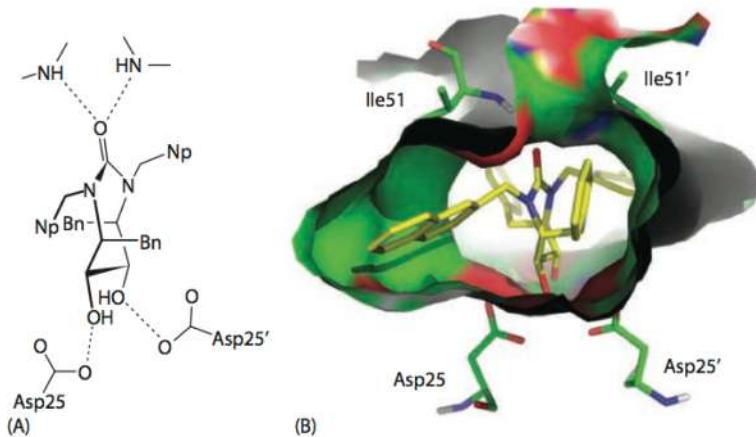
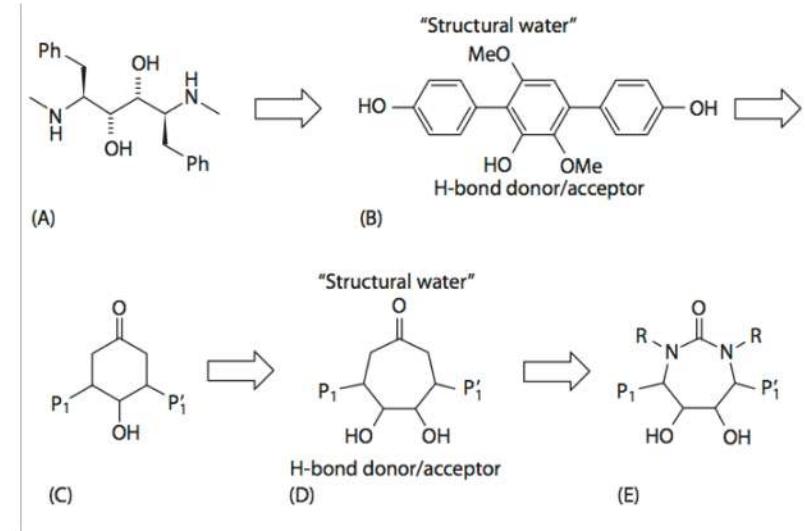


Inhibidores de proteasas de VIH

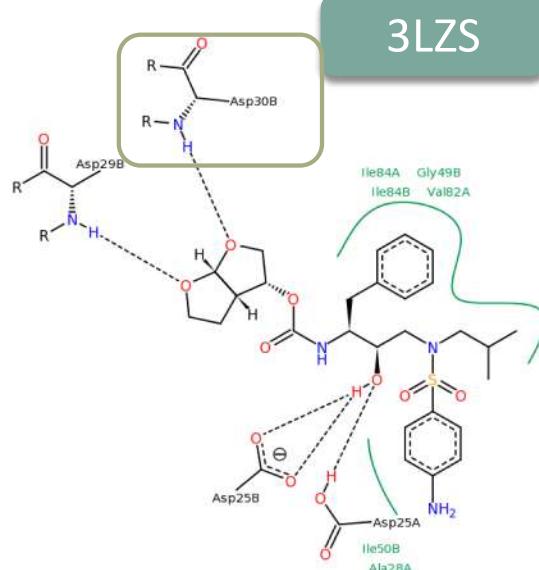
1994, researchers at the DuPont Merck Pharmaceutical Company

They had realized that in most of the complexes between HIV-1 protease and the peptide-like inhibitors a structural water molecule bridged the ligand and enzyme.

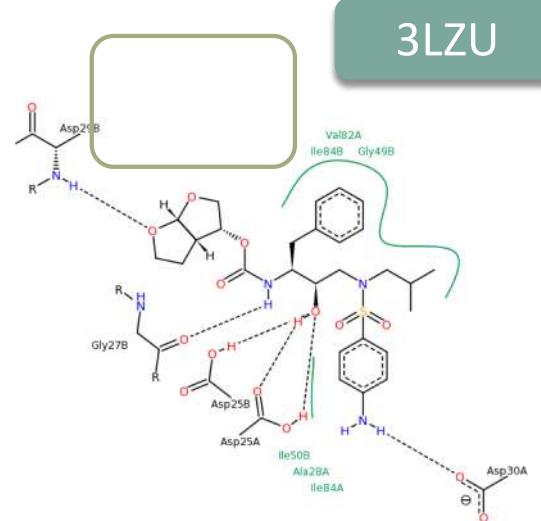
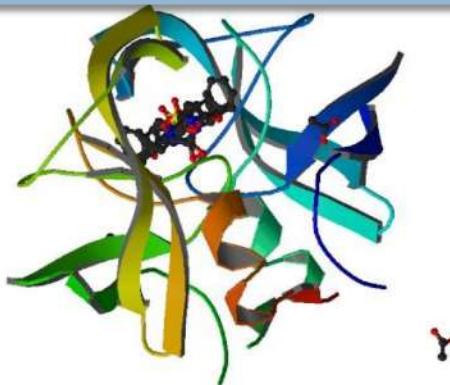
Baja biodisponibilidad.



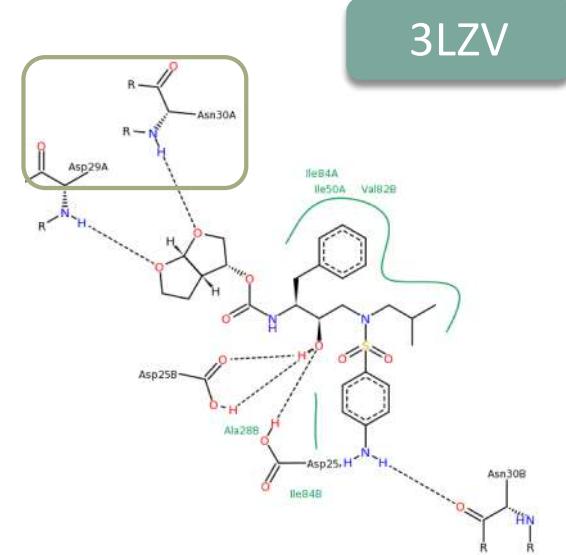
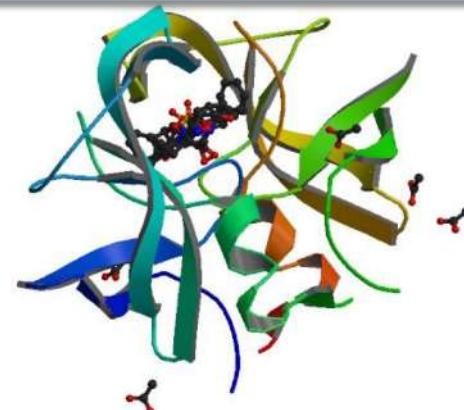
Inhibidores de proteasas de VIH



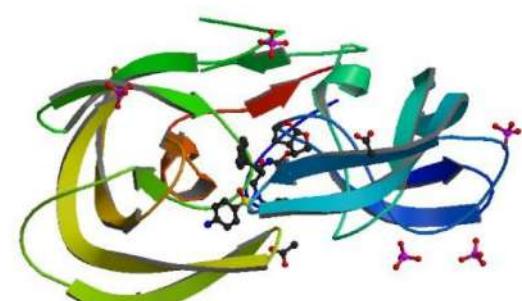
Darunavir



Darunavir/Nelfinavir
Resistente (N88S)



Darunavir/Nelfinavir
Resistente (D30N/N88D)



Referencias

1: Yedidi RS, Liu Z, Wang Y, Brunzelle JS, Kovari IA, Woster PM, Kovari LC, Gupta D. Crystal structures of multidrug-resistant HIV-1 protease in complex with two potent anti-malarial compounds. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Mar 24. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22469467.

The higher barrier of darunavir and tipranavir resistance for HIV-1 protease. (2011)
Biochem.Biophys.Res.Commun. **412:** 737-742

1: Agnieszamy J, Shen CH, Aniana A, Sayer JM, Louis JM, Weber IT. HIV-1 Protease with 20 Mutations Exhibits Extreme Resistance to Clinical Inhibitors through Coordinated Structural Rearrangements. *Biochemistry.* 2012 Apr 3;51(13):2819-28. Epub 2012 Mar 20. PubMed PMID: 22404139.

1: Heal JW, Jimenez-Roldan JE, Wells SA, Freedman RB, Römer RA. Inhibition of HIV-1 protease: the rigidity perspective. *Bioinformatics.* 2012 Feb 1;28(3):350-7. PubMed PMID: 22291339.

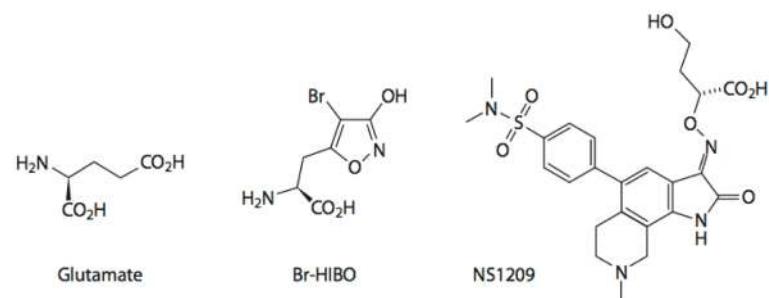
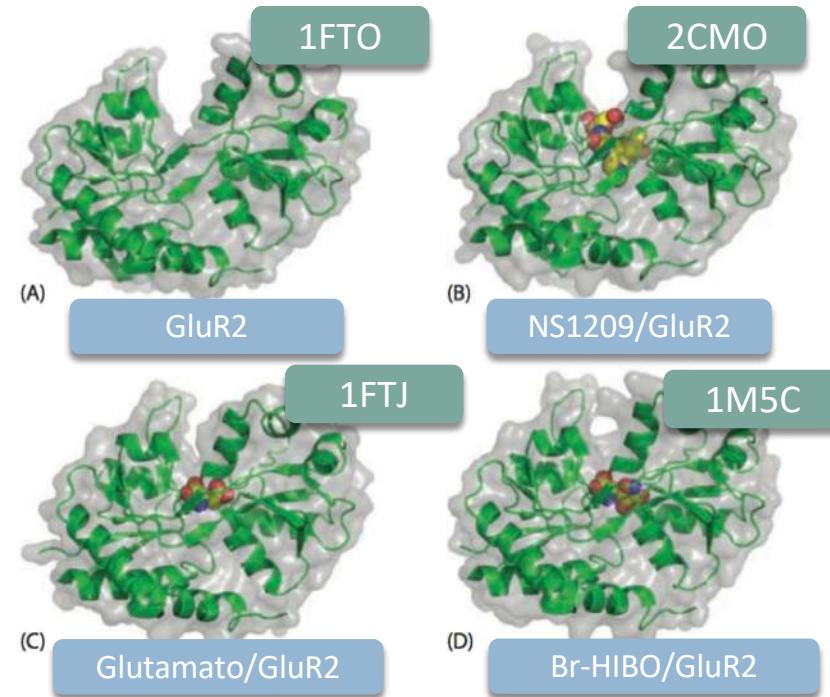
Proteínas de membrana

Enzimas, bombas, canales, transportadores y receptores.

40% de todas las drogas están dirigidas contra receptores acoplados a proteína G.

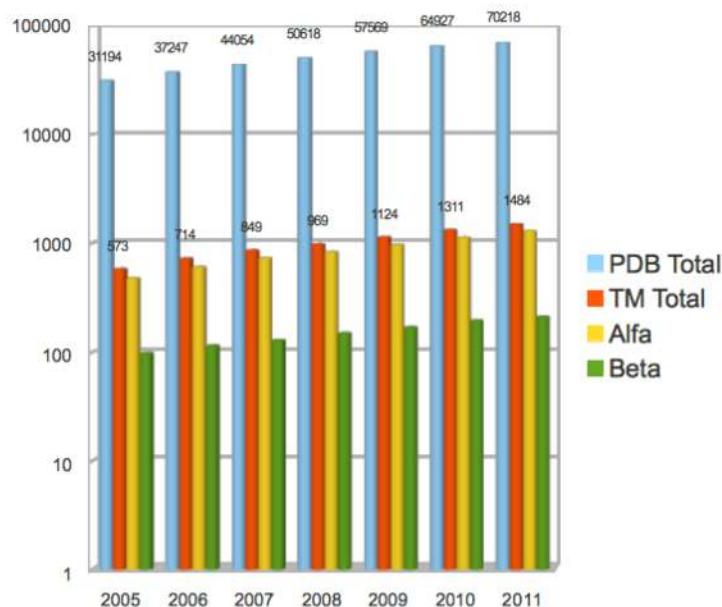
Las dos drogas más vendidas poseen como blanco proteínas de membrana (Prozac y Omeprazol).

produce soluble constructs of parts of the proteins, e.g. the extracellular ligand-binding core of ionotropic glutamate receptors (iGluRs).



Relación entre Estructuras 3D y diseño de fármacos.

Proteínas 3D en PDB



<http://www.rcsb.org>
<http://pdbtm.enzim.hu/?m=stat>

Proteínas 3D y diseño de fármacos



Enzimas (895)
Anticuerpos (39)
Transportadores (22)
No Definidos (21)
Receptor Nuclear (17)
Canales Iónicos (4)
Lipid BP (2)
Receptor (51)
Factor Hormonal (36)
Proteínas de Unión (21)
Estructural (17)
Señalización (13)
ARN (2)

Gao y col., 2008. *Science* 301, 610-615.
Tusnády y col., 2005. *Science* 301, 616-620.

Insulina de acción rápida

Insulina ha estado disponible para tratamiento de la diabetes desde 1923.

La biosíntesis de insulina recombinante humana durante los 80' hizo posible la optimización de la terapia por medio del diseño de análogos de insulina.

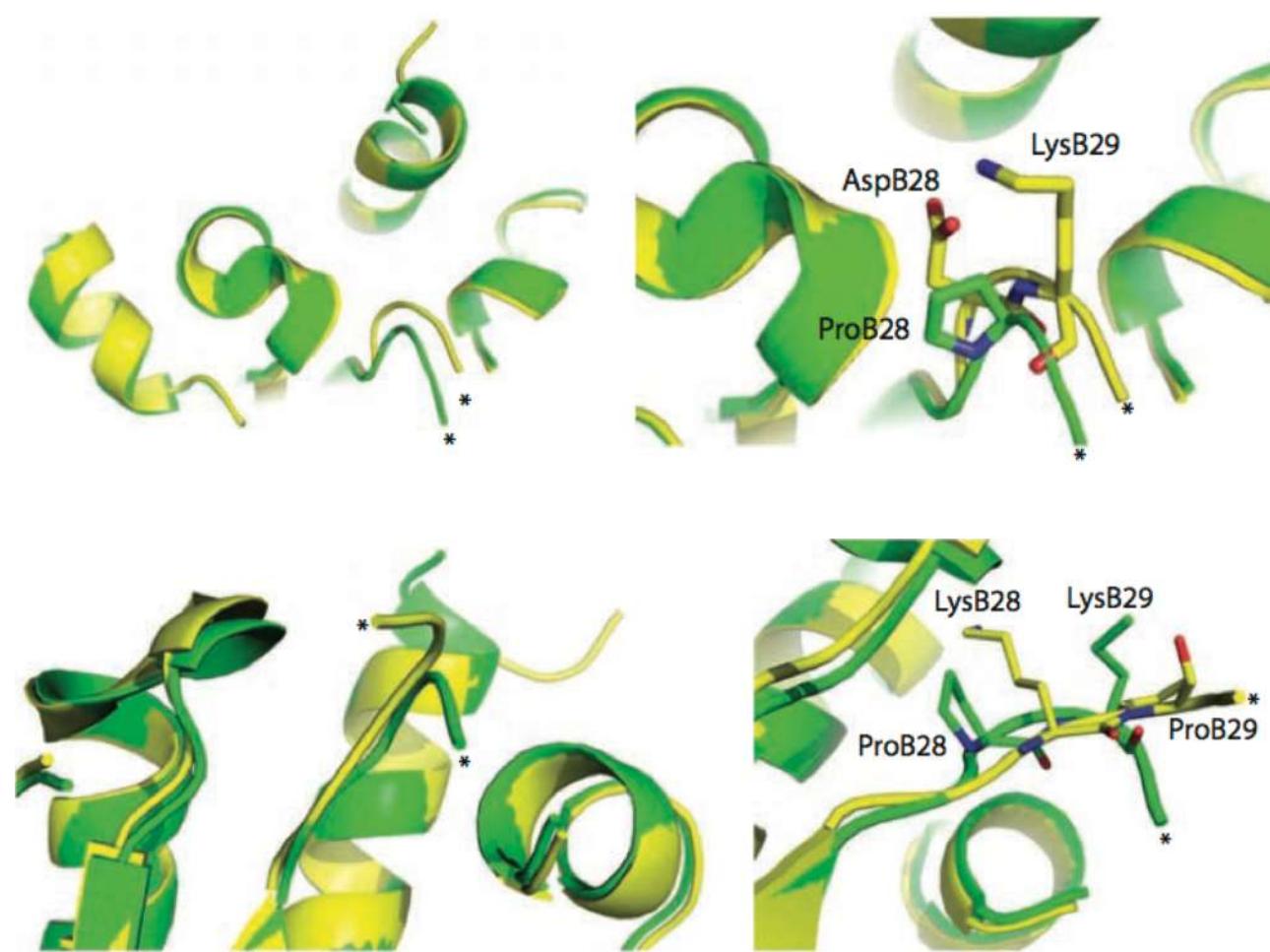
La insulina fue una de las primeras proteínas para las cuales se describió la estructura 3D por cristalografía de rayos X, y en el PDB se encuentran depositadas más de 200 estructuras.

