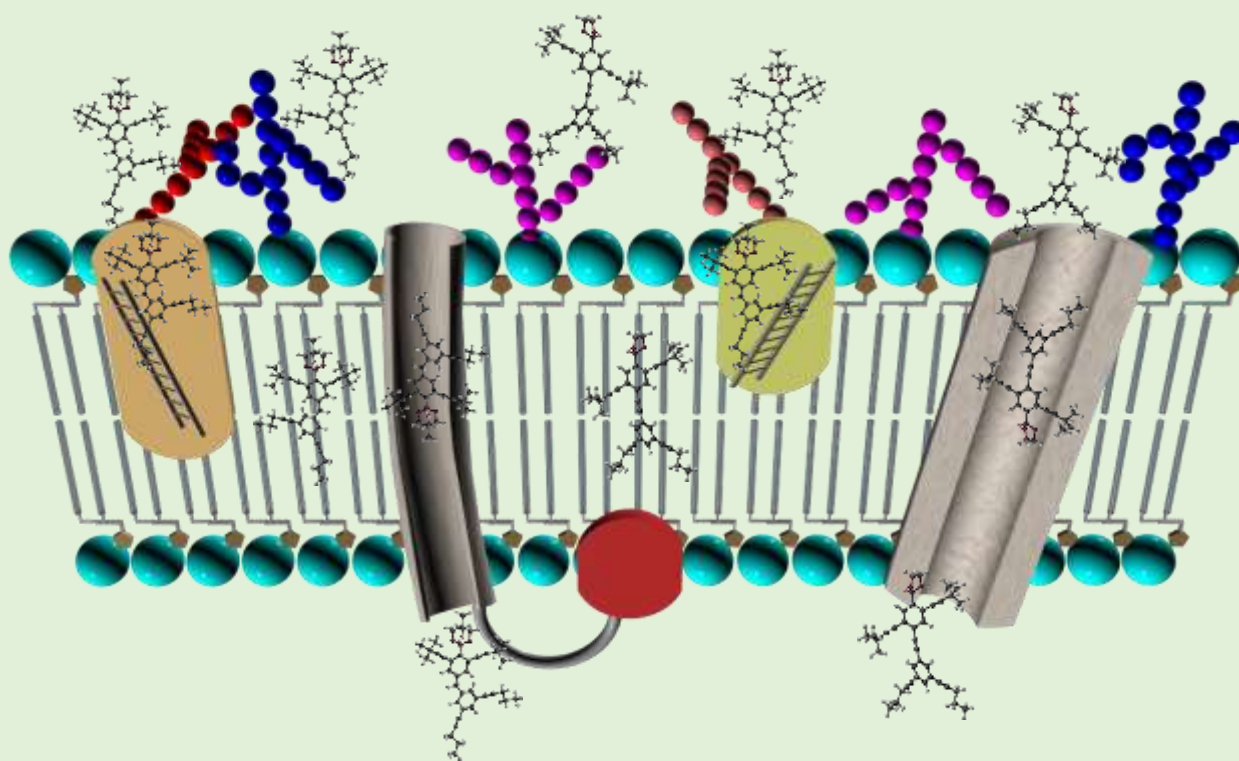


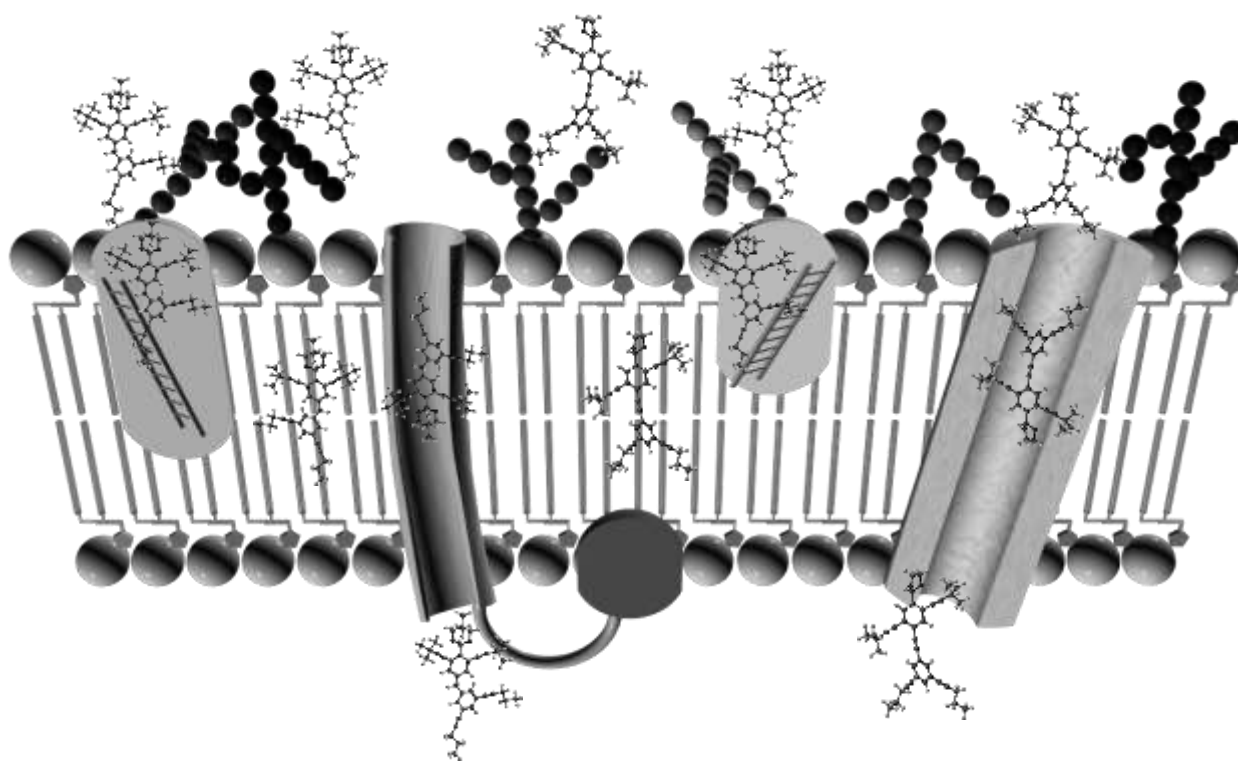
ΕΛΕΝΗ ΧΟΝΤΖΟΠΟΥΛΟΥ
(Υποψήφια Διδάκτωρ)
ΣΟΦΙΑ ΚΥΡΙΑΚΙΔΗ
(Διδάκτωρ)
ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΖΟΥΜΠΟΥΛΑΚΗΣ
(Αναπληρωτής Καθηγητής ΠΑΔΑ)
ΘΩΜΑΣ ΜΑΥΡΟΜΟΥΣΤΑΚΟΣ
(Καθηγητής ΕΚΠΑ)

ΑΡΧΕΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



ΕΛΕΝΗ ΧΟΝΤΖΟΠΟΥΛΟΥ
(Υποψήφια Διδάκτωρ)
ΣΟΦΙΑ ΚΥΡΙΑΚΙΔΗ
(Διδάκτωρ)
ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΖΟΥΜΠΟΥΛΑΚΗΣ
(Αναπληρωτής Καθηγητής ΠΑΔΑ)
ΘΩΜΑΣ ΜΑΥΡΟΜΟΥΣΤΑΚΟΣ
(Καθηγητής ΕΚΠΑ)

ΑΡΧΕΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



Στο εξώφυλλο αποδίδεται μία εγκάρσια τομή της δομής της πλασματικής μεμβράνης στην οποία «παίζουν» λιλιπούτεια χημικά όντα, κάνοντας τσουλήθρα μέσα στις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, σκαρφαλώνοντας στους υδατάνθρακες των γλυκοπρωτεϊνών και των γλυκολιπιδίων, βυθίζονται στις υδρόβοβες ουρές των φωσφολιπιδίων κ.λπ. Χημική «ἀδεία» οι αναλογίες των μεγεθών των ατόμων δεν διατηρήθηκαν.

Η αφόρμιση προέκυψε από τα άρθρα:

•Chanteau S.H., Tour J.M. (2003). Synthesis of Anthropomorphic Molecules: The NanoPutians. *J. Org. Chem.*, 68, 8750–8766.

•Chanteau S.H., Ruths T., Tour J.M. (2003). Arts and Sciences Unite in Nanopot: Communicating Synthesis and the Nanoscale to the Layperson. *Journal of Chemical Education*, 80(4), 395–400.

ΑΡΧΕΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Συγγραφή

Μαυρομούστακος Θωμάς (Κύριος Συγγραφέας)

Ελένη Χοντζοπούλου (Συν-συγγραφέας)

Σοφία Κυριακίδη (Συν-συγγραφέας)

Παναγιώτης Ζουμπουλάκης (Συν-συγγραφέας)

Κριτικός Αναγνώστης

Ανδρέας Τζάκος

(Αναπληρωτής Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων)

Συντελεστές Έκδοσης

Γλωσσική Επιμέλεια:

Γραφιστική Επιμέλεια: Κωνσταντίνος Παπακωνσταντίνου

Τεχνική Επιμέλεια:

Copyright © Κάλλιπος 2021



Το παρόν έργο αδειοδοτείται υπό τους όρους της άδειας Creative Commons
Αναφορά Δημιουργού - Μη Εμπορική Χρήση - Παρόμοια Διανομή 4.0.
Για να δείτε ένα αντίγραφο της άδειας αυτής επισκεφτείτε τον ιστότοπο
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.el>

ΚΑΛΛΙΠΟΣ

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Ηρώων Πολυτεχνείου 9, 15780 Ζωγράφου

www.kallipos.gr

ISBN:

*Στους γονείς μας
και τους αγωνιζόμενους φοιτητές*

Περιεχόμενα

Πίνακας συντομεύσεων-ακρωνυμίων	xv
Πρόλογος	xvii
Εισαγωγή	xix
Κεφάλαιο 1 Εισαγωγικά Στοιχεία στην Υπολογιστική Χημεία και στη Μοριακή	1
1.1 Εισαγωγή στην υπολογιστική Χημεία	2
Βιβλιογραφία / Αναφορές	6
Κριτήρια Αξιολόγησης	6
Κεφάλαιο 2 Το Φάρμακο και η πορεία του προς την Ιθάκη	9
2.1 Ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων	10
2.2 Ανακάλυψη φαρμάκου	12
2.2.1 Πορεία φαρμάκου στο όργανο στόχο	13
2.2.2 Βιολογικές μεμβράνες	14
2.2.3 Υποδοχείς	14
2.2.4 Στερεοεξειδίκευση φαρμάκου	15
2.2.5 Σχεδιασμός και σύνθεση του αντιυπερτασικού φαρμάκου λοσαρτάνη	17
2.2.6 Από τον σχεδιασμό μέχρι την παραγωγή του φαρμάκου	18
2.2.7 Τοξικότητα του φαρμάκου	19
2.2.8 Ποιοι συμμετέχουν στη δημιουργία ενός φαρμάκου;	20
2.3 Το παράδειγμα της Ιθάκης και ο Χημικός Ερευνητής Οδυσσέας	21
Βιβλιογραφία / Αναφορές	22
Κριτήρια Αξιολόγησης	22
Κεφάλαιο 3 Αναπαράσταση και διαχείριση μοριακών συστημάτων	31
3.1 Εισαγωγικά στοιχεία στον σχεδιασμό βιοδραστικών μορίων	32
3.2 Συστήματα συντεταγμένων	34

3.3 Σχεδιασμός διδιάστατων και τριδιάστατων δομών	35
3.4 Τριδιάστατη απεικόνιση μορίων – Μοριακά γραφικά	36
3.5 Διαχείριση μοριακών συστημάτων	38
3.6 Μοριακές διαστάσεις μορίων και μοριακών συστημάτων	38
3.7 Μοριακές ιδιότητες	39
Βιβλιογραφία / Αναφορές	40
Κριτήρια Αξιολόγησης	40
Κεφάλαιο 4 Μέθοδοι ελαχιστοποίησης ενέργειας	43
4.1 Ατομικές κινήσεις και ενέργεια ενός συστήματος	44
4.2 Υπολογισμός της ενέργειας του συστήματος	47
4.2.1 Κβαντική Μηχανική (QM)	47
4.2.2 Μοριακή Μηχανική	48
4.2.2.1 Ενέργεια τάσης δεσμού	50
4.2.2.2 Ενέργεια κάμψης δεσμού	52
4.2.2.3 Ενέργεια διέδρης γωνίας	52
4.2.2.4 Μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις	53
4.2.2.5 Ηλεκτροστατικοί δεσμοί	54
4.2.2.6 Δυνάμεις van der Waals	54
4.2.2.7 Δεσμοί υδρογόνου	55
4.2.2.8 Ενέργεια λόγω περιοριστικών συνθηκών	56
4.3 Τύποι ατόμων	57
4.4 Ατομικά φορτία	58
4.5 Διηλεκτρική σταθερά του μέσου	60
4.6 Συγκριτικές πληροφορίες Μοριακής Μηχανικής και Κβαντομηχανικών Μεθόδων	62
4.7 Επιφάνειες Δυναμικής Ενέργειας και Μέθοδοι Ελαχιστοποίησης	63
4.8 Κατηγορίες Αλγορίθμων Ελαχιστοποίησης Ενέργειας	65

4.9 Εισαγωγή στις μεθόδους ελαχιστοποίησης με παραγώγους	65
4.9.1 Αλγόριθμοι πρώτης τάξης	65
4.9.2 Αλγόριθμοι δεύτερης τάξης	67
4.9.3 Αλγόριθμοι μηδενικής τάξης	67
4.10 Σύγκριση των μεθόδων ελαχιστοποίησης της ενέργειας	67
4.11 Κριτήρια σύγκλισης	67
4.11.1 Παραδείγματα	68
Βιβλιογραφία / Αναφορές	70
Κριτήρια Αξιολόγησης	70
Κεφάλαιο 5 Πεπτιδομιμητισμός και ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων	77
5.1 Εισαγωγή στα πεπτιδομιμητικά μόρια	78
5.2 Πορεία σύνθεσης πεπτιδομιμητικών μορίων	79
5.3 Δομικές Τροποποιήσεις	79
5.4 Παραδείγματα Σύνθεσης Πεπτιδομιμητικών προϊόντων	81
5.5 Παρεμποδιστές αγγειομετατρεπτικού ενζύμου	85
5.5.1 AT ₁ Ανταγωνιστές	89
Βιβλιογραφία / Αναφορές	96
Κριτήρια Αξιολόγησης	97
Κεφάλαιο 6 Εισαγωγή στην Κβαντική Υπολογιστική Χημεία και εφαρμογές	101
6.1 Βασικές Αρχές Κβαντικής Χημείας	102
6.1.1 Μέθοδοι Κυματοσυναρτήσεων	104
6.1.1.1 Σύνολα βάσης	105
6.1.2 Η θεωρία Συναρτησιακού Πυκνότητας	106
6.1.2.1 Χρονικά εξαρτημένη θεωρία συναρτησιακού πυκνότητας	105
6.2 Εφαρμογές της Κβαντικής Χημείας	110
6.2.1 Υπολογισμός HOMO και LUMO	110
6.2.2 Υπολογισμός φυσικοχημικών ιδιοτήτων	111

6.2.3 Πρόβλεψη χημικών μετατοπίσεων και διαμορφώσεων	112
6.2.4 Μηχανισμοί αντιδράσεων θεμελιώδους κατάστασης	114
6.2.4.1 Εφαρμογή με το πρόγραμμα υπολογιστικής Χημείας ORCA	118
Βιβλιογραφία / Αναφορές	122
Κριτήρια Αξιολόγησης	122
Κεφάλαιο 7 Μοριακή Πρόσδεση (Molecular Docking)	125
7.1 Εισαγωγή	126
7.2 Στόχος πειράματος Μοριακής Πρόσδεσης	127
7.3 Είδη Διαμοριακών Δυνάμεων	129
7.3.1 Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις	129
7.3.1.1 Ιοντικές αλληλεπιδράσεις	129
7.3.1.2 Αλληλεπιδράσεις ιόντος–διπόλου και διπόλου–διπόλου	131
7.3.1.3 Δεσμοί Υδρογόνου	132
7.3.2 Επαγόμενες αλληλεπιδράσεις	133
7.3.3 Μη πολικές αλληλεπιδράσεις	135
7.3.3.1 Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις	135
7.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσδεση του φαρμακευτικού μορίου στο ένζυμο	137
7.4.1 Στερεοχημικοί παράγοντες	137
7.4.2 Παράγοντες που συντελούν στην ελάττωση της αυθόρμητης σύμπλεξης	137
7.4.3 Η ολική ενέργεια της διαμοριακής αλληλεπίδρασης	138
7.5 Σχεδιασμός πειράματος μοριακής πρόσδεσης και ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων	139
7.5.1 Μοριακή πρόσδεση με βάση τη δομή της πρωτεΐνης	139
7.5.1.1 Μοριακή πρόσδεση με τη χρήση βιβλιοθηκών	140
7.5.2 Μοριακή πρόσδεση με βάση τη δομή του προσδέτη	140
7.6 Βασικές έννοιες υπολογισμών μοριακής πρόσδεσης	140
7.6.1 Μέθοδοι υπολογισμού του ενεργού κέντρου πρωτεϊνικών υποδοχέων	140
7.6.1.1 Μέθοδοι που στηρίζονται σε πρωτεϊνικές βάσεις και στη μοριακή μοντελοποίηση	141

7.6.1.2 Η μέθοδος της επιδιалύτωσης	142
7.6.1.3 Η μέθοδος του πλέγματος	145
7.6.1.4 Η μέθοδος των ψευδοϋποδοχέων	147
7.6.2 Πλέγμα υποδοχέα (Grid box)	149
7.6.3 Μέθοδοι και αλγόριθμοι εντοπισμού του ενεργού κέντρου	150
7.6.3.1 Αλγόριθμος SURFNET	150
7.6.3.2 Αλγόριθμος LIGSITE	150
7.6.3.3 SITEHOUND και FTSite	150
7.6.4 Συναρτήσεις Βαθμολόγησης (Scoring functions)	151
7.7 Μοριακή πρόσδεση σε χημικά συστήματα διαφορετικά από «πρωτεΐνης–προσδέτη», αντίστροφη και κβαντικά πολωμένη μοριακή πρόσδεση	154
7.7.1 Δημιουργία συμπλόκου «πρωτεΐνης–πρωτεΐνης»	154
7.7.2 Δημιουργία συμπλόκου «DNA/RNA–προσδέτη»	155
7.7.3 Αντίστροφη μοριακή πρόσδεση (Reverse ligand docking)	156
7.7.4 Ομοιοπολική μοριακή πρόσδεση (Covalent docking)	157
7.7.5 Κβαντικά πολωμένη μοριακή πρόσδεση (Quantum Polarized Ligand Docking – QPLD)	158
7.8 Λογισμικά πρόσδεσης μορίων σε υποδοχείς	159
7.8.1 Ανάπτυξη αλγορίθμων	160
7.8.2 Διαμορφωτική ευκαμψία του φαρμακευτικού μορίου	162
7.8.3 Αλγόριθμοι σταδιακής ανοικοδόμησης (Incremental construction)	163
7.8.4 Αλγόριθμοι Monte Carlo	163
7.8.5 Γενετικοί αλγόριθμοι (Genetic algorithms – GA)	163
7.8.6 Αλγόριθμοι Μοριακής Δυναμικής	163
7.8.7 Διαμορφωτική ευκαμψία του υποδοχέα	164
7.8.8 Ανάλυση αλγορίθμου σταδιακής ανοικοδόμησης (FlexX–Sybyl)	165
7.8.8.1 Φυσικοχημική προσέγγιση	165
7.8.8.2 Αλγόριθμος πρόσδεσης	169

7.8.8.2.1 Επιλογής της βάσης	170
7.8.8.2.2 Τοποθέτηση της βάσης στον χώρο σύμπλεξης	171
7.8.8.2.3 Κατασκευή του συμπλέγματος μορίου–υποδοχέα	172
7.8.9 Λογισμικό DOCK	174
7.8.9.1 Παράδειγμα	174
7.9 Μοντελοποίηση υποδοχέων	179
7.10 Άσκηση (Tutorial)	182
Βιβλιογραφία / Αναφορές	188
Κριτήρια Αξιολόγησης	188
Κεφάλαιο 8 Προσομοίωση Μοριακών Συστημάτων	193
8.1 Εισαγωγή στην Στατιστική Θερμοδυναμική	194
8.2 Προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής	198
8.2.1 Επίλυση των εξισώσεων κίνησης	201
8.2.2 Εφαρμογή περιοδικών συνθηκών	202
8.2.3 Προσομοιώνοντας σε διαφορετικά στατιστικά σύνολα	204
8.3 Εφαρμογές σε βιομοριακά συστήματα	205
8.4 Βασικές αρχές για την προσομοίωση Monte Carlo	205
8.5 Άσκηση (Tutorial)	207
Βιβλιογραφία / Αναφορές	214
Κριτήρια Αξιολόγησης	214
Κεφάλαιο 9 Η δομή της «λιποειδούς διπλοστιβάδας» των μεμβρανών ως καθοριστικός παράγοντας της βιοδραστικότητας των φαρμακευτικών μορίων	217
9.1 Σύνθεση και δομή των μεμβρανών	218
Βιβλιογραφία / Αναφορές	227
Κριτήρια Αξιολόγησης	227
Κεφάλαιο 10 Γενικά συμπεράσματα. Μελλοντικές προοπτικές της Μοριακής Μοντελοποίησης	231
Κεφάλαιο 11 Κριτήρια αξιολόγησης	237
Γλωσσάρι	243

Εικόνες πρώτης σελίδας κάθε κεφαλαίου

- Κεφάλαιο 1. «At the fountain», Bouguereau William–Adolphe (1825–1905)
- Κεφάλαιο 2. «Man with a hoe», Millet Jean-Francois (1814–1875)
- Κεφάλαιο 3. Collodi C. (1914). Pinocchio• The story of a puppet. J.B. Lippincott Co., London.
- Κεφάλαιο 4. «The apple gatherers», Morgan Frederick (1856–1927)
- Κεφάλαιο 5. «The procession of the Trojan horse in Troy»,
Tiepolo Giovanni Domenico (1727–1804)
- Κεφάλαιο 6. Therkildsen Jon, MSc MBA from University of Århus (2004).
Quantum Mechanics, The Uncertainty Principle, Schrodinger's Cat,
& Other Misconceptions.
(<https://moviesandscience.com/blog/science/quantum-mechanics>).
- Κεφάλαιο 7. «The young mariners», Brown William Marshall (1863–1936)
- Κεφάλαιο 8. «The chess player», Aiken John Macdonald (1880–1961)
- Κεφάλαιο 9. Στιγμιότυπα από την προσομοίωση του πεπτιδίου C8
το οποίο κινείται προς το κέντρο μιας POPC διλιπδικής μεμβράνης.
Bennett W.F.D., Ph.D. Biochemistry, University of Calgary.
- Κεφάλαιο 10. «The incredulity of Saint Thomas»,
Caravaggio Michelangelo Merisi (1571–1610)
- Κεφάλαιο 11. «Children jumping rope in garden», Lebasque Henri (1865–1937)
- Γλωσσάρι. «A fisherman hauling in his net», Avercamp Hendrick (1595–1634)

Πίνακας συντομεύσεων και ακρωνυμίων

ACE	Angiotensin–converting enzyme
ADME–T	Absorption Distribution Metabolism Excretion Toxicity
ADT	AutoDockTools
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement
AMI	Austin Model 1
ASA	Acetylsalicylic acid
BPF	Bradykinin Potentiating Factor
BPTI	Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor
CG	Conjugate Gradient
CHARMm	Chemistry in Harvard Macromolecular Mechanics
CNDO	Complete Neglect of Different Overlap
CSH	Cambridge Structure Database
DFT	Density Functional Theory
ECEPP	Empirical Conformational Energy Program in Peptides
FDA	Food and Drug Administration
GERM	Genetically Evolved Receptor Models
GGA	Generalized Gradient Approximation
GNRH	Gonadotrophin Releasing Hormone
GPCRs	G–protein coupled receptors
GROMOS	Groninger Molecular Simulation
HASL	Hypothetical Active Site Lattice
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
HTVS	High Throughput Virtual Screening
IFD	Induced Fit Docking
INDO	Intermediate Neglect of Different Overlap
LCAO	Linear Combination of Atomic Orbitals
LDA	Local Density Approximation
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbitals
LYP	Lee–Yang–Par (συναρτησιακό)
MD	Molecular Dynamics
MEP	Molecular Electrostatic Potential
MM	Molecular Mechanics
MNDO	Modified Neglect of Diatomic Overlap
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NNDO	Neglect of Diatomic Differential Overlap
OPLS	Optimized Potential for Liquid Simulations

PARM	P seudo A tomic R eceptor M odel
PASS	P utative A ctive S ite with S pheres
PCM	P olarizable C ontinuum M odel
PDB	P rotein D ata B ank
PDTD	P otential d rug t arget d atabase
PES	P otential E nergy S urfaces
PM3	P arametric M ethod 3
PW92	P erdew– W ang (συναρτησιακό)
QM	Q uantum M echanics
QPLD	Q uantum P olarized L igand D ocking
QSAR	Q uantitative S tructure A ctivity R elationships
RAS	R enin A ngiotensin S ystem
RMSD	R oot M ean S quared D eviation
SCF	S elf– C onsistent F ield
SD	S teepes t D escent
SMILES	S implified M olecular I nput L ine E ntry S ystem
STO	S later O rbital
TDDFT	T ime D ependent D ensity F unctional T heory
THC	T etra H ydro C annabinol
VDW	V an d er W aals
VMD	V isual M ovement D etection
VWM	V osko– W ilk– N usair (συναρτησιακό)
XP	E xtra P recision

Πρόλογος

Με μεγάλη χαρά παραδίδουμε το σύγγραμμα αυτό το οποίο στοχεύει να αποτελέσει βοήθημα στους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές και φοιτήτριες της Χημείας, Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοπληροφορικής και που επιθυμούν να λάβουν γνώσεις στο πεδίο της Μοριακής Μοντελοποίησης και να εμβαθύνουν στις εφαρμογές στους τομείς της Οργανικής, Βιοχημείας, Βιολογίας, Βιοπληροφορικής καθώς και Φαρμακευτικής Χημείας.

Οι συγγραφείς επιθυμούν να εκφράσουν την απέραντη ευγνωμοσύνη τους στον καθηγητή Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης Κ. Παπακωνσταντίνου για την άψογη και επίπονη γραφιστική επιμέλεια. Θα πρέπει να τονιστεί ότι δεν αρκέστηκε μόνο στη γραφιστική επιμέλεια αλλά έλαβε αρκετές πρωτοβουλίες και διάνθισε το κείμενο με γραμματόσημα, επιπρόσθετο γραφιστικό υλικό, ακόμη και με κάποια κείμενα. Με τον τρόπο αυτό συνέτεινε στη ποιοτική βελτίωση των κειμένων και οπτικού υλικού.

Εξαιρετικές ευχαριστίες επιθυμούν να εκφράσουν και στον Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Α. Τζάκο ως Κριτικό Αναγνώστη για τις καίριες επισημάνσεις και διορθώσεις στο επιστημονικό κείμενο.

Θα θέλαμε επίσης να ευχαριστήσουμε και τους υπόλοιπους συντελεστές της έκδοσης οι οποίοι ανέλαβαν τη γλωσσική και τεχνική επιμέλεια ώστε το κείμενο να χαρακτηρίζεται από αρτιότητα.

Τέλος ευχαριστούμε από βάθους καρδιάς όλους τους παράγοντες του Προγράμματος Κάλλιπου και την Επιτροπή έγκρισης του συγγράμματος αυτού.

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε ιδιαίτερα τους Δρ. Α. Κουκουλίτσα και Β. Μούχλη για την πολύτιμη συνεισφορά τους στο βιβλίο. Μερικά παραδείγματα αποτελούν δική τους πρωτοβουλία καθώς και κάποια μικρά κείμενα. Αυτά βοήθησαν σημαντικά στον αρτιότερο καταρτισμό της ύλης.

Οι συγγραφείς
Ε. Χοντζοπούλου
Σ. Κυριακίδη
Π. Ζουμπουλάκης
Θ. Μαυρομούστακος

Εισαγωγή

Καταρχάς ορίζεται το πεδίο έρευνας της Μοριακής Μοντελοποίησης και η επικουρία πληροφοριών που παρέχει στα πειραματικά αποτελέσματα.

Περιλαμβάνονται προσεγγίσεις της Κβαντομηχανικής και Μοριακής Μηχανικής για τον υπολογισμό της ενέργειας και διαμορφωτικής ανάλυσης των μορίων. Επίσης αναπτύσσεται η σημασία της διαμορφωτικής ανάλυσης στον Ορθολογικό Σχεδιασμό Νέων Φαρμάκων καθώς και τη σύζευξή της με πειραματικά δεδομένα.

Αναπτύσσονται οι διαμορφωτικοί μέθοδοι ανάλυσης. Συγκεκριμένα συζητείται η συνειφορά της Μοριακής Δυναμικής, Εξονυχιστικής Ανάλυσης και Monte Carlo.

Οι δυνάμεις που συνεισφέρουν στην αλληλεπίδραση φαρμακευτικών μορίων με τα κέντρα δράσης τους αποτελούν κεφάλαιο ουσιώδους σημασίας. Στο ίδιο κεφάλαιο αναπτύσσονται οι αρχές που διέπουν τους αναπτυσσόμενους αλγορίθμους.

Ο πεπτιδομιμητισμός αποτελεί ένα ειδικό κεφάλαιο λόγω της τεράστιας σημασίας στον σχεδιασμό και σύνθεση καινοτόμων φαρμακευτικών μορίων. Ως παράδειγμα παρατίθεται η ιστορία ανάπτυξης πεπτιδομιμητικών φαρμάκων στο σύστημα ρενίνης–αγγειοτασίνης.

Το βιβλίο συμπεριλαμβάνει ένα ειδικό κεφάλαιο το οποίο αναφέρεται στη μοντελοποίηση των λιποειδών διπλοστιβάδων και διαμεμβρανικών υποδοχέων καθώς αυτά αποτελούν κέντρα στόχους των Φαρμακευτικών Μορίων.

Τα κεφάλαια συνοδεύονται από αρκετές ερωτήσεις, ασκήσεις και κριτήρια αξιολόγησης ώστε να εμπεδωθεί επαρκώς η περιεχόμενη ύλη. Αρκετές από τις ερωτήσεις δίνονται με τις απαντήσεις ώστε ο φοιτητής/φοιτήτρια να ελέγξει κατά πόσο έχει κατανοήσει την ύλη που αναλύεται στα κεφάλαια. Είμαστε πεπεισμένοι ότι ο ικανός αριθμός ερωτήσεων, παραδειγμάτων και ασκήσεων βοηθά τόσο τους Καθηγητές όσο και τους φοιτητές στην κατανόηση των πτυχών της Μοριακής Μοντελοποίησης που αναπτύσσονται.

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγικά Στοιχεία στην Υπολογιστική Χημεία και στη Μοριακή Μοντελοποίηση



Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται μια εισαγωγή στην υπολογιστική χημεία. Αυτός είναι ένας σχετικά πρόσφατος υπολογιστικός κλάδος ο οποίος βασίζεται στους υπολογισμούς με χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή (*in silico*). Η ανάπτυξη των μαθηματικών και στατιστικής έδωσε τη δυνατότητα στην ανάπτυξη μαθηματικών αλγόριθμων που μπορούν να εφαρμοσθούν στη χημεία. Αυτοί οι αλγόριθμοι μπορούν να επεξηγήσουν πειραματικά αποτελέσματα και να προσομοιώσουν ή προβλέψουν την εξέλιξη των χημικών συστημάτων μελλοντικά.


Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν υπάρχει προαπαιτούμενη γνώση.

1.1 Εισαγωγή στην υπολογιστική χημεία

Ο άνθρωπος αρχικά καθόριζε τη ζωή του μέσω της «παρατήρησης» και της «εμπειρίας». Τα καιρικά φαινόμενα του έδιναν σηματοδότηση, πότε θα βγει από τη σπηλιά του, για να κυνηγήσει. Αυτή η επαφή του με τη φύση, γρήγορα του διδάσκει «εμπειρικά» ότι κάποια φυτά έχουν ευεργετικές συνέπειες για την υγεία του. Ο Όμηρος αναφέρει πρώτος τη λέξη «φάρμακο». Είναι ουσίες στα φυτά οι οποίες, αν και δηλητηριώδεις, μπορούν να σώσουν ζωές. Η λέξη φάρμακο, δηλαδή, στα Ομηρικά έπη σημαίνει γιατρικό ή θεραπευτικό αλλά και δηλητήριο (Ένθετο 1.1).

Ένθετο 1.1



Αὐτὰρ ἐπεὶ ἶδεν ἔλκος δὲ ἔμπεσε πικρὸς οἰστός,
αἷμ' ἐκμυζήσας ἐπ' ἄρ' ἤπια φάρμακα εἰδὼς
πάσσε, τὰ οἷ ποτε πατρὶ φίλα φρονέων πόρε Χείρων.
Ἰλιάδα 4.217–4.219

Μετάφραση Καζαντζάκη, Κακκιδῆ
Και την πληγή, η πικρή που του άνοιξε σαγίτα, ως είδε,
το αίμα βύζαξε πρώτα, κι όπως κάτεχε, πραγὰ μετά βοτάνια
πιθώνει, που 'χε δώσει ο Χείρωνας στον κύρη του απ' αγάπη.

«Ο Μαχάων περιποιείται τον Μενέλαο»
Quirin Mark (1753–1811)

Η παρατήρηση και η εμπειρία γέννησε τον «πειραματισμό» για τη βελτίωση, τόσο των συνθηκών διαβίωσης, όσο και για την ποιότητα της ζωής του. Παρασκεύαζε βότανα για τη βελτίωση της υγείας του, έμαθε να φτιάχνει ωραίο κρασί και να απολαμβάνει τα συμπόσια και τις γιορτές του. Ο πειραματισμός γέννησε την «παράδοση». Έτσι, οι αρχαίοι Έλληνες ήταν αριστοτέχνες στην παρασκευή του ελαιολάδου και του οίνου.

Ο άνθρωπος εραστής του «ειδέναι» δεν αρκείται μόνο στην παρατήρηση και το πείραμα. Θέλει να κατανοήσει τις θεμελιώδεις αιτίες, που διέπουν τα φαινόμενα. Στην αρχή το ακατανόητο το βαφτίζει «θεούς», έτσι για να συνεννοείται, να εκφράζει τον φόβο και την ανησυχία και προπαντός την ανικανότητά του να δαμάσει το ακατανόητο. Ύστερα κατανοεί ότι κάποια φαινόμενα είναι αλληλένδετα και συνδέονται με κάποιες σχέσεις. Δεν στέλνει ο Δίας τους κεραυνούς, αλλά τα σύννεφα! Αναπτύσσει τα Μαθηματικά και τη Φυσική, επιστήμες που του επιτρέπουν να εκφράσει το πειραματικό με αριθμούς. Οι θεοί λιγοστεύουν και γίνονται «θεός». Με τον τρόπο αυτό, εκφράζει το πέραν της επιστήμης, το ακατανόητο από το πεπερασμένο μυαλό του, που συντονίζει και προνοεί

για τη ζωή του.

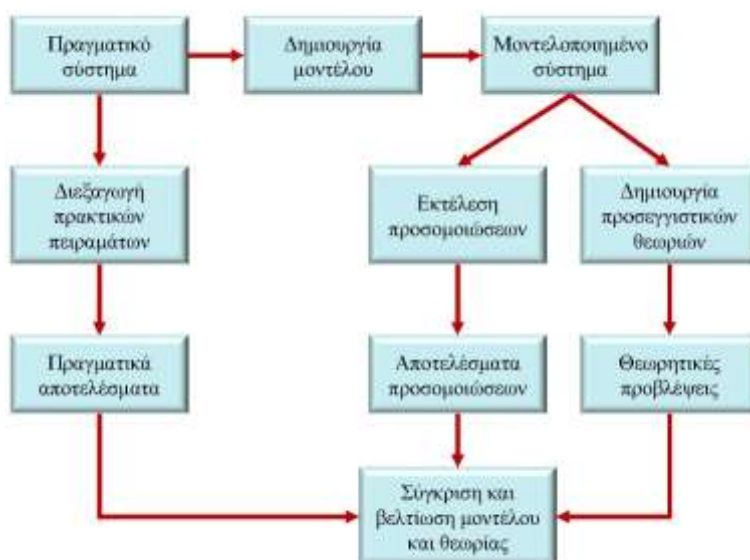
Ο άνθρωπος είναι όμως και «ποντοπόρος» και «τολμηρός». Δεν αρκείται στην κατανόηση των φαινομένων. Θέλει να προχωρήσει ακόμη πιο πέρα. Να «προγινώσκει» το μέλλον και έτσι να ελέγχει αποδοτικότερα τα φυσικά φαινόμενα. Αρχικά τον ρόλο αυτό λαμβάνουν οι μάντεις, οι ιερείς και οι προφήτες. Αργότερα, οι επιστήμονες. Η ανάπτυξη της μετεωρολογίας, για παράδειγμα, επιτρέπει να προβλέψει τα μποφόρ και τη δυνατότητα ταξιδιού κάποιου καραβιού.

Στην τελευταία δεκαετία η «πρόγνωση» αναπτύσσεται ραγδαία και σε πολλούς και διαφορετικούς τομείς της Επιστήμης από την Οικονομική Θεωρία και τη Μετεωρολογία μέχρι τη Διαστημική και τη Φαρμακευτική Χημεία. Ιδιαίτερα όσον αφορά τους κλάδους της Χημείας (Οργανική, Φαρμακευτική, Υλικά, κ.ο.κ.) η «πρόγνωση» στηρίζεται στη Θεωρητική Υπολογιστική Χημεία, μια επιστήμη, μέσω της οποίας το πείραμα διεξάγεται *in silico*, με τους πολυδύναμους υπολογιστές, χωρίς επιστημονικά όργανα (Ενθετο 1.2). Το θεωρητικό λοιπόν πείραμα έρχεται να γίνει όχι μόνο αρωγός στο υλικό πείραμα, αλλά να προβλέψει και τα αποτελέσματά του.

Ένθετο 1.2

Η φράση «*in silico*» είναι ψευδο-λατινικά και αναφέρεται στο χημικό στοιχείο πυρίτιο το οποίο υπάρχει στα πλακίδια ολοκληρωμένων συστημάτων (chip, τσιπ) υπολογιστών (CPU ή GPU) και υπονοεί τις προσομοιώσεις των υπό μελέτη μοριακών συστημάτων που διενεργούνται στον υπολογιστή. Η φράση επινοήθηκε το 1987 ως υπαινιγμός για τις λατινικές φράσεις *in vivo*, *in vitro*, και *in situ*, οι οποίες χρησιμοποιούνται συνήθως στη βιολογία (ειδικά στη βιολογία συστημάτων). Οι φράσεις αυτές αναφέρονται, αντίστοιχα, σε πειράματα που εκτελούνται σε ζωντανούς οργανισμούς (*in vivo*). *In vitro* (που σημαίνει σε γυαλί ή στο γυαλί) πραγματοποιούνται μελέτες με μικροοργανισμούς, κύτταρα ή βιολογικά μόρια εκτός του φυσιολογικού βιολογικού τους πλαισίου. Η φράση *in situ* περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο λαμβάνεται μια μέτρηση, δηλαδή στο ίδιο σημείο που συμβαίνει το φαινόμενο χωρίς να απομονωθεί από άλλα συστήματα ή να αλλάξει τις αρχικές συνθήκες της δοκιμής.

Υπάρχει μια σύζευξη μεταξύ θεωρίας και πειράματος όπου λαμβάνονται συμπληρωματικές πληροφορίες. Το Σχήμα 1.1 παρέχει τα στάδια μιας τέτοιας διεργασίας.



Σχήμα 1.1 Διάγραμμα στο οποίο εμφανίζεται η σύζευξη του θεωρητικού πειράματος (πειρώμαι=προσπαθώ) μέσω εφαρμογής προσομοιώσεων με την πειραματική πρακτική εργασία.

Στο βιβλίο αυτό μελετάται η συνεισφορά της Υπολογιστικής Χημείας (Computational Chemistry) (Ένθετο 1.3) στους τομείς αιχμής της Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας. Η ραγδαία ανάπτυξη των υπολογιστών και των Μοριακών Γραφικών (Molecular Graphics) επέτρεψε να δημιουργηθεί ένας νέος επιστημονικός κλάδος, που ονομάζεται Μοριακή Μοντελοποίηση (Molecular Modelling) (Ένθετο 1.4).

Ένθετο 1.3

Ο Ηλεκτρονικός Υπολογιστής (H/Y)

Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής (υπολογιστικό σύστημα) έγινε αναπόσπαστο μέρος της ζωής μας. Τον χρησιμοποιούμε σε πολλές δραστηριότητες της ζωής μας όπως στις εκπαιδεύσεις και τηλε-εκπαιδεύσεις, στην εργασία και τηλε-εργασία, στο ηλεκτρονικό εμπόριο, στην ηλεκτρονική διακυβέρνηση, στην ιατρική και τηλε-ιατρική. Κάθε υπολογιστικό σύστημα, όσο μεγάλο ή μικρό κι αν είναι, αποτελείται από το υλικό μέρος (hardware) και το λογισμικό (software). Περιέχει πλακίδια ολοκληρωμένων κυκλωμάτων (τσιπ). Αυτά καταναλώνουν ελάχιστη ενέργεια, είναι συμπαγή με μικρό κόστος και μπορούν να επεξεργαστούν σε ένα δευτερόλεπτο μέχρι και ένα εκατομμύριο εντολές. Αυτές οι δυνατότητές τους μάλιστα αυξάνονται συνεχώς. Χρησιμοποιούνται σε ένα συνεχώς διευρυνόμενο φάσμα συσκευών όπως είναι οι προσωπικοί υπολογιστές, ψηφιακά ρολόγια, ρομπότ, ηλεκτρονικά παιχνίδια κ.λπ.

Η βελτίωση τόσο του υλικού όσο και του λογισμικού τμήματος είναι αναγκαία για την περαιτέρω ανάπτυξη του ορθολογικού σχεδιασμού φαρμάκων. Προς αυτήν την κατεύθυνση συνεχώς παράγονται νέα λογισμικά ή εφαρμογές (applications) ή και διαδικτυακές πλατφόρμες (online platforms). Νέα συστήματα με πολλά συγκροτήματα υπολογιστών τα οποία αυξάνουν την ταχύτητα τους (clusters) αναπτύσσονται σε εθνικό και παγκόσμιο επίπεδο και επιτρέπουν τη μελέτη πολύπλοκων συστημάτων που προσομοιάζουν τα βιολογικά.

Ένθετο 1.4

Προτιμήσαμε τη λέξη Μοντελοποίηση και όχι Μοντελισμός παρόλο που δεν βρίσκεται στα Ελληνικά λεξικά γιατί η τελευταία ανάγει σε άλλου είδους δραστηριότητες και συγκεκριμένα τη δημιουργία πρακτικών μοντέλων. Μοντέλων που αποτελούν σμικρύνσεις πραγματικών. Σε αντίθεση, στη μοριακή μοντελοποίηση δημιουργούνται μοντέλα προσομοιωμένα και με εφαρμογή υπολογιστικών μεθόδων.

Ένα δείγμα ερωτημάτων, που παρατίθενται, θεωρούμε ότι είναι επαρκές για να κατανοηθεί η συνεισφορά του νέου αυτού κλάδου, ο οποίος αναπτύσσεται ραγδαία και ο οποίος συνεισφέρει ουσιαστικά στη διεξαγωγή γόνιμων ερευνητικών δραστηριοτήτων στους τομείς της Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας.

- Στο επιθυμητό προϊόν μίας αντίδρασης λαμβάνετε δύο παραπροϊόντα. Μπορείτε να το εξηγήσετε αυτό θεωρητικά;
- Συνθέσετε ένα καινούριο μόριο. Η αποτίμηση του φάσματος Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR – Nuclear Magnetic Resonance) δίνει κάποιες μη αναμενόμενες χημικές μετατοπίσεις. Μπορείτε να τις εξηγήσετε;
- Ποιο είναι το ενεργό κέντρο κάποιου φαρμακευτικού μορίου αν γνωρίζετε τον υποδοχέα;
- Θέλετε να συνθέσετε ένα μόριο, το οποίο να διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Προτού το συνθέσετε, μπορείτε να προβλέψετε αν έχει την επιθυμητή αυτή ιδιότητα;
- Σχεδιάζετε μία χημική αντίδραση και προβλέπετε την ύπαρξη κάποιου προϊόντος. Μπορείτε να ελέγξετε, αν το αναμενόμενο προϊόν είναι θερμοδυναμικά σταθερό;
- Ποια είναι η πιθανή διάχυση ενός μορίου από το υδατικό περιβάλλον στο περιβάλλον του υποδοχέα;

Η Υπολογιστική Χημεία όπως κατανοείται στο Σχήμα 1.2, βρίσκεται σε μία ανάδρομη σχέση με το πείραμα. Πολλές φορές μπορεί να οδηγήσει και σε συστάσεις όπου να διορθώνεται κάποιο πειραματικό σφάλμα.



Σχήμα 1.2 Ανάδρομη σχέση Υπολογιστικής και Πειραματικής Χημείας.

Το εύλογο ερώτημα, που προκύπτει, είναι πώς οι εξισώσεις και τα μαθηματικά, καθώς και η στατιστική, μπορούν να συνεισφέρουν σε τόσο μεγάλο βαθμό στην πρόβλεψη ώστε να παρέχουν πληροφορίες για τα ατομικά και μοριακά συστήματα, να μιμούνται και να εκφράζουν την πολύπλοκη φύση, στην οποία διεξάγονται διεργασίες σε πολύπλοκα συστήματα, όπως είναι τα χημικά και βιολογικά.

Η απάντηση είναι απλή. Όσο ο άνθρωπος αυξάνει τις γνώσεις μέσω του πειράματος, άλλο τόσο αυξάνει και τις θεωρητικές του ικανότητες. Η αδιάλειπτη έρευνα στις επιστήμες της βιοχημείας, φαρμακολογίας και φαρμακευτικής, μοριακής βιολογίας, βιοφυσικής, βιολογίας και ιατρικής προσφέρει νέα πειραματικά δεδομένα. Οι νέες γενιές υπολογιστές αποτελούν ταχύτατα εργαλεία στην εφαρμογή αυτής της γνώσης. Οι εξισώσεις πλέον λύνονται ευκολότερα και ταχύτερα.

Στην αρχή, οι προβλεπτικές ιδιότητες αναφέρονταν σε ατομικό επίπεδο. Η απόκτηση περαιτέρω θεωρητικής γνώσης, έχει συμβάλει στις προβλέψεις σε μοριακό επίπεδο και προορίζονται ήδη στις προσομοιώσεις κυτταρικών ή και βιολογικών συστημάτων. Μια μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται ευρύτατα, η **Μοριακή Δυναμική**, μπορεί να προσομοιάζει βιολογικά συστήματα. Μέσω της μοριακής δυναμικής, αρχίσαμε για παράδειγμα να κατανοούμε σε μοριακό επίπεδο αλληλεπιδράσεις φαρμακευτικών μορίων με λιποειδείς διπλοστιβάδες, τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ μακρομορίων, τις κινήσεις ημιεύκαμπτων πρωτεϊνών, κ.ο.κ. Αυτή είναι σημαντικότερη επίτευξη και τέτοιες γνώσεις είναι πολυτιμότερες για την κατανόηση σύνθετων βιολογικών-βιοχημικών μηχανισμών καθώς και των μηχανισμών δράσης φαρμακευτικών μορίων. Η γνώση αυτή οδηγεί στον ορθολογικότερο σχεδιασμό φαρμακευτικών μορίων.

Ένα φάρμακο υφίσταται διάφορες επιδράσεις και πιθανώς μεταβολές, προτού προσεγγίσει και αλληλεπιδράσει με το όργανο-στόχο. Για παράδειγμα μπορεί να μεταβολιστεί, να μεταβληθεί δηλαδή η χημική του δομή, προτού φθάσει στο επιθυμητό κέντρο δράσης. Πλέον οι *in silico* υπολογισμοί μπορούν να προβλέψουν τις μεταβολικές και γενικά τις διάφορες φυσικοχημικές τους μεταβολές με αρκετά μεγάλη ακρίβεια. Έχουν αναπτυχθεί ήδη εμπορικά διαθέσιμα λογισμικά τα οποία εξειδικεύονται στην πρόβλεψη της μεταβολικής τύχης ενός χημικού μορίου-φαρμάκου.

Είναι αναμφίβολο ότι η υπολογιστική χημεία ήδη κατέχει πρωταρχικό ρόλο στον σχεδιασμό νέων φαρμακευτικών προϊόντων και στην καθοδήγηση της οργανικής σύνθεσης. Οι εφαρμογές της ολοένα και αυξάνονται στην παγκόσμια βιβλιογραφία. Η συνεργασία πειραματικής και θεωρητικής Χημείας είναι επιβεβλημένη περισσότερο από ποτέ. Ο μαθηματικός φορμαλισμός και οι στατιστικές προσεγγίσεις με εφαρμογές στα επιστημονικά πεδία που αναφέραμε, μπορεί σε μία σχέση αμφίδρομη με την πειραματική χημεία να συνεισφέρει πάρα πολλά.

- Να προάγει και να βελτιώσει το πείραμα
 - να δώσει νέες λύσεις σε υπό σύνθεση προϊόντα
 - να κατανοηθεί ένα βιολογικό σύστημα, ένας μηχανισμός μιας χημικής αντίδρασης ή μιας βιοχημικής διεργασίας, ή ο τρόπος προσέγγισης ενός φαρμακευτικού μορίου στο όργανο-στόχο
 - να προβλεφθεί η απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμός και απέκκριση ή και τοξικότητα κάποιου φαρμακευτικού μορίου (ADME-T=Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity).
- Με τον τρόπο αυτό θα οδηγηθούμε σε ασφαλέστερα και αποτελεσματικότερα φαρμακευτικά προϊόντα.

Βιβλιογραφία / Αναφορές

1. Schlick T. (2010). *Molecular modeling and simulation: An interdisciplinary guide*, Springer Science+Business Media, LLC.
2. Höltje H-D., Sippl W., Rogman D., Folkers G. (2008). *Molecular Modeling: Basic Principles and Applications*, Wiley-VCH.
3. Leach A.R. (2001). *Molecular Modelling: Principles and Applications*, Pearson.
4. Jensen J.H. (2010). *Molecular Modeling Basics*, CRC Press.
5. Hinchliffe A. (2008). *Molecular Modelling for beginners*, Wiley.
6. Κολοκούρης Α. (2020). *Υπολογιστική Χημεία*, Παρισιάνος.

Κριτήρια Αξιολόγησης

1.1 Ερωτήσεις Σωστού—Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Η ραγδαία ανάπτυξη των Ηλεκτρονικών Υπολογιστών και των Μοριακών Γραφικών επέτρεψε να δημιουργηθεί ένας νέος επιστημονικός κλάδος που ονομάζεται Μοριακή Μοντελοποίηση.
2. Η απεικόνιση των αποτελεσμάτων Θεωρητικής Χημείας οφείλονται στην ανάπτυξη των Μοριακών Γραφικών.
3. Οι ασχολούμενοι με την Μοριακή Μοντελοποίηση ομοιάζουν να έχουν το ρόλο που αρχικά είχαν οι μάντιες, ιερείς και προφήτες.
4. Στους Ηλεκτρονικούς Υπολογιστές δεν μπορούν να διεξαχθούν Θεωρητικά Πειράματα.
5. Στους Ηλεκτρονικούς Υπολογιστές δεν μπορούν να προσομοιωθούν Πειραματικές συνθήκες.

1.2 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση.

1. Δεν συντέινει/αν στην ανάπτυξη της Μοριακής Μοντελοποίησης
 - α) η πρόοδος στην ανάπτυξη λογισμικών στους Ηλεκτρονικούς Υπολογιστές
 - β) η πρόοδος στα Μοριακά Γραφικά
 - γ) η ανάπτυξη της Θεωρητικής Χημείας
 - δ) οι ιστορικές ανακαλύψεις
2. Στη Μοριακή Μοντελοποίηση γίνεται χρήση
 - α) Μαθηματικών Φορμαλισμών
 - β) Στατιστική επεξεργασία
 - γ) α και β είναι λανθασμένα
 - δ) α και β είναι ορθά
3. Η Θεωρητική Χημεία μπορεί
 - α) να βρίσκεται σε ανάδρομη σχέση με την Πειραματική Χημεία
 - β) να βοηθήσει στη βελτίωση πειραματικών συνθηκών
 - γ) α και β είναι λανθασμένα
 - δ) α και β είναι ορθά
4. Η Μοριακή Μοντελοποίηση μπορεί να χρησιμεύσει
 - α) στην επεξήγηση των παραγομένων παραπροϊόντων σε μια αντίδραση
 - β) στην αποτίμηση θερμοδυναμικής σταθερότητας κάποιου προϊόντος
 - γ) στην εξεύρεση ενεργού κέντρου υποδοχέα που δρα κάποιο φαρμακευτικό προϊόν
 - δ) α, β και γ είναι ορθά

1.3 Ασκήσεις

1. Να αναφέρετε παραδείγματα από τον κλάδο της Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας, όπου η Μοριακή Μοντελοποίηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πρόβλεψη.
2. Να αναπτύξετε την ανάδρομη πορεία μεταξύ Θεωρητικής και Πειραματικής Χημείας, προς επίτευξη

βελτιωμένων πειραματικών συνθηκών (Σχήμα 1.2).

3. Να μελετήσετε από τη βιβλιογραφία το πρόγραμμα προσομοίωσης του Manhattan (Manhattan Project).

4. Να αναπτύξετε τον ευεργετικό ρόλο των επιστημονικών ερευνών στους τομείς της βιοχημείας, φαρμακοκινητικής, φαρμακοδυναμικής, μοριακής βιολογίας, βιοφυσικής, βιολογίας και ιατρικής.

5. Να μελετήσετε από τη βιβλιογραφία ένα παράδειγμα, στο οποίο να εμφανίζεται η χρήση Υπολογιστικής Χημείας, για την πρόβλεψη μιας χημικής αντίδρασης.

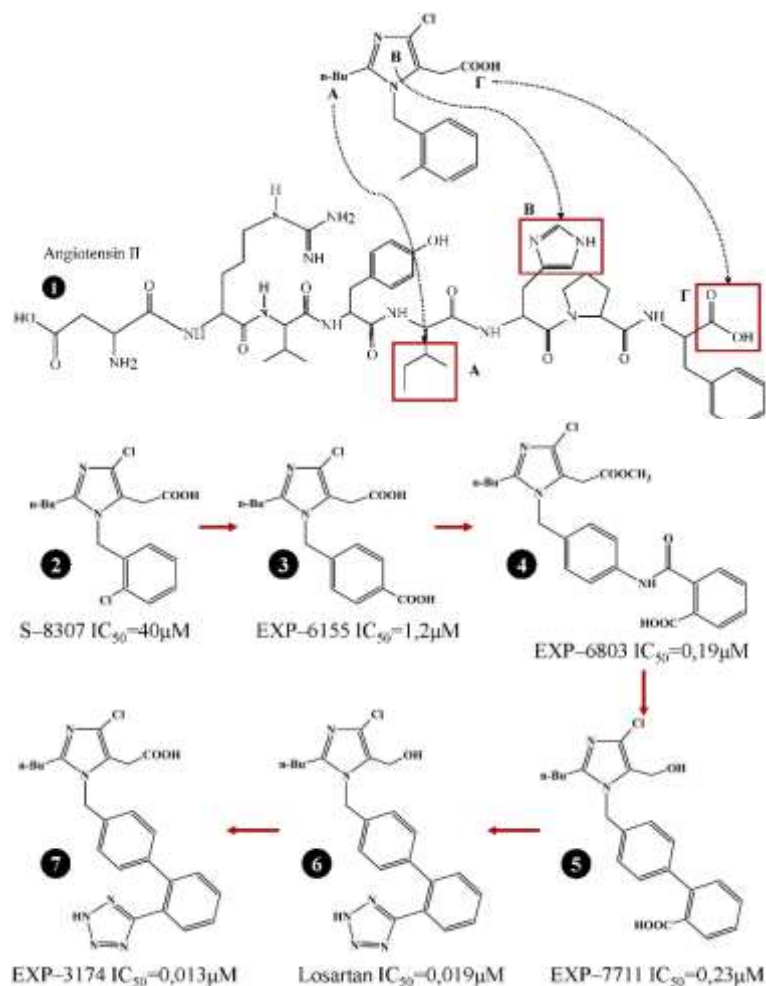
6. Να μελετήσετε το άρθρο:

Clark D.E. (2006). What has computer-aided molecular design ever done for drug discovery?. *Expert Opin. Drug Discov.*, 1(2), 103–110, για να λάβετε μια πλήρη εικόνα της συνεισφοράς της Μοριακής Μοντελοποίησης στην ανάπτυξη φαρμακευτικών μορίων.

7. Να μελετήσετε από τη βιβλιογραφία πώς η Μοριακή Μοντελοποίηση βοήθησε στην ανάπτυξη του φαρμακευτικού μορίου λοσαρτάνη. Βιβλιογραφικά στοιχεία για το μόριο αυτό θα βρείτε στο παραπάνω αναφερόμενο άρθρο του Clark. Επίσης, να διαβάσετε το άρθρο:

Bhardwaj Gaurab. (2006). How the antihypertensive Losartan was discovered. *Expert Opin. Drug Discov.*, 6, 609–618.

Τα ορθολογικά βήματα για τη σύνθεσή της υποδεικνύονται με βέλη (2 μέχρι 6) που περιληπτικά αναφέρονται στο Σχήμα 1.3. Η ανακάλυψη βασίστηκε στον μιμητισμό του C-τελικού τμήματος διαμόρφωσης της Αγγειοτασίνης II (Angiotensin II).



Απαντήσεις

1.1 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

1	2	3	4	5
Σ	Σ	Σ	Λ	Λ

1.2 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

1	2	3	4
δ	δ	δ	δ

Κεφάλαιο 2

Το Φάρμακο και η πορεία του προς την Ιθάκη



Ψάξε, προχώρα μπροστά, μη δειλιάσης ποτέ σου. Πάντα κάτι καινούργιο θα βγη για καλό του ανθρώπου. Ψάξε το χώμα που σκεπάζει και κρύβει. Ας μην έχης κασμάδες και φτυάρι. Με τα χέρια, την πέννα. Το νου!
Βαγγέλη Παναγιώτη Λιάπη (Τόμος Ι «Ελευσίνα, Αρχαία Εποχή», 1975 (Εκδόσεις Παπανικολάου)

Σύνοψη

Το φάρμακο είναι ο εν ασθενεία ευεργέτης. Περιέχει τα απαραίτητα δομικά χαρακτηριστικά ώστε να κρούσει επιτυχώς τον στόχο και να προάγει τη βιολογική του δράση. Κατά την πορεία του προς τον στόχο συναντά διάφορες δυσκολίες τις οποίες οι επιστήμονες ξεπερνούν με δομικές τροποποιήσεις των χημικών δομών του ή με τον εγκλωβισμό του σε μόρια μεταφορείς. Η γνώση του μοριακού μηχανισμού δράσης του φαρμάκου οδηγεί στην εφαρμογή ορθολογικού σχεδιασμού ο οποίος ξεκινά με τη χρήση *in silico* μεθοδολογιών.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν υπάρχει προαπαιτούμενη γνώση.

2.1 Ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων

Πρώτος ο Δημόκριτος μίλησε για τα μικρότερα άτμητα σωματίδια που απαρτίζουν τον υλικό κόσμο τα οποία ονόμασε άτομα. Σήμερα, τα πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν την ύπαρξη του ατόμου το οποίο αποτελείται από ένα πυρήνα θετικά φορτισμένο και τα ηλεκτρόνια τα οποία το περιβάλλουν. Τα άτομα ενωμένα με καθορισμένες αναλογίες δημιουργούν τα μόρια και τις χημικές ενώσεις.

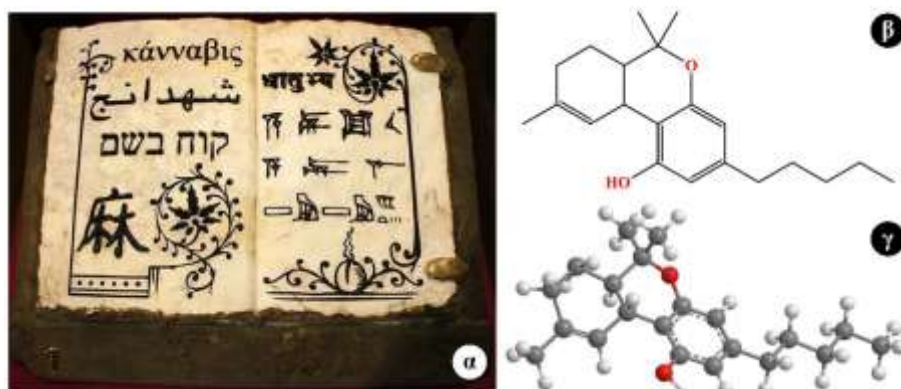


«Democritus»
Delhomme Léon-Alexandre
(1841-1895)

Οι ενώσεις που περιέχουν το άτομο του άνθρακα καλούνται οργανικές γιατί ευρίσκονται σε έμβια συστήματα. Άλλα άτομα που περιέχουν οι οργανικές ενώσεις είναι κύρια το άζωτο, οξυγόνο και ο φώσφορος. Ο άνθρακας, συγκριτικά με άλλα χημικά στοιχεία, έχει μικρότερη αφθονία στη φύση. Παρ' όλα αυτά, κατορθώνει να σχηματίζει την πολυπληθέστερη ποικιλία οργανικών ενώσεων. Κι αυτό γιατί όλοι οι οργανισμοί από τους απλούστερους μέχρι τους πολυπλοκότερους χρησιμοποιούν τον άνθρακα στο βιοχημικό τους εργαστήριο.

Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί (βακτήρια) καθώς και οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί (μύκητες, πρωτόζωα, φυτά και ζώα), είτε διαβιούν σε χερσαίο είτε σε υδάτινο οικοσύστημα, δεν μπορούν να ζήσουν χωρίς τον άνθρακα. Τα μικρά και μεγάλα μόρια που περιέχουν αλυσίδες άνθρακα και είναι σημαντικά στις βιολογικές λειτουργίες ονομάζονται βιομόρια. Τέτοια είναι τα λίπη, τα σάκχαρα, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Τα βιομόρια που συμμετέχουν στη διαίωνη των έμβιων όντων

καθώς και οι αντιδράσεις που διεξάγονται για τη διατήρηση και εξέλιξή τους, χρησιμοποιούν το χημικό αυτό στοιχείο. Η βιολογική μας ζωή συνυφίνεται με τις βιοχημικές αντιδράσεις και γενικά βιοχημικές λειτουργίες που διέπουν τον οργανισμό μας. Κι όταν οι λειτουργίες του ανθρώπινου σώματος λειτουργούν ομαλά ο άνθρωπος συντηρείται με τη διατροφή του. Αν όμως η λειτουργική ομαλότητα (ομοιόσταση) διαταραχθεί, ο άνθρωπος ασθενεί και χρήζει θεραπείας. Η θεραπεία μπορεί να επιτευχθεί με ειδική δίαιτα η οποία συνήθως ξεφεύγει τις διατροφικές του συνήθειες ή με χρήση φαρμακευτικής αγωγής η οποία γίνεται με τη βοήθεια ιατρού ώστε ο οργανισμός να επανέλθει στην φυσιολογική του κατάσταση. Τι είναι το φάρμακο και ποιοι εμπλέκονται στη δημιουργία του; Είναι δύο καίρια ερωτήματα τα οποία θα μας απασχολήσουν στο κεφάλαιο αυτό. Μια γενική θεώρηση της λέξης φάρμακο παραπέμπει σε κάθε ουσία που έχει θεραπευτικές ιδιότητες. Η κάνναβη για παράδειγμα, η οποία χρησιμοποιείτο από το 2727 π.Χ. ως θεραπευτικό μέσο για τη δυσπεψία ενώ αργότερα χρησιμοποιήθηκε και ως αναλγητικό, είναι μία από τις πολλές ουσίες που θα μπορούσε να αποσπάσει τον χαρακτηρισμό του φαρμάκου (Εικόνα 2.1). Μαζί με αυτή, πολλές –φυσικής προέλευσης– ουσίες έκαναν αισθητή την παρουσία τους ως θεραπευτικές ενώσεις σε όλες τις περιόδους της ιστορίας. Βότανα και σπάνια φυτά, καρποί και φύλλα ήταν ικανά με απλή επεξεργασία να απαλύνουν τον πόνο σε διάφορες ασθένειες και σπανιότερα να θεραπεύσουν. Με την πρόοδο της τεχνολογίας και την ανάπτυξη της βιομηχανίας, έγινε εφικτή η απομόνωση των συστατικών που ήταν ικανά να προκαλέσουν αναλγησία ή και να θεραπεύσουν. Ταυτόχρονα κατανοήθηκε και η εμπορική αξιοποίηση φαρμακευτικών σκευασμάτων με αποτέλεσμα τη δημιουργία των πρώτων φαρμακοβιομηχανιών.

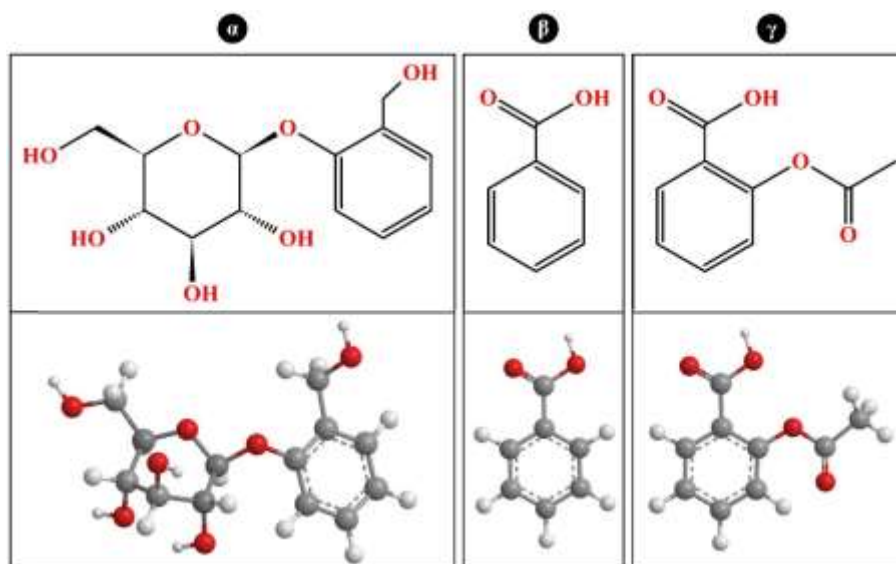


Σχήμα 2.1 (α) η λέξη κάνναβη γραμμένη σε διάφορες γλώσσες. Η φωτογραφία έχει ληφθεί από το μουσείο μαριχουάνας που βρίσκεται στο Άμστερνταμ της Ολλανδίας. (β,γ) διδιάστατη και τριδιάστατη αντίστοιχα δομή του κύριου συστατικού της μαριχουάνας, η Δ^9 -τετραϋδροκανναβινόλη.

Περίπου 5000 χρόνια αργότερα από την πρώτη χρήση της κάνναβης, οι επιστήμονες είναι σε θέση να ορίσουν ακριβέστερα το φάρμακο, ως την ουσία η οποία επεμβαίνει στις βιολογικές δυσλειτουργίες του οργανισμού για να τις επαναφέρει στη φυσιολογική του κατάσταση (ή τροποποιεί τις φυσιολογικές λειτουργίες). Η ουσία αυτή μπορεί να προέρχεται είτε από απομόνωση της από φυσικά προϊόντα είτε και από σύνθεσή της εξ ολοκλήρου σε χημικά εργαστήρια ή ακόμη να είναι ένα ημισυνθετικό προϊόν (τροποποιημένο φυσικό προϊόν). Είναι φανερό ότι η επέμβαση του ανθρώπου στις βιολογικές λειτουργίες προϋποθέτει την κατανόησή τους. Είναι αδύνατον ένας μηχανικός να προβεί σε επισκευή μιας μηχανής αν πρώτα δεν εντοπίσει τη βλάβη της. Το ξεκίνημα μιας νόσου μπορεί να εντοπίζεται στην υπερπαραγωγή ή υποπαραγωγή μιας ουσίας μέσα στο κύτταρο. Το φάρμακο αφού κατευθυνθεί εκεί όπου υπάρχει βλάβη, βοηθά στην επιδιόρθωσή της.

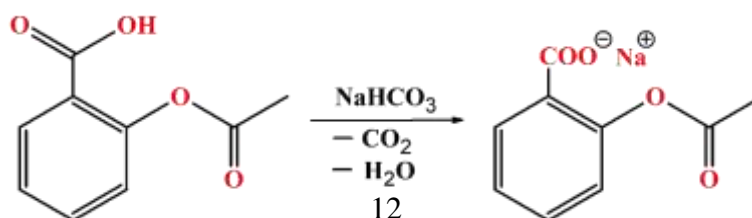
2.2 Ανακάλυψη φαρμάκου

Η ανακάλυψη ενός φαρμάκου μπορεί να επιτευχθεί με σχεδιασμό και σύνθεση (συστηματικός ή ορθολογικός τρόπος) ή μη συστηματικό (εμπειρικό) τρόπο. Ας αναφέρουμε το παράδειγμα της ασπιρίνης η οποία προήλθε από το φυτικό βασίλειο και ας εξετάσουμε ακριβώς πώς το φάρμακο αυτό αναπτύχθηκε μέσα από ένα εμπειρικό τρόπο ανακάλυψης. Η ασπιρίνη είναι ένα από τα πιο πετυχημένα φάρμακα που έχουν συντεθεί. Η δράση της είναι κυρίως αναλγητική, δηλαδή ανακουφίζει από τον πόνο. Ο πατέρας της Ιατρικής Ιπποκράτης, κατανόησε τη σημασία του αφεψήματος (εκχυλίσματος) φύλλων ιτιάς και τη συνιστούσε κυρίως για τους πόνους της γέννας. Τον 19ο αιώνα, ο Ιταλός χημικός Rafaele Piria συνέθεσε στη Σορβόνη το σαλικυλικό οξύ, μετά από υδρόλυση και οξείδωση της ουσίας σαλικίνης (salicin) η οποία είχε απομονωθεί από την ιτιά (Σχήμα 2.2). Το 1897 οι χημικοί Hofmann και Dreser, οι οποίοι εργάζονταν στην εταιρεία Bayer της Γερμανίας, συνέθεσαν την ασπιρίνη, η οποία ήταν επίσης αναλγητικό φάρμακο που παρουσίαζε λιγότερες παρενέργειες (Σχήμα 2.2). Βρέθηκε ότι η ένωση αυτή μπορούσε να απομονωθεί και από φυλλοβόλους θάμνους που ανήκαν στο είδος σπιρέα η πτελέα (*Spiraea ulmaria*). Εδώ εντοπίζεται και η ρίζα του ονόματος της ασπιρίνης (α-σπιρέα). Το αρκτικό α- προέρχεται από το ακετύλιο που περιέχει η ασπιρίνη (ακετυλοσαλικυλικό οξύ-ASA).



Σχήμα 2.2 Η χημική δομή (άνω: διδιάστατη, κάτω: τριδιάστατη) της σαλικίνης (α), του σαλικυλικού οξέος (β) και του ακετυλοσαλικυλικού οξέος (γ), όπου τα άτομα παριστάνονται με σφαίρες (balls) και οι δεσμοί με ράβδους (sticks)

Το 1899 άρχισαν οι πωλήσεις της ασπιρίνης από την εταιρεία Bayer. Το 1915 κατασκευάστηκαν για πρώτη φορά τα «δισκία» ασπιρίνης, που περιείχαν περίπου 300 mg δραστικό συστατικό και άλλες μη δραστικές βιολογικές ουσίες, οι οποίες διευκολύνουν τη διάθεση του φαρμάκου υπό μορφή δισκίου, τα λεγόμενα έκδοχα. Παράδειγμα ενός εκδόχου είναι το όξινο ανθρακικό νάτριο, με το οποίο αντιδρά η ασπιρίνη, επειδή περιέχει στο μόριό της μια καρβοξυλομάδα. Έτσι, σχηματίζεται το αντίστοιχο καρβοξυλικό άλας, το οποίο είναι διαλυτό στο νερό και η αναλγητική δράση του είναι ταχύτερη (Σχήμα 2.3).



Σχήμα 2.3 Χημική εξίσωση της αντίδρασης της ασπιρίνης με όξινο ανθρακικό νάτριο (NaHCO₃), ένα έκδοχο του δισκίου.

Η ιστορία της ανακάλυψης της ασπιρίνης θεωρείται από τις πιο επιτυχημένες στην Ιατρική. Η φύση κρύβει βότανα και θεραπευτικές ουσίες, που ο συνετός άνθρωπος δεν πρέπει να τα αποστρέφεται (Σοφία Σειράχ 34:4 – Ένθετο 2.1). Αποδεικνύεται επίσης, ότι ο άνθρωπος συμμετέχει ενεργά στην καταπράνση του πόνου, επεμβαίνοντας στα βιοδραστικά συστατικά της φύσης για να επιτύχει βελτιωμένη δράση.

Ένθετο 2.1

Υγεία και Σοφία Σειράχ

Στο βιβλίο της Παλαιάς Διαθήκης Σοφία Σειράχ γράφονται τα διδάγματα ή τα αποστάγματα της Σοφίας του Ιουδαίου Σειράχ. Ένα από αυτά σχετίζεται με την υγεία του ανθρώπου και είναι αρκετά διδακτικό.

Υγεία και ευεξία βέλτιον παντός χρυσίου και σώμα εύρωστον ή ολβός αμέτρητος (Σοφία Σειράχ 34:14)

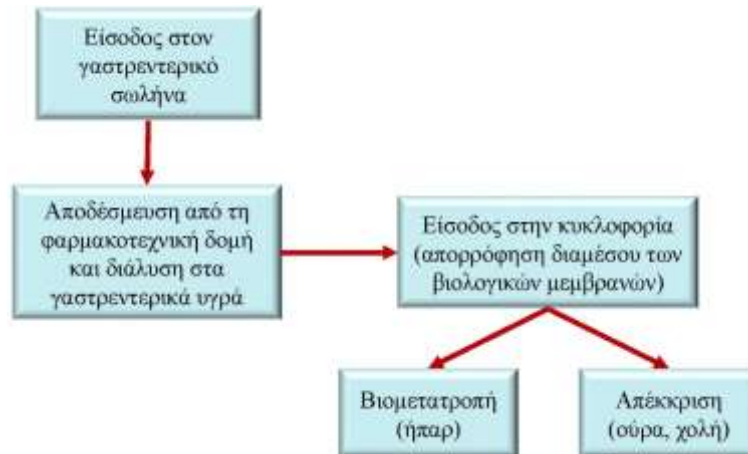
Απόδοση στη νεοελληνική γλώσσα

Η ψυχική και σωματική υγεία είναι ανώτερη από το χρυσάφι ή τον αμέτρητο πλούτο.

2.2.1 Πορεία φαρμάκου στο όργανο στόχο

Το φάρμακο χορηγείται εντερικά (από το πεπτικό σύστημα) ή παρεντερικά. Ο επιλεγόμενος τρόπος χορήγησης του εξαρτάται από τις φυσικοχημικές του ιδιότητες, από τον καθορισμένο θεραπευτικό στόχο καθώς και από την κατάσταση του ασθενούς (π.χ. ασθενείς σε κωματώδη κατάσταση, βρέφη). Ο εντερικός τρόπος χορήγησης μπορεί να γίνει από το στόμα, υπογλώσσια ή από το ορθό. Παρεντερικά γίνεται με χρήση ενδοφλέβιας, ενδομυϊκής ή υποδόριας ένεσης. Άλλοι τρόποι είναι δια εισπνοής όταν το φαρμακευτικό σκεύασμα είναι σε αέρια κατάσταση, ενδορρινικά, ενδορραχιαία, ενδοκοιλιακά (στις κοιλίες του εγκεφάλου), τοπικά και διαδερμικά συνήθως με έμπλαστρο διαδερμικής απορρόφησης. Ο συνηθέστερος τρόπος χορήγησης ενός φαρμάκου γίνεται από το στόμα. Σε αυτόν, το φάρμακο ακολουθεί την πιο πολύπλοκη οδό μέχρι να φθάσει στους ιστούς. Μερικά φάρμακα απορροφούνται στο στομάχι, και τα περισσότερα στο δωδεκαδάκτυλο όπου βρίσκεται η κύρια πύλη εισόδου στη συστηματική κυκλοφορία. Τα φάρμακα που χορηγούνται απορροφούνται συνήθως με παθητική διάχυση σε μη ιοντισμένη μορφή δια μέσου μεμβρανών. Επομένως το φάρμακο πριν εισέλθει στη συστηματική κυκλοφορία –το αίμα– θα αλληλεπιδράσει με τις μεμβράνες των κυττάρων. Οι φυσικοχημικοί παράμετροι της δομής του, του περιβάλλοντός του πριν εισέλθει στη μεμβράνη και μέσα στη μεμβράνη είναι αυτές που θα καθορίσουν σε τελική ανάλυση τη γενική του δράση. Περιληπτικά η πορεία ενός φαρμάκου χορηγούμενου από το στόμα δίνεται παραπλεύρως (Σχήμα 2.4).

Οι παραπάνω παράγοντες που έχουν αναφερθεί θα καθορίσουν λοιπόν τη φαρμακευτική του ικανότητα. Για παράδειγμα η εξελκτική του πορεία μπορεί να καθορισθεί ανάλογα από τη μορφή που θα εισέλθει στον οργανισμό (κρύσταλλος ή άλας). Η μια ή η άλλη μορφή μπορεί να το βοηθά να συμπλοκοποιείται στη γαστρεντερική οδό με μόρια της και έτσι να μη μπορεί να εισέλθει εύκολα στις βιολογικές μεμβράνες. Ένα φάρμακο μπορεί να είναι σε ισορροπία με την ιοντισμένη και μη ιοντισμένη του μορφή. Αυτή που θα εισέλθει στη βιολογική μεμβράνη είναι η μη ιοντισμένη του μορφή. Η απορρόφηση μπορεί να εξαρτάται και από τη μορφή με την οποία χορηγείται ένα φάρμακο. Μια κανονική ασπιρίνη είναι ένας εστέρας. Αυτός υδρολύεται εύκολα στον οργανισμό, ακόμη και από την υγρασία, οπότε η ασπιρίνη διασπάται εύκολα προς το αντίστοιχο παράγωγο της σαλικυλικό οξύ και το οξικό οξύ (ξίδι). Για να αποφευχθεί αυτό το μειονέκτημα της ασπιρίνης χορηγείται σε ρυθμιστικό μίγμα. Αυτό διατηρεί το pH σταθερό. Το pH σχετίζεται με τη συγκέντρωση οξονίων σε ένα υδατικό διάλυμα και εκφράζει την οξύτητα ενός υδατικού διαλύματος.



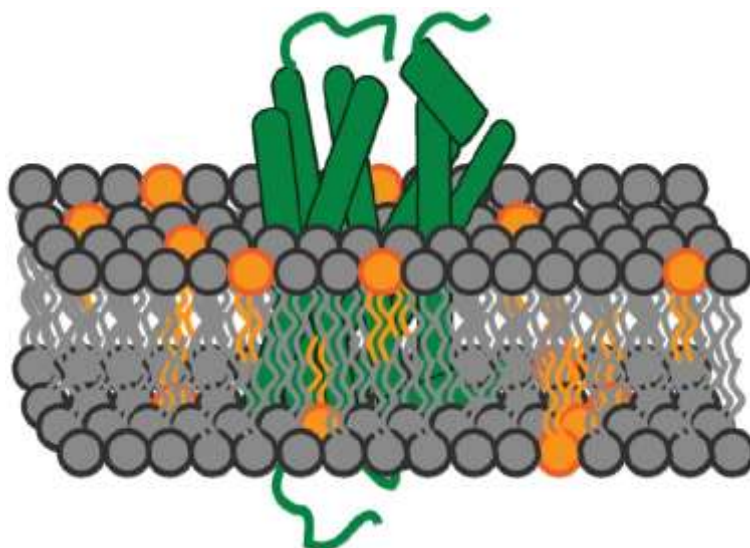
Σχήμα 2.4 Πορεία φαρμάκου.

2.2.2 Βιολογικές μεμβράνες

Οι μεμβράνες αποτελούνται από λιποειδείς διπλοστιβάδες στις οποίες υπάρχουν ενσωματωμένες πρωτεΐνες και χοληστερίνη. Τα φωσφολιπίδια που την απαρτίζουν καθώς και η χοληστερίνη είναι μόρια αμφίφιλα, δηλαδή αποτελούνται από λιπόφιλα και υδρόφιλα τμήματα. Λιπόφιλο τμήμα ενός μορίου είναι αυτό που διαλύεται στο λίπος (έλαιον). Το υδρόφιλο τμήμα είναι αυτό το οποίο διαλύεται στο νερό. Για παράδειγμα ένα φωσφολιπίδιο αποτελείται από την πολική κεφαλή, το υδρόφιλο τμήμα του και τις ακυλικές αλυσίδες οι οποίες αποτελούν το υδρόφοβο τμήμα του. Η εισδοχή ενός φαρμακευτικού μορίου στις βιολογικές μεμβράνες εξαρτάται από τη λιποφιλικότητά του. Το πάχος των βιολογικών μεμβρανών είναι περίπου 5nm. Σε μια τέτοια μεμβράνη ένα φαρμακευτικό μόριο μπορεί να εξασκήσει τη δράση του στα λιπίδια, τις πρωτεΐνες ή ακόμη στους υποδοχείς που υπάρχουν μέσα σε αυτές. Τέλος η δράση του μπορεί να οφείλεται σε επέμβαση στα διάφορα ενζυμικά συστήματα των κυττάρων ή το γενετικό του υλικό.

2.2.3 Υποδοχείς

Ένας υποδοχέας είναι κατά κανόνα μια πρωτεΐνη, αλλά μπορεί να είναι και ένα νουκλεϊκό οξύ όπως το DNA. Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από πολλά αμινοξέα κατάλληλα δομημένα με τριδιάστατη διάταξη ώστε να μπορούν να δημιουργούνται διάφορες κοιλότητες (Σχήμα 2.5). Μια τέτοια κοιλότητα αποτελεί θέση πρόσδεσης για κατάλληλα διαμορφωμένα μόρια τα οποία συνθέτει ο οργανισμός. Για να γίνει καλύτερα κατανοητό, ας μελετήσουμε την υπέρταση η οποία χαρακτηρίζεται ως παράγοντας επικινδυνότητας (risk factor). Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη δημιουργία της υπέρτασης είναι πολλοί και περίπλοκοι, ωστόσο ένας από αυτούς είναι υπεύθυνος για τη σύνθεση της Αγγειοτασίνης II, μιας ουσίας (πεπτίδιο), η οποία κατόπιν προσδένεται σε ειδικούς διαμεμβρανικούς υποδοχείς που ονομάζονται AT₁. Κατά την πρόσδεσή της, ενεργοποιεί τους υποδοχείς με αποτέλεσμα την πρόκληση της υπέρτασης.

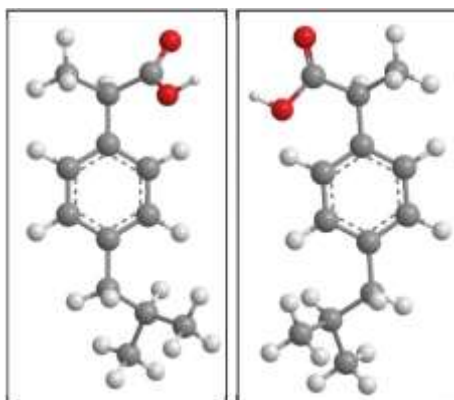


Σχήμα 2.5 Ο υποδοχέας της βακτηριοδοψίνης, μέσα σε λιποειδείς διπλοστοιβάδες, ανήκει στην οικογένεια των συζευγμένων με G-πρωτεΐνη (G protein coupled receptor: GPCR). Αποτελείται από επτά διαμεμβρανικές έλικες, που απαρτίζουν εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια τμήματα. Παρατηρείται ότι τα διαμεμβρανικά τμήματα του υποδοχέα συνδέονται μεταξύ τους με βρόχους. Ένας ακόμη υποδοχέας ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των συζευγμένων με G-πρωτεΐνη είναι ο AT₁.

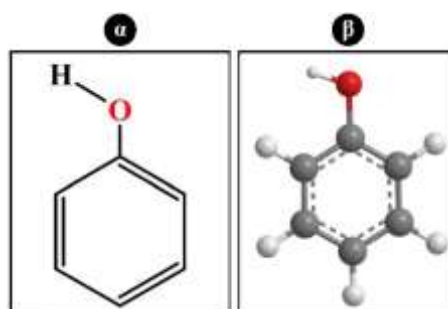
2.2.4 Στερεοεξειδίκευση φαρμάκου

Αναφέραμε προηγουμένως ότι οι υποδοχείς σχηματίζουν κοιλότητες στην επιφάνειά τους. Σε μια από αυτές πρέπει να εισχωρήσει ένα φαρμακευτικό μόριο για να δράσει. Για να επιτευχθεί η επιτυχής πρόσδεση, το φάρμακο πρέπει να προσαρμόζεται σε καθορισμένη τριδιάστατη δομή. Το δημιουργούμενο σύμπλεγμα θα καθορίσει την εξάσκηση της βιολογικής του δράσης. Η κοιλότητα πρέπει να είναι κατάλληλη ώστε να φιλοξενεί το φαρμακευτικό μόριο. Οι στερεοδιατάξεις πρέπει να προσαρμόζονται κατάλληλα για να δώσουν το μήνυμα ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό βιολογικό αποτέλεσμα. Δύο μόρια τα οποία έχουν σχέση ειδώλου-αντικειμένου ως προς ένα επίπεδο κάτοπτρο μπορεί να παρουσιάζουν διαφορετική δράση γιατί απλούστατα το ένα από αυτά δεν προσαρμόζεται κατάλληλα στον υποδοχέα. Για παράδειγμα, από τα δύο εναντιομερή της ιμπουπροφαίνης (ibuprofen) η οποία εξασκεί αναλγητική-αντιφλεγμονώδη δράση, μόνο το ένα ευθύνεται για την εξάσκηση της φαρμακευτικής του αυτής ιδιότητας. Με παρατήρηση του Σχήματος 2.6 μπορεί να εξηγηθεί η εξειδίκευση των φαρμακευτικών μορίων.

Γενικά, οι φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες κάποιου μορίου εξαρτώνται από τη γεωμετρία του στο χώρο ή αλλιώς από την τριδιάστατη δομή του. Η αναπαράσταση ενός μορίου σε δύο διαστάσεις μπορεί μόνο να μας πληροφορήσει για το είδος των ατόμων που περιέχει. Η τριδιάστατη δομή μπορεί όμως να μας δώσει πληροφορίες για τις κρίσιμες διέδρες γωνίες, που καθορίζουν τη διαμόρφωσή του. Ένα απλό παράδειγμα αποτελεί το μόριο της φαινόλης (Σχήμα 2.7). Στις δύο διαστάσεις παρατηρούμε μόνο το είδος και τη διάταξη των ατόμων στο μόριο. Στην τριδιάστατη απεικόνιση του μορίου της φαινόλης μπορεί να καθορισθεί η σχέση του υδρογόνου του φαινολικού υδροξυλίου, ως προς το επίπεδο του φαινολικού δακτυλίου.



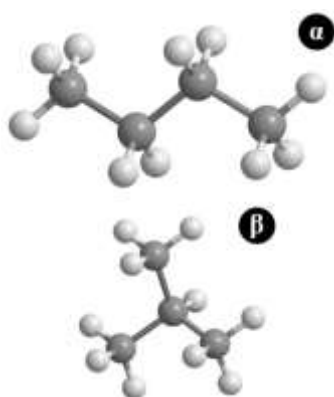
Σχήμα 2.6 Εξειδίκευση της μπουπροφαίνης (R, αριστερά, S δεξιά). Το χειρόμορφο κέντρο (C-6) προκαλεί διαφοροποίηση της αλληλεπίδρασης των δύο εναντιομερών της στο ενεργό κέντρο.



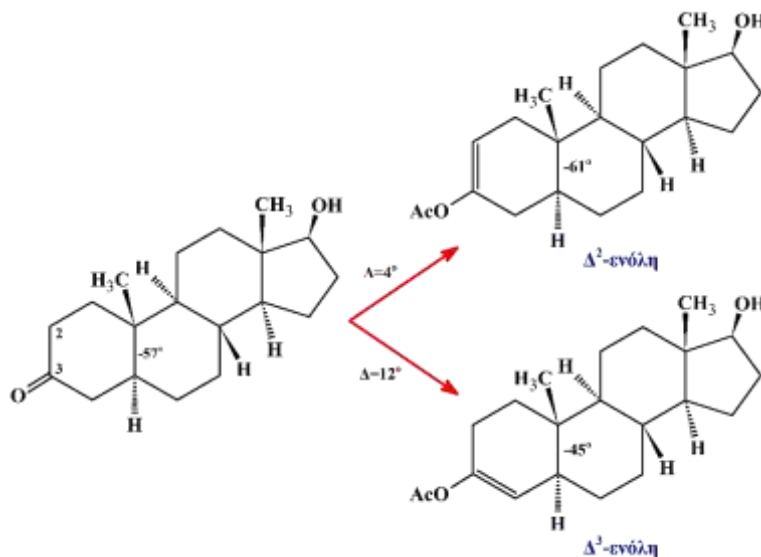
Σχήμα 2.7 (α) Διδιάστατη και (β) τριδιάστατη δομή της φαινόλης.

Το σημείο ζέσεως του n-βουτανίου είναι -1°C , ενώ του ισοβουτανίου -12°C . Αυτό οφείλεται στη διαφορετική τριδιάστατη δομή των δύο ισομερών. Το ισοβουτάνιο είναι σχεδόν σφαιρικό, με αποτέλεσμα οι στερεοχημικές απώσεις να είναι αυξημένες συγκριτικά με το n-βουτάνιο, το οποίο προσαρμόζεται σε μία εκτεταμένη γεωμετρία (Εικόνα 2.8).

Η ενολοποίηση των κετο-3 στεροειδών παράγει μίγμα Δ^2 -ενόλης και Δ^3 -ενόλης με μεγαλύτερη αναλογία στη Δ^2 -ενόλη. Μία ποιοτική ανάλυση μπορεί να εξηγήσει το αποτέλεσμα. Η διαφορά στην ενολοποίηση της διέδρης γωνίας, που καθορίζει την σύντηξη των δύο δακτυλίων, είναι μεγαλύτερη στην Δ^3 -ενολική μορφή. Η μεταβολή είναι 12° στην Δ^3 -ενολική (από -57° σε -45°) μορφή και 4° στην Δ^2 -ενολική μορφή (από -57° σε -61°) (Σχήμα 2.9).

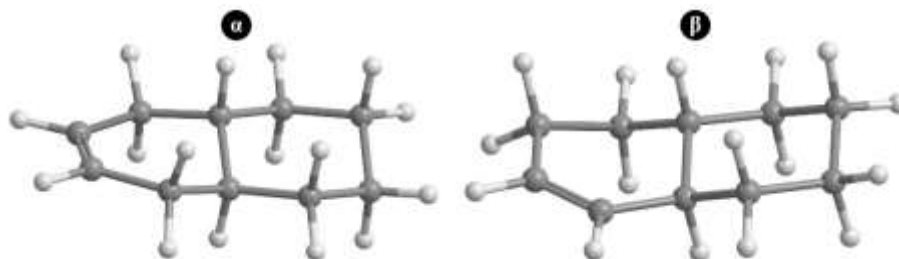


Σχήμα 2.8 Τριδιάστατες δομές (α) του n-βουτανίου και (β) του ισοβουτανίου.



Σχήμα 2.9 Ενολοποίηση των κετο-3 στεροειδών.

Μία περαιτέρω συζήτηση μπορεί να δώσει μία ποσοτική εξήγηση στην προτίμηση της Δ^2 -ενολοποίησης. Η σχετική σταθερότητα των δύο ισομερών στην *trans*-δεκαλίνη μπορεί να υπολογισθεί με βάση τις 3D γεωμετρίες των ενώσεων. Υπολογισμός της ενέργειας των δύο συστημάτων, όπως θα εξηγήσουμε αναλυτικότερα στη συνέχεια του βιβλίου, δίνει μια διαφορά της τάξης των $2,9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ η οποία ευνοεί το ισομερές 1 (περισσότερο σταθερό). Η γεωμετρική προτίμηση του Δ^2 -ισομερούς επεξηγεί, γιατί η ενολοποίηση της β -δεκαλίνης παράγει μίγμα ισομερών, με Δ^2/Δ^3 ενολικό λόγο να παρουσιάζει αντίστοιχη εκατοστιαία αναλογία 72% /28%



Σχήμα 2.10 Η σχετική σταθερότητα των δύο ισομερών της *trans*-δεκαλίνης. (α) $\Delta E = 0 \text{ KJ/mol}$, (β) $\Delta E = 2,9 \text{ KJ/mol}$.

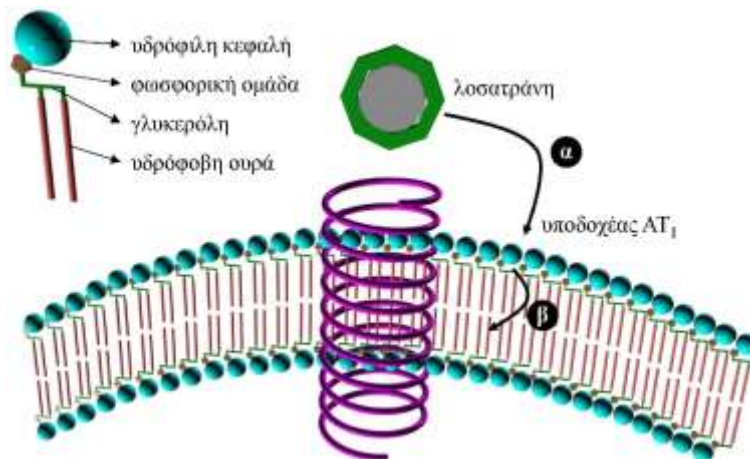
(Σχήμα 2.10).

Όπως θα μελετήσουμε αναλυτικότερα και στη συνέχεια του βιβλίου, ένα μόριο με φαρμακευτικό ενδιαφέρον, ανάλογα με το περιβάλλον που βρίσκεται, προσαρμόζεται σε πολλές διαμορφώσεις. Μία από αυτές είναι υπεύθυνη, για να εξασκήσει το βιολογικό της ρόλο, μέσω ενός συγκεκριμένου υποδοχέα. Γενικά, η στερεοχημική απαίτηση για τη δράση ενός φαρμάκου, μπορεί να εντοπίζεται όχι μόνο μέσα στις μεμβράνες αλλά γενικά σε όλη του τη διαδρομή για τη βιολογική απόκριση (π.χ. στο βιολογικό του μεταβολισμό, σε τι δηλαδή μετατρέπεται στον οργανισμό). Γι' αυτό πολλές φορές το φάρμακο χορηγείται ως προ-φάρμακο δηλαδή σε μορφή η οποία όταν μεταβολισθεί από τα ένζυμα του οργανισμού, να δώσει την κατάλληλη δραστική ουσία. Ένα μόριο μπορεί να αδρανοποιηθεί όχι μόνο μεταβολικά αλλά και κατά την αλληλεπίδρασή του με διάφορα μακρομόρια του οργανισμού. Σε τέτοιες περιπτώσεις μπορεί να χορηγηθεί συνεργιστικά με ένα άλλο ώστε να εμποδίζεται η αγκίστρωση του στη λανθασμένη κοιλότητα. Φάρμακο και όργανο στόχος: Κάθε φάρμακο θα πρέπει να εξασκεί τη δράση του σε ορισμένο στόχο. Αυτό προϋποθέτει ακόμη περισσότερη εξειδίκευση, γι' αυτό και αντίστοιχα γνώση του καθορισμένου συστήματος. Η γνώση της στερεοδιάταξης ενός μορίου καθώς και των στερεοδιατακτικών απαιτήσεων του υποδοχέα και γενικά της λειτουργίας του βιολογικού συστήματος με το οποίο δρα είναι απαραίτητη για τον σχεδιασμό ενός κατάλληλου φαρμάκου. Ας εξετάσουμε ένα παράδειγμα όπου η γνώση ενός συστήματος οδήγησε στο αντιυπερτασικό φάρμακο λοσαρτάνη.

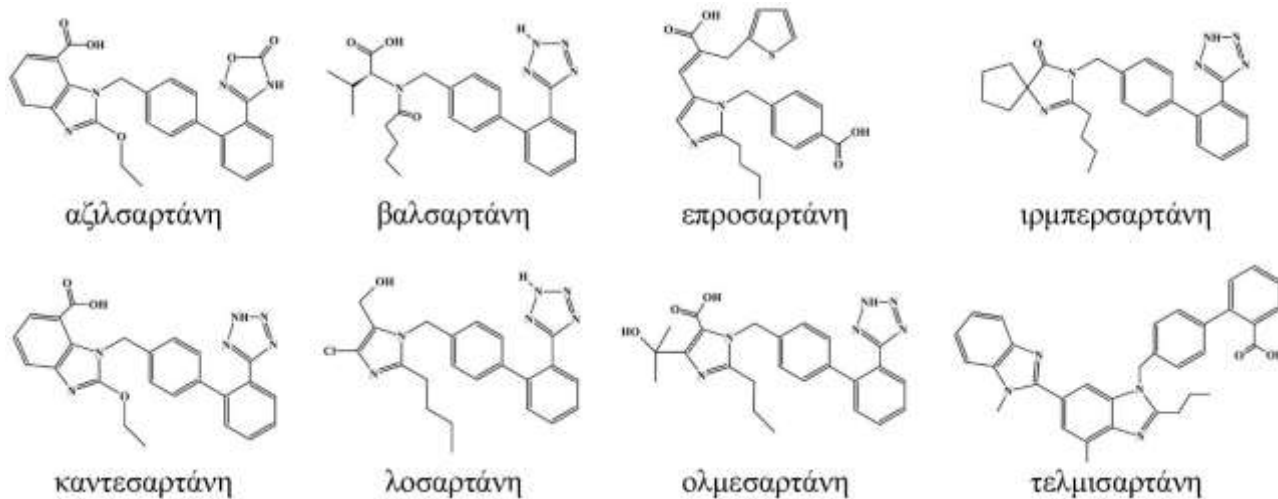
2.2.5 Σχεδιασμός και σύνθεση του αντιυπερτασικού φαρμάκου λοσαρτάνη

Η υπέρταση είναι ένας παράγοντας επικινδυνότητας, μάλιστα της εποχής μας, που όταν δεν διαγνωσθεί έγκαιρα ώστε να αντιμετωπιστεί θεραπευτικά μπορεί να έχει μια σειρά από συνέπειες ιδιαίτερα σοβαρές (π.χ. εγκεφαλικό επεισόδιο) που είναι δυνατόν να οδηγήσουν ακόμα και στον θάνατο. Η ανάπτυξη της ασθένειας ευνοείται από τον αγχώδη τρόπο ζωής του σύγχρονου ανθρώπου και τη διαιτητική του αγωγή. Το σύστημα της Ρενίνης-Αγγειοτασίνης είναι καθοριστικό για τη ρύθμιση της πίεσης του αίματος και την ηλεκτρολυτική ομοιόσταση. Η ύπαρξη του συστήματος αυτού έχει εντοπιστεί σε διάφορους ιστούς και όργανα όπως η καρδιά, ο εγκέφαλος, οι νεφροί και τα τοιχώματα των αγγείων. Η Αγγειοτασίνη II είναι μία πεπτιδορμόνη που παίζει κεντρικό ρόλο στο σύστημα Ρενίνης-Αγγειοτασίνης και εμπλέκεται στην πρόκληση της υπέρτασης. Είναι γνωστό ότι δρα σε διαμεμβρανικό υποδοχέα (Σχήμα 2.11) όπου οφείλεται η μη επιθυμητή βιολογική της δράση. Παρεμπόδιση λοιπόν της δράσης της με κάποιο συνθετικό βιολογικά ενεργό μόριο θα είναι

ευεργετική για τη θεραπεία της υπέρτασης. Μετά από κατανόηση της τριδιάστατης δομής της και τη σύνθεση πληθώρα πεπτιδικών και μη αναλόγων, οι προσπάθειες των επιστημόνων επιβραβεύθηκαν με τη σύνθεση της λοσαρτάνης. Στην αγορά κυκλοφορούν τώρα παράγωγα του μορίου αυτού τα οποία έχουν εφάμιλλη βιολογική δράση (Σχήμα 2.12).



Σχήμα 2.11 Υποδεικνύονται τα δύο πιθανά βήματα τα οποία θα πρέπει να ακολουθήσουν οι AT_1 ανταγωνιστές ώστε να προσδέσουν στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα. (α) Το πρώτο πιθανό βήμα περιλαμβάνει την εισχώρηση τους στις λιπιδικές διπλοστιβάδες. (β) Εκεί διαχέονται πλευρικά προς το ενεργό κέντρο όπου μέσω αμφοτερικών αλληλεπιδράσεων ενεργοποιούν τον υποδοχέα και τελικά αναστέλλουν τη δράση της αγγειοδιασταλτικής ορμόνης αγγειοτασίνης II.



Σχήμα 2.12 Εμπορικά διαθέσιμοι AT_1 ανταγωνιστές.

2.2.6 Από τον σχεδιασμό μέχρι την παραγωγή του φαρμάκου

Στο Σχήμα 2.13 περιγράφονται όλα τα στάδια που απαιτούνται από την έναρξη της προσπάθειας στόχευσης σε συγκεκριμένο στόχο μέχρι την προετοιμασία και υποβολή αίτησης για έγκριση νέου φαρμάκου. Η επιτυχής πορεία ενός προϊόντος από το πρώτο ως το τελευταίο στάδιο απαιτεί 15 χρόνια και συνολικό κόστος των εκατοντάδων εκατομμυρίων δολαρίων. Αν και το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και χρηματικό ποσό που απαιτούνται είναι στα τελευταία στάδια, η εύρεση μιας

ένωσης με επιθυμητά χαρακτηριστικά, απαιτεί 4 χρόνια. Αν ένα φάρμακο αποτυγχάνει στα τελευταία στάδια, η διαδικασία επιστρέφει στο αρχικό στάδιο για την εύρεση νέας δομής.

Από τα παραπάνω κατανοείται ότι η πιο αποτελεσματική διαδικασία ανακάλυψης ασφαλών καινοτόμων φαρμάκων αποτελεί σήμερα μια ερευνητική πρόκληση. Ο έντονος ανταγωνισμός που υπάρχει στις βιομηχανίες παραγωγής φαρμάκων για «οικονομικό φάρμακο» απαιτεί νέες προσεγγίσεις που να βελτιώνουν τα αρχικά στάδια στην πορεία ανακάλυψης.



Σχήμα 2.13 Σχεδιασμός μέχρι την παραγωγή φαρμάκου.

2.2.7 Τοξικότητα του φαρμάκου

Το φάρμακο μπορεί να μετατραπεί σε δηλητήριο για τον οργανισμό αν δεν έχει ληφθεί σε κατάλληλη δόση και κατόπιν συνταγής του ιατρού. Αυτό μπορεί να έχει διάφορες παρενέργειες γιατί στην πορεία του προς τον στόχο μπορεί να υποστεί διάφορες μεταβολικές τροποποιήσεις, οι οποίες να δημιουργούν τοξικότητα ή να δημιουργεί προβλήματα γιατί δεν παρουσιάζει εξειδικευμένη στόχευση. Ένα φάρμακο πρέπει να περιέχει τα κατάλληλα στερεοηλεκτρονιακά χαρακτηριστικά, υδρόφιλα και υδρόφοβα δομικά τμήματα ώστε να δράσει κατά βέλτιστο τρόπο. Επομένως προβλήματα μπορεί να δημιουργηθούν από τη χορήγηση του φαρμάκου λόγω της μη κατάλληλης λιποφιλικότητάς του. Μπορεί να χρειάζεται να βοηθηθεί από ένα μεταφορικό μέσο το οποίο να το προστατεύσει στην «πορεία του προς την Ιθάκη». Παραδείγματα τέτοιων μεταφορικών μέσων αποτελούν τα λιποσώματα και οι κυκλοδεξτρίνες (Σχήμα 2.14).



Σχήμα 2.14 (α) παριστάνεται το μόριο της σιλυπίνης Α (silybin A), ένα φαρμακευτικό μόριο ωφέλιμο για τις βλάβες του συκωτιού, εγκλωβισμένο στην 2-υδροξυπροπυλο-β-κυκλοδεξτρίνη. (β) εικονίζεται το φυτό *Silybum Marianum*.

Λαιστρυγόνες, Κύκλωπες, Σειρήνες και η Κίρκη εμφολεύουν πάντα να του διακόψουν την πρόσβαση του στο κέντρο δράσης. Τέτοια εμπόδια στην πορεία του για παράδειγμα σε ένα

διαμεμβρανικό στόχο, μπορεί να είναι το υδρόφιλο περιβάλλον της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Αν το φαρμακευτικό μόριο είναι πολύ υδρόφιλο μπορεί το υδάτινο περιβάλλον να το φιλοξενήσει και να μην το αφήσει να εισχωρήσει στο λιπιδικό τμήμα της μεμβράνης για να βρει τον υποδοχέα-στόχο. Αν το φαρμακευτικό μόριο είναι πολύ λιπόφιλο τα λιπιδικό τμήμα της μεμβράνης και πάλι θα το φιλοξενήσει και δεν θα το αφήσει να διαχυθεί προς τον υποδοχέα. Η χοληστερόλη των λιπιδικών διπλοστιβάδων μπορεί επίσης να το αποβάλει από το λιπιδικό τμήμα της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Με τη σύντομη αυτή περιγραφή κατανοείται γιατί η παρασκευή ενός φαρμάκου είναι μια πρόκληση στην ερευνητική κοινότητα αφού εμφανίζονται τόσο πολλά εμπόδια στην πορεία πρόσδεσης στο ενεργό κέντρο και τελικά την προαγωγή της βιολογικής ανταπόκρισης.

2.2.8 Ποιοι συμμετέχουν στη δημιουργία ενός φαρμάκου;

Η παρασκευή ενός φαρμάκου απαιτεί συντονισμένη προσπάθεια πολλών ειδικοτήτων όπως φυσικοχημικών, αναλυτικών χημικών, βιολόγων, συνθετικών φαρμακοχημικών, φαρμακολόγων, κλινικών ιατρών, τοξικολόγων κ.λπ. Επίσης προϋποθέτει μια βιομηχανική μονάδα όπου θα παρασκευασθεί σε μεγάλες ποσότητες.

Γενικά

♦ Ένα φάρμακο πρέπει να σχεδιασθεί από επιστήμονες γνώστες της Φαρμακευτικής Χημείας με τις στερεοηλεκτρονιακές απαιτήσεις του υποδοχέα ή κάποιου άλλου κέντρου δράσης. Αλλιώς οι ερευνητές ομοιάζουν να σημαδεύουν τυφλά τον στόχο.

♦ Η σύνθεση θα πρέπει να είναι απλή ώστε το φάρμακο να μην κοστίζει.

♦ Το συντιθέμενο φάρμακο πρέπει να υποστεί δοκιμασίες σε πειράματα σωλήνα, σε πειραματόζωα και σε εθελοντές ασθενείς ή υγιείς ανθρώπους για να αποδειχθεί η δραστηριότητά του, η βιολογική του σταθερότητα και η έλλειψη τοξικότητάς του.

♦ Μετά την έγκρισή του θα πρέπει ακόμη να ελέγχεται για τις παρενέργειες που τυχόν προκαλεί σε ασθενείς. Αν η ευεργετική του δράση είναι μικρότερη από τις παρενέργειες που προκαλεί τότε αποσύρεται από την αγορά.

Από τις χιλιάδες μόρια που συντίθενται μόνο ελάχιστα φτάνουν να δοκιμάζονται σε ανθρώπους. Η επιλογή γίνεται από κανόνες τοξικότητας και βιολογικής δράσης που καθορίζονται από διεθνείς οργανισμούς. Η προσπάθεια του ανθρώπου να ευεργετήσει «τον συνάνθρωπό του» και να καταπραΰνει τον πόνο του είναι έντονη. Ο ερευνητής επιστήμονας πρέπει να ασκήσει κάθε θεμιτή προσπάθεια για να αποδειχθεί καλός Σαμαρείτης, να «αλείφει με οίνον και έλαιον (φάρμακα)» τις πληγές του συνανθρώπου του εκμεταλλευόμενος τη θεοδώρατη ικανότητα του «ανακαλύπτει».



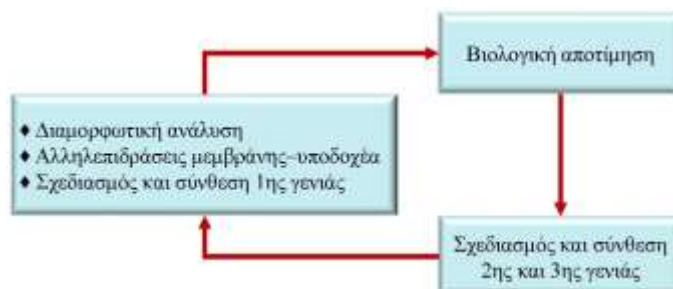
«Η παραβολή του καλού Σαμαρείτη».
Απόσπασμα από τον Κώδικα purpureus Rossanensis.

Ένθετο 2.2

Ορθολογικός Σχεδιασμός της λοσαρτάνης

Η λοσαρτάνη είναι ένα φαρμακευτικό μόριο, το οποίο επιτυγχάνει τον στόχο αυτό. Είναι αμφίφιλο μόριο, διαλύεται σε υδατικό περιβάλλον και, λόγω των λιπόφιλων τμημάτων του, μπορεί να εισέρχεται στο μεμβρανικό υπόστρωμα. Εκεί, με διάχυση, πιθανά προσεγγίζει τον στόχο. Το οργανικό αυτό μόριο καλείται πεπτιδομμητικό, γιατί σχεδιάσθηκε να μιμείται το C-τελικό τμήμα της αγγειοτασίνης II. Η ανυπαρξία των πεπτιδικών δεσμών στη δομή του, ευνοεί την απουσία μεταβολικών προβλημάτων που επεδείκνυαν τα αρχικά πεπτίδια που είχαν συντεθεί ως ανταγωνιστές. Η πολύπλοκη σύνθεσή του (εμπλέκει πολλά στάδια) και οι μη βέλτιστες φαρμακοκινητικές ιδιότητές του οδήγησαν στον σχεδιασμό και σύνθεση καινοτόμων παραγώγων μορίων, τις σαρτάνες οι οποίες μιμούνται τις χωρικές διευθετήσεις των φαρμακοφόρων του ομάδων, με πιθανή βελτιωμένη δράση. Η λοσαρτάνη περιέχει περισσότερα λιπόφιλα τμήματα, αλλά παράλληλα διαλύεται στο νερό, γιατί περιέχει την ιοντιζόμενη ομάδα του τετραζολίου. Γι' αυτό και χορηγείται ως μετά καλίου άλας με το όνομα Cozaar στη φαρμακευτική αγορά.

Ο ορθολογικός σχεδιασμός καινοτόμων μορίων ακολουθεί γενικά τα βήματα του Σχήματος 2.15. Η αποτυχία κάποιου μορίου να εξασκεί την επιθυμητή βιολογική δράση, γεννά την ανάγκη για καινοτόμες δομές. Κι αυτή είναι η χαρά και η δημιουργία του ερευνητή. Να ψάχνει, να βρει τρόπους να υπερπηδήσει τα εμπόδια της πορείας των φαρμάκων προς τον στόχο. Τα στάδια της πορείας ανακάλυψης της λοσαρτάνης έχουν ήδη περιγραφεί σε εργασία του προηγούμενου κεφαλαίου.



Σχήμα 2.15 Ο ορθολογικός σχεδιασμός συνίσταται στο σχεδιασμό και σύνθεση νέων μορίων με βάση τις προηγούμενες αποτυχίες των συντιθέμενων μορίων.

2.3 Το παράδειγμα της Ιθάκης και ο Χημικός Ερευνητής Οδυσσέας

Όπως ήδη έχει αναφερθεί η πορεία του φαρμακευτικού μορίου προς τον στόχο, μπορεί να παραλληλιστεί με την πορεία του Οδυσσέα προς την Ιθάκη. Τα βιολογικά εμπόδια που συναντά στον ανθρώπινο οργανισμό (υδάτινος φραγμός, αλληλεπίδραση με τις μεμβράνες, διαμορφωτικές αλλαγές κατά την πρόσδεση με τον υποδοχέα) μοιάζουν με τις δυσκολίες (Λαιστρυγόνες, Κύκλωπες, Σειρήνες, Κίρκη) του μυθικού θαλασσοπόρου στο ταξίδι του για την επιστροφή. Ο Ομηρικός πρωταγωνιστής κατάφερε να υπερκεράσει τα εμπόδια στο ταξίδι του με όπλα του τον νου και τον πόθο για την επιστροφή. Ο ορθολογικός σχεδιασμός, καθώς και η ανάγκη για νέα βελτιωμένα φαρμακευτικά προϊόντα, είναι τα αντίστοιχα εφόδια της επιστήμης για την επίτευξη του στόχου.

Ποιητικό ένθετο για την πορεία του φαρμάκου και τις δυσκολίες στην πρόσδεση στον στόχο.

Ένθετο 2.3

Σαν βγει στον πηγάμιό για την Ιθάκη
μία φαρμακευτική ουσία
χωρίς την κατάλληλη πανοπλία,
ο δρόμος της σίγουρα
θα' ναι μακρός.
Τους Αιαιετρογόνους που
πολύ φοβάται,
το υδάτινο δηλαδή περιβάλλον,
δύσκολο θα τους νικήσει
και με απώλειες συγκέντρωσης
θα προχωρήσει.
(νόμος κατανομής)



«Ο Οδυσσεύς στους Αιαιετρογόνους»
Styka Jan (1858-1925)

Κι ύστερα,
έρχονται οι Σειρήνες,
οι λογιών-λογίων κραιπίνες
και γυλιστερόλη,
όλα αυτά τα βιολογικά μόρια
το ταξίδι δυσκολεύουν,
η πλευρική διάχυση
δεν κατορθώνεται ορθά.

Τέλος εμφανίζεται η Κίρκη,
το ραβδί της μεταμόρφωσης
κρατεί.
Αλίμονο, αν τις διαμορφώσεις
του φαρμάκου ή του υποδοχέα
αναποθήματα αλλάξει.



«Οδυσσεύς και Σειρήνες»
Lairesse Gerard (1640-1711)

Τους Κύκλωπες πρέπει να τους διαβεί.
Το λιπόφιλο περιβάλλον της μεμβράνης
δεν είναι δυνάτις
να αποφύγει.
Κι αλίμονο αν δεν τα καταφέρει, εδώ
θα ξεστρατίσει.



«Ο Οδυσσεύς τυφλώνει τον
κύκλωπα Πολύφημο»,
Μουσιτσιο Sperlonga, Ιταλία

Η Ιθάκη έδωσε το ωραίο ταξίδι
στους ερευνητές.
Χωρίς αυτήν δεν θα' βγαίνανε
στον ορθολογικό σχεδιασμό.
Κι αν πτοχική την βρήκαν,
η Ιθάκη ποτέ δεν τους γλιτά.
Έτσι, σοφοί που γίνονται
με την ερευνητική τους εμπειρία,
Καταλαβαίνουν, ότι η Ιθάκη
είναι της ζωής τους η πορεία!



«Η Κίρκη μεταμορφώνει τους
συντρόφους του Οδυσσέα σε χοίρους»
Tempesta Antonio (1555-1630)

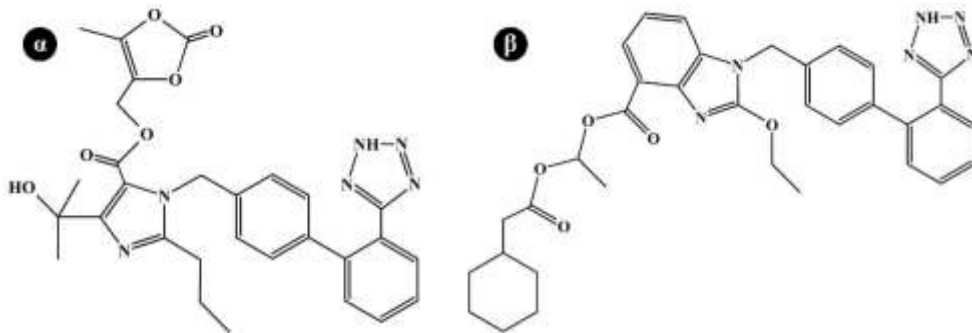
Βιβλιογραφία / Αναφορές

1. Μαυρομούστακος Θ. (2004). Φάρμακον: Ο εν ασθενεία ευεργέτης, *Χημικά Χρονικά Κύπρου*. 13, 3–10.
2. Patil P.N. (2012). *Discoveries in pharmacological sciences*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
3. Fischer J., Ganellin C.R. (2006). *Analogue-based Drug Discovery*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

Κριτήρια Αξιολόγησης

2.1 Ερωτήσεις

1. Ποια εμπόδια βρίσκει ένα φαρμακευτικό προϊόν, για να αλληλεπιδράσει με τη βιολογική μεμβράνη ή με κάποιο διαμεμβρανικό υποδοχέα;
2. Σε ποια άλλα κέντρα, νομίζετε ότι μπορεί να εξασκήσει τη δράση του ένα μόριο;
3. Ποια άλλα εμπόδια, νομίζετε, ότι μπορεί να συναντήσει ένα μόριο, για να εξασκήσει τη βιολογική του δράση;
4. Πολλά μόρια παρέχονται στον ασθενή ως προ-φάρμακα. Αυτά είναι ενώσεις που στον οργανισμό μεταβολίζονται προς τα ενεργά μόρια. Με τον τρόπο αυτό προστατεύουν τον οργανισμό. Για παράδειγμα μια ένωση όξινη μπορεί να προκαλέσει φλεγμονές, γι' αυτό δίνεται ως εστέρας. Δίνονται τα παρακάτω δύο προ-φάρμακα μεντοξομίλη της ολμεσαρτάνης και σιλεξιτίλη της καντεσαρτάνης (Σχήμα 2.16). Πώς νομίζετε ότι θα μεταβολίζονται στον οργανισμό;



Σχήμα 2.16 (α) μεντοξομίλη της ολμεσαρτάνης (olmesartan medoxomil), (β) σιλεξιτίλη της καντεσαρτάνης (candesartan cilexetil)

5. Μια έννοια πολύ χρήσιμη στον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμάκων είναι αυτή του βιοϊσοστερισμού (Ενθετο 2.4). Στην ανακάλυψη της λοσαρτάνης χρησιμοποιήθηκε καταρχάς η καρβοξυλομάδα. Λόγω των προβλημάτων της βιολογικής απόκρισης αντικαταστάθηκε από την ομάδα του τετραζολίου ως βιοϊσοστερική. Γιατί νομίζετε το τετραζόλιο θεωρείται βιοϊσοστερικό με την καρβοξυλομάδα;

Ένθετο 2.4



Langmuir Irving
(1881-1957)

Βιοϊσοστερισμός. Η έννοια προήλθε από αυτή του ισοστερισμού που πρότεινε το 1919 ο Langmuir. Ισοστερισμός σημαίνει ότι τα άτομα ή ομάδες φέρουν ίσο αριθμό ηλεκτρονίων, είναι δηλαδή ισοηλεκτρονιακά ή ισοηλεκτρονιακές. Παραδείγματα αποτελούν οι τριάδες H, He, Li⁺ και O²⁻, F, Ne επειδή περιέχουν δύο και δέκα ηλεκτρόνια αντίστοιχα.

Το 1951 ο Friedman επέκτεινε την έννοια στον βιοϊσοστερισμό. Είναι ισοστερείς ομάδες οι οποίες έχουν ίδιο τύπο βιολογικής απόκρισης.

Το 1979 ο Thornber διευρύνει περαιτέρω την έννοια του βιοϊσοστερισμού σε ομάδες που έχουν όμοιες φυσικές και χημικές ιδιότητες και παράγουν παρόμοια βιολογική δράση.

Το 1991 ο Burger δίνει μια νέα διάσταση στην έννοια του βιοϊσοστερισμού. Αναφέρεται σε ομάδες ή ενώσεις οι οποίες παρουσιάζουν παρόμοια μοριακά σχήματα, όγκους κατανομή ηλεκτρονίων και φυσικές ιδιότητες.



Burger Alfred
(1905-2000)

2.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Τα φαρμακευτικά προϊόντα περνούν συνήθως από πολλούς φραγμούς πριν εξασκήσουν τη βιολογική τους δράση.
2. Ο Υποδοχέας θεωρείται κέντρο δράσης φαρμακευτικών προϊόντων.
3. Η λιποφιλικότητα κάποιου μορίου είναι αποφασιστικός παράγοντας για να διαπεράσει το λιπιδικό διπλοστιβαδικό φραγμό μίας μεμβράνης.
4. Ο AT₁ υποδοχέας δεν ανήκει στην οικογένεια των συζευγμένων με G-πρωτεΐνη.
5. Ο Ορθολογικός Σχεδιασμός συνίσταται στον σχεδιασμό και σύνθεση καινοτόμων προϊόντων όταν είναι γνωστή η Μοριακή Βάση δράσης του.
6. Η πορεία κάποιου φαρμάκου στο όργανο στόχο μοιάζει με την πορεία προς την Ιθάκη.
7. Πολλές ιδιότητες ενός μορίου καθορίζονται από τη διδιάστατη δομή του μορίου.
8. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες ενός μορίου καθορίζονται από την τριδιάστατη δομή ενός μορίου.
9. Η στερεοδομή ενός φαρμάκου καθορίζει τη βιοδραστικότητά του.

10. Το σημείο ζέσεως του βουτανίου είναι το ίδιο με αυτό του ισοβουτανίου, επειδή είναι γεωμετρικά ισομερή.

11. Ο λόγος των ισομερών που λαμβάνονται σε μία χημική αντίδραση, μπορεί να εξηγηθεί από τις λαμβανόμενες τριδιάστατες δομές των ισομερών.

12. Η διδιάστατη δομή του μορίου δίνει πληροφορίες για τις κρίσιμες διέδρες γωνίες του.

2.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση.

1. Ένα φάρμακο δεν φτάνει να εισέλθει στην λιποειδή διπλοστιβάδα για να εξασκήσει τη βιολογική του δράση διότι

- α) πρέπει να εισέλθει στο κατάλληλο τοπογραφικό της τμήμα
- β) πρέπει να διαχυθεί πλευρικά με ορθό προσανατολισμό προς τον υποδοχέα
- γ) α και β είναι λανθασμένα
- δ) α και β είναι ορθά

2. Ένα φάρμακο βρίσκει τον κατάλληλο στόχο γιατί είναι εξοπλισμένο κατάλληλα

- α) με δομικά χαρακτηριστικά
- β) με μόνο λιπόφιλα χαρακτηριστικά
- γ) με μόνο υδρόφιλα χαρακτηριστικά
- δ) κανένα από τα πιο πάνω

3. Η λοσαρτάνη

- α) είναι φάρμακο
- β) φέρει το εμπορικό όνομα Cozaar
- γ) μιμείται το C-τελικό τμήμα της αγγειοτασίνης II
- δ) όλα τα πιο πάνω είναι ορθά

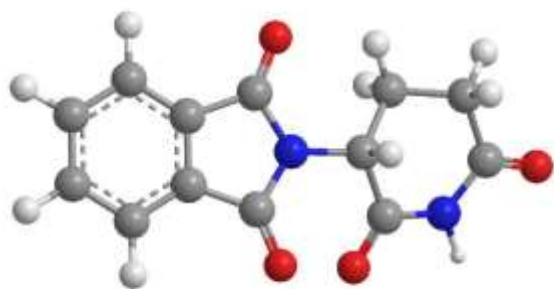
2.4 Εργασίες

1. Να αποδώσετε σε γραπτό λόγο την αναλογία μεταξύ μιας ερευνητικής προσπάθειας για την παρασκευή ενός φαρμάκου και της πορείας του Οδυσσέα προς την Ιθάκη, αξιοποιώντας τις εικόνες του παραθέματος 2.5.



2. Να ερευνήσετε τις πληροφορίες που σας δίνονται μέσω των εικόνων του παραθέματος 2.6 για το φάρμακο της θαλιδομίδης και την τοξικότητά της, καθώς και από το άρθρο των Rehman, W., Arfons, L. M., & Lazarus, H. M. (2011). The rise, fall and subsequent triumph of thalidomide: lessons learned in drug development. *Therapeutic Advances in Hematology*, 2(5), 291–308.

Ένθετο 2.6



Τριδιάστατη δομή της θαλιδομίδης



«Alison Lapper Pregnant», Quinn Marc (1964-)

3. Τι σημαίνει φαρμακοεπαγρύπνηση και γιατί είναι αναγκαία μετά την παρασκευή του φαρμάκου;

4. Να μελετήσετε την ακόλουθη βιβλιογραφία που αφορά τους κανόνες Lipinski (Ένθετο 2.7).

Lipinski C.A., et.al. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23, 3–25.

Ένθετο 2.7



Lipinski Christopher (1944-)

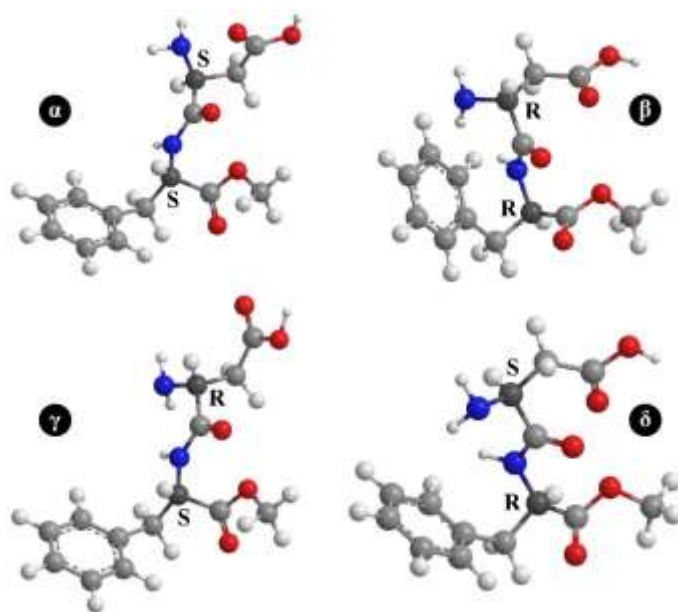
Ο Lipinski μέσα από την ερευνητική του εμπειρία καθιέρωσε τον κανόνα των πέντε (Rule of five) που εκφράζει την «ομοιότητα φαρμάκου–druglikeness». Στην πραγματικότητα οι κανόνες είναι τέσσερις, αλλά ονομάστηκε έτσι γιατί ο αριθμός 5 αναφέρεται συχνά στους τέσσερις κανόνες. Οι κανόνες αυτές δηλώνουν ότι ένα μόριο αποτελεί δυνάμει φαρμακευτικό προϊόν αν πληρεί τις ακόλουθες τέσσερις προϋποθέσεις. Αν ένα ή περισσότερα από τα τέσσερα χαρακτηριστικά δεν υπάρχουν στο μόριο, τότε αυτό δεν έχει πιθανότητα να αποτελέσει φαρμακευτικό προϊόν. Η απορρόφηση λοιπόν κάποιου μορίου είναι μικρή κατά τον Lipinski, αν:

- ♦ Περιέχει περισσότερα από 5 ομάδες δότες προς επίτευξη υδρογονικών δεσμών.
- ♦ Το μοριακό βάρος της είναι μεγαλύτερο από 500 ($5 \cdot 100$).
- ♦ Το clogP είναι μεγαλύτερο από 5 (ή MLOGP είναι μεγαλύτερο από 4,15)
- ♦ Το άθροισμα των ατόμων αζώτου και οξυγόνου είναι μεγαλύτερο από 10 ($2 \cdot 5$).

5. Εκτός από τον Lipinski υπήρξαν και άλλοι επιστήμονες που εισήγαγαν κανόνες. Αυτούς όλους τους κανόνες και επιστήμονες μπορείτε να τους βρείτε στο λογισμικό SwissADME. Σε αυτό περιέχονται και δημοσιεύσεις προς ενημέρωση για το θέμα των πιθανών φυσικοχημικών ιδιοτήτων ενός φαρμάκου αλλά και της τοξικότητάς του.

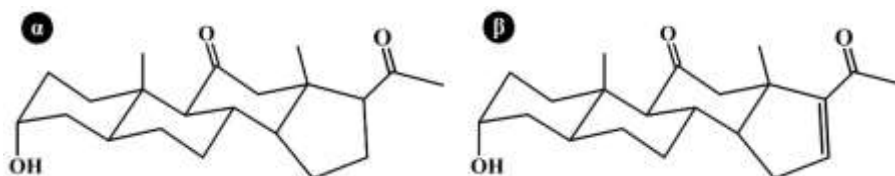
6. Αν ένα μόριο έχει περισσότερα από ένα χειραλικά κέντρα, τότε είναι πιθανό μόνο ένα από τα διαστερεοϊσομερή του να έχει τις επιθυμητές ιδιότητες. Από τα τέσσερα ισομερή της ασπαρτάμης (NutraSweet) (Σχήμα 2.17) μόνο ένα έχει γλυκιά γεύση. Μελέτες μοριακής μοντελοποίησης έδειξαν ότι το ισομερές αυτό έχει σχήμα L και αποτελεί αυστηρά απαίτηση για τη δέσμευση στον υποδοχέα. Από τις παρακάτω διαμορφώσεις μπορείτε να αποφανθείτε, ποια είναι η ένωση με την επιθυμητή

γεύση;



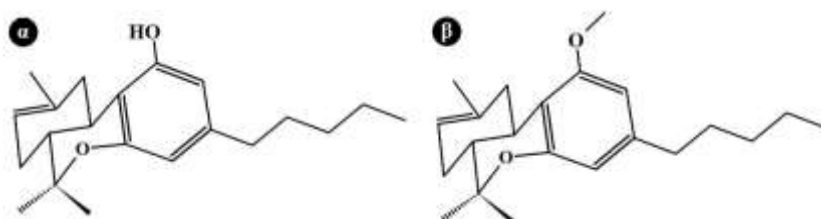
Σχήμα 2.17 Διαστερεοϊσομερή της ασπαρτάμης.

7. Στο πιο κάτω ζεύγος μορίων (Σχήμα 2.18) το ένα έχει αναισθητικές ιδιότητες και το άλλο όχι. Μπορείτε να δώσετε ένα πιθανό λόγο για τη διαφορετική βιολογική τους δραστηριότητα;



Σχήμα 2.18 (α) αλφαξαλόνη (alphaxalone), (β) Δ¹⁶-αλφαξαλόνη (Δ¹⁶-alphaxalone)

8. Το φαινολικό υδροξύλιο είναι απαραίτητο για ψυχότροπες ιδιότητες. Από το παρακάτω ζεύγος (Σχήμα 2.19) ποιο νομίζετε ότι έχει τέτοιες ιδιότητες;



Σχήμα 2.19 (α) τετραϋδροκανναβινόλη (Δ⁸-THC), (β) τετραϋδροκανναβινόλη (Me-Δ⁸-THC)

2.5 Εργαστηριακή άσκηση

Φυσικοχημικές ιδιότητες και τοξικότητα φαρμάκου (SwissADME)

1. Να εισέλθετε στον διαδικτυακό χώρο <http://www.swissadme.ch>.

2. Πατήστε μία φορά με το ποντίκι στο εικονίδιο του βενζολίου και στη συνέχεια πατήστε στο αριστερό λευκό πλαίσιο. Θα εμφανιστεί ο συντακτικός του τύπος. Ακολούθως πατήστε στον κόκκινο κύκλο με τα δύο προς τα δεξιά βελάκια. Θα γραφούν τα smiles (C1=CC=CC=C1) στο δεξί λευκό πλαίσιο (Σχήμα 2.20α).

The image shows three parts of the SwissADME interface:

- α**: A window where a benzene molecule is selected from a library. The SMILES string C1=CC=CC=C1 is displayed in a text box.
- β**: A detailed ADMET prediction report for 'Molecule 1'. It includes a radar chart and a table of various parameters such as Molecular Weight, LogP, and various toxicity scores.
- γ**: A 'Legends' section with a color-coded key for ADMET parameters: BBB (yellow), HIA (light blue), PGP+ (dark blue), and PGP- (red).

Σχήμα 2.20 Στιγμιότυπα από το διαδικτυακό εργαλείο SwissADME για το βενζόλιο. Οι επεξηγήσεις δίνονται στο κείμενο.

Το απλοποιημένο σύστημα εισαγωγής γραμμής μοριακής εισαγωγής (Simplified Molecular-Input Line-Entry System, SMILES) είναι μια προδιαγραφή με τη μορφή γραμμικής συμβολής για την περιγραφή της δομής των χημικών ενώσεων χρησιμοποιώντας σύντομες συμβολοσειρές ASCII. Οι συμβολοσειρές SMILES μπορούν να εισαχθούν από τους περισσότερους συντάκτες μορίων και μετατρέπονται σε διδιάστατες ή τριδιάστατες δομές. Η αρχική προδιαγραφή SMILES ξεκίνησε τη δεκαετία του 1980. Από τότε τροποποιήθηκε και επεκτάθηκε. Το 2007, ένα λογισμικό ανοικτού κώδικα που ονομάζεται OpenSMILES αναπτύχθηκε στην κοινότητα χημείας.

Άλλοι γραμμικοί συμβολισμοί περιλαμβάνουν τη σημειογραφία γραμμής Wiswesser (WLN), ROSDAL και SYBYLLineNotation (SLN). Στην άσκηση το βενζόλιο σε μορφή SMILES γράφεται ως C1=CC=CC=C1. Αυτό σημαίνει ότι ο C1 είναι σε διπλό δεσμό με τον επόμενο άνθρακα ο οποίος με τη σειρά του βρίσκεται σε απλό δεσμό με τον τρίτο κατά σειρά άνθρακα. Ακολουθούν διπλοί και απλοί δεσμοί εναλλάξ και στο τέλος ο δακτύλιος καταλήγει στον C1. Με τον τρόπο αυτό εξηγείται το SMILES του βενζολίου.

3. Με τη χρήση του προγράμματος θα μπορείτε να πληροφορηθείτε αν μια ένωση έχει όλα τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά για να αποτελέσει φάρμακο. Στην αρχή του λογισμικού θα βρείτε δημοσιεύσεις που εξηγούν όλα τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τα οποία προσδιορίζονται.

4. Το Run θα ενεργοποιηθεί (έχει κοκκινίσει). Πατήστε το Run και θα λάβετε τα αποτελέσματά σας (Σχήμα 2.20β).

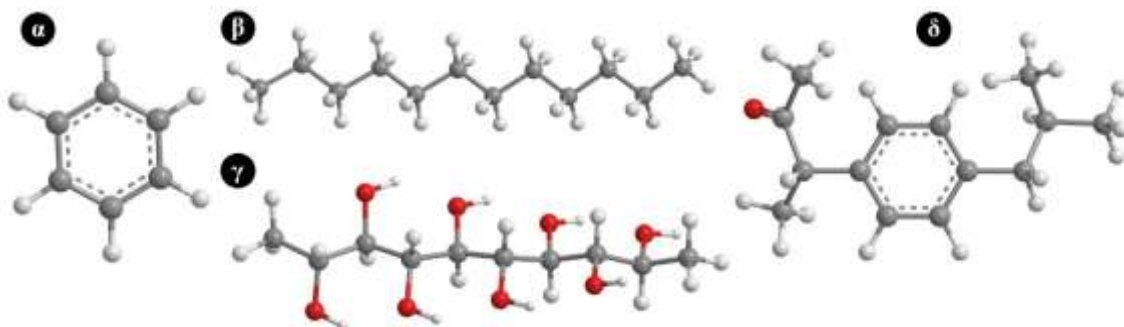
5. Όλες οι έξι επιθυμητές ιδιότητες (μέγεθος, πολικότητα, αδιαλυτότητα, ακορεστότητα, ευκινησία, λιποφιλικότητα) θα πρέπει να εντοπίζονται εντός του χρωματισμένου εξαγώνου. Το βενζόλιο δεν έχει όλες τις επιθυμητές ιδιότητες διότι η ακορεστότητα βρίσκεται εκτός του χρωματισμένου εξαγώνου.

6. Το λογισμικό σας παρέχει και διάφορες άλλες φυσικοχημικές ιδιότητες για το βενζόλιο. Μελετήστε τις ιδιότητες αυτές. Είναι σημαντικές για να καθορισθεί αν ένα μόριο μπορεί να καταστεί δυνάμει φάρμακο. Παρατηρήστε ότι το βενζόλιο υπακούει στους κανόνες του Lipinski, αν και υπερβαίνει κάποιους άλλους κανόνες.