La insulina existe en fase cristalina en hexámeros, dímeros y monómeros. Actualmente varias formas de hexámeros existen dependiendo de la presencia de iones zinc y fenol (T6, T3R3 y R6).

Después de la inyección de insulina subcutánea el hexámero se disocia a insulina dimérica y luego a su forma monomérica que es su forma biológicamente activa.



Insulina de acción rápida





Capítulo 3:

Diseño de Drogas Basado en Ligandos

Diseño de fármacos basado en ligandos

Muchas proteínas que son blancos interesantes en enfermedades son difíciles de cristalizar y no se tiene su estructura 3D.

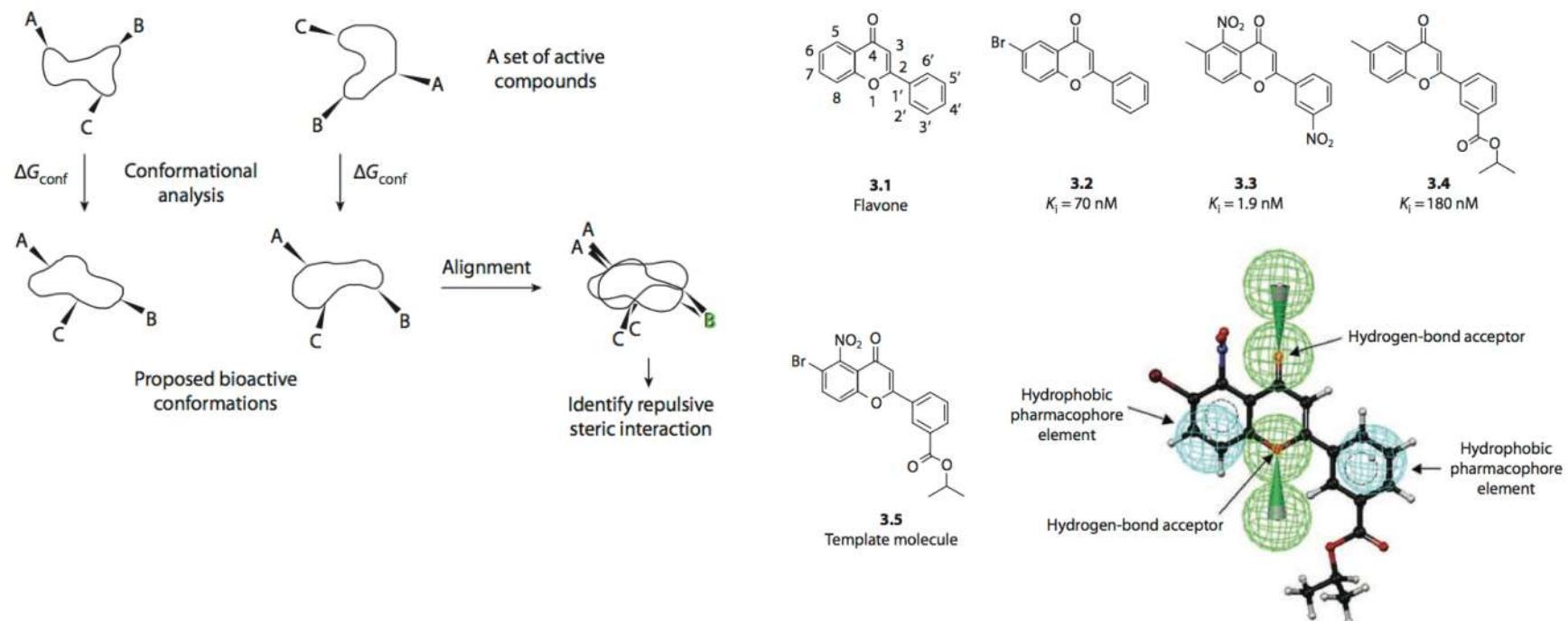
Métodos de diseño de drogas basados en ligandos son “modelamientos de farmacoforos” que son utilizados para desarrollar un modelo de farmacoforo que describa las interacciones entre los ligandos y la proteína blanco desde el punto de vista del ligando.

Un modelo de farmacoforo podría ser adicionalmente utilizado como punto de partida para realizar un análisis de relación cuantitativa de la estructura actividad en 3D para ligandos (3D-QSAR).

El análisis 3D-QSAR combina metodologías obtenidas desde la modelación de farmacoforos, el campo de la interacción molecular y la quimiometría estadística para entregar predicciones cuantitativas de la afinidad de receptores como guías para la optimización de ligandos.

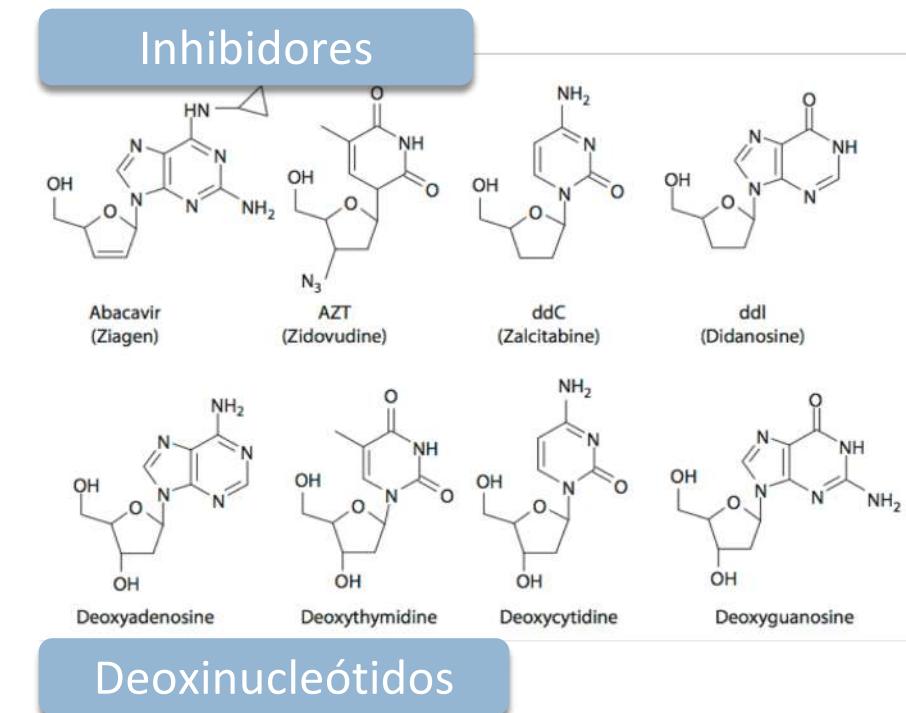
Identificación de Farmácoforo

“pharmacophore element” is traditionally defined as an atom or a group of atoms (a functional group) common for active compounds at the receptor in question and essential for the activity of the compounds.



Inhibidores tipo nucleósido y nucleótido para la transcriptasa reversa del VIH

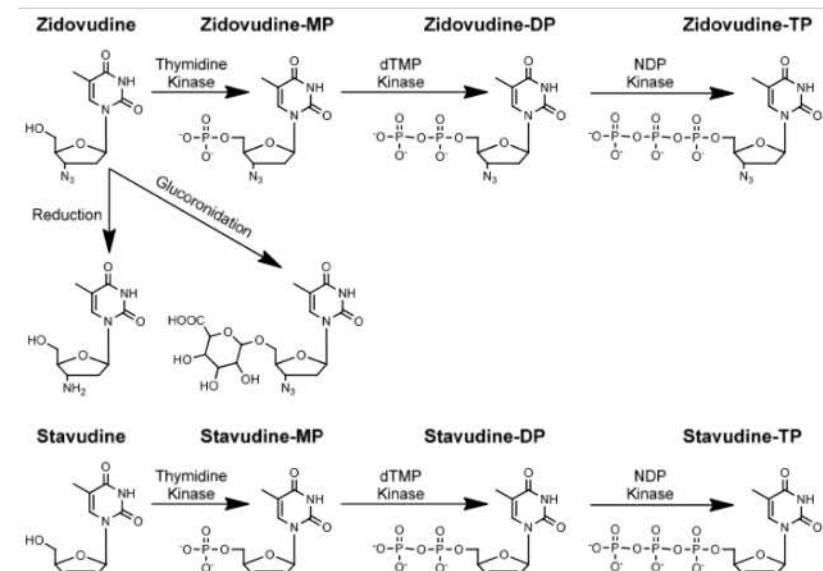
- La transcriptasa reversa (RT) del VIH es uno de los principales blancos terapeúticos para luchar contra el SIDA.
- Los inhibidores pueden ser divididos en 2 categorías:
 - (i) inhibidores nucleósidos y nucleótidos para la RT (NRTIs)
 - ii) Inhibidores no-nucleósidos de la RT (NNRTIs), que son alostéricos, inhibidores no competitivos que se unen a un sitio distal del sitio activo.
- El primer NRTI, **Zidovudina (AZT)** fue sinetizado en 1964, reconocido con actividad anti-VIH en 1985 y aprobado por la FDA en 1987.



NRTI aprobados para uso clínico I

- **Zidovudina.** Atraviesa the cell membrane by passive transport and not via a nucleoside carrier transporter (Zimmerman et al., 1987). It has good oral bioavailability and shows efficient penetration into the central nervous system. Because of the extensive glucuronidation of ZDV, other drugs that are also glucuronidated or that inhibit this process cause an increase in zidovudine plasma levels. Renal excretion of zidovudine is by both glomerular filtration and active tubular secretion. In some cells zidovudine can be metabolized to the highly toxic reduction product 3'-amino- thymidine (Weidner & Sommadossi, 1990).

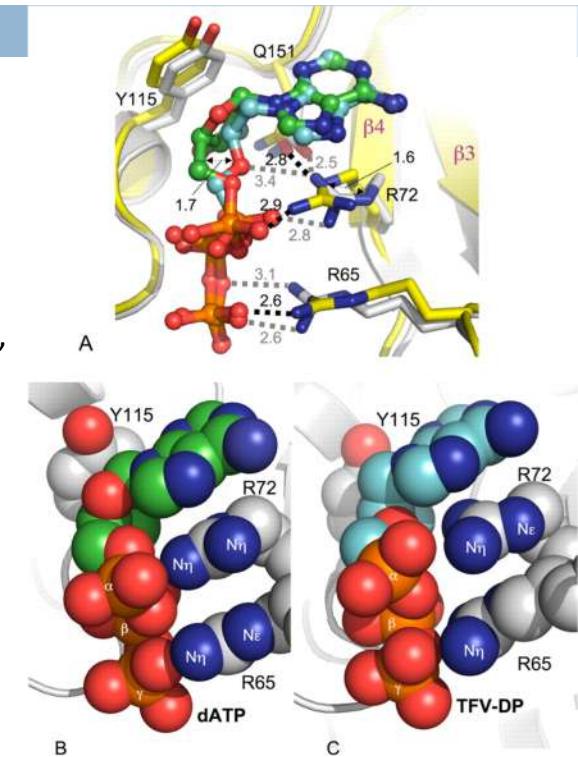
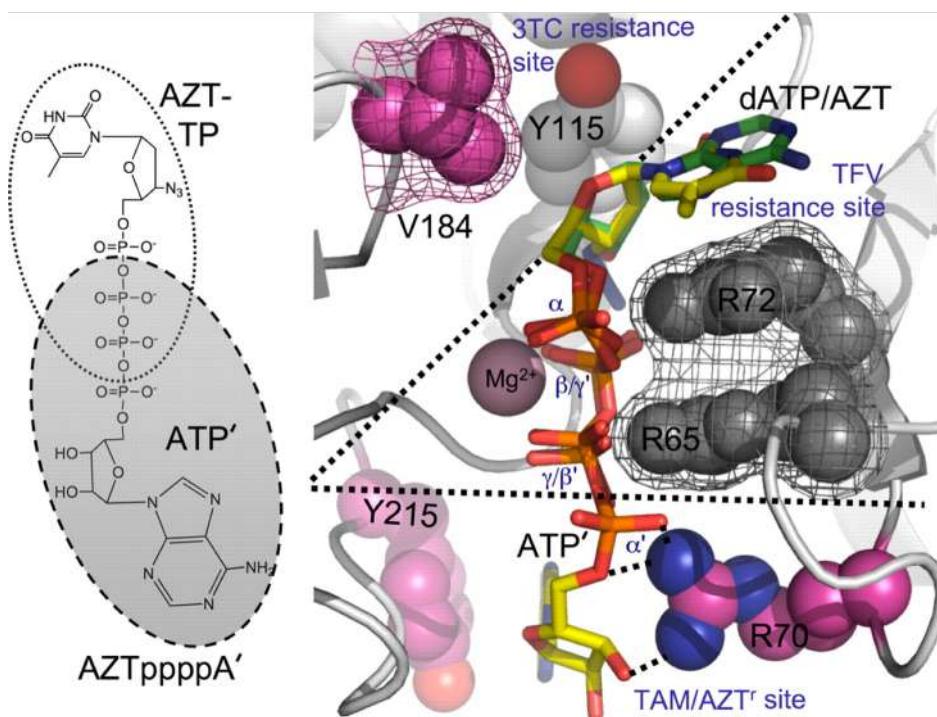
Staduvina. Maximal plasma concentrations of stavudine are achieved within 2 hours of oral administration and increase linearly as the dose increases, with an absolute bioavailability approaching 100 % (Rana & Dudley, 1997)). The drug distributes into total body water and appears to enter cells by non-facilitated diffusion (passive transport). Penetration into the central nervous system, however, is far less than zidovudine. Stavudine is cleared quickly with a terminal plasma half-life of 1-1.6 hours by both renal and nonrenal processes (Dudley et al., 1992).



Resistencia a Tenovir

K65R is a primary reverse transcriptase (RT) mutation selected in human immunodeficiency virus type 1-infected patients taking antiretroviral regimens containing tenofovir disoproxil fumarate or other nucleoside analog RT drugs. We determined the crystal structures of K65R mutant RT cross-linked to double-stranded DNA and in complexes with tenofovir diphosphate (TFV-DP) or dATP. The crystals permit substitution of TFV-DP with dATP at the dNTP-binding site. The guanidinium planes of the arginines K65R and Arg72 were stacked to form a molecular platform that restricts the conformational adaptability of both of the residues, which explains the negative effects of the K65R mutation on nucleotide incorporation and on excision. Furthermore, the guanidinium planes of K65R and Arg72 were stacked in two different rotameric conformations in TFV-DP- and dATP-bound structures that may help explain how K65R RT discriminates the drug from substrates. These K65R-mediated effects on RT structure and function help us to visualize the complex interaction with other key nucleotide RT drug resistance mutations, such as M184V, L74V, and thymidine analog resistance mutations.