7. Κάτω από την επισήμανση «Molecule 1» υπάρχουν δύο ανθρωπάκια και ένας κύκλος στο εσωτερικό του οποίου υπάρχει ένας σταυρός. Αν πατήστε στο μέρος όπου υπάρχουν τα δύο ανθρωπάκια εμφανίζεται το «Send to Swiss Similarity». Εκεί μπορείτε να εξετάσετε αν υπάρχουν μόρια σε βιβλιοθήκες όπου να έχουν κάποιο βαθμό ομοιότητας με την ένωση σας. Αν πατήστε στον κύκλο όπου υπάρχει σταυρός τότε θα οδηγηθείτε στο πρόγραμμα «Send to Swiss Target Prediction». Στο πρόγραμμα αυτό δίνονται οι πιθανοί στόχοι της ένωσης που σχεδιάσατε και η πιθανότητα το μόριό σας να δρα στον συγκεκριμένο στόχο.

8. Πατήστε στο «Show Boiled-egg» και θα λάβετε το Σχήμα 2.20γ. Το κόκκινο σφαιρίδιο βρίσκεται εκτός του βρασμένου αυγού και σύμφωνα με το «Legends» σημαίνει αρνητικό PGP. Πατήστε τον δείκτη PGP για να κατανοήσετε τι ακριβώς σημαίνει. Θα σας δώσει την απάντηση «Red dots are for molecules predicted not to be effluated from the central nervous system by the P-glycoprotein».

9. Εξετάστε τις ακόλουθες ενώσεις (Σχήμα 2.21) για τα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά.



Σχήμα 2.21 (α) βενζόλιο, (β) δωδεκάνιο, (γ) δεκαν-2,3,4,5,6,7,8-οκτόλη, (δ) 3-[4-(2-μεθυλοπροπυλο)φαινυλο]βουταν-2-όνη.

10. Προσπαθήστε να βρείτε τις ενώσεις οι οποίες αντιστοιχούν στα επόμενα SMILES.

1	<chem>C1CCCCC1</chem>	6	<chem>ClC(Cl)Cl</chem>
2	<chem>n1cccc1</chem>	7	<chem>Cc1cccc1</chem>
3	<chem>o1cccc1</chem>	8	<chem>F/C=C/F</chem> (Τα δύο σύμβολα / δείχνουν <i>trans</i>)
4	<chem>c1cccc1-c2cccc2</chem>	9	<chem>F/C=C\F</chem> (Τα δύο σύμβολα εναλλάξ δείχνουν <i>cis</i>)

5	CCC(=O)O	10	N[C@@H](C)C(=O)O (Τα σύμβολα @ δείχνουν ότι το χειρόμορφο κέντρο για το αμινοξύ είναι L)
---	----------	----	--

Απαντήσεις

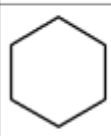
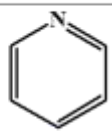

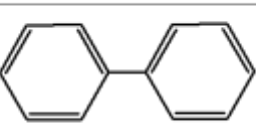
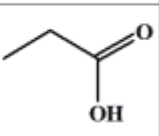
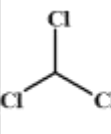
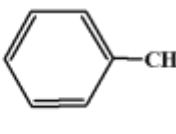
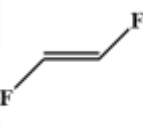
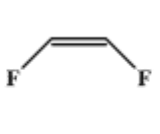
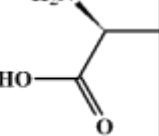
2.2 Ερωτήσεις Σωστού—Λάθους

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Λ	Σ	Λ

2.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

1	2	3
δ	α	δ

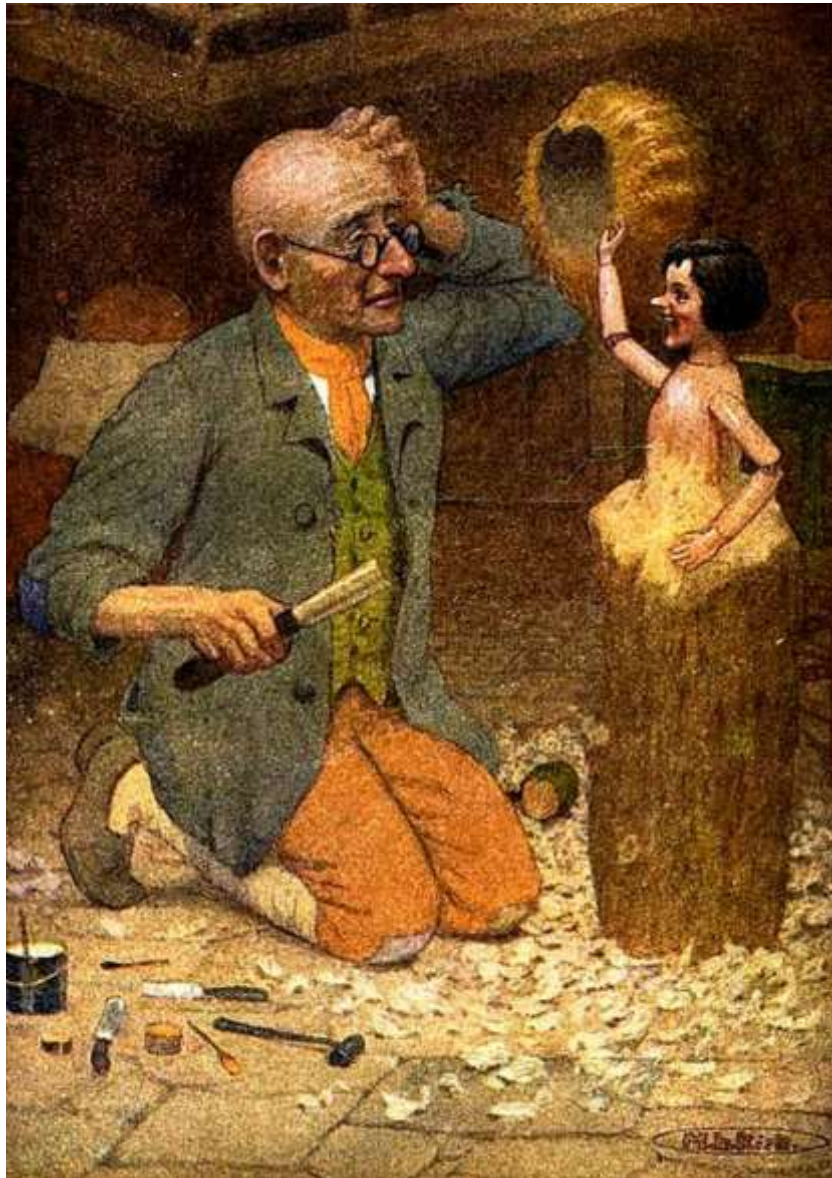
2.5.10 Εργαστηριακή άσκηση

1 	2 	3 	4 	5 
6 	7 	8 	9 	10 

Σκοπίμως κενή σελίδα

Κεφάλαιο 3

Αναπαράσταση και διαχείριση μοριακών συστημάτων



Σύνοψη

Το κεφάλαιο αυτό αναφέρεται στα μοριακά γραφικά. Περιγράφονται δηλαδή οι διάφοροι τρόποι σχεδιασμού μοριακών συστημάτων. Οι τριδιάστατες αυτές αναπαραστάσεις είναι σημαντικές στην χωρική αντίληψη των μοριακών μηχανισμών δράσης βιοδραστικών μορίων.

Προαπαιτούμενη γνώση

Δεν υπάρχει προαπαιτούμενη γνώση.

3.1 Εισαγωγικά στοιχεία στον σχεδιασμό βιοδραστικών μορίων

Ο σχεδιασμός φαρμακευτικών ουσιών με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή, αποτελεί πλέον μια από τις βασικές μεθόδους ανακάλυψης φαρμακευτικών μορίων. Προς την κατεύθυνση αυτή έχει συνεισφέρει:

- 1) η αυξανόμενη γνώση της μοριακής βάσης πολλών ασθενειών,
- 2) η εξέλιξη νέων υπολογιστικών συστημάτων με μεγαλύτερη ισχύ και χαμηλότερο κόστος, καθώς και
- 3) η ανάπτυξη νέων λογισμικών.

Η στρατηγική αυτή καλείται **ορθολογικός σχεδιασμός** και αναλύθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Δεδομένης της διαμόρφωσης ενός μακρομορίου – υποδοχέα (ένζυμο ή πρωτεΐνη), είναι δυνατή η εύρεση κατάλληλων μορίων –δυνάμει φαρμάκων– με ισχυρή ικανότητα πρόσδεσης, που θα οδηγήσει σε επιθυμητό βιολογικό αποτέλεσμα. Επαναλαμβάνουμε ότι ο ορθολογικός σχεδιασμός ξεκινά από ένα γνωστό ή υπό μελέτη μηχανισμό δράσης μιας ασθένειας και με βάση αυτόν, προτείνει μόρια τα οποία σχεδιάζονται, συντίθενται και μελετώνται πειραματικά (*in vitro* και *in vivo*). Τα αποτελέσματα συνιστούν νεότερη πληροφορία για τη μοριακή βάση, και επανατροφοδοτούν ένα νέο κύκλο ορθολογικού σχεδιασμού. Μια θεμελιώδης υπόθεση στον σχεδιασμό φαρμάκων είναι ότι η φαρμακευτική δράση επιτυγχάνεται με την πρόσδεση ενός μορίου, μικρού συνήθως μεγέθους, που ονομάζεται προσδέτης (ligand), στην κοιλότητα ενός άλλου μορίου, μεγαλύτερου συνήθως μεγέθους που ονομάζεται υποδοχέας (receptor). Για να γίνει η πρόσδεση μεταξύ των δύο μορίων, αυτά πρέπει να εμφανίζουν «χημική» και «γεωμετρική» συμπληρωματικότητα. Πρωταρχικό βήμα για τον ορθολογικό σχεδιασμό αποτελεί η μοντελοποίηση της τριδιάστατης δομής των μορίων, που εμπλέκονται στην πρόσδεση.

Συγκεκριμένα, το ενδιαφέρον της Υπολογιστικής Χημείας επικεντρώνεται (Σχήμα 3.1):

- ♦ στη διαμορφωτική ανάλυση του δυνάμει φαρμακευτικού μορίου. Δηλαδή, στη μελέτη του διαμορφωτικού χώρου, έτσι ώστε να προκύψουν οι ενεργειακά ευνοϊκές διαμορφώσεις. Από αυτές, μπορούν να επιλεγούν εκείνες, που προκαλούν βιολογικό αποτέλεσμα, δηλαδή οι βιοδραστικές διαμορφώσεις.
- ♦ στη μελέτη των αλληλεπιδράσεων του φαρμακευτικού μορίου με τις βιολογικές μεμβράνες και τον υποδοχέα, σε περίπτωση που είναι γνωστός και
- ♦ σε ποσοτικές μελέτες δομής–δράσης, αν ο υποδοχέας είναι άγνωστος (Quantitative Structure Activity Relationships – QSAR).

Για την ολοκληρωμένη *in silico* μελέτη των παραπάνω περιπτώσεων γίνεται χρήση της Μοριακής Μοντελοποίησης. Η Μοριακή Μοντελοποίηση μπορεί να θεωρηθεί ως ένα σύνολο υπολογιστικών τεχνικών, βασισμένων στη Θεωρητική Χημεία, αλλά και σε πειραματικά δεδομένα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη της διαμόρφωσης, με σκοπό την πρόβλεψη των μοριακών, χημικών και βιοχημικών τους ιδιοτήτων. Μπορεί δηλαδή να αποτελέσει μια γέφυρα μεταξύ θεωρίας και πειράματος. Με άλλα λόγια, η χρήση της Μοριακής Μοντελοποίησης μπορεί να βοηθήσει στην τριδιάστατη αναπαράσταση μοριακών συστημάτων, καθώς και στον υπολογισμό ή την πρόβλεψη

των φυσικοχημικών και βιοχημικών τους ιδιοτήτων με τη χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή.



Σχήμα 3.1 Πορεία ανάπτυξης νέου φαρμάκου.

Οι δυνατότητες της Μοριακής Μοντελοποίησης μπορούν να συνοψισθούν στις ακόλουθες:

- ◆ Τριδιάστατη αναπαράσταση της μοριακής δομής
- ◆ Χρήση μοριακών γραφικών για τον χειρισμό του μοριακού συστήματος
- ◆ Υπολογισμό και ελαχιστοποίηση της ενέργειας του μοριακού συστήματος
- ◆ Διαμορφωτική Ανάλυση
- ◆ Προσομοίωση του μοριακού συστήματος
- ◆ Υπολογισμό των μοριακών ιδιοτήτων
- ◆ Υπέρθυση μοριακών συστημάτων
- ◆ Μελέτη πρόσδεσης μορίων σε υποδοχείς (docking)
- ◆ Μελέτη ποσοτικού συσχετισμού δομής–δράσης (QSAR)
- ◆ Μελέτη μεταβολικών ιδιοτήτων (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion – ADME).

Με τις Ποσοτικές Σχέσεις Δομής–Δράσης επιχειρείται να εκφραστεί η μεταβολή της βιολογικής δράσης σε συνάρτηση με τη μεταβολή της χημικής δομής, ξεκινώντας από μία ένωση οδηγό και, όπως προαναφέρθηκε, διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη διαδικασία του ορθολογικού σχεδιασμού φαρμάκων. Η διατύπωση χιλιάδων εξισώσεων με χρήση της μεθοδολογίας QSAR, επιβεβαιώνει την αξία των βασικών εννοιών της και τη χρησιμότητά της στη διευκρίνιση του μηχανισμού δράσης των φαρμάκων σε μοριακό επίπεδο, και της πληρέστερης κατανόησης φυσικοχημικών φαινομένων, όπως η υδροφοβικότητα. Το κλασικό 2D-QSAR συσχετίζει τη βιολογική δράση των φαρμάκων με φυσικοχημικές ιδιότητες ή με μεταβλητές, που κωδικοποιούν ορισμένα δομικά χαρακτηριστικά. Οι αναλύσεις κλασικού QSAR γενικά δεν εξετάζουν ούτε τις τριδιάστατες δομές των φαρμάκων ούτε τη χειρομορφία τους. Ωστόσο, η περιοχή σύνδεσης ενός υποδοχέα, αυτή που αναγνωρίζει ένας προσδέτης, δεν είναι ούτε τα άτομα, ούτε οι δεσμοί που το αποτελούν, αλλά το ηλεκτροστατικό δυναμικό, η κατανομή φορτίου και η επιφάνεια του μορίου η οποία είναι προσιτή στον διαλύτη (solvent-accessible surface). Γι' αυτό πρόσφατα αναπτύχθηκαν μεθοδολογίες σχέσεων δομής–δράσης τριών διαστάσεων 3D-QSAR. Για να χαρακτηριστεί ένα φάρμακο **ιδανικό**, πρέπει να παρουσιάζει τα πιο κάτω χαρακτηριστικά:

- ◆ Να είναι χημικά σταθερό (να μην αποσυντίθεται)
- ◆ Να είναι βιολογικά σταθερό (να μην μεταβολίζεται στον οργανισμό σε αδρανείς ενώσεις)
- ◆ Να παράγεται συνθετικά από φτηνά αντιδραστήρια και σε λίγα στάδια
- ◆ Να έχει ικανοποιητική διαλυτότητα
- ◆ Να παρουσιάζει καινοτόμα δομή, ώστε να κατοχυρωθεί με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας.

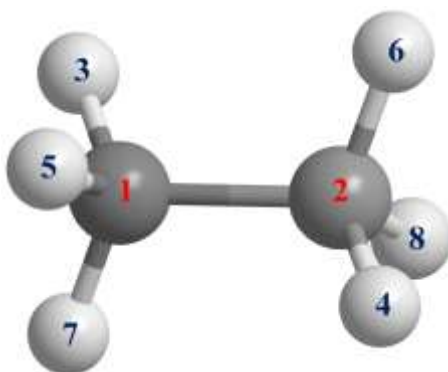
Η φαρμακολογία είναι η επιστήμη, με την οποία μελετάται η δράση των φαρμάκων σε ζωντανά

συστήματα. Για την εξήγηση της δράσης των φαρμάκων, οι φαρμακολόγοι πρέπει να λάβουν υπόψη τις μοριακές διεργασίες, οι οποίες συμβαίνουν στους ζωντανούς οργανισμούς και τις αλληλεπιδράσεις τους με τα φάρμακα.

Ο μεταβολισμός κάποιου φαρμάκου είναι κρίσιμη παράμετρος για τη συνέχιση ή τη διακοπή του. Η πορεία που μπορεί να έχει ένα φάρμακο στον οργανισμό είναι: Απορρόφηση, Κατανομή, Μεταβολισμός, Απέκκριση (ADME–Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion). Με τις σχέσεις δομής–δράσης και τον μεταβολισμό των φαρμακευτικών μορίων δεν θα ασχοληθούμε. Κάθε δυνατότητα υποστηρίζεται από συγκεκριμένα λογισμικά, τα οποία διαφέρουν, ανάλογα με το εμπορικό πακέτο που χρησιμοποιείται. Αυτή η διαφοροποίηση οφείλεται στους αλγορίθμους, που περιλαμβάνει κάθε λογισμικό και αφορά τόσο τη θεωρία πάνω στην οποία στηρίζονται, όσο και στην ευκολία χρήσης τους.

3.2 Συστήματα συντεταγμένων

Ένα από τα κύρια ζητήματα σε ένα λογισμικό μοντελοποίησης, είναι ο προσδιορισμός των θέσεων των ατόμων ενός συστήματος. Υπάρχουν δύο συνήθεις τρόποι, που μπορεί αυτό να επιτευχθεί. Ο πιο σύντομος είναι ο προσδιορισμός του καρτεσιανού συστήματος συντεταγμένων (x, y, z) όλων των ατόμων του μορίου. Μια άλλη λύση αποτελεί η χρήση των εσωτερικών συντεταγμένων, στις οποίες η θέση του κάθε ατόμου περιγράφεται σε σχέση με τα υπόλοιπα άτομα του συστήματος. Οι εσωτερικές συντεταγμένες περιέχονται σε έναν πίνακα Z (Z–matrix), του οποίου κάθε γραμμή αναφέρεται σε κάθε άτομο του μορίου. Ένα παράδειγμα πίνακα Z για το μόριο του αιθανίου (Σχήμα 3.2) παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.1. Υπενθυμίζουμε ότι σε ένα χημικό μόριο η γωνία δεσμού ορίζεται από δύο συνεχόμενους δεσμούς του ίδιου ατόμου, ενώ η δίεδρη γωνία είναι η γωνία που σχηματίζεται μεταξύ δύο επιπέδων, που ορίζονται από 3 διαδοχικούς δεσμούς (ή από 4 διαδοχικά



Σχήμα 3.2 Το μόριο του αιθανίου.

άτομα του μορίου).

Στην πρώτη γραμμή του πίνακα, ορίζεται το άτομο 1, το οποίο στο παράδειγμα που παρατίθεται, είναι ένα άτομο άνθρακα. Το άτομο 2 είναι επίσης ένα άτομο άνθρακα, το οποίο απέχει από το πρώτο άτομο $1,54\text{\AA}$, όσο και το μήκος ενός απλού δεσμού C–C. Το άτομο 3 είναι ένα άτομο υδρογόνου, που συνδέεται δεσμικά με το άτομο 1 με δεσμό μήκους $1,0\text{\AA}$, όσο και το μήκος δεσμού C–H. Η γωνία που σχηματίζεται μεταξύ των ατόμων 3–1–2 είναι $109,5^\circ$. Το άτομο 4 είναι επίσης υδρογόνο που απέχει $1,0\text{\AA}$ από το άτομο 2. Η γωνία 4–2–1 είναι $109,5^\circ$ και η δίεδρη γωνία, που ορίζεται από τα άτομα 4–2–1–3, είναι 180° .

Πίνακας 3.1 Παράδειγμα πίνακα Z εσωτερικών συντεταγμένων για το μόριο του

Ατομο Φ	Τύπος ατόμου	Απόσταση ΦΧ	Ατομο Χ	Γωνία ΦΧΨ	Ατομο Ψ	Διέδρη ΦΧΨΩ	Ατομο Ω
1	C						
2	C	1,54Å	1				
3	H	1,0Å	1	109,5°	2		
4	H	1,0Å	2	109,5°	1	180,0°	3
5	H	1,0Å	1	109,5°	2	60,0°	4
6	H	1,0Å	2	109,5°	1	-60,0°	5
7	H	1,0Å	1	109,5°	2	180,0°	6
8	H	1,0Å	2	109,5°	1	60,0°	7

Είναι προφανές ότι για τα πρώτα τρία άτομα απαιτούνται λιγότερες συντεταγμένες, αφού το πρώτο μπορεί να τοποθετηθεί οπουδήποτε στον χώρο. Για το δεύτερο, χρειάζεται μόνο να προσδιοριστεί η απόστασή του από το πρώτο, και για το τρίτο, οι εσωτερικές του συντεταγμένες περιλαμβάνουν την απόστασή του από το δεύτερο και τη γωνία που σχηματίζουν και τα τρία. Έτσι, εκτός από τα πρώτα τρία άτομα (1,2,3), κάθε άλλο άτομο Φ (4–8) περιέχει τρεις εσωτερικές συντεταγμένες:

- την απόσταση με ένα δεσμικά συνδεδεμένο άτομο Χ από τα τρία πρώτα,
- τη γωνία που σχηματίζεται από τα άτομα Φ,Χ με ένα δεσμικά στο Χ συνδεδεμένο άτομο Ψ και
- τη διέδρη γωνία που ορίζεται από τα Φ,Χ,Ψ και το αμέσως προηγούμενο σε σειρά άτομο Ω.

Η μετατροπή των εσωτερικών συντεταγμένων σε καρτεσιανές είναι δυνατή, όπως επίσης και το αντίστροφο. Για κάθε εφαρμογή της Μοριακής Μοντελοποίησης συνηθίζεται να χρησιμοποιείται ένα μόνο σύστημα. Οι εσωτερικές συντεταγμένες, όπως αναφέρθηκε, περιγράφουν τη σχέση μεταξύ των ατόμων σε ένα μόριο. Για την περιγραφή ενός συστήματος, που αποτελείται από περισσότερα μόρια, οι καρτεσιανές συντεταγμένες είναι καταλληλότερες. Συνήθως οι υπολογισμοί κβαντικής μηχανικής χρησιμοποιούν το σύστημα εσωτερικών συντεταγμένων, ενώ στη μοριακή μηχανική γίνεται χρήση των καρτεσιανών.

3.3 Σχεδιασμός διδιάστατων και τριδιάστατων δομών

Μέχρι σήμερα, έχουν αναπτυχθεί διάφορα λογισμικά για την ταχεία διεκπεραίωση δόμησης μορίων (ChemDraw, ChemWindow, IsisDraw). Τα λογισμικά αυτά επιτρέπουν την τριδιάστατη απεικόνιση των μορίων (Chem3D, HyperChem, Alchemy, Sybyl).

Η τριδιάστατη απεικόνιση επιτυγχάνεται συνήθως ως εξής:

Το μόριο δομείται αρχικά σε δύο διαστάσεις. Το λογισμικό μετατρέπει στη συνέχεια τη δομή των δύο διαστάσεων σε τρεις. Χρειάζεται προσοχή, ώστε να καθοριστεί η στερεοδομή κατά τη δόμηση, διαφορετικά θα προκύψει ισομερές ή στερεοϊσομερές με λανθασμένη στερεοδομή. Μοντέλα μοριακών συστημάτων, και κυρίως πρωτεϊνών, μπορούν να αντληθούν μέσα από βάσεις δεδομένων κρυσταλλογραφίας ακτίνων-Χ, καθώς και δεδομένων NMR. Παράδειγμα αποτελεί η παγκόσμια βάση δεδομένων «Worldwide Protein Data Bank (wwPDB)». Η βάση αυτή περιλαμβάνει οργανισμούς, που επεξεργάζονται και διανέμουν κυρίως κρυσταλλογραφικά δεδομένα PDB (Σχήμα 3.3). Τα ιδρυτικά μέλη είναι η RCSBPDB (ΗΠΑ), MSD-EBI (Ευρώπη) και PDBJ (Ιαπωνία). Η αποστολή της wwPDB είναι η διατήρηση μιας κοινής βάσης διαμορφωτικών δεδομένων, για πρωτεΐνες με ελεύθερη πρόσβαση για όλον τον κόσμο. Μπορούν τέλος να συνδυαστούν τμήματα μορίων με καθορισμένη γεωμετρία στον χώρο από ηλεκτρονικές βιβλιοθήκες. Μερικά από τα λογισμικά, που αναφέρθηκαν προηγουμένως, παρέχονται δωρεάν για ακαδημαϊκή χρήση, όπως Cn3D, VMD, Rasmol, Yasara. Άλλα πάλι κοστίζουν τόσο για την απόκτησή τους, όσο και για την άδεια χρήσης τους (Tripos, Accelrys, ChemDraw, HyperChem, Quanta, Sybyl, Felix, Schrödinger

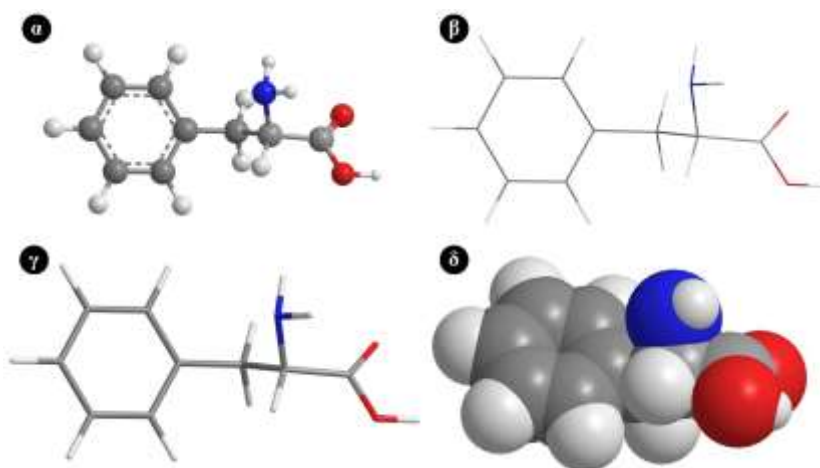
κ.α.).



Σχήμα 3.3 Ιστοσελίδα της PDB όπου είναι καταχωρημένες ένζυμα και πρωτεΐνες.

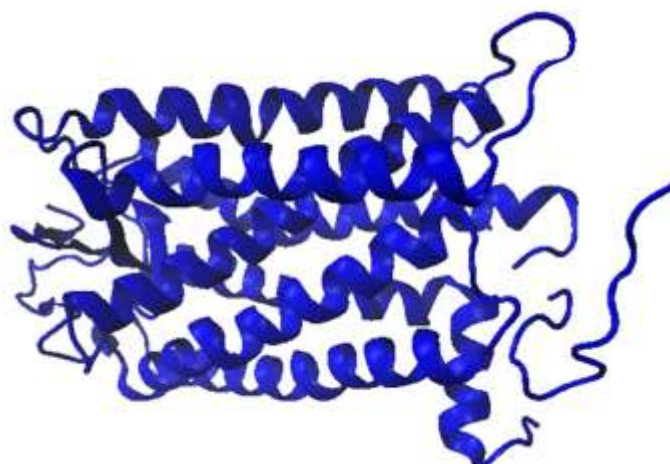
3.4 Τριδιάστατη απεικόνιση μορίων – Μοριακά γραφικά

Η ανάπτυξη των μοριακών γραφικών με τη βοήθεια των Η/Υ, διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στη Μοριακή Μοντελοποίηση και αντιπροσωπεύει την ορθή απεικόνιση των μορίων και των ιδιοτήτων τους. Είναι δε σημαντική για την αντίληψη των *in silico* αποτελεσμάτων. Η αναπαράσταση των μορίων (Σχήμα 3.4) γίνεται συνήθως με τη μορφή:



Σχήμα 3.4 Αναπαράσταση του αμινοξέος της φαινυλαλανίνης με: (α) ράβδους και σφαίρες, (β) σύρμα, (γ) ράβδους, (δ) συμπαγείς σφαίρες. Ο άνθρακας παριστάνεται με γκρι, το οξυγόνο με κόκκινο, το άζωτο με μπλε, το υδρογόνο με λευκό χρώμα.

- α) σφαιρών (balls) για τα άτομα και ράβδων (sticks) για τους δεσμούς,
- β) συμπαγών σφαιρών (spacefilling), όπου οι δεσμοί δεν διακρίνονται (χωροπληρωτικά μοντέλα),
- γ) ράβδων (sticks only), όπου τα άτομα δεν διακρίνονται,
- δ) σύρματος (wire frame), όπου τα άτομα δεν διακρίνονται
- ε) Στην περίπτωση πιο πολύπλοκων συστημάτων, όπως πρωτεϊνών, ένας άλλος τρόπος απεικόνισης του μορίου είναι η αναπαράσταση με κορδέλες «gibbons» (Σχήμα 3.5) και κυλίνδρους «cylinders». Αυτός ο τρόπος αναπαριστά τη διευθέτηση των αμινοξέων, ως α-έλικες και β-φύλλα. Οι διαμορφωτικές περιοχές της πρωτεΐνης, που δεν περιλαμβάνουν τις πιο πάνω διευθετήσεις, αναπαριστώνται ως σωλήνες «tubes». Σε όλες τις προαναφερόμενες περιπτώσεις υπάρχει η δυνατότητα διαφορετικών χρωματισμών, ανάλογα με τον τύπο των ατόμων ή άλλες ιδιότητές τους.

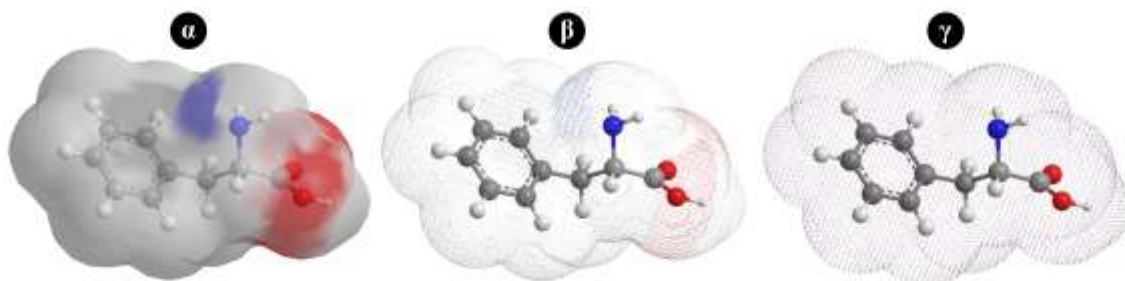


Σχήμα 3.5 Αναπαράσταση του πρωτεϊνικού υποδοχέα της ροδοψίνης με χρήση κορδελών.

Στα μεγάλα μοριακά συστήματα είναι δυνατόν να μην εμφανίζονται όλα τα άτομα στην οθόνη, προκειμένου ο χρήστης να έχει καλύτερη αντίληψη της εικόνας. Παράδειγμα, αποτελούν οι περιπτώσεις των πρωτεϊνών, όπου πολλές φορές μια μικρή πρωτεΐνη μπορεί να περιλαμβάνει αρκετές χιλιάδες άτομα.

Μοριακές επιφάνειες

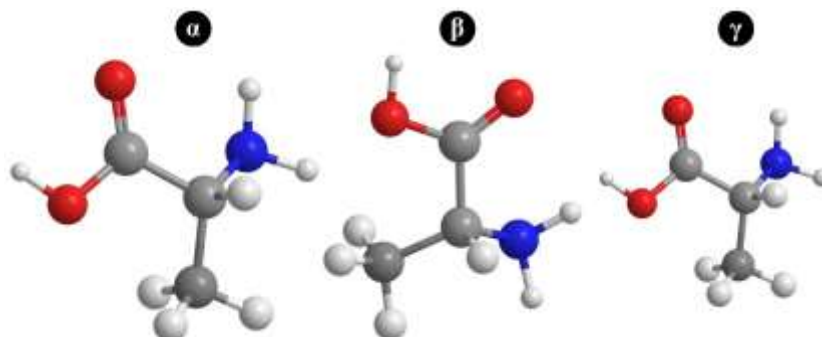
Υπάρχουν πολλά είδη επιφανειών όπως δείχνεται στο Σχήμα 3.6.



Σχήμα 3.6 (α) Στερεά επιφάνεια, (β) Επιφάνεια πλέγματος, (γ) Σφαιρική επιφάνεια. Επίσης υπάρχουν και οι επιφάνειες VDW (Van der Waals). Η διαφορά τους με τις μοριακές επιφάνειες είναι ότι οι λεπτές τους σχισμές δεν λειαίνονται. Περισσότερες λεπτομέρειες μπορείτε να βρείτε στον διαδικτυακό χώρο: <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/1.2065/docs/UsersGuide/representation.html>

3.5 Διαχείριση μοριακών συστημάτων

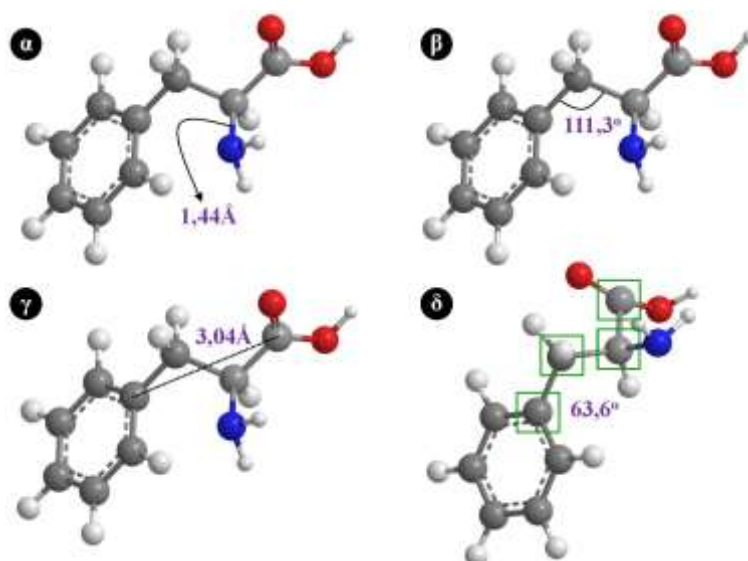
Ένα άλλο χαρακτηριστικό των μοριακών γραφικών είναι η διαχείριση των μοριακών συστημάτων στην επιφάνεια εργασίας. Ακόμη και τα πιο απλά προγράμματα παρέχουν εργαλεία για τη μεταφορά, περιστροφή, μεγέθυνση και σμίκρυνση του μορίου στις τρεις διαστάσεις (Σχήμα 3.7).



Σχήμα 3.7 Παράδειγμα περιστροφής (β) και σμίκρυνσης (γ) του αμινοξέος της αλανίνης.

3.6 Μοριακές διαστάσεις μορίων και μοριακών συστημάτων

Οι μοριακές διαστάσεις καθορίζονται από τα μήκη δεσμών, τις γωνίες δεσμών και τις διέδρες γωνίες. Σε ένα μόριο μπορεί να ταυτοποιηθεί η στερεοχημεία του και εύκολα να μετρηθούν οι αποστάσεις μεταξύ ατόμων (Σχήμα 3.8).



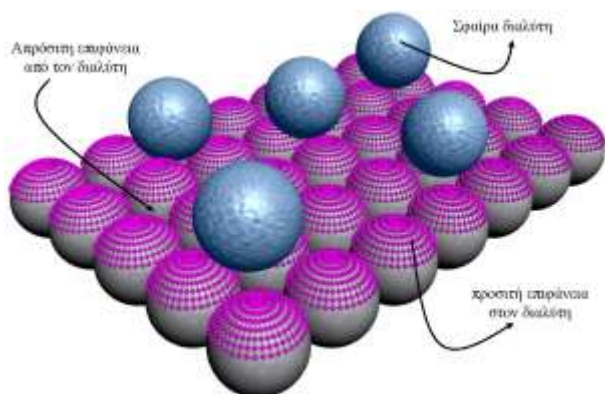
Σχήμα 3.8 Τιμές των μοριακών διαστάσεων από το τριδιάστατο μοντέλο της φαινυλαλανίνης για: α) μήκος δεσμού C–N: 1,44 Å, β) γωνία δεσμού: 111,3°, γ) απόσταση μεταξύ ανθράκων: 3,04 Å, δ) διέδρη γωνία: 63,6°.

3.7 Μοριακές ιδιότητες

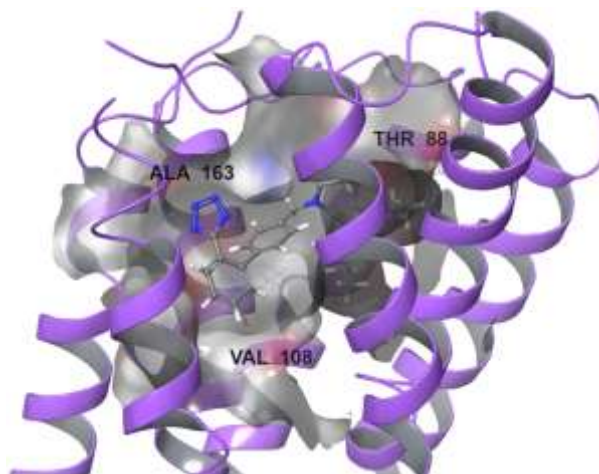
Τα μοριακά φορτία, οι διπολικές ροπές, τα ηλεκτροστατικά δυναμικά, τα μοριακά τροχιακά και η λιποφιλικότητα είναι μερικές από τις ιδιότητες, που μπορούν να υπολογισθούν. Εκτός από την απεικόνιση των μοριακών συστημάτων στο χώρο, καθώς και τον υπολογισμό των αποστάσεων των ατόμων και των γωνιών τους, είναι δυνατή η αναπαράσταση και των μοριακών ιδιοτήτων με τη χρήση μοριακών επιφανειών.

Η απεικόνιση των μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ ατόμων, διευκολύνεται επίσης με τη χρήση επιφανειών. Οι κυριότερες επιφάνειες είναι οι van der Waals, οι μοριακές και οι προσιτές (προσπελάσιμες) επιφάνειες σε μόρια διαλύτη. Οι επιφάνειες van der Waals ορίζονται ως σφαίρες με ακτίνα την van der Waals ακτίνα των ατόμων του μορίου. Για να γίνουν περισσότερο κατανοητοί οι παραπάνω τύποι επιφανειών, θα υποθέσουμε το ακόλουθο παράδειγμα: Έστω ένα μεγάλο μόριο που απεικονίζεται με τις επιφάνειες van der Waals, καθώς και ένα μόριο διαλύτη που αναπαριστάται ως μία μόνο σφαίρα van der Waals. Καθώς η σφαίρα του διαλύτη κυλά πάνω στην επιφάνεια van der Waals του μορίου, σχηματίζεται η επιφάνεια επαφής μεταξύ τους, όπως επίσης και περιοχές απρόσιτες στη σφαίρα του διαλύτη (Σχήμα 3.9). Η **μοριακή επιφάνεια** (molecular surface) ορίζεται ως η επιφάνεια που σχηματίζεται κατά το κύλισμα της σφαίρας του διαλύτη στη van der Waals επιφάνεια του μορίου. Η μοριακή επιφάνεια περιλαμβάνει δύο διαφορετικούς τύπους επιφανειών. Την επιφάνεια επαφής (contact surface) και την επιφάνεια των απρόσιτων περιοχών από τον διαλύτη (re-entrant surface) (Σχήμα 3.9). Συνήθως η μοριακή επιφάνεια υπολογίζεται, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη ένα μόριο νερού, που αναπαριστάται με τη μορφή σφαίρας ακτίνας 1,4Å. Πολλές φορές γίνεται χρήση και της προσιτής από τον διαλύτη επιφάνειας (accessible surface). Αυτή ορίζεται από τη γραμμή, που διαγράφεται από το κέντρο της σφαίρας του διαλύτη, καθώς αυτή κυλά στην επιφάνεια του μορίου. Ήδη έχουν αναπτυχθεί αρκετοί αλγόριθμοι για τον υπολογισμό μοριακών επιφανειών.

Στο Σχήμα 3.10 γίνεται χρήση επιφανειών στην τριδιάστατη απεικόνιση υποδοχέα ώστε να καταστεί εφικτή η μελέτη της πρόσδεσης φαρμακευτικών μορίων στο ενεργό κέντρο του.



Σχήμα 3.9 Τρόποι αναπαράστασης επιφανειών.



Σχήμα 3.10 Χρήση επιφανειών στο μοντέλο υποδοχέα για τη μελέτη της πρόσδεσης φαρμακευτικών μορίων

Βιβλιογραφία / Αναφορές

1. Διαλέξεις (Short Courses in *Practical Macromolecular Visualization and Structural Bioinformatics*) του Eric Martz επίτιμου καθηγητή στο Πανεπιστήμιο της Μασσαχουσέτης στην ιστοσελίδα <https://www.umass.edu/molvis/martz/>
2. Διαλέξεις (Computer stuff > PowerPoint 3D) του καθηγητή Luc Boisvert του Πανεπιστημίου Puget Sound, Tacoma Washington USA στην ιστοσελίδα <https://sites.google.com/site/boisvertlab/boisvert-lab-home>.
3. <https://www.youtube.com/watch?v=LKKeYXT-K00> (Representing 3–D molecules)
4. Eriksen K., Nielsen B.E., Pittelkow M. (2020). Visualizing 3D Molecular Structures Using an Augmented Reality App. *J. Chem. Educ.*, 97(5), 1487–1490.
5. Διαλέξεις (Teaching > *Molecular Modelling for Organic Chemistry*) του Henry S. Rzepa επίτιμου καθηγητή στο Imperial College, London στην ιστοσελίδα <https://www.imperial.ac.uk/people/h.rzepa>.

Κριτήρια Αξιολόγησης

3.1 Ερωτήσεις

1. Πού οφείλεται η ανάπτυξη του ορθολογικού σχεδιασμού φαρμάκων;
2. Ποια είναι η πορεία που ακολουθείται κατά τον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμακευτικών μορίων;
3. Τι είναι η Μοριακή Μοντελοποίηση και ποιες είναι οι πληροφορίες που μπορεί να παρέχει;
4. Να συγκρίνετε τα συστήματα συντεταγμένων που χρησιμοποιούνται κατά τη Μοριακή Μοντελοποίηση.
5. Γιατί χρησιμοποιούνται διαφορετικά είδη τριδιάστατης απεικόνισης μορίων;
6. Ποιες μοριακές ιδιότητες μπορούν να παρασταθούν;
7. Πού μπορεί να αναζητηθεί η κρυσταλλογραφική δομή μίας πρωτεΐνης ή γενικά κάποιου οργανικού μορίου;
8. Ποια λογισμικά χρησιμοποιούνται για την αναπαράσταση τριδιάστατων δομών;
9. Πώς υπολογίζεται μια μοριακή επιφάνεια;
10. Ποια η διαφορά μιας μοριακής επιφάνειας από αυτή της van der Waals;

3.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Η Μοριακή Μοντελοποίηση

- α) Μπορεί να θεωρηθεί ως ένα σύνολο υπολογιστικών τεχνικών, βασισμένων στη θεωρητική χημεία και σε πειραματικά δεδομένα.
- β) Δεν μπορεί να βοηθήσει στην πρόβλεψη μοριακών, χημικών και βιοχημικών ιδιοτήτων.
- γ) Αποτελεί μία γέφυρα μεταξύ θεωρίας και πειράματος.

2. Οι θέσεις των ατόμων ή μορίων ενός συστήματος καθορίζονται με χρήση δύο συστημάτων συντεταγμένων.

3. Η Μοριακή Μοντελοποίηση, επιτρέπει, κατά τη διαχείριση των μοριακών συστημάτων στην επιφάνεια εργασίας, την αλλαγή θέσης τους.

4. Η Μοριακή Μοντελοποίηση, επιτρέπει, κατά τη διαχείριση των μοριακών συστημάτων στην επιφάνεια εργασίας, την περιστροφή και μεταβολή του μεγέθους του.

5. Μπορεί να γίνει ορθολογικός σχεδιασμός φαρμακευτικών μορίων με χρήση Μοριακής Μοντελοποίησης.

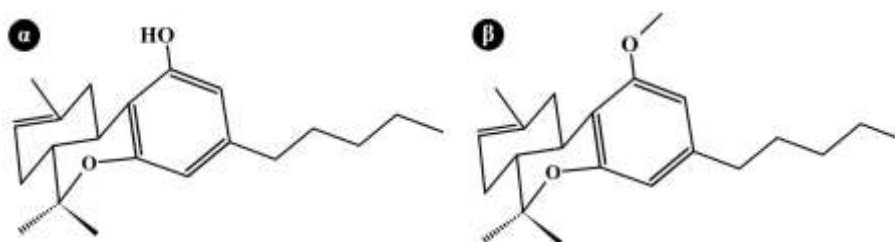
3.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση

1. Η παρακάτω ιδιότητα δεν αποτελεί δυνατότητα της Μοριακής Μοντελοποίησης
 - α. τριδιάστατη αναπαράσταση της δομής
 - β. μελέτη αλληλεπίδρασης φαρμακευτικών μορίων στα κέντρα δράσης τους
 - γ. προσομοιώσεις μοριακών συστημάτων
 - δ. προβλέψεις χημικών συστατικών σε ένα φυσικό προϊόν
2. Για τη δόμηση διδιάστατων και τριδιάστατων δομών δεν χρησιμοποιείται το λογισμικό
 - α. Chem 3D
 - β. HyperChem
 - γ. Sybyl
 - δ. Autonomus
3. Ο ακόλουθος τρόπος δεν αποτελεί αναπαράσταση μορίων
 - α. συμπαγείς σφαίρες
 - β. ράβδων
 - γ. σφαιρών
 - δ. νηματοειδείς μορφές
4. Η ακόλουθη μοριακή ιδιότητα δεν αναπαρίσταται
 - α. Μοριακά φορτία μορίου
 - β. Διπολικές ροπές μορίου
 - γ. Μοριακά τροχιακά μορίου
 - δ. Ανθεκτικότητα μορίου στην καύση
5. Για την ανάπτυξη της Μοριακής Μοντελοποίησης συνέτειναν
 - α. η ανάπτυξη υπολογιστικών τεχνικών
 - β. τα πειραματικά δεδομένα για τα κέντρα δράσης των φαρμακευτικών μορίων
 - γ. η ανάπτυξη των μοριακών γραφικών
 - δ. η γεωγραφική θέση της Ευρώπης

3.4 Ασκήσεις

1. Αφού μετατρέψετε τις διδιάστατες δομές του Σχήματος 3.11 σε τριδιάστατες, να υπολογίσετε:
 - α) τα μερικά φορτία των ατόμων που τα απαρτίζουν,
 - β) τις ευέλικτες διέδρες γωνίες που τα αποτελούν



Σχήμα 3.11 (α) Δ^8 -THC, (β) Me- Δ^8 -THC.

2. Ποιες άλλες ιδιότητες μπορείτε να υπολογίσετε; Αφού τις αναφέρετε προχωρήστε στον υπολογισμό των ιδιοτήτων αυτών.
3. Να αναπαραστήσετε τα μόρια αυτά με διάφορους τρόπους και να υπολογίσετε την απόσταση μεταξύ δύο ατόμων, που θα επιλέξετε. Να υπολογίσετε επίσης τις γωνίες μεταξύ τριών ατόμων που θα επιλέξετε.
4. Να ασκηθείτε στη μεταφορά, περιστροφή, σμίκρυνση και μεγέθυνση των μορίων Δ^8 -THC και Me- Δ^8 -THC στην επιφάνεια εργασίας.

Απαντήσεις

3.2 Ερωτήσεις Σωστού—Λάθους

1α	1β	1γ	2	3	4	5
Σ	Λ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ

3.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

1	2	3	4	5
δ	δ	δ	δ	δ

Κεφάλαιο 4

Μέθοδοι ελαχιστοποίησης ενέργειας



Σύνοψη

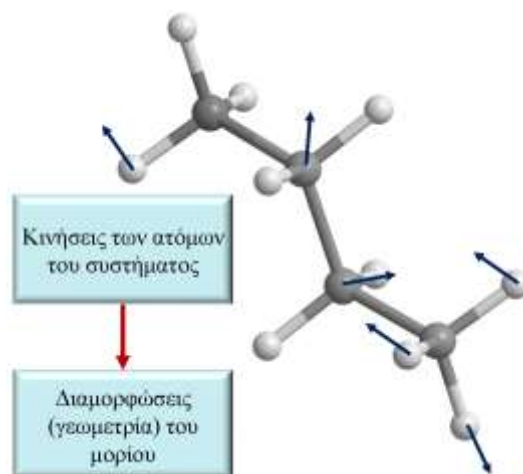
Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφεται ο υπολογισμός ενέργειας και οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται για την ελαχιστοποίηση ενέργειας βιοδραστικών μορίων. Η ελαχιστοποίηση ενέργειας των μορίων είναι αναγκαία κατά τις φυσικές διεργασίες όπως η μοριακή πρόσδεση βιοδραστικών μορίων στους υποδοχείς. Η φύση πάντα επιλέγει ελαχιστοποιημένες δομές για να επιτελεσθούν οι βιολογικές διεργασίες. Επομένως η γνώση αυτών των μεθοδολογιών καθίσταται αναγκαία καθώς σε κάθε βιολογική διεργασία που εφαρμόζεται προηγείται πάντα η ελαχιστοποίηση ενέργειας των μορίων που συμμετέχουν.

Προαπαιτούμενη γνώση

Απαιτείται η γνώση της έννοιας της παραγώγου και του τρόπου υπολογισμού ελαχίστων.

4.1 Ατομικές κινήσεις και ενέργεια ενός συστήματος

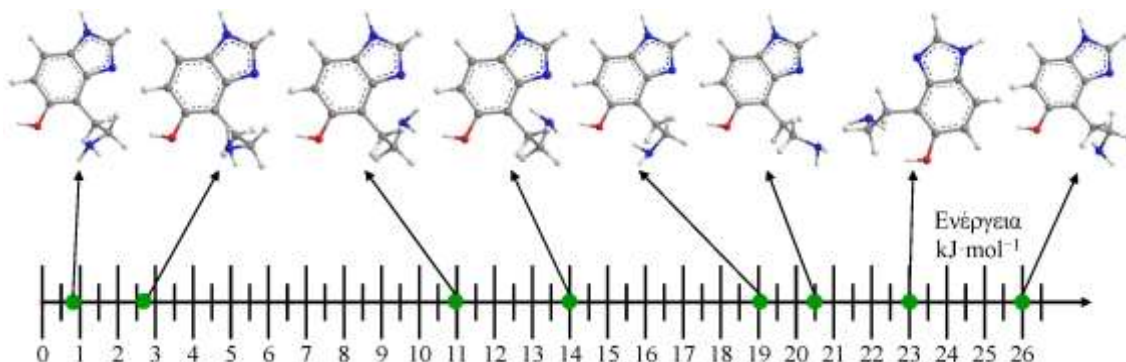
Τα άτομα ενός μοριακού συστήματος δεν διατηρούν σταθερές θέσεις στο φυσικό χώρο. Τόσο εξωτερικές όσο και εσωτερικές δυνάμεις που ασκούνται στο σύστημα, οδηγούν σε ατομικές κινήσεις. Ως επακόλουθο, το μοριακό σύστημα λαμβάνει σε κάθε κίνηση μια διαφορετική γεωμετρία ή με άλλα λόγια προσαρμόζεται σε διαφορετική διαμόρφωση (Σχήμα 4.1). Αυτές οι διαμορφώσεις είναι σημαντικές για τη μοριακή μοντελοποίηση αφού όπως έχουμε αναφέρει, μόνο όταν προσαρμόζεται η κατάλληλη γεωμετρία στον χώρο, προάγεται βιολογική δράση.



Σχήμα 4.1 Οι κινήσεις των ατόμων σε ένα σύστημα δημιουργούν διαφορετικές διαμορφώσεις του συστήματος.

Κάθε μοριακό σύστημα χαρακτηρίζεται από εσωτερική ενέργεια. Αυτή αποτελείται από δύο συνιστώσες: Την κινητική και τη δυναμική ενέργεια. Η κινητική ενέργεια E_K σχετίζεται με τη μάζα, και την ταχύτητα ενός συστήματος. Όσο μεγαλύτερη είναι η ταχύτητα και η μάζα τόσο περισσότερο έργο μπορεί να παράγει. Η δυναμική ενέργεια E_Δ σχετίζεται με τη διαμόρφωση του μορίου. Με βάση την αρχή της ελάχιστης ενέργειας το σύστημα αποκτά γεωμετρία που χαρακτηρίζεται από τη χαμηλότερη δυναμική ενέργεια. Η τελευταία προσδιορίζεται από τις ενδο- και διαμοριακές αλληλεπιδράσεις, καθώς και τις δυνάμεις που ασκούνται από το περιβάλλον στο μοριακό σύστημα. Συνοψίζοντας, τα μόρια προσαρμόζονται σε διαμορφώσεις με συγκεκριμένη εσωτερική ενέργεια. Αυτή εξαρτάται μόνο από τη δυναμική ενέργεια, αφού η κινητική παραμένει ίδια για κάθε διαμόρφωση του ίδιου μορίου. Συμπερασματικά, κάθε διαμόρφωση αντιστοιχεί σε διαφορετική

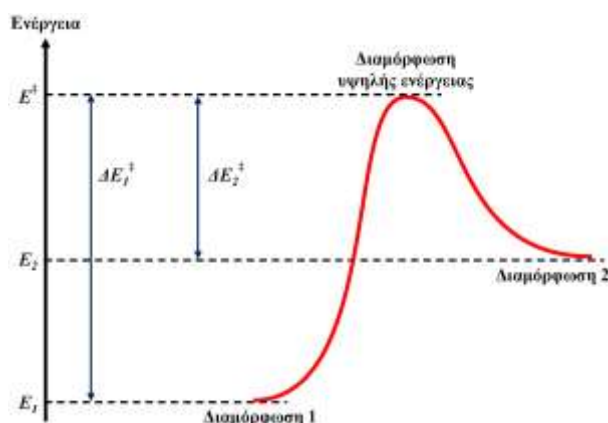
δυναμική ενέργεια, η οποία εξαρτάται από τις μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις του μορίου. Αυτό γίνεται ευκολότερα κατανοητό, αν σκεφτούμε πως σε κάθε διαφορετική διαμόρφωση τα άτομα του μορίου βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις στον χώρο, άλλα πλησιέστερα και άλλα απομακρυσμένα, με αποτέλεσμα να διαφοροποιούνται οι μεταξύ τους ελκτικές ή απωστικές δυνάμεις. Η ενέργεια αυτή στη μοριακή μοντελοποίηση μετράται σε μονάδες $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ή $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ και ανάλογα με την τιμή της διαφοροποιεί τις διαμορφώσεις σε υψηλής, μεσαίας και χαμηλής ενέργειας (Σχήμα 4.2).



Σχήμα 4.2 Διάφορες διαμορφώσεις μορίου. Οι διαμορφώσεις με τιμές 0–11 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ μπορεί να χαρακτηριστούν χαμηλής ενέργειας, αυτές με 11–19 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ενδιάμεσης ενέργειας και αυτές με 20–26 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ υψηλής ενέργειας.

Είδαμε πως ένα μόριο μπορεί να διευθετηθεί σε περισσότερες από μία διαμορφώσεις. Είναι λογικό να αναρωτηθεί κάποιος ποιες από αυτές είναι οι σταθερότερες και ποιες σχετίζονται με τη βιοδραστικότητά του. Η διαμόρφωση που θα προτιμηθεί από το μόριο εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως η θερμοκρασία και ο διαλύτης μέσα στον οποίο μελετάται. Όλες οι διαμορφώσεις είναι δυνατές ανάλογα με τις συνθήκες. Ακόμα και σε ένα περιορισμένο εύρος συνθηκών είναι δυνατόν το μόριο να προσαρμόζεται σε περισσότερες από μία διαμορφώσεις. Για την ακρίβεια μπορεί να βρίσκεται σε δυναμική ισορροπία μεταξύ αυτών.

Έστω, για παράδειγμα, ένα μόριο που μετατρέπεται από τη διαμόρφωση A στη B (Σχήμα 4.3).



Σχήμα 4.3 Ένα μόριο, το οποίο βρίσκεται σε διαμόρφωση 1, για να μεταβεί στη διαμόρφωση 2, θα πρέπει να ξεπεράσει ένα ενεργειακό φράγμα.

Η μετατροπή αυτή περνά από ένα μεταβατικό σημείο υψηλής ενέργειας (διαμόρφωση υψηλής ενέργειας), το οποίο λειτουργεί ως ενεργειακό φράγμα της μετατροπής αυτής. Το φράγμα αυτό οφείλεται στις στερεοχημικές και ηλεκτρονιακές αλλαγές, που υφίστανται στο μόριο κατά τη μετατροπή. Το δε ύψος του είναι συνάρτηση του μεγέθους των αλλαγών αυτών.

Ένα μοριακό σύστημα βρίσκεται λοιπόν σε μία δυναμική κατάσταση και επομένως χαρακτηρίζεται από τους νόμους της κινητικής (kinetics) και της θερμοδυναμικής (thermodynamics). Με χρήση της κινητικής εξίσωσης του Arrhenius μπορούν να υπολογιστούν οι ταχύτητες εναλλαγής μεταξύ των διαμορφώσεων. Η σταθερά ταχύτητας σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius είναι:

$$k = A \cdot e^{\frac{-\Delta E}{R \cdot T}} \quad (4.1)$$

Όπου:
 $A = k_B \cdot T \cdot h^{-1}$ και
 $k_B = 1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$ (η σταθερά Boltzmann)
 $R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ (η παγκόσμια σταθερά των αερίων)
 T : θερμοκρασία (K)
 $h = 6,6262 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$ (η σταθερά Planck)
 ΔE : το ενεργειακό φράγμα μεταξύ των δύο διαμορφώσεων

Παράδειγμα

Τα δύο διαμορφωμερή του αιθανίου παρουσιάζουν ενεργειακό φράγμα $\Delta E = 12 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ σε θερμοκρασία δωματίου ($T = 293 \text{ K}$). Ο ρυθμός μετατροπής μεταξύ των δύο διαμορφωμένων υπολογίζεται ως εξής: Με εφαρμογή της σχέσης (4.1) προκύπτει:

$$\frac{-\Delta E}{R \cdot T} = \frac{-1200 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}}{8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1} \cdot 293 \text{ K}} = -4,926$$

$$A = k_B \cdot T \cdot h^{-1} = \frac{1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot 293 \text{ K}}{6,6262 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}} = 61,048 \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}$$

$$k = A \cdot e^{\frac{-\Delta E}{R \cdot T}} = 61,048 \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1} \cdot e^{-4,926} =$$

$$= 61,048 \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1} \cdot 7,255 \cdot 10^{-3} = 4,43 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1} \approx 10^{11} \text{ s}^{-1}$$

Άρα ο ρυθμός εναλλαγής μεταξύ των δύο σταθερών διαμορφώσεων είναι ίσος με 10^{11} s^{-1} . Αυτό σημαίνει πως το μόριο του αιθανίου μετατρέπεται από τη μία διαμόρφωση στην άλλη 10^{11} φορές το δευτερόλεπτο. Αντίστοιχα, το κυκλοεξάνιο σε θερμοκρασία δωματίου (20°C) εναλλάσσεται μεταξύ της διαμόρφωσης του ανάκλιντρου και του ανεστραμμένου (στρεβλού) λουτήρα, περνώντας από μια μεταβατική διαμόρφωση υψηλής ενέργειας στα $45 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Η σταθερά της ταχύτητας εναλλαγής υπολογίστηκε στα 500.000 s^{-1} , που σημαίνει πως σε ένα δευτερόλεπτο έχει μετατραπεί από τη μία διαμόρφωση στην άλλη 500.000 φορές. Τέλος, ένας αμιδικός δεσμός σε μια πεπτιδική αλυσίδα ξέρουμε ότι ευνοείται σε διαμόρφωση *trans*. Ωστόσο, σε θερμοκρασία δωματίου, περνώντας ένα ενεργειακό φράγμα της τάξης των $75 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ μπορεί να μετατραπεί σε *cis* διαμόρφωση μία φορά στα δέκα δευτερόλεπτα. Η θερμοδυναμική και ο νόμος του Boltzmann ορίζει την κατάσταση ισορροπίας μεταξύ των διαμορφώσεων αυτών και σχετίζεται με τον πληθυσμό, που αντιστοιχεί σε κάθε διαμόρφωση. Βασική αρχή είναι ότι η διαμόρφωση με τη χαμηλότερη ενέργεια έχει και το μεγαλύτερο πληθυσμό. Η κατανομή Boltzmann δίνεται από την ακόλουθη μαθηματική σχέση:

$$P_i = \frac{100 \cdot e^{\frac{-\Delta E_i}{R \cdot T}}}{\sum_{i=1}^n e^{\frac{-\Delta E_i}{R \cdot T}}} \quad (4.2)$$

Όπου:

P_i : ο πληθυσμός του διαμορφωμερούς i

ΔE_i : η ενεργειακή διαφορά από το ολικό ελάχιστο

R : η παγκόσμια σταθερά των αερίων

T : η θερμοκρασία

$R \cdot T = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1} \cdot 298\text{K} \approx 2,48 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$

Παράδειγμα 1

Να υπολογιστεί η κατανομή των πληθυσμών δύο διαμορφωμερών με $\Delta E=0$ σε θερμοκρασία δωματίου.

Με χρήση της σχέσης (4.2) υπολογίζεται ο πληθυσμός των διαμορφωμερών για τις διαμορφώσεις 1 και 2.

$$P_i = \frac{100 \cdot e^{\frac{-\Delta E_i}{R \cdot T}}}{\sum_{i=1}^n e^{\frac{-\Delta E_i}{R \cdot T}}} = \frac{100 \cdot e^{\frac{0}{2,48}}}{e^{\frac{0}{2,48}} + e^{\frac{0}{2,48}}} = \frac{100}{1 + 1} = 50\%$$

Όπως ήταν αναμενόμενο, τα δύο διαμορφωμερή θα έχουν τον ίδιο πληθυσμό.

Παράδειγμα 2

Ποια θα είναι η κατανομή των πληθυσμών δύο διαμορφωμερών σε θερμοκρασία δωματίου αν $\Delta E=5,5 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$;

Όπως και προηγουμένως, από τη σχέση 4.2 έχουμε:

$$P_i = \frac{100 \cdot e^{\frac{-\Delta E_i}{R \cdot T}}}{\sum_{i=1}^n e^{\frac{-\Delta E_i}{R \cdot T}}} = \frac{100 \cdot e^{\frac{-5,5}{2,48}}}{e^{\frac{0}{2,48}} + e^{\frac{-5,5}{2,48}}} = \frac{100 \cdot 0,108}{1 + 0,108} = 9,75\% \approx 10\%$$

Για την P_2 έχουμε: $P_2=100-P_1=100-10=90\%$. Συμπερασματικά, στο παράδειγμα αυτό, το διαμορφωμερές με τη μεγαλύτερη ενέργεια έχει 9 φορές μικρότερο πληθυσμό από αυτό με τη χαμηλότερη ενέργεια.

4.2 Υπολογισμός της ενέργειας του συστήματος

Η Μοριακή Μοντελοποίηση μπορεί να στηριχθεί σε δύο μεθοδολογίες για τον υπολογισμό της ενέργειας:

- ♦ Την Κβαντική Μηχανική (QM) που βασίζεται στην επίλυση της εξίσωσης Schrödinger και
- ♦ τη Μοριακή Μηχανική (MM) η οποία βασίζεται στη χρήση πεδίων δυνάμεων (Force Fields).

Αυτά αποτελούν μαθηματικά παραμετροποιημένες εξισώσεις, οι οποίες υπολογίζουν τις επιμέρους ενέργειες και συντελούν αθροιστικά στην ολική ενέργεια του μορίου. Οι δύο μεθοδολογίες είναι συμπληρωματικές τεχνικές, προκειμένου να κατανοηθούν χημικές και φυσικές συμπεριφορές σε μοριακό επίπεδο.

4.2.1 Κβαντική Μηχανική (QM)

Η κβαντική μηχανική περιγράφει αναλυτικά τα ηλεκτρόνια των ατόμων κατά τους υπολογισμούς της ενέργειας του συστήματος, με αποτέλεσμα να διεισδύει σε ιδιότητες, που εξαρτώνται από την

κατανομή ηλεκτρονίων, όπως για παράδειγμα στις χημικές αντιδράσεις. Υπάρχουν αρκετές κβαντικές θεωρίες, που περιγράφουν τα μοριακά συστήματα. Η πιο διαδεδομένη είναι η θεωρία μοριακών τροχιακών (molecular orbital theory). Οι υπολογισμοί της Κβαντικής Μηχανικής διακρίνονται σε δύο υποκατηγορίες:

- ♦ Τους εξ' υπαρχής (*ab initio*) και
- ♦ τους ημιεμπειρικούς (semi empirical), ανάλογα με το αν γίνονται προσεγγίσεις–απλοποιήσεις κατά τους υπολογισμούς.

Οι εξ' υπαρχής υπολογισμοί επιχειρούν την επίλυση της εξίσωσης Schrödinger, χωρίς να γίνονται απλοποιήσεις. Αυτό τους κάνει ιδιαίτερα δαπανηρούς, όσον αφορά την υπολογιστική ισχύ που απαιτούν. Η ανάπτυξη, βέβαια, της υπολογιστικής ισχύος των Η/Υ βοήθησε στο να γίνει η εξ' υπαρχής μέθοδος ένα σημαντικό υπολογιστικό εργαλείο.

Από την άλλη πλευρά, οι ημιεμπειρικές μέθοδοι κβαντικής μηχανικής απαιτούν λιγότερη υπολογιστική ισχύ, αφού γίνεται επίλυση της εξίσωσης με κάποιες απλοποιήσεις (λαμβάνουν υπόψη μόνο τα ηλεκτρόνια σθένους). Ωστόσο, με την ενσωμάτωση παραμέτρων, που προέρχονται από πειραματικά δεδομένα, κάποιες προσεγγιστικές μέθοδοι υπολογίζουν συγκεκριμένες ιδιότητες με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι αρκετά ανεπτυγμένες εξ' υπαρχής μέθοδοι. Ευρέως χρησιμοποιούμενες προσεγγιστικές ημι–εμπειρικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί από τις ερευνητικές ομάδες των Pople και Dewar (Πίνακας 4.1). Ο πρώτος ανέπτυξε τις CNDO, INDO και NDDO μεθόδους, οι οποίες αποτέλεσαν τη βάση για την ανάπτυξη από τον δεύτερο των περισσότερο γνωστών MINDO/3, MNDO και AM1 ή PM3 μεθόδων.

Η κβαντική μηχανική συχνά θεωρείται μια δύσκολη προσέγγιση. Η ανάπτυξη όμως νέων τεχνικών κβαντομηχανικής, οι οποίες είναι γενικότερα εφαρμόσιμες με τη βοήθεια Η/Υ, εξυπηρετούν στη χρήση της QM για την επίλυση μοριακών συστημάτων με πρακτικό ενδιαφέρον. Για τη χρήση της Κβαντικής Χημείας στην Οργανική και Φαρμακευτική Χημεία θα μιλήσουμε εκτενέστερα σε επόμενο κεφάλαιο.

Πίνακας 4.1 Χρησιμοποιούμενες προσεγγιστικές ημιεμπειρικές μέθοδοι.

Pople		Dewar	
CNDO	Complete Neglect of Differential Overlap	MINDO/3	
INDO	Intermediate Neglect of Differential Overlap	MNDO	Modified Neglect of Diatomic Overlap
NDDO	Neglect of Diatomic Differential Overlap	AM1	Austin Model 1
		PM3	Parametric Method 3



Pople John Anthony (1925–2004)



Dewar Michael James Stuart (1918–1997)

4.2.2 Μοριακή Μηχανική

Πολλά από τα προβλήματα, που αντιμετωπίζουμε στη Μοριακή Μοντελοποίηση, είναι πολύ δύσκολο να επιλυθούν με μεθόδους της κβαντικής μηχανικής, λόγω του μεγάλου μεγέθους του συστήματος. Όπως αναφέρθηκε, η κβαντική μηχανική λαμβάνει υπόψη όλα τα ηλεκτρόνια σε ένα σύστημα. Ακόμα κι αν παραληφθούν ορισμένα (περίπτωση ημι–εμπειρικών μεθόδων), ιδιαίτερα στην περίπτωση των βιολογικών συστημάτων, παραμένει ένας μεγάλος αριθμός σωματιδίων,

κάνοντας τους υπολογισμούς χρονοβόρους. Στη Μοριακή Μηχανική (και κατ' επέκταση τα εργαλεία υπολογισμών της που ονομάζονται πεδία δυνάμεων (Force Fields, Πίνακας 4.2) αγνοούνται οι κινήσεις των ηλεκτρονίων (κυματοσυναρτήσεις) και υπολογίζεται η ενέργεια του συστήματος ως συνάρτηση των θέσεων των πυρήνων των ατόμων.

Πίνακας 4.2 Πεδία δυνάμεων που χρησιμοποιούνται στη Μοριακή Μηχανική.



«Η Σίβυλλα της Σάμου»
Guercino (1591–1666)

MM/ForceFields		Σχεδιαστές
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement	University of California, San Francisco / HyperChem
CHARMm	Chemistry in Harvard Macromolecular Mechanics	Harvard University Accelrys, Inc.
ECEPP	Empirical Conformational Energy Program for Peptides	Cornell University
GROMOS	Groningen Molecular Simulation	Dynamic Modelling of Molecular System University of Groningen / Biosmos
SYBYL		Tripos, Inc.
MM2/3	Molecular Mechanics	University of Georgia / Chem3D
MACROMODEL		Columbia University
OPLS	Optimized Potential for Liquid Simulations	Yale University / HyperChem

Για να επιτευχθεί αυτό, στη MM γίνεται μια βασική παραδοχή, που ονομάζεται προσέγγιση Born–Oppenheimer. Σύμφωνα με αυτή, οι μάζες των πυρήνων είναι πολύ μεγαλύτερες από τις μάζες των ηλεκτρονίων. Έτσι σε κάθε αλλαγή της θέσης των πυρήνων, τα ηλεκτρόνια προσαρμόζονται στιγμιαία στη νέα τους θέση. Σε ορισμένες περιπτώσεις η μοριακή μηχανική παρέχει την ίδια ακρίβεια στις επιλύσεις, όπως και η κβαντική μηχανική μέσα σε πολύ μικρότερο υπολογιστικό χρόνο. Βέβαια, με τη μοριακή μηχανική δεν μπορούν να υπολογιστούν ιδιότητες, που εξαρτώνται από την κατανομή ηλεκτρονίων του μορίου και γι' αυτό το λόγο δεν μπορούν να μελετηθούν χημικές αντιδράσεις και μηχανισμοί. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, χρησιμοποιούνται μαθηματικές παραμετροποιημένες εξισώσεις, οι οποίες υπολογίζουν τις επιμέρους ενέργειες και οι οποίες συντελούν αθροιστικά στην ολική ενέργεια του μορίου.

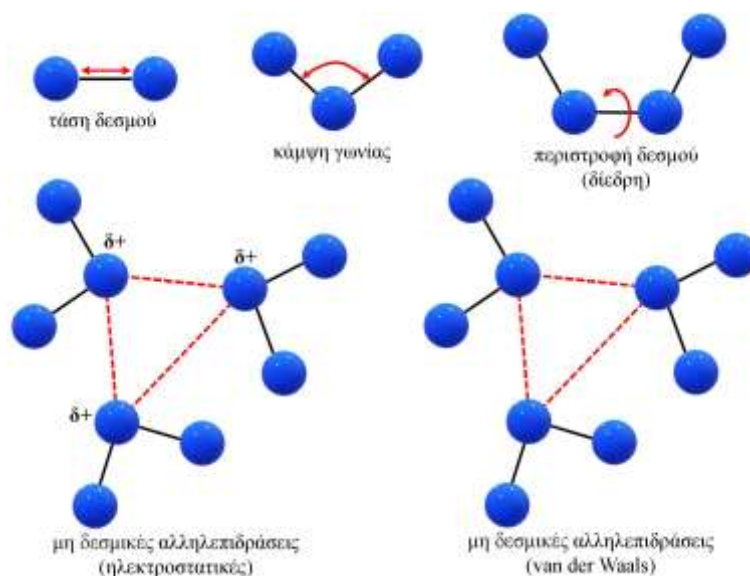
Οι γενικές αρχές, στις οποίες βασίζεται η Μοριακή Μηχανική, είναι οι ακόλουθες:

- ◆ Οι πυρήνες και τα ηλεκτρόνια των ατόμων θεωρούνται ενιαία σωματίδια–σφαίρες στις οποίες ασκούνται δυνάμεις.
- ◆ Οι δεσμοί μεταξύ των ατόμων συμπεριφέρονται ως ελατήρια μεταξύ σφαιρών και διέπονται από τον νόμο του Hooke.
- ◆ Η ενέργεια υπολογίζεται ως συνάρτηση των θέσεων των ατόμων στον χώρο.
- ◆ Η αλληλεπίδραση μεταξύ των ατόμων–σφαιρών περιγράφεται από τους νόμους της κλασικής μηχανικής.

Η Μοριακή Μηχανική βασίζεται λοιπόν, σε ένα σχετικά απλό μοντέλο αλληλεπιδράσεων μέσα σε ένα μοριακό σύστημα. Ένα σύστημα, δηλαδή, ατόμων και δεσμών που βρίσκεται μέσα σ' ένα πεδίο δυνάμεων. Μέσα σε αυτό η συνολική ενέργεια υπολογίζεται ως το άθροισμα των δεσμικών και μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων.

Δεσμικές αλληλεπιδράσεις θεωρούνται

- ◆ η τάνυση (τέντωμα) των δεσμών,
- ◆ η μεταβολή των γωνιών μεταξύ των ατόμων και
- ◆ η περιστροφή γύρω από απλούς δεσμούς (Εικόνα 4.4).



Σχήμα 4.4 Σχηματική αναπαράσταση των πιο βασικών αλληλεπιδράσεων σ' ένα πεδίο δυνάμεων.

Οι **μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις** είναι αλληλεπιδράσεις των ατόμων μέσω χώρου και συνήθως εκφράζονται ως συνάρτηση μιας αντίστροφης δύναμης της μεταξύ τους απόστασης. Οι μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες.

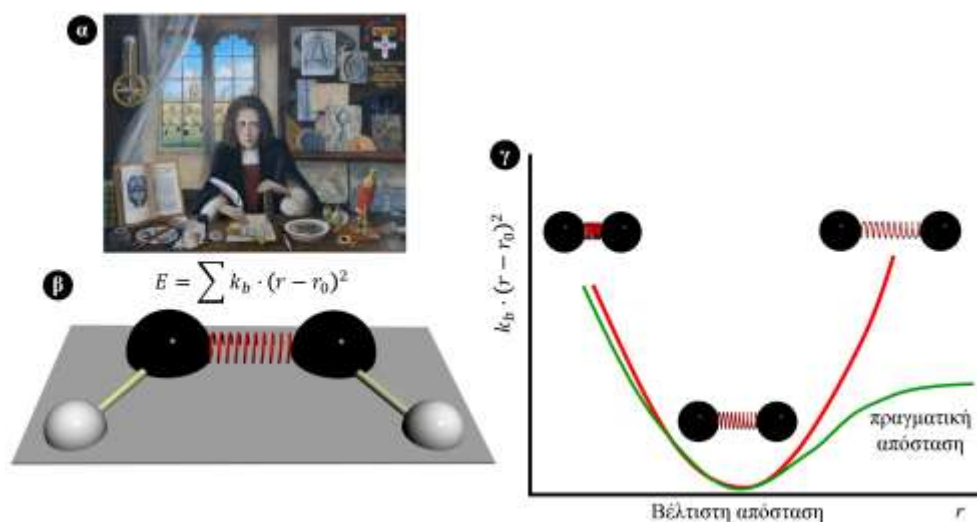
- ♦ Η μία αφορά τις ηλεκτροστατικές και
- ♦ η δεύτερη τις van der Waals αλληλεπιδράσεις.

Σε ορισμένες περιπτώσεις η ενέργεια από τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις περιλαμβάνει και την ενέργεια σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Τέλος, στην εξίσωση της ενέργειας περιλαμβάνεται η ενεργειακή συνεισφορά από τυχόν περιορισμούς, που εφαρμόζουμε στο σύστημα (π.χ. περιοριστικές αποστάσεις μεταξύ ατόμων). Έτσι η συνολική ενέργεια της διαμόρφωσης του μορίου δίνεται ως το ακόλουθο άθροισμα:

$$E_{MM} = E_{\text{τάσης}} + E_{\text{κάμψης}} + E_{\text{δίεδρης}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{ηλεκτρο}} + E_{\text{δεσμών H}} + E_{\text{περιοριστ.}}$$

4.2.2.1 Ενέργεια τάσης δεσμού

Η ενεργειακή συνεισφορά από την τάση του δεσμού υπολογίζεται από τον νόμο του Hooke για το ελατήριο. Η παράμετρος « k_b » εξαρτάται από την τάση (σκληρότητα) του δεσμού–ελατηρίου, ενώ « r_0 » είναι το μήκος ισορροπίας του ελατηρίου ή αλλιώς το βέλτιστο (φυσικό) μήκος του χημικού δεσμού. Αυτό ορίζεται ως το μήκος που λαμβάνει ο δεσμός, όταν όλες οι άλλες παράμετροι του πεδίου δυνάμεων είναι μηδέν. Είναι επίσης σημαντικό να κατανοηθεί πως ένα πραγματικό μόριο εκτελεί δονήσεις, ακόμα και στο απόλυτο μηδέν. Το μόριο έχει ενέργεια μηδενικού σημείου (zero point energy) εξαιτίας των δονήσεων. Η συνάρτηση του δυναμικού της τάσης δεσμού δεν είναι αρμονική, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 4.5.



Σχήμα 4.5 (α) Εικονική αναπαράσταση του Robert Hooke (1635-1703) στο μελετητήριό του από την καλλιτέχνη Greer Rita Norah (1942-). (β) Εξίσωση ενέργειας τάσης δεσμού σε συνάρτηση με την απόσταση, που βρίσκονται τα δύο δεσμικά άτομα. (γ) Γραφική παράσταση της εξίσωσης ενέργειας τάσης δεσμού σε συνάρτηση με το μήκος δεσμού.

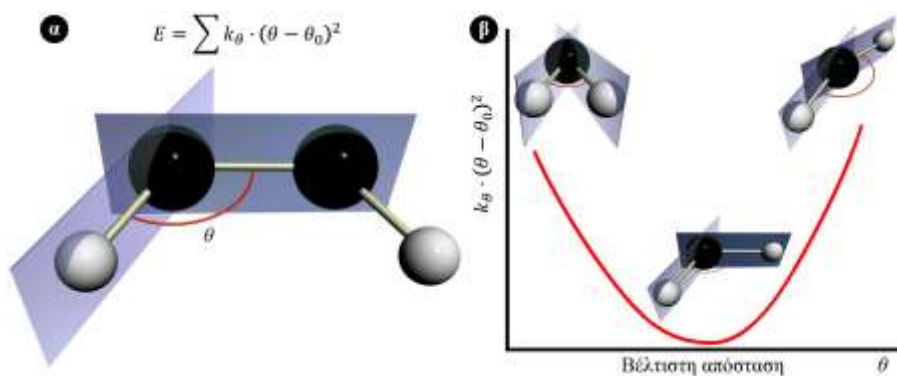
Αυτό σημαίνει ότι ο μέσος όρος της τιμής του μήκους ενός δεσμού σε ένα δονούμενο μόριο, θα αποκλίνει από την τιμή ισορροπίας ενός υποθετικού μορίου, που δεν υφίσταται δονήσεις. Οι επιπτώσεις είναι συνήθως μικρές, σημαντικές όμως για όποιον θελήσει να υπολογίσει τα μήκη δεσμών σε χιλιοστά των Å. Σύγκριση των πειραματικών αποτελεσμάτων μέτρησης του μήκους δεσμού με τα θεωρητικά, μπορεί να αποκλίνουν, αφού διαφορετικές πειραματικές τεχνικές μετρούν διαφορετικές τιμές για το μήκος ισορροπίας, κυρίως όταν τα πειράματα εκτελούνται σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Οι δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ δεσμικών ατόμων, είναι πολύ ισχυρές και επομένως απαιτείται μεγάλη ενέργεια, προκειμένου το μήκος του δεσμού να αποκλίνει σημαντικά από την τιμή ισορροπίας του. Αυτό γίνεται εύκολα αντιληπτό από το μέγεθος της σταθεράς της απαιτούμενης δύναμης για την τάση δεσμού. Στον Πίνακα 4.3 παρουσιάζονται κάποια παραδείγματα τιμών, που έχουν υπολογιστεί με το πεδίο δυνάμεων MM2. Απόκλιση της τάξης των 0,2Å από την τιμή της ισορροπίας, με σταθερά δύναμης $300 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-2}$, επιφέρει αύξηση της ενέργειας του συστήματος κατά $12 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Πίνακας 4.3 Τιμή ισορροπίας r_0 για τους τύπους δεσμών που αναφέρονται στην πρώτη στήλη, καθώς και της δύναμης που αναπτύσσεται μεταξύ των ατόμων, που συμμετέχουν στο δεσμό. Οι υπολογισμοί έχουν πραγματοποιηθεί με το πεδίο δυνάμεων MM2.

Δεσμός	Απόσταση r_0 (Å)	Δύναμη k ($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{\AA}^{-2}$)
$\text{Csp}^3\text{—Csp}^3$	1,523	317
$\text{Csp}^3\text{—Csp}^2$	1,497	317
$\text{Csp}^2\text{=Csp}^2$	1,337	690
$\text{Csp}^2\text{=O}$	1,208	777
$\text{Csp}^3\text{—Nsp}^3$	1,438	367
C—N (αμιδίο)	1,345	719

4.2.2.2 Ενέργεια κάμψης δεσμού

Η κάμψη ενός δεσμού ορίζεται ως η γωνία, που σχηματίζεται μεταξύ 3 διαδοχικών δεσμικών ατόμων. Η ενεργειακή συνεισφορά της κάμψης δεσμού, στη συνολική ενέργεια του συστήματος, υπολογίζεται και πάλι από το νόμο του Hooke. Κάθε γωνία παίρνει μια βέλτιστη τιμή θ_0 και κάθε απόκλιση από την τιμή αυτή επιφέρει αύξηση της ενέργειας. Η σταθερά k_θ είναι η σταθερά της δύναμης (Σχήμα 4.6).



Σχήμα 4.6 (α) Εξίσωση ενέργειας κάμψης δεσμού σε συνάρτηση με την απόσταση που βρίσκονται τα δύο δεσμικά άτομα. (β) Γραφική παράσταση της εξίσωσης ενέργειας κάμψης δεσμού σε συνάρτηση με το μήκος δεσμού.

Όπως παρατηρείται από την k του Πίνακα 4.4, απαιτείται σημαντικά λιγότερη ενέργεια, για να καμφθεί μια γωνία, παρά να επιμηκυνθεί ή να συμπιεστεί ένας δεσμός (σύγκριση με Πίνακα 4.3).

Πίνακας 4.4 Τιμές ισορροπίας για τη γωνία μεταξύ δύο δεσμών (όπως παρουσιάζονται στην πρώτη στήλη). Η δύναμη, που αναπτύσσεται μεταξύ των ατόμων, δίνεται στην τρίτη στήλη. Οι υπολογισμοί έχουν πραγματοποιηθεί με το πεδίο δυνάμεων MM2.

Δεσμός	Απόσταση θ_0 (°)	Δύναμη k (kcal·mol ⁻¹ ·Å ⁻²)
Csp ³ –Csp ³ –Csp ³	109,47	0,0099
Csp ³ –Csp ³ –H	109,47	0,0079
H–Csp ³ –H	109,47	0,0070
Csp ³ –Csp ² –Csp ³	117,2	0,0099
Csp ³ –Csp ² =Csp ²	121,4	0,0121
Csp ³ –Csp ² =O	122,5	0,0101

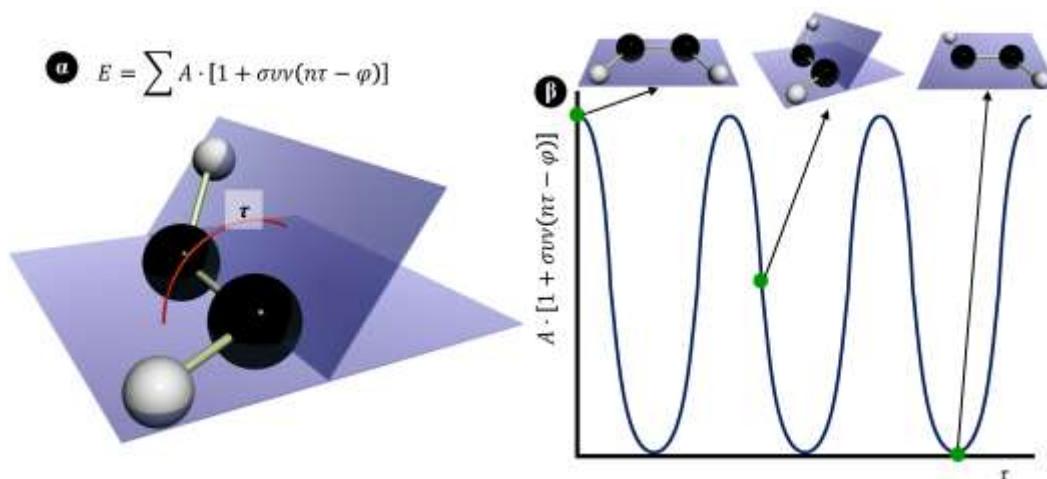
4.2.2.3 Ενέργεια δίδερης γωνίας

Οι όροι της τάσης και κάμψης δεσμού αποτελούν τους περισσότερο σημαντικούς βαθμούς ελευθερίας, για τον καθορισμό της συνολικής ενέργειας του μορίου. Παραμένουν όμως σχεδόν σταθερές, ανεξάρτητα της διαμόρφωσης που υιοθετεί το μόριο. Οι μεγαλύτερες μεταβολές στη διαμόρφωση και την αντίστοιχη ενέργεια υφίστανται από τις δίεδρες και μη δεσμικές ενεργειακές συνεισφορές. Η ύπαρξη ενεργειακών φραγμάτων, κατά την περιστροφή των χημικών δεσμών, είναι καθοριστική στην κατανόηση των διαμορφωτικών ιδιοτήτων των μορίων και γενικότερα της διαμορφωτικής ανάλυσης. Οι τρεις χαμηλής ενέργειας διαβαθμισμένες διαμορφώσεις του αιθανίου και οι τρεις υψηλής ενέργειας ελλειπτικές διαμορφώσεις είναι ένα κλασικό παράδειγμα του τρόπου μεταβολής της ενέργειας κατά την περιστροφή ενός δεσμού. Κβαντομηχανικοί υπολογισμοί

συνδέουν το ενεργειακό φράγμα, κατά την περιστροφή του δεσμού C–C, με τις μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ατόμων υδρογόνου εκατέρωθεν του δεσμού. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις ελαχιστοποιούνται, όταν η διαμόρφωση του αιθανίου είναι διαβαθμισμένη και μεγιστοποιούνται, όταν είναι ελλειπτική. Η ενεργειακή συνεισφορά από τη μεταβολή δίδερης γωνίας εκφράζεται από τη σχέση:

$$E = \sum A \cdot [1 + \sigma \nu(n \cdot \tau - \varphi)] \text{ με } A = V_n / 2$$

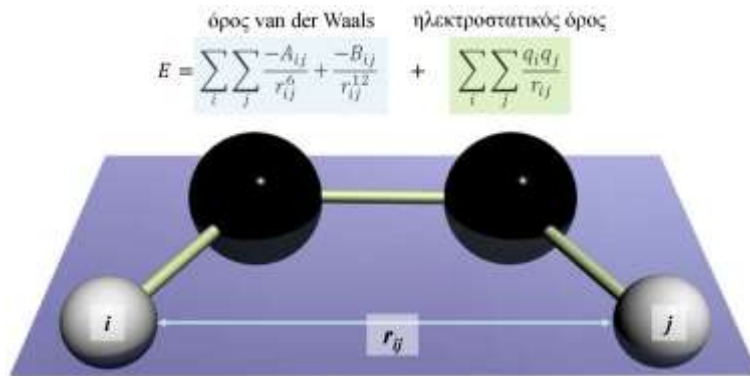
- ♦ V_n : είναι το ύψος του ενεργειακού φράγματος και μπορεί να υπολογιστεί, τόσο από πειραματικές μεθόδους (μικροκυματική φασματοσκοπία (microwave spectroscopy), όσο και με θεωρητικούς υπολογισμούς (Gaussian) (Σχήμα 4.7).
- ♦ n : πολλαπλότητα. Η τιμή της δίνει τον αριθμό των ελαχίστων σημείων της συνάρτησης κατά την περιστροφή του δεσμού κατά 360° .
- ♦ φ : παράγοντας φάσης (phase factor). Προσδιορίζει το σημείο, που η δίδερη γωνία περνά από την ελάχιστη τιμή της.



Σχήμα 4.7 (α) Δίδερη γωνία τ η οποία ορίζεται από τα εικονιζόμενα τέσσερα άτομα. (β) Γραφική παράσταση της ενέργειας σε συνάρτηση με τη δίδερη γωνία τ .

4.2.2.4 Μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις

Η ενεργειακή συνεισφορά από μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις είναι το άθροισμα των ενεργειών όλων των δυνατών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μη δεσμικών ατόμων i και j . Πιο συγκεκριμένα, περιλαμβάνονται οι van der Waals και οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, καθώς και οι δεσμοί υδρογόνου. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι δεσμοί υδρογόνου συμπεριλαμβάνονται στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις (Σχήμα 4.8).



Σχήμα 4.8 Ενέργεια από τις μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ατόμων i και j .

4.2.2.5 Ηλεκτροστατικοί δεσμοί

Ανάμεσα σε δύο φορτισμένα άτομα ή ομάδες ατόμων, αναπτύσσεται ηλεκτροστατική δύναμη, που δίνεται από τον νόμο του Coulomb:

$$F = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon} \frac{q_i q_j}{r_{ij}^2} \quad (4.3)$$

Όπου:
 q_i και q_j : τα φορτία των ομάδων
 r_{ij} : η απόσταση μεταξύ τους
 ϵ_0 : η διηλεκτρική σταθερά του κενού
 ϵ : η διηλεκτρική σταθερά του μέσου

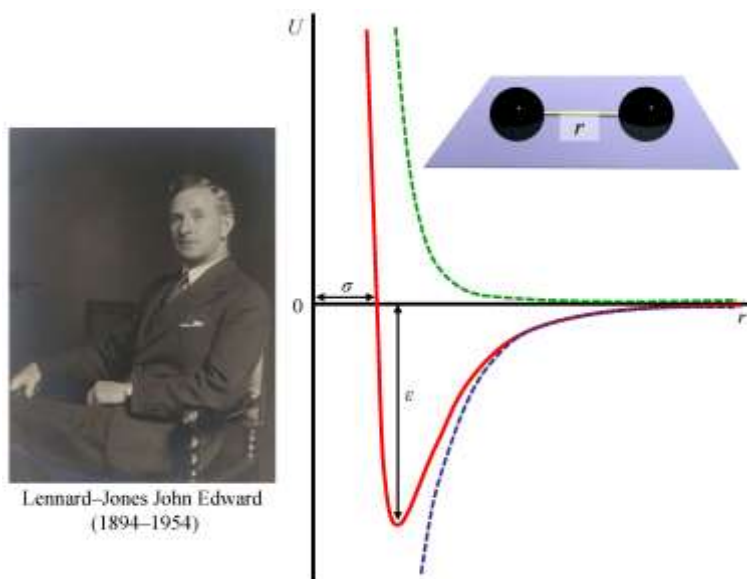
4.2.2.6 Δυνάμεις van der Waals

Όταν το μέσο είναι το κενό ($\epsilon=1$), τότε η δύναμη είναι ισχυρότερη, συγκριτικά με την περίπτωση στην οποία το μέσο είναι το νερό ($\epsilon=80$). Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μπορεί να εμφανίζονται μεταξύ ομάδων με αντίθετο φορτίο (δεσμοί άλατος), μεταξύ ιόντων (ιοντικοί δεσμοί), μεταξύ ιόντων–διπόλων, και μεταξύ διπόλων.

Η κατανομή του ηλεκτρονιακού φορτίου γύρω από τα άτομα, σε μία δεδομένη χρονική στιγμή, δεν είναι συμμετρική, και προκαλεί παρόμοια ασυμμετρία στην κατανομή ηλεκτρονίων γύρω από τα γειτονικά του άτομα. Ως αποτέλεσμα παρατηρείται έλξη μεταξύ ενός ζεύγους ατόμων, η οποία αυξάνει καθώς αυτά πλησιάζουν, μέχρι να φτάσουν στην απόσταση επαφής van der Waals. Σε αποστάσεις μικρότερες από αυτή την απόσταση, αναπτύσσονται ισχυρές απωστικές δυνάμεις, καθώς τα ηλεκτρονιακά νέφη αλληλεπικαλύπτονται. Η δύναμη με την οποία έλκονται ή απωθούνται τα άτομα εκφράζεται από το δυναμικό Lennard–Jones (Εξίσωση 4.4 και Σχήμα 4.9).

$$U = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r}\right)^6 \right] \quad (4.4)$$

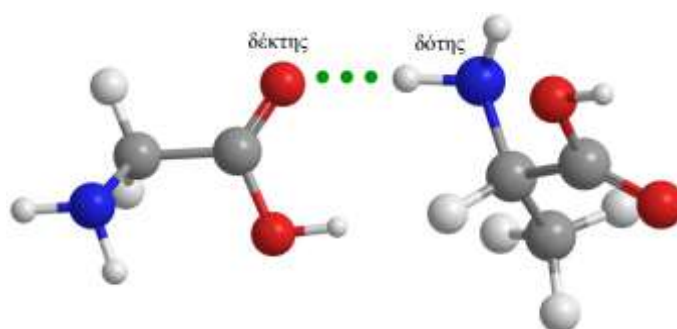
Όπου:
 r : η απόσταση μεταξύ των ατόμων
 ϵ και σ : οι παράμετροι δυναμικού πεδίου, διαφορετικές για κάθε ζεύγος ατόμων



Σχήμα 4.9 Δυναμικό Lennard-Jones ανάμεσα σε δύο άτομα που πλησιάζουν, σε συνάρτηση με τη μεταξύ τους απόσταση r . Η δύναμη που αναπτύσσεται είναι ελκτική, μέχρι το r να γίνει ίσο με την απόσταση van der Waals, και μετά γίνεται απωστική.

4.2.2.7 Δεσμοί υδρογόνου

Ανάμεσα σε ένα πολικό υδρογόνο και σε ένα ηλεκτροαρνητικό άτομο, όπως N ή O ή F, αναπτύσσεται δεσμός υδρογόνου. Ο δεσμός υδρογόνου είναι ηλεκτρομαγνητικής φύσης και η δύναμη που αναπτύσσεται μεταξύ των ατόμων, που σχηματίζουν το δεσμό υδρογόνου, είναι το άθροισμα της ηλεκτροστατικής έλξης και της δύναμης van der Waals. Το άτομο υδρογόνου αλληλεπιδρά μεταξύ ενός δότη υδρογόνου (το άτομο όπου αρχικά το υδρογόνο δεσμεύεται περισσότερο) και ενός δέκτη υδρογόνου. Ο δέκτης φέρει μερικό αρνητικό φορτίο, που έλκει το άτομο του υδρογόνου. Η τελική απόσταση ανάμεσα στο υδρογόνο και τον δέκτη υδρογόνου είναι μικρότερη από το άθροισμα των ακτίνων van der Waals των ατόμων. Παράδειγμα τέτοιων δεσμών είναι οι πεπτιδικοί, οι οποίοι σχηματίζονται συχνά μεταξύ καρβονυλίου ενός πεπτιδικού δεσμού και NH ομάδας ενός άλλου πεπτιδικού δεσμού (Σχήμα 4.10).



Σχήμα 4.10 Δεσμός H μεταξύ των αμινοξέων γλυκίνης και αλανίνης.

Η ισχύς του σχηματισμού ενός υδρογονικού δεσμού ισχυροποιείται όσο η γωνία μεταξύ δότη-υδρογόνου-δέκτη πλησιάζει τις 180° και η απόσταση μεταξύ δότη-δέκτη και υδρογόνου-δέκτη

μικραίνει. Συγκεκριμένα,

♦ οι «ισχυροί, κυρίως ομοιοπολικοί», δεσμοί παρουσιάζουν αποστάσεις 2,5–3,2Å με ενέργειες 14–40 kcal/mol,

♦ οι «ενδιάμεσης ισχύος, κυρίως ηλεκτροστατικές» με ενέργειες 4–15 kcal/mol, και

♦ οι «ασθενείς ηλεκτροστατικοί» σε αποστάσεις 3,2–4,0Å με ενέργειες <4 kcal/mol.

Οι περισσότεροι δεσμοί Η στις πρωτεΐνες είναι ενδιάμεσης ισχύος και ισχυροί δεσμοί υδρογόνου σπάνια απαντούν εντός των πρωτεϊνών. Τα άτομα υδρογόνου σε ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου συχνά δεν βρίσκονται στην ευθεία γραμμή και οι μέσες αποστάσεις δότη–δέκτη στις δευτεροταγείς δομές πρωτεϊνών πλησιάζουν τα 3,0Å, όπως και αυτές μεταξύ των αζωτούχων βάσεων στο ζεύγος Watson. Δεδομένου ότι πολλά αρχεία «.pdb» στερούνται ατόμων υδρογόνου, η παρουσία ενός ενεργητικά ισχυρού δεσμού υδρογόνου μπορεί να συναχθεί όταν ένας πιθανός δότης και δέκτης βρίσκονται σε απόσταση 3,5Å ο ένας από τον άλλο.

4.2.2.8 Ενέργεια λόγω περιοριστικών συνθηκών

Πολλές φορές η ενέργεια πρέπει να υπολογισθεί με χρήση περιοριστικών συνθηκών. Για παράδειγμα, η ενέργεια κάποιου μορίου πρέπει να υπολογισθεί με χρήση περιοριστικών αποστάσεων οι οποίες έχουν ληφθεί από πειραματικά δεδομένα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού.

Για να κατανοηθεί η τάξη μεγέθους των ενεργειακών συνεισφορών που αναλύθηκαν παραπάνω, στον Πίνακα 4.5 καταγράφονται οι τιμές για τις αλληλεπιδράσεις αυτές σε ένα μοριακό σύστημα.

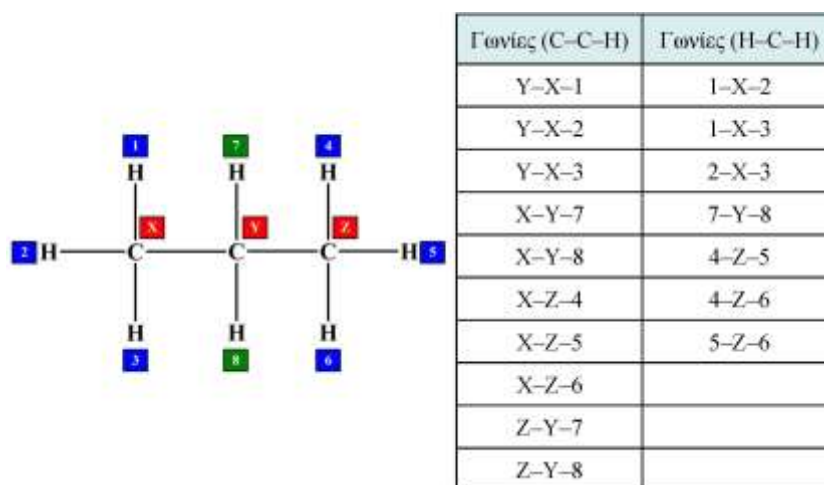
Όπως μελετήσαμε, η ενέργεια προσδιορίζεται από τις ενδομοριακές και διαμοριακές δυνάμεις σε ένα σύστημα. Η αυξημένη ενέργεια σχετίζεται με την απόκλιση των δεσμών και των γωνιών, από τις τιμές της ισορροπίας ή της αναφοράς, οι οποίες υπολογίζονται από τη συνάρτηση, που περιγράφει τη μεταβολή της ενέργειας του μορίου κατά την απομάκρυνση από τη βέλτιστη τιμή. Για την περιγραφή των μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων, το πεδίο δυνάμεων περιλαμβάνει συγκεκριμένους κανόνες. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές μπορεί να αφορούν άτομα διαφορετικών μορίων του συστήματος ή και άτομα του ίδιου μορίου, που απέχουν περισσότερους από τρεις δεσμούς.

Πίνακας 4.5 Τάξη μεγέθους της ενεργειακής συνεισφοράς των διαφόρων τύπων δεσμών σε ένα μοριακό σύστημα.

Ενεργειακή συνεισφορά	kcal·mol ⁻¹
τάση δεσμού	100
κάμψη δεσμού	10
δίδρες γωνίες	10
δεσμοί υδρογόνου	2
ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις	0,5
van der Waals	0,1

Για παράδειγμα, το μόριο του προπανίου (Σχήμα 4.11) περιέχει δέκα δεσμούς, (2 C–C, 8 C–H). Οι δεσμοί άνθρακα–άνθρακα είναι συμμετρικά ισοδύναμοι, ενώ οι δεσμοί άνθρακα–υδρογόνου χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Η μία περιλαμβάνει τα δύο υδρογόνα του μεθυλενίου και η άλλη τα έξι υδρογόνα των δύο μεθυλίων. Υπάρχουν επίσης 18 διαφορετικές γωνίες (1 C–C–C, 10 C–C–H, 7 H–C–H). Σημειώνεται ότι όλες οι γωνίες συμπεριλαμβάνονται στο πεδίο δυνάμεων. Υπάρχουν επίσης 18 δίδρες γωνίες (12 H–C–C–H, 6 H–C–C–C), οι οποίες διατηρούν trans ή gauche διαμορφώσεις. Τέλος υπάρχουν 27 μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις (21 H–H και 6 H–C). Η ηλεκτροστατική συνεισφορά υπολογίζεται από τον νόμο Coulomb, τη συνεισφορά van der Waals και το δυναμικό Lennard–Jones. Για ένα μικρό σε μέγεθος μόριο, όπως το προπάνιο, στο μοντέλο

του πεδίου δυνάμεων λαμβάνονται υπόψη πολλές παράμετροι. Είναι όμως πολύ λιγότερες από τις αντίστοιχες, που θα απαιτούνταν στη χρήση της *ab initio* μεθόδου της κβαντικής μηχανικής.

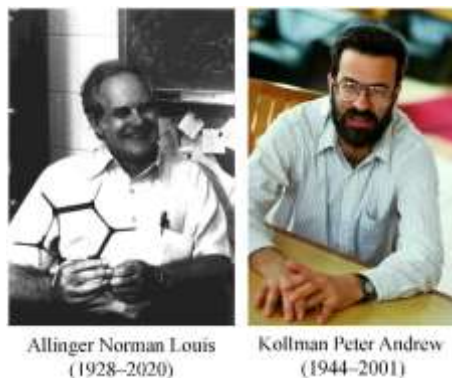


Σχήμα 4.11 Ένα τυπικό πεδίο δυνάμεων για το μοντέλο του προπανίου περιλαμβάνει 10 όρους που αφορούν τις τάσεις των δεσμών, 18 όρους για τις κάμψεις των γωνιών, 18 όρους για τις διέδρες γωνίες και 27 όρους για μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις.

4.3 Τύποι ατόμων

Μια πολύ σημαντική παράμετρος στα περισσότερα πεδία δυνάμεων, είναι ο τύπος των ατόμων των μορίων (atom type). Στην κβαντική μηχανική, κατά τον σχεδιασμό ενός μορίου, είναι απαραίτητος ο ορισμός των ατομικών αριθμών των πυρήνων του μορίου, η γεωμετρία του συστήματος, καθώς και το συνολικό φορτίο και spin. Στη μοριακή μηχανική, το συνολικό φορτίο καθώς και το spin δεν είναι απαιτούμενα. Χρειάζεται όμως η πληροφορία του κάθε τύπου ατόμου. Ο τύπος των ατόμων δεν αφορά μόνο τον ατομικό αριθμό, αλλά συνήθως περιλαμβάνει πληροφορίες για τον υβριδισμό του, καθώς και το περιβάλλον των γειτνιαζόντων πυρήνων. Είναι λοιπόν απαραίτητο για τα περισσότερα πεδία δυνάμεων να διαχωριστούν τα άτομα άνθρακα σε sp^3 υβριδισμό, οι οποίοι παρουσιάζουν τετραεδρική γεωμετρία στον χώρο, σε sp^2 υβριδισμένα άτομα άνθρακα που παρουσιάζουν τριγωνική γεωμετρία στον χώρο, και σε sp υβριδισμένα άτομα άνθρακα που είναι γραμμικά. Κάθε παράμετρος του πεδίου δυνάμεων, που μελετήσαμε, εκφράζεται ανάλογα με τον τύπο του κάθε ατόμου του μοριακού συστήματος. Έτσι, η γωνία αναφοράς θ_0 για ένα τετραεδρικό άτομο άνθρακα θα είναι περίπου $109,5^\circ$ και η αντίστοιχη ενός τριγωνικού ατόμου θα είναι περίπου 120° . Σε ορισμένα πεδία δυνάμεων ο τύπος του ατόμου περιέχει και πληροφορίες για το γειτονικό περιβάλλον του ατόμου.

Για παράδειγμα, τα MM2, MM3 και MM4 πεδία δυνάμεων του Allinger, που χρησιμοποιούνται συνήθως για μικρά μόρια, διαχωρίζουν το άτομο του άνθρακα στους ακόλουθους τύπους: sp^3 , sp^2 , sp , άνθρακας καρβονυλο-ομάδων, άνθρακας κυκλοπροπάνιου, ρίζες, άνθρακας κυκλοπροπένιου και καρβανιόντα. Στο πεδίο δυνάμεων AMBER του Kollman, το άτομο άνθρακα μεταξύ ενός εξαμελούς και ενός πενταμελούς δακτυλίου (π.χ. στην περίπτωση του αμινοξέος τρυπτοφάνη) αποτιμάται διαφορετικά από το άτομο άνθρακα σε ένα απομονωμένο πενταμελή δακτύλιο (όπως στην περίπτωση της ιστιδίνης), το οποίο με τη σειρά του αποτιμάται διαφορετικά από ένα άτομο άνθρακα σε βενζολικό δακτύλιο.



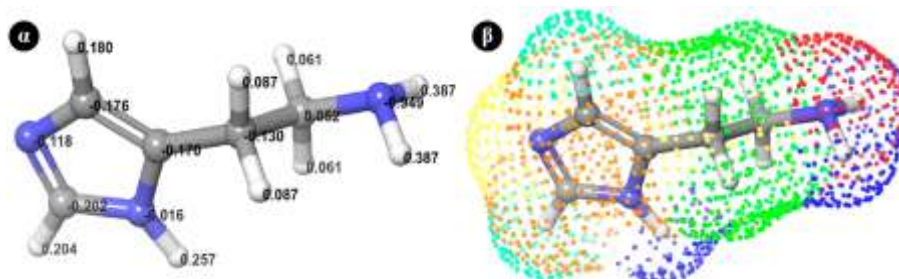
Allinger Norman Louis
(1928-2020)

Kollman Peter Andrew
(1944-2001)

Άλλα γενικότερα πεδία δυνάμεων αποτιμούν αυτά τα άτομα άνθρακα με τον γενικό τύπο sp^2 . Όσα πεδία δυνάμεων έχουν σχεδιαστεί για συγκεκριμένες κατηγορίες μορίων (π.χ. πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα) χρησιμοποιούν συγκεκριμένους τύπους ατόμων σε σχέση με αυτά.

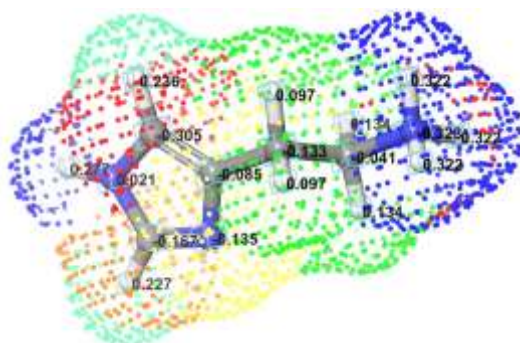
4.4 Ατομικά φορτία

Τα ατομικά φορτία αναπαριστούν την κατανομή του φορτίου και αναπαράγουν τις ηλεκτροστατικές ιδιότητες του μορίου. Είναι σημαντικό να κατανοήσουμε ότι τα ηλεκτρόνια σθένους των ατόμων του μορίου δεν βρίσκονται γύρω από τα συγκεκριμένα άτομα, αλλά κινούνται γύρω από όλο το μόριο. Τα ηλεκτρόνια όμως, κινούνται πλησιέστερα στα πιο ηλεκτροαρνητικά άτομα του μορίου. Έτσι η ύπαρξη περισσότερων και λιγότερων ηλεκτροαρνητικών ατόμων, προκαλεί μια κατανομή του φορτίου σε ένα μοριακό σύστημα. Αυτή η κατανομή φορτίου είναι ανομοιόμορφη στην επιφάνεια του μορίου και μπορεί να αναπαρασταθεί με αρκετούς τρόπους. Ένας από αυτούς, είναι η χρήση σημειακών φορτίων σε όλο το μόριο. Για παράδειγμα, τα σημειακά φορτία για το μόριο της ισταμίνης παρουσιάζονται στην Σχήμα 4.12. Τα φορτία αυτά είναι σχεδιασμένα να αναπαράγουν τις ηλεκτροστατικές ιδιότητες του μορίου. Στην περίπτωση που τα φορτία περιορίζονται στα κέντρα των πυρήνων των ατόμων, αναφέρονται και ως μερικά ατομικά φορτία (partial atomic charges) ή καθαρά ατομικά φορτία (net atomic charges). Ένας άλλος τρόπος απεικόνισης των μερικών φορτίων είναι με τη χρήση νεφών από σημεία (dot clouds). Το μέγεθος κάθε νέφους αναπαριστά το μέγεθος του φορτίου. Επίσης γίνεται διαφορετικός χρωματισμός των νεφών, ανάλογα με το είδος του φορτίου.



Σχήμα 4.12 (α) Το μόριο της ισταμίνης με τα σημειακά φορτία αναγραφόμενα στο κάθε άτομο που την απαρτίζει. (β) Απεικόνιση των μερικών φορτίων με χρήση νεφών από σημεία.

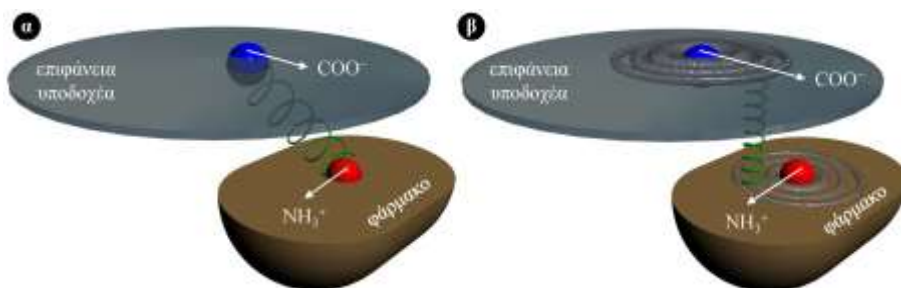
Ας θεωρήσουμε τώρα το μόριο της ισταμίνης, όπου η αμινομάδα είναι φορτισμένη. Το θετικό φορτίο του ιόντος βρίσκεται εξολοκλήρου πάνω στο άτομο του αζώτου. Υπολογισμός των μερικών φορτίων του ιόντος αποδεικνύει ότι λιγότερο από το μισό θετικό φορτίο βρίσκεται στο άζωτο και το υπόλοιπο είναι κατανομημένο σε όλο το μόριο (Σχήμα 4.13).



Σχήμα 4.13 Κατανομή του φορτίου στο ιόν της ισταμίνης. Το θετικό φορτίο δεν περιορίζεται στο άτομο του αζώτου ($-NH_3^+$) αλλά διαχέεται και στο υπόλοιπο μόριο.

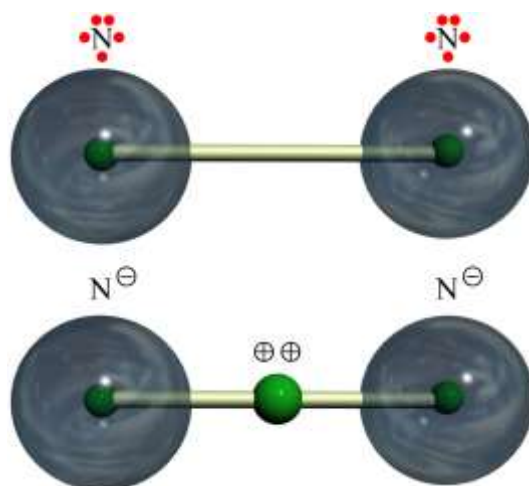
Αυτό έχει πολύ μεγάλη σημασία στον τρόπο με τον οποίο λαμβάνουν χώρα οι ιοντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φαρμακευτικών μορίων και υποδοχών. Οι φορτισμένες επιφάνειες και στα δύο μόρια δεν περιορίζονται σε συγκεκριμένα σημεία, αλλά είναι πιο διάχυτες. Αυτό σημαίνει ότι ο σχεδιασμός φαρμακευτικών μορίων δεν πρέπει να γίνεται μέσα σε στενά πλαίσια, όσον αφορά τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Για παράδειγμα, μπορεί το φορτισμένο κέντρο ενός μορίου να είναι αρκετά μακριά από το αντίστοιχο κέντρο στον υποδοχέα. Η διάχυση όμως του φορτίου στο μόριο (Σχήμα 4.14) ευνοεί την αλληλεπίδραση.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τέτοιοι υπολογισμοί του φορτίου πραγματοποιούνται σε δομές απομονωμένες από το περιβάλλον τους. Τα μόρια του νερού σε υδατικό περιβάλλον θα εξουδετερώσουν το φορτίο της ιστιδίνης, με αποτέλεσμα να παρατηρείται μια διαφορετική κατανομή φορτίου.



Σχήμα 4.14 (α) Ιοντικές αλληλεπιδράσεις κατά την πρόσδεση ενός φαρμακευτικού μορίου σε έναν υποδοχέα. (β) Η αλληλεπίδραση προέρχεται από το θετικά φορτισμένο άτομο του αζώτου και η περίπτωση διάχυσης του φορτίου στο φαρμακευτικό μόριο.

Ακριβής αναπαράσταση των ηλεκτροστατικών ιδιοτήτων ενός μορίου, μπορεί να απαιτεί την τοποθέτηση και ατομικών φορτίων σε θέσεις μεταξύ των δύο ατόμων. Επίσης το μόριο έχει συνολικό φορτίο μηδέν, που σημαίνει ότι έχει δύο μηδενικά ατομικά φορτία, ένα σε κάθε πυρήνα (Σχήμα 4.15).



Σχήμα 4.15 Τοποθέτηση του φορτίου του μοριακού αζώτου με τέτοιο τρόπο ώστε να αναπαρίσταται η τετραπολική ροπή του.

Ωστόσο το άζωτο έχει και τετραπολική ροπή, που επηρεάζει σημαντικά τις ιδιότητές του. Ο μόνος τρόπος, για να αναπαρασταθεί αυτό, είναι η τοποθέτηση τριών μερικών φορτίων κατά μήκος του δεσμού μεταξύ των ατόμων αζώτου. Από ένα φορτίο $-q$ σε κάθε πυρήνα και ένα φορτίο $+2q$ στο κέντρο του μορίου. Έτσι η τετραπολική-τετραπολική αλληλεπίδραση μεταξύ δύο μορίων αζώτου μπορεί να υπολογιστεί, αθροίζοντας τα εννέα ζεύγη των αλληλεπιδράσεων φορτίου-φορτίου.

♦ Μία εναλλακτική λύση, είναι η αποτίμηση των δεσμών του μορίου ως δίπολα. Η ηλεκτροστατική ενέργεια υπολογίζεται τότε, ως άθροισμα των ενεργειών αλληλεπίδρασης διπόλου-δίπολου. Αυτή η προσέγγιση χρησιμοποιείται από τα πεδία δυνάμεων MM2, MM3, MM4.

♦ Μία άλλη μέθοδος (αυτή των Gasteiger – Marsili) υπολογίζει τα ατομικά φορτία με μοναδικά δεδομένα τα άτομα, που συμμετέχουν στο μόριο και τον τρόπο με τον οποίο συνδέονται. Το μεγάλο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι η ταχύτητα με την οποία διεκπεραιώνονται οι υπολογισμοί.



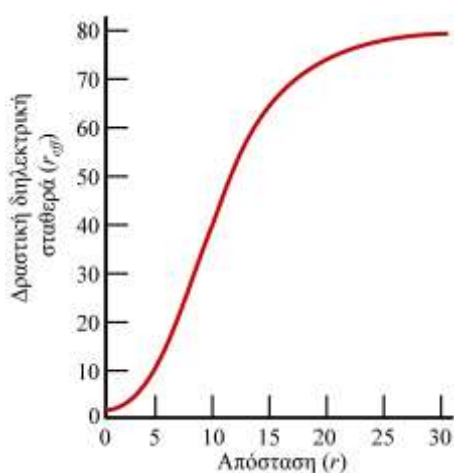
4.5 Διηλεκτρική σταθερά του μέσου

Όσα αναφέραμε μέχρι τώρα για τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και την ενεργειακή συνεισφορά τους, έχουν υπολογιστεί με βάση τη διηλεκτρική σταθερά στο κενό ϵ_0 . Σε κάποιες περιπτώσεις όμως είναι απαραίτητο να προσομοιωθεί το περιβάλλον ενός διαλύτη, χωρίς όμως να συμπεριληφθούν στους υπολογισμούς και τα μόριά του. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ένα διαφορετικό μοντέλο διηλεκτρικής σταθεράς. Μια ιδιότητα του διαλύτη είναι να αμβλύνει τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Ένας απλός τρόπος, για την έκφραση αυτής της αμβλυνσης, είναι η αύξηση της διηλεκτρικής σταθεράς, χρησιμοποιώντας μια κατάλληλη τιμή για τη σχετική διηλεκτρική σταθερά (ϵ_r) στην εξίσωση Coulomb (π.χ. $\epsilon = \epsilon_0 \cdot \epsilon_r$). Μια εναλλακτική προσέγγιση

έγκειται στην εξάρτηση της διηλεκτρικής σταθεράς από την απόσταση μεταξύ των φορτισμένων τμημάτων του μορίου. Έτσι προκύπτουν τα εξαρτώμενα από την απόσταση μοντέλα διηλεκτρικής σταθεράς. Η απλούστερη ενσωμάτωση της εξαρτώμενης από την απόσταση διηλεκτρικής σταθεράς είναι να εκφραστεί η σχετική διηλεκτρική σταθερά ανάλογα με την απόσταση. Η ενέργεια αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο φορτίων q_i και q_j δίνεται από την εξίσωση Coulomb, η οποία λαμβάνει υπόψη τη συνεισφορά της διηλεκτρικής σταθεράς.

Εκτός από το απλό μοντέλο που περιγράφηκε, υπάρχουν και περισσότερο εξελιγμένες συναρτήσεις, που συσχετίζουν τη διηλεκτρική σταθερά σε σχέση με την απόσταση. Αυτές οι συναρτήσεις είναι συνήθως σιγμοειδείς καμπύλες, όπου η δραστική διηλεκτρική σταθερά παίρνει μικρές τιμές σε μικρές αποστάσεις και αυξάνεται σε μεγάλες (Σχήμα 4.16).

Ένα παράδειγμα μιας τέτοιας συνάρτησης της διηλεκτρικής σταθεράς είναι αυτό που περιγράφεται από τους Paul E. Smith και B. Montgomery Pettitt.



Σχήμα 4.16 Σιγμοειδής καμπύλη της συνάρτησης διαπερατότητας σε σχέση με την απόσταση των φορτισμένων τμημάτων του μορίου.

Πίνακας 4.6 Τιμές διηλεκτρικής σταθεράς για διαφορετική πολικότητα του διαλύτη.

Περιβάλλον μέσο	ϵ
CDCl_3	1
DMSO	45
H_2O	81
Μικκύλια	91

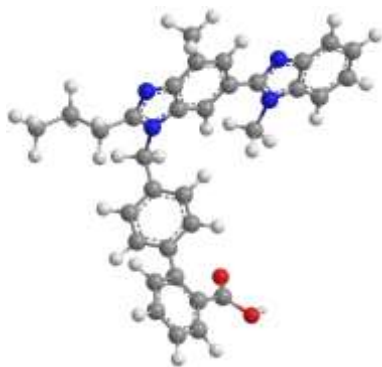
Η τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς ϵ_{eff} παίρνει την τιμή 1 για μηδενική απόσταση και αυξάνεται έως την τιμή ϵ_r (μέγιστη διαπερατότητα του διαλύτη) για μεγάλες αποστάσεις, με σιγμοειδή τρόπο. Οι σιγμοειδείς συναρτήσεις παρουσιάζουν καλύτερη συμπεριφορά του συστήματος, σε σχέση με το

$$\epsilon_{eff}(r) = \epsilon_r - \frac{\epsilon_r - 1}{2} \cdot [(rS)^2 + 2rs + 2] \cdot e^{-rS} \quad (4.5)$$

Όπου:
 r : διατομική απόσταση
 S : μεταβλητή προσομοίωσης

απλό μοντέλο της εξαρτώμενης από την απόσταση διηλεκτρικής σταθεράς. Στον πίνακα 4.6 παρουσιάζονται οι τιμές της διηλεκτρικής σταθεράς ϵ για συγκεκριμένους διαλύτες.

Ένα παράδειγμα, στο οποίο γίνεται προφανής ο ρόλος της διηλεκτρικής σταθεράς του μέσου, περιγράφεται ακολούθως. Το φαρμακευτικό μόριο τελμισαρτάνη (telmisartan) είναι ένας AT_1 ανταγωνιστής για τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Η διαμόρφωση, που παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.17, αντιστοιχεί σε ενέργεια $-77,2177 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, όταν αυτή υπολογίζεται σε μη πολικό διαλύτη ($\epsilon=1$). Όταν προσομοιωθεί ένα αμφοτερικό περιβάλλον ($\epsilon=45$), τότε η τιμή της ενέργειας γίνεται $21,0484 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, ενώ όταν δοθεί τιμή πολικού περιβάλλοντος ($\epsilon=90$), η ενέργεια αυξάνεται στα $22,1650 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 4.7, όπου γίνεται κατανοητή η επίδραση του περιβάλλοντος, μέσω των επιμέρους ενεργειακών συνεισφορών.



Σχήμα 4.17 Διαμόρφωση του αντιπερτασικού μορίου της τελμισαρτάνης. Για διαφορετικές τιμές της διηλεκτρικής σταθεράς λαμβάνεται διαφορετική τιμή της δυναμικής ενέργειας.

Πίνακας 4.7 Επιμέρους ενεργειακές συνεισφορές για διαφορετικές τιμές της διηλεκτρικής σταθεράς ϵ .

Ενεργειακή συνεισφορά	$\epsilon=1$	$\epsilon=45$	$\epsilon=90$
Τάσης δεσμού	2,4699	2,4699	2,4699
Κάμψης γωνίας	6,0348	6,0348	6,0348
Διεδρης γωνίας	6,7819	6,7819	6,7819
van der Waals	7,9950	7,9950	7,9950
Ηλεκτροστατικές	-100,4993	-2,2333	-1,1167
Περιοριστικές	0,00	0,00	0,00
Συνολική	-77,2177	21,0484	22,1650

Πιο συγκεκριμένα, η ενεργειακή συνεισφορά λόγω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων παίρνει μεγάλες αρνητικές τιμές σε άπολο διαλύτη ($E=-100,4993 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), ελαττώνεται σημαντικά σε αμφοτερικό περιβάλλον ($E=-2,2333 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) και σε πολικό περιβάλλον ελαττώνεται ακόμα περισσότερο ($E=-1,1167 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). Εξουδετερώνεται, δηλαδή το αρνητικό φορτίο της καρβοξυλομάδας, όσο αυξάνεται η διηλεκτρική σταθερά.

4.6 Συγκριτικές πληροφορίες Μοριακής Μηχανικής και Κβαντομηχανικών Μεθόδων

Για συστήματα που περιέχουν περισσότερα από 100 άτομα (προσεγγιστικά) γίνεται χρήση της Μοριακής Μηχανικής. Για ένα μοριακό σύστημα, το οποίο περιέχει μικρό αριθμό ατόμων οι *ab initio* υπολογισμοί προτιμούνται ως οι πιο ακριβείς. Για συστήματα, τα οποία περιέχουν 50–100 άτομα (προσεγγιστικά), οι ημιεμπειρικοί μέθοδοι είναι προτιμητέοι ως πιο ακριβείς από τη Μοριακή Μηχανική. Θα πρέπει όμως να αναφερθεί ότι πολλές φορές, αν η μεγάλη ακρίβεια δεν καθορίζει τους υπολογισμούς μας, τότε η Μοριακή Μηχανική προσφέρεται ως ταχύτερη μεθοδολογία. Στον Πίνακα 4.8 συνοψίζονται οι πληροφορίες, που απορρέουν από τη χρήση της Μοριακής Μηχανικής και Κβαντομηχανικών Μεθοδολογιών.

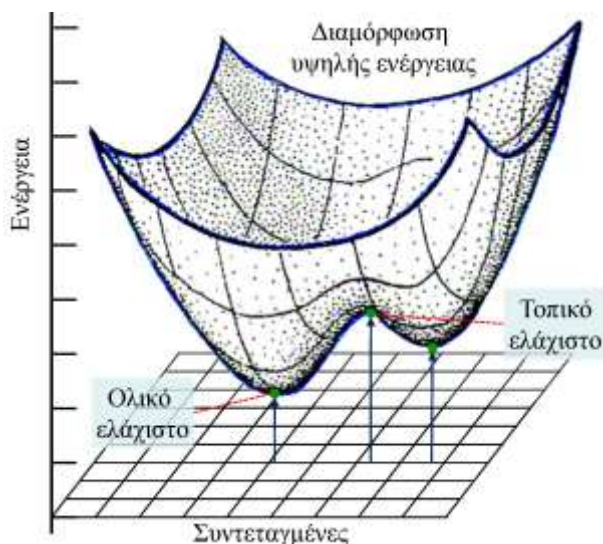
Σε επόμενα κεφάλαια θα εξετάσουμε εκτενέστερα παραδείγματα, τα οποία θα αποδεικνύουν τη σπουδαιότητα χρήσης τους στους τομείς της Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας.

Πίνακας 4.8 Πληροφορίες που απορρέουν από τη χρήση της Μοριακής Μηχανικής και Κβαντομηχανικών Μεθοδολογιών.

Μοριακή μηχανική	Κβαντομηχανικές μέθοδοι
Ελαχιστοποίηση ενέργειας	Ενέργειες μοριακών τροχιακών και συντελεστών μοριακών τροχιακών
Εξεύρεση σταθερών διαμορφωμένων	Ηλεκτροστατικά δυναμικά διπολικές ροπές
Δημιουργία διαμορφωμένων	Γεωμετρία μεταβατικών καταστάσεων και οι ενέργειες που συνοδεύονται από αυτές
Μελέτη μοριακής κίνησης	Ενέργειες διάσπασης δεσμών

4.7 Επιφάνειες Δυναμικής Ενέργειας και Μέθοδοι Ελαχιστοποίησης

Η δυναμική ενέργεια ενός μορίου είναι συνάρτηση των συντεταγμένων των ατόμων του. Πιο συγκεκριμένα, ένα σύστημα N ατόμων προσδιορίζεται από $3N$ καρτεσιανές συντεταγμένες (ή $3N-6$ εσωτερικές), οι οποίες ορίζουν την πολυδιάστατη επιφάνεια της δυναμικής ενέργειας (PES - Potential Energy Surface) (Σχήμα 4.18).



Σχήμα 4.18 Δυναμική επιφάνεια. Καθένα σημείο της επιφάνειας αντιστοιχεί σε μία διαμόρφωση του μορίου, που χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένη δυναμική ενέργεια.

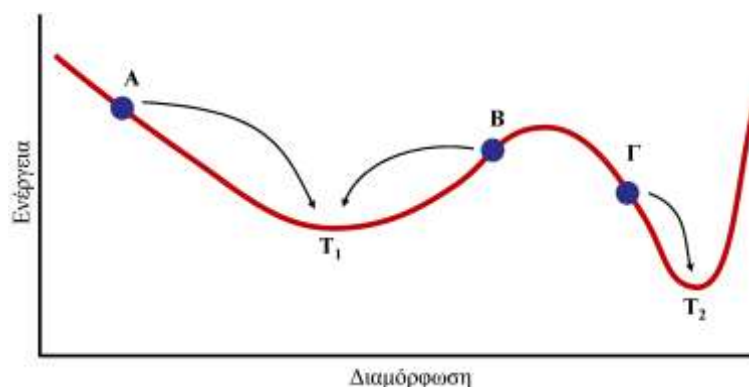
Έτσι για παράδειγμα, για τη διαμόρφωση του μορίου του αιθανίου η δυναμική ενέργεια είναι συνάρτηση των 24 καρτεσιανών ή 18 εσωτερικών συντεταγμένων, που απαιτούνται για τον ορισμό της. Με άλλα λόγια, ο τρόπος με τον οποίο μεταβάλλεται η ενέργεια σε σχέση με τις συντεταγμένες, δίνει την επιφάνεια δυναμικής ενέργειας. Καθένα σημείο της επιφάνειας αντιστοιχεί σε μια διαμόρφωση του μορίου, που χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένη δυναμική ενέργεια. Είναι πρακτικά αδύνατον να απεικονιστεί κάθε σημείο της επιφάνειας της ενέργειας, εκτός από περιπτώσεις πολύ απλών μορίων, όπου η ενέργεια είναι συνάρτηση μόνο μιας ή δύο συντεταγμένων. Για παράδειγμα, η ενέργεια van der Waals δύο ατόμων αργού εξαρτάται μόνο από μία συντεταγμένη – την απόσταση μεταξύ των ατόμων αργού. Κάποιες φορές, ωστόσο, μας αρκεί να μπορούμε να ερευνήσουμε και να απεικονίσουμε μόνο ένα μέρος της επιφάνειας της ενέργειας. Στη μοριακή μοντελοποίηση σημαντικό ρόλο παίζουν τα σημεία της επιφάνειας με την ελάχιστη ενέργεια και αυτό, γιατί η διευθέτηση των ατόμων ενός μορίου, που αντιστοιχεί στη μικρότερη ενέργεια, είναι και η πιο σταθερή. Οποιαδήποτε κίνηση των ατόμων από τη θέση αυτή οδηγεί σε διαμορφώσεις μεγαλύτερης ενέργειας. Σε μια επιφάνεια ενέργειας μπορεί να υπάρχουν πολλά ενεργειακά ελάχιστα (τοπικά ελάχιστα). Αυτό με τη μικρότερη ενέργεια όλων είναι γνωστό ως το ολικό ελάχιστο (global energy minimum). Κατά τη δόμηση ενός μοριακού συστήματος και την απεικόνισή του σε τρεις διαστάσεις, προκύπτει μια διαμόρφωση, που είναι μάλλον απίθανο να αντιστοιχεί σε κάποιο τοπικό ελάχιστο της επιφάνειας της ενέργειας. Ακόμη κι αν το χρησιμοποιούμε λογισμικό βελτιστοποιήσει τις τιμές για τα μήκη και τις γωνίες δεσμών, οι δίεδρες γωνίες του παραμένουν σχεδόν όπως δόθηκαν αρχικά από το χρήστη. Για τον προσδιορισμό των συγκεκριμένων διευθετήσεων των ατόμων του μορίου (διαμορφώσεων του μορίου), που αντιστοιχούν στα σημεία της επιφάνειας με τη χαμηλότερη ενέργεια, εφαρμόζουμε τους αλγορίθμους ελαχιστοποίησης της ενέργειας (energy minimization algorithms) ή αλλιώς βελτιστοποίησης της γεωμετρίας (geometry optimization) ενός μορίου.

Ο στόχος της Ελαχιστοποίησης Ενέργειας είναι να υπολογιστεί για μια δεδομένη χημική δομή ένα σύνολο συντεταγμένων που αντιπροσωπεύει τη διαμόρφωση ελάχιστης ενέργειας. Αν και η Ελαχιστοποίηση Ενέργειας είναι ένα εργαλείο για την επίτευξη των πλησιέστερων τοπικών ελαχίστων της Επιφάνειας Δυναμικής Ενέργειας, είναι επίσης απαραίτητο εργαλείο για τη διόρθωση των δομικών και διαμορφωτικών ανωμαλιών, δηλαδή, τη λανθασμένη στερεοχημεία καθώς και τις κοντινές επαφές μεταξύ ατόμων.

Η επίτευξη της ελαχιστοποίησης της ενέργειας ανάγεται στο εξής μαθηματικό πρόβλημα: Δεδομένης μιας συνάρτησης f που εξαρτάται από περισσότερες από μία μεταβλητές (x_1, x_2, \dots), ποιες είναι οι τιμές των μεταβλητών, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η f ; Προφανώς στο ελάχιστο, η πρώτη παράγωγος της συνάρτησης είναι μηδέν, ενώ η δεύτερη παράγωγος είναι θετική. Στην προκειμένη περίπτωση η συνάρτηση f είναι η συνάρτηση της ενέργειας και οι μεταβλητές x_1, x_2, \dots είναι οι καρτεσιανές ή οι εσωτερικές συντεταγμένες των ατόμων. Η επίλυση της εξίσωσης με παραγώγους είναι χρήσιμη, γιατί παρέχει πληροφορίες σχετικά με το σχήμα της επιφάνειας της ενέργειας. Το σχήμα της επιφάνειας της ενέργειας είναι σημαντικό για κάποιον, που θέλει να υπολογίσει τον σχετικό πληθυσμό των διαμορφώσεων, που αντιστοιχούν σε τοπικά ελάχιστα της ενέργειας. Για παράδειγμα, ένα βαθύ και στενό φρέαρ με τοπικό ελάχιστο E_1 αντιστοιχεί σε μικρότερο πληθυσμό διαμορφώσεων από ότι ένα πιο πλατύ φρέαρ με τοπικό ελάχιστο $E_2 > E_1$. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό πως ενδέχεται το ολικό ελάχιστο να μην είναι το ελάχιστο, που αντιστοιχεί στον μεγαλύτερο αριθμό διαμορφώσεων. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί πως μια βιολογικά ενεργός διαμόρφωση ενός φαρμακευτικού μορίου μπορεί να μην αντιστοιχεί στη διαμόρφωση του ολικού ελαχίστου ή ακόμη και του ελαχίστου με τον μεγαλύτερο πληθυσμό διαμορφώσεων. Έχει ήδη αναπτυχθεί ένας μεγάλος αριθμός αλγόριθμων ελαχιστοποίησης της ενέργειας, χωρίς όμως να αποτελεί κάποιος αποδεδειγμένα την καλύτερη λύση για όλες τις περιπτώσεις χημικών ενώσεων.

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες, που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την επιλογή του καταλληλότερου αλγορίθμου ή και συνδυασμούς τους. Ο ιδανικός αλγόριθμος ελαχιστοποίησης της ενέργειας είναι αυτός, που παρέχει ικανοποιητικό αποτέλεσμα στον μικρότερο χρόνο με τη λιγότερη δυνατή χρήση υπολογιστικής ισχύος του Η/Υ. Ένα αποτελεσματικό πρωτόκολλο βελτιστοποίησης της ενέργειας χρησιμοποιεί τους αλγόριθμους αυτούς σε συνδυασμό με έναν αλγόριθμο μοριακής δυναμικής.

Ένα χαρακτηριστικό των αλγόριθμων ελαχιστοποίησης της ενέργειας είναι ότι έχουν σχεδιαστεί να εφαρμόζονται σε μια επιφάνεια ενέργειας, με αποτέλεσμα να σταματούν στο πρώτο ενεργειακό ελάχιστο που συναντούν. Το σχήμα 4.19 απεικονίζει την επιφάνεια της ενέργειας και τα ελάχιστα T_1 και T_2 , στα οποία θα έφτανε ο αλγόριθμος, ξεκινώντας από τα τρία σημεία Α, Β, Γ. Αυτό μπορεί να γίνει ευκολότερα αντιληπτό, αν αναλογιστούμε τον αλγόριθμο ελαχιστοποίησης ως μια συμπαγή σφαίρα, που κυλά στην επιφάνεια της δυναμικής ενέργειας υπό την επίδραση της δύναμης της βαρύτητας. Τα σημεία, στα οποία θα ακινητοποιούνταν, είναι αυτά με την ελάχιστη ενέργεια.