Comparison of binding of TFV-DP and dATP to K65R RT-dsDNA. A, overlay of TFV-DP (TFV-DP (cyan) and RT (gray)) and dATP (green) with RT (yellow) (B) and K65R RT-dsDNA-TFV-DP (C) ternary structures.



Three distinct mechanisms of NRTI resistance through mutations at three distinct sites. Superposition of excision-enhancing mutation or TAM (M41L, D67N, K70R, T215Y, and K219Q) RT-dsDNA-AZTpA structure4 on K65R RT-dsDNA-dATP structure at their dNTP-binding sites; AZTpA is the product of AZT monophosphate by ATP-mediated excision. Although the two structures contained two distinct sites of mutations and crystallized in two distinct space groups, they superimpose very well at the active site region. The mutated residues Arg70 and Tyr215 are from the crystal structure of excision-enhancing mutation RT complex, whereas M184V was modeled based on the structure of the M184V

Nuevas drogas aún no aprobadas

CMX-157. Like GS-7340, CMX-157 is an alternative prodrug of tenofovir designed to increase cell penetration by the natural lipid uptake pathways (Figure 9; Hostetler et al., 1997; Painter et al., 2004). CMX-157 contains a hexadecyloxypropyl (HDP) lipid conjugation which mimics lysophosphatidylcholine. CMX-157, unlike TDF is not cleaved to free tenofovir in the intestinal mucosa and thus circulates in plasma as the tenofovir-HDP lipid conjugate (Painter et al., 2007). Tenofovir-HDP is not a substrate for human organic anion transporters and therefore is subject to decreased renal excretion and increased intracellular drug exposure compared to TDF (Tippin et al., 2010). Free tenofovir is liberated intracellularly by hydrolytic removal of the HDP lipid by phospholipases. Intracellular activation to the active tenofovir-DP form is achieved in the same manner as TDF. CMX-157 delivers > 30-fold increased active metabolite tenofovir-DP in PBMC than tenofovir.

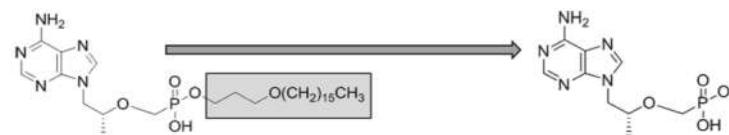


TABLE 3. Activity of CMX157, TFV, and AZT against NRTI-resistant HIV-1 mutants in PBMCs

HIV reverse transcriptase mutant genotype (clone)	Value(s) for:					
	CMX157		TFV		AZT	
	Mean EC ₅₀ ± SD (n) ^a	FC ^b	Mean EC ₅₀ ± SD (n) ^a	FC ^b	Mean EC ₅₀ ± SD (n) ^a	FC ^b
Wild type (HIV-1 _{NL4-3})	1.5 ± 0.95 (3)		300 ± N/A ^c (1)		0.53 ± 0.55 (3)	
41L/67N/69N/70R/215F/219E (7324-1)	3.8 ± 1.3 (3)	2.5	6,500 ± N/A ^c (1)	22	330 ± 270 (3)	620
41L/44D/67N/69D/118I/210W/215Y/184V (4755-5)	3.1 ± 0.62 (2)	2.1	5,400 ± N/A ^c (1)	18	100 ± 16 (2)	190
41L/44D/67N/69D/118I/210W/215Y (7303-3)	19 ± 15 (3)	13	>8,500 ± >2,100 ^d (2)	>28	3,000 ± 2,800 (3)	5,700
69K/70G/75I/77L/116Y/151M/184V (1617-1)	5.0 ± 3.6 (3)	3.3	>6,500 ± >5,000 ^d (2)	>22	>340 ± >570 ^d (3)	>640
41L/74V/210W/215Y/184V/69SSS (52534-2)	9.0 ± 6.6 (3)	6.0	>6,500 ± >5,000 ^d (2)	>22	350 ± 290 (3)	660
65R (71361-1)	13 ± 1.3 (2)	8.7	>8,000 ± >2,800 ^d (2)	>27	2.7 ± 3.6 (2)	5.1
65R/184V (8415-2)	1.8 ± 1.2 (3)	1.2	1,000 ± N/A ^c (1)	3.3	1.8 ± 1.5 (3)	3.4

^a EC₅₀s are shown in nM as mean ± SD of one to three (n) independent experiments.

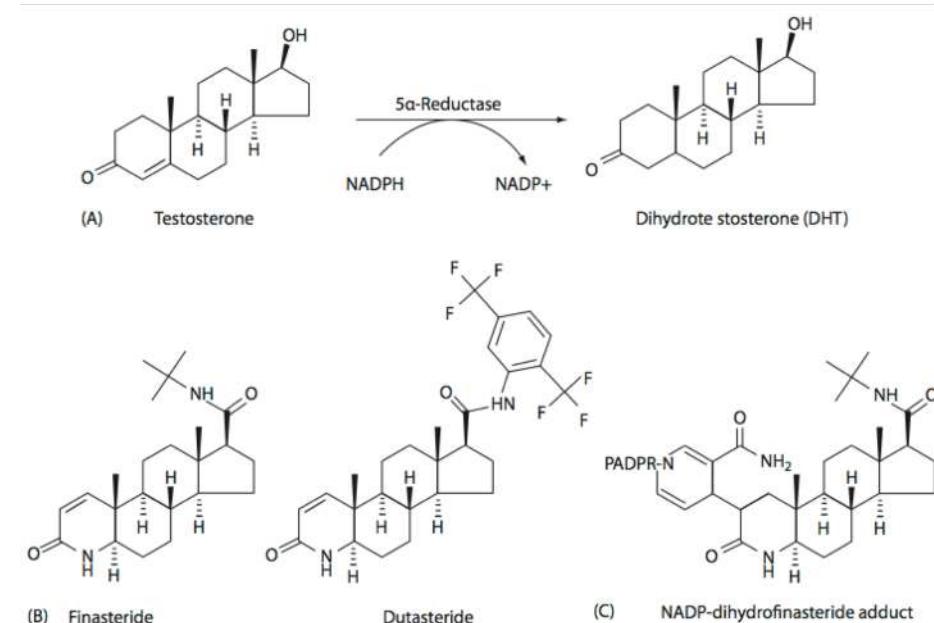
^b FC, fold change in mean EC₅₀ compared to mean EC₅₀ for wild-type HIV-1_{NL4-3}.

^c N/A, SD not applicable due to single available EC₅₀.

^d Values indicate that one of the EC₅₀s was greater than the high test concentration used in the experiment.

Inhibidores de la 5 α -reductasa de esteroides

- La 5 α -reductasa humana es responsable de la conversión de testosterona (T) al andrógeno más potente , dihidrotestosterona (DHT).
- En humanos se conocen dos tipos de 5 α -reductasas. La tipo I es principalmente expresada en las glándulas sebáceas de la piel y el hígado, mientras la tipo II es más abundante en la próstata, vesícula seminal, hígado y epididimis.
- El primer inhibidor de la 5 α -reductasa aprobado para aplicación clínica en los Estados Unidos fue la **finasterida**. Que inhibe 100 veces más a la tipo II que la I.
- Después se diseño la **dutasterida**. Que es capaz de inhibir con la misma potencia a ambas enzimas.





Capítulo 4

¿ Cómo se realiza el diseño racional de fármacos?

Relevancia del Docking Molecular?

Las interacciones moleculares son esenciales para la mayoría de los procesos biológicos.

El número de estructuras moleculares conocidas continua en crecimiento, el análisis computacional de las interacciones moleculares aumenta en importancia.

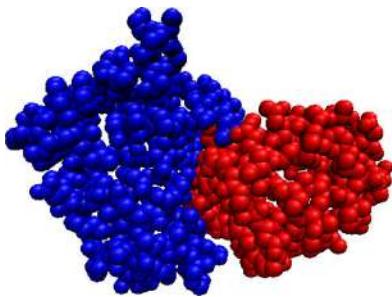
La predicción de interacciones moleculares es una de las principales herramientas en el diseño de drogas.

Docking Molecular

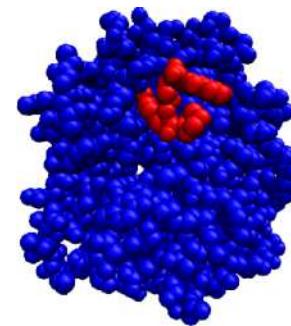
- Predicción computacional de la estructura de un complejo receptor-ligando.

Receptor: Proteína

Ligand: Proteína o una molécula pequeña.

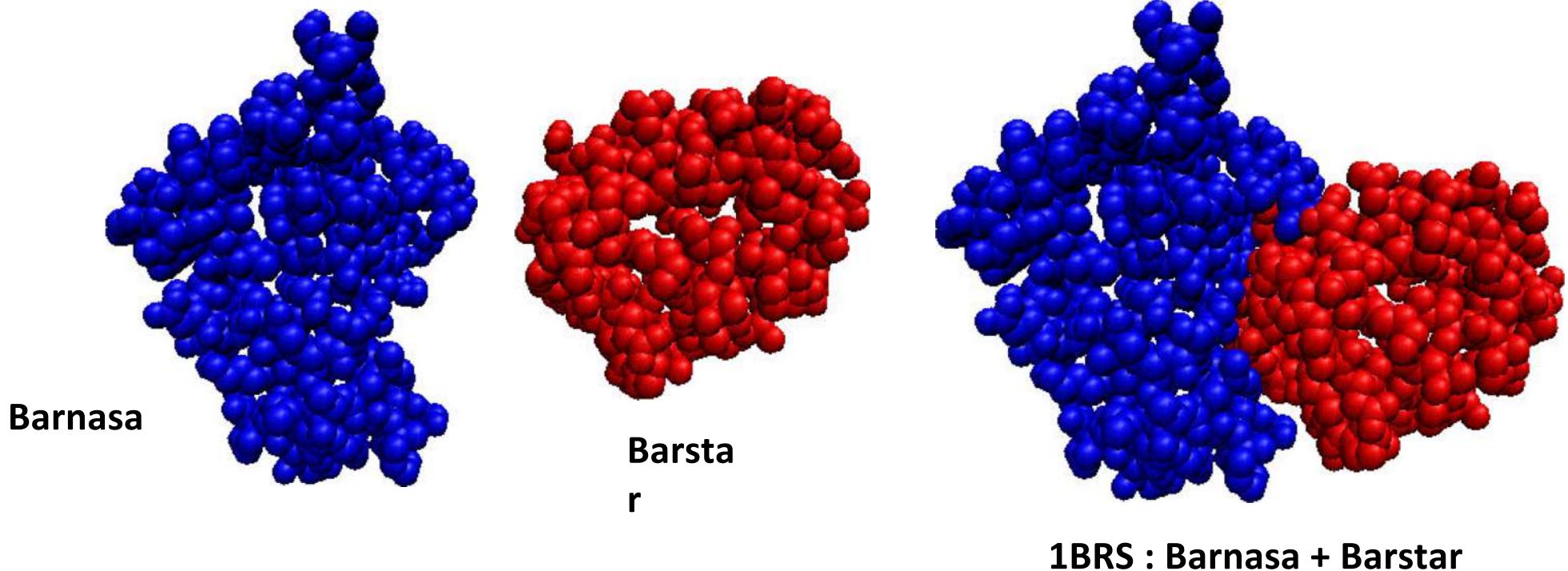


Docking Proteína-
Proteína



Docking de una molécula pequeña

Docking Proteína-Proteína



Barnasa

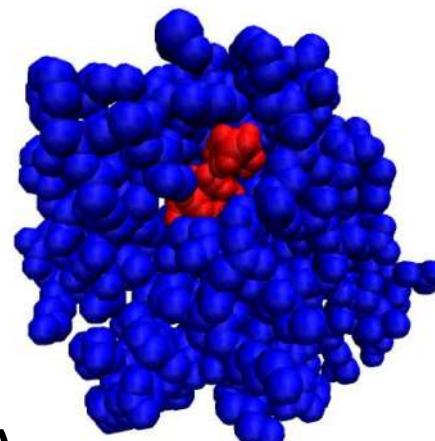
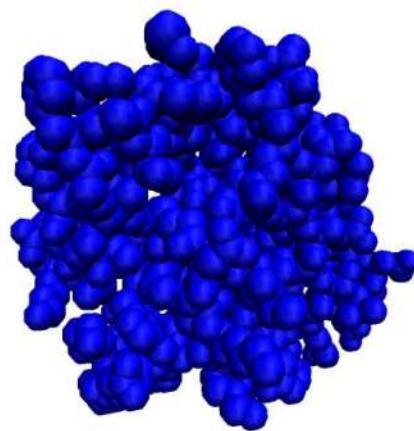
Barstar

1BRS : Barnasa + Barstar

Barnasa ("BActerial" "RiboNucleASA") es una proteína bacterial que consiste de 110 aminoácidos y posee una actividad ribonucleasa. Es sintetizada y secretada por la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens*, es letal para las células cuando es expresada sin su inhibidor barstar.

Docking de una Molécula Pequeña

PDB code: 1LIC



Receptor: proteína de adipocitos que une lípidos (ALBP).

Ligando: ácido Hexadecanesulfónico

ALBP. Las proteínas que unen lípidos son una familia de proteínas intracelulares de 15 kDa con la capacidad de unir con alta selectividad ligandos hidrofóbicos como ácidos grasos, sales biliares y ácidos retinoicos.

Tipos de Docking Molecular

Docking Proteína-Proteína

- Docking de enlace (“docking rígido”):
6 grados de libertad: 3 rotaciones y 3 traslaciones
- Docking no enlazado: flexibilidad de la cadena lateral.

Docking Molecular de Pequeñas Moléculas.

- Receptor rígido – ligando rígido.
- Receptor rígido – ligando flexible.
- Receptor flexible – ligando flexible.

Diseño de drogas asistido por computadoras (CADD)

	Ligandos Conocidos	Ligandos NO conocidos
Known protein structure	Diseño de fármacos basado en estructura (SBDD) Docking de proteínas ligando	Diseño de novo
Unknown protein structure	Diseño de fármacos basado en ligandos (LBDD) <i>1 o más ligandos</i> <ul style="list-style-type: none">• Búsqueda de similaridad. <i>Varios ligandos</i> <ul style="list-style-type: none">• Búsqueda de Farmacoforo. <i>Muchos ligandos (20+)</i> <ul style="list-style-type: none">• Relaciones de la estructura-actividad cuantificables (QSAR)	No se puede realizar CADD Necesidad de información experimental

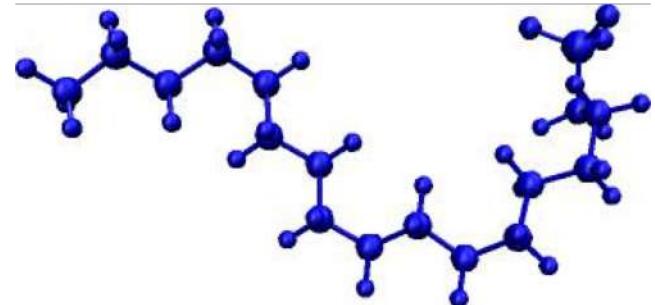
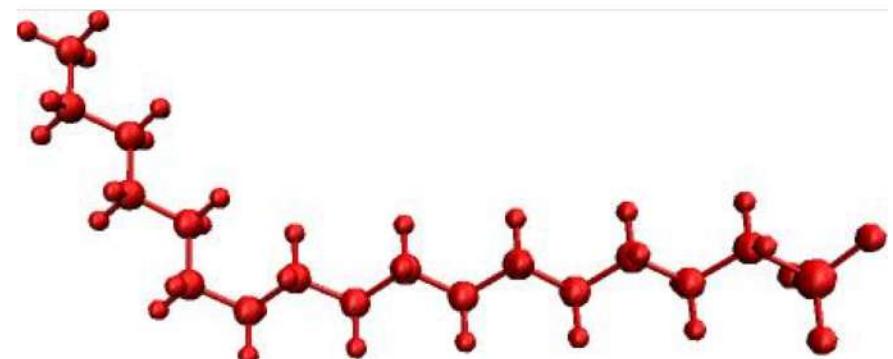


Ligandos

Conformación, configuración y pose.

Conformación: es la posición relativa de los átomos en una estructura 3D de una molécula, independiente del sistema de coordenadas.

Dos diferentes conformaciones para un ligando.

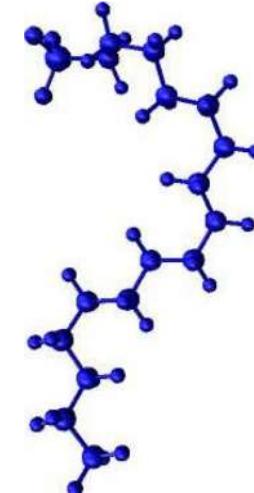
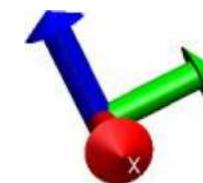
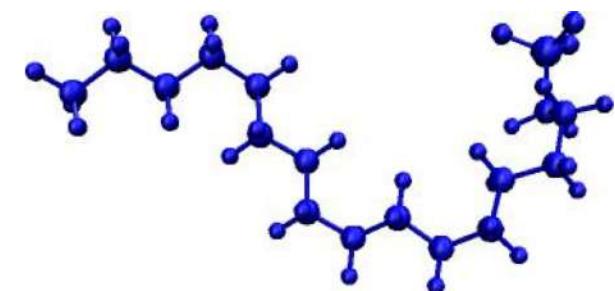


Conformación, configuración y pose.

Configuración/posicionamiento:

las posiciones de los átomos de la molécula después una transformación rígida (rotación y translación) de un sistema de coordenadas.

**Dos diferentes configuraciones
(la misma conformación)**

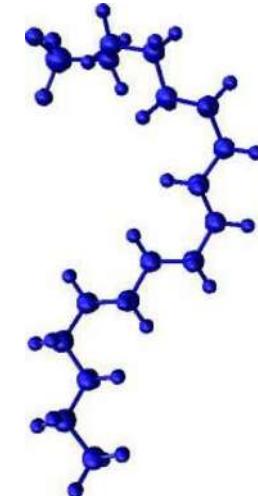
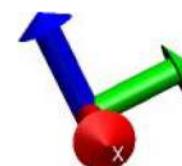
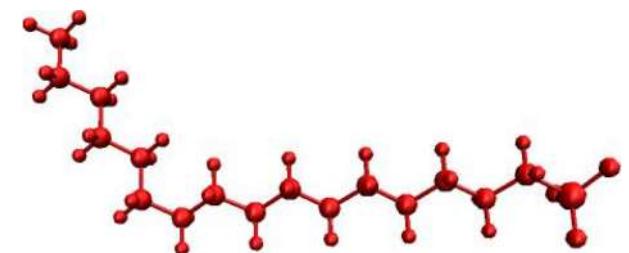


Conformación, configuración y pose.

Dos diferentes poses para un ligando.

Pose:

Es una configuración de un conformación de una molécula en un sistema de coordenadas.





Superficies y Cavidades

Determinación de superficies

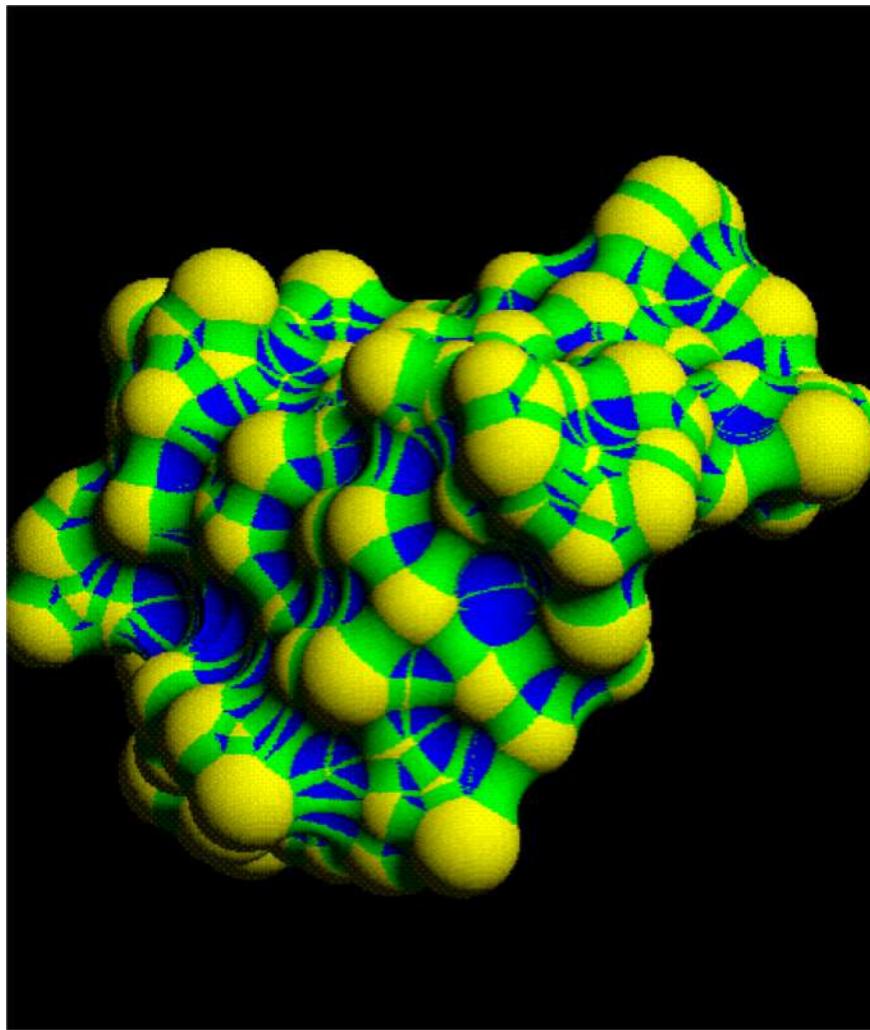
Representación de la Superficie, que representa eficientemente la superficie de docking e identifica las regiones de interés (cavidades y protrusiones)

- Superficie de Connolly.
- Técnica de Lenhoff.
- Agrupación de Esferas de Kuntz et al.
- Formas Alpha.

Correspondnencia de Superficies que optimiza dos superficies con un puntaje de unión:

- Geometric Hashing

Representación de Superficies



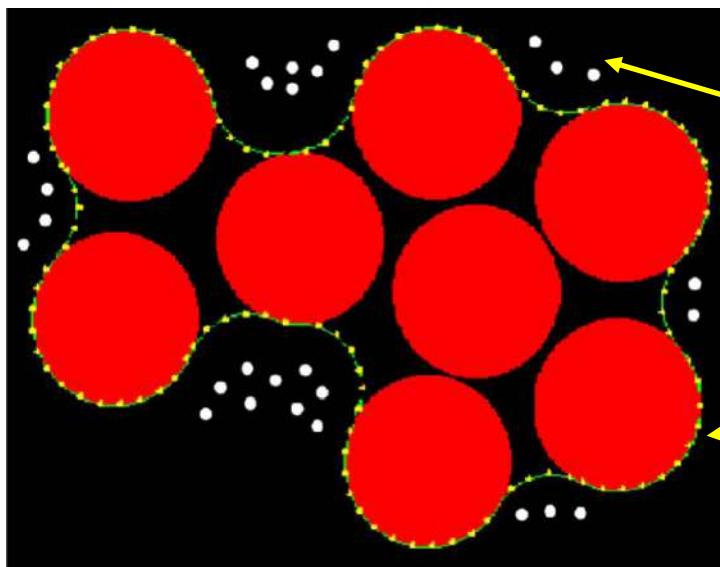
Cada esfera atómica esta dada por el radio de van der Waals para cada átomo.

Rodando una esfera de prueba sobre la superficie de Van der Waals genera la superficie accesible al solvente o superficie de **Connolly**.

MSMS

Técnica de Lenhoff.

Calcula una superficie “complementaria” para el receptor en lugar de la superficie de Connolly surface, por ejemplo calcula las posibles posiciones para los centros de los átomos de un ligando.



Centros de átomos de un ligando.

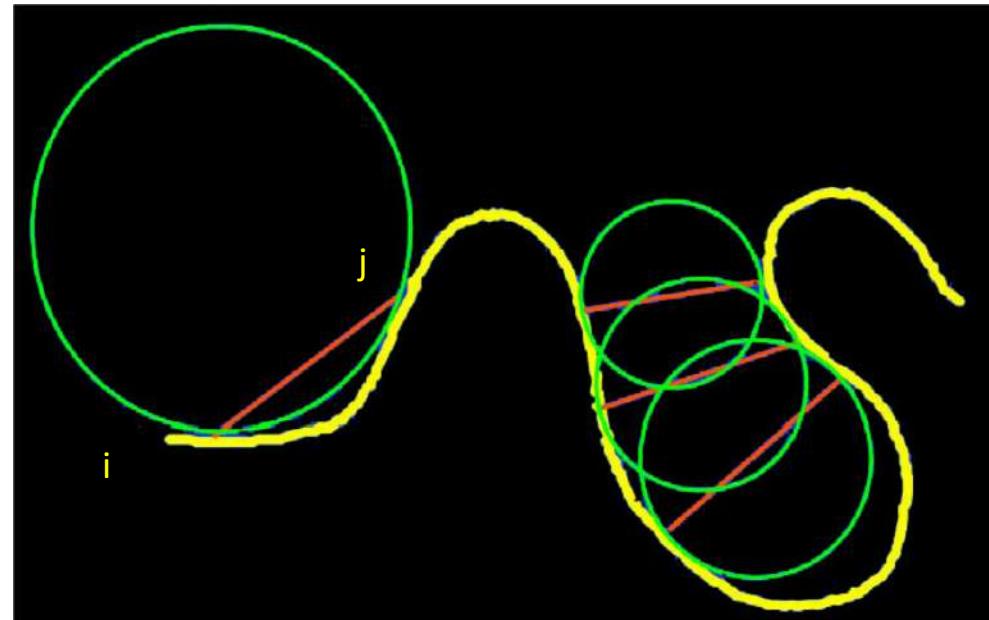
Superficie de van der Waals.

Agrupación de Esferas de Kuntz et al.

Usa esferas agrupadas para identificar cavidades en un receptor y protrusiones en un ligando.

Calcula una esfera por cada par de puntos de superficie, i y j, con el centro de la esfera en la normal desde el punto i.

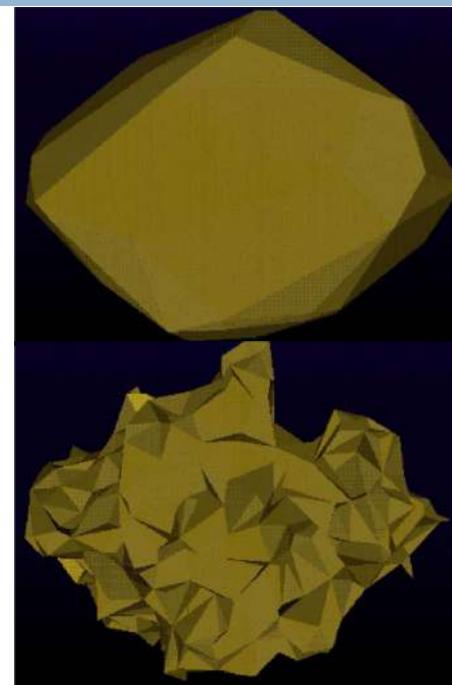
Las regiones donde muchas esferas se solapan son cavidades en el receptor o protrusiones en ligando.



Formas Alfa.

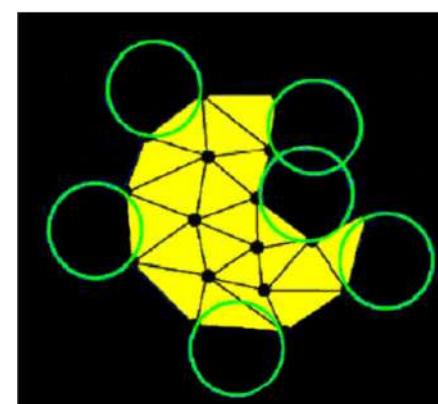
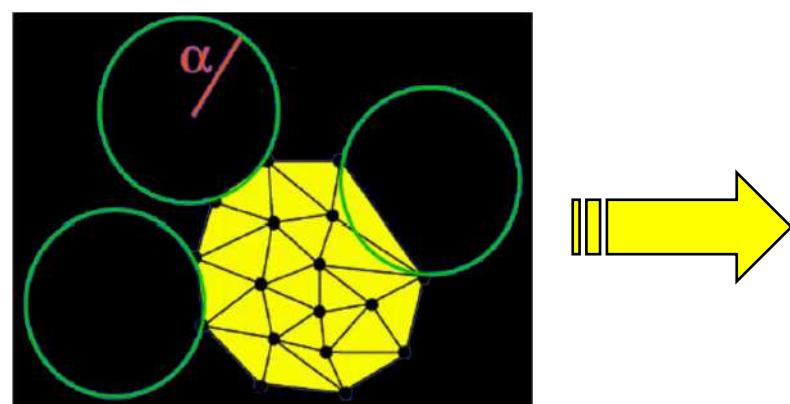
Formaliza la idea de “forma”.

En 2D un eje entre dos puntos es “alfa-expuesto” si existe un círculo de radio alfa así que dos puntos se unen en la superficie del circulo y el circulo no contiene otros puntos de la superficie.



Alfa=Infinito Å

Alfa=3.0 Å

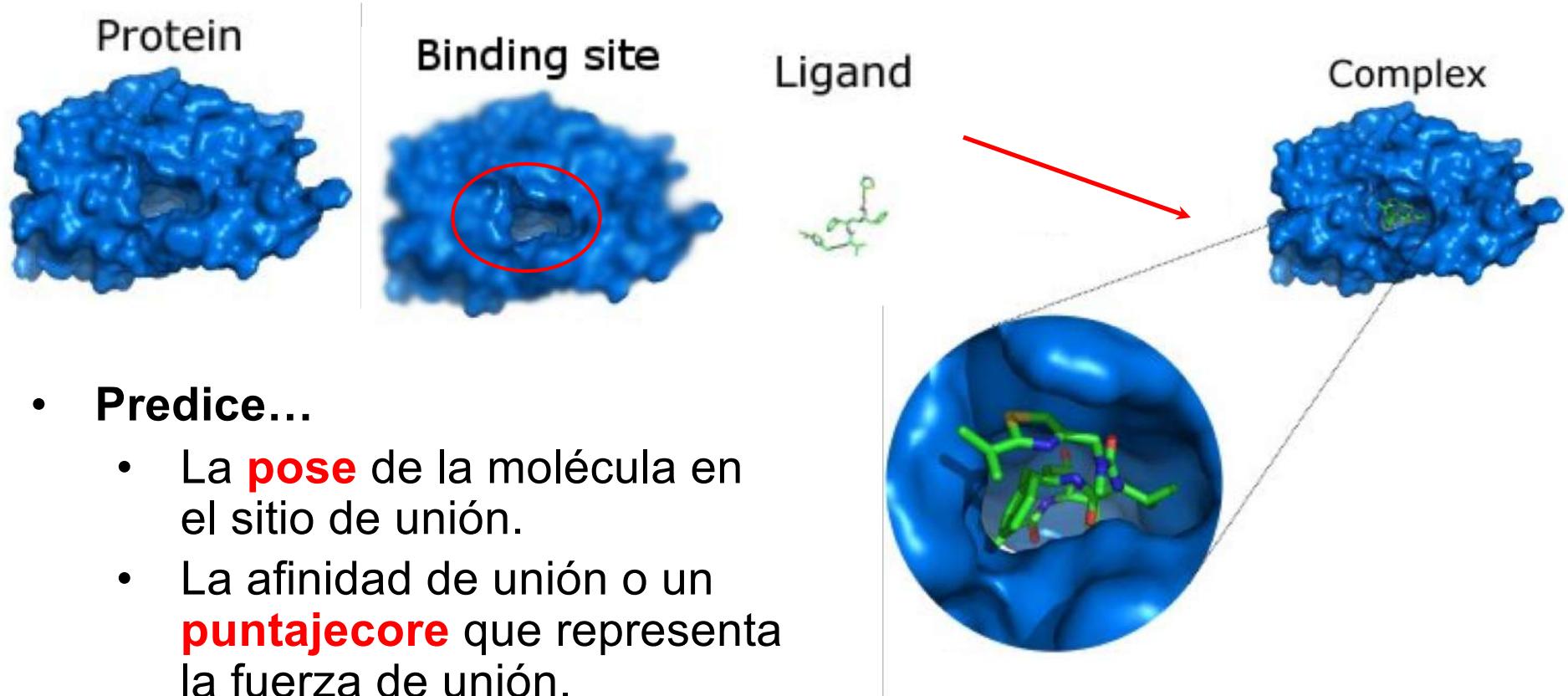


Docking de Proteína-ligando

El método de diseño de fármacos basados en estructura (SBDD)
method

“Estructura” se refiere a “utilizar una estructura de una proteína”

Método computacional que mimetiza la unión de un ligando a una proteína.