Σχήμα 4.19 Οι μέθοδοι της ελαχιστοποίησης της ενέργειας κινούνται προς το κοντινότερο ενεργειακό ελάχιστο. Γίνεται κατανοητό πως αυτό εξαρτάται από την εναρκτήρια διαμόρφωση.

4.8 Κατηγορίες Αλγορίθμων Ελαχιστοποίησης Ενέργειας

Για τους αλγορίθμους ελαχιστοποίησης ενέργειας (Σχήμα 4.19) θεωρούμε ότι οποιαδήποτε συνάρτηση $F(X)$, με μεταβλητή X , μπορεί να αναλυθεί σε μια σειρά Taylor γύρω από το ελάχιστο X_0 (Εξίσωση 4.6).

Η κατάταξη των αλγορίθμων ελαχιστοποίησης ενέργειας γίνεται ανάλογα με την τάξη τους, δηλαδή ανάλογα με τη μεγαλύτερη παράγωγο της συνάρτησης που χρησιμοποιείται στον αλγόριθμο. Στους αλγορίθμους **πρώτης τάξης** χρησιμοποιείται η πρώτη παράγωγος, ενώ αυτοί της **δεύτερης τάξης** κάνουν χρήση της πρώτης και της δεύτερης παραγώγου. Εκτός των προαναφερθέντων, υπάρχει και μια μέθοδος υπολογισμού, που δεν χρησιμοποιεί τις παραγώγους της συνάρτησης της ενέργειας (μέθοδος simplex) και μπορεί να θεωρηθεί ως αλγόριθμος μηδενικής τάξης.



Taylor Brook
(1685–1731)

$$F(X) = F(X_0) + \frac{(X - X_0)^1}{1!} \cdot F'(X_0) + \frac{(X - X_0)^2}{2!} \cdot F''(X_0) + \dots \quad (4.6)$$

Όπου:

F' : η πρώτη παράγωγος της συνάρτησης και

F'' : η δεύτερη παράγωγος της συνάρτησης

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό πως για τον προσδιορισμό περισσότερων από ένα ελαχίστων ή και για τον προσδιορισμό του ολικού ελαχίστου απαιτείται η χρήση της διαδικασίας ελαχιστοποίησης, ξεκινώντας από διαφορετικά εναρκτήρια σημεία. Υπάρχουν κάποιοι ειδικοί αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης, στους οποίους η κίνηση παρατηρείται αντίθετα – «ανεβαίνοντας» την επιφάνεια της ενέργειας – προκειμένου να προσδιορίσουν ενεργειακά ελάχιστα διαφορετικά από το κοντινότερο στο σημείο έναρξης. κανένα όμως ωστόσο δεν οδηγεί σε ολικό ελάχιστο.

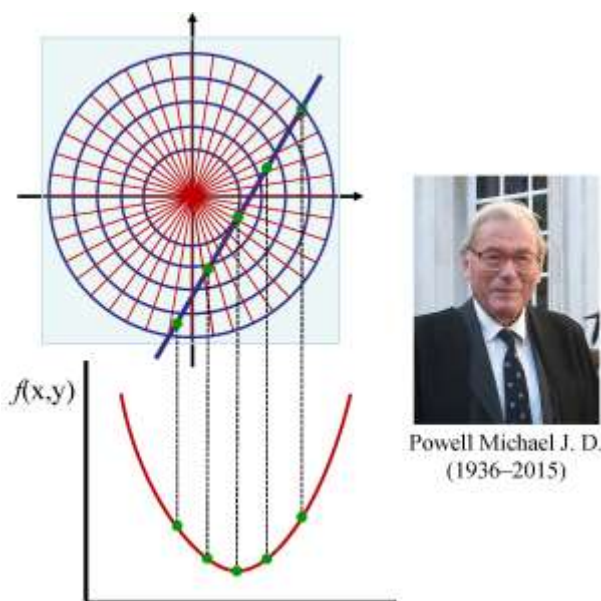
4.9 Εισαγωγή στις μεθόδους ελαχιστοποίησης με παραγώγους

Όπως αναφέραμε, οι παράγωγοι παρέχουν πολύ χρήσιμες πληροφορίες για την επιφάνεια της ενέργειας και χρησιμοποιούνται από τους περισσότερους αλγορίθμους ελαχιστοποίησης. Η πρώτη παράγωγος της συνάρτησης της ενέργειας έχει ως φυσική σημασία την **κλίση** της επιφάνειας της ενέργειας και μπορεί να προσδιορίζει το σημείο, που βρίσκεται το ελάχιστο. Το μέγεθος της κλίσης προσδιορίζει το πόσο απότομη είναι η επιφάνεια. Η φυσική σημασία της δεύτερης παραγώγου είναι η καμπυλότητα της συνάρτησης (επιφάνειας), χρήσιμη πληροφορία για την πρόβλεψη του σημείου εκείνου, στο οποίο αλλάζει κατεύθυνση η συνάρτηση (π.χ. πέρασμα μέσα από ένα τοπικό ελάχιστο ή μέγιστο).

4.9.1 Αλγόριθμοι πρώτης τάξης

Αναφέραμε προηγουμένως πως οι αλγόριθμοι πρώτης τάξης χρησιμοποιούν την πρώτη παράγωγο της συνάρτησης (το βαθμωτό άνυσμα της πολυδιάστατης επιφάνειας της ενέργειας), για να καθοδηγήσουν την αναζήτηση προς το τοπικό ελάχιστο. Αυτό σημαίνει ότι χρησιμοποιούν πληροφορίες για την κλίση της καμπύλης της επιφάνειας δυναμικής ενέργειας, αλλά όχι για την καμπύλωση της επιφάνειας (η οποία δίνεται από τη δεύτερη παράγωγο). Η έλλειψη της πληροφορίας, που παρέχει η χρήση της δεύτερης παραγώγου, αντισταθμίζεται με τη χρήση

μεταβλητού μεγέθους βημάτων, καθώς και πληροφορίες από τα προηγούμενα βήματα. Η χρήση των αλγόριθμων αυτών απαιτεί σταδιακά τη μεταβολή των συντεταγμένων των ατόμων του μορίου, καθώς κινείται το σύστημα ολοένα και πιο κοντά στο ενεργειακό ελάχιστο (Σχήμα 4.20).



Σχήμα 4.20 Στον αλγόριθμο ελαχιστοποίησης εκτελούνται μεταβολές στις συντεταγμένες των ατόμων του μορίου, προκειμένου σε κάθε στάδιο να μεταβαίνει σε χαμηλότερης ενέργειας διαμόρφωση.

Το σημείο έναρξης k για κάθε επανάληψη είναι η διαμόρφωση, που προέκυψε από το προηγούμενο βήμα, και η οποία απεικονίζεται με το πολυδιάστατο άνυσμα x_{k-1} . Το σημείο έναρξης είναι η αρχική διαμόρφωση, που δίνεται από τον χρήστη και απεικονίζεται από το άνυσμα x_1 . Δεδομένου ότι η διαδικασία είναι επαναληπτική, απαιτούνται πολλά βήματα, για να συγκλίνει στο ελάχιστο (αν τελικά συγκλίνει). Η βασική εξίσωση (Εξίσωση 4.7) των αλγόριθμων πρώτης τάξης είναι:

$$R_k = R_{k-1} + I_k \cdot S_k \quad (4.7)$$

Όπου:

R_k : η νέα θέση στην καμπύλη της επιφάνειας της ενέργειας στο βήμα k

R_{k-1} : η θέση του προηγούμενου βήματος $k-1$

I_k : το μέγεθος του βήματος k

S_k : η κατεύθυνση του βήματος

Οι κυρίως χρησιμοποιούμενοι αλγόριθμοι πρώτης τάξης είναι:

- ◆ ο Απότομης Καθόδου ή Απότομης Καταβύθισης ή Βαθύτερης Κατάδυσης (Steepest Descents)
- ◆ ο Βαθμιδωτής Σύζευξης (Conjugated Gradient) και
- ◆ ο Powell.

Οι αλγόριθμοι διαφέρουν μεταξύ τους στον τρόπο που επιλέγεται το μέγεθος του βήματος, καθώς και η κατεύθυνση του βήματος αυτού. Συγκεκριμένα, η διαφορά μεταξύ των δύο αλγόριθμων ελαχίστου έγκειται στο ότι μόνο στον δεύτερο αλγόριθμο, το σημείο έναρξης για κάθε βήμα είναι αυτό που προκύπτει από το αμέσως προηγούμενο. Αντίθετα στον αλγόριθμο Απότομης Καθόδου δεν λαμβάνεται υπόψη καμία πληροφορία από το προηγούμενο βήμα. Ο αλγόριθμος Powell είναι παρόμοιος με τον αλγόριθμο Βαθμιδωτής Σύζευξης, αλλά χρησιμοποιούνται πιο εξελιγμένοι κανόνες για τη μετακίνηση στην ενεργειακή επιφάνεια γι' αυτό η χρήση του οδηγεί σε τρεις φορές

ταχύτερους υπολογισμούς.

4.9.2 Αλγόριθμοι δεύτερης τάξης

Οι αλγόριθμοι της κατηγορίας αυτής χρησιμοποιούν τόσο την πρώτη όσο και τη δεύτερη παράγωγο, κατά τη διάρκεια της ελαχιστοποίησης.

Ένας αλγόριθμος δεύτερης τάξης είναι ο Newton–Raphson. Οι υπολογισμοί του είναι αρκετά πιο σύνθετοι σε σχέση με του αλγορίθμους πρώτης τάξης, αλλά δίνουν πιο γρήγορα αποτελέσματα αφού συγκλίνουν σε σύντομο χρόνο.

4.9.3 Αλγόριθμοι μηδενικής τάξης

Οι αλγόριθμοι της τάξης αυτής δεν χρησιμοποιούν απευθείας πληροφορίες για την εφαπτόμενη γωνία κλίσης της καμπύλης της επιφάνειας δυναμικής ενέργειας, ούτε για την καμπύλωση της επιφάνειας κατά την ελαχιστοποίηση. Ως αποτέλεσμα, οι μέθοδοι αυτές δεν δίνουν αξιοποιήσιμα αποτελέσματα και βρίσκουν εφαρμογή σε επιφάνειες, χωρίς πολλά τοπικά ελάχιστα και με γραμμικότητα στην κλίση. Σπάνια χρησιμοποιούνται για μακρομοριακά συστήματα.

4.10 Σύγκριση των μεθόδων ελαχιστοποίησης της ενέργειας

Η επιλογή του αλγορίθμου ελαχιστοποίησης εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων. Αυτοί είναι:

- ♦ ο διαθέσιμος αποθηκευτικός χώρος,
- ♦ οι υπολογιστικές ανάγκες,
- ♦ η ταχύτητα με την οποία πραγματοποιούνται οι υπολογισμοί κ.α.

Σε γενικές γραμμές, υπολογισμοί σε συστήματα που περιέχουν χιλιάδες άτομα πρέπει να εκτελούνται με χρήση των αλγορίθμων Απότομης Καθόδου και Βαθμιδωτής Σύζευξης, οι οποίοι είναι οι πλέον κατάλληλοι. Για υπολογισμούς μοριακής μηχανικής σε μικρά μόρια μπορεί να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος Newton–Raphson, παρόλο που παρουσιάζει προβλήματα με εναρκτήριες διαμορφώσεις, που βρίσκονται πολύ μακριά από το ελάχιστο. Για τον λόγο αυτό, συνήθως εφαρμόζεται για τα πρώτα βήματα μια άλλη μέθοδος (π.χ. μονοδρομικής διαβίβασης στοιχείων (simplex), Βαθύτατης Καθόδου) πριν την εφαρμογή του αλγορίθμου Newton–Raphson.

4.11 Κριτήρια σύγκλισης

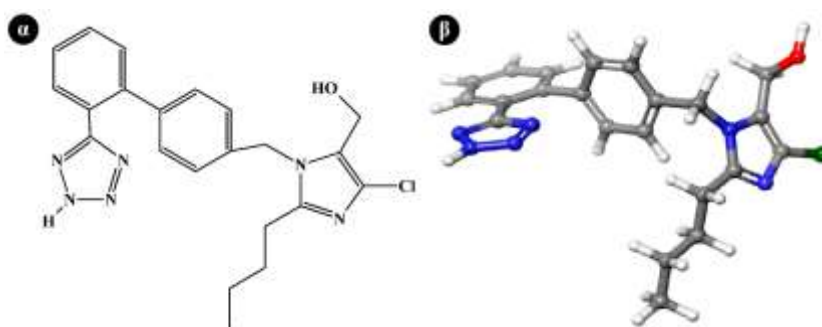
Σε αντίθεση με τη θεωρία, στην πράξη είναι μάλλον απίθανο να βρεθεί η ακριβής θέση του ενεργειακού ελαχίστου. Όλοι οι αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης, που αναφέρθηκαν, θα συνέχιζαν την επαναληπτική επίλυση για την εξίσωση της ενέργειας επ' άπειρο, προχωρώντας προς το ζητούμενο σημείο. Ωστόσο, μια προσέγγιση του σημείου ελάχιστης ενέργειας είναι αρκετή. Για τον σκοπό αυτό απαιτείται κάποιος μηχανισμός, που θα τερματίζει τη διαδικασία της ελαχιστοποίησης, όταν αυτή θα έχει φτάσει αρκετά κοντά στο σημείο.

- ♦ Ένας τέτοιος μηχανισμός στηρίζεται στην καταγραφή της ενέργειας του μορίου, κατά τη διάρκεια της ελαχιστοποίησης της ενέργειας. Όταν η διαφορά της ενέργειας μεταξύ δύο διαδοχικών βημάτων είναι μικρότερη από ένα συγκεκριμένο όριο, τότε η διαδικασία σταματά.
- ♦ Ένας αντίστοιχος μηχανισμός υπολογίζει τη διαφορά στις συντεταγμένες του συστήματος και τερματίζει τον αλγόριθμο, όταν αυτή είναι πολύ μικρή.
- ♦ Τέλος μια τρίτη μέθοδος βασίζεται στην τετραγωνική ρίζα των μέσων τιμών των βαθμίδων ενέργειας (RMS: Root–Mean–Square gradient of energy). Όταν η RMS λάβει κάποια τιμή μικρότερη από την προκαθορισμένη, ο υπολογισμός τερματίζεται.

Η συνήθης διαδικασία, που ακολουθείται κατά την ελαχιστοποίηση της ενέργειας, είναι αρχικά η χρήση του αλγορίθμου απότομης καθόδου για τα πρώτα περίπου 100 βήματα (~1000 για μεγαλύτερα μόρια και πρωτεΐνες) και στη συνέχεια χρήση του αλγορίθμου συζυγούς βαθμίδας ή Newton–Raphson για την ολοκλήρωση της διαδικασίας.

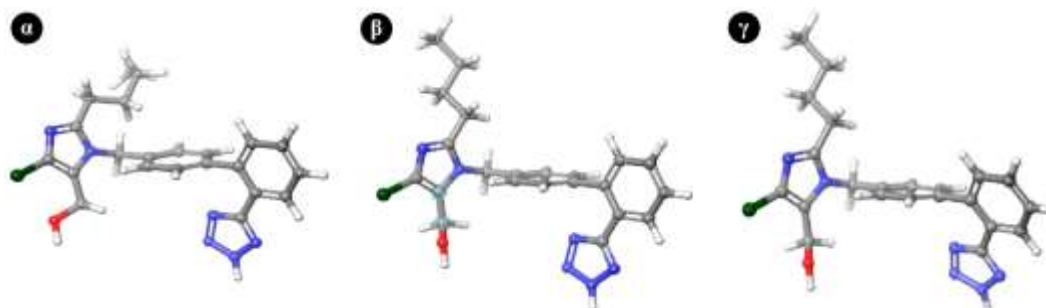
4.11.1 Παραδείγματα

Ακολουθούν παραδείγματα όπου γίνεται σύγκριση των αποτελεσμάτων με την εφαρμογή διαφόρων μεθόδων ελαχιστοποίησης. Σχεδιάστηκε αρχικά σε δύο διαστάσεις το γνωστό ήδη φαρμακευτικό μόριο λοσαρτάνη (εμπορική ονομασία Cozaar), ένας ανταγωνιστής της αγγειοτασίνης II στους AT_1 υποδοχείς, που μειώνει την αρτηριακή πίεση και βελτιώνει την καρδιακή ανεπάρκεια (Σχήμα 4.21α). Κατά την αυτόματη μετατροπή του σε τρεις διαστάσεις, έδωσε την διαμόρφωση του Σχήματος 4.21β. Θέτοντας μια τιμή στη διηλεκτρική σταθερά του μέσου, που να προσομοιάζει ένα αμφοτερικό περιβάλλον ($\epsilon=45$), η ενέργεια της προκύπτουσας διαμόρφωσης είναι ίση με $46,228 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$.



Σχήμα 4.21 (α) Σχεδιασμένη δομή του μορίου της λοσαρτάνης σε δύο διαστάσεις, (β) αυτόματη προσαρμογή από οποιοδήποτε λογισμικό επιθυμείτε να χρησιμοποιήσετε (π.χ. chemdraw, Schrödinger, Spartan, Chimera κ.ά.) στις τρεις διαστάσεις.

Εκτελώντας ελαχιστοποίηση της ενέργειας με τον αλγόριθμο πρώτης τάξης Απότομης Καθόδου, με κριτήριο σύγκλισης ενεργειακής βαθμίδας 0,01 λαμβάνουμε τη διαμόρφωση (α) του Σχήματος 4.22, που αντιστοιχεί σε ενεργειακό ελάχιστο με ενέργεια $E=44,51 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Αν από την αρχική διαμόρφωση του Σχήματος 4.22 εκτελέσουμε τον αλγόριθμο Βαθμιδωτής Σύζευξης με το ίδιο κριτήριο σύγκλισης, θα λάβουμε τη διαμόρφωση (β), που αντιστοιχεί σε ένα άλλο ενεργειακό ελάχιστο με ενέργεια $E=43,34 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Στο ίδιο ενεργειακό ελάχιστο θα φτάσουμε, κάνοντας χρήση και του αλγορίθμου Powell, λαμβάνοντας τη διαμόρφωση (γ).



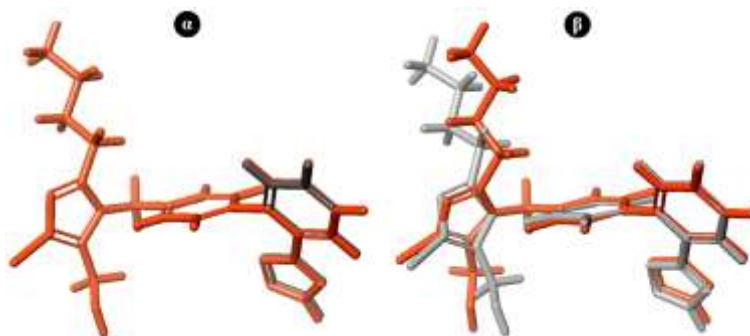
Σχήμα 4.22 Διαμορφώσεις της λοσαρτάνης που αντιστοιχούν σε ενεργειακά ελάχιστα της επιφάνειας δυναμικής ενέργειας, όπως προέκυψαν από χρήση αλγορίθμων ελαχιστοποίησης πρώτης τάξης (α) Απότομης Καθόδου, (β) Βαθμιδωτής Σύζευξης, (γ) Powell.

Εκτός από το γεγονός ότι οι δύο τελευταίοι αλγόριθμοι έδωσαν ένα διαφορετικό τοπικό ελάχιστο σε

σχέση με τον πρώτο, οι διαφορές των τριών αλγόριθμων εστιάζονται κυρίως στον υπολογιστικό χρόνο, καθώς και στα βήματα που πραγματοποιήθηκαν κατά την ελαχιστοποίηση. Έτσι, ενώ

- ♦ στον αλγόριθμο Απότομης Καθόδου εκτελέστηκαν 70650 βήματα σε χρόνο 1380 δευτερόλεπτα,
- ♦ στον αλγόριθμο Βαθμιδωτής Σύζευξης εκτελέστηκαν 2636 βήματα σε μόλις 46 δευτερόλεπτα και
- ♦ στον αλγόριθμο Powell 1610 βήματα σε 10 δευτερόλεπτα (σε προσωπικό Η/Υ).

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι διαμορφώσεις (β) και (γ) αντιστοιχούν στο ίδιο τοπικό ελάχιστο. Αυτό γίνεται αντιληπτό όχι μόνο από την τιμή της ενέργειας ($E=43,34 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) αλλά και από την ίδια διαμόρφωση που προκύπτει μετά την εφαρμογή των δύο αλγόριθμων (Σχήμα 4.22). Τέλος, πρέπει να τονιστεί ότι διαμορφώσεις που λαμβάνονται μετά από εφαρμογή αλγόριθμων ελαχιστοποίησης της ενέργειας, εξαρτώνται από την αρχική διαμόρφωση του μορίου (Σχήμα 4.22). Στο Σχήμα 4.23α παρουσιάζονται οι διαμορφωτικές διαφορές της προηγούμενης διαμόρφωσης, που έχει προκύψει από τους αλγόριθμους Βαθμιδωτής Σύζευξης ή Powell και Απότομης Καθόδου. Όπως παρατηρείται από την υπέρθεση του Σχήματος 4.23β, οι διαφορές εντοπίζονται στη διαμόρφωση της αλκυλικής αλυσίδας σε σχέση με τον ιμιδαζολικό δακτύλιο του μορίου. Λόγω της μεγαλύτερης ευελιξίας της αλκυλικής αλυσίδας (δυνατότητα περιστροφής των απλών δεσμών C–C) κατανοείται η διαφορά στις διαμορφώσεις της.



Σχήμα 4.23 Υπέρθεση των διαμορφώσεων της λοσαρτάνης που έχουν προκύψει από εφαρμογή των αλγόριθμων (α) Απότομης Καθόδου και Powell, (β) Απότομης Καταβύθισης και Βαθμιδωτής Σύζευξης.

Οι αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης βρίσκονται ενσωματωμένοι σε λογισμικά τα οποία χρησιμοποιούν τη Μοριακή Μηχανική για υπολογισμούς όπως είναι τα AMBER, MM2, MM3, GROMACS και CHARMM. Επίσης, υπάρχουν λογισμικά τα οποία χρησιμοποιούν κβαντομηχανικούς υπολογισμούς όπως είναι τα GAMES, JAGUAR, GAUSSIAN, και TURBOMOLE. Ορισμένα από αυτά τα λογισμικά δεν είναι ελεύθερης πρόσβασης ή απαιτούν καλή γνώση χειρισμού Η/Υ. Αναπτύσσονται πρόσφατα όμως αρκετά προγράμματα ελεύθερης πρόσβασης όπου χρησιμοποιούνται αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης ενέργειας. Τέτοια παραδείγματα αποτελούν τα AVOGADRO, CHIMERA, ABALONE και MERLIN.

Βιβλιογραφία / Αναφορές

1. Schlick T. (2010). *Molecular modeling and simulation: An interdisciplinary guide*. Springer Science+Business Media, LLC.
2. Höltje H-D., Sippl W., Rogman D., Folkers G. (2008). *Molecular Modeling: Basic Principles and Applications*, Wiley-VCH.
3. Leach A.R. (2001). *Molecular Modelling: Principles and Applications*, Pearson.
4. Jensen J.H. (2010). *Molecular Modeling Basics*, CRC Press.
5. Hinchliffe A. (2008). *Molecular Modeling for beginners*, Wiley.
6. Κολοκούρης Α. (2020). *Υπολογιστική Χημεία*, Παρισιάνος.
7. Bowen, J. P. (1998). A portrait of the chemist: The Lou Allinger story. *Journal of Computational Chemistry*, 19(2), vii–ix.
8. Beveridge D.L. (2001). Preface and Dedication: Peter A. Kollman (1944–2001). *Biopolymers (Nucleic Acid Sciences)*, 56, 229–231.
9. Buhmann M.D., Fletcher R., Iserles A., Toint P. (2018). Michael J. D. Powell. *Biogr. Mems Fell. R. Soc.*, 64, 341–366.
10. Casteiger J. (2003). *Handbook of Chemoinformatics*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.

Κριτήρια Αξιολόγησης

4.1 Ερωτήσεις

1. Από πόσες συνιστώσες αποτελείται η εσωτερική ενέργεια;
2. Σε τι διαφέρουν, από άποψη εσωτερικής ενέργειας, οι διάφορες διαμορφώσεις; Στην κινητική ή στη δυναμική ενέργεια;
3. Ποια εξίσωση καθορίζει την κινητική και ποια τη θερμοδυναμική κατάσταση ενός μοριακού συστήματος;
4. Ποιες μεθοδολογίες χρησιμοποιεί η Μοριακή Μοντελοποίηση για τον υπολογισμό της ολικής ενέργειας του συστήματος;
5. Πού βασίζεται η Κβαντική Μηχανική και πού η Μοριακή Μηχανική;
6. Τι καλούμε πεδίο δυνάμεων;
7. Πού βασίζονται οι ημιεμπειρικές μέθοδοι;
8. Αναφέρατε μερικά πεδία δυνάμεων.
9. Ποιες είναι οι γενικές αρχές, όπου βασίζεται η Μοριακή Μηχανική;
10. Ποιες ενέργειες συμπεριλαμβάνονται στην ολική ενέργεια με χρήση Μοριακής Μηχανικής;
11. Να αναφέρετε τις κατηγορίες ελαχιστοποίησης της ενέργειας και τους αλγορίθμους ανά κατηγορία.
12. Ποιες είναι οι διαφορές και ομοιότητες μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών;
13. Υπάρχει περίπτωση η χρήση κάποιου αλγορίθμου ελαχιστοποίησης να δώσει περισσότερα από ένα ενεργειακά ελάχιστα;
14. Υπάρχει περίπτωση δύο ή περισσότεροι αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης να δώσουν το ίδιο αποτέλεσμα;
15. Ποια είναι η διαφορά μεταξύ του τοπικού από το ολικό ελάχιστο;
16. Τι καλείται κριτήριο σύγκλισης;
17. Γιατί χρειάζεται η ελαχιστοποίηση της ενέργειας κάποιου μορίου;
18. Τι καλούμε επιφάνεια δυναμικής ενέργειας;
19. Ποια σημεία της επιφάνειας δυναμικής ενέργειας διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη Μοριακή Μοντελοποίηση;
20. Πώς προσδιορίζονται τα άτομα του μορίου, που αντιστοιχούν στα σημεία της επιφάνειας με τη χαμηλότερη ενέργεια;

21. Ποιοι είναι οι ιδανικότεροι αλγόριθμοι ελαχιστοποίησης της ενέργειας;
22. Από ποιους παράγοντες καθορίζεται η επιλογή του αλγορίθμου ελαχιστοποίησης;
23. Ποια μέθοδος ελαχιστοποίησης δεν χρησιμοποιείται για πρωτεΐνες;

4.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Οι εξ υπαρχής και ημιεμπειρικές μέθοδοι βασίζονται στην κβαντομηχανική προσέγγιση.
2. Η Μοριακή Μηχανική βασίζεται στην ιδέα ότι η διαμόρφωση των μορίων καθορίζεται από τις δυνάμεις αλληλεπιδράσεων, που εφαρμόζονται στα άτομα που το απαρτίζουν.
3. Οι εξ υπαρχής υπολογισμοί της εσωτερικής ενέργειας ενός μορίου είναι περισσότερο χρονοβόροι από αυτούς της Μοριακής Μηχανικής για ίδια μόρια.
4. Η ενέργεια ενός μορίου υπολογίζεται συνήθως από το παρακάτω άθροισμα:

$$E_{ολ} = E_{τάσης} + E_{δεσμού} + E_{διδερής} + E_{vdw} + E_{ηλεκτροστατικής} + E_{δεσμού\ H}$$

5. Ο χημικός δεσμός, σύμφωνα με τη Μοριακή Μηχανική, μεταξύ δύο ατόμων θεωρείται ως ένα ελατήριο σε φυσική θέση ισορροπίας. Η αλλαγή στο μήκος δεσμού επιφέρει μεταβολή στην ενέργεια.
6. Για την αλλαγή της γωνίας δεσμού ενός μορίου είναι απαραίτητη η προσφορά ενέργειας.
7. Η ενέργεια, των δύο διαμορφωμερών (Σχήμα 4.24) λόγω της διαφορετικής δίδερης γωνίας μεταξύ των δύο μεθυλίων στα δύο μόρια, είναι η ίδια.



Σχήμα 4.24 Προβολές Newman και τριδιάστατα μοντέλα (α) της εκλειπτικής και (β) της διαβαθμισμένης δομής του βουτανίου.

8. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μη δεσμικών ατόμων ονομάζονται van der Waals. Αυτές είναι απωστικές αλληλεπιδράσεις, όταν βρίσκονται σε πολύ κοντινή απόσταση, λόγω της αλληλοεπικάλυψης των ηλεκτρονικών νεφών και ελκτικές, όταν βρίσκονται σε μεγάλες αποστάσεις, λόγω των δυνάμεων διασποράς.
9. Οι διπολικές αλληλεπιδράσεις είναι μόνο ελκτικές.
10. Η ενέργεια του υδρογονικού δεσμού είναι της τάξης των $500 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, ενώ του ομοιοπολικού δεσμού $418 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.
11. Τα CHARMM (Karplus), AMBER (Kollman) αποτελούν πεδία δυνάμεων.
12. Για το πεδίο δυνάμεων χρησιμοποιούνται μαθηματικές παραμετροποιημένες εξισώσεις, οι οποίες υπολογίζουν τις επί μέρους ενέργειες και οι οποίες συντελούν αθροιστικά στην ολική ενέργεια του μορίου.
13. Οι απόλυτες ενέργειες, που υπολογίζονται με χρήση της Μοριακής Μηχανικής, είναι χωρίς πρακτική σημασία.
14. Η δυναμική ενέργεια ενός μορίου ποικίλει ανάλογα με τη διαμόρφωση του.
15. Η μετατροπή ενός διαμορφωμερούς σε ένα άλλο εμπλέκει υψηλής ενέργειας μεταβατική

κατάσταση.

16. Η διαμορφωτική δυναμική επιφάνεια σε ένα γράφημα περιγράφει τη μοριακή γεωμετρία σε συνάρτηση με την ενέργεια.

17. Σε ένα μόριο η θερμοδυναμική περιγράφει τον ρυθμό ανταλλαγής από μια διαμόρφωση σε μια άλλη.

18. Η διαμόρφωση με τη χαμηλή ενέργεια είναι η πιθανότερη.

19. Η εξίσωση, που δίνει την αναλογία των πιθανών διαμορφωμένων σε ένα διάλυμα, ανακαλύφθηκε από τον Arrhenius.

20. Σε δύο διαμορφωμένη A, B σε ισορροπία και με ενέργειες $0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ και $5,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ αντίστοιχα, ο πληθυσμός τους είναι 90 % και 10 % αντίστοιχα.

21. Να τοποθετήσετε το σύμβολο (+) στο κατάλληλο κελί του πίνακα απαντώντας στην πρόταση «Όταν ελαχιστοποιείται η ενέργεια ενός μορίου, μεταβάλλονται»:

	προτάσεις	Σωστή	Λανθασμένη
α	η ενέργεια δεσμού		
β	οι γωνίες δεσμών		
γ	οι διέδρες γωνίες		
δ	η διαμόρφωση δακτυλίων		
ε	οι δομές των δακτυλίων		
ζ	οι θέσεις των ατόμων ή δεσμών		

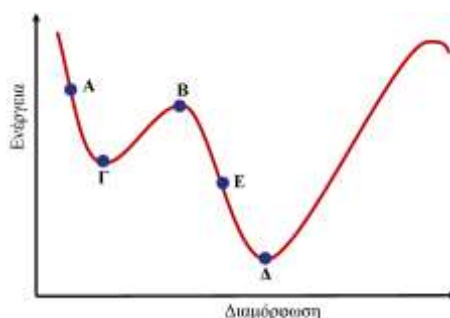
22. Μια διεργασία ελαχιστοποίησης τερματίζεται, όταν περαιτέρω εφαρμογή της διεργασίας δεν συνεπάγεται διαμορφωμένες με χαμηλότερη ενέργεια.

23. Λαμβάνοντας υπόψη τη γραφική παράσταση που σας δίνεται (Σχήμα 4.25) να απαντήσετε αν είναι ορθές ή λανθασμένες οι προτάσεις που ακολουθούν.

α) Εφαρμογή αλγόριθμων ελαχιστοποίησης οδηγεί στο απόλυτο ελάχιστο Δ, όταν το μόριο βρίσκεται στη διαμόρφωση Α.

β) Εφαρμογή αλγόριθμων ελαχιστοποίησης οδηγεί στο απόλυτο ελάχιστο Δ, αν το μόριο βρίσκεται στη διαμόρφωση Ε.

γ) Δεν χρειάζεται να εφαρμοσθεί αλγόριθμος ελαχιστοποίησης, αν το μόριο βρίσκεται στη διαμόρφωση Γ.



Σχήμα 4.25 Ενέργειες 5 διαμορφώσεων ενός μορίου.

4.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση

1. Ποιο από τα ακόλουθα δεν αποτελεί πεδίο δυνάμεων, που χρησιμοποιείται στην Μοριακή

Μηχανική;

α) LAOCOON β) AMBER γ) CHARMM δ) MM3

2. Ποιος ή ποιοι από τους παρακάτω συνδυασμούς είναι ορθός/ορθοί;

Διαμόρφωση	Αρχική ενέργεια μορίου	Ενέργεια μορίου μετά από ελαχιστοποίηση
A	10	7
B	20	20
Γ	30	10
Δ	40	45

3. Σε μια διαμορφωτική δυναμική επιφάνεια δεν περιέχονται:

- α) τοπικά ελάχιστα β) ολικά ελάχιστα
γ) μεταβατικές καταστάσεις δ) σημεία καμψής

4. Τα διαμορφωτικά ελάχιστα χωρίζονται από:

- α) μεταβατικές καταστάσεις β) καταστάσεις ενεργοποίησης
γ) κινητικές καταστάσεις δ) κανένα από τα παραπάνω

5. Ποια από τις παρακάτω μεθόδους δεν είναι αλγόριθμος ελαχιστοποίησης;

- α) Απότομης Καθόδου β) Βαθμιδωτής Σύζευξης
γ) Newton-Raphson δ) Καμία από τις παραπάνω

6. Στους υπολογισμούς πεδίων δυνάμεων τα διαμορφωμερή έχουν σημασία όταν:

- α) τα διαμορφωμερή είναι ελαχιστοποιημένα ενεργειακά
β) τα διαμορφωμερή δεν είναι ελαχιστοποιημένα ενεργειακά
γ) κανένα από τα α και β
δ) μπορεί να ισχύουν και τα α και β

4.4 Ασκήσεις

1. Σύμφωνα με νεότερη άποψη που αφορά την προσθήκη του HBr σε μόριο που περιέχει διπλό δεσμό, γίνεται προσθήκη «H⁺» από το HBr στο αλκένιο, για να δημιουργηθεί καρβοκατιόν. Το κύριο προϊόν είναι αυτό, που θα προσδιορισθεί από το σταθερότερο καρβοκατιόν.

- α) Ποια καρβοκατιόντα μπορούν να σχηματισθούν από την προσθήκη HBr στο προπένιο; Να αιτιολογήσετε την ενέργειά τους και να αποφανθείτε πιο είναι το σταθερότερο.
β) Είναι το αποτέλεσμα αναμενόμενο; Συμφωνεί δηλαδή με τις μοντέρνες απόψεις περί σταθερότητας των καρβοκατιόντων και τον κανόνα του Markovnikov;
γ) Να συγκρίνετε τα ατομικά φορτία και τους χάρτες ηλεκτροστατικού δυναμικού για τα καρβοκατιόντα. Συμφωνούν τα αποτελέσματα που λαμβάνετε με τα αναμενόμενα;

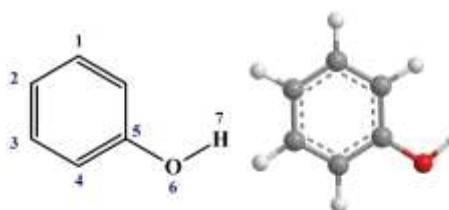
2. Να δομήσετε τα ακόλουθα ζεύγη μορίων που βρίσκονται σε ισορροπία και να υπολογίσετε τις ολικές ενέργειές τους. Μπορείτε να δικαιολογήσετε τις διαφορές ενέργειας που παρατηρούνται (Σχήμα 4.26);



Σχήμα 4.26 (α) $\Delta E=24,7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, (β) $\Delta E=2,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

3. α) Να σχεδιάσετε την τριδιάστατη δομή του μορίου (Σχήμα 4.27) και να εφαρμόσετε όλες τις μεθοδολογίες ελαχιστοποίησης που γνωρίζετε για την ελαχιστοποίηση της ενέργειάς του. Να αιτιολογήσετε τις προκύπτουσες διαμορφώσεις και τυχόν διαφορές, που θα βρείτε στην ενέργεια με χρήση των διαφόρων μεθοδολογιών.

β) Δοκιμάστε να αρχίσετε τη διεργασία ελαχιστοποίησης, μεταβάλλοντας τις καθοριστικές διεδρες γωνίες του μορίου. Εφαρμόστε ξανά τις μεθοδολογίες ελαχιστοποίησης, που γνωρίζετε για την ελαχιστοποίηση της ενέργειας του. Παράγονται τα ίδια αποτελέσματα με αυτά που βρήκατε προηγούμενα;



Σχήμα 4.27 Συντακτικός και στερεοχημικός τύπος της φαινόλης.

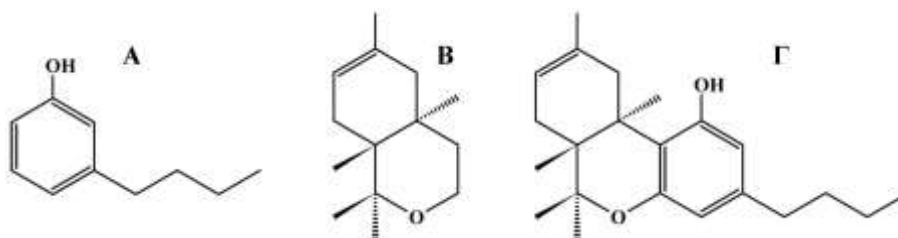
4. Δίνεται το μόριο του βενζολίου.

α) Ποιες μεθόδους ελαχιστοποίησης της ενέργειάς του μπορείτε να χρησιμοποιήσετε;

β) Αναμένετε διαφορές στην ελαχιστοποιημένη δομή του μορίου; Γιατί συμβαίνει αυτό;

5. (α) Ποιες μεθόδους ελαχιστοποίησης ενέργειας μπορείτε να χρησιμοποιήσετε για τα μόρια Α, Β και Γ (Σχήμα 4.28);

(β) Αναμένετε διαφορές στις ελαχιστοποιημένες δομές του μορίου; Γιατί συμβαίνει αυτό;



Σχήμα 4.28 Συντακτικοί τύποι των μορίων Α, Β και Γ.

4.5 Εργασίες

1. Υπάρχουν αλγόριθμοι με τους οποίους μπορείτε να υπολογίσετε τα ατομικά φορτία μιας ένωσης. Διάφορα λογισμικά παρέχουν επίσης δυνατότητες υπολογισμού φορτίου κάνοντας χρήση διαφόρων μεθοδολογιών. Διαβάστε και εφαρμόστε, με ένα παράδειγμα εκλογής σας, τον ακόλουθο υπολογιστή ατομικού φορτίου ο οποίος έχει δημοσιευτεί στο:

Ionescu C–M., Sehnal D., Falginella F.L., et al. (2015). Atomic Charge Calculator: interactive web-based calculation of atomic charges in large biomolecular complexes and drug-like molecules. *J. Cheminformatics*, 7, 50.

2. Ο Αμερικανός Robert Mulliken (1896–1986), ο οποίος βραβεύτηκε με το μεγαλύτερο κύρους βραβείο το Nobel Χημείας το 1966, ήταν ένας από αυτούς που ασχολήθηκε με τα μερικά φορτία και ανακάλυψε τρόπο υπολογισμού τους. Βρείτε από τη βιβλιογραφία και μελετήστε τη μεθοδολογία που ανέπτυξε.

3. Μια άλλη μεθοδολογία υπολογισμού μερικών ατομικών φορτίων αναφέρεται στο άρθρο: Singh U.C., Kollman P.A. (1984). An approach to computing electrostatic charges for molecules. *J. Comp. Chem.*, 5(2), 129–145.

Στη μεθοδολογία αυτή τα ατομικά φορτία προσαρμόζονται για την αναπαραγωγή του μοριακού ηλεκτροστατικού δυναμικού (MEP) σε έναν αριθμό σημεία γύρω από το μόριο. Διαβάστε το άρθρο για να λάβετε γνώση όσον αφορά την ανάπτυξη της μεθοδολογίας.

4. Τα ατομικά φορτία για μια δεδομένη ένωση μπορούν να προκύψουν με πολλούς τρόπους, όπως:

- ◆ Από πυκνότητες ηλεκτρονίων που μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας πειράματα ακτίνων X υψηλής ανάλυσης, ακτίνων γάμμα ή περίθλασης δέσμης ηλεκτρονίων
- ◆ Μετρούμενες διπολικές ροπές
- ◆ Τον θερμοδυναμικό κύκλο Extended Born, συμπεριλαμβανομένης ανάλυσης των συνεισφορών ομοιοπολικών και ιοντικών δεσμών
- ◆ Φασματοσκοπικά μετρημένες ιδιότητες, όπως μετατοπίσεις ενέργειας δέσμευσης πυρήνα–ηλεκτρονίων
- ◆ Τη σχέση των ατομικών φορτίων με τα σημεία τήξης, τη διαλυτότητα και τις ενέργειες διάσπασης για ένα σύνολο παρόμοιων ενώσεων με παρόμοιο βαθμό ομοιοπολικής σύνδεσης
- ◆ Τη σχέση των ατομικών φορτίων με τη χημική αντιδραστικότητα και τους μηχανισμούς αντίδρασης για παρόμοιες ενώσεις που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Να μελετήσετε το άρθρο:

Cramer C.J. (2002). *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Methods*, 278–289, John Wiley & Sons Ltd. και το Ένθετο 4.1.

Ένθετο 4.1



Cramer Christopher J.
(1961-)

Σύμφωνα με τον Cramer (2002), οι μέθοδοι υπολογισμού μερικού φορτίου μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις κατηγορίες:

- ◆ Τα φορτία της κατηγορίας I είναι αυτά που δεν καθορίζονται από την κβαντική μηχανική, αλλά από κάποια διασθητική ή αυθαίρετη προσέγγιση. Αυτές οι προσεγγίσεις μπορούν να βασίζονται σε πειραματικά δεδομένα, όπως δίπολα και ηλεκτραρνητικότητα.
- ◆ Τα φορτία κατηγορίας II προέρχονται από τον διαχωρισμό της λειτουργίας μοριακού κύματος χρησιμοποιώντας κάποιο αυθαίρετο, βασισμένο σε τροχιά σχήμα.
- ◆ Τα φορτία κατηγορίας III βασίζονται σε διαχωρισμό φυσικού παρατηρήσιμου που προέρχεται από τη λειτουργία κύματος, όπως η πυκνότητα ηλεκτρονίων.
- ◆ Τα φορτία κατηγορίας IV προέρχονται από μια ημι–εμπειρική χαρτογράφηση ενός πρόδρομου φορτίου τύπου II ή III για την αναπαραγωγή των πειραματικά προσδιορισμένων παρατηρήσιμων όπως οι διπολικές ροπές.

5. Τα εμπορικά λογισμικά AMBER, CHARMM και GROMACS είναι ακρωνύμια. Προσπαθήστε να βρείτε τι σημαίνουν τα ακρωνύμια αυτά και τις εφαρμογές τους στη Μοριακή Μοντελοποίηση.

6. Να μελετήσετε το ανοικτής πρόσβασης λογισμικό MERLIN (merlin.cs.uoi.gr), μια έκδοση από το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Ποια είναι η κυριότερη εφαρμογή του σύμφωνα με αυτά που μελετήσατε;

Απαντήσεις

4.2 Ερωτήσεις Σωστού—Λάθους

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Σ	Λ	Σ	Σ	Σ	Σ	Λ	Σ	Σ	Λ
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Λ	Σ
21α	21β	21γ	22α	22β	22γ	22δ	22ε	22ζ	23
Λ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Λ	Λ	Σ	Σ

4.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

1	2	3	4	5	6
α	A,B,Γ	γ	δ	α	δ

4.4 Ασκήσεις

5. Τα περισσότερα λογισμικά περιέχουν το βενζόλιο ήδη ελαχιστοποιημένο σε ενέργεια ως δομικό τμήμα (fragment).

α) Μπορεί κάποιος μη γνωρίζοντας την πληροφορία αυτή να εφαρμόσει τις γνωστές μεθόδους ελαχιστοποίησης.

β) Δεν αναμένονται διαφορές αφού είναι ήδη ελαχιστοποιημένο το μόριο αλλά και από το γεγονός ότι έχει καθορισμένη επίπεδη γεωμετρία λόγω της συζυγίας των δεσμών του (αρωματικό μόριο).

Κεφάλαιο 5

Πεπτιδομιμητισμός και ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων



Τα πεπτιδομιμητικά μόρια αποτελούν τους δούρειους ίππους, που ξεγελούν τις φυσικές ορμόνες στην πρόσδεσή τους με τον υποδοχέα. Ο ανταγωνισμός αυτός επιφέρει θεραπευτικά αποτελέσματα στον οργανισμό.

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό αναφέρονται παραδείγματα ορθολογικού σχεδιασμού πεπτιδομιμητικών μορίων. Τα παραδείγματα αυτά εστιάζουν στο σύστημα ρενίνης αγγειοτασίνης το οποίο καθορίζει τη ρύθμιση της πίεσης. Επίσης εισάγεται η έννοια του βιοϊσοστερισμού και οι εφαρμογές του στον ορθολογικό σχεδιασμό καινοτόμων φαρμακευτικών μορίων.

Προαπαιτούμενη γνώση

Αναφορές σε άλλα κεφάλαια/βιβλία ή σε λήμματα από καθιερωμένα λεξιλόγια.

5.1 Εισαγωγή στα πεπτιδομιμητικά μόρια

Οι πρωτεΐνες (Ενθετο 5.1), τα μακρομόρια που απαντώνται σε μεγαλύτερη αφθονία στους ζώντες οργανισμούς, απαρτίζονται από δομικούς λίθους οι οποίοι ονομάζονται αμινοξέα. Αν η αμινοξική αλληλουχία περιορίζεται μέχρι πενήντα αμινοξέα χαρακτηρίζεται ως **πεπτίδιο**. Πρακτικά, κάθε εξειδικευμένη λειτουργική ιδιότητα που χαρακτηρίζει τον ζώντα οργανισμό, καθορίζεται από τις πρωτεΐνες. Τέτοιες λειτουργικές ιδιότητες είναι:

- ♦ μεταφορά, αποθήκευση και δόμηση ουσιών,
- ♦ άμυνα του οργανισμού,
- ♦ γονιδιακός έλεγχος,
- ♦ σηματοδότηση για την επαγωγή του βιολογικού αποτελέσματος.

Όπως οι πρωτεΐνες, έτσι και τα πεπτίδια είναι απαραίτητα στις βιολογικές διεργασίες. Δρουν ως υποστρώματα σε πολλές ενζυμικές αντιδράσεις και μπορούν να ρυθμίζουν την ενεργοποίηση ή παρεμπόδιση πολλών βιολογικών διεργασιών. Γι' αυτό και θεωρητικά θα μπορούσαν να βρίσκουν ευρεία εφαρμογή ως πιθανά θεραπευτικά φάρμακα. Η ευρεία αυτή εφαρμογή καθίσταται όμως δυσχερής. Συγκεκριμένα, οι φαρμακοκινητικές ιδιότητές τους προσδίδουν μειονεκτήματα, όταν εισέρχονται στον οργανισμό. Η ύπαρξη του πεπτιδικού δεσμού οδηγεί σε βιολογική αστάθεια με ταχεία πρωτεόλυση, μεταβολισμό και μη ικανοποιητική απορρόφηση από το επιθήλιο τοίχωμα του εντέρου. Για να καταστεί δυνατή η άρση των μειονεκτημάτων των πεπτιδίων και επομένως η εκμετάλλευση των θεραπευτικών τους ιδιοτήτων, με απώτερο σκοπό τη χορήγησή τους ως φαρμάκων, συντίθενται πεπτιδομιμητικά μόρια. Οργανικά, δηλαδή, μόρια μικρού σχετικά μοριακού βάρους, τα οποία μιμούνται τις βιολογικές ιδιότητες των πεπτιδίων, ενώ στερούνται πεπτιδικού δεσμού.

Ένθετο 5.1



Berzelius Jacob
(1779–1848)

Ετυμολογικά η λέξη πρωτεΐνη, που προτάθηκε από τον Σουηδό χημικό Berzelius, προέρχεται από την αρχαιοελληνική λέξη πρότειος η οποία σημαίνει πρωταρχικής σημασίας.

5.2 Πορεία σύνθεσης πεπτιδομιμητικών μορίων

Το Σχήμα 5.1 παρέχει την πορεία σύνθεσης πεπτιδομιμητικών μορίων στον ορθολογικό σχεδιασμό καινοτόμων μορίων σε συγκεκριμένο στόχο.



Σχήμα 5.1 Πορεία σύνθεσης καινοτόμων πεπτιδομιμητικών μορίων.

5.3 Δομικές Τροποποιήσεις

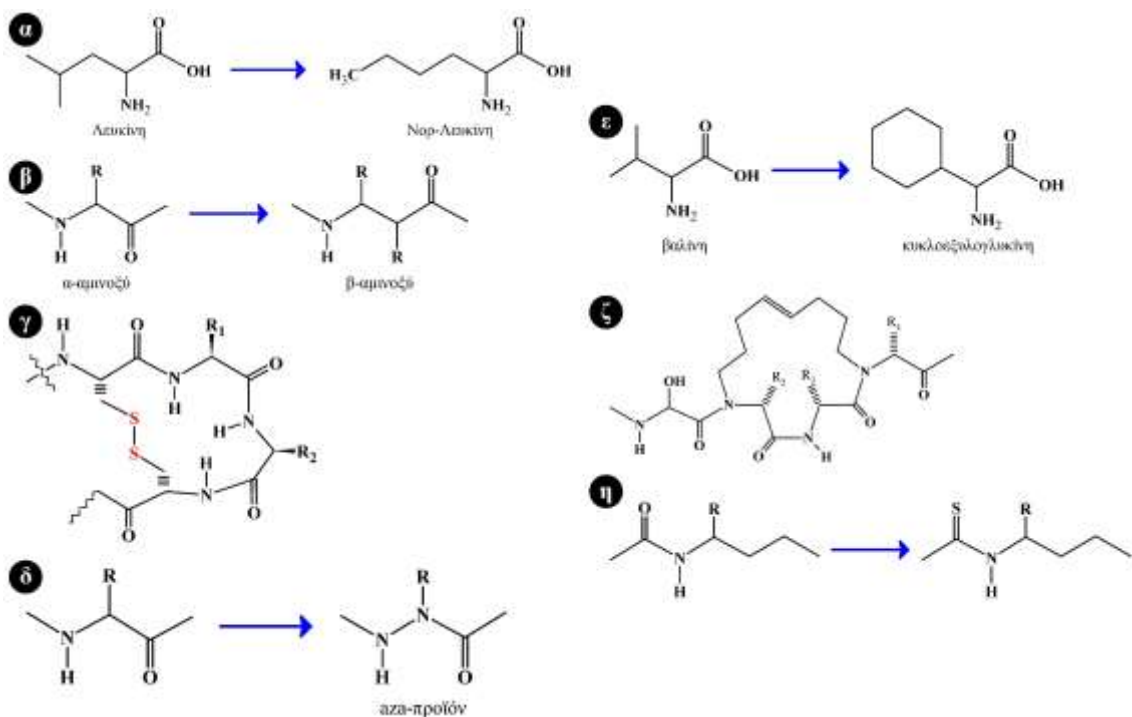
Για να χαρακτηριστεί ένα μόριο ως πεπτιδομιμητικό, το πεπτίδιο υφίσταται συγκεκριμένες δομικές τροποποιήσεις, όπως αυτές παριστάνονται στο Σχήμα 5.2.



Σχήμα 5.2 Δομικές τροποποιήσεις οι οποίες επιτελούνται σε ένα πεπτίδιο, ώστε να μετατραπεί σε πεπτιδομιμητικό.

Παρακάτω παρουσιάζονται μερικά παραδείγματα, στα οποία περιγράφονται τέτοιες μεταβολές (Σχήμα 5.3).

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η μίμηση του πεπτιδικού δεσμού αποτελεί μερική πτυχή του βιοϊσοστερισμού (Ένθετο 2.4).



Σχήμα 5.3 Αντιδράσεις (α) τροποποίησης πλευρικής αλυσίδας, (β) επέκτασης πεπτιδικής αλυσίδας, (γ) δημιουργίας S-S γεφυρών, (δ) τροποποιήσεων του C (α θέσης), (ε) κυκλοποίησης πλευρικής ομάδας, (ζ) κυκλοποίησης σκελετού, (η) Τροποποίησης δεσμού (μίμηση του πεπτιδικού δεσμού).

Οι βιοϊσοστερικές ομάδες διακρίνονται σε κλασικές και μη κλασικές. Παραδείγματα δίνονται στους πίνακες 5.1 και 5.2.

Πίνακας 5.1 Κλασικές ομάδες.

Μονοσθενείς	Δισθενείς	Τρισθενείς	Τετρασθενείς
-OH, -NH ₂ , -CH ₃ , -OR	-CH ₂ -	=CH-	=C=
-X, -SH, -PH ₂	-O-	=NH-	=Si=
-Si ₃ , -SR-	-S-	=P-	=N ⁺ =
	-Se-	=As-	=P ⁺ =
	-Te-	=Sb-	=As ⁺ =
			=Sb ⁺ =

Πίνακας 5.2 Μη κλασικές ομάδες

-CO-	-COOH	-SO ₂ NH ₂	-H	-CONH-	-COOR	-CONH ₂
-CO ₂	-SO ₃ H	-PO(OH)NH ₂	-F	-NHCO-	ROCO-	-CSNH ₂
-SO ₂ -	τετραζόλιο (CH ₂ N ₄)		-OH -CH ₂ OH		κατεχόλη	-C ₄ H ₂ S
-SO ₂ NR-	-SO ₂ NHR -SO ₂ NH ₂		-NH-CS-NH-		βενζιμιδαζόλιο	C ₅ H ₄ N
-CON-	3-υδροξυ-ισοξαζόλιο		-NH-C(=CHNO ₂)-NH ₂ -NH-C(-CHCN)-NH ₂			-C ₆ H ₅
-CH(CN)-	2-υδροξυ-χρωμόνες					-C ₄ H ₄ NH
R-S-R	=N-					
R-O-R'	-C(CN)=R					
R-N(CN)-	-CF ₃					
R-X	-CN					
	-N(CN) ₂					
	-C(CN) ₃					

5.4 Παραδείγματα σύνθεσης πεπτιδομιμητικών προϊόντων

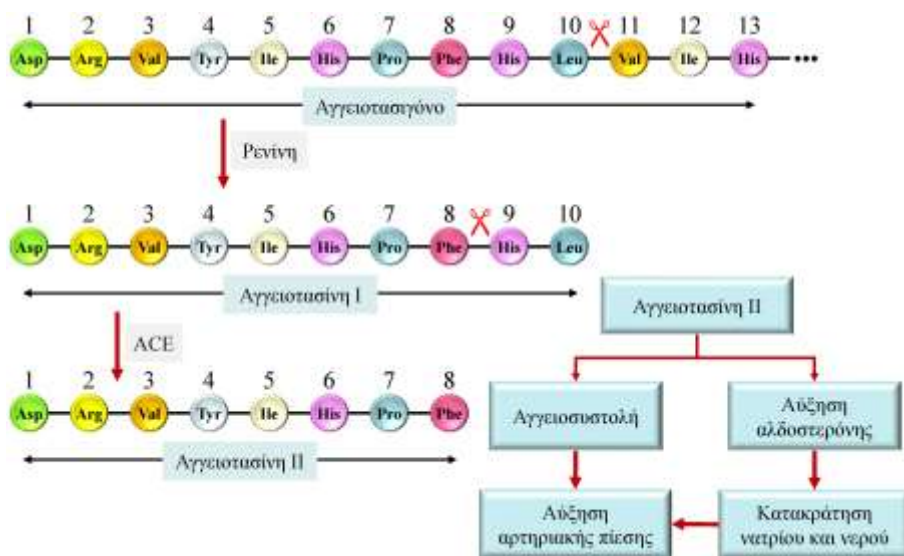
Εφαρμόζονται δύο στρατηγικές για τη σύνθεση των πεπτιδομιμητικών μορίων.

- ♦ Η πρώτη, αναφέρεται στη σταδιακή μείωση του πεπτιδικού χαρακτήρα του μορίου, ενώ
- ♦ η δεύτερη στο σχεδιασμό ενός νέου μορίου, το οποίο να μιμείται τμήμα του πεπτιδίου αναφοράς.

Πιο συγκεκριμένα, στη δεύτερη περίπτωση, τα φαρμακοφόρα τμήματα του πεπτιδομιμητικού μορίου μιμούνται στερεοχημικά τμήμα του πεπτιδίου αναφοράς. Ποια είναι η περισσότερο πρόσφορη τακτική; Προς το παρόν δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία, ώστε να εκτιμηθεί με ακρίβεια. Πιθανώς η στρατηγική που θα ακολουθηθεί να εξαρτάται από συγκεκριμένα δομικά χαρακτηριστικά του πεπτιδίου αναφοράς, όπως το μήκος της πεπτιδικής αλυσίδας, καθώς και από τη γνώση που έχουμε για τις αλληλεπιδράσεις τμημάτων του πεπτιδίου με τον υποδοχέα. Και οι δύο δρόμοι είναι δυνατόν να οδηγήσουν στο επιθυμητό αποτέλεσμα, το φαρμακευτικό προϊόν. Τα παραδείγματα, που ακολουθούν, αναφέρονται στο σύστημα Ρενίνης-Αγγειοτασίνης. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι έχουν μελετηθεί και άλλα συστήματα, στα οποία από πεπτίδια αναφοράς συντέθηκαν πεπτιδομιμητικά προϊόντα.

Το σύστημα Ρενίνης-Αγγειοτασίνης (Renin Angiotensin System RAS)

Μία από τις σπουδαιότερες θεραπευτικές εφαρμογές συντιθέτων ενζυμικών παρεμποδιστών είναι αυτών, που επιδρούν στο σύστημα Ρενίνης-Αγγειοτασίνης. Το σύστημα RAS (Σχήμα 5.4) χαρακτηρίζεται από μία σειρά ενζυμικών αντιδράσεων, όπου κατά το τελευταίο βήμα απελευθερώνεται η Αγγειοτασίνη II, ένα οκταπεπτίδιο που θεωρείται υπεύθυνο για την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Οι θεραπευτικές προσπάθειες στοχεύουν στην ελάττωση του ποσοστού της παραγόμενης Αγγειοτασίνης II (ANGII).

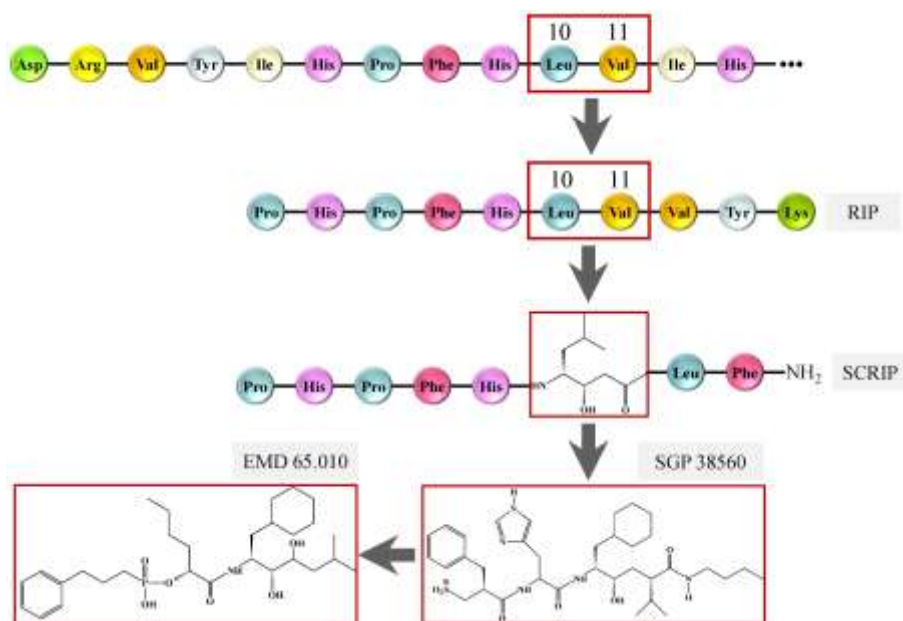


Σχήμα 5.4 Μέρος του συστήματος Ρενίνης–Αγγειοτασίνης.

Το πρώτο βήμα στο RAS σύστημα είναι η διάσπαση του αγγειοτασιγόνου από μία ασπαρτική πρωτεάση, τη ρενίνη, η οποία εντοπίζεται κύρια στους νεφρούς. Η διάσπαση γίνεται μεταξύ των αμινοξέων Leu10 και Val11, για να δημιουργηθεί το βιολογικά αδρανές δεκαπεπτίδιο αγγειοτασίνη I.

Παρεμποδιστές Ρενίνης

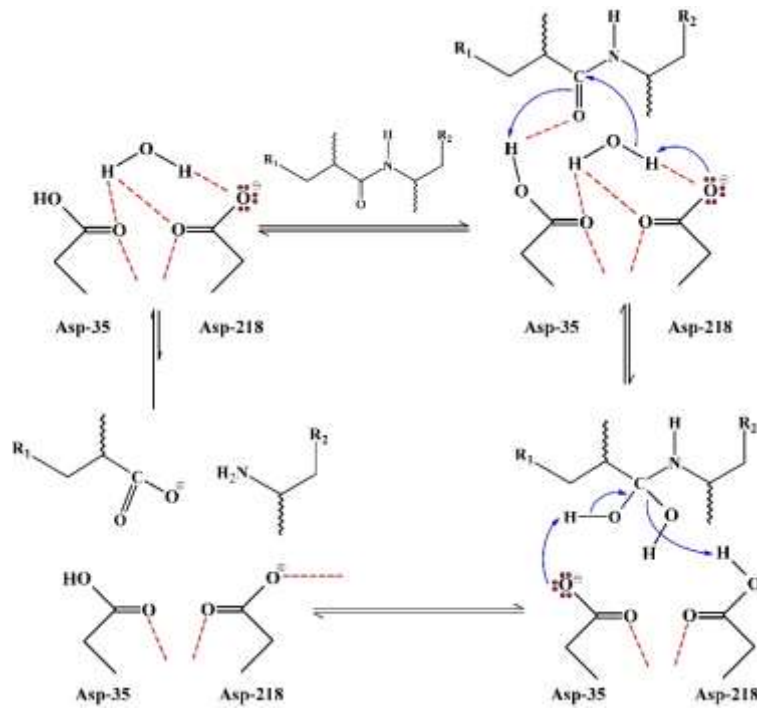
Στο Σχήμα 5.5 παρουσιάζονται παραδείγματα σταδιακής σύνθεσης παρεμποδιστών ρενίνης.



Σχήμα 5.5 Πορεία σύνθεσης πεπτιδομιμητικών ανταγωνιστών της ρενίνης.

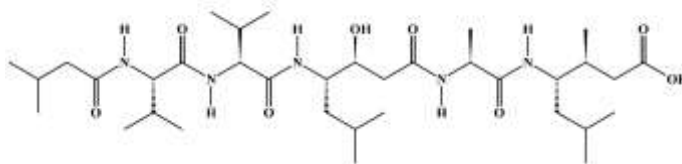
Η ένωση RIP, στην οποία τα δύο αμινοξέα Leu10–Val11 έχουν αντικατασταθεί από Phe–Phe είναι πλέον ανθεκτική σε διάσπαση από τη ρενίνη. Η επόμενη ένωση SCRIP σχεδιάστηκε να μιμείται την τετραεδρική κατάσταση μετάβασης (transition state), που παρατηρείται κατά την υδρόλυση του φυσικού υποστρώματος. Ο μηχανισμός δημιουργίας της τετραεδρικής μεταβατικής κατάστασης

φαίνεται στο Σχήμα 5.6.



Σχήμα 5.6 Ο μηχανισμός δημιουργίας της τετραεδρικής μεταβατικής κατάστασης στην ασπαρτυλική πρωτεάση.

Η παρατήρηση του Umezawa και των συνεργατών του ότι ο παρεμποδιστής της πεπτιδικής ασπαρτικής πρωτεάσης πεστατίνη (Σχήμα 5.7), η οποία απομονώθηκε από φιλτραρισμένες καλλιέργειες μικροοργανισμών, μπορεί να επηρεάσει το RAS σύστημα, λόγω του γεγονότος ότι περιέχει γ-αμινο-β-υδροξυκαρβοξυλικό οξύ, οδήγησε στη χρήση άλλων δομικών υποστρομάτων.

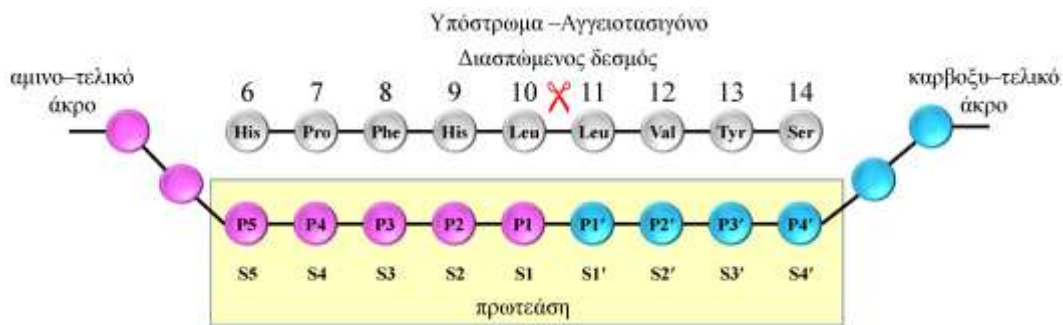


Σχήμα 5.7 Το μόριο της πεστατίνης.



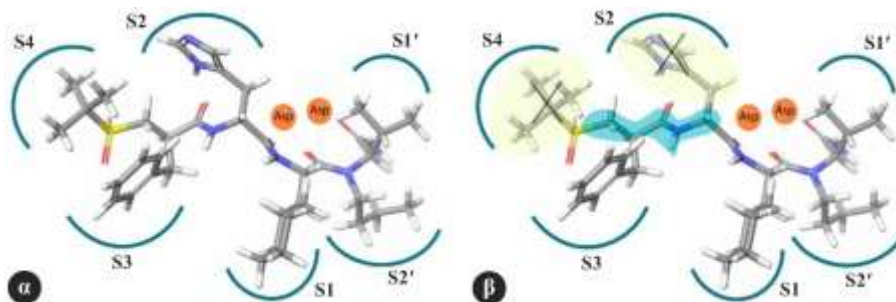
Umezawa Hamao
(1914–1986)

Η βιοδραστική διαμόρφωση του πεπτιδομιμητικού αναστολέα CGP 38560 καθώς και οι αλληλεπιδράσεις του με το ενεργό κέντρο της ρενίνης ήταν γνωστό μέσα από την κρυσταλλογραφία και τις μελέτες της Μοριακής Μοντελοποίησης. Ο αναστολέας σχηματίζει έξι ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου με το ενεργό κέντρο της ρενίνης και αλληλεπιδρά με τις θήκες S4, S3, S2, S1, S1' και S2' (Σχήμα 5.8). Από μελέτες προέκυψε ότι οι αλληλεπιδράσεις με τις θήκες S1 και S3 συνεισφέρουν περισσότερο στη δραστικότητα ενός αναστολέα ρενίνης σε σχέση με τις S2 και S4.