Pose vs. Sitio de Unión

Sitio de Unión (o “Sitio activo”)

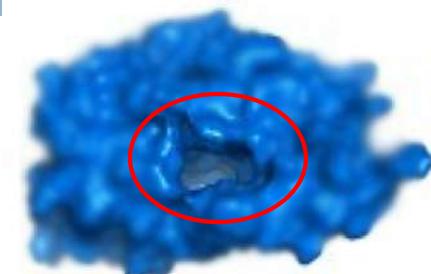
- Es la parte de la proteína donde el ligando se une.
- Generalmente una cavidad en la superficie de la proteína.
- Se puede identificar al observar el cristal de una estructura de la proteína enlazada a un inhibidor conocido.

Pose (o “Modo de unión”)

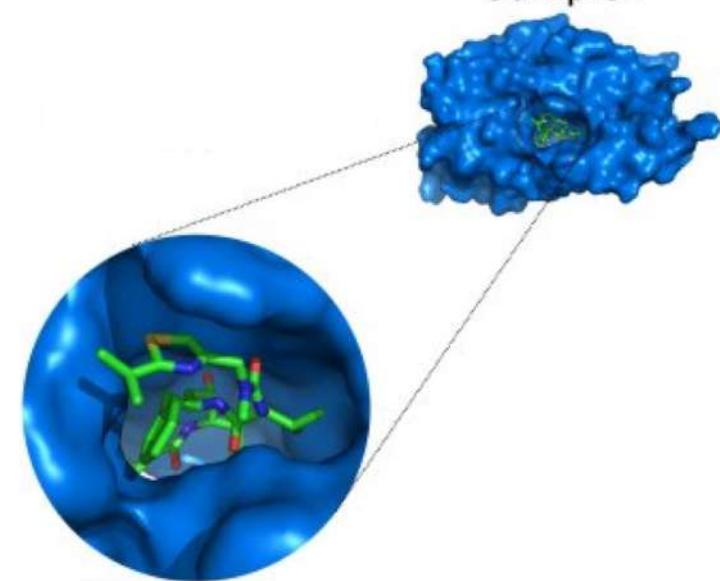
- Es la geometría del ligando en el sitio de unión
- Geometría = **localización, orientación y conformación**

Docking de Proteína-ligando no se utiliza para identificar el sitio de unión

Binding site



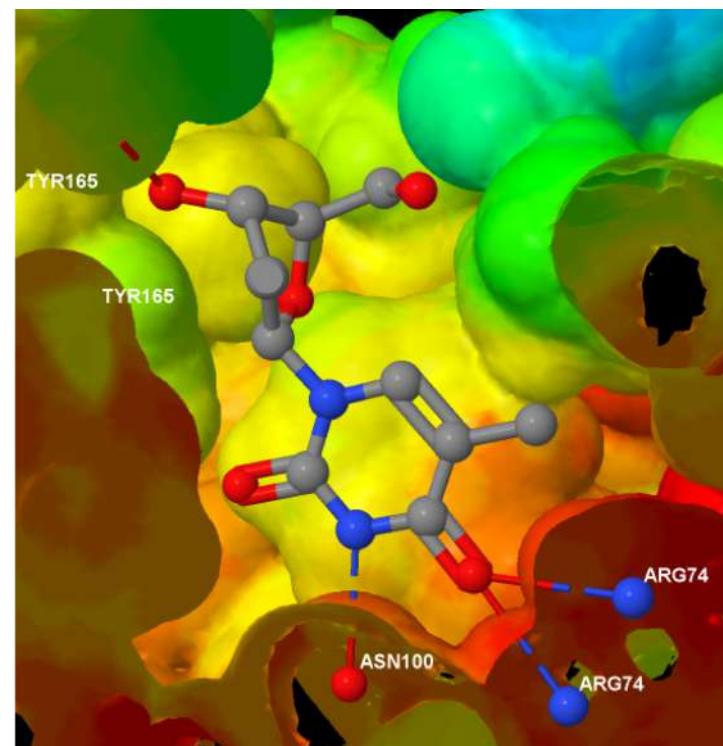
Complex



Usos de docking

El principal uso del docking de proteína-ligando es para:

- ❑ **Barrido virtual**, para identificar potencial compuestos guías desde un gran grupo de moléculas de diversidad.
- ❑ **Predicción de la pose.**
 - Si conocemos exactamente donde y como se une un ligando...
 - Nosotros podemos identificar que parte del ligando son importantes para la unión.
 - Podemos sugerir cambios para modular la afinidad.
 - Impedir cambios que ueden solaparse con la proteína e inestabilizar la unión.



Barrido Virtual de Moléculas

El barrido virtual es el análogo in silico o computacional de un barrido biológico con HTS.

La meta es asignar un **puntaje**, **ranquear** o **filtrar** un grupo de estructuras químicas usando uno o más procedimientos químicos

El Docking es sólo una vía más para realizar esto.

También puede ser utilizado:

- ❑ Para ayudar a decidir que componentes analizar con otros experimentos
- ❑ Qué bibliotecas sintetizar.
- ❑ Que componente comprar a una compañía externa.
- ❑ Para analizar los resultados de un experimento, así como una corrida HTS.



Software Docking Molecular

Available Docking Software

AutoDock (Olson et al 1990, Morris et al 1998)

Vina ()

DOCK (Kuntz et al, 1982, Ewing & Kuntz 2001)

FlexX (Rarey et al 1996)

Hammerhead (Welch et al 1996)

Surflex (Jain 2003)

SLIDE (Kuhn et al 2002)

ICM (Abagyan et al 1994)

MCDock (Liu & Wang 1999)

GOLD (Jones et al 1997)

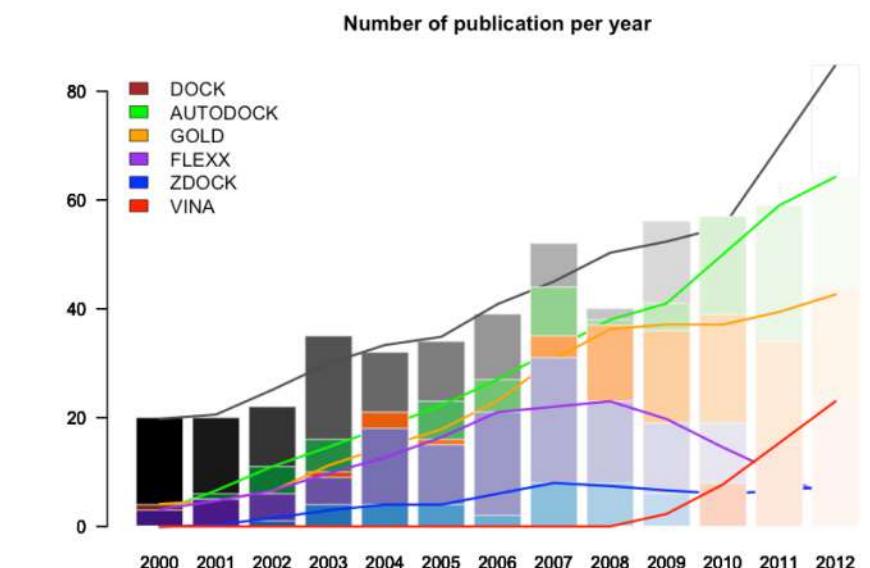
GemDock (Yang & Chen 2004)

FRED (McGann et al 2002)

Glide (Friesner et al 2004)

Yucca (Choi 2005)

•••



Components of docking software

Típicamente, el software de docking proteína-ligando posee dos componentes que trabajan en conjunto:

1. El algoritmo de búsqueda.

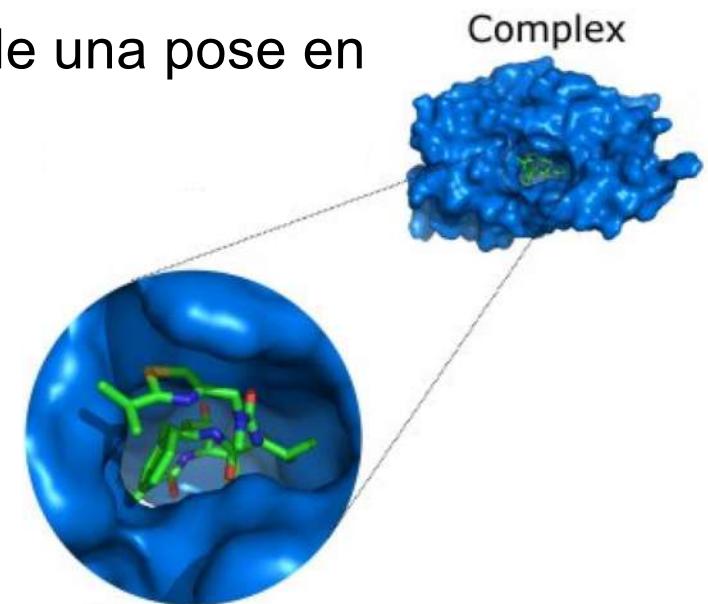
- Genera un gran número de poses de una molécula en un sitio de unión.

2. La función de Puntaje.

- Calcula un puntaje o fuerza de afinidad de una pose en particular.

- **Para dar:**

- La **pose** de la moléculas en el sitio de unión.
- La afinidad de unión o un **puntaje** representando esta fuerza de unión.



Tipos de Funciones de Puntaje

Basados en Campo de Fuerza: usa los valores de energía no enlazante desde los campos de fuerza (ejemplo AMBER y CHARMM).

Basados en Datos Empíricos: deriva desde un grupo de complejos de proteína- ligandos para los que se conoce la afinidad de unión.

Basados en Conocimiento: potenciales estadísticos de pares de átomos derivados desde las bases de datos estructurales (uso de la ley de Boltzmann)

Algoritmos de Docking Molecular

Búsqueda Estocástica:

- ▢ Algoritmo genético, acoplamiento simulado con Monte Carlo.
- ▢ AutoDock, MCDock, ICM, GOLD, Glide.

Construcción Incremental:

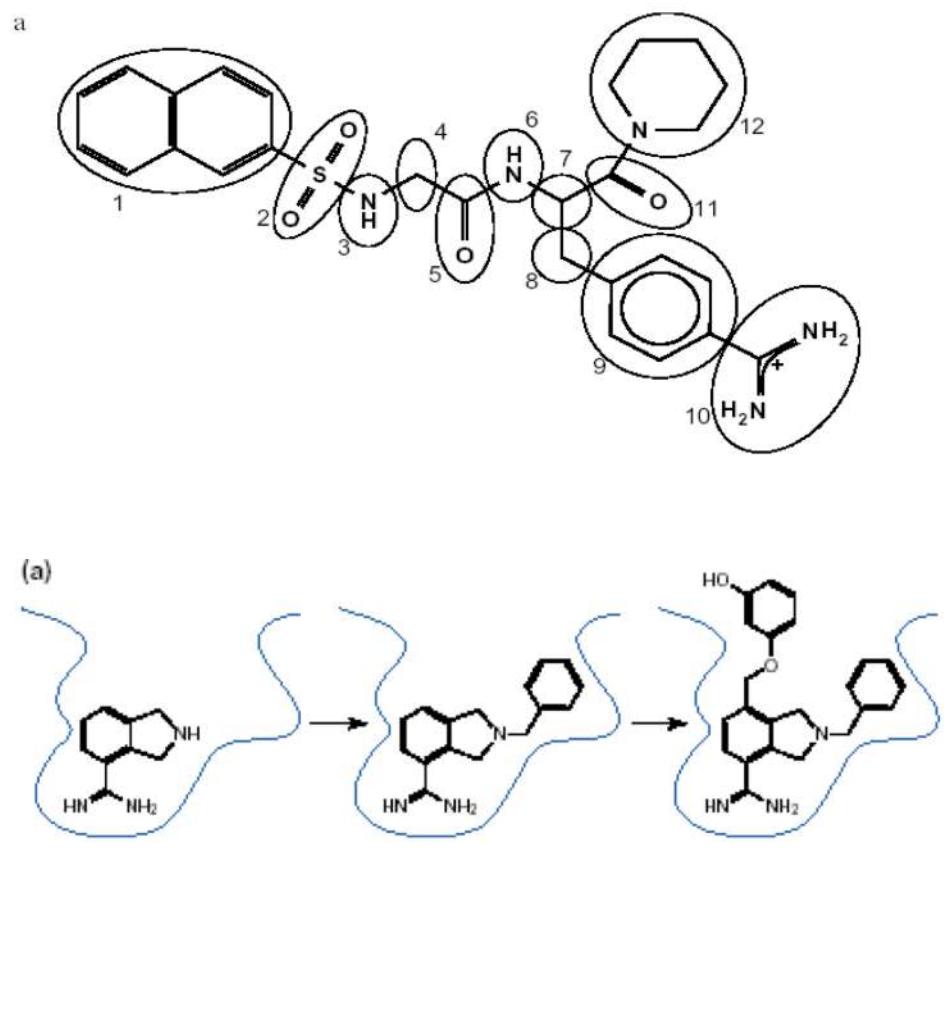
- ▢ Fragmentos rígidos con enlaces rotables.
- ▢ Incremental: preferidos ángulos de torsión.
- ▢ DOCK, FlexX, SLIDE, Surflex

Multiconformeros:

- ▢ Genera un grupo de conformeros de baja energía.
- ▢ Docking Rígido
- ▢ FLOG, FRED, Yucca.

Construcción Incremental (FlexX & DOCK)

- Fragmentación.
- Selección del fragmento base (“ancla”).
 - Especificidad
 - Posicionalidad.
- Posicionamiento del fragmento ancla.
- Adición incremental de otros fragmentos
 - Un grupo de ángulos de torsión preferidos (<13)
 - Uso de heurística en la unión de las ramas.



Preparando la estructura de la proteína

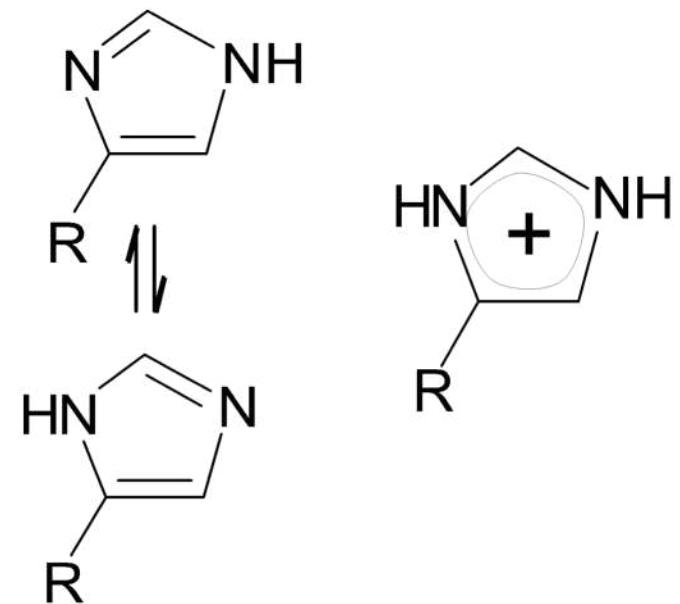
La estructura del PDB puede contener moléculas de agua

En general, **todas las moléculas de agua son removidas** excepto aquellas que juegan un rol importante en la coordinación del ligando.