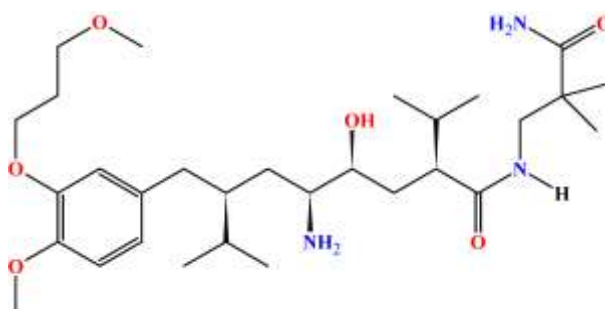
Σχήμα 5.8 Το υπόστρωμα της ασπαρτικής πρωτεάσης της ρενίνης το οποίο περιέχει θήκες (Pockets) και θέσεις (Sites) για τη δέσμευση αναστολέων.

Είχε κατανοηθεί ότι ο πεπτιδικός χαρακτήρας των αναστολέων ήταν η αιτία της χαμηλής βιοδιαθεσιμότητας και της μειωμένης αποτελεσματικότητας. Γι' αυτό τα νέα μόρια στόχευαν στην απάλειψη των πεπτιδικών δεσμών (στο EMD 65010 διατηρείται μόνο ένας). Σε αυτά τα μόρια διατηρούνταν η ικανότητά τους να σχηματίζουν δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ Ser 219. Οι πλευρικές ομάδες που αλληλεπιδρούν με τις θήκες S1 και S3 δεν συνδέονταν μέσω του πεπτιδικού δεσμού της αλυσίδας. Οι θήκες S2 και S4 αγνοήθηκαν αρχικά έχοντας υπόψη ότι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν, αν αυτό κρινόταν αναγκαίο (Σχήμα 5.9).



Σχήμα 5.9 (α) Μοριακές αλληλεπιδράσεις CGP 38560 με το ένζυμο της ρενίνης, (β) Ορθολογικός σχεδιασμός βασισμένος στον αναστολέα CGP 38560.

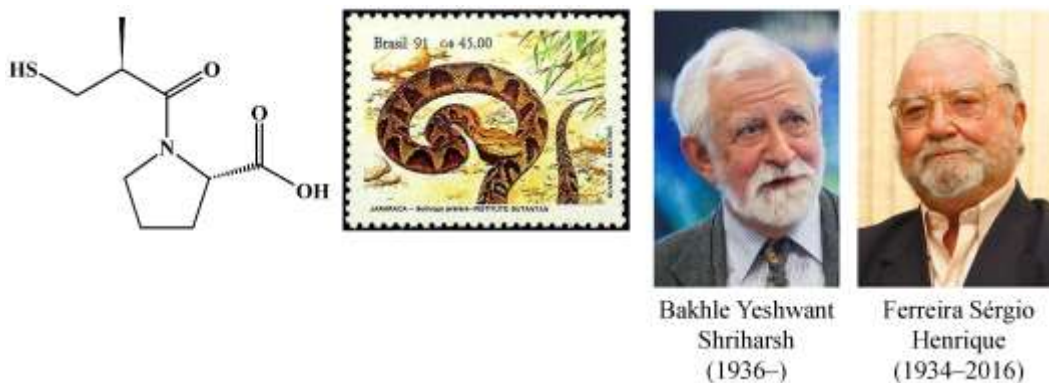
Με τέτοιους ορθολογικούς σχεδιασμούς προχώρησαν στη σύνθεση εκατοντάδων αναλόγων και προέκυψε η αλίσκιρηνη (aliskiren), η οποία προωθήθηκε στη φαρμακευτική αγορά ως αντιπερτασικό από την εταιρεία Novartis (Σχήμα 5.10). Δυστυχώς λόγω των παρενεργειών του (μάάλιστα μια από αυτές είναι και η ασυμβατότητά του προς τους αναστολείς του ACE και τους AT₁ ανταγωνιστές) αποσύρθηκε το 2015 και αυτός είναι ο λόγος που περιγράφηκε μόνο σύντομα ο ορθολογικός σχεδιασμός του.



Σχήμα 5.10 Η χημική δομή της αλίσκιρηνης η οποία κυκλοφόρησε στο εμπόριο με την ονομασία Tekturna ή Resilez.

5.5 Παρεμποδιστές αγγειομετατρεπτικού ενζύμου

Το 1968 ο Bakhle απέδειξε ότι το αγγειομετατρεπτικό ένζυμο (Angiotensin Converting Enzyme – ACE) του πνεύμονα σκύλου αναστέλλει το μίγμα πεπτιδίων στο δηλητήριο του φιδιού *Bothrops jararaca*. Το μίγμα αυτό των πεπτιδίων περιγράφηκε από τον Ferreira ως παράγοντας βραδυκινίνης (bradykinin potentiating factor - BPF) (Σχήμα 5.11).



Σχήμα 5.11 Η καπτοπρίλη, ένα ανάλογο πεπτιδίου το οποίο βρίσκεται στο δηλητήριο του φιδιού *Bothrops jararaca*, χρησιμοποιήθηκε ως αντιυπερτασικό φάρμακο. Το φίδι αυτό είναι ενδημικό στη Νότια Αμερική (Βραζιλία, Παραγουάη και βόρεια Αργεντινή). Το συγκεκριμένο όνομα, jararaca, προέρχεται από τις λέξεις Turiyagará και ca, που σημαίνει «μεγάλο φίδι».

Οι Ferreira και Greene απομόνωσαν και χαρακτήρισαν το πρώτο πεπτίδιο, το πενταπεπτίδιο, που ισχυροποιεί τη βραδυκινίνη και το οποίο ονόμασαν BPP5a. Αυτό ανέστειλε το ACE και παροδικά ελάττωνε την πίεση στα ζωϊκά μοντέλα.

Οι Cushman και Ondetti απομόνωσαν, χαρακτήρισαν και συνέθεσαν ένα εξαπεπτίδιο με διαφορετική αμινοξική αλληλουχία από το πενταπεπτίδιο. Το πιο ισχυρό από τα μεγάλα πεπτίδια τα οποία συνέθεσαν ήταν ένα εννεαπεπτίδιο, πολύ σταθερό και το οποίο ονόμασαν τεπροτίδιο (teprotide). Το όνομα του αντανακλά τα τέσσερα αμινοξέα που βοηθούν στη σταθερότητά του (Σχήμα 5.12).



Σχήμα 5.12 (α) Τεπροτίδιο. (β) Οι πρωτεργάτες της ανακάλυψης της καπτοπρίλης David Cushman και Miguel Ondetti.

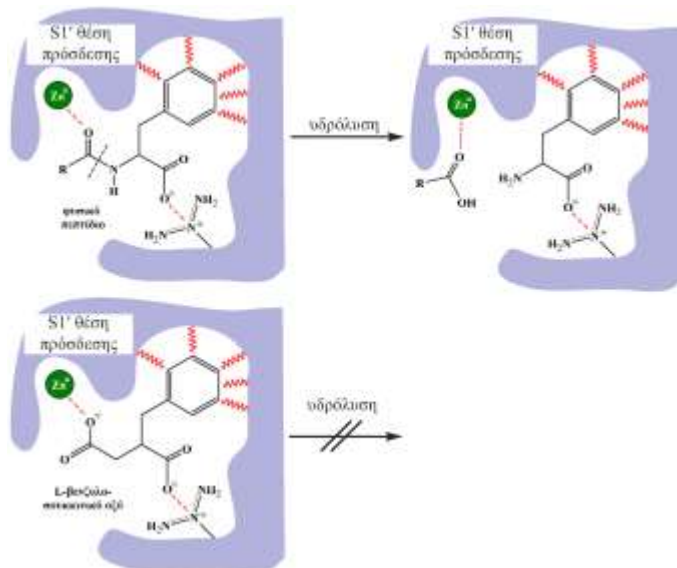
Το τεπροτιδίο και μια σειρά αρκετών αναλόγων χαρακτηρίστηκαν επαρκώς *in vitro* και *in vivo*. Αυτός ο χαρακτηρισμός επιτεύχθηκε από τον B. Rubie, ο οποίος δημιούργησε αρκετές σπουδαίες βιολογικές δοκιμές για την αξιολόγηση αναστολέων ACE. Προέκυψαν δύο σημαντικά αποτελέσματα από αυτές τις δύο ερευνητικές εργασίες:

♦ Το τεπροτιδίο αποδείχθηκε ένα ισχυρό αντυπερτασικό φάρμακο με περιορισμένη χρήση λόγω τους κόστους και της αδυναμίας δράσης του από το στόμα.

♦ Σχέσεις δομής-δράσης με ανάλογα του τεπροτιδίου και BPP5a βοήθησαν να βελτιωθεί το αναδυόμενο υποθετικό μοντέλο του ενεργού κέντρου του ACE, το οποίο θεωρήθηκε να είναι μια μεταλλοπεπτιδάση ψευδαργύρου. Η τελική ακολουθία Trp-Ala-Pro του BPP5a ή της σχετιζόμενης αλλά πολύ σταθερότερης ακολουθίας Phe-Ala-Pro του BPP5a βρέθηκε να είναι βέλτιστη στη δράση του ενεργού κέντρου του ACE. Το ερευνητικό πρόγραμμα του τεπροτιδίου θα είχε λάβει άδοξο τέλος παρόλο που τα κλινικά αποτελέσματά του ήταν υποσχόμενα. Ο λόγος που θα σταματούσε το ερευνητικό αυτό πρόγραμμα ήταν η μη ύπαρξη εμπορικού ενδιαφέροντος. Παρ' όλα αυτά οι Cushman και Ondetti πίστευαν ότι τα αποτελέσματα του τεπροτιδίου οδηγούσαν στο συμπέρασμα ότι οι αναστολείς ACE είχαν ισχυρό δυναμικό για να χρησιμοποιηθούν ως αντυπερτασικά φάρμακα αλλά δεν γνώριζαν πώς να αναπτύξουν μια δραστική ουσία με κατάλληλες φαρμακοκινητικές ιδιότητες και απορρόφηση από το στόμα. Ο Ondetti άρχισε να ασχολείται με τα αντιβιοτικά και ο Cushman με τις προσταγλανδίνες. Ευτυχώς κάποιιο διευθυντές, όπως ο Z. Horwitz και A. Welch αναγνώρισαν την εμπορική αξία των ACE αναστολέων. Έτσι συντέθηκαν ποικίλες δομές χωρίς το επιθυμητό αποτέλεσμα. Συγχρόνως τελειοποιήθηκαν και οι βιολογικές δοκιμές.

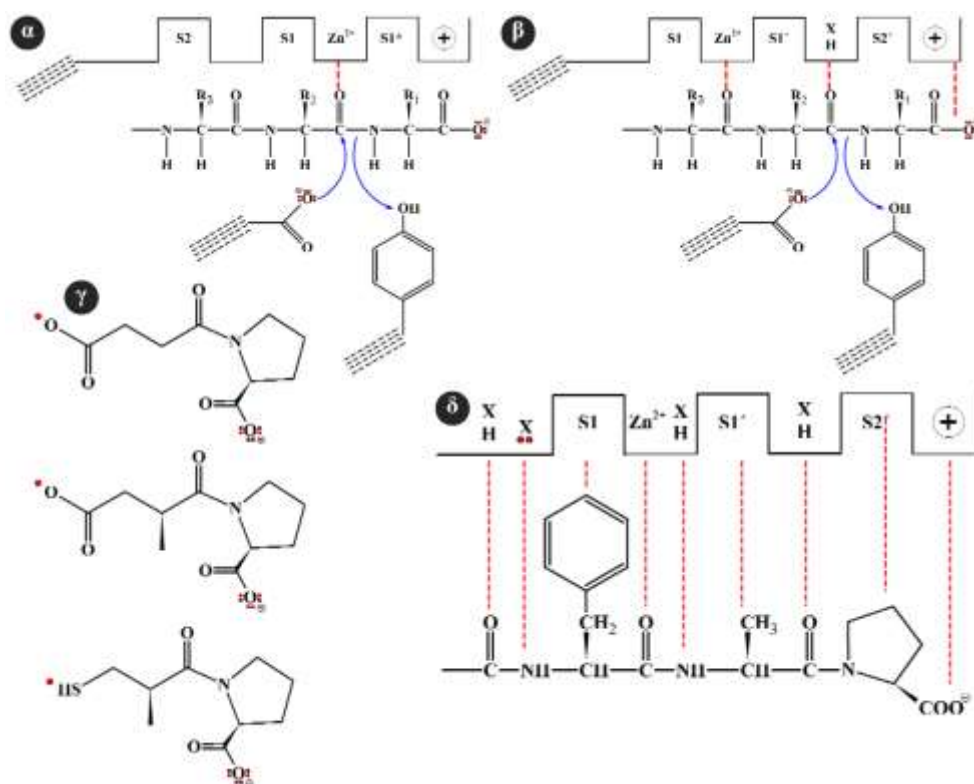
Η δημοσίευση του L-βενζυλοσουκκινικού οξέος ως του πιο ισχυρού αναστολέα της εξωπεπτιδάσης καρβοπεπτιδάσης A ανακίνησε ξανά το ενδιαφέρον. Η μεταλλοπεπτιδάση ψευδαργύρου ACE εμφανιζόταν να περιέχει παρόμοιο ενεργό κέντρο με την εξωπεπτιδάση A (Σχήμα 5.13). Το μόριο αυτό χαρακτηρίστηκε ως ανάλογο το οποίο διασπάται σε δύο τμήματα στο ενεργό κέντρο (byproduct analog – Byers και Wolfenden).

Προτάθηκε η έναρξη δοκιμών από τη D-2-μεθυλοσουκκινυλο-L-προλίνη, ένα ανάλογο του διπεπτιδίου Gly-Pro. Η ιδέα αυτή γεννήθηκε στις 13.3.1974. Σε ενάμισο χρόνο από την ιδέα θα γεννηθεί η καπτοπρίλη. Το μόριο της σουκκινυλο-L-προλίνης παρουσίαζε 30000 φορές λιγότερη δράση από την καπτοπρίλη, ήταν όμως εκλεκτική. Αυτό ώθησε στη σύνθεση του μορίου D-2-μεθυλο παραγώγου της σουκκινυλο-L-προλίνης που ήταν 15 φορές πιο δραστικό μόριο. Αυτή η πρώτη παρατήρηση αναστολέα ACE δραστικού από το στόμα επιτεύχθηκε στις 31.3.1975 (Σχήμα 5.14).



Σχήμα 5.13 Μηχανισμός δράσης του L-βενζυλοσουκκινικού οξέος. Το L-βενζυλοσουκκινικό οξύ θεωρείται «by product analog» επειδή διασπάται σε δύο τμήματα.

Οι Cushman και Ondetti σε ιστορική αναδρομή ανακάλυψης της καπτοπρίλης αναφέρουν ότι η ανακάλυψη της δε βασίστηκε σε θεωρητικές ιδέες όπως το ανάλογο μεταβατικής κατάστασης ή του αναλόγου που κατά τη δράση του στον υποδοχέα διασπάται και μπορεί να δράσει σε δύο διακριτά τμήματα. (byproduct analog – Byers και Wolfenden). Πρότειναν και δοκίμασαν πέντε πιθανές αλληλεπιδράσεις του πρωτότυπου D-2-μεθυλοσουκκινυλο-L-προλίνη. Η πιο σπουδαία αλληλεπιδράση ήταν μεταξύ του ιόντος ψευδαργύρου και του ενεργού κέντρου του ACE. Μέχρι την ανακάλυψη της καπτοπρίλης οι Chushman και Ondetti δοκίμασαν να αντικαταστήσουν το σουκκινυλικό καρβοξύλιο με άλλες λειτουργικές ομάδες οι οποίες θα μπορούσαν να αλληλεπιδρούν περισσότερο δραστικά με το ιόν ψευδαργύρου. Αρκετές ομάδες έδωσαν ενεργές ενώσεις, αλλά οι υδροξαμικές και φωσφονικές ομάδες ήταν πολύ δραστικότερες από τη σουκκινυλική καρβοξυλομάδα. Όταν η καρβοξυλομάδα αντικαταστήθηκε από τη σουλφυδρυλομάδα (-SH) η ανασταλτική ικανότητα αυξήθηκε 2000 φορές. Εξήντα ενώσεις παρασκευάστηκαν με τη λογική να εξακριβώσουν τις δραστικές αλληλεπιδράσεις και να οδηγηθούν στην ένωση με τη βέλτιστη δράση. Με αυτά τα λογικά βήματα συντέθηκε η καπτοπρίλη. Αρκετές εκατοντάδες ενώσεις συντέθηκαν και παράγωγα της καπτοπρίλης και η μόνη χρήσιμη δομική αλλαγή ήταν η προσθήκη μερικών υδροφοβικών τμημάτων του δακτυλίου της προλίνης. Παρατηρήθηκε ότι παράγωγα υποκατεστημένης γλουταρυλοπρολίνης ήταν ισοδύναμα ή ισχυρότερα δραστικά από τις αντίστοιχες

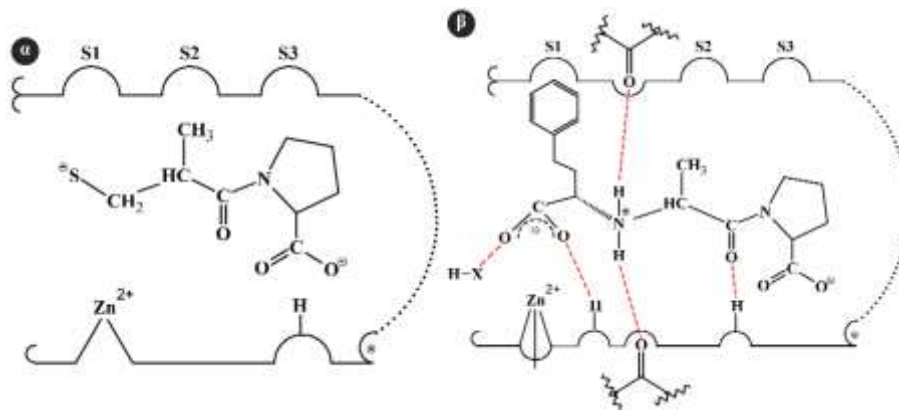


Σχήμα 5.14 (α) ενεργό κέντρο καρβοξυπεπτιδάσης. (β,δ) ενεργό κέντρο ACE. (γ) κρίσιμα βήματα κατά τη σύνθεση της καπτοπρίλης. Από το πεπτιδικό ανάλογο (α) του δηλητηρίου συντέθηκαν διαδοχικά η σουκκινυλο-Pro, η D-2-μεθυλοσουκκινυλο-Pro και τελικά η καπτοπρίλη.

σουκκινυλοπρολίνες.

Αυτό ήταν το εναρκτήριο σημείο για τους ερευνητές της Merck να αναπτύξει την επόμενη κύρια ομάδα ACE αναστολέων, μια σειρά από ανάλογα τριπεπτιδία συμπεριλαμβανομένων της εναλαπρίλης και λισινοπρίλης. Από το ιστορικό αυτό περίγραμμα της ανακάλυψης της καπτοπρίλης καθίσταται φανερό ότι η εφαρμογή ορθολογικού σχεδιασμού στο δραστικό κέντρο ενός ενζύμου με

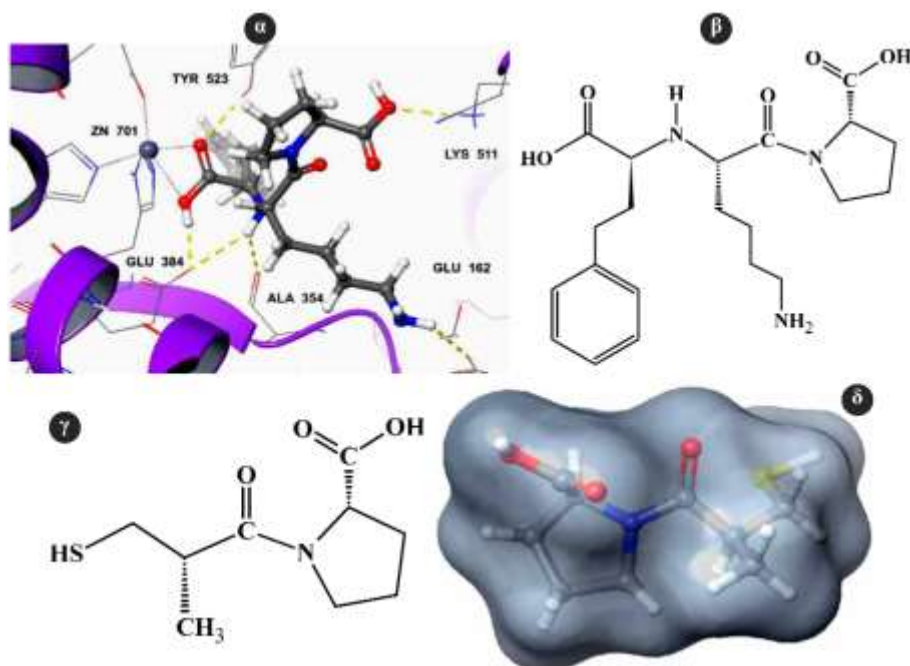
βάση ένα ομόλογο του οδήγησε στην ανάπτυξη φαρμακευτικών μορίων που βοηθούν στην ανθρώπινη υγεία όσον αφορά τις καρδιαγγειακές ασθένειες και ιδιαίτερα την υπέρταση και συγκοπή καρδιάς. Για τον σχεδιασμό της εναλαπρίλης (enalapril), επίσης επιτυχημένο φαρμακευτικό μόριο κατά της υπέρτασης, χρησιμοποιήθηκε άλλη προσέγγιση. Το μόριο αυτό χαρακτηρίζεται από την επιπρόσθετη φαινυλαιθυλική πλευρική αλυσίδα, συγκριτικά με την καπτοπρίλη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργείται μία επιπρόσθετη υδροφοβική αλληλεπίδραση με την S1 υπομονάδα του αζώτου (Εικόνα 5.15).



Σχήμα 5.15 Μηχανισμός αλληλεπίδρασης ανταγωνιστών (α) καπτοπρίλης και (β) εναλαπρίλης του αγγειομετατροπικού ενζύμου με το δραστικό κέντρο του.

Στην πραγματικότητα, μόνο ο εστέρας της εναλαπρίλης (enalapril) είναι κατάλληλος για χορήγηση per os (από το στόμα), επειδή το ελεύθερο οξύ δεν επαναπορροφάται από το επιθηλιακό τοίχωμα του εντέρου. Ο εστέρας, μετά την απορρόφησή του, υδρολύεται ενζυμικά, για να δώσει το ελεύθερο οξύ. Έτσι, αυτός μπορεί να θεωρηθεί ως προφάρμακο. Η σιλαζαπρίλη (cilazapril) και το υδροξαμικό οξύ αποτελούν άλλες βιοδραστικές ενώσεις, που έχουν συντεθεί και διατίθενται από τη φαρμακευτική βιομηχανία.

Η απομόνωση τμήματος του ACE διαμεμβρανικού υποδοχέα με προσδέτη τη λισινοπρίλη, θα δώσει νέα ώθηση στην παρασκευή νέων ACE ανταγωνιστών. Η πρόσδεση της λισινοπρίλης σε ACE διαμεμβρανικό υποδοχέα, παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.16.



Σχήμα 5.16 (α,β) Αλληλεπίδραση λισινοπρίλης με τμήμα του ACE διαμεμβρανικού υποδοχέα. Προσέξτε τις δομικές ομοιότητες της καπτοπρίλης (γ,δ) με το παράγωγό του λισινοπρίλη.

5.5.1 AT₁ Ανταγωνιστές



Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων της AngII (ή AII) δεν παρουσιάζουν τις παρενέργειες των αναστολέων του ACE. Εμποδίζοντας δε την πρόσδεση της AngII στους AT₁ υποδοχείς, εξασκούν ισχυρότερη αντιυπερτασική δράση.

Ας εξιστορήσουμε πως συντέθηκε η λοσαρτάνη (losartan), ο πρώτος αναστολέας του AT₁ υποδοχέα.

Ο Taber το 1982 (Ένθετο 5.2) εστίασε στην υλοποίηση προγραμμάτων της φαρμακευτικής εταιρείας DuPont τα οποία αναφέρονταν σε καρδιαγγειακές ασθένειες, κεντρικό νευρικό σύστημα, αντιφλεγμονώδη δράση και ένα μικρό πρόγραμμα σχετικά με τον καρκίνο. Ο Alexander L. Johnson επικεφαλής της ομάδας της Φαρμακευτικής Χημείας κατενόησε τη σημασία της προσέγγισης αυτής. Ένας από τους στόχους του ήταν ο υποδοχέας της AngII. Αντί να ερευνούν ένζυμα όπως το ACE για το οποίο υπήρχε ήδη το φάρμακο της καπτοπρίλης η οποία ανέστειλε τη δράση του, προτιμότερο θα ήταν να στοχεύσουν σε κάτι καινοτόμο. Εξάλλου η DuPont ήταν μια μικρή φαρμακευτική εταιρεία και δεν υπήρχε νόημα οι επιστήμονές της να ακολουθούν τις ήδη επιτεύξεις άλλων φαρμακευτικών εταιρειών.

Ο Dunčia άρχισε τη σύνθεση πεπτιδίων παρόλο που κανένας δεν είχε προηγουμένως επιτυχία στην προσέγγιση αυτή. Όπως όμως ο Johnson τονίζει, δεν υπήρχε κάποια επιστημονική επίτευξη κάτι επιστημονικό στον τομέα αυτόν το οποίο να καθοδηγήσει την προσπάθεια.

Ένθετο 5.2

	<p>Ξεκίνησε την καριέρα του το 1962 στη φαρμακευτική βιομηχανία (Schering Corporation). Το 1982 η εταιρεία DuPont τον έθεσε επικεφαλής της φαρμακευτικής της έρευνας.</p>		<p>Μετά τη λήψη του PhD το 1981 στην οργανική χημεία από το Πανεπιστήμιο του Princeton, προσλήφθηκε από τον φαρμακευτικό τομέα της DuPont.</p>
<p>Taber Robert I. (1936–)</p>		<p>Dunčia John Vytautas (1954–)</p>	

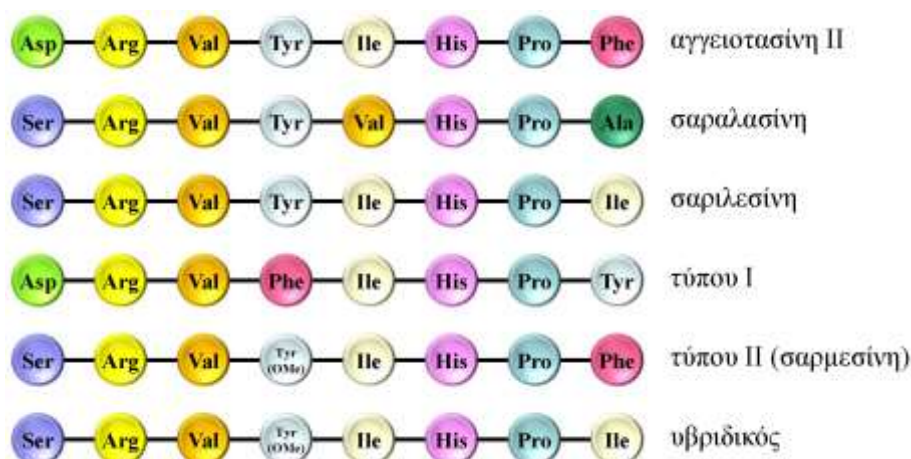
Ο Dunčia βάσιζε την επιλογή του στο γεγονός ότι η σύνθεση πεπτιδίων διέθετε κάποια πλεονεκτήματα. Υπήρχε επίσης ήδη κάποια βιβλιογραφία στους πεπτιδικούς ανταγωνιστές. Επιπρόσθετα, η δομή της καπτοπρίλης προήλθε από τα πεπτίδια. Τα πεπτίδια πρόσφεραν προσέγγιση ορθολογικού σχεδιασμού φαρμάκων. Ο Dunčia δικαιολόγησε ότι αν εύρισκε κάποιο πεπτιδικό ανάλογο το οποίο θα ανταγωνιζόταν τη δράση της AngII θα μπορούσε να απαλείψει τα ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά του μορίου. Σίγουρα η εργασία με τα πεπτίδια δεν είναι εύκολη εργασία, επειδή είναι ευκίνητα μόρια και ο σχεδιασμός φαρμάκων με βάση αυτά είναι δύσκολος. Τα μη πεπτιδικά ανάλογα είναι ευκολότερα προς επεξεργασία επειδή είναι μικρά και άκαμπτα. Είναι ευκολότερη η παραγωγή τους και παρέχουν δραστικότερα φάρμακα. Όμως δεν υπήρχαν την εποχή εκείνη μη πεπτιδικά μόρια οδηγοί.

Ο Dunčia άρχισε να συνθέτει μικρά πεπτίδια διαφορετικών τμημάτων της AngII για να εξετάσει αν προσδένονταν στον υποδοχέα και ανταγωνίζονταν τη δράση της AngII. Μετά από ένα χρόνο εργασίας και μελετώντας τα αντιφατικά αποτελέσματα της βιβλιογραφίας κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ανάλογα μικρών δομικών τμημάτων της AngII δεν είναι δραστικά. Χρειάζονταν ίσως 6–8 αμινοξέα για να αποκτήσουν δράση. Η προσπάθεια του Dunčia κατέστη ανεπιτυχής.

Γενικά, οι πεπτιδικής φύσης ανταγωνιστές, όπως τα πεπτίδια Saralasin ([Sar¹, Val⁵, Ala⁸]AII) και

Sarilesin ([Sar1, Ile8]AII), στα οποία η Phe8 έχει αντικατασταθεί από ένα αλiphατικό αμινοξύ, παρουσιάζουν περιορισμένο θεραπευτικό ενδιαφέρον, επειδή –εκτός της συναγωνιστικής τους δράσης– επιδεικνύουν ταυτόχρονα αγωνιστική δράση. Ταυτόχρονα αναπτύχθηκαν και οι ανταγωνιστές με αντικατάσταση της Tyr4, όπως η [Phe4, Tyr8]AII (αναφέρονται ως Τύπου I), με χαμηλή ανταγωνιστική δράση και η Sarmesin ([Sar1, Tyr4(OMe)]AII) (αναφέρεται ως Τύπου II).

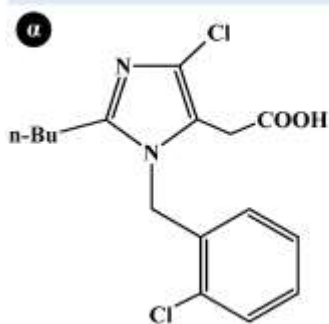
Στη συνέχεια αναπτύχθηκαν «υβριδικοί» ανταγωνιστές, όπως η [Sar1, Tyr4(OMe), Ile8]AII, οι οποίοι φέρουν χαρακτηριστικά και των δύο τύπων (Σχήμα 5.17). Γενικά οι συνθέσεις των πεπτιδίων αυτών βοήθησαν την ερευνητική δραστηριότητα για να κατανοηθούν τα δομικά τμήματα της AngII που είναι υπεύθυνα για τη δράση της.



Σχήμα 5.17 Πεπτιδικής φύσης ανταγωνιστές.

Οι ερευνητές εφάρμοσαν μια δεύτερη προσέγγιση. Σάρωσαν περισσότερες από 10.000 ενώσεις από τη χημική βιβλιοθήκη της DuPont και δεν βρήκαν κάτι χρήσιμο. Τέσσερα μόρια από αυτά εξασκούσαν πολύ ασθενή δράση. Το 1982 τόσο ο Johnson όσο και ο Dunčια συμπεράναν ότι βρίσκονταν σε ένα απαγορευτικό αντικειμενικό στόχο. Δύο δημοσιεύσεις δύο υποσχόμενων διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας από την ερευνητική ομάδα του Yoshiyasu Furukawa της χημικής βιομηχανίας Takeda το 1982 άλλαξαν το σκηνικό. Ο David J. Carini της DuPont συνέθεσε το S-8307 και άλλες υποσχόμενες ενώσεις που αναφέρονταν στο δίπλωμα ευρεσιτεχνίας. Στο μεταξύ συνέχιζε την πεπτιδική σύνθεση. Η βιολογική αποτίμηση έδωσε απογοητευτικά αποτελέσματα. Η S-8307 και οι άλλες ενώσεις που συντέθηκαν προσδένονταν μόνο ασθενώς στον υποδοχέα της AngII. Οι υπεύθυνοι για τα βιολογικά δεδομένα Andrew T. Chiu και Wong προτίμησαν αντί να σταματήσουν την προσπάθεια να συνεχίσουν με *in vivo* πειράματα. Ο Wong κάνει ένεση λανθασμένα 100 mg/Kg του μορίου S-8307 στο πείραμα με τους αρουραίους, προφανώς μη εξοικειωμένος με τα βιομηχανικά πειράματα. Σκεφτείτε πως αν ο αρουραίος ήταν άνθρωπος που ζύγιζε 70 kg, θα ελάμβανε αντίστοιχα δόση 7g, ενώ η συνήθης δόση συντήρησης της λοσαρτάνης είναι 50 mg (Ενθετο 5.3).

Ένθετο 5.3



Wong Pancras C.

(α) Ο συντακτικός τύπος του μορίου S-8307.

(β) Ο φαρμακολόγος Wong έλαβε το PhD από το Πανεπιστήμιο της Minnesota και προσλήφθηκε στην εταιρεία DuPont το 1983 ως υπεύθυνος για τα βιολογικά πειράματα.

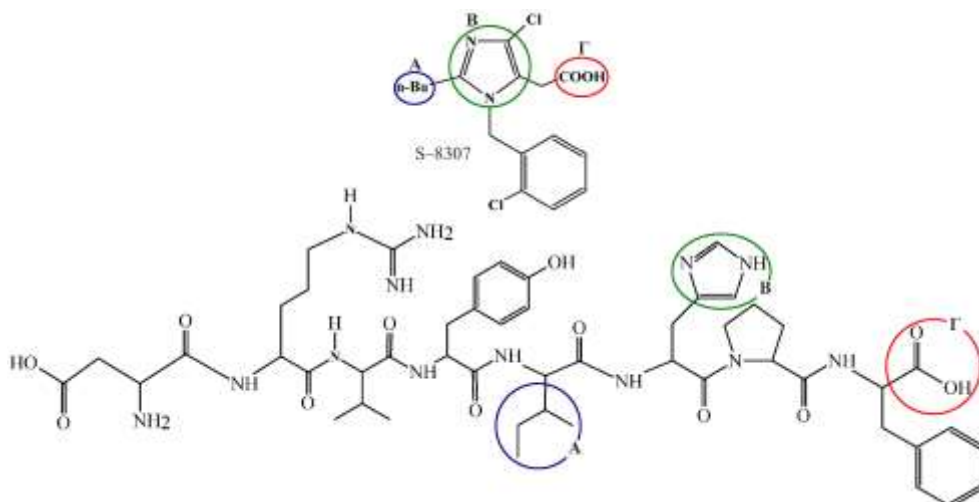
Αν και το λάθος κατανοήθηκε, είχε γίνει αντιληπτό ότι το S-8307 ήταν εκλεκτικό, κάτι που δεν αναφέρεται στο δίπλωμα ευρεσιτεχνίας της Takeda. Επομένως, παράγωγα του μορίου άξιζαν να μελετηθούν περαιτέρω παρόλο που είχε γνωστοποιηθεί ότι τέτοια προσπάθεια ήταν ανεπιτυχής από τους επιστήμονες της Takeda. Όμως αφού δεν υπήρχε άλλο μόριο οδηγός από την ένωση S-8307 το μόριο έγινε οδηγός για περαιτέρω έρευνα.

Ο Carini επικουρεί σε αυτό το ερευνητικό έργο και ο Dunčια σταματά την πεπτιδική σύνθεση και αρχίζει να εφαρμόζει Μοριακή Μοντελοποίηση. Είναι πεπεισμένος ότι άγνωστο τμήμα της AngII είναι υπεύθυνο για τη δράση του μορίου και το S-8307 είναι μικρό μόριο. Δεν μιμείται δηλαδή όλο το χρήσιμο δομικό τμήμα της AngII. Ο Dunčια χρησιμοποίησε ένα μοντέλο της AngII στο νερό από φασματοσκοπική εργασία. Δεν υπήρχαν ακόμη κρυσταλλογραφικά δεδομένα για την AngII. Υπέρθεσε το μοντέλο αυτό με το μόριο του S-8307. Στη βιβλιογραφία υπήρχαν και άλλα δεδομένα διαμορφωτικής ανάλυσης της AngII τα οποία μάλιστα δεν συμφωνούσαν με αυτό που επελέγη. Η άποψη ότι οι μη πεπτιδικοί ανταγωνιστές δεν θα παρουσίαζαν τα μειονεκτήματα των αντιστοιχών πεπτιδικών, οδήγησε στην ανάπτυξη **μιμητών πεπτιδίων** με φαρμακοφόρες ομάδες, που μιμούνται αυτές του βιολογικά δραστικού πεπτιδίου.

Το μόριο της AngII ήταν ευκίνητο και δεν υπήρχε καμία βεβαιότητα ότι αυτό αντανακλούσε τη βιοδραστική διαμόρφωση του υποδοχέα. Την εποχή εκείνη η Μοριακή Μοντελοποίηση ήταν υπό ανάπτυξη. Οι υπολογιστές δεν ήταν ισχυροί και ένα ολόκληρο δωμάτιο ήταν αφιερωμένο για τον υπολογιστή. Ουσιαστικά η υπέρθεση γινόταν χειροκίνητα. Ο Dunčια από την υπέρθεση κατέληξε ότι χρειαζόταν και δεύτερη όξινη καρβοξυλομάδα. Στα μόρια αυτά υπάρχουν τέσσερα δομικά τμήματα, που θα μπορούσαν να τροποποιηθούν:

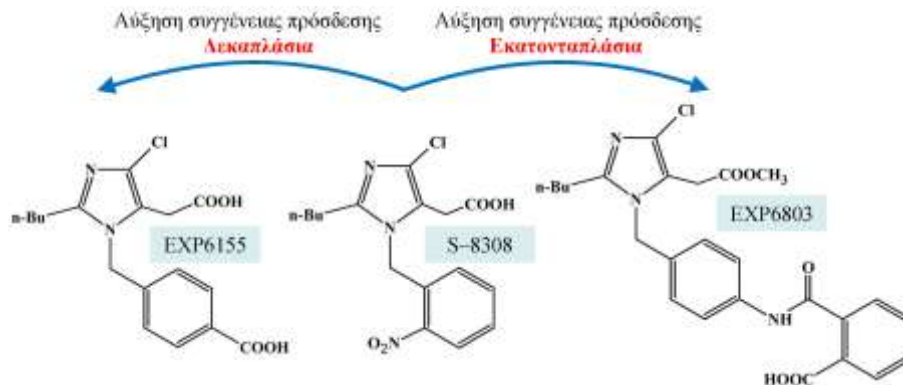
- ♦ η αλειφατική αλυσίδα,
- ♦ ο ιμιδαζολικός πυρήνας,
- ♦ το καρβοξύλιο και
- ♦ ο υποκατεστημένος δακτύλιος.

Για να καθοριστεί η περιοχή, που θα γινόταν αρχικός στόχος για σχηματισμό αναλόγων ενώσεων, υπερτέθηκε η ένωση S-8307 με την AngII. Από την υπέρθεση αυτή βρέθηκε ότι το β-καρβοξύλιο της Asp1 και το αρωματικό υδροξύλιο της Tyr4 βρίσκονται πλησίον της βενζυλομάδας της ένωσης αυτής. Ο αρχικός στόχος της DuPont ήταν οι τροποποιήσεις των υποκαταστατών του βενζολίου, ώστε το μόριο να μιμείται καλύτερα αυτές τις όξινες ομάδες (Σχήμα 5.18).



Σχήμα 5.18 Υπέρθωση της ένωσης S-8307 με την AngII.

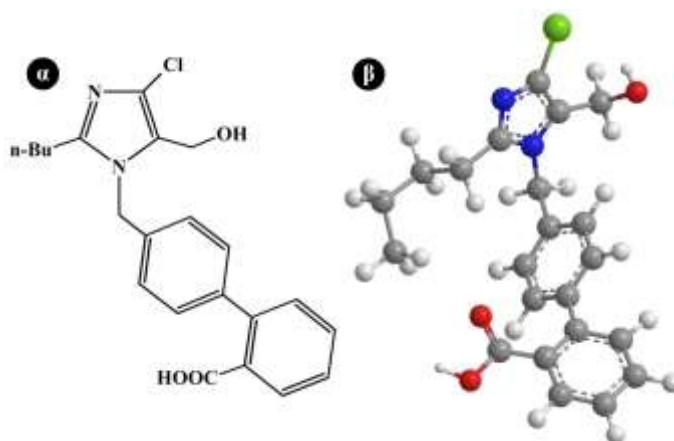
Η προσθήκη ενός καρβοξυλίου στο μόριο του S-8308 στην παρα-θέση (EXP6155) αύξησε τη συγγένεια πρόσδεσης κατά δέκα φορές ($IC_{50}=1,2\mu M$). Η έρευνα συνεχίστηκε με σκοπό τη βελτιστοποίηση των φαρμακοφόρων χαρακτηριστικών. Έτσι, συντέθηκε μια σειρά οξέων, όπως ο μεθυλεστέρας EXP6803 ($IC_{50}=0,2\mu M$), που παρουσιάζει καλύτερη συγγένεια πρόσδεσης από την ένωση EXP6155. Στη σειρά των οξέων αυτών, τα μόρια με έναν μόνο βενζολικό δακτύλιο παρουσίασαν μειωμένη συγγένεια πρόσδεσης, προφανώς λόγω μεγαλύτερης διαμορφωτικής κινητικότητας (Σχήμα 5.19).



Σχήμα 5.19 Βελτιστοποίηση φαρμακοφόρων χαρακτηριστικών.

Αντικατάσταση του καρβοξυλίου της ένωσης EXP6803 με μια τριφθορο-μεθυλο-σουλφοναμιδική ομάδα (CF_3SO_2NH-), είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της συγγένειας πρόσδεσης. Ωστόσο, η αντικατάσταση του καρβοξυλίου από πιο όξινες σουλφονικές ομάδες, αύξανε τη συγγένεια πρόσδεσης. Τα αποτελέσματα αυτά αποτέλεσαν τις πρώτες ενδείξεις για την επίδραση της όξινης ομάδας στη βιολογική δραστικότητα. Το δικαρβοξυλικό οξύ EXP6155 παρουσίαζε αύξηση της συγγένειας πρόσδεσης 10 φορές μεγαλύτερη, έναντι της ένωσης S-8308 και το μόριο EXP6803 παρουσίαζε 100 φορές μεγαλύτερη αύξηση, ως προς την ένωση S-8308. Ο επιπλέον βενζολικός δακτύλιος και ο αμιδικός δεσμός αύξανε τη συγγένεια πρόσδεσης, καθιστώντας τα μόρια εκλεκτικούς συναγωνιστικούς ανταγωνιστές του υποδοχέα AT_1 της αρτηριακής πίεσης. Οι δομικές αυτές αλλαγές βελτίωσαν την *in vivo* βιολογική δράση των μορίων κατά την ενδοφλέβια χορήγηση. Το μειονέκτημα όμως των παραγώγων αυτών, έγκειται στην έλλειψη της δραστικότητας, όταν χορηγούνται από το στόμα, όπως φάνηκε κατά τη χορήγησή τους σε υπερτασικούς επίμυες. Για τη

βελτίωση της επιδεκτικότητας των παραγώγων αυτών στην ενζυματική ή την απλή υδρολυτική τους διάσπαση και την επίτευξη της βέλτιστης απόστασης και του σχετικού προσανατολισμού των δύο φαινολικών δακτυλίων, πραγματοποιήθηκε μια σειρά τροποποιήσεων, που αφορούσαν το μήκος και τον δεσμό μεταξύ των δύο δακτυλίων. Ικανοποιητική *in vitro* συγγένεια πρόσδεσης επιτεύχθηκε, όταν υπήρχαν στη θέση αυτή το πολύ δύο άτομα. Τα διφαινυλο παράγωγα με ένα δεσμό μεταξύ των δακτυλίων, παρουσίασαν παρόμοια συγγένεια πρόσδεσης ($IC_{50}=0,16-0,40\mu M$) με την ένωση EXP6803. Στην περίπτωση *trans* διπλού δεσμού στη θέση αυτή, που θα μπορούσε να μιμηθεί τον αμιδικό δεσμό του παραπάνω μορίου, η συγγένεια πρόσδεσης μειώθηκε κατά 50 φορές. Οι χημικοί έδωσαν προθεσμία έξι μήνες για την εξεύρεση δραστικών μορίων από το στόμα. Η προθεσμία εξέπνευσε και ακόμη το επιθυμητό αποτέλεσμα δεν ήρθε. Η επόμενη σκέψη ήταν ότι το μόριο θα έπρεπε να εισέρχεται στις λιπιδικές διπλοστιβάδες, θα έπρεπε να είναι λιπαρό. Σκέφτηκαν ότι αν αφαιρούσαν τον αμιδικό δεσμό θα οδηγούνταν σε μη υδρολύσιμη ένωση, και πιθανά δραστική από το στόμα. Το μοναδικό διφαινυλο-2-καρβοξυλικό οξύ, που έδειξε ικανοποιητική δράση κατά τη χορήγησή του από το στόμα, ήταν η ένωση EXP7711 ($IC_{50}=0,23\mu M$) (Σχήμα 5.20). Το αντίστοιχο ισομερές αυτού, με το καρβοξύλιο σε μετα- κι όχι σε ορθο- θέση, παρόλο που παρουσίασε συγκρίσιμη συγγένεια πρόσδεσης ($IC_{50}=0,49\mu M$), ήταν ανενεργό κατά τη χορήγηση από το στόμα.



Σχήμα 5.20 (α) Συντακτικός και (β) στερεοχημικός τύπος του μορίου EXP7711.

Εξαιτίας της ελπιδοφόρας του δράσης κατά τη χορήγηση από το στόμα, το EXP7711 χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα για περαιτέρω τροποποιήσεις. Στη θέση 2 του ιμιδαζολίου, η πιο πρόσφορη υποκατάσταση βρέθηκε να είναι μια μικρή, ευθεία, αλειφατική ομάδα. Ισχυρότερη βιολογική δράση παρουσίασε το παράγωγο με μια *trans* βουτενυλ-ομάδα στη θέση αυτή ($IC_{50}=0,08\mu M$), ενώ *n*-βουτυλο- και *n*-προπυλο- ομάδες έδειξαν παρόμοια συγγένεια πρόσδεσης, με $IC_{50}=0,23\mu M$ και $IC_{50}=0,16\mu M$ αντίστοιχα. Μεγαλύτερες αλκυλικές αλυσίδες, ετεροάτομα και αρωματικοί υποκαταστάτες μείωναν τη δραστηριότητα, δείχνοντας ότι στη θέση αυτή είναι απαραίτητη μια μικρή, γραμμική, υδροφοβική ομάδα. Στη θέση 4 του ιμιδαζολίου, την πιο πρόσφορη υποκατάσταση αποτέλεσαν τα αλογόνα Br ($IC_{50}=0,09\mu M$) και I ($IC_{50}=0,061\mu M$). Όλα τα παράγωγα της σειράς αυτής, με λιπόφιλη ομάδα στη θέση 4, μείωναν την πίεση του αίματος σε υπερτασικούς επίμυες, κατά την ενδοφλέβια χορήγησή τους. Η ύπαρξη στη θέση 5 του ιμιδαζολίου μιας αμίνης (CH_2NH_2 / $IC_{50}=3,2\mu M$) ή ενός καρβοξυλίου ($IC_{50}=0,092\mu M$) στηρίζουν την υπόθεση, ότι ο υποκαταστάτης αυτός αλληλεπιδρά με θετικό φορτίο ή με δότη δεσμού υδρογόνου στον

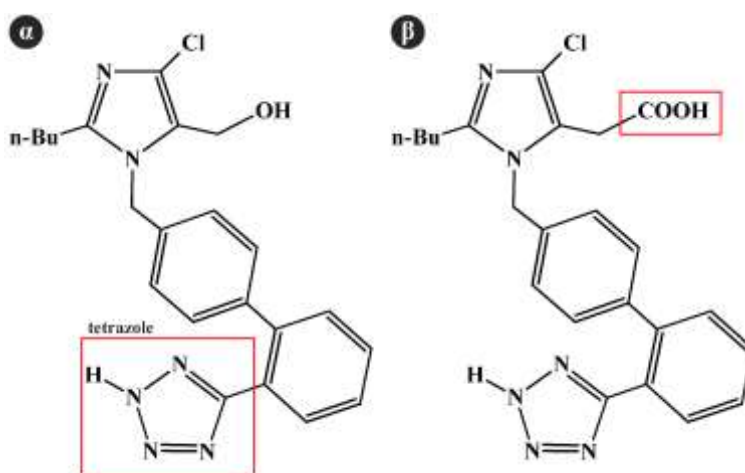
υποδοχέα. Πολύ μεγάλοι υποκαταστάτες στη θέση αυτή μειώνουν τη συγγένεια πρόσδεσης. Την υψηλότερη δραστηριότητα των παραγώγων αυτών, παρουσίασαν οι ενώσεις με μια υδροξυμεθυλομάδα ή αλδεϋδομάδα στη θέση αυτή, οι οποίες *in vivo* οξειδώνονται σε καρβοξυλομάδα, αυξάνοντας τη δραστηριότητα και τη διάρκεια δράσης του μορίου. Τέλος, αντικατάσταση του καρβοξυλίου της διφαινυλομάδας από μια όξινη ομάδα, όπως CONH₂, COCH₃, CH₂SH, SO₃H, επιδρούσαν στη συγγένεια πρόσδεσης. Μεγαλώνοντας την αλυσίδα, που περιέχει το καρβοξύλιο κατά έναν άνθρακα, επηρεάστηκε αρνητικά η συγγένεια πρόσδεσης, ενώ παράγωγα με ουδέτερες ή ασθενείς όξινες ομάδες δεν παρουσίαζαν καμία συγγένεια πρόσδεσης.

Σε μια άλλη τάξη αυτών των παραγώγων, το καρβοξύλιο αντικαταστάθηκε από κάποιον ετεροκυκλικό δακτύλιο. Το τριαζόλιο μειώνει κατά πολύ τη συγγένεια πρόσδεσης (IC₅₀=9,6μM), ενώ προσθήκη στο δακτύλιο αυτό μιας όξινης ομάδας, όπως CN, CO₂CH₃ ή CF₃, αυξάνει τη συγγένεια πρόσδεσης, δίνοντας αντίστοιχα προϊόντα με IC₅₀=0,28μM, IC₅₀=0,26μM και IC₅₀=0,37μM. Το πιο δραστικό παράγωγο αυτής της τάξης, αποτελεί αυτό που περιέχει το τετραζόλιο (IC₅₀=0,019μM) (Ένθετο 5.4). Σε φυσιολογικό pH, το τετραζόλιο αποπρωτονιώνεται και το ανιόν που προκύπτει αλληλεπιδρά με περισσότερες θέσεις πρόσδεσης του υποδοχέα από το αντίστοιχο καρβοξύλιο. Επιπλέον, τα δύο άζωτα του αποπρωτονιωμένου τετραζολίου απέχουν μεγαλύτερη απόσταση από τη διφαινυλομάδα και για τον λόγο αυτό αλληλεπιδρούν ισχυρότερα με τον υποδοχέα. Το άλας καλίου της ένωσης αυτής ονομάστηκε αρχικά DuP753 και μετά από τη συμφωνία των εταιρειών DuPont και Merck κατέληξαν στο όνομα λοσαρτάνη, ενώ η εμπορική του ονομασία είναι Cozaar (Σχήμα 5.21α).

Ένθετο 5.4



Πώς οδηγήθηκε ο Duncία στο τετραζόλιο; Με τη σκέψη του και χωρίς να γνωρίζει την ύπαρξή του, ψάχνει σε ένα βιβλίο Οργανικής Χημείας που αγόρασε στις εκπτώσεις και στοιχίζει μόνο δύο δολάρια στον 18ο δρόμο της Πέμπτης Λεωφόρου του Μανχάτταν (Barnes & Noble). Σε αυτό βρήκε την παρασκευή του τετραζολίου και αφού ζήτησε την πρόδρομη ένωση από τον Carini, κατόρθωσε και το παρασκεύασε.



Σχήμα 5.21 (α) Λοσαρτάνη, (β) EXP3174.

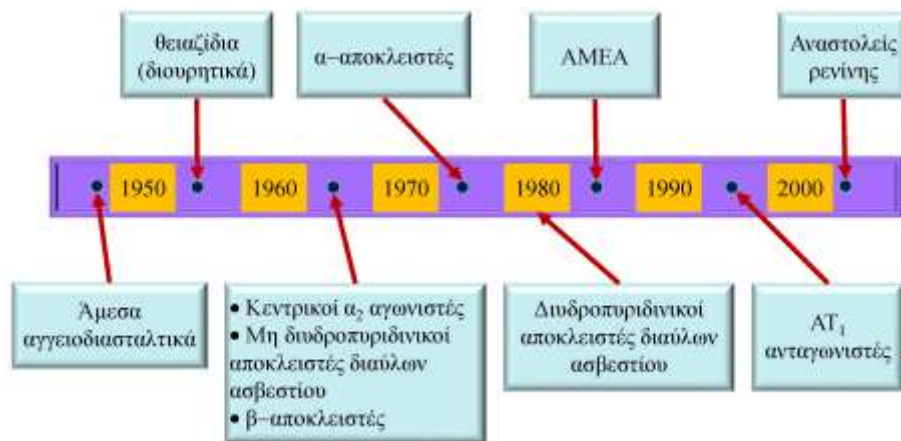
Οι μελέτες, λοιπόν, δομής-δράσης οδήγησαν στις ακόλουθες απαιτήσεις για τη βέλτιστη δραστηριότητα του ανταγωνιστή:

- ◆ Παρουσία συστήματος διφαινυλίου.
- ◆ Προσθήκη μιας όξινης ομάδας σε ορθο-θέση στον τελικό αρωματικό δακτύλιο (π.χ. τετραζόλιο στη λοσαρτάνη).
- ◆ Προσθήκη μιας λιποφιλικής αλυσίδας στην 2-θέση του ιμιδαζολίου με βέλτιστη τη βουτυλική ομάδα και
- ◆ Προσθήκη μιας ομάδας, ικανής να σχηματίσει δεσμό-H στη 5-θέση του ιμιδαζολίου.

Η λοσαρτάνη αποτελεί ένα συναγωνιστικό ανταγωνιστή του AT_1 υποδοχέα της αρτηριακής πίεσης. Αποτελεί τον πρώτο AT_1 ανταγωνιστή, που είναι αποτελεσματικός σε υπερτασικούς ασθενείς. Ενδοφλέβια χορήγησή του οδηγεί στο σχηματισμό ενός ή περισσότερων μεταβολιτών. Ο κύριος μεταβολίτης σε πλάσμα επίμυος είναι ένα ιμιδαζολο-5-καρβοξυλικό οξύ, που ονομάστηκε EXP3174 (Σχήμα 5.21β). Σε μη αναισθητοποιημένους, υπερτασικούς επίμυες, όταν το EXP3174 χορηγηθεί ενδοφλέβια ή από το στόμα, προκαλεί σημαντική και παρατεταμένη μείωση της αρτηριακής πίεσης. Η ένωση αυτή φαίνεται να είναι υπεύθυνη για ένα μεγάλο μέρος της αντιυπερτασικής δράσης της λοσαρτάνης. Η διάρκεια δράσης της λοσαρτάνης είναι μεγάλη και επιτρέπει τη χορήγησή του από το στόμα, μόνο μια φορά ημερησίως, αφού ο μεταβολίτης του παρουσιάζει μεγαλύτερη διάρκεια ημιζωής, ακόμα κι από την ίδια τη λοσαρτάνη. Σε αντίθεση με τη λοσαρτάνη, ο δραστικός μεταβολίτης συμπεριφέρεται ως ένας μη συναγωνιστικός ανταγωνιστής του υποδοχέα όπως παρατηρήθηκε σε βιολογικά πειράματα, τα οποία διεξήχθησαν σε απομονωμένη αορτή κουνελιών.

Η DuPont δεν ήθελε να αναπτύξει τη λοσαρτάνη με το σκεπτικό ότι θα κόστιζε 200 εκατομμύρια δολάρια και 10 χρόνια ερευνητική εργασία για να φτάσει να γίνει φάρμακο. Ο Pieter Timmermans όμως, ο οποίος ανέλαβε επικεφαλής της καρδιαγγειακής έρευνας είχε διαφορετική άποψη. Η λοσαρτάνη δεν δρούσε όπως η καπτοπρίλη και χρειαζόταν κλινικά δεδομένα προς σύγκριση. Το γεγονός ότι δρούσε στον υποδοχέα της ANGII την έκανε μοναδική. Αποτελούσε το πρότυπο μιας νέας κατηγορίας φαρμάκων. Η Merck αλλάζει το σκηνικό. Ενδιαφέρεται για τη λοσαρτάνη και γίνεται μια συμφωνία μεταξύ των δύο εταιριών τον Ιανουάριο του 1991. Δημιουργείται μια νέα εταιρεία που συνενώνει τις δύο. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (US FDA: Food and Drug Administration) εγκρίνει τη λοσαρτάνη ως φάρμακο τον Απρίλιο του 1995 και πωλείται με τα εμπορικά ονόματα Cozaar και Hyzaar. Το 2005 φτάνει σε ετήσιες πωλήσεις μεγαλύτερες από τρία δισεκατομμύρια δολάρια. Μετά τη λοσαρτάνη ακολούθησε η παραγωγή άλλων επτά σαρτανών. Το 1997 η American Chemical Society τίμησε τον Dunčič, Carini, Wong και δύο επιστήμονες της Merck με το βραβείο του Team Innovation.

Η συνεργασία των δύο εταιριών διαλύεται το 1998 και η DuPont το 2001 σταματά τις φαρμακευτικές εμπορικές δραστηριότητές της. Η Merck συνεχίζει επιτυχώς να το πωλεί ως Cozaar και Hyzaar. Η ομάδα αυτή των AT_1 ανταγωνιστών, τα οποία αποτελούν πεπτιδομιμητικά μόρια αποτελεί ένα κλασικό παράδειγμα εφαρμογής βιοϊσοστερικών ομάδων στον σχεδιασμό και σύνθεση φαρμακευτικών μορίων. Εκτός από το πρόσφατα εγκριθέν από τον FDA φάρμακο αζίλσαρτάνη (azilsartan) τα υπόλοιπα εγκρίθηκαν στην περίοδο 1995–1998. Συγκεκριμένα η βαλσαρτάνη (valsartan) εγκρίθηκε το 1996, η ιρμπεσαρτάνη (irbesartan) και επροσαρτάνη (eprosartan) το 1997 και η καντεσαρτάνη (candesartan) και η τελμισαρτάνη (telmisartan) το 1998. Τελειώνοντας το κεφάλαιο να τονίσουμε ότι η ιστορική εξέλιξη των αντιυπερτασικών φαρμάκων αρχίζει πριν εβδομήντα χρόνια. Τα τελευταία περίπου σαράντα χρόνια υπήρξαν έντονες ερευνητικές προσπάθειες οι οποίες στόχευαν στον αποκλεισμό της δημιουργίας της AngII ή την επίδρασή της στον AT_1 υποδοχέα (Σχήμα 5.22).



Σχήμα 5.22 Χρονολογική ανάπτυξη φαρμάκων κατά της υπέρτασης.

Βιβλιογραφία / Αναφορές

1. Clark D.E. (2006). What has computer-aided molecular design ever done for drug discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* 1(2), 103–110.
2. Giannis A., Rübsam F. (1997). *Peptidomimetics in Drug Design*. In Testa, B., Meyer, U.A. *Advances in Drug Research*, 1–78, Academic Press.
3. Lima L., Barreiro E.J. (2005). Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. *Current Medicinal Chemistry*, 12(1), 23–49.
4. Cohen, C., Fischel, O., Cohen, E. (2007). Molecular Conceptor™ for Training in Medicinal Chemistry, Drug Design, and Cheminformatics. *Chem. Biol. Drug Des.*, 69(1), 75–82.
5. Ripka, A.S., Rich, D.H. (1998). Peptidomimetic design. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2(4), 441–452.
6. Patrick G. L. (2002). *An Introduction to Medicinal Chemistry*. Oxford University Press.
7. Gareth T. (2000). *Medicinal Chemistry: An Introduction*. Wiley, ISBN 10: 0471489352
8. Sakarellos C., Lintner K., Piriou F., Femandjian S. (1983). Conformation of the central sequence of Angiotensin II and analogs. *Biopolymers*, 22, 663–687.
9. Femandjian S., Fromageot P., Tistchenko A–M., Leicknam J–P., Lutz M. (1972). Angiotensin II Conformations. Infrared and Raman Studies. *Eur. J. Biochem.* 28(2), 174–182.
10. Surewicz W.K. , Mantsch H.H. (1988). Conformational Properties of Angiotensin II in Aqueous Solution and in a Lipid Environment: A Fourier Transform Infrared Spectroscopic Investigation. *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 4412–4414.
11. Cushman J.A., Mishra P.K., Bothner-By A.A., Khosla M.S. (1992). Conformations in Solution of Angiotensin II, and its 1-7 and 1-6 Fragments. *Biopolymers*, 32, 1163–1171.
12. Printz M.P., Némethy G., Bleich H. (1972). Proposed Models for Angiotensin II in Aqueous Solution and Conclusions About Receptor Topography. *Nat. New Biol.*, 237, 135–140.
13. Printz M.P., Williams H.P., Craig L.C. (1972). Evidence for the Presence of Hydrogen-Bonded Secondary Structure in Angiotensin II in Aqueous Solution. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 69(2), 378–382.
14. Marshall G.R., Bosshard H.E., Vine W.H., Glickson J.D. (1973). NMR Evidence Against γ Turn and β Turn Models of Angiotensin II in Aqueous Solution. *Nat. New Biol.*, 245, 125–127.
15. Erdös E.G. (2006). The ACE and I: how ACE inhibitors came to be. *Faseb Journal*, 20, 1034–1038.
16. Ondetti M.A., Williams N.J., Sabo E.F., Plušćec J., Weaver E.R., Kocy O. (1971). Angiotensin-Converting enzyme inhibitors from the Venom of *Bothrops jararaca*. Isolation, Elucidation of Structure and Synthesis. *Biochemistry*, 10(22), 4033–4039.
17. Gavras H.P., Faxon D.P., Berkoben J., Brunner H.R., Ryan T.J. (1978). Angiotensin converting

enzyme inhibition in patients with congestive heart failure. *Circulation* 58(5), 770–776.

18. Cushman D.W., Cheung H.S., Sabo E.F., Ondetti M.A. (1977). Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. *Biochemistry* 16(25), 5484–5491.

19. Πολίτη Α., Ντουντανιώτης Δ., Μαυρομούστακος Θ. (2012). Σχεδιασμός του Δραστικού Αναστολέα Ρενίνης Αλισκίρενη (Aliskiren) με τη χρήση Μοριακής Μοντελοποίησης: Αντιπροσωπευτικό Παράδειγμα Χρήσης Ορθολογικού Σχεδιασμού. *Επιθεώρηση Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακοκινητικής*, 30(3), 173–188.

20. Λιαπάκης Γ., Βενυχάκη Μ., Μαργιωρής Α.Ν., Μαυρομούστακος Θ. (2012). Υπέρταση. Σύγχρονη μάστιγα της ανθρώπινης υγείας. *Ιατρικά Νέα*, 45(9), 46–51.

21. Μαυρομούστακος Θ., Ζερβού Μ., Ζουμπουλάκης Π., Durdagi S., Κουκουλίτσα Α., Πολίτη Α., Ποταμίτης Κ., Ματζουράνη Ε., Μπενέτης Ν., Παπακωνσταντίνου Κ. (2008). Κατανόηση σχέσης διαμόρφωσης και βιοδραστικότητας. Η κινητήριος δύναμη στον ορθολογικό σχεδιασμό και σύνθεση καινοτόμων φαρμακευτικών προϊόντων. *Χημικά Χρονικά*, 1, 14–17.

Κριτήρια Αξιολόγησης

5.1 Ερωτήσεις

1. Τι καλείται πεπτιδομιμητισμός και που χρησιμοποιείται;
2. Να αναφέρετε δύο μη πεπτιδικά φάρμακα και να περιγράψετε τον ορθολογικό σχεδιασμό τους (δομικές αλλαγές ως προς το πεπτίδιο οδηγό, καθώς και μεταβολές στη βιοδραστικότητα που επέφεραν οι μεταβολές).
3. Να γράψετε μερικές ισοστερικές ομάδες που χρησιμοποιούνται στον πεπτιδομιμητισμό. Με ποιες ομάδες αυτές είναι ισοστερικές;
4. Ποια μόρια καλούνται μιμητές μεταβατικής κατάστασης; Πού χρησιμοποιούνται;
5. Γιατί οι ΑΤ₁ ανταγωνιστές είναι πεπτιδομιμητικά μόρια;
6. Να περιγράψετε τα κυριότερα στάδια ορθολογικού σχεδιασμού της λοσαρτάνης, καπτοπρίλης και αλισκίρενης.
7. Γιατί οι ανταγωνιστές μετατρεπτικού ενζύμου είναι πεπτιδομιμητικά μόρια;
8. Να γράψετε τον ορθολογικό σχεδιασμό της καπτοπρίλης.
9. Ποια νομίζετε ότι είναι τα πλεονεκτήματα και ποια τα μειονεκτήματα των πεπτιδομιμητικών έναντι των πεπτιδίων;
10. Ποια είναι η πορεία σύνθεσης καινοτόμων πεπτιδομιμητικών μορίων;
11. Να αναφέρετε μερικές δομικές τροποποιήσεις, για να χαρακτηριστεί ένα μόριο πεπτιδομιμητικό.
12. Τι είναι βιοϊσοστερισμός και πως σχετίζεται με τον πεπτιδομιμητισμό;

5.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Τα πεπτιδομιμητικά μόρια είναι οργανικά μόρια.
2. Τα πεπτίδια έχουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στα ένζυμα του οργανισμού συγκριτικά με τα πεπτιδομιμητικά μόρια.
3. Οι ΑΤ₁ ανταγωνιστές είναι πεπτιδομιμητικά μόρια.
4. Οι σύγχρονοι ανταγωνιστές του αγγειομετατρεπτικού ενζύμου είναι πεπτίδια.
5. Οι εμπορικά διαθέσιμοι ΑΤ₁ ανταγωνιστές είναι βιοϊσοστερικές μοριακές ενώσεις.

5.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση

1. Τα πεπτιδομιμητικά μόρια έχουν αντικαταστήσει τα πεπτίδια στην φαρμακευτική αγωγή.

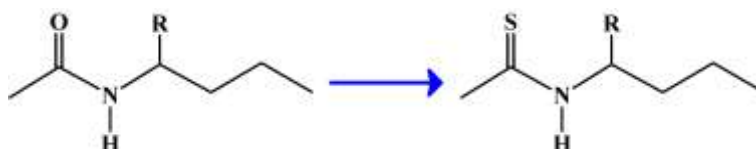
α) ορθό β) μερικώς ορθό γ) λανθασμένο δ) κανένα από τα παραπάνω

2. Τα πεπτιδομιμητικά μόρια έχουν απαραίτητα πεπτιδικούς δεσμούς και τροποποιημένους πεπτιδικούς δεσμούς

α) ορθό β) μερικώς ορθό γ) λανθασμένο δ) κανένα από τα παραπάνω

3. Η παρακάτω τροποποίηση του πεπτιδικού δεσμού παράγει μόριο, το οποίο θα υδρολύεται ευκολότερα από τα υδρολυτικά ένζυμα

α) ορθό β) μερικώς ορθό γ) λανθασμένο δ) κανένα από τα παραπάνω



4. Ο βιοϊσοστερισμός βρίσκει εφαρμογές στον σχεδιασμό και σύνθεση φαρμακευτικών ενώσεων με βελτιωμένη δράση

α) ορθό β) μερικώς ορθό γ) λανθασμένο δ) κανένα από τα παραπάνω

5. Ο βιοϊσοστερισμός περιλαμβάνει την εισαγωγή μίας ή περισσότερων κλασικών ή μη κλασικών ομάδων για τη βελτίωση της βιολογικής δράσης των φαρμακοφόρων τμημάτων μίας πρωτότυπης ενώσεως.