Las estructuras del PDB se encuentran sin todos los **átomos de hidrógeno**

- Muchos programas de docking requieren que la proteína tengas los hidrógenos explícitos. En general estos pueden ser agregados inambiguamente, excepto en el caso de las cadenas laterales de los ácidos/bases

- Un asignamiento incorrecto en los **estados de protonación** puede producir resultados erróneos.
- Glutamato, Aspartato tienen COO- o COOH
 - OH es un enlace donador de hidrógenos, O- no lo es.
- Histidina es una base y su forma neutral posee dos tautómeros

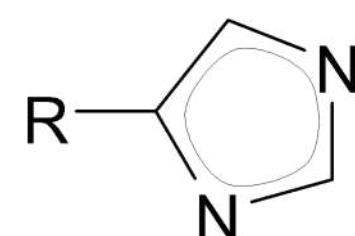
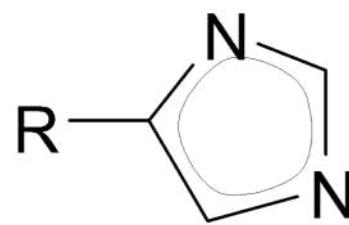
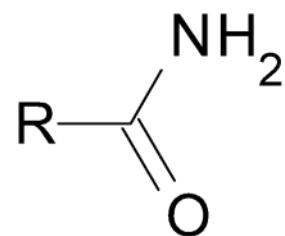
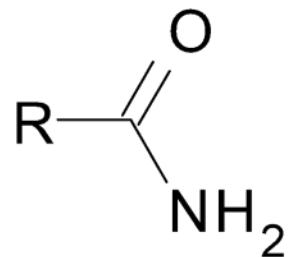


Preparando la estructura de la proteína

Para algunas cadenas laterales, la estructura del PDB puede estar incorrecta.

Cristalografía otorga la densidad electrónica, no la estructura molecular

En proteínas resueltas a baja resolución, **grupos isoelectrónicos** pueden hacer difícil la determinación de la estructura correcta



Esto afecta a aspárragina, glutamina, histidina.

Es importante porque afecta los patrones de enlace de hidrógenos

Se podría necesitar **voltear grupos amidas o imidazol**.

- Como decidir? Observan los patrones de enlace de hidrógeno de los ligandos en estructuras cristalográficas.

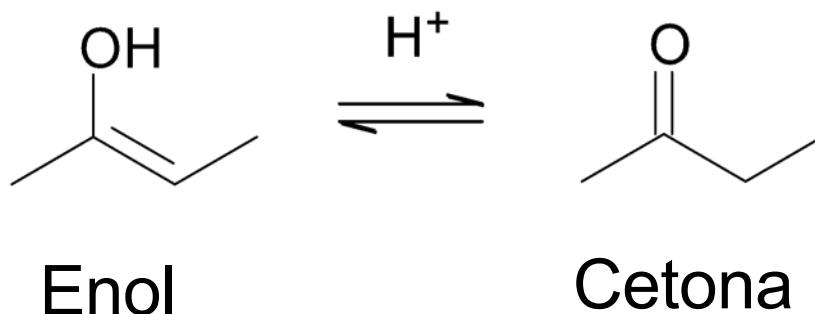
Preparación del ligando

Una **estructura 3D razonable** es requerida como un punto de inicio.

- Durante el docking, los largos de enlace y ángulos en los ligandos son mantenidos fijos; sólo los ángulos de torsión son modificados.

El estado de **protonación** y la forma **tautómerica** de un ligando particular podría influir su habilidad para enlazar hidrógenos.

- Se puede protonar como es esperado a un pH fisiológico y utilizar un simple tautomero.
- O generar todos los posibles estados de protonación y tautomeros y retener aquellos con un mayor puntaje.



El espacio de búsqueda

La dificultad del docking de proteína–ligandos es en parte debido a que involucra **muchos grados de libertad**.

- Las traslación y la rotación de una molécula relativa a otra involucra seis grados de libertad.
- Además se debe incluir los grados de libertad de la proteína y del ligando.
- El solvente también podría tener un rol relevante en la determinación de la geometría de la proteína-ligando.

El algoritmo de búsqueda genera poses, orientaciones de una particular conformación de la molécula en un sitio de unión.

- Estos intentan cubrir el espacio de búsqueda, si no es exhaustivo, lo más extensivamente posible.
- Se debe buscar un equilibrio entre tiempo de computo y cobertura del espacio de búsqueda.

Conformaciones de los ligandos

Las conformaciones son diferentes estructuras 3D de moléculas que resultan de la rotación de enlaces simples.

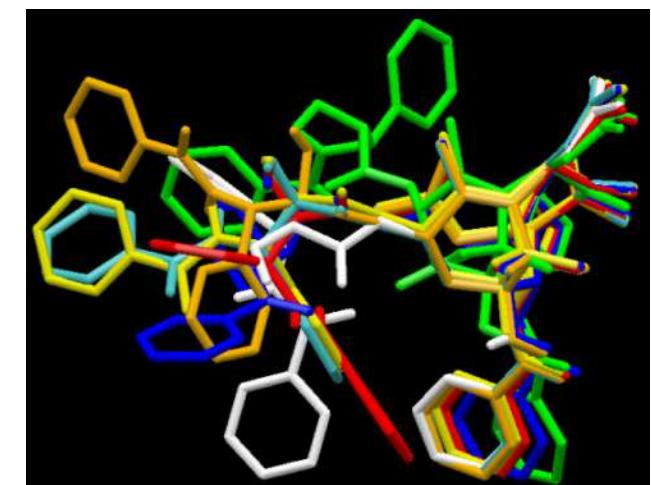
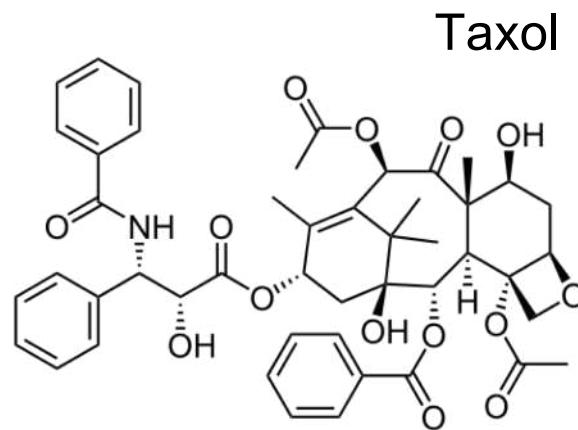
- Los ligando tienen los mismos largos de enlaces y ángulos, pero ángulo de torsión diferentes

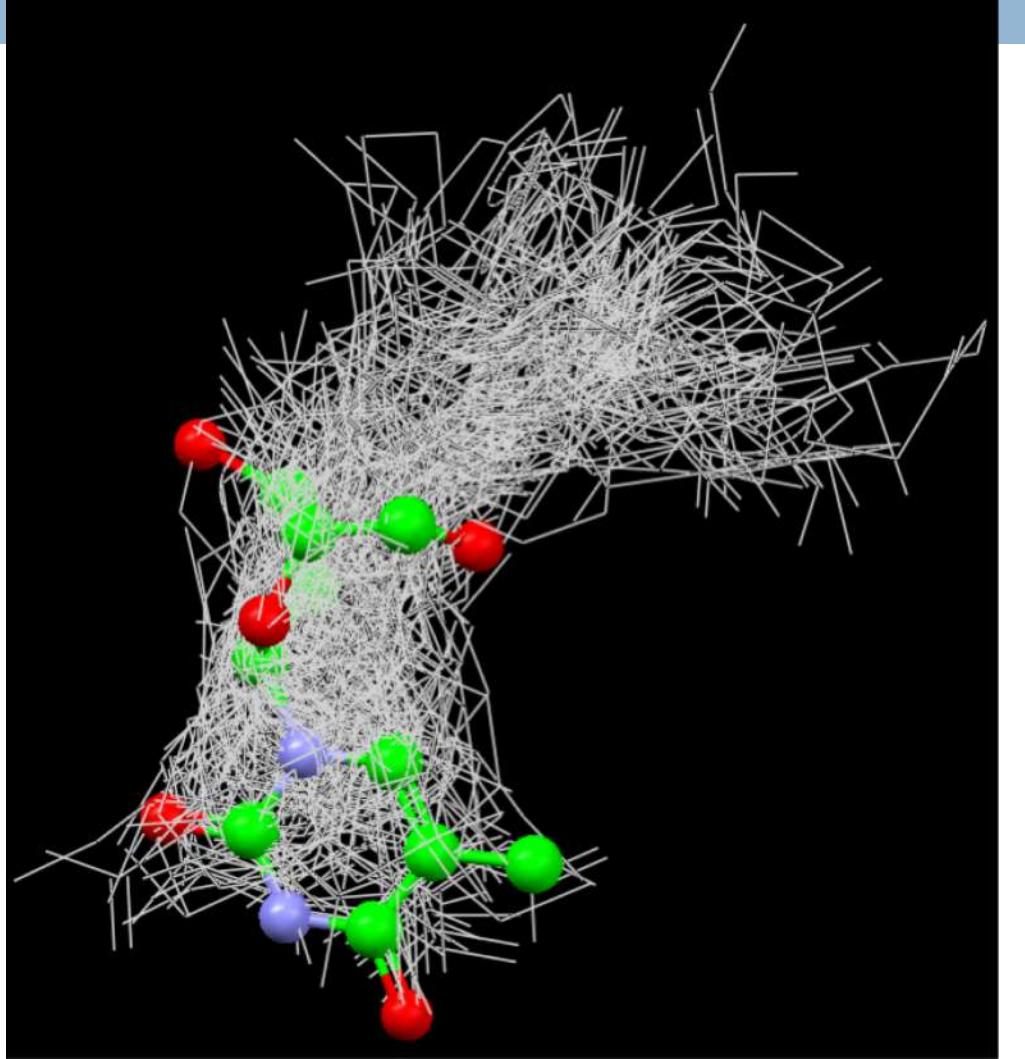
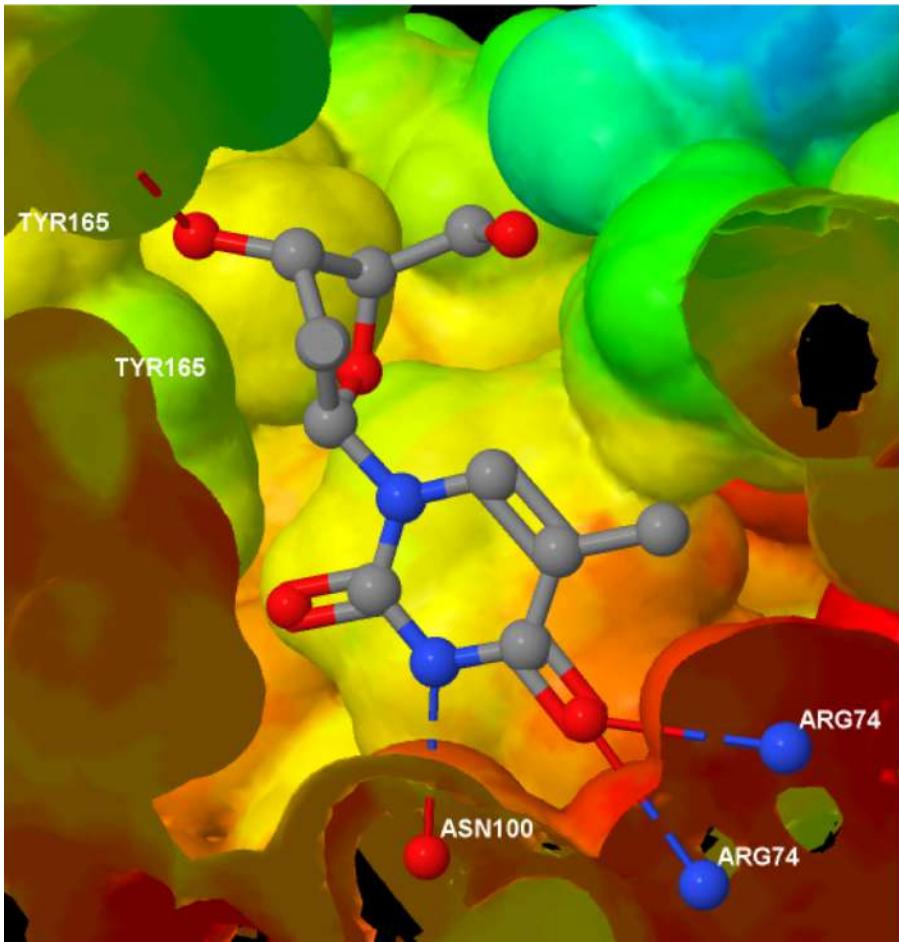
Para una moléculas con N enlaces rotables, si cada ángulod e torsión es rotado en un incremento de θ grados, el número de conformaciones es $(360^\circ / \theta)^N$

- Si los ángulos de torsión son incrementados en pasos de 30° , esto quiere decir que una molécula con 5 enlaces rotables tiene $12^5 \approx 250K$ conformaciones.

El tener muchos enlaces rotables resulta en una “explosión de combinatoria”

Los anillos también tiene conformaciones





Algoritmos de Búsqueda

Nosotros podemos clasificar los algoritmos de búsqueda de acuerdo a los grados de libertad que ellos consideran. **Docking rígido o docking flexible.**

- Con respecto a la estructura del ligando.

Docking rígido.

El ligando es tratado como una estructura rígida durante el docking.

- Sólo los grados de libertad translacional y rotacional son considerados.

Para tratar el problema de las conformaciones del ligando, un gran número de conformaciones de cada ligando son generadas y cada una es dockeada separadamente.

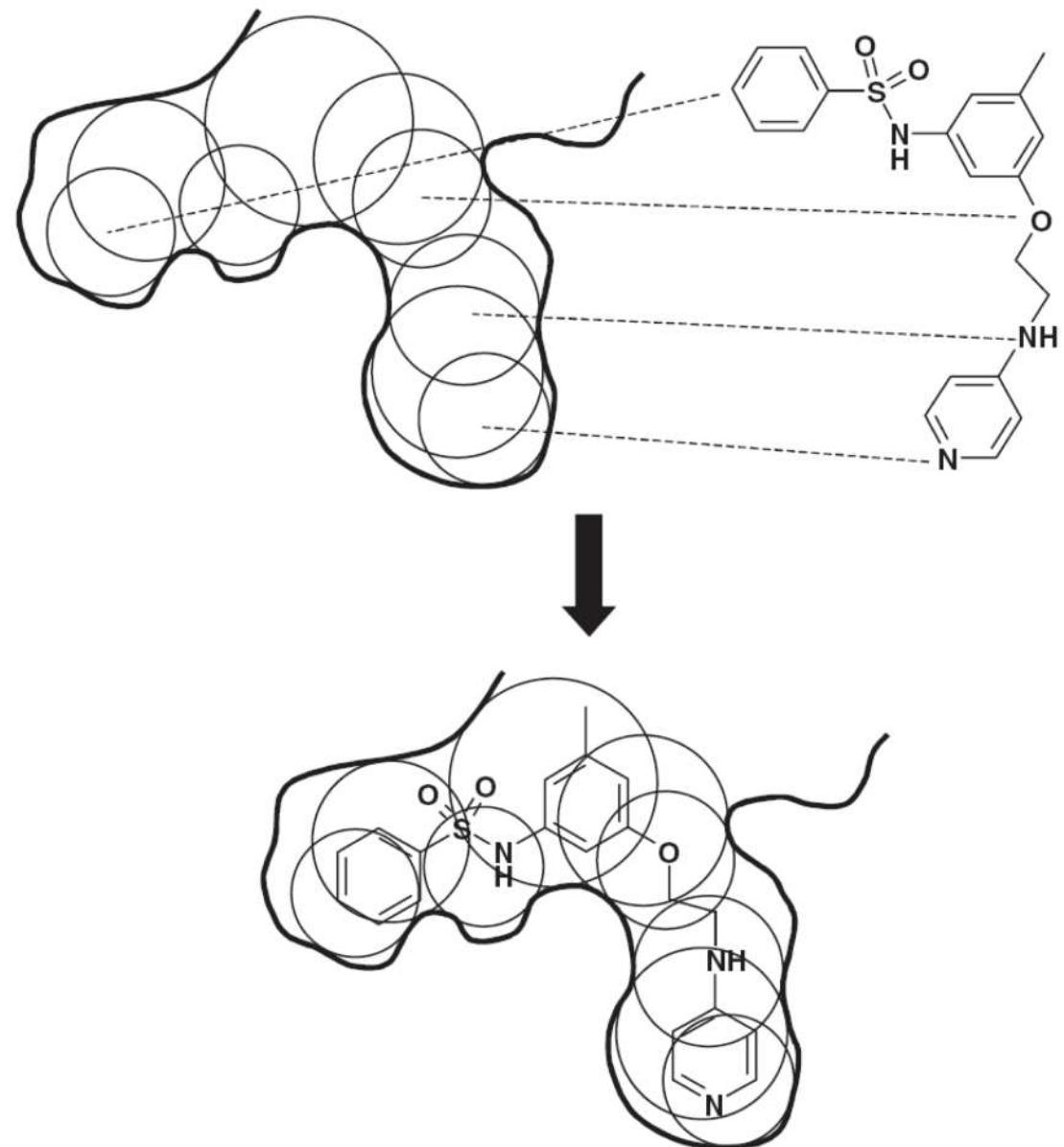
Ejemplos: FRED (Fast Rigid Exhaustive Docking) de OpenEye, y DOCK.

El algoritmo de DOCK

El algoritmo de DOCK desarrollado por Kuntz y colaboradores es considerado uno de los mayores avances en el docking de proteínas ligandos. [Kuntz et al., *JMB*, 1982, 161, 269]

Las primera versiones del algoritmo de DOCK sólo consideraban docking de cuerpo rígido y fue diseñado para identificar moléculas con un alto grado de complementariedad de forma con el sitio de unión de ligandos.

Las primeras versiones de DOCK incluían la construcción de una “imagen negativa” del sitio de unión consistente de una serie de esferas solapadas de radio variable, derivadas desde la superficie molecular de la proteína.

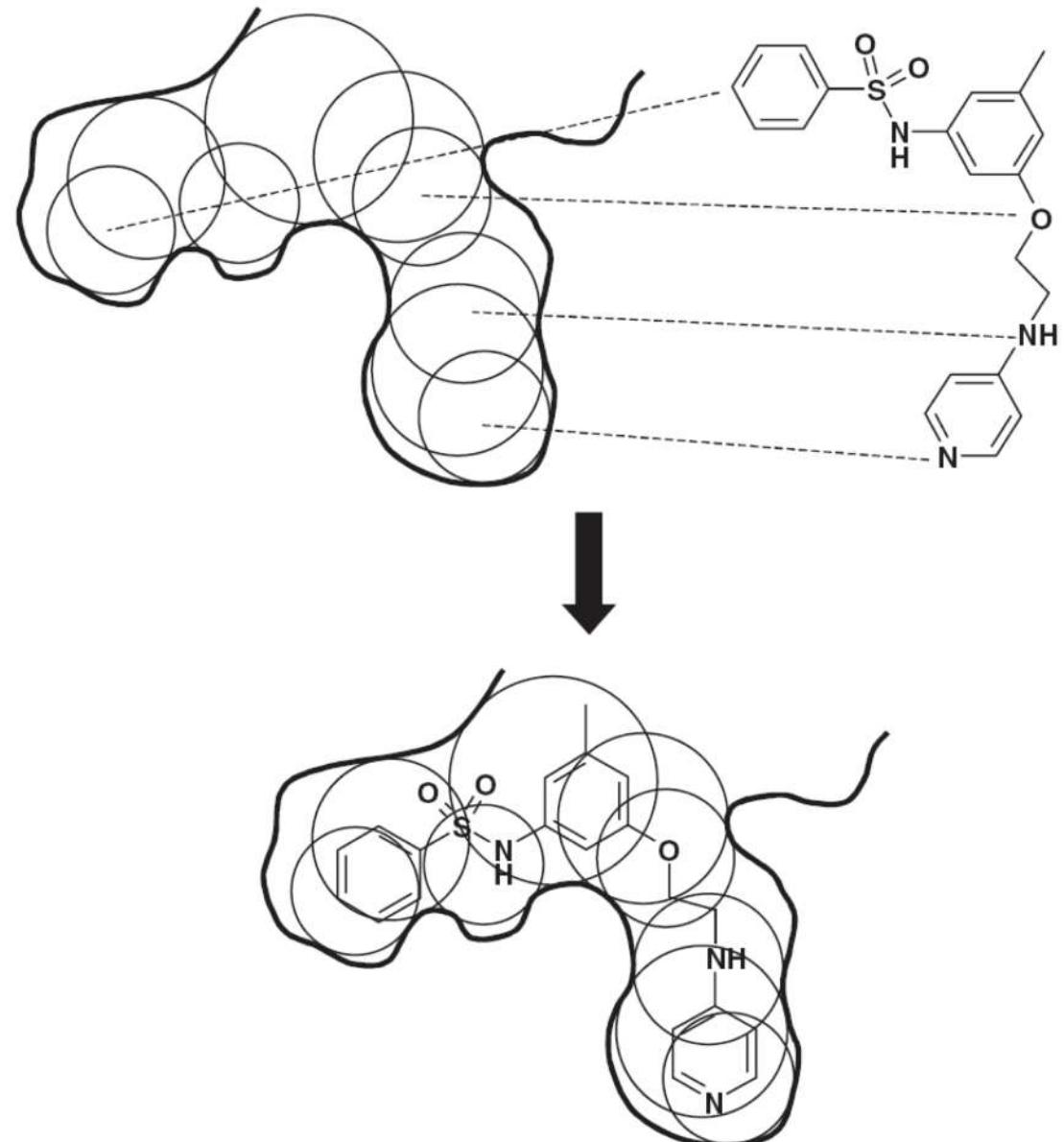


El algoritmo de DOCK

Los átomos de ligando son luego superpuestos a los centros de las esferas de forma que la distancia entre los átomos sea igual a las distancias entre los correspondientes centros, dentro de alguna tolerancia.

La conformación del ligando es luego orientada dentro del sitio de unión. Después se observa si existen impedimentos estéricos y luego es asignado un puntaje.

Nuevas orientaciones son producidas por la generación de un nuevo grupo de átomos de ligandos que se sobreponen a los centros de las esferas. Tel procedimiento continua hasta que todo los posibles ligandos han sido considerados.



Docking Flexible

Docking flexible es la forma más común de docking.

- Las conformaciones de cada molécula son generadas “al vuelo” por el algoritmo de búsqueda durante el proceso de docking.
- El algoritmo evita conformaciones que no calcen.

Búsqueda exhaustiva (sistemática) es computacional costosa a medida que el espacio de búsqueda incrementa.

Una aproximación común es utilizar **búsqueda estocástica**:

- Estas no garantizan una solución óptima, pero sí una buena solución dentro de un tiempo razonable.
- El término estocástico quiere decir que incorporan un grado de aleatoriedad.
- Estos algoritmos incluyen **algoritmos genéticos** (GOLD), “**simulated annealing**” (AutoDock).

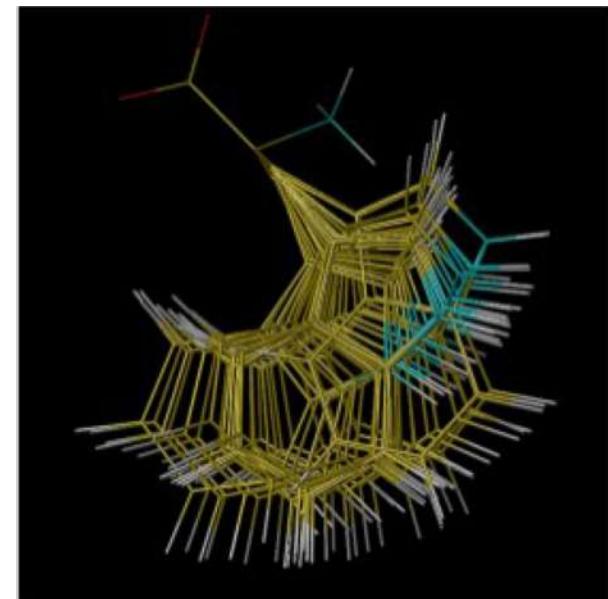
Una alternativa es el uso de métodos de **construcción incremental**:

- Estos construyen conformaciones del ligando dentro del sitio de unión en una serie de estados.
- Primero uno o más “fragmentos base” son identificados cuando son dockeados en el sitio de unión.
- Las orientaciones de los fragmentos bases luego actúan como anclas para un análisis conformacional sistemático del resto de los ligandos (FlexX).

Manipulando las conformaciones de la proteína

La mayoría de los softwares de docking tratan a la proteína como rígida:

- Aproximación del Receptor Rígido.
 - Esta aproximación puede ser invalida para algunos complejos en particular como...
 - Las proteínas se pueden deformar ligeramente para acomodar diferentes ligandos (**posicionamiento inducido por el ligando**).
 - Las cadenas laterales de las proteínas en el sitio activo puede adoptar diferentes conformaciones.
-
- Algunos programas de docking permiten la flexibilidad de las cadenas laterales:
 - Por ejemplo, las cadenas laterales seleccionadas están bajo una rotación torsional alrededor de los enlaces acíclicos
 - Aumento del espacio de búsqueda.
 - Movimientos mayores de proteínas sólo pueden ser realizados en docking separados para proteínas en distintas conformaciones.



La función de puntaje

Calcula la precisión de la **afinidad de unión**.

- ❑ Ligandos activos pueden ser identificados por barrido virtual.
- ❑ Nos permite ranquear los ligandos en términos de afinidad.

Puntaje de las poses de una molécula activa de una NO activa.

- ❑ Puede discriminar entre las moléculas que son ligandos activos y aquellos que no.

El puntaje de la **pose correcta** de la activa debe ser mayor a las pose incorrectas

- ❑ Las pose correctas del activo deberían ser identificados

“Activos” = moléculas con actividades biológicas

Función de puntaje empírica de Böhm's

- En general, las funciones de puntaje asumen que la **energía libre de unión** puede ser escrita como una **suma de términos lineales** que reflejan la contribución de varios parámetros a la unión.

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_0 + \Delta G_{hb} \sum_{h-bonds} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{ionic} \sum_{ionic interactions} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{lip} |A_{lip}| + \Delta G_{rot} NROT$$

Los valores de ΔG en la parte derecha de la ecuación son todos constantes.

ΔG_0 es la contribución a la energía de unión que no es producto de alguna interacción específica con la proteína.

Los términos de puentes de hidrógeno y términos iónicos son ambos dependientes de la geometría de la interacción, con largas desviaciones de la geometría ideal que son penalizadas (distancia ideal R , ángulo ideal α).

El término lipofílico es proporcional a la superficie del área de contacto (A_{lip}) entre la proteína y el ligando incluyendo átomos no polares.

El término de entropía conformacional es la penalidad asociada con la pérdida de las rotaciones translacionales del ligando. Esta es altamente entrópica en la naturaleza. Aquí su valor es directamente proporcional al número de enlaces rotables del ligando ($NROT$).

Función de puntaje empírica de Böhm's

$$\begin{aligned}\Delta G_{bind} = & \Delta G_0 + \Delta G_{hb} \sum_{h-bonds} f(\Delta R, \Delta \alpha) \\ & + \Delta G_{ionic} \sum_{\substack{\text{ionic} \\ \text{interactions}}} f(\Delta R, \Delta \alpha) \\ & + \Delta G_{lipo} |A_{lipo}| + \Delta G_{rotNROT}\end{aligned}$$

La función de puntaje es una función **empirica**

▫ Empirica = incorpora algún dato experimental

Los coeficientes (ΔG) en la ecuación fueron determinados utilizando **regresión lineal múltiple** desde los datos experimentales de 45 complejos de proteína-ligando.

Aunque los términos en la ecuación pueden diferir, esta aproximación general ha sido aplicada para el desarrollo de otras funciones de puntaje empíricas.

Potenciales Basados en Conocimiento

Potenciales estadísticos.

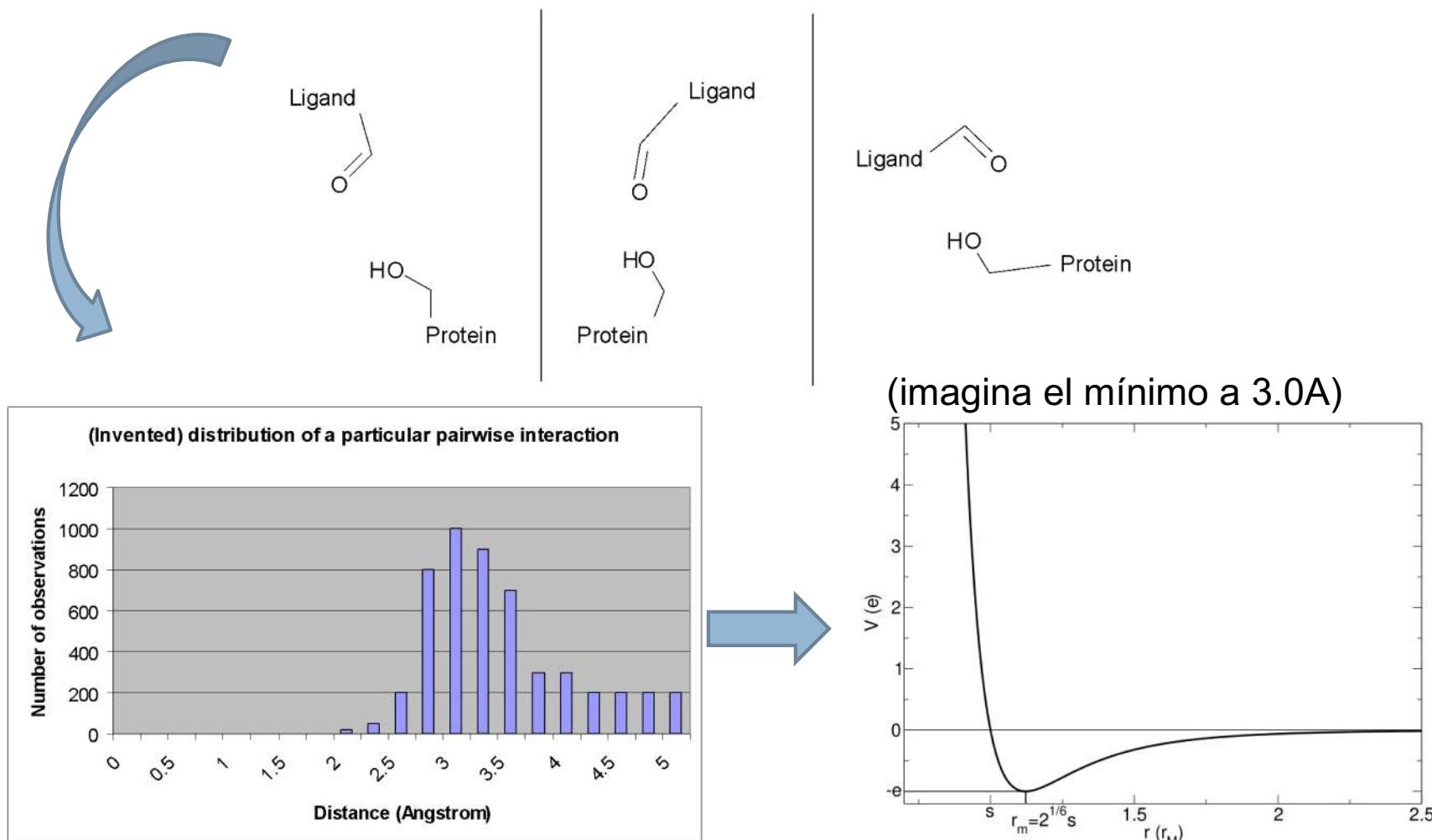
Basados en la comparación entre el número de contactos observados entre ciertos átomos de tipos (ejemplo. Oxígenos con hibridización sp^2 en el ligando y carbonos aromáticos en la proteína) y el número de contactos esperados si no existiese interacción entre los átomos (estados de referencia).