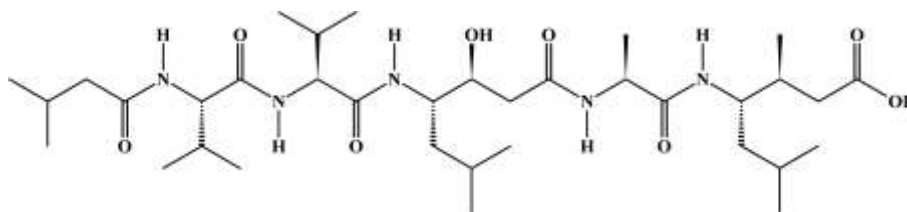
α) ορθό β) μερικώς ορθό γ) λανθασμένο δ) κανένα από τα παραπάνω

6. Η ιδέα του βιοϊσοστερισμού ανακαλύφθηκε

α) πριν από το 1900 μ.Χ. β) πριν από το 1910 μ.Χ.
γ) μετά το 1960 μ.Χ. δ) μεταξύ 1900–1980 μ.Χ.

5.4 Ασκήσεις

1. Είναι το παρακάτω μόριο πεπτιδομιμητικό; Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας.



2. Να μελετήσετε το άρθρο ανασκόπησης:

Giannis A., Rübsam F. (1997). Peptidomimetics in Drug Design. In Testa, B., Meyer, U.A. Advances in Drug Research, 1–78, Academic Press.

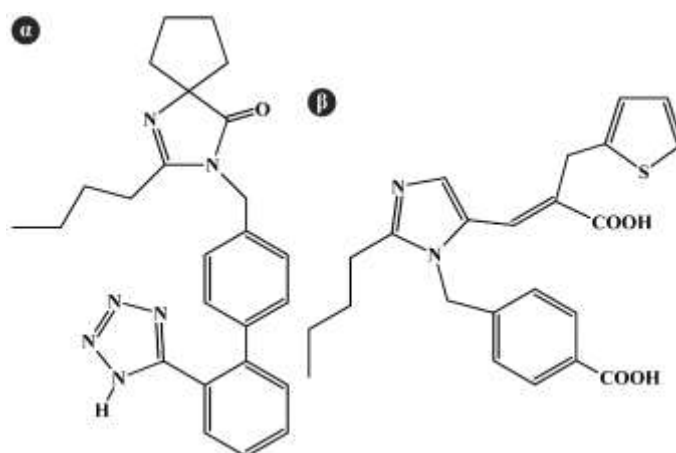
και να αναγράψετε μερικά βιοδραστικά πεπτιδομιμητικά μόρια.

3. Σε τι βασίστηκαν οι ορθολογικοί σχεδιασμοί των τριών μορίων που αναπτύχθηκαν (αλισκιρένη, καπτοπρίλη, λοσαρτάνη); Ποιες είναι οι ομοιότητες και διαφορές στον ορθολογικό σχεδιασμό τους;

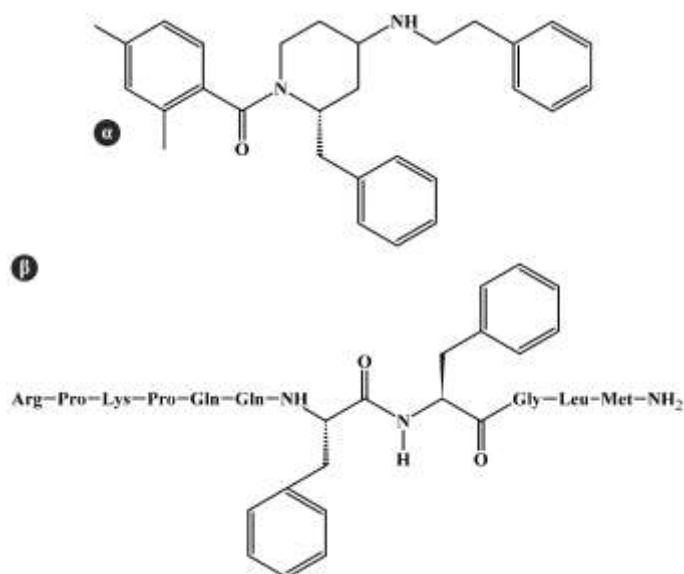
4. Γιατί νομίζετε ότι ο ορθολογικός σχεδιασμός της λοσαρτάνης πέτυχε αφού βασίστηκε στη διαμόρφωση της AngII που δεν ήταν γνωστή και στον AT₁ υποδοχέα που δεν είχε κρυσταλλωθεί;

5. Γιατί νομίζετε ότι ο ορθολογικός σχεδιασμός της καπτοπρίλης πέτυχε αφού βασίστηκε σε ένζυμο που δεν είχε κρυσταλλωθεί;

6. Αποτελούν αντιπερτασικά τα μόρια (α) Irbesartan και (β) Eprosartan; Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας.



7. Η ένωση CGP-47899 (β) παρασκευάστηκε, για να μιμείται την ένωση-P (α). Μπορείτε να παρατηρήσετε τις δομικές ιδιότητες στα δύο μόρια;



Απαντήσεις

5.2 Ερωτήσεις Σωστού—Λάθους

1	2	3	4	5
Σ	Σ	Σ	Σ	Σ

5.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

1	2	3	4	5	6
β	γ	γ	α	α	δ

Κεφάλαιο 6

Εισαγωγή στην Κβαντική Υπολογιστική Χημεία και εφαρμογές



Το παράδοξο της Γάτας του Schrödinger (Σρέντινγκερ): Η διάσημη γάτα της κβαντομηχανικής αποτελεί ένα νοητικό πείραμα που περιγράφει το φαινόμενο της κβαντικής υπέρθεσης. Σύμφωνα με την κυρίαρχη ερμηνεία της κβαντομηχανικής, ένα κβαντικό σύστημα βρίσκεται ταυτόχρονα σε όλες τις πιθανές καταστάσεις μέχρι να αλληλοεπιδράσει με τον εξωτερικό κόσμο. Έτσι, και η γάτα του Schrödinger, η ζωή της οποίας εξαρτάται από ένα κβαντικό σωματίδιο, το οποίο μπορεί— ή και όχι— να απελευθερώσει δηλητήριο, είναι ταυτόχρονα ζωντανή και νεκρή. Όταν ανοίξουμε το κουτί στο οποίο βρίσκεται, το κβαντικό σύστημα θα αλληλοεπιδράσει με τον έξω κόσμο και η υπέρθεση θα σταματήσει. Τότε μόνο η γάτα

Σύνοψη

Στο κεφάλαιο αυτό αναπτύσσονται οι βασικές αρχές Κβαντικής Χημείας και εφαρμογές τους στη Μοριακή Μοντελοποίηση. Τέτοιες εφαρμογές αποτελούν οι υπολογισμοί HOMO και LUMO και φυσικοχημικών ιδιοτήτων όπως είναι η επιφάνεια ηλεκτρονιακής πυκνότητας και ηλεκτροστατικού δυναμικού. Επίσης μπορεί να προβλεφθούν φασματοσκοπικές ιδιότητες όπως οι χημικές μετατοπίσεις φασμάτων μορίων που έχουν ληφθεί με τη χρήση φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού. Η πιο σημαντική εφαρμογή η οποία περιγράφεται εκτενέστερα είναι οι μηχανισμοί αντιδράσεων θεμελειώδους κατάστασης.

Προαπαιτούμενη γνώση

Θεμελειώδεις Αρχές Κβαντικής Χημείας

6.1 Βασικές Αρχές Κβαντικής Χημείας

Η μελέτη των χημικών προβλημάτων απαιτεί πολλές φορές τη διαχείριση της διάσπασης ή της δημιουργίας χημικών δεσμών. Στην πραγματικότητα, η Χημεία είναι η επιστήμη που μελετά τις αλλαγές της ύλης, και για να συμβούν αλλαγές στην ύλη, είναι απαραίτητο να συμπεριληφθούν τα ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια είναι τα πιο ενδιαφέροντα χημικά σωματίδια αφού είναι υπεύθυνα για οποιονδήποτε δεσμό ο οποίος διασπάται και για οποιονδήποτε νέο δεσμό δημιουργείται! Ωστόσο, η μελέτη των ηλεκτρονίων απαιτεί κβαντομηχανικά εργαλεία, λόγω της διπλής σωματιδιακής/κυματικής τους φύσης. Το σημείο μηδέν για την όποια συζήτηση σχετικά με την κβαντομηχανική, είναι φυσικά η εξίσωση Schrödinger (Σρέντινγκερ) (εξίσωση (6.1)):

$$\left\{ \frac{-\hbar^2}{2m} \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \right) + V \right\} \Psi(\mathbf{r}, t) = i\hbar \frac{\partial \Psi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} \quad (6.1)$$

Όπου
m : η μάζα ενός σωματιδίου
$r(x,y,z)$: χώρος κίνησης του σωματιδίου
V : δυναμικό εξωτερικού πεδίου
$\Psi(r,t)$: κυματοσυνάρτηση η οποία περιγράφει το σωματίδιο, εξαρτώμενη από τον χρόνο
\hbar : ανηγμένη σταθερά του Planck ($\hbar = \frac{h}{2\pi}$)
$i = \sqrt{-1}$ (μυγαδικός αριθμός)

Για ένα δέσμιο χημικό σύστημα, το οποίο βρίσκεται σε ισορροπία και όπου το δυναμικό V είναι ανεξάρτητο από τον χρόνο, η εξίσωση Schrödinger μπορεί να γραφτεί και στη χρονικώς ανεξάρτητη μορφή της (εξίσωση (6.2)):

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \Leftrightarrow [\hat{T} + \hat{V}]\Psi = E\Psi \quad (6.2)$$

Όπου
\hat{H} : η Χαμιλτωνιανή του συστήματος, ο τελεστής δηλαδή της ενέργειας
\hat{T} : ο τελεστής της κινητικής ενέργειας
\hat{V} : ο τελεστής της δυναμικής ενέργειας

Η εξίσωση Schrödinger είναι ένα πρόβλημα ιδιοτιμής, δηλαδή για να λυθεί πρέπει να προσδιοριστεί τόσο η κυματοσυνάρτηση, όσο και η ενέργεια του συστήματος. Όταν η Χαμιλτωνιανή επιδρά στην κυματοσυνάρτηση, η κυματοσυνάρτηση επιστρέφεται αφού πολλαπλασιαστεί με ένα

βαθμωτό μέγεθος, το οποίο σε αυτή την περίπτωση, είναι η ενέργεια του συστήματος. Η ιδιοτιμή, δηλαδή, του τελεστή της ενέργειας είναι η ενέργεια του συστήματος. Παρ' όλα αυτά, η εξίσωση Schrödinger μπορεί να λυθεί επακριβώς μόνο για ελάχιστα συστήματα, όπως το μοντέλο «σωματίδιο σε κουτί», το μοντέλο του αρμονικού ταλαντωτή, το μοντέλο σωματίδιο σε δακτύλιο ή σε σφαίρα, καθώς και για το άτομο του υδρογόνου και τα υδρογονοειδή (συστήματα ενός ηλεκτρονίου, όπως π.χ. το He^+ ή το H_2^+).

Αν όμως στο σύστημα υπάρχουν περισσότερα από ένα ηλεκτρόνια (όπως συμβαίνει στα περισσότερα ρεαλιστικά χημικά συστήματα που μελετούμε), τότε καλούμαστε να αντιμετωπίσουμε ένα πρόβλημα πολλών σωματιδίων, για το οποίο δεν υπάρχουν ακριβείς λύσεις και η εξίσωση Schrödinger πρέπει να προσεγγιστεί.

Μία σημαντική προσέγγιση η οποία λαμβάνεται υπόψη ακόμα και για τα υδρογονοειδή είναι η απόξευση της κίνησης των ηλεκτρονίων από αυτή των πυρήνων. Σύμφωνα με την προσέγγιση Born–Oppenheimer, οι πυρήνες κινούνται σημαντικά πιο αργά από τα ηλεκτρόνια λόγω της πολύ μεγαλύτερης μάζας τους. Συνεπώς, τα ηλεκτρόνια μπορούν να προσαρμοστούν στην κίνηση των πυρήνων σχεδόν ταυτόχρονα και με αυτόν τρόπο η κυματοσυνάρτηση μπορεί να θεωρηθεί πως εξαρτάται μόνο από τη θέση των πυρήνων και όχι από την ορμή τους. Επομένως με τη χρήση της προσέγγισης Born–Oppenheimer οι πυρήνες μπορούν να θεωρηθούν σταθεροί (μη κινούμενοι) και η εξίσωση Schrödinger λύνεται μόνο για τα ηλεκτρόνια τα οποία εξαρτώνται μόνο από το σταθερό πεδίο που δημιουργούν γύρω τους οι πυρήνες.



Η εξίσωση Schrödinger για το ιόν του υδρογόνου, H_2^+ , κάνοντας χρήση της προσέγγισης Born–Oppenheimer μπορεί να γραφτεί ως (εξίσωση (6.3)):

$$\widehat{H}_{el}\Psi_{el} = E_{el}\Psi_{el} \Leftrightarrow \left[\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_{\alpha=1}^2 \frac{Z_{\alpha}}{r_{1\alpha}} \right] \Psi_{el} = E_{el}\Psi_{el} \quad (6.3)$$

Όπου

$\frac{1}{2}\nabla_1^2$: ο τελεστής της κινητικής ενέργειας του μοναδικού ηλεκτρονίου

$\sum_{\alpha=1}^2 \frac{Z_{\alpha}}{r_{1\alpha}}$: όρος που αναφέρεται στις έλξεις του ηλεκτρονίου 1 από τους πυρήνες 1 και 2

Για συστήματα με περισσότερα από ένα ηλεκτρόνια πρέπει να περιγράψουμε και την ιδιοπεριστροφή (spin) του κάθε ηλεκτρονίου για να περιγραφεί πλήρως το σύστημα. Το spin εισέρχεται στην κυματοσυνάρτηση θεωρώντας κάθε τροχιακό χ_i ως γινόμενο ενός χωρικού τροχιακού σ_i , κι ενός τροχιακού spin ϕ_i . Δηλαδή ορίζουμε ότι:

$$\chi_i = \sigma_i \phi_i \quad (6.4)$$

Όπου

σ_i : χωρικό τροχιακό (εξαρτάται μόνο από τις συντεταγμένες του χώρου)

ϕ_i : τροχιακό spin (εξαρτάται μόνο από τις συντεταγμένες του spin)

Το spin για τα ηλεκτρόνια μπορεί να πάρει μόνο 2 τιμές, την τιμή $\frac{1}{2}$ η οποία αντιστοιχεί στην συντεταγμένη spin α , και την τιμή $-\frac{1}{2}$ η οποία αντιστοιχεί στην τιμή spin β .

Παράλληλα, πρέπει κατά την περιγραφή του χημικού συστήματος να τηρούνται δύο ακόμα θεμελιώδεις αρχές της κβαντομηχανικής:

- η αρχή της μη διακριτότητας (indistinguishability principle) και
- η αρχή της αντισυμμετρίας (antisymmetry principle).

Η αρχή της μη διακριτότητας ορίζει πως αν δύο πανομοιότυπα σωματίδια (identical particles), όπως είναι δύο ηλεκτρόνια, αλλάξουν θέση μεταξύ τους, οι νέες καταστάσεις που θα προκύψουν πρέπει να είναι πανομοιότυπες μεταξύ τους.

Η αρχή της αντισυμμετρίας, την οποία ακολουθούν τα κβαντικά σωματίδια με ημισκεραίο αριθμό spin (όπως τα ηλεκτρόνια), ορίζει πως η κυματοσυνάρτηση που προκύπτει αν δύο πανομοιότυπα σωματίδια αλλάξουν θέση θα έχει αντίθετο πρόσημο από την αρχική κυματοσυνάρτηση.

Για να ικανοποιούνται και οι δύο αυτές αρχές, η κυματοσυνάρτηση καθενός ηλεκτρονίου πρέπει να περιγραφεί ως γραμμικός συνδυασμός όλων των πιθανών καταστάσεων στις οποίες μπορεί να βρίσκεται. Για παράδειγμα, αν θεωρήσουμε ένα σύστημα δύο ηλεκτρονίων, όπως το άτομο του Ηλίου (He), οι πιθανές καταστάσεις είναι οι εξής:

- ♦ το ηλεκτρόνιο 1 μπορεί να είναι στο τροχιακό χ_1 και το ηλεκτρόνιο 2 στο τροχιακό χ_2
- ♦ το ηλεκτρόνιο 2 μπορεί να είναι στο τροχιακό χ_1 και το ηλεκτρόνιο 1 στο τροχιακό χ_2

Λόγω της αρχής της μη-διακριτότητας δεν μπορούμε αυθαίρετα να επιλέξουμε ποιο ηλεκτρόνιο θα βρίσκεται σε ποιο τροχιακό. Γράφουμε έτσι την συνολική κυματοσυνάρτηση των δύο πιθανών καταστάσεων ως γραμμικό συνδυασμό με αφαίρεση, ώστε να τηρείται παράλληλα και η αρχή της αντισυμμετρίας (εξίσωση (6.5)):

$$\frac{1}{\sqrt{2}} [\chi_1(1)\chi_2(2) - \chi_1(2)\chi_2(1)] \quad (6.5)$$

Όπου
 $\frac{1}{\sqrt{2}}$: σταθερά κανονικοποίησης ώστε
καθεμία από τις δύο καταστάσεις
να έχει 50% πιθανότητα να συμβεί

Έχουν προταθεί πολλές διαφορετικές θεωρίες για την εξεύρεση προσεγγιστικών λύσεων στην εξίσωση Schrödinger για συστήματα με περισσότερα του ενός ηλεκτρόνια. Οι επικρατούσες θεωρίες είναι

- η θεωρία αυτοσυνεπούς πεδίου Hartree–Fock, η οποία είναι μία μέθοδος που βασίζεται στην προσεγγιστική περιγραφή της κυματοσυνάρτησης του συστήματος πολλών ηλεκτρονίων (μέθοδος κυματοσυνάρτησης), καθώς και

- η Θεωρία Συναρτησιακού Πυκνότητας (Density Functional Theory – DFT), η οποία βασίζεται στην περιγραφή της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του συστήματος πολλών ηλεκτρονίων.

Άλλες μέθοδοι όπως η μέθοδος των παραλλαγών (variation principle) και η θεωρία των διαταράξεων (perturbation theory) χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως στην κβαντική χημεία.



Hartree Douglas Rayner
(1897–1958)



Fock Vladimir Aleksandrovich
(1898–1974)



Slater John Clarke
(1900–1976)

6.1.1 Μέθοδοι Κυματοσυναρτήσεων

Η πιο βασική μέθοδος κυματοσυνάρτησης είναι η Θεωρία Αυτοσυνεπούς Πεδίου Hartree–Fock. Αρχικά ο Hartree πρότεινε έναν απλοποιημένο τρόπο γραφής της κυματοσυνάρτησης Ψ , N ηλεκτρονίων, ως γινόμενο N μονοηλεκτρονιακών κυματοσυναρτήσεων χ_i :

$$\Psi = \chi_1 \chi_2 \chi_3 \cdots \chi_N \quad (6.6)$$

Το γινόμενο όμως της εξίσωσης 6.6 δεν υπακούει ούτε στην αρχή της μη διακριτότητας αλλά ούτε και στην αρχή της αντισυμμετρίας που περιγράφηκαν παραπάνω. Η μορφή της ορίζουσας είναι ένας πολύ καταλληλότερος τρόπος να γραφτούν οι πολυ–ηλεκτρονιακές κυματοσυναρτήσεις, έτσι ώστε να τηρούνται οι δύο παραπάνω αρχές. Επομένως, γράφεται η κυματοσυνάρτηση του πολυ–ηλεκτρονιακού συστήματος με τη μορφή της ορίζουσας Slater (εξίσωση (6.6)):

$$\Psi(1,2,3, \dots, N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(1) & \cdots & \chi_N(1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(N) & \cdots & \chi_N(N) \end{vmatrix} \equiv | \chi_1, \chi_2, \chi_3, \dots, \chi_N | \quad (6.7)$$

Όπου
 $\frac{1}{\sqrt{N!}}$: όρος ο οποίος εξασφαλίζει
 πως η κυματοσυνάρτηση είναι
 κανονικοποιημένη

στην οποία περιγράφεται ένα σύστημα N εξισώσεων, μία για κάθε τροχιακό τύπου Slater χ_i .

Κάθε ηλεκτρόνιο i θεωρείται πως κινείται εντός σταθερού πεδίου που προκύπτει από όλους τους πυρήνες του συστήματος και όλα τα υπόλοιπα ηλεκτρόνια. Επομένως, ο όρος της δυναμικής ενέργειας του συστήματος V_i , για κάθε τροχιακό χ_i , εξαρτάται από όλα τα υπόλοιπα τροχιακά χ_j , με $j \neq i$. Έτσι, κάθε λύση η οποία θα βρίσκεται για ένα ηλεκτρόνιο θα επηρεάζει τις λύσεις για όλα τα υπόλοιπα ηλεκτρόνια. Μία στρατηγική για τη λύση τέτοιου τύπου προβλημάτων ονομάζεται **μέθοδος αυτοσυνεπούς πεδίου** (Self–Consistent Field – SCF). Μέσω αυτής της προσέγγισης ορίζονται ένα σύνολο δοκιμαστικών λύσεων χ_i με το οποίο λύνονται όλες οι εξισώσεις που προκύπτουν. Η λύση τους παρέχει ένα νέο (βελτιωμένο) σύνολο λύσεων. Το νέο σύνολο λύσεων επαναχρησιμοποιείται για να ξαναλυθούν όλες οι εξισώσεις κ.ο.κ. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου να μην αλλάζουν (πρακτικά) οι τιμές των νέων λύσεων που θα προκύπτουν κάθε φορά. Όταν επιτευχθεί αυτό, το σύνολο των λύσεων θεωρείται πια αυτοσυνεπές. Με αυτή τη μέθοδο μια συνάρτηση πολλών αλληλεξαρτώμενων μεταβλητών (όπως είναι τα πολλά ηλεκτρόνια του συστήματος) μετατρέπεται σε πολλές συναρτήσεις μίας μεταβλητής, διευκολύνοντας έτσι υπολογιστικά τη λύση του προβλήματος.

Με παρόμοιο τρόπο, επιτυγχάνεται η μετάβαση από ένα πολυ–ηλεκτρονιακό άτομο σε ένα μόριο το οποίο απαρτίζεται από πολλά άτομα. Κάθε μοριακό τροχιακό θεωρείται ως γραμμικός συνδυασμός ατομικών τροχιακών (Linear Combination of Atomic Orbitals – LCAO). Ένα μοριακό τροχιακό ψ_i γράφεται ως άθροισμα ατομικών τροχιακών ϕ_μ , όπου κάθε ατομικό ϕ_μ συνεισφέρει στο μοριακό τροχιακό κατά ένα συντελεστή c_i . Οι συντελεστές αυτοί σταθμίζουν την τελική κυματοσυνάρτηση του μοριακού τροχιακού με βάση τη συνεισφορά κάθε ατομικού τροχιακού και εξασφαλίζουν την κανονικοποίηση της συνάρτησης:

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^K c_{\mu i} \phi_\mu \quad (6.8)$$

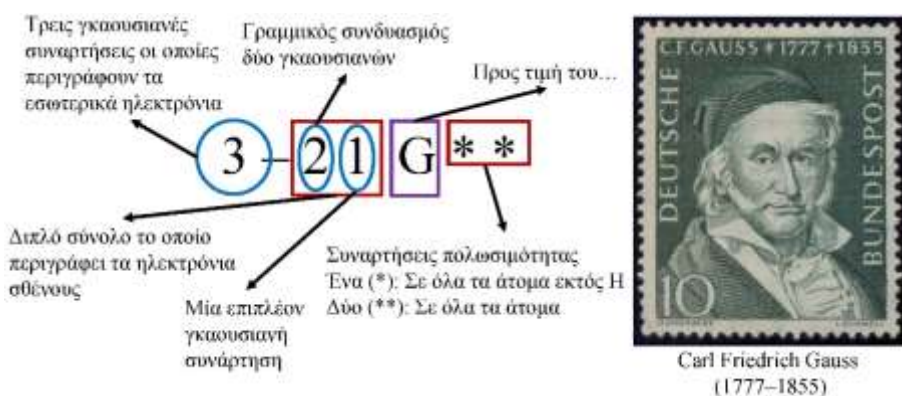
Όπου
 ψ_i : μοριακό τροχιακό
 ϕ_μ : ατομικό τροχιακό
 K : πλήθος ατομικών τροχιακών
 $c_{\mu i}$: συντελεστής συνεισφοράς
 του ατομικού τροχιακού

6.1.1.1 Σύνολα βάσης

Στην υπολογιστική κβαντική χημεία, συνήθως χρησιμοποιείται ένα σύνολο γκαουσιανών (gaussian) συναρτήσεων για να περιγραφεί το κάθε τροχιακό. Μια γκαουσιανή συνάρτηση είναι της μορφής, $\exp(-\alpha r^2)$ όπου το α είναι μια σταθερά από την οποία εξαρτάται η χωρική εξάπλωση της κυματοσυνάρτησης. Παρ' όλα αυτά, η χρήση μιας μόνο γκαουσιανής συνάρτησης δεν μπορεί να περιγράψει σωστά ένα τροχιακό τύπου Slater λόγω διαφορετικής συμπεριφοράς της συνάρτησης, τόσο κοντά στον πυρήνα, όσο και σε μεγάλες αποστάσεις. Για να παρακαμφθεί αυτό το πρόβλημα, συνήθως χρησιμοποιείται ένας γραμμικός συνδυασμός ενός συνόλου γκαουσιανών συναρτήσεων για να περιγραφεί το καθένα τροχιακό τύπου Slater (STO). Επομένως, ένα ελάχιστο σύνολο βάσεων (basis set) της μορφής STO-nG έχει n γκαουσιανές συναρτήσεις για κάθε ένα STO. Ακόμη όμως και αυτά τα ελάχιστα σύνολα βάσεων στα οποία χρησιμοποιούνται n γκαουσιανές συναρτήσεις για κάθε ένα τροχιακό δεν επαρκούν για να περιγράψουν ρεαλιστικά το σύστημα. Γι' αυτό τον λόγο συνήθως χρησιμοποιούνται τουλάχιστον διπλά σύνολα βάσεων (σύνολα βάσεων διπλού ζ ή double- ζ basis sets) όπου χρησιμοποιείται ο διπλάσιος αριθμός γκαουσιανών από ότι σε ένα ελάχιστο σύνολο βάσεων (basis set).

Μια άλλη προσέγγιση είναι η χρήση συνόλων βάσεων διαχωρισμένης στιβάδας σθένους (split-valence basis sets). Με αυτό τον τρόπο, ένας γραμμικός συνδυασμός συναρτήσεων χρησιμοποιείται για τα εσωτερικά ηλεκτρόνια (ένα ελάχιστο σύνολο βάσεων), ενώ πολλαπλοί (διπλοί, τριπλοί κ.λπ.) γραμμικοί συνδυασμοί χρησιμοποιούνται για την περιγραφή των ηλεκτρονίων σθένους.

Για παράδειγμα (Σχήμα 6.1), με το σύνολο βάσης 3-21G χρησιμοποιείται ένα ελάχιστο σύνολο τριών γκαουσιανών συναρτήσεων για την περιγραφή των εσωτερικών ηλεκτρονίων, ενώ για την περιγραφή των ηλεκτρονίων σθένους χρησιμοποιούμε ένα διπλό σύνολο, αποτελούμενο από έναν γραμμικό συνδυασμό δύο γκαουσιανών και από μία ακόμη γκαουσιανή συνάρτηση. Για να περιγραφεί η μη ισοτροπική κατανομή των ηλεκτρονίων, ειδικά σε περιπτώσεις πολώσιμων ατόμων/μορίων, προστίθενται **συναρτήσεις πολωσιμότητας**, είτε σε όλα τα άτομα εκτός του υδρογόνου (το οποίο σημειώνεται με ένα **αστεράκι** στο τέλος του συνόλου βάσεων, π.χ 3-21G*) είτε σε όλα ανεξαιρέτως τα άτομα (το οποίο σημειώνεται με δύο αστεράκια 3-21G**). Για την περιγραφή ανιόντων, μορίων με μη δεσμικά (μονήρη) ζεύγη ηλεκτρονίων ή διεγερμένων καταστάσεων, προσθέτονται **συναρτήσεις διάχυσης** στο σύνολο βάσεων, έτσι ώστε να περιγραφούν ακριβέστερα καταστάσεις όπου τα ηλεκτρόνια συγκρατούνται ασθενέστερα από τον πυρήνα. Η χρήση συναρτήσεων διάχυσης συμβολίζεται με ένα +, αν προστίθενται σε όλα τα άτομα εκτός από το υδρογόνο (π.χ. 3+21G) ή με δύο ++ αν προστίθενται σε όλα ανεξαιρέτως τα άτομα (π.χ. 3++21G).



Σχήμα 6.1 Γραφική απόδοση του κωδικοποιημένου συμβολισμού που χρησιμοποιείται στα σύνολα βάσης.

6.1.2 Η θεωρία Συναρτησιακού Πυκνότητας

Μία διαφορετική προσέγγιση για τον υπολογισμό της ηλεκτρονιακής ενέργειας προτάθηκε το 1964 από τους Hohenberg και Kohn και ονομάστηκε Θεωρία Συναρτησιακού Πυκνότητας (Density Functional Theory – DFT). Αντί για τον πολύπλοκο υπολογισμό της κυματοσυνάρτησης N ηλεκτρονίων, μέσω της DFT επιχειρείται ο υπολογισμός της συνολικής ηλεκτρονιακής ενέργειας θεωρώντας μόνο τη συνολική κατανομή της ηλεκτρονιακής πυκνότητας $\rho(r)$. Με αυτό τον τρόπο, ένα πρόβλημα πολλών συντεταγμένων ($3N$ όπου 3 είναι οι καρτεσιανές συντεταγμένες και N ο αριθμός των ηλεκτρονίων του συστήματος) μετατρέπεται σε ένα πρόβλημα τριών μόνο συντεταγμένων, αφού επαρκεί η γνώση των συντεταγμένων της ηλεκτρονιακής πυκνότητας.



Hohenberg Pierre Claude
(1934–2017)



Kohn Walter
(1923–2016)



Sham Lu Jiu
(1938–)

Οι Hohenberg και Kohn πρότειναν ένα απλοποιημένο μοντέλο, αυτό του «ανομοιογενούς ηλεκτρονιακού αερίου», προσομοίασαν δηλαδή την ηλεκτρονιακή πυκνότητα γύρω από τον πυρήνα με ένα αέριο με ανομοιογενή κατανομή πυκνότητας. Μέσω αυτού του μοντέλου όρισαν πως η θεμελιώδης ενέργεια ενός συστήματος μπορεί να προσδιοριστεί από την ηλεκτρονιακή του πυκνότητα ή με άλλα λόγια, πως η ενέργεια E ενός συστήματος είναι ένα μοναδικό συναρτησιακό (συνάρτηση με πεδίο ορισμού ένα διανυσματικό χώρο και πεδίο τιμών ένα σύνολο πραγματικών συναρτήσεων, π.χ. $F(g(r))$ της ηλεκτρονιακής του πυκνότητας $\rho(r)$). Συγκεκριμένα, η ενέργεια γράφεται ως:

$$E[\rho(r)] = \int V_{ext}(r)\rho(r)dr + F[\rho(r)] \quad (6.9)$$

Όπου

- $\int V_{ext}(r)\rho(r)dr$: ποσότητα που περιγράφει την αλληλεπίδραση των ηλεκτρονίων με ένα εξωτερικό δυναμικό V_{ext} (π.χ. τις ελκτικές αλληλεπιδράσεις Coulomb με τον πυρήνα)
- $F[\rho(r)]$: ποσότητα που περιγράφει την κινητική ενέργεια των ηλεκτρονίων καθώς και τη συνεισφορά των διηλεκτρονιακών αλληλεπιδράσεων

Το επόμενο βήμα για τον υπολογισμό της ηλεκτρονιακής ενέργειας είναι να βρεθούν αναλυτικές εκφράσεις που να περιγράφουν τους παραπάνω όρους. Το 1965, οι Kohn και Sham προσέγγισαν την ποσότητα $F[\rho(r)]$ ως άθροισμα τριών όρων (εξίσωση 6.10):

$$F[\rho(r)] = E_{KE}[\rho(r)] + E_H[\rho(r)] + E_{XC}[\rho(r)] \quad (6.10)$$

Όπου

- $E_{KE}[\rho(r)]$: όρος ο οποίος περιγράφει την κινητική ενέργεια ενός συστήματος μη-αλληλεπιδρώντων ηλεκτρονίων το οποίο παρουσιάζει ίδια ηλεκτρονιακή πυκνότητα με ένα πραγματικό σύστημα ηλεκτρονίων
- $E_H[\rho(r)]$: όρος ο οποίος περιγράφει την ενέργεια Coulomb των ηλεκτρονιακών απόσεων
- $E_{XC}[\rho(r)]$: όρος ο οποίος περιγράφει τη συνεισφορά από την ενέργεια εναλλαγής (exchange energy) και την ενέργεια συσχέτισης (correlation energy), καθώς και διορθώσεις στην κινητική ενέργεια, οι οποίες προκύπτουν από τις διηλεκτρονικές αλληλεπιδράσεις του πραγματικού συστήματος

Οι όροι της ενέργειας εναλλαγής και της ενέργειας συσχέτισης είναι κβαντικοί όροι χωρίς κάποιο κλασικό ανάλογο. Συγκεκριμένα, η **ενέργεια εναλλαγής** είναι ένας σταθεροποιητικός όρος ο οποίος προκύπτει από την τάση των ηλεκτρονίων με ίδιο spin να αποφεύγουν το ένα το άλλο. Με αυτόν τον τρόπο, οι απώσεις που προκύπτουν από τις αλληλεπιδράσεις Coulomb των ηλεκτρονίων είναι μικρότερες από ότι αν δεν υπήρχε η ενέργεια εναλλαγής και άρα το σύστημα σταθεροποιείται. Αυτό το φαινόμενο, το οποίο δεν έχει κλασικό ανάλογο, προκύπτει από την απαγορευτική αρχή του Pauli, αφού αν δύο ηλεκτρόνια με το ίδιο spin πλησίαζαν υπερβολικά το ένα το άλλο, θα κατέληγαν στο ίδιο τροχιακό, το οποίο απαγορεύεται. Παρόλο που η ενέργεια εναλλαγής υπολογίζεται με ακρίβεια με τη μέθοδο HF, στην DFT πρέπει να προσεγγιστεί. Το μεγάλο πλεονέκτημα όμως της DFT είναι ο ακριβής υπολογισμός της **ενέργειας συσχέτισης**, η οποία προκύπτει επίσης από την τάση των ηλεκτρονίων να αποφεύγουν το ένα το άλλο, ως αποτέλεσμα της συσχετιζόμενης κίνησής τους, μειώνοντας επίσης τις απωστικές αλληλεπιδράσεις. Η πλήρης έκφραση της ενέργειας μέσα από το φορμαλισμό των Kohn–Sham είναι (εξίσωση 6.11):

$$E[\rho(r)] = \sum_{i=1}^N \psi_i(r) \left(-\frac{\nabla^2}{2} \right) \psi_i(r) dr + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho_1(r_1)\rho_2(r_2)}{|r_1 - r_2|} dr_1 dr_2 + E_{XC} - \sum_{A=1}^M \int \frac{Z_A}{|r - R_A|} \rho(r) dr \quad (6.11)$$

αφορά στην κινητική ενέργεια των μη αλληλεπιδρόντων ηλεκτρονίων
αφορά στις διηλεκτρονικές απώσεις
αφορά στη συνεισφορά ενέργειας εναλλαγής-συσχέτισης
αφορά στις έλξεις Coulomb μεταξύ ηλεκτρονίων και πυρήνα

Επίσης, η ηλεκτρονική πυκνότητα ενός συστήματος N ηλεκτρονίων, εντός του φορμαλισμού Kohn–Sham εκφράζεται ως το άθροισμα της απόλυτης τιμής στο τετράγωνο ενός συνόλου N μονοηλεκτρονικών τροχιακών (εξίσωση 6.12):

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(r)|^2 \quad (6.12)$$

Οι εξισώσεις Kohn–Sham λύνονται επίσης με τη μέθοδο αυτοσυνεπούς πεδίου, με παρόμοιο τρόπο με αυτόν που περιγράφηκε στη μέθοδο κυματοσυναρτήσεων.

Η μόνη πρόκληση που μένει, είναι η εύρεση ενός κατάλληλου συναρτησιακού για την περιγραφή της ενέργειας εναλλαγής–συσχέτισης, E_{XC} . Έχουν προταθεί αρκετά προσεγγιστικά συναρτησιακά, πολλά από τα οποία χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα.

- Η πιο απλή προσέγγιση είναι αυτή της **Τοπικής Πυκνότητας** (Local Density Approximation–LDA) η οποία βασίζεται στο μοντέλο του ομοιογενούς αερίου ηλεκτρονίων, θεωρώντας την ηλεκτρονική πυκνότητα σταθερή στο χώρο. Τα πιο γνωστά LDA συναρτησιακά είναι αυτά

- ♦ των Vosko–Wilk–Nusair (VWN) και

- ♦ των Perdew–Wang (PW92).

Μία σημαντική βελτίωση της προσέγγισης Τοπικής Πυκνότητας είναι η προσέγγιση **Γενικευμένης Βαθμίδας** (Generalized Gradient Approximation–GGA), σύμφωνα με την οποία, η πυκνότητα δε θεωρείται σταθερή (είναι δηλαδή ανομοιογενής) και με αυτόν τον τρόπο η ενέργεια εξαρτάται όχι μόνο από τη συνάρτηση της πυκνότητας, αλλά και από την παράγωγό της. Συνήθως, οι διορθώσεις που προκύπτουν από την παράγωγο της πυκνότητας χωρίζονται σε ξεχωριστά συναρτησιακά για την

ενέργεια εναλλαγής και ξεχωριστά για την ενέργεια συσχέτισης. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι

- ◆ το συναρτησιακό Becke για την ενέργεια εναλλαγής και
- ◆ το συναρτησιακό Lee–Yang–Par (LYP) για την ενέργεια συσχέτισης, τα οποία συνδυάζονται δίνοντας το πολύ δημοφιλές συναρτησιακό BLYP.
- Μία ακόμη σημαντικότερη βελτίωση στην προσέγγιση των συναρτησιακών εναλλαγής–συσχέτισης, είναι η προσθήκη ενός ποσοστού ενέργειας εναλλαγής, η οποία υπολογίστηκε με ακρίβεια (δηλαδή, χωρίς προσεγγίσεις) μέσω της μεθόδου HF. Με αυτόν τον τρόπο, κατασκευάζονται τα υβριδικά GGA συναρτησιακά, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως και σήμερα, όπως το πολύ γνωστό συναρτησιακό B3LYP το οποίο περιέχει 20% ακριβούς HF ενέργειας εναλλαγής.
- Ακόμη πιο σύγχρονες προσεγγίσεις περιλαμβάνουν τον υπολογισμό τόσο της πρώτης όσο και τις δεύτερης παραγώγου της ηλεκτρονιακής πυκνότητας, δίνοντας συναρτησιακά τα οποία ονομάζονται μετά–GGA. Ένα παράδειγμα υβριδικού, μετά–GGA συναρτησιακού είναι το πολύ διαδεδομένο M06, το οποίο προτάθηκε από τους Zhao και Truhlar το 2006, και το οποίο περιέχει 27% ακριβούς HF ενέργειας εναλλαγής.

6.1.2.1 Χρονικά εξαρτημένη θεωρία συναρτησιακού πυκνότητας

Υπάρχουν χημικά προβλήματα τα οποία είναι χρονικώς εξαρτημένα για τα οποία δεν είναι δυνατόν αν χρησιμοποιηθεί η χρονικώς ανεξάρτητη μορφή της εξίσωσης Schrödinger, όπως π.χ. η ακτινοβολία ενός δείγματος για καθορισμένο χρόνο ή με άλλα λόγια, η αλληλεπίδραση ενός συστήματος με εξωτερικό πεδίο που εξαρτάται από τον χρόνο V_{ext} . Σε αυτές τις περιπτώσεις, πρέπει να συμπεριληφθεί και ο χρόνος στη μέθοδο προσδιορισμού της ενέργειας που χρησιμοποιείται. Στην περίπτωση της Θεωρίας Συναρτησιακού Πυκνότητας, χρησιμοποιείται η θεωρία της Χρονικώς Εξαρτημένης Θεωρίας Συναρτησιακού Πυκνότητας (Time Dependent Density Functional Theory–TDDFT). Σύμφωνα με το θεώρημα Runge–Gross, η χρονικώς εξαρτημένη ηλεκτρονιακή πυκνότητα καθορίζει μοναδικά ένα χρονικώς εξαρτημένο εξωτερικό δυναμικό σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή t . Με άλλα λόγια, αν θεωρηθούν δύο ηλεκτρονιακές πυκνότητες, $\rho(r,t)$ και $\rho'(r,t)$ οι οποίες καθορίζονται από κοινή αρχική κατάσταση Ψ_0 αλλά βρίσκονται υπό την επίδραση δύο διαφορετικών εξωτερικών δυναμικών $V_{ext}(r,t)$ και $V'_{ext}(r,t)$, οι πυκνότητες θα είναι πάντοτε διαφορετικές αν τα δυναμικά είναι διαφορετικά. Η Χαμιλτωνιανή του συστήματος λαμβάνει την ακόλουθη μορφή (εξίσωση 6.13):

$$\hat{H}(r,t) = \hat{T} + \hat{V}_{ext}(t) + \hat{W} \quad (6.13)$$

Όπου
\hat{T} : τελεστής της κινητικής ενέργειας του συστήματος
$\hat{V}_{ext}(t)$: χρονικώς εξαρτημένο εξωτερικό δυναμικό

$$\hat{H}(r,t) = \hat{T} + \hat{V}_{KS}(r,t) \quad (6.14)$$

Όπου
$\hat{V}_{KS}(r,t)$: όρος ο οποίος περιγράφει το δυναμικό Kohn–Sham

Στα πλαίσια της θεωρίας TDDFT, αρχικά εφαρμόζονται οι εξισώσεις Kohn–Sham (όπως στα χρονικώς ανεξάρτητα προβλήματα που συζητήθηκαν προηγουμένως) σε ένα σύστημα μη–αλληλεπιδρώντων ηλεκτρονίων, το οποίο έχει την ίδια χρονικώς εξαρτημένη ηλεκτρονιακή πυκνότητα με το πραγματικό αλληλεπιδρών σύστημα. Η Χαμιλτωνιανή του μη–αλληλεπιδρώντος συστήματος γράφεται (εξίσωση 6.14):

Το δυναμικό Kohn–Sham επιδρά στην κυματοσυνάρτηση του μη–αλληλεπιδρώντος συστήματος $\Phi(r,t)$, σύμφωνα με τη χρονικώς εξαρτημένη εξίσωση Schrödinger (εξίσωση 6.15):

Η χρονικώς εξαρτημένη κυματοσυνάρτηση γράφεται με τη μορφή ορίζουσας από ένα σύνολο N τροχιακών $\varphi_i(r,t)$ τα οποία δημιουργούν μια χρονικώς εξαρτημένη ηλεκτρονιακή πυκνότητα, σύμφωνα με την εξίσωση (εξίσωση 6.16):

$$\rho(r,t) = \sum_{i=1}^N |\varphi_i(r,t)|^2 \quad (6.16)$$

Το χρονικώς εξαρτημένο δυναμικό Kohn–Sham εκφράζεται ως (εξίσωση 6.17):

$$\hat{V}_{KS}(r,t) = \hat{v}_{ext}(r,t) + \hat{v}_{coul}(r,t) + \hat{v}_{xc}(r,t) \quad (6.17)$$

Όπου
$\hat{v}_{ext}(r,t)$: όρος ο οποίος αφορά στο εξωτερικό δυναμικό
$\hat{v}_{coul}(r,t)$: όρος ο οποίος αφορά στο δυναμικό Coulomb
$\hat{v}_{xc}(r,t)$: όρος ο οποίος αφορά στο δυναμικό εναλλαγής-συσχέτισης

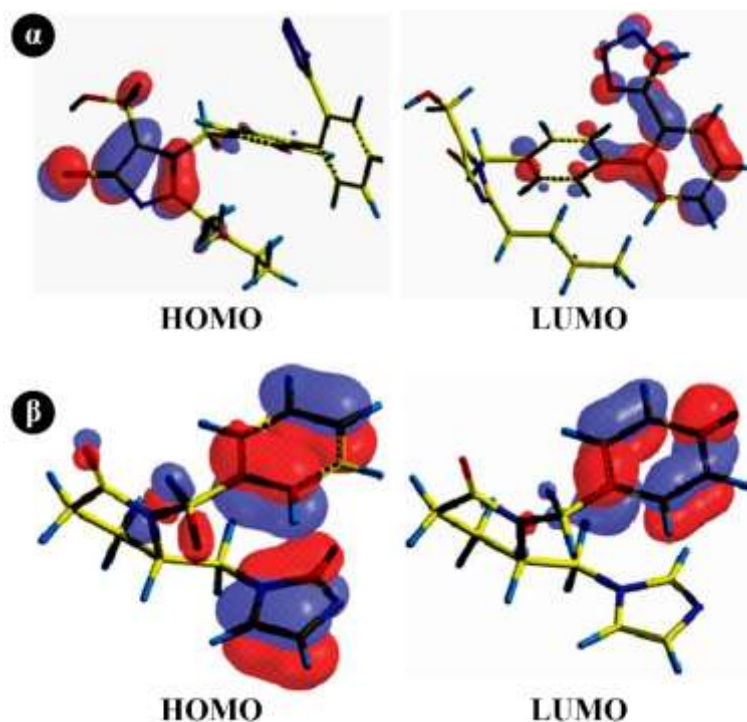
Αντίστοιχα με το χρονικώς ανεξάρτητο πρόβλημα, η μόνη πρόκληση που παραμένει είναι η προσέγγιση του χρονικώς εξαρτημένου δυναμικού εναλλαγής–συσχέτισης, το οποίο ορίζεται ως η διαφορά ανάμεσα στο δυναμικό το οποίο δημιουργεί μια ηλεκτρονιακή πυκνότητα $\rho(r,t)$ σε ένα αλληλεπιδρών σύστημα και στο δυναμικό που δημιουργεί την ίδια ακριβώς ηλεκτρονιακή πυκνότητα σε ένα μη–αλληλεπιδρών σύστημα.

6.2 Εφαρμογές της Κβαντικής Χημείας

6.2.1 Υπολογισμός HOMO και LUMO

Το HOMO (Highest Occupied Molecular Orbitals) είναι το υψηλότερα κατειλημμένο μοριακό τροχιακό, που περιέχει ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια αυτά έχουν τη μεγαλύτερη πιθανότητα να αντιδράσουν σε σχέση με τα υπόλοιπα ηλεκτρόνια, που βρίσκονται σε χαμηλότερα κατειλημμένες ενεργειακές στάθμες. Αντίθετα, το LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbitals), το χαμηλότερα μη κατειλημμένο μοριακό τροχιακό, έχει τη μεγαλύτερη πιθανότητα να καταληφθεί, αν ένα νέο ηλεκτρόνιο προστεθεί στο μόριο. Τα μοριακά τροχιακά HOMO και LUMO είναι χρήσιμα για την κατανόηση μηχανισμών των χημικών αντιδράσεων, καθώς και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ αναστολέων και ενζύμων ή υποδοχέων. Η διαφορετική ανασταλτική δράση της λοσαρτάνης και του MMK1, δύο ανταγωνιστών που δρουν στον AT₁ υποδοχέα της αγγειοτασίνης II, είναι δυνατόν να εξηγηθεί με βάση τη διαφορετική τοπογραφική θέση των μοριακών τροχιακών HOMO και LUMO στα δύο μόρια (Σχήμα 6.2).

$$\hat{H}(r,t)\Phi(r,t) = i \frac{\partial}{\partial t} \Phi(r,t) \quad (6.15)$$

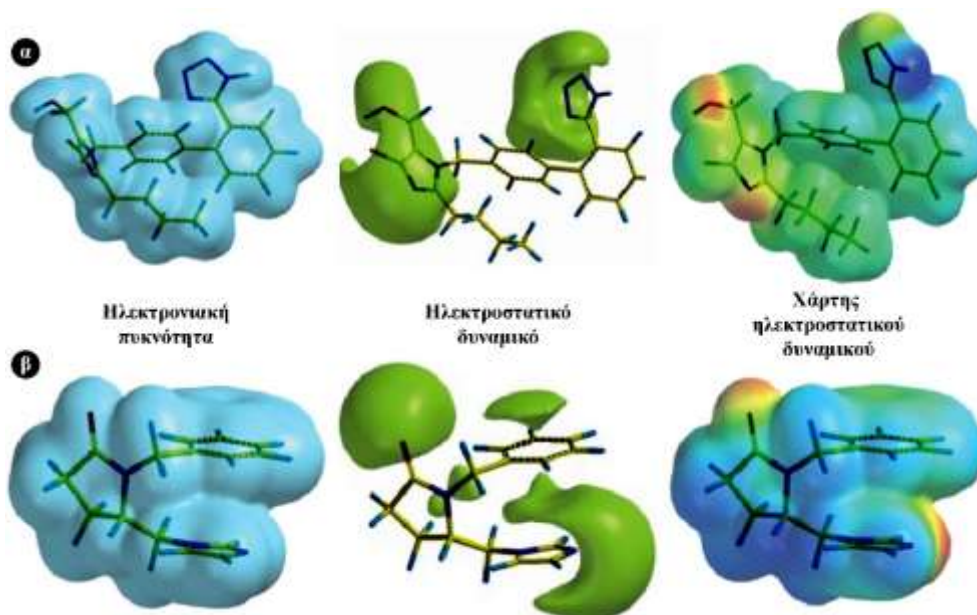


Σχήμα 6.2 Απεικόνιση των μοριακών τροχιακών HOMO και LUMO της α) λοσαρτάνης και β) του MMK1.

6.2.2 Υπολογισμός φυσικοχημικών ιδιοτήτων

Με χρήση Κβαντομηχανικών μεθόδων μπορούν να υπολογισθούν μία σειρά από φυσικά μεγέθη, όπως η διπολική ροπή, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα (electron density) και το ηλεκτροστατικό δυναμικό (electrostatic potential). Το μέγεθος του ηλεκτροστατικού δυναμικού είναι δυνατόν να αποτυπωθεί σε μία επιφάνεια ηλεκτρονιακής πυκνότητας (electron density surface), χρησιμοποιώντας χρώματα για την απεικόνιση της έντασής του (χάρτης ηλεκτροστατικού δυναμικού). Η γνώση των ηλεκτροστατικών δυναμικών είναι πολύ χρήσιμη στο σχεδιασμό φαρμακευτικών μορίων, ικανών να προσδέσουν σε πρωτεϊνικούς υποδοχείς ή ενζυμικά δραστικά κέντρα.

Η διαφορετική ανασταλτική δράση της λοσαρτάνης και του MMK1 στον υποδοχέα AT₁ της αγγειοτασίνης II είναι δυνατόν να γίνει κατανοητή, εκτός από τον εντοπισμό των τροχιακών HOMO και LUMO, και με βάση τον υπολογισμό των ηλεκτρονιακών ιδιοτήτων τους: ηλεκτρονιακή πυκνότητα και ηλεκτροστατικό δυναμικό. Από το χάρτη του ηλεκτροστατικού δυναμικού μπορούμε να βρούμε την κατανομή του φορτίου. Χρώματα προς το κόκκινο αντιστοιχούν σε αρνητικό ηλεκτροστατικό δυναμικό, ενώ χρώματα προς το μπλε αντιστοιχούν σε θετικό ηλεκτροστατικό δυναμικό (Σχήμα 6.3).

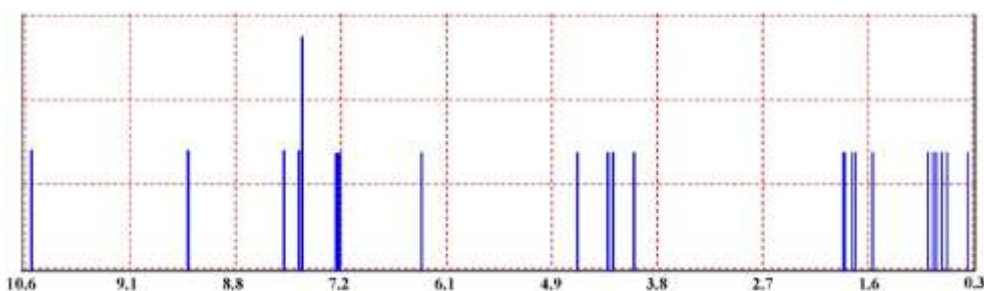


Σχήμα 6.3 Απεικόνιση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας, του ηλεκτροστατικού δυναμικού και χάρτη του ηλεκτροστατικού δυναμικού της α) λοσαρτάνης και β) του MMK1.

6.2.3 Πρόβλεψη χημικών μετατοπίσεων και διαμορφώσεων

Μία σπουδαία εφαρμογή των μεθόδων της Κβαντικής Χημείας είναι η δυνατότητα πρόβλεψης φασμάτων σε μόρια. Για παράδειγμα, χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες μεθόδους, είναι δυνατόν να προβλεφθούν οι χημικές μετατοπίσεις ^1H και ^{13}C σε βιοδραστικά μόρια.

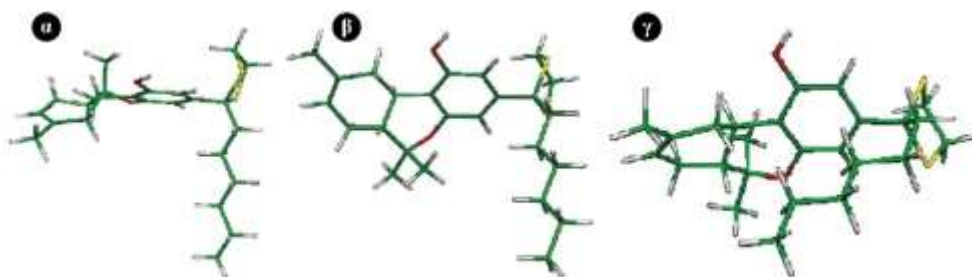
Το λαμβανόμενο φάσμα περιέχει χημικές μετατοπίσεις, οι οποίες μπορεί να μη συμφωνούν με αυτές που έχουν ληφθεί πειραματικά και έχουν δημοσιευτεί. Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι οι θεωρητικοί υπολογισμοί έγιναν με βάση μια συγκεκριμένη διαμόρφωση του μορίου, η οποία πιθανώς αποκλίνει από αυτή που υφίσταται στο διάλυμα, που μελετάται με NMR (Σχήμα 6.4).



Σχήμα 6.4 Χημικές μετατοπίσεις στο φάσμα πρωτονίου της λοσαρτάνης υπολογιζόμενες με κβαντομηχανικές μεθόδους. Οι υπολογισμοί διεξήχθησαν με τη χρήση βελτιστοποιημένης γεωμετρίας, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Hartree Fock 3–21G(*).

Πρόσφατα πραγματοποιήθηκε μελέτη για τη διαμόρφωση του συνθετικού βιοδραστικού κανναβινοειδούς AMG3 (Σχήμα 6.5, διαμόρφωση α), το οποίο έχει υψηλή συγγένεια με τους υποδοχείς των κανναβινοειδών CB1 και CB2 (Κi 0.32 nM και 0.52 nM αντίστοιχα), με συνδυαστική χρήση NMR και μεθόδων Υπολογιστικής Χημείας. Για το AMG3 έχουν παρουσιαστεί στη βιβλιογραφία διαφορετικές πιθανές βιοδραστικές διαμορφώσεις. Οι διαφορές τους εστιάζονται είτε στο τρικυκλικό τμήμα του μορίου (διαμόρφωση β) ή στον προσανατολισμό της αλκυλικής αλυσίδας

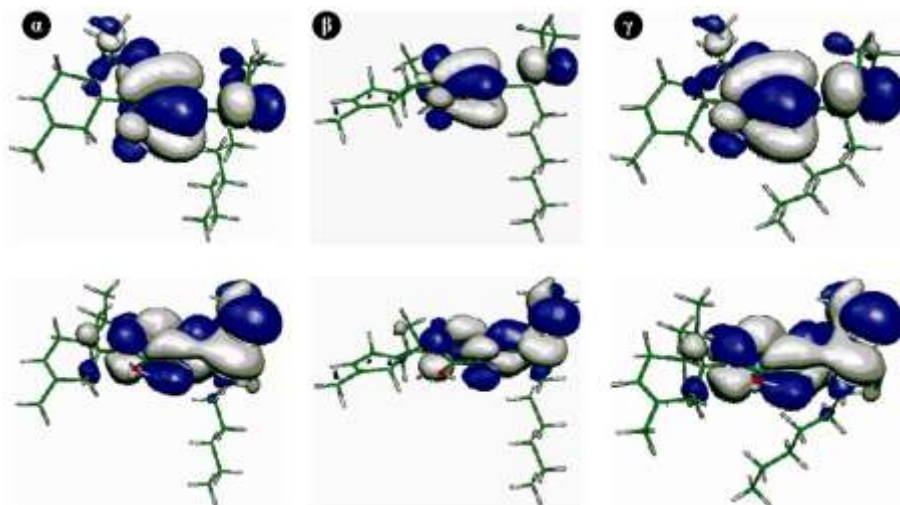
(διαμόρφωση γ).



Σχήμα 6.5 Προτεινόμενες δομές χαμηλής ενέργειας α, β και γ του AMG3.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η διαμόρφωση (γ), στην οποία η αλκυλική αλυσίδα δεν είναι *all trans*, αλλά παρατηρείται αναδίπλωση αυτής με τη δημιουργία και *gauche* δεσμών. Αυτό οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις van der Waals μεταξύ του τρικυκλικού τμήματος και της αλκυλικής αλυσίδας. Η ενεργειακή απώλεια, λόγω δημιουργίας *gauche* διαμορφωμερών, αντισταθμίζεται επομένως με τη δημιουργία van der Waals αλληλεπιδράσεων.

Τα μοριακά τροχιακά HOMO και LUMO (Σχήμα 6.6), που υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο B3LYP/6-31G(p,d), δείχνουν ότι όλες οι διαμορφώσεις έχουν το ίδιο ενεργειακό χάσμα μεταξύ των HOMO και LUMO τροχιακών. Όμως η διαμόρφωση (α) έχει υψηλότερο κατειλημμένο ενεργειακό τροχιακό HOMO και χαμηλότερο κατειλημμένο τροχιακό LUMO, συγκριτικά με τα άλλα διαμορφωμερή.

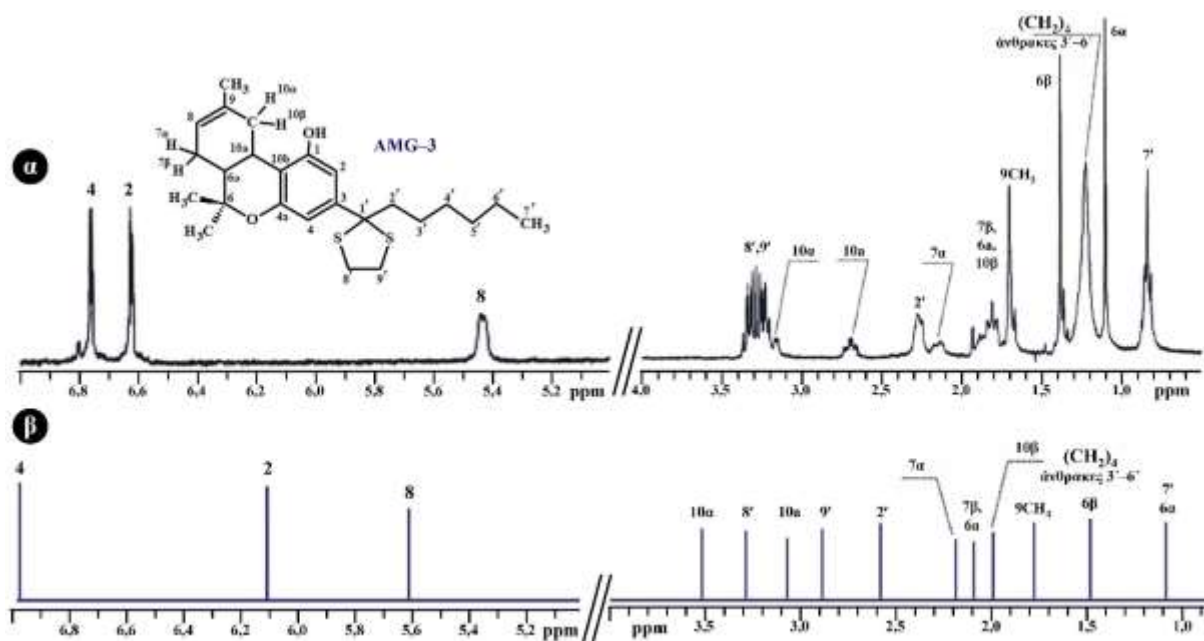


Σχήμα 6.6 Απεικόνιση των μοριακών τροχιακών HOMO (πάνω) και LUMO (κάτω) για τα χαμηλής ενέργειας διαμορφωμερή α, β και γ του μορίου AMG3.

Βιοφυσικές μελέτες, καθώς και μελέτες των κανναβινοειδών στον υποδοχέα, συνηγορούν επίσης με την άποψη αυτή. Όλες αυτές οι επιστημονικές πληροφορίες σε συνεργασία μας δίνουν μία αναμφισβήτητη απόδειξη ότι:

- η αλκυλική αλυσίδα έχει κάθετο προσανατολισμό προς το τρικυκλικό τμήμα και
- το τρικυκλικό τμήμα λαμβάνει την ενεργειακά συμφέρουσα διαμόρφωση, ώστε να επιτυγχάνονται οι μέγιστες αλληλεπιδράσεις στο βιολογικό περιβάλλον.

Η προσομοίωση των χημικών μετατοπίσεων συνηγορεί επίσης ότι η διαμόρφωση (α) δίνει τα προσεγγιστικότερα αποτελέσματα στα πειραματικά. Το Σχήμα 6.7 δείχνει σύγκριση πειραματικών και θεωρητικών με χρήση κβαντομηχανικών υπολογισμών.

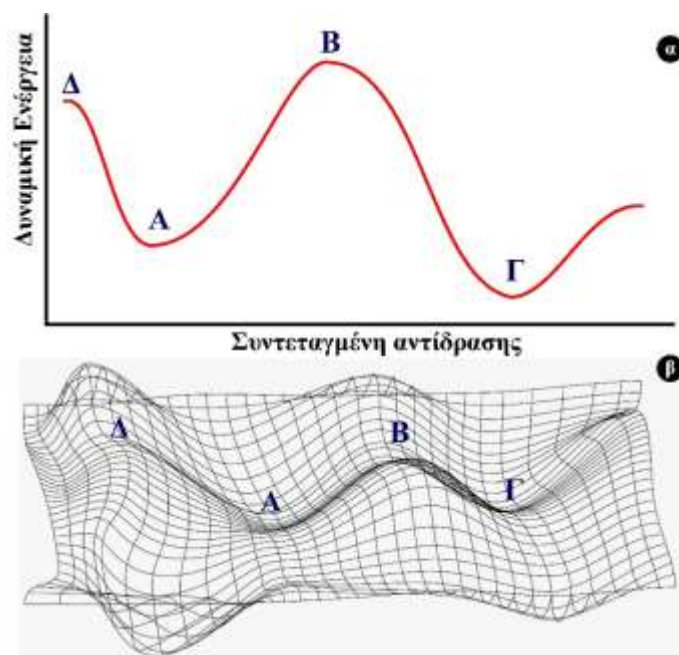


Σχήμα 6.7 (α) Πειραματικό φάσμα ^1H NMR του μορίου AMG3 και (β) προσομοιωμένο φάσμα του ίδιου μορίου.

6.2.4 Μηχανισμοί αντιδράσεων θεμελιώδους κατάστασης

Πολλά χημικά προβλήματα απαιτούν μελέτη του μηχανισμού της αντίδρασης. Μία προσέγγιση μελέτης του μηχανισμού είναι αυτή του υπολογισμού της Επιφάνειας Δυναμικής Ενέργειας (Potential Energy Surface–PES) μιας συντεταγμένης αντιδράσεως. Ένα απλοποιημένο παράδειγμα συντεταγμένης αντιδράσεως θα μπορούσε να είναι το μήκος δεσμού ενός διατομικού μορίου. Από αυτή τη συντεταγμένη αντιδράσεως προκύπτει μία απλή, διδιάστατη αναπαράσταση της Επιφάνειας Δυναμικής Ενέργειας, όπως αυτή που παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.8α. Σε αυτή την αναπαράσταση η αντίδραση λαμβάνει χώρα εκκινώντας από ένα τοπικό ελάχιστο της δυναμικής ενέργειας (A) και προχωρά προς ένα ολικό ελάχιστο (Γ), μέσω μίας μεταβατικής κατάστασης (B).

Η μεταβατική κατάσταση είναι μία μετασταθής, υψηλής ενέργειας χημική οντότητα, η οποία συνδέει δύο ελάχιστα σε μία επιφάνεια δυναμικής ενέργειας. Από χημικής άποψης, οι μεταβατικές καταστάσεις έχουν συνήθως μία δομή η οποία είναι μεταξύ των αντιδρώντων (ή της αρχικής γεωμετρίας όταν εξετάζουμε μία ενδομοριακή γεωμετρική αλλαγή) και των προϊόντων (ή της τελικής γεωμετρίας αντίστοιχα). Θα μπορούσε να περιλαμβάνει μερικούς δεσμούς (όπου ένας δεσμός σχάζεται και ένας άλλος δημιουργείται) ή μία υψηλής ενέργειας περιστροφική διαμόρφωση (π.χ. ελλειπτική διαμόρφωση βουτανίου), η οποία συνδέει δύο περιστροφικά ελάχιστα. Αν αντί της μίας, λάβουμε υπόψη δύο συντεταγμένες αντιδράσεως (π.χ. δύο μήκη δεσμών όπου ο ένας σχάζεται και ο άλλος δημιουργείται), θα προκύψει μία τριδιάστατη απεικόνιση, όπως αυτή που παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.8β. Σε αυτή την περίπτωση, τα τοπικά ελάχιστα A και Γ συνδέονται ομοίως μέσω μιας μεταβατικής κατάστασης B. Στην πραγματικότητα, πολλές συντεταγμένες αντιδράσεως θα μπορούσαν να ληφθούν υπόψη και θα προκύπταν πολυδιάστατες Επιφάνειες Δυναμικής Ενέργειας. Οι μεταβατικές καταστάσεις είναι σημεία καμψής 1^{ns} τάξης, δηλαδή είναι τοπικά μέγιστα σε μία διεύθυνση της Επιφάνειας Δυναμικής Κατάστασης και τοπικά ελάχιστα σε όλες τις άλλες διευθύνσεις. Μπορούν να υπάρξουν και σημεία καμψής μεγαλύτερης τάξης, όπως το σημείο Δ του Σχήματος 6.8, τα οποία είναι τοπικά μέγιστα σε παραπάνω από μία διευθύνσεις.



Σχήμα 6.8 Σχηματική αναπαράσταση μιας διδιάστατης (επάνω) και μίας τριδιάστατης (κάτω) Επιφάνειας Δυναμικής Ενέργειας. Τα σημεία A και Γ αναφέρονται σε τοπικά ελάχιστα, τα οποία συνδέονται μέσω μίας μεταβατικής κατάστασης B. Παρουσιάζεται επίσης ένα σημείο καμψής υψηλότερης τάξης, Δ.