Derivados desde un análisis de pares de interacciones no enlazantes entre proteínas y ligandos desde el PDB

- Distribuciones observadas de las geometrías de los ligandos en las estructuras cristalizadas son usadas para deducir el potencial que genera la distribución
- Entonces obtenemos un potencial “basado en conocimiento”.

Potenciales Basados en Conocimiento

Por ejemplo, creando las distribuciones de los oxígenos carbonil del ligando y los grupos hidroxilos de una proteína:



Potenciales Basados en Conocimiento

Algunos pares de interacciones podrían ocurrir raramente en el PDB.

- La distribución resultante podría ser inadecuada

No rescata la información de la direccionalidad de las interacciones, ej. Puentes hidrógenos.

- Sólo basado en pares de distancias

Los puntajes resultantes contienen contribución desde un gran número de pares de interacciones.

- Difícil para identificar problemas y mejorar.

Sensibilidad a la definición de estado de referencia.

- DrugScore posee un diferente estado de referencia que ASP (Astex Statistical Potential).

Outline

Introduction to protein-ligand docking

Practical aspects

Searching for poses

Scoring functions

Assessing performance

Predicción de la precisión de la pose

Dado un grupo de activos con pose cristalográficas conocidas, pueden ser ellos posicionados adecuadamente?

Medida de la precisión por **RMSD** (root mean squared deviation) comparada a estructuras cristalográficas conocidas.

- RMSD = square root of the average of (the difference between a particular coordinate in the crystal and that coordinate in the pose)²
- Within 2.0Å RMSD considered cut-off for accuracy
- More sophisticated measures have been proposed, but are not widely adopted

In general, the best docking software predicts the correct pose about **70%** of the time

Note: it's always easier to find the correct pose when docking back into the active's own crystal structure

- More difficult to **cross-dock**

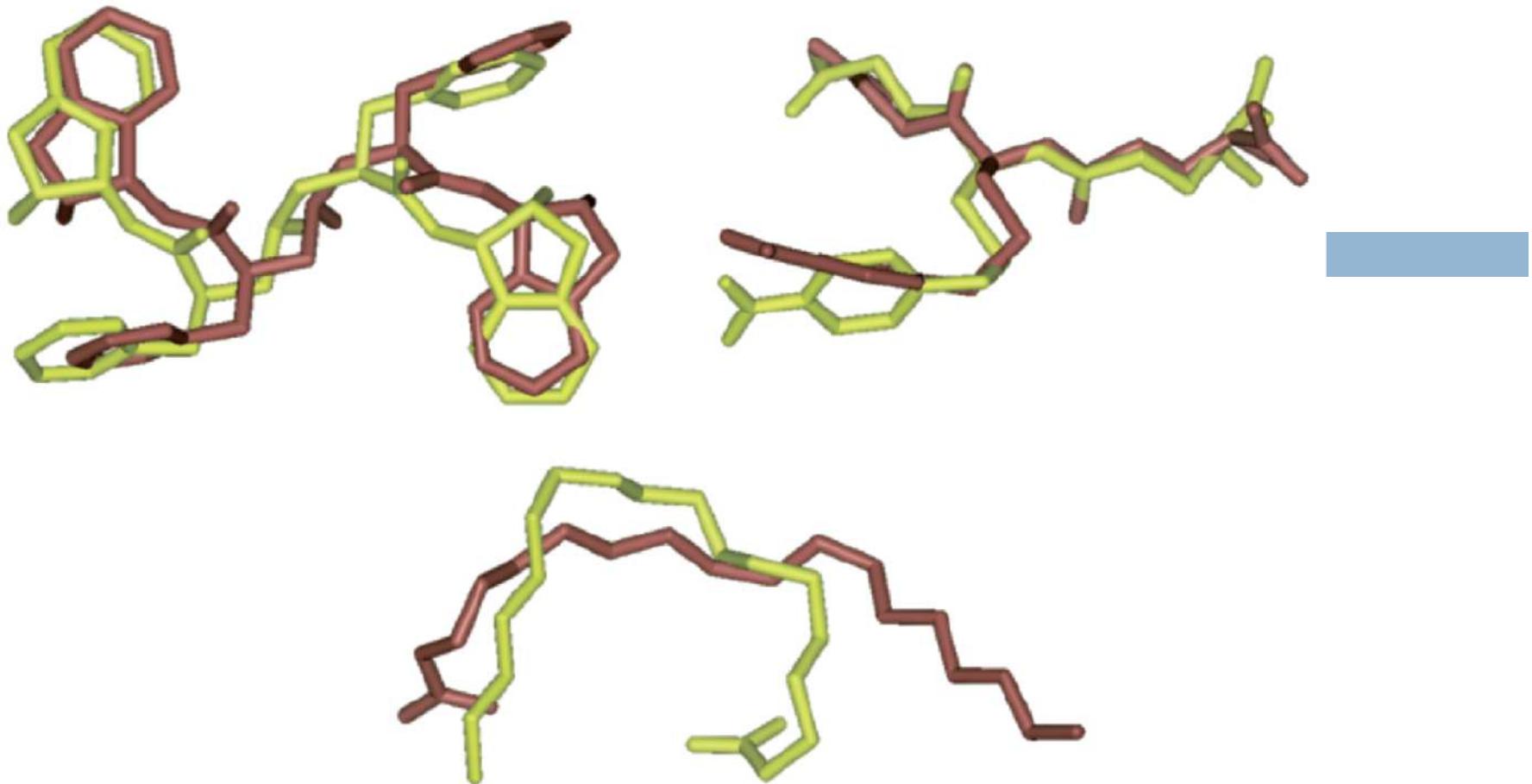


Figure 8-4. Illustration of the range of results produced by a typical docking program. Here we show the results obtained by running the GOLD program [Jones et al. 1995b] on three ligands from the PDB. In each case the x-ray conformation is shown in dark grey and the top-ranked docking result in light grey. The PDB codes for the three ligands are (clockwise, from top left) 4PHV (a peptide-like ligand in HIV Protease), 1GLQ (a nitrophenyl-substituted peptide in glutathione S transferease) and 1CIN (oleate in fatty acid binding protein). These dockings were classified as “good”, “close” and “wrong” [Jones et al. 1997].

Ensayos de la precisión de un barrido virtual

- Necesidad de un grupo de activos conocidos N_{act} y a la vez de inactivos.
- Dock todas las moléculas y ranquear por puntaje.
- Idealmente, todos los activos deberían estar en la parte alta de la lista.
 - En la práctica, se desea obtener mejoras por sobre la aleatoriedad.
- Definir **enriquecimiento**, E, como el número de activos encontrados (N_{found}) en los top X% de los puntajes (typicamente 1% o 5%), comparado con los esperado al azar.
 - $E = N_{found} / (N_{act} * X/100)$
 - $E > 1$ implica “enriquecimiento positivo”, mejor que al azar.
 - $E < 1$ implica “enriquecimiento negativo”, peor que al azar.
- Por que utilizar puntos de corte en lugar de el ranking promedio de los activos?
 - Típicamente los investigadores han testeado los recursos con otros experimentos y los compuestos se encuentran entre el top 1 a 5 % de los compuestos.
- Aproximaciones más sofisticados han sido relacionadas (como BEDROC) pero enriquecimiento es aún ampliamente utilizado.

Notas

Docking de proteína-ligandos es una herramiental esencial para el diseño racional de drogas.

- Ampliamente utilizado en compañías farmaceúticas.
- **Muchas historias de éxito** (ver Kolb et al. *Curr. Opin. Biotech.*, 2009, 20, 429)

Pero no es la panacea.

- La función de puntaje perfecto aún no ha sido encontrada.
- La precisión varía de balco a blanco, y el puntaje depende de cada función.
- Un ejemplo se puede ver desde Plewczynski et al, “Can we trust docking results? Evaluation of seven commonly used programs on PDBbind database”, *J. Comp. Chem.*, Online 1 Sep 2010.

Algunos cuidados se deben tener al preparar la proteína y los ligandos.

Trata de recolectar la mayor información y usala, esto mejora tus oportunidades.

La biblioteca de balncos, los docking con restricciones, el filtrado de poses, la utilización de activos conocidos, la comprarción con poses del cristal ayuda.



Docking Proteína Proteína

ZDOCK y CLUSPRO

Identificación de nuevos fármacos

Aunque la mayoría de las drogas son moléculas pequeñas y las más prevalentes en terapéutica, fármacos que son proteínas poseen un rápido crecimiento en el área de las farmacéuticas.

Los medicamentos en bases a proteínas puede ser más costosas (en términos of I+D y síntesis) pero puede abarcar mecanismos de acción que no pueden ser logrados con moléculas pequeñas.

Medicamentos basados en proteínas están disponibles en el mercado.

Una estimación conservativa: se puede estimar que existen entre 3,000 y 10,000 posibles candidatos a drogas.

Muchos de estos nuevos blancos ofrecen grandes oportunidades para el desarrollo de fármacos.

En 2002, las compañías de drogas vendieron cerca de \$33 billones en drogas basadas en proteínas.

Con un crecimiento anual de 12.2%, se espera que las ventas sean de \$71 billones en 2008.

Ejemplos de blancos populares de fármacos:

1) Receptores acoplados a proteína G.

Los compuestos pueden tener la habilidad de inhibir(antagonista) o estimular (agonista) a su receptor.

2) Proteínas quinasas.

Son compuestos que pueden inhibir a proteínas quinasas.

Part I: Filtro de Energía Libre

Meta: identificar conformaciones docked con buena complementaridad de superficie utilizando la selección de energías de desolvatación y electrostáticas.

La complementaridad de superficies es un criterio importante debido a la observación que las proteínas tienden a internalizar grandes áreas en la formación de sus complejos.

Los potenciales electrostáticos y de desolvatación (capturan la energía libre de la asociación) son utilizados independientemente desde diferentes mecanismos de unión que son gobernados por diferentes radios de contribución electrostática/desolvatación.

500 estructuras con valores bajos de desolvatación son retenidos.

1500 estructuras con baja electrostática son retenidas.

Electrostática es más sensible a pequeñas perturbaciones en las coordenadas.

No se puede combinar desolvatación con electrostática debido al comportamiento poco estable de los potenciales electrostático.

Part II: Agrupamiento basado en Pares de RMSD

Al examinar los perfiles de energía libre de complejos de receptores ligandos: el sitio de unión nativo es caracterizado por un mínimo local.

En otras palabras, la conformación más probable se espera que este alrededor de otras conformaciones de baja energía.

Meta: para utilizar un agrupamiento jerárquico para seleccionar un ranking de conformaciones dockeadas con la mayoría de las conformaciones vecinas en un agrupamiento con un radio definido (en términos de RMSD para C-alfa).

Procedimiento:

- 1) Need to define fixed molecule (receptor) and flexible molecule (ligand)
- 2) Define a set of relevant ligand residues to be within 10 Angs of any atom in receptor
- 3) For each docked conformation X, calculate its pairwise ligand RMSD with 1999 other conformations
 - Pairwise ligand RMSD = deviations between coordinates of X's defined set of ligand residues and corresponding coordinates of another conformation
- 4) Cluster the set of 2000 docked conformations using a 2000 by 2000 matrix of RMSD values, and a cluster radius constraint of 9 Angs RMSD from the center
- 5) Pick largest cluster rank cluster center remove conformations within this cluster from matrix
- 6) Pick next largest cluster -> rank cluster center remove conformations within this cluster from matrix keep iterating until matrix is empty

ClusPro Web Server

Input: PDB files of the 2 protein structures that user would like to analyze in terms complex formation

Output: 10 (default) top predictions of docked conformations closest to native structure

First, docking of the 2 proteins is performed using 2 established FFT-based docking programs (DOT and ZDOCK)

Then, filtering and discrimination is performed

Server allows for customization of parameters:

- ❑ Clustering radius
 - Smaller protein □ smaller radius maybe more suitable
- ❑ Relative number of desolvation and electrostatic best hits used during filtering
- ❑ Number of predictions to generate (1-30)

ZDOCK

ZDOCK SERVER

[ZDOCK](#) [M-ZDOCK](#) [Help](#) [Tools](#) [References](#)

Input Protein 1: PDB ID:

Input Protein 2: PDB ID:

Enter your email:

Optional:

Select ZDOCK version: ZDOCK 3.0.2

Skip residue selection:

Submit

ZDOCK SERVER

[ZDOCK](#) [**M-ZDOCK**](#) [Help](#) [Tools](#) [References](#)

M-ZDOCK: Symmetric Multimer Docking

Input Protein: PDB ID:

Select Symmetry:

Enter your email:

Optional:

Skip residue selection:

ClusPRO



The image shows the ClusPro protein-protein docking interface. At the top left, the logo "ClusPro" is displayed above the text "protein-protein docking". To the right of the logo is a large, colorful 3D surface plot representing a protein-protein interface. In the bottom right corner of the plot area, there is a "sign out" link. Below the plot, the word "Dock" is centered in a bold, black font. A note in red text below "Dock" reads: "Note: Due to increased server usage, please submit no more than 20 jobs at a time." Underneath this note are two input fields: "Job Name:" followed by an empty text input box, and "Server:" followed by a dropdown menu set to "cpu". Below these fields is a section titled "Accepted PDB Input:" which states: "20 standard amino acids and RNA (as receptor only), ref: [RNA](#) Select Heparin Mode to use Heparin as Ligand." The interface is divided into two main sections: "Receptor" on the left and "Ligand" on the right. Each section has a "PDB ID:" field with an empty input box, an "Upload PDB" link, and a "Chains:" field with an empty input box. A note at the bottom of the interface states: "Whitespace separate desired chains. Leave chains blank to use all chains."

Attraction and
Repulsion
Structure
Modification
Multimer Docking
(Beta Version)
Antibody Mode
Others Mode
Heparin Ligand
Saxs Profile
Restraints

Haddock

<https://milou.science.uu.nl/enmr/services/HADDOCK/haddockserver-easy.html>

High *A*mbiguity **D**riven biomolecular **DOCK**ing

This website uses cookies to ensure you get the best experience on our website.

[Learn more](#) [Got it!](#)

EUSC-WeNMR/West-Life web portal

WeNMR home West-life home BioExcel home NMR services Support Center

WELCOME TO THE WENMR/WEST-LIFE WEB PORTAL >>

This is the easy interface to the HADDOCK docking program. Please define the structure for each molecule you want to dock as well as the residues belonging to the interaction interface. Docking is performed with default settings that work well for average complexes. If you do not have any special wishes for the system you want to have docked, this is the way to go. Unfold the menus by clicking on the double arrows. Submit your job by providing your username and password and press submit. For questions about the use of the HADDOCK portal please refer to: ask.bioexcel.eu

You may supply a name for your docking run (one word)

Name

First molecule 

Second molecule 

Structure definition

Where is the structure provided?
Which chain of the structure must be used?
PDB structure to submit
or: PDB code to download

Restraint definition

Data to drive the docking
Please supply residues as comma-separated lists of residue numbers
Active residues (directly involved in the interaction)
Passive residues (surrounding surface residues)
Define passive residues automatically around the active residues
What kind of molecule are you docking? Protein/peptide/ligand 

Username and password or [EGI Check-in](#) (You should be registered before)

Username

Password

Taller en la tarde...