Το πρώτο βήμα στη μελέτη χημικών αντιδράσεων είναι ο εντοπισμός των ελαχίστων που αντιστοιχούν στις χημικές οντότητες που συμμετέχουν στην αντίδραση, δηλαδή τα αντιδρώντα και τα προϊόντα. Ο εντοπισμός των ελαχίστων όπως έχει ήδη εξηγηθεί πραγματοποιείται συνήθως μέσω γεωμετρικής βελτιστοποίησης της δομής των αντιδρώντων και των προϊόντων, μέσω ενός προγράμματος υπολογιστικής χημείας. Οι αρχικές δομές σχεδιάζονται από τον χημικό, μέσω ενός προγράμματος σχεδιασμού μορίων. Όταν η βελτιστοποίηση της δομής είναι επιτυχής, η πρώτη παράγωγος της ενέργειας (δηλαδή η δύναμη) είναι μηδέν, σύμφωνα με την Εξίσωση 6.18, η οποία εκφράζει τη δύναμη μέσω του νόμου του Hooke, αναπαριστώντας απλοποιημένα τη δόνηση ενός χημικού δεσμού, με την ταλάντωση ενός απλού, μονοδιάστατου ελατηρίου:

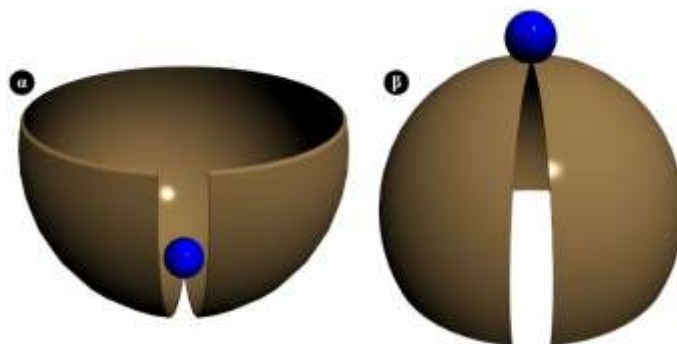
$$\frac{\partial E}{\partial x} = -F = k(x - x_0) = 0 \quad (6.18)$$

Όπου
 k : σταθερά του ελατηρίου
 x_0 : σημείο ισορροπίας

Με αυτόν τον τρόπο εντοπίζεται ένα σημείο ισορροπίας, x_0 , στην επιφάνεια της δυναμικής ενέργειας, το οποίο αντιστοιχεί στη βέλτιστη γεωμετρική δομή του αντιδρώντος ή του προϊόντος. Όλες οι επιτυχείς βελτιστοποιήσεις καταλήγουν σε σημεία ισορροπίας τα οποία όμως δεν είναι πάντοτε τα επιθυμητά. Για να αντιστοιχεί ένα σημείο ισορροπίας σε ένα ελάχιστο, πρέπει να ακολουθήσει ένας υπολογισμός της δεύτερης παραγώγου της ενέργειας, δηλαδή της σταθεράς του ελατηρίου, k . Η δεύτερη παράγωγος σε ένα ακρότατο σημείο πρέπει να είναι θετική, δηλαδή $k > 0$, ώστε το ακρότατο σημείο να αντιστοιχεί σε ελάχιστο, δηλαδή η συχνότητα που αντιστοιχεί στη δόνηση του υπό μελέτη του δεσμού πρέπει να είναι πραγματικός αριθμός:

$$v = \sqrt{\frac{k}{2\pi}} \quad (6.19)$$

Με άλλα λόγια, αν η σταθερά του ελατηρίου είναι θετικός αριθμός, υπάρχει μια ισχυρή δύναμη επαναφοράς και η δόνηση συμπεριφέρεται ως αρμονική (επιστρέφει δηλαδή στο σημείο

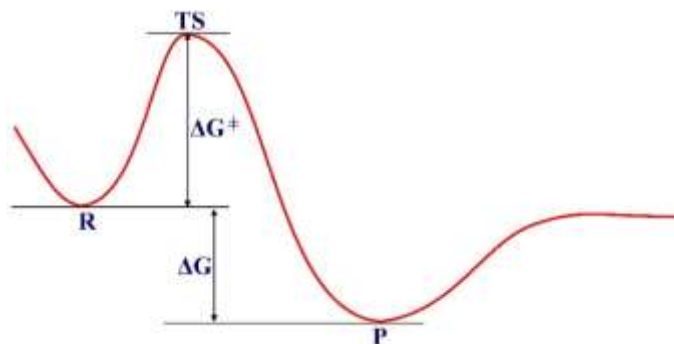


Σχήμα 6.9 Σχηματική αναπαράσταση ακρότατου σημείου το οποίο αντιστοιχεί σε ελάχιστο και η σταθερά του ελατηρίου, k είναι θετική, άρα η δύναμη που ασκείται αποτελεί δύναμη επαναφοράς στο σημείο ισορροπίας (α) και ακρότατου σημείου το οποίο αντιστοιχεί σε μέγιστο, η σταθερά του ελατηρίου, k είναι αρνητική, άρα η δύναμη που ασκείται δεν αποτελεί δύναμη επαναφοράς στο σημείο ισορροπίας (β).

ισορροπίας), όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.9α.

Σε αντίθεση με τα αντιδρώντα και τα προϊόντα, τα οποία αντιστοιχούν σε ελάχιστα στην επιφάνεια δυναμικής ενέργειας, οι μεταβατικές καταστάσεις αντιστοιχούν σε μέγιστα. Γι' αυτό τον λόγο, η δεύτερη παράγωγος της ενέργειας μιας μεταβατικής δομής πρέπει να είναι αρνητική, και επομένως, η συχνότητα του υπό μελέτη δεσμού, πρέπει να είναι φανταστικός αριθμός, σύμφωνα με την Εξίσωση 6.19. Σε ένα μέγιστο σημείο, δεν υπάρχει δύναμη επαναφοράς στο σημείο ισορροπίας, όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.9β. Για να εντοπιστεί μία μεταβατική κατάσταση η οποία συνδέει τα υπό μελέτη αντιδρώντα με τα επιθυμητά προϊόντα, πρέπει να ελεγχθεί πως όχι μόνο η συχνότητα δόνησης είναι φανταστικός αριθμός, αλλά και πως η δόνηση στην οποία αντιστοιχεί περιγράφει την χημική μεταβολή που μας ενδιαφέρει. Ο έλεγχος αυτός γίνεται με τη βοήθεια κάποιου προγράμματος υπολογιστικής χημείας, όπως θα εξεταστεί παρακάτω.

Το επόμενο βήμα κατά τη μελέτη του μηχανισμού μιας χημικής αντίδρασης είναι η θερμοχημική ανάλυση. Τα αποτελέσματα των υπολογισμών της συχνότητας εμπεριέχουν την ενέργεια μηδενικού σημείου και θερμικές διορθώσεις στις υπολογισμένες ηλεκτρονικές ενέργειες. Χρησιμοποιώντας συνήθη μοντέλα για τον υπολογισμό των μεταφορικών και περιστροφικών συνεισφορών στην ενέργεια, όπως το μοντέλο του σωματιδίου σε κουτί ή του περιστρεφόμενου αλτήρα, μπορεί να υπολογιστεί η ενθαλπία και η ελεύθερη ενέργεια Gibbs μια χημικής αντίδρασης. Η συνεισφορά μηδενικού σημείου αφορά σε διορθώσεις στην ηλεκτρονική ενέργεια που σχετίζονται με τις δονήσεις του δεσμού που είναι πάντοτε παρούσες, ακόμα και στο απόλυτο μηδέν, δηλαδή τους 0 βαθμούς Kelvin. Αντίστοιχα, υπολογίζονται θερμικές διορθώσεις που σχετίζονται με τη μεταφορική, την περιστροφική και τη δονητική ενέργεια σε κανονική πίεση και θερμοκρασία (θερμοκρασία 298,15K και πίεση 1atm). Συνυπολογίζοντας όλες αυτές τις διορθώσεις στην ηλεκτρονική ενέργεια των αντιδρώντων και των προϊόντων, μπορεί να προσδιοριστεί η μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια Gibbs, ΔG , του βήματος της αντίδρασης που μελετάται. Αν έχει προσδιοριστεί και η μεταβατική κατάσταση που συνδέει αντιδρώντα με προϊόντα, μπορεί να υπολογιστεί και η ενέργεια ενεργοποίησης ΔG^\ddagger , εκτιμώντας με αυτόν τον τρόπο και την κινητική της αντίδρασης. Η παραπάνω διαδικασία, παρουσιάζεται σχηματικά στο Σχήμα 6.10.

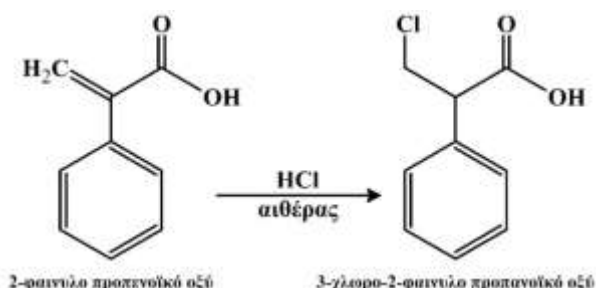


Σχήμα 6.10 Σχηματική αναπαράσταση της μελέτης χημικής αντίδρασης, η οποία μεταβαίνει από το αντιδρών, *R*, στο προϊόν, *P*, μέσω μιας μεταβατικής κατάστασης, *TS*. Παρουσιάζεται επίσης η μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια Gibbs της αντίδρασης, ΔG , καθώς και στην ενέργεια ενεργοποίησης, ΔG^\ddagger .

Η παραπάνω διεργασία αναφέρεται σε αέριες συνθήκες. Στην περίπτωση διαλύματος (όπως λαμβάνουν χώρα συνήθως οι χημικές αντιδράσεις), πρέπει να ληφθεί υπόψη και η ενέργεια επιδιαλύτωσης. Αυτό γίνεται συνήθως μέσω του Μοντέλου Πολώσιμου Συνεχούς (Polarizable Continuum Model – PCM). Σε αυτό το μοντέλο, ο διαλύτης αντιμετωπίζεται ως ένα πολώσιμο συνεχές μέσο και περιγράφεται από την διηλεκτρική σταθερά, π.χ. για να χρησιμοποιηθεί το νερό ως διαλύτης ορίζεται η διηλεκτρική σταθερά του νερού.

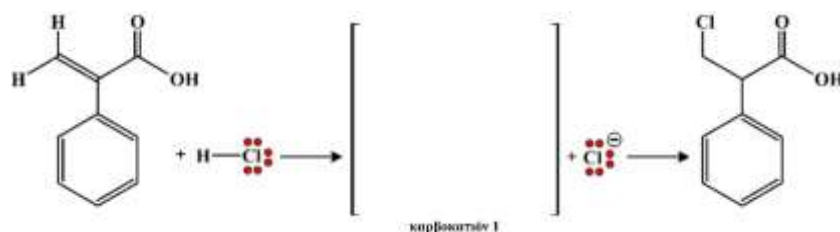
Παράδειγμα: Μελέτη της σύνθεσης του 3-χλωρο-2-φαινυλο-προπανοϊκού οξέος από το 2-φαινυλο-προπενοϊκό οξύ

Η αντίδραση που θα μελετηθεί είναι μία αντίδραση ηλεκτρονιόφιλης προσθήκης. Πρόκειται για τη σύνθεση του 3-χλωρο-2-φαινυλο-προπανοϊκού οξέος από το 2-φαινυλο-προπενοϊκό οξύ με την προσθήκη αερίου υδροχλωρικού οξέος σε αιθέρα, η οποία δεν ακολουθεί τον κανόνα του Μαρκοννίκου όπως θα περιμέναμε (Σχήμα 6.11).

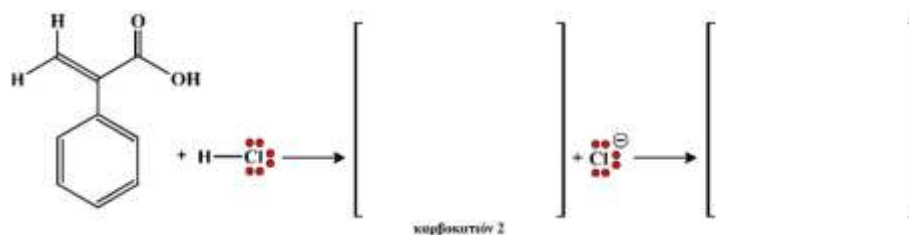


Σχήμα 6.11 Σύνθεση του 3-χλωρο-2-φαινυλο-προπανοϊκού οξέος από το 2-φαινυλο-προπενοϊκό οξύ με προσθήκη αερίου υδροχλωρικού οξέος σε αιθέρα.

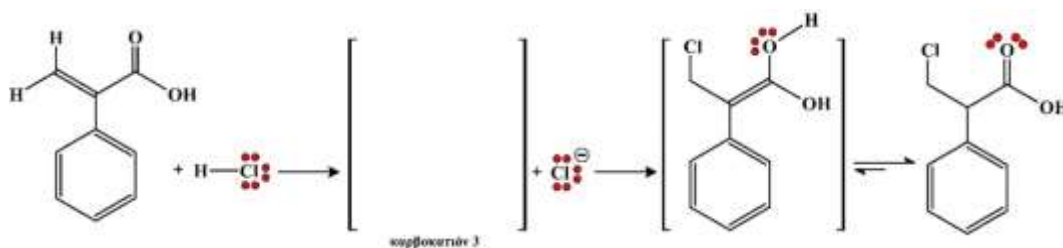
Σχεδιάστε τον μηχανισμό της αντίδρασης ηλεκτρονιόφιλης προσθήκης που οδηγεί στο παρατηρούμενο προϊόν.



Ποιο προϊόν θα παρατηρούσατε αν η αντίδραση ακολουθούσε τον κανόνα του Μαρκοννίκου;



Ένας εναλλακτικός μηχανισμός που οδηγεί στο παρατηρούμενο προϊόν είναι αυτός της 1,4 προσθήκης. Δηλαδή να πρωτονιωθεί πρώτα το οξυγόνο του καρβοξυλίου κι έπειτα η ενοδιόλη που θα προκύψει να ταυτομεριστεί στο τελικό προϊόν. Σχεδιάστε το ενδιάμεσο προϊόν που θα προκύψει αν ακολουθηθεί ο εναλλακτικός μηχανισμός της 1,4 προσθήκης.



6.2.4.1 Εφαρμογή με το πρόγραμμα υπολογιστικής χημείας ORCA

Σε αυτή την εφαρμογή θα γίνει χρήση της DFT με σκοπό να υπολογιστεί η ενέργεια του ενδιάμεσου προϊόντος που προκύπτει από τον καθένα διαφορετικό μηχανισμό. Ανάλογα με το ποιο προϊόν είναι ενεργειακά σταθερότερο θα προσδιοριστεί ο επικρατέστερος μηχανισμός. Επομένως θα σχεδιαστούν τα τρία πιθανά καρβοκατιόντα που αντιστοιχούν στους μηχανισμούς που αναφέρθηκαν, θα πραγματοποιηθεί βελτιστοποίηση δομής και θα υπολογιστεί η ενέργεια του κάθε ενός καρβοκατιόντος ώστε να συγκριθούν ενεργειακά. Τα βήματα για την υλοποίηση της εφαρμογής είναι τα εξής:

♦ Σε ένα πρόγραμμα υπολογιστικής χημείας (π.χ. το Avogadro, για το οποίο μπορείτε να βρείτε οδηγίες στη διεύθυνση https://www.orcasoftware.de/tutorials_orca/first_steps/GUI.html) σχεδιάστε τα τρία καρβοκατιόντα που εμπλέκονται στους πιθανούς μηχανισμούς της αντίδρασης και αποθηκεύστε το μόριο που σχεδιάσατε σε μορφή .xyz. Αυτή η μορφή αρχείου περιέχει τον συνολικό αριθμό των ατόμων του μορίου που σχεδιάσατε, ακολουθούμενη από κάθε άτομο ξεχωριστά με τις αντίστοιχες καρτεσιανές συντεταγμένες (x,y,z) που αντιστοιχούν. Ένα παράδειγμα παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.12.


```

carbo1 - Notepad
File Edit Format View Help
20
C      -3.51500      -0.58900      -0.13100
C      -2.12000      -0.58900      -0.13100
C      -1.42300       0.61800      -0.13100
C      -2.12000       1.82700      -0.13200
C      -3.51500       1.82700      -0.13200
C      -4.21300       0.61900      -0.13100
H      -4.06500      -1.54200      -0.13000
H      -1.57100      -1.54200      -0.12900
H      -1.57000       2.77900      -0.13200
H      -4.06500       2.77900      -0.13300
H      -5.31200       0.61900      -0.13100
C       0.11700       0.61800      -0.13000
H       0.47500       0.63100      -1.13800
C       0.63000       1.86700       0.61200
H       1.67700       1.76100       0.80700
H       0.10400       1.97300       1.53700
C       0.63000      -0.64800       0.58100
O      -0.03500      -0.79100       1.83900
O       2.03900      -0.53500       0.79800
H       2.46600      -1.36500       0.57200

```

Σχήμα 6.12 Παράδειγμα αρχείου της μορφής .xyz.

♦ Για να χρησιμοποιήσετε το πρόγραμμα ORCA, θα πρέπει να το κατεβάσετε από τη διεύθυνση https://www.orcasoftware.de/tutorials_orca/first_steps/install.html και να το εγκαταστήσετε στον υπολογιστή σας, ανάλογα με το λειτουργικό σύστημα (Windows, Linux, Mac) το οποίο χρησιμοποιείτε. Το πρόγραμμα διατίθεται δωρεάν και απαιτείται απλώς εγγραφή με το email σας. Η εγγραφή μπορεί να πραγματοποιηθεί ακολουθώντας τις οδηγίες που θα βρείτε στη διεύθυνση <https://orcaforum.kofo.mpg.de/app.php/portal>.

♦ Το επόμενο βήμα είναι, χρησιμοποιώντας τη γεωμετρία των μορίων που σχεδιάσατε, να μετατρέψετε τα αρχεία .xyz στην κατάλληλη μορφή ώστε να χρησιμοποιηθούν ως αρχεία εισόδου (input) για γεωμετρική βελτιστοποίηση με το πρόγραμμα ORCA. Για κάθε ένα καρβοκατιόν ξεχωριστά, ανοίξτε το αρχείο .xyz με το notepad (ή κάποιο αντίστοιχο κειμενογράφο) και μετατρέψτε το στην ακόλουθη μορφή, διατηρώντας τη γεωμετρία του μορίου ακριβώς όπως καθορίστηκε από το αρχείο .xyz, απαλείφοντας όμως το συνολικό αριθμό των ατόμων. Συγκεκριμένα, για έναν υπολογισμό γεωμετρικής βελτιστοποίησης με τη μέθοδο DFT, χρησιμοποιείτε το συναρτησιακό B3LYP και τη σύνολο βάσης 3-21G, αρκεί να προσθέσετε τις παρακάτω γραμμές στην αρχή του αρχείου .xyz που έχετε δημιουργήσει:

!B3LYP 3-21G OPT

*** xyz 1 1**

καθώς και να προσθέσετε έναν αστερίσκο στο τέλος του αρχείου. Το αρχείο input που θα δημιουργήσετε θα πρέπει να έχει τελικώς την μορφή που παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.13.


```

carbo1 - Copy - Notepad
File Edit Format View Help
!B3LYP 3-21G OPT
* xyz 1 1
C      -3.51500      -0.58900      -0.13100
C      -2.12000      -0.58900      -0.13100
C      -1.42300       0.61800      -0.13100
C      -2.12000       1.82700      -0.13200
C      -3.51500       1.82700      -0.13200
C      -4.21300       0.61900      -0.13100
H      -4.06500      -1.54200      -0.13000
H      -1.57100      -1.54200      -0.12900
H      -1.57000       2.77900      -0.13200
H      -4.06500       2.77900      -0.13300
H      -5.31200       0.61900      -0.13100
C       0.11700       0.61800      -0.13000
H       0.47500       0.63100     -1.13800
C       0.63000       1.86700       0.61200
H       1.67700       1.76100       0.80700
H       0.10400       1.97300       1.53700
C       0.63000      -0.64800       0.58100
O      -0.03500      -0.79100       1.83900
O       2.03900      -0.53500      -0.79800
H       2.46600      -1.36500       0.57200
*
Ln 20, Col 49    100%    Windows (CRLF)    UTF-8

```

Σχήμα 6.13 Παράδειγμα αρχείου input για γεωμετρική βελτιστοποίηση με το υπολογιστικό πρόγραμμα ORCA, τη μέθοδο DFT, το συναρτησιακό B3LYP και το σύνολο βάσης 3–21G.

Ακολουθεί σύντομη επεξήγηση:

♦ Το αρχείο ξεκινά με ένα θαυμαστικό, έπειτα από το οποίο δηλώνεται η μέθοδος που θα χρησιμοποιηθεί (!B3LYP), ακολουθούμενο από ένα κενό κι έπειτα το σύνολο βάσης που θα χρησιμοποιηθεί (3–21G). Έπειτα από ένα ακόμη κενό, δηλώνεται η διαδικασία που θα ακολουθηθεί, στην προκειμένη περίπτωση, η βελτιστοποίηση της γεωμετρίας του μορίου (OPT). Στην επόμενη γραμμή, η οποία ξεκινά με έναν αστερίσκο, έπειτα από ένα κενό δηλώνεται ο τύπος των συντεταγμένων, ο οποίος στην προκειμένη περίπτωση είναι οι καρτεσιανές συντεταγμένες (xyz), ακολουθεί κενό κι έπειτα δηλώνεται το φορτίο της ένωσης και η πολλαπλότητα spin (1 1). Η πολλαπλότητα spin προκύπτει από τον ολικό αριθμό spin σύμφωνα με τη σχέση $2S + 1$. Στην προκειμένη περίπτωση είναι καρβοκατιόν, άρα φέρει φορτίο +1, χωρίς ασύζευκτα ηλεκτρόνια, επομένως με πολλαπλότητα spin 1. Στην επόμενη γραμμή ορίζονται οι συντεταγμένες του μορίου, ακριβώς όπως υπήρχαν στο αρχείο .xyz, ακολουθούμενες από ένα κενό στο τέλος του αρχείου. Δημιουργήστε ένα αντίγραφο αυτού του αρχείου γιατί μετά το πέρας του υπολογισμού μπορεί να διαγραφεί.

♦ Για να πραγματοποιήσετε τον υπολογισμό, αν εργάζεστε σε υπολογιστή που λειτουργεί με το λογισμικό Windows, ανοίξτε ένα παράθυρο Windows prompt (στην αναζήτηση στην έναρξη των Windows γράψτε prompt και θα βρείτε το σχετικό παράθυρο) και πληκτρολογήστε `orca filename.xyz > filename.out`, όπου filename τοποθετήστε το όνομα του αρχείου που δημιουργήσατε. Προσοχή να γραφεί το σωστό extension, π.χ `carbo1.xyz` αν πρόκειται για αρχείο .xyz ή `carbo1.txt` αν πρόκειται για αρχείο .txt κ.ο.κ. Ένα παράδειγμα πραγματοποίησης του υπολογισμού σε λειτουργικό Windows παρατίθεται στο Σχήμα 6.14.

```
C:\Users\safia\Dropbox\Post-Dock\TheoreticalChemistryBook\kef4kvantol\
run_files\test>orca carbo1.txt > carbo1.out
```

Σχήμα 6.14 Παράδειγμα πραγματοποίησης του υπολογισμού γεωμετρικής βελτιστοποίησης σε λειτουργικό Windows.

♦ Αν πραγματοποιηθούν σωστά τα παραπάνω βήματα, θα αρχίσει να εκτελείται ο υπολογισμός και ο κέρσορας σας θα μεταφερθεί μία γραμμή κάτω από εκεί που γράψατε filename.xyz > filename.out. Μετά από λίγα λεπτά, ανάλογα με την υπολογιστική ισχύ του υπολογιστή στον οποίο γίνεται ο υπολογισμός, θα ολοκληρωθεί η βελτιστοποίηση και θα παρατηρήσετε μία καινούρια γραμμή κάτω από εκεί που γράψατε filename.xyz > filename.out, όπως φαίνεται στο Σχήμα 6.15.

```
C:\Users\safia\Dropbox\Post-Dock\TheoreticalChemistryBook\kef4kvantol\
run_files\test>orca carbo1.txt > carbo1.out

C:\Users\safia\Dropbox\Post-Dock\TheoreticalChemistryBook\kef4kvantol\
run_files\test>■
```

Σχήμα 6.15 Παράδειγμα ολοκλήρωσης του υπολογισμού γεωμετρικής βελτιστοποίησης σε λειτουργικό Windows.

♦ Στον φάκελο όπου πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός, θα έχει δημιουργηθεί το αρχείο filename.out, το οποίο περιέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την ενέργεια και τη βέλτιστη γεωμετρία. Επίσης θα έχει δημιουργηθεί ένα νέο αρχείο filename.xyz το οποίο θα περιέχει την τελική βέλτιστη γεωμετρία. Για να ελέγξετε ότι ο υπολογισμός ολοκληρώθηκε επιτυχώς ανοίξτε το αρχείο filename.out και θα παρατηρήσετε το μήνυμα «****ORCA TERMINATED NORMALLY****» στο τέλος του αρχείου.

♦ Για να βρείτε την τελική ενέργεια του καρβοκατιόντος, ανοίξτε το αρχείο filename.out με το notepad ή κάποιον άλλο κειμενογράφο και ψάξτε για την πρόταση: «FINAL SINGLE POINT ENERGY». Σημειώστε την τιμή που θα βρείτε.

♦ Επαναλάβετε και για τα άλλα 2 καρβοκατιόντα. Ποιο ενδιάμεσο καρβοκατιόν έχει τη χαμηλότερη ενέργεια; Τι συμπεράσματα προκύπτουν για τον μηχανισμό της αντίδρασης;

Βιβλιογραφία / Αναφορές

1. Atkins P., Friedman R. (2011). *Molecular Quantum Mechanics*, 5th edition. Oxford
2. Mennucci B. (2002). Hydrogen bond versus polar effects: An *ab initio* analysis on $n \rightarrow \pi^*$ absorption spectra and N nuclear shieldings of diazines in solution. *J. Am. Chem. Soc.*, 124(7), 1506–1515.
3. Hohenberg P., Kohn W. (1964). Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review*, 136(3B), B864–B871.
4. Kohn W., Sham L.J. (1965) Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review*, 140(4A), A1133–A1138.
5. Vosko S.H., Wilk L., Nusair M. (1980). Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. *Can. J. Phys.*, 58(8), 1200–1211.
6. Perdew J.P., Wang Y. (1992). Accurate and simple analytic representation of the electron–gas correlation energy. *Physical Review B*, 45(23), 13244–13249.
7. Becke A.D. (1988). Density–functional exchange–energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*, 38(6), 3098–3100.
8. Lee C., Yang W., Parr R.G. (1988). Development of the Colle–Salvetti correlation–energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 37(2), 785–789.
9. Becke A.D. (1993). A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. *J. Chem. Phys.*, 98(2), 1372–1377.
10. Zhao Y., Truhlar D.G. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06–class functionals and 12 other functionals. *Theor. Chem. Account*, 120, 215–241.
11. Elliott P., Furche F., Burke K. (2009). Excited States from Time–Dependent Density Functional Theory. *Reviews in Computational Chemistry*, 26, 91–165.
12. Runge E., Gross E.K.U. (1984). Density–Functional Theory for Time–Dependent Systems. *Physical Review Letters*, 52(12), 997–1000.

Κριτήρια αξιολόγησης

6.1 Ερωτήσεις– Ασκήσεις

1. Γιατί δεν μπορούμε να μελετήσουμε χημικές αντιδράσεις με μεθόδους κλασικής Νευτώνειας μηχανικής;
2. Να αναγράψετε την εξίσωση Schrödinger και να εξηγήσετε τι σημαίνει ο κάθε όρος που την απαρτίζει.
3. Ποιες είναι οι κύριες προσεγγίσεις που χρησιμοποιούμε κατά την επίλυση της εξίσωσης Schrödinger;
4. Να περιγραφούν η αρχή της μη–διακριτότητας και η αρχή της αντισυμμετρίας.
5. Να περιγραφεί η μέθοδος Αυτοσυνεπούς Πεδίου.
6. Με ποιον τρόπο περιγράφουμε τα τροχιακά στην υπολογιστική χημεία;
7. Ποια είναι η κύρια διαφορά της DFT και των μεθόδων που βασίζονται στην κυματοσυνάρτηση;
8. Να περιγράψετε τα διαφορετικά είδη συναρτησιακών που είναι διαθέσιμα.
9. Θα μπορούσατε να μελετήσετε ένα φαινόμενο φωσφορισμού με χρονικώς ανεξάρτητη DFT; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.
10. Περιγράψτε τη μεθοδολογία με την οποία μελετάται ο μηχανισμός μια αντίδρασης με υπολογιστική χημεία.
11. Τι είναι τα σύνολα βάσης;

6.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

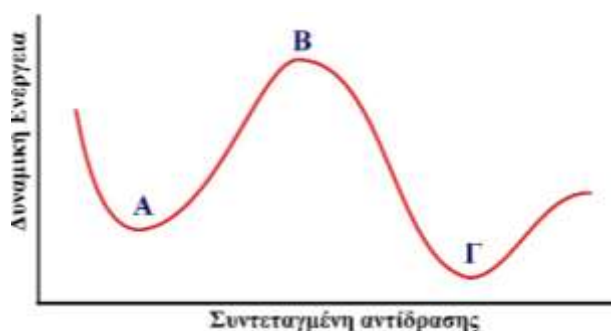
Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Η προσέγγιση Born–Oppenheimer επιτρέπει να μελετήσουμε ένα σύστημα πολλών ηλεκτρονίων.
2. Στη μεθοδολογία DFT χρησιμοποιείται η έννοια του τροχιακού για να περιγραφούν τα ηλεκτρόνια ενός χημικού συστήματος.
3. Η ελαχιστοποίηση της ενέργειας ενός μορίου οδηγεί πάντοτε σε ολικό ελάχιστο στην επιφάνεια δυναμικής ενέργειας.
4. Κατά τη μελέτη του μηχανισμού μιας αντίδρασης μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα τόσο για τη θερμοδυναμική (ενέργεια) όσο και για την κινητική (ταχύτητα) της.

6.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση.

1. Στο παρακάτω διάγραμμα τα σημεία A, B, Γ αντιστοιχούν σε:



- α) A: προϊόν, B: μεταβατική κατάσταση, Γ: αντιδρών
- β) A: αντιδρών, B: μεταβατική κατάσταση, Γ: προϊόν
- γ) A: αντιδρών, B: ενδιάμεσο, Γ: μεταβατική κατάσταση
- δ) κανένα από τα παραπάνω

2. Στην παραπάνω εικόνα, ως συντεταγμένη αντίδρασης θα μπορούσε να εννοηθεί:

- α) η τιμή μιας γωνίας
- β) το μήκος ενός δεσμού
- γ) η δημιουργία ενός δεσμού
- δ) όλα τα παραπάνω

3. Τα σύνολα βάσης:

- α) αποτελούνται από μία γκαουσιανή συνάρτηση για κάθε τροχιακό του συστήματος
- β) χρησιμοποιούν ένα γραμμικό συνδυασμό γκαουσιανών συναρτήσεων για να περιγράψουν τα τροχιακά του συστήματος
- γ) είναι απαραίτητο να περιγράψουν πάντοτε με τον ίδιο τρόπο τα ηλεκτρόνια σθένους και τα εσωτερικά ηλεκτρόνια
- δ) δεν μπορούν να περιγράψουν περιπτώσεις όπως διεγερμένες καταστάσεις ή ανίοντα

4. Ο ορθότερος τρόπος να περιγραφεί η κυματοσυνάρτηση του Ηλίου (He) είναι ο εξής:

$$\alpha) \quad \Psi = \frac{1}{\sqrt{2}} [\chi_1(1)\chi_2(2) - \chi_1(2)\chi_2(1)]$$

$$\beta) \quad \Psi = \frac{1}{\sqrt{2}} [\chi_1(1)\chi_2(2) + \chi_1(2)\chi_2(1)]$$

$$\gamma) \quad \Psi = \chi_1(1)\chi_2(2)$$

$$\delta) \quad \Psi = \chi_1(2)\chi_2(1)$$

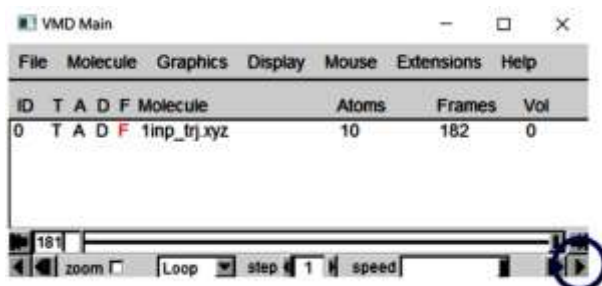
6.4 Ασκήσεις

1. Χρησιμοποιώντας τη θεωρία και το παράδειγμα της παραγράφου **Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.** να μελετήσετε τον μηχανισμό μετατροπής του 2-βρωμο-2-μεθυλο προπανίου σε 2-χλωρο-2-μεθυλο προπάνιο. Από τις γνώσεις σας στην οργανική χημεία να κρίνετε αν η αντίδραση προχωρά μέσω μηχανισμού SN_1 ή SN_2 . Εκτός από τα αντιδρώντα και τα προϊόντα, να ελαχιστοποιήσετε και τη γεωμετρία του κατάλληλου ενδιάμεσου ιόντος.

*Πριν προχωρήσετε σε ελαχιστοποίηση της ενέργειας του ενδιάμεσου καρβοιόντος με κβαντομηχανικό υπολογισμό, επιλέξτε μία από τις κλασικές μεθόδους ελαχιστοποίησης ενέργειας που δίνονται στο πρόγραμμα Avogadro ώστε να ξεκινήσετε με μία ενεργειακά πιο πρόσφορη αρχική δομή. Περισσότερα για της κλασικές μεθόδους ελαχιστοποίησης της ενέργειας θα δείτε στο Κεφάλαιο 4. Επίσης, έπειτα από τη γραμμή της μεθόδου στο input αρχείου σας, προσθέστε το εξής:

```
%geom
maxiter 500
end
```

Με αυτόν τον τρόπο, το πρόγραμμα θα πραγματοποιήσει 500 προσπάθειες να βελτιστοποιήσει τη γεωμετρία του μορίου



και όχι 50 που είναι η προκαθορισμένη επιλογή του προγράμματος.

2. Χρησιμοποιήστε το πρόγραμμα VMD για να παρατηρήσετε τις διαφορές στη γεωμετρία που προέκυψαν σε κάθε βήμα της ελαχιστοποίησης της ενέργειας. Για να το παρατηρήσετε, ανοίξτε στο VMD το αρχείο filename_trj.xyz και πιέστε το πλήκτρο «play», το οποίο σηματοδοτείται με έναν μπλε κύκλο στην παρακάτω εικόνα.

Κεφάλαιο 7

Μοριακή Πρόσδεση (Molecular Docking)



Σύνοψη

Η μοριακή πρόσδεση αποτελεί υπολογιστική μέθοδο μέσω της οποίας μπορεί να προβλεφθεί ο τρόπος με τον οποίο μια χημική ένωση, είτε ενδογενής προσδέτης ή υποψήφιο φάρμακο, μπορεί να διαταχθεί μέσα στην κοιλότητα του μακρομορίου (DNA/πρωτεΐνη), καθώς επίσης και το είδος των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που μπορεί να σχηματίσει με το μακρομόριο. Με τη χρήση των αλγορίθμων μοριακής πρόσδεσης μπορεί επίσης να προβλεφθεί η ελεύθερη ενέργεια πρόσδεσης του χημικού μορίου στο μακρομόριο, με βάση το πλήθος και τα είδη των διαμοριακών δυνάμεων που αναπτύσσονται μεταξύ του μακρομορίου και του χημικού μορίου. Κατ' αυτόν τον τρόπο, μπορεί να παρατηρηθεί αν το χημικό μόριο προσδέεται αυθόρμητα στις πρωτεΐνες/ένζυμα ή στο DNA/RNA των οργανισμών, αλλά και να προσδιοριστεί η ισχύς της πρόσδεσής του.

Προσπαιτούμενη γνώση

Φαρμακοχημεία, τρόπος δράσης φαρμακευτικών μορίων

7.1 Εισαγωγή

Η πλειοψηφία των φαρμάκων που είναι εμπορικά διαθέσιμα στην αγορά αποτελούν μόρια που στοχεύουν πρωτεΐνες των ανθρώπινων, βακτηριακών, ιϊκών, φυτικών και ζωικών οργανισμών. Ωστόσο, υπάρχουν και ορισμένα φάρμακα που στοχεύουν το γενετικό υλικό (DNA ή RNA) των οργανισμών. Η μοριακή πρόσδεση αποτελεί μέθοδο που χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της ελεύθερης ενέργειας πρόσδεσης (ΔG) των υποψήφιων φαρμακευτικών μορίων στα μακρομόρια στόχους. Η αρχή μεθόδου είναι η ίδια τόσο για τη μοριακή πρόσδεση χημικών μορίων στις πρωτεΐνες-υποδοχείς, όσο και για τη μοριακή πρόσδεση στο γενετικό υλικό (DNA/RNA).

Στους τομείς της βιολογίας και της βιοχημείας, η πρόσδεση του μορίου προσδέτη στον υποδοχέα επάγει συγκεκριμένο σήμα, που μεταφράζεται σε βιολογικό αποτέλεσμα. Έτσι, όταν μιλάμε για μόριο προσδέτη, εννοούμε κάποια ένωση, που συντίθεται από τον οργανισμό είτε κάποιο άλλο βιομόριο. Ωστόσο, στον τομέα της φαρμακοχημείας, ο προσδέτης περιορίζεται σε φαρμακευτικά μόρια (ΦΜ) ή δυνάμει φαρμακευτικά μόρια. Η γνώση των αλληλεπιδράσεων του φαρμακευτικού μορίου με τον υποδοχέα (Υ) σε μοριακό επίπεδο είναι ουσιαστική, προκειμένου να σχεδιασθούν καινοτόμα προϊόντα με βελτιωμένη φαρμακευτική δράση. Δεδομένου ότι ο υποδοχέας είναι ένα μεγάλο μοριακού βάρους μόριο (συνήθως πρωτεΐνη), είναι λογικό πως το ΦΜ θα προσδέεται σε κάποια συγκεκριμένη περιοχή του, η οποία ονομάζεται θήκη ή κοιλότητα πρόσδεσης ή ενεργό κέντρο του υποδοχέα.

Η κινητήρια δύναμη, που ωθεί την πρόσδεση των φαρμακευτικών μορίων στον υποδοχέα, είναι οι στερεοηλεκτρονιακές τους ιδιότητες. Αυτές είναι που προσδιορίζουν αν θα εξασκηθούν ελκτικές/απωστικές, στερικές ή ηλεκτροστατικές δυνάμεις. Οι διάφορες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις που παρατηρούνται, όταν τα φαρμακευτικά μόρια προσεγγίζουν τον υποδοχέα, είναι σημαντικές, γιατί στοχεύουν στη θεωρητική μελέτη και στον σχεδιασμό νέων φαρμακευτικών προϊόντων, μέσω γνώσης της μοριακής βάσης μίας ασθένειας.

Στον τομέα της φαρμακοχημείας, έχουν αναπτυχθεί δύο ερευνητικές, δραστηριότητες, που μελετούν τις φυσικοχημικές παραμέτρους μεταξύ Υ-ΦΜ.

Η πρώτη ερευνητική δραστηριότητα αναφέρεται σε στατιστική επεξεργασία και εφαρμογή αλγορίθμων μοριακής υπέρθεσης και διαμορφωτικής ανάλυσης βάσεων δεδομένων, σχέσεων δομής δράσης, κατά τις οποίες ο υποδοχέας δεν είναι γνωστός. Με γνώση τη βιοδραστικότητα των υπό μελέτη φαρμακευτικών μορίων, εξάγονται συμπεράσματα για τα φαρμακοφόρα τους τμήματα, εφαρμόζοντας ένα συνδυασμό υπερθετικών και στατιστικών κριτηρίων. Αφού καθορισθούν οι κρίσιμοι φυσικοχημικοί παράμετροι αλληλεπίδρασης και οι δομικές απαιτήσεις του άγνωστου υποδοχέα, προτείνονται νέες δομές, οι οποίες θα πληρούν καλύτερα τις φυσικοχημικές απαιτήσεις

πρόσδεσης.

Η δεύτερη ερευνητική δραστηριότητα αφορά την περίπτωση, όπου είναι γνωστή η διαμόρφωση του υποδοχέα από πειραματικές μελέτες κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ, ή με μελέτες μοντελοποίησης με βάση κάποιο άλλο πρωτεϊνικό υποδοχέα ομολόγου σειράς. Η τελευταία περίπτωση εφαρμόζεται κυρίως σε διαμεμβρανικούς υποδοχείς (π.χ. G-Protein Coupled Receptors, GPCRs), οι οποίοι είναι κατά κανόνα δύσκολο να κρυσταλλωθούν πειραματικά. Στην περίπτωση αυτή, η μελέτη πρόσδεσης πρέπει να γίνει σε ένα περιβάλλον, που προσομοιώνει τόσο τη λιποειδή διπλοστιβάδα της μεμβράνης, όσο και τον υποδοχέα. Η απουσία δεδομένων κρυστάλλωσης των συμπλόκων Υ-ΦΜ έχει ως αποτέλεσμα να αγνοείται η ακριβής θέση του ενεργού κέντρου του υποδοχέα. Στην περίπτωση αυτή, οι πληροφορίες που αντλούνται είναι μέσω *in vitro* πειραμάτων μετάλλαξης των αμινοξέων της πρωτεΐνης του υποδοχέα και μέσω λογισμικών ανίχνευσης πιθανών θέσεων πρόσδεσης σ' έναν υποδοχέα.

Η εφαρμογή ενεργειακών υπολογισμών μπορεί να επιβεβαιώσει τις *in vitro* και *in vivo* βιολογικές μελέτες ή ακόμη και να εξηγήσει τα αποτελέσματά τους. Η γνώση του δραστικού κέντρου και των ευνοϊκών αλληλεπιδράσεων Υ-ΦΜ βοηθά στον ορθολογικό σχεδιασμό μορίων, δηλαδή τον σχεδιασμό που βασίζεται στην κατανόηση της μοριακής βάσης της ασθένειας.

Στο κεφάλαιο αυτό θα μελετηθούν αρχικά τις δυνάμεις, που υφίστανται μεταξύ των μορίων του υποδοχέα και του προσδέτη και μπορούν να προκαλέσουν την αυθόρμητη σύμπλεξή τους. Στη συνέχεια, θα μελετηθούν επίσης τα λογισμικά ανίχνευσης ενεργών κέντρων σε υποδοχείς. Τέλος, θα αναφερθούν οι βασικότερες κατηγορίες των λογισμικών πρόσδεσης. Θα μελετηθούν οι μηχανισμοί λειτουργίας τους και τα διαφορετικά είδη πειραμάτων μοριακής πρόσδεσης που μπορούν να εκτελεστούν.

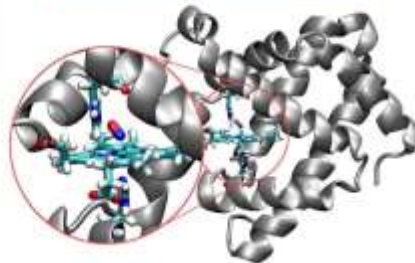
7.2 Στόχος πειράματος Μοριακής Πρόσδεσης

Η δράση των φαρμάκων οφείλεται στην πρόσδεσή τους σε συγκεκριμένα τμήματα των πρωτεϊνών, όπου δρουν είτε αναστέλλοντας είτε ενισχύοντας τη λειτουργία τους. Η πρόσδεση των φαρμακευτικών μορίων μπορεί να πραγματοποιηθεί με πολλούς τρόπους στα μακρομόρια-στόχους. Τα φαρμακευτικά μόρια προσδένονται στις πρωτεΐνες οι οποίες μπορούν να είναι ένζυμα ή υποδοχείς είτε ορθοστερικά (στο ενεργό κέντρο των ενζύμων) ή αλλοστερικά (σε περιοχές του ενζύμου διαφορετικές από το ενεργό κέντρο), τροποποιώντας τη δομή τους.

Υπάρχουν δύο μοντέλα, τα οποία ερμηνεύουν την πρόσδεση των φαρμακευτικών μορίων στα ένζυμα-στόχους. Τα μοντέλα αυτά είναι:

Το μοντέλο κλειδιού-κλειδαριάς (Rigid Docking)

Το πρώτο μοντέλο είναι εκείνο του κλειδιού-κλειδαριάς (Σχήμα 7.1) που προτάθηκε από τον Fischer το 1899, σύμφωνα με το οποίο, η δομή του ενεργού κέντρου του υποδοχέα είναι τέτοια, ώστε να προσαρμόζεται η χημική ένωση τέλεια στον υποδοχέα, όπως αντίστοιχα ένα κλειδί προσαρμόζεται τέλεια σε μια κλειδαριά. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, η δομή του ενζύμου παραμένει συμπαγής (rigid), ενώ η διαμόρφωση του χημικού μορίου μεταβάλλεται, ώστε να προσαρμοσθεί στο ενεργό κέντρο του ενζύμου.



Σχήμα 7.1 Μοντέλο «κλειδιού-κλειδαριάς». Όπως ένα κλειδί προσαρμόζεται τέλεια μέσα με μια κλειδαριά, έτσι και το φαρμακευτικό μόριο προσαρμόζεται με ανάλογη εκλεκτικότητα και εξειδίκευση στο ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης.

Το μοντέλο επαγόμενης πρόσδεσης (Induced Fit Docking)

Το δεύτερο μοντέλο είναι αυτό της επαγόμενης πρόσδεσης που προτάθηκε από τον Koshland το 1958 (Σχήμα 7.2). Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, θεωρείται ότι αρχικά πραγματοποιείται η πρόσδεση του χημικού μορίου στο ένζυμο και έπειτα οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ομάδων του μορίου και του ενεργού κέντρου προσαρμόζονται, ώστε να οδηγήσουν στην τέλεια εφαρμογή. Σε αυτή την περίπτωση μεταβάλλεται τόσο η διαμόρφωση του ενεργού ή αλλοστερικού κέντρου του ενζύμου, όσο και η διαμόρφωση του φαρμακευτικού μορίου.



Koshland Daniel Edward
(1920-2007)



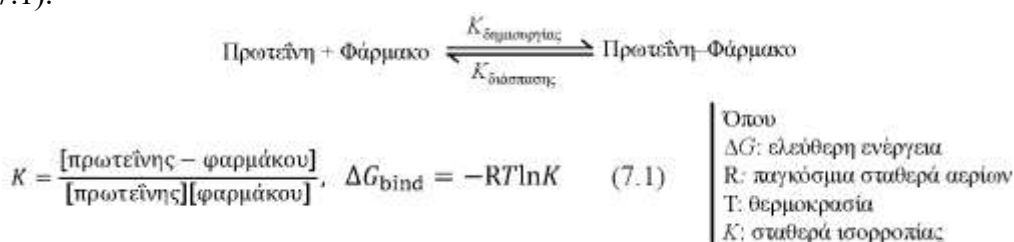
«Peace», Kaltenbach Stephen (1940-)



Σχήμα 7.2 Στο μοντέλο αυτό της «χειραψίας» τόσο το φαρμακευτικό μόριο όσο και το ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης προσαρμόζονται αμοιβαία ώστε να επιτυγχάνεται η καλύτερη δυνατή προσέγγιση.

Γενικά, στόχος του πειράματος μοριακής πρόσδεσης αποτελεί η πρόβλεψη των μοριακών αλληλεπιδράσεων που σχηματίζονται μεταξύ του μορίου και της πρωτεΐνης, αφού το μικρό μόριο έχει εισέλθει στην πρωτεΐνη. Η μοριακή πρόσδεση αποτελεί μέθοδο που επιτρέπει την πρόβλεψη της επικρατέστερης περιοχής της πρωτεΐνης που μπορεί να προσδεθεί το εκάστοτε μόριο.

Εκτός από την περιοχή της πρωτεΐνης που ευνοείται η πρόσδεση του κάθε μορίου, η συγκεκριμένη μέθοδος επιτρέπει τον υπολογισμό της ελεύθερης ενέργειας πρόσδεσης δημιουργίας του συμπλόκου ενζύμου–προσδέτη (ΔG_{bind}). Η τιμή αυτή επιτρέπει την πρόβλεψη της ισχύος της πρόσδεσης και παρέχει τη δυνατότητα εύρεσης νέων μορίων που προσδέονται ισχυρά στην κάθε πρωτεΐνη (Εξίσωση 7.1).



7.3 Είδη Διαμοριακών Δυνάμεων

Η ελεύθερη ενέργεια Gibbs, που χαρακτηρίζει την αλληλεπίδραση ενός φαρμακευτικού μορίου με τον υποδοχέα, είναι το άθροισμα των ηλεκτροστατικών (EI–Electrostatic Interactions), των επαγωγικών (II–Inductive Interactions), των μη–πολικών (NPI–Non Polar Interactions) και των υδροφοβικών (HI–Hydrophobic Interactions) αλληλεπιδράσεων μεταξύ των δύο μορίων, ελαττωμένο κατά τον όρο που εκφράζει την απώλεια ενέργειας ή εντροπίας κατά τη σύνδεση των μορίων (ΔG^*) (Εξίσωση 7.2).

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{EI} + \Delta G_{II} + \Delta G_{NPI} + \Delta G_{HI} - \Delta G^* \quad (7.2)$$

Όπου
ΔG : ελεύθερη ενέργεια Gibbs
λόγω αλληλεπιδράσεων...
ΔG_{EI} : ηλεκτροστατικών
ΔG_{II} : επαγωγικών
ΔG_{NPI} : μη πολικών
ΔG_{HI} : υδρόφοβων
ΔG^* : ενέργεια ή εντροπία
σύνδεσης μορίων

Ακολουθεί ανάλυση των αλληλεπιδράσεων, οι οποίες καθορίζουν την ελεύθερη ενέργεια της πρόσδεσης πρωτεΐνης–φαρμάκου.

7.3.1 Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις

7.3.1.1 Ιοντικές αλληλεπιδράσεις

Όταν τα μόρια βρίσκονται σε μεγάλη απόσταση μεταξύ τους, η δύναμη που τα έλκει να πλησιάσουν είναι ηλεκτροστατικής φύσης. Προκύπτει, δηλαδή, ως αποτέλεσμα της έλξης μεταξύ των πυρήνων και των ηλεκτρονίων των δύο μορίων (πρωτεΐνης–φαρμακευτικού μορίου). Η ελκτική αυτή δύναμη οδηγεί σε δημιουργία τριών βασικών τύπων αλληλεπιδράσεων,

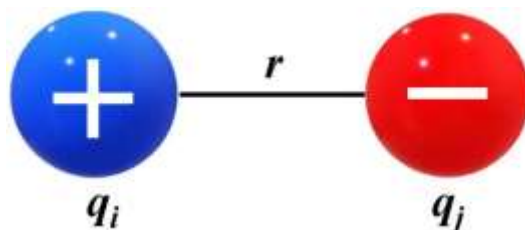
- ♦ της αλληλεπίδρασης κατιόντος–ανιόντος,
- ♦ της αλληλεπίδρασης ιόντος–διπόλου και
- ♦ της αλληλεπίδρασης διπόλου–διπόλου.

Από αυτές, οι κατιόντος–ιόντος είναι οι πιο σημαντικές, αφού τα περισσότερα φαρμακευτικά μόρια περιέχουν ανιοντικά τμήματα (καρβοξυλομάδες, ομάδες φωσφόρου), αλλά και κατιοντικά (αλειφατικές αμινομάδες) σε φυσιολογικό pH, τα οποία αλληλεπιδρούν πολύ ισχυρά με αντίθετα φορτισμένες ομάδες του υποδοχέα. Οι αλληλεπιδράσεις κατιόντος–ανιόντος είναι οι λιγότερο

διαδεδομένες, αφού τα ιόντα αυτά τείνουν να εξουδετερωθούν από αντίθετα φορισμένα ιόντα. Οι ιοντικές δυνάμεις μπορούν να περιγραφούν με τον νόμο του Coulomb (Εξίσωση 7.3) (Σχήμα 7.3).

$$E = \frac{1}{4\pi\epsilon} \frac{q_i q_j}{r^2} \quad (7.3)$$

Όπου
 q_i, q_j : τα φορτία των ιόντων
 ϵ : διηλεκτρική σταθερά
 r : απόσταση μεταξύ των δύο ιοντικών φορτίων



Σχήμα 7.3 Ιοντική αλληλεπίδραση μεταξύ δύο φορτίων που βρίσκονται σε απόσταση r .

Από την Εξίσωση 7.3 προκύπτει ότι η δύναμη της ιοντικής αλληλεπίδρασης είναι αντιστρόφως ανάλογη της απόστασης μεταξύ των δύο φορτίων και ανεξάρτητη από τον προσανατολισμό των δύο ιόντων. Από την ίδια εξίσωση προκύπτει επίσης ότι αυτού του είδους οι αλληλεπιδράσεις εξαρτώνται από τη διηλεκτρική σταθερά ϵ του περιβάλλοντος μέσου. Οι χαρακτηριστικές τιμές της σταθεράς αυτής δίνονται στον Πίνακα 7.1.

Πίνακας 7.1 Διηλεκτρικές σταθερές για συνήθη περιβάλλοντα μέσα

Διηλεκτρική σταθερά (ϵ)	Περιβάλλον μέσο
1	Αέρια φάση
2-3	Υδρόφοβο
28	Αλληλεπιδράσεις στην επιφάνεια της πρωτεΐνης
78	Υδατικό

Η διηλεκτρική σταθερά (ή σχετική ηλεκτρική διαπερατότητα) είναι χαρακτηριστικό του κάθε υλικού μέσου, άρα και του κάθε διαλύτη. Η διηλεκτρική σταθερά στο κενό είναι $\epsilon=1$ και στο νερό $\epsilon=78$. Συνήθως, οι πρωτεΐνες διαθέτουν υδρόφοβες κοιλότητες και η διηλεκτρική σταθερά που περιγράφει τις κοιλότητες αυτές είναι περίπου 2-3. Επομένως, η γνώση της διηλεκτρικής σταθεράς με την οποία περιγράφεται κάθε τμήμα της πρωτεΐνης είναι απαραίτητη για τα πειράματα μοριακής πρόσδεσης. Ακόμα και αν αναφερόμαστε σε ενεργά κέντρα, τα οποία βρίσκονται στο εσωτερικό των πρωτεϊνών, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η ύπαρξη μορίων νερού, καθώς επίσης και η περίπτωση που τα κέντρα αυτά είναι προσβάσιμα στον διαλύτη, ώστε να περιγραφεί με όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ακρίβεια η διηλεκτρική τους σταθερά στα πειράματα μοριακής πρόσδεσης.

7.3.1.2 Αλληλεπιδράσεις ιόντος–διπόλου και διπόλου–διπόλου

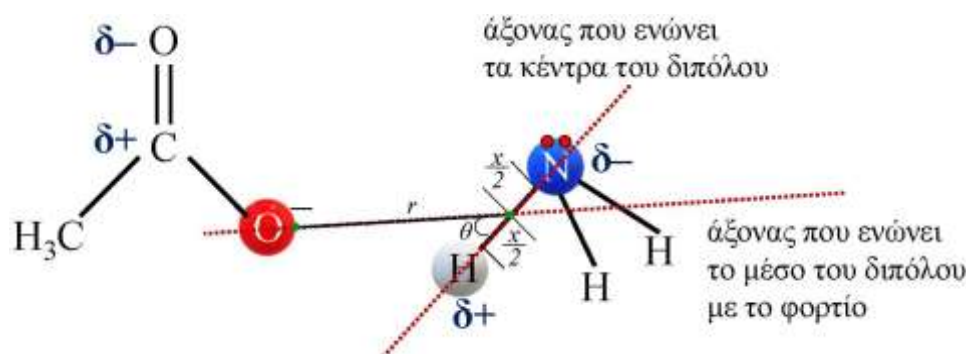
Οι αλληλεπιδράσεις ιόντος – διπόλου και διπόλου – διπόλου είναι ασθενέστερες από τους ιοντικούς δεσμούς, αλλά περισσότερο διαδεδομένες, γιατί εφαρμόζονται σε κάθε μόριο που παρουσιάζει ορισμένη διπολική ροπή. Δίπολα μόρια είναι τα μόρια που αποτελούνται από άτομα με διαφορετική τιμή ηλεκτραρνητικότητας. Το μεγαλύτερο ποσοστό των μορίων είναι δίπολα. Ένα δίπολο δημιουργείται λόγω της ύπαρξης μερικών φορτίων ($\delta+$, $\delta-$) επί των ατόμων και μπορεί να έλκεται από ιόντα (αλληλεπιδράσεις ιόντος–διπόλου) ή άλλα δίπολα (αλληλεπιδράσεις διπόλου–διπόλου).

Σε αντίθεση με την δύναμη της ιοντικής αλληλεπίδρασης, όπως περιγράφηκε στην Εξίσωση 7.3, οι αλληλεπιδράσεις ιόντος–διπόλου και διπόλου–διπόλου εξαρτώνται από τον προσανατολισμό των δύο φορτίων, ο οποίος ορίζει τη δύναμη ως ελκτική ή απωστική.

Οι εξισώσεις που περιγράφουν την ισχύ των αλληλεπιδράσεων ιόντος–διπόλου (Εξίσωση 7.4) (Σχήμα 7.4) και διπόλου–διπόλου (Εξίσωση 7.5) (Σχήμα 7.5) παρουσιάζονται παρακάτω.

$$E = \frac{z\mu}{4\pi\epsilon r^2} \cos\theta \quad (7.4)$$

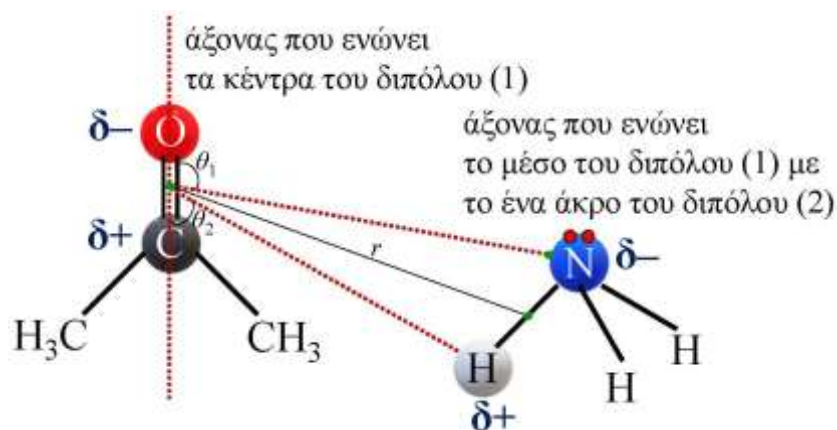
Όπου
 z : το φορτίο του ιόντος
 μ : διπολική ροπή
 ϵ : διηλεκτρική σταθερά του μέσου
 r : απόσταση μεταξύ των κέντρων των διπόλων
 θ : γωνία που σχηματίζεται μεταξύ του άξονα που ενώνει τα κέντρα του διπόλου και του άξονα που ενώνει το μέσο του διπόλου με το φορτίο



Σχήμα 7.4 Παράδειγμα ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης ιόντος (αποπρωτονιωμένη καρβοξυλομάδα)-διπόλου (αμμωνία). Ορισμός γωνίας θ που σχηματίζεται μεταξύ του άξονα που ενώνει τα κέντρα του διπόλου και του άξονα που ενώνει το μέσο του διπόλου με το φορτίο.

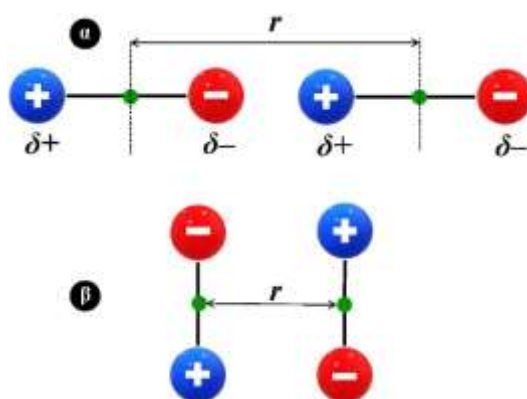
$$E = \frac{A\mu_1\mu_2}{4\pi\epsilon r^3} \cos\theta_1 \cos\theta_2 \quad (7.5)$$

Όπου
 A : γεωμετρική σταθερά που εξαρτάται από τον σχετικό προσανατολισμό των δύο διπόλων
 μ_1, μ_2 : διπολικές ροπές των διπόλων
 ϵ : διηλεκτρική σταθερά του μέσου
 r : απόσταση μεταξύ των κέντρων των διπόλων
 θ_1, θ_2 : γωνίες που σχηματίζονται μεταξύ του άξονα που ενώνει τα κέντρα του διπόλου (1) και του άξονα που ενώνει το μέσο του διπόλου (1) με τα άκρα του διπόλου (2)



Σχήμα 7.5 Παράδειγμα ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης διπόλου (προπανόνη)-διπόλου (αμμωνία).

Η ελκτική αλληλεπίδραση μεταξύ δύο διπόλων, προσανατολισμένων στην ίδια ευθεία (head to tail), είναι δύο φορές ισχυρότερη ($A=2$), σε σχέση με την περίπτωση προσανατολισμού τους σε παράλληλες θέσεις, όπως υποδεικνύεται στο Σχήμα 7.6.



Σχήμα 7.6 (α) Προσανατολισμός διπόλων στην ίδια ευθεία. (β) Προσανατολισμός διπόλων παράλληλα.

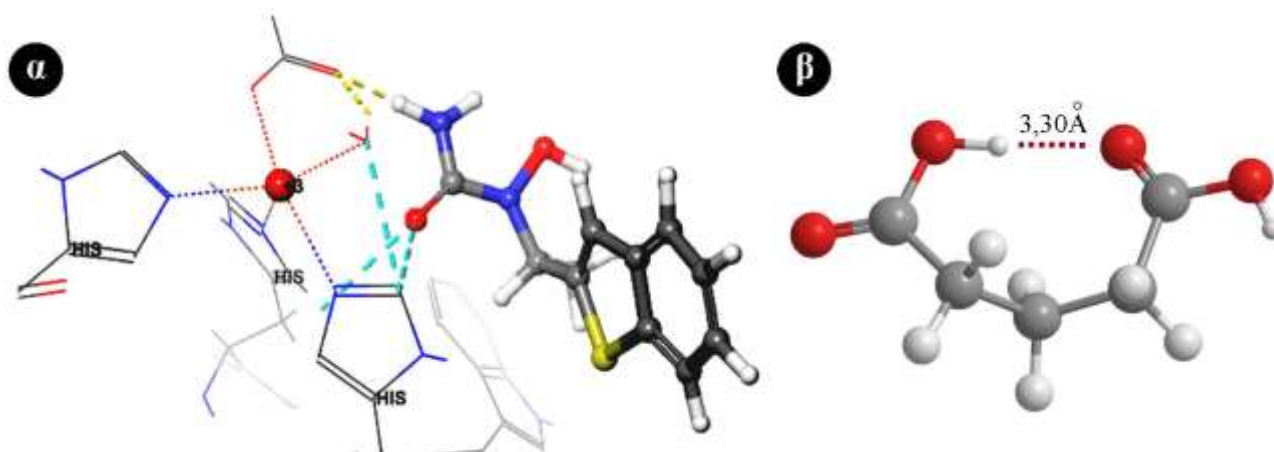
7.3.1.3 Δεσμοί Υδρογόνου

Οι δεσμοί υδρογόνου αποτελούν το ισχυρότερο είδος δυνάμεων διπόλου-διπόλου. Οι δεσμοί υδρογόνου αναλύθηκαν λεπτομερώς στην παράγραφο 4.2.2.7 του Κεφαλαίου 4. Οι δεσμοί υδρογόνου μπορεί να είναι διαμοριακοί ή ενδομοριακοί. Οι διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου συνεισφέρουν σημαντικά στην ισχύ της πρόσδεσης του φαρμάκου στην πρωτεΐνη (Σχήμα 7.7α), ενώ οι ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου, βοηθούν στην επικράτηση μιας συγκεκριμένης διαμόρφωσης του μορίου (Σχήμα 7.7β).

Η ενέργεια σχηματισμού δεσμού υδρογόνου εξαρτάται από τη γωνία που σχηματίζουν τα άτομα που συμμετέχουν στον δεσμό. Η ενέργεια γίνεται μέγιστη στην περίπτωση που τα άτομα είναι συνευθειακά (-30 kJ/mol).

Εκτός από τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των ατόμων που περιγράφηκαν παραπάνω, παρατηρείται η δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ υδρογόνων που ανήκουν σε αρωματικούς δακτυλίους και ηλεκτραρνητικών ατόμων που διαθέτουν ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων. Οι δεσμοί υδρογόνου είναι ηλεκτροστατικής φύσης, επομένως τα αρωματικά συστήματα, λόγω της μεγάλης

ηλεκτρονιακής τους πυκνότητας, μπορούν να δράσουν ως δέκτες δεσμών υδρογόνου. Οι δεσμοί αυτοί ονομάζονται αρωματικοί δεσμοί υδρογόνου και η ύπαρξή τους έχει ταυτοποιηθεί με φασματοσκοπία NMR, IR και *ab initio* υπολογισμούς. Η ισχύς των αρωματικών δεσμών υδρογόνου είναι ασθενέστερη (~ -10kJ/mol) από αυτή των κλασικών δεσμών υδρογόνου (~ 30 kJ/mol), ωστόσο αποτελούν έναν επιπλέον παράγοντα που συνεισφέρει στη μοριακή πρόσδεση των φαρμάκων στα ένζυμα (Σχήμα 7.7α).



Σχήμα 7.7 (α) Μοριακή πρόσδεση του αναστολέα «zileuton» στο ενεργό κέντρο της λιποξυγονάσης. Με κίτρινες διακεκομμένες γραμμές υποδεικνύονται οι δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζονται κατά την πρόσδεση μεταξύ της αμινομάδας του φαρμακευτικού μορίου και της καρβοξυλομάδας του ενεργού κέντρου. Με γαλάζιες διακεκομμένες γραμμές υποδεικνύονται οι αρωματικοί δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζονται μεταξύ των δύο πρωτονίων των αμινοξέων ιστιδίνης του ενεργού κέντρου (αρωματικά πρωτόνια) και της καρβοξυλομάδας του φαρμακευτικού μορίου. **(β)** Ενδομοριακός δεσμός υδρογόνου στο μόριο του πεντανοϊκού οξέος, ο οποίος σχηματίζεται μεταξύ του υδρογόνου της πρώτης καρβοξυλομάδας με το οξυγόνο του καρβονυλίου της δεύτερης καρβοξυλομάδας. Το μήκος του δεσμού υδρογόνου που περιγράφηκε είναι 3,30 Å.

7.3.2 Επαγόμενες αλληλεπιδράσεις

Ο σχηματισμός του συμπλέγματος μεταξύ του φαρμάκου και της πρωτεΐνης, συνήθως ακολουθείται από ανακατανομή φορτίου, είτε στο φαρμακευτικό μόριο ή στον υποδοχέα (φαινόμενο επαγόμενης πόλωσης), ή μεταξύ των δύο μορίων (φαινόμενο μεταφοράς φορτίου).

Η επαγόμενη πόλωση εμφανίζεται τη στιγμή, που ένα άπολο (ουδέτερο) άτομο ή μόριο βρεθεί στο πεδίο, που υπάρχει ένα μονίμως φορτισμένο ιόν ή δίπολο. Τότε ισχύει η σχέση

$$\mu_{\text{επ}} = \alpha \cdot E \quad (7.6)$$

Όπου

$\mu_{\text{επ}}$: επαγόμενη διπολική ροπή

α : σταθερά της μοριακής πολωσιμότητας

E : εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο

Για τα απομονωμένα άτομα, η σταθερά πολωσιμότητας είναι ισοτροπική, δηλαδή δεν εξαρτάται από τον προσανατολισμό του ατόμου σε σχέση με το πεδίο. Έτσι, το επαγόμενο δίπολο βρίσκεται στην κατεύθυνση του ηλεκτρικού πεδίου. Η σταθερά πολωσιμότητας ενός μορίου είναι συνήθως ανισοτροπική. Αυτό σημαίνει ότι ο προσανατολισμός του επαγόμενου διπόλου δεν είναι απαραίτητα στην ίδια διεύθυνση με αυτόν του ηλεκτρικού πεδίου. Η πολωσιμότητα ενός μορίου συνήθως θεωρείται ως σύστημα ισοτροπικών πολωμένων ατόμων ή ως ένα ισοτροπικό πολωμένο κέντρο.

Η συνεισφορά της επαγόμενης πόλωσης στη συνολική δυναμική ενέργεια δίνεται από την εξίσωση (Εξίσωση 7.7), στην περίπτωση που η πόλωση προκαλείται από ιόν και από την εξίσωση (Εξίσωση 7.8), όταν προκαλείται από δίπολο.

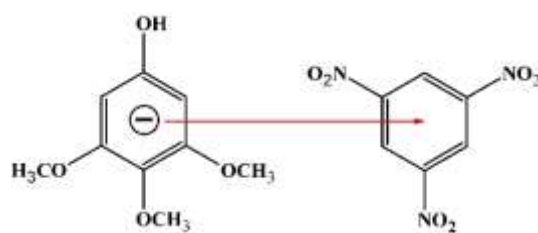
$$E \propto \frac{\alpha z^2}{D^2 r^4} \quad (7.7)$$

$$E \propto \frac{A \alpha \mu^2}{D^2 r^6} \quad (7.8)$$

Όπου
A: γεωμετρικός παράγοντας που σχετίζεται με τον προσανατολισμό των διπόλων
D: έκφραση της διηλεκτρικής σταθεράς (4πε)

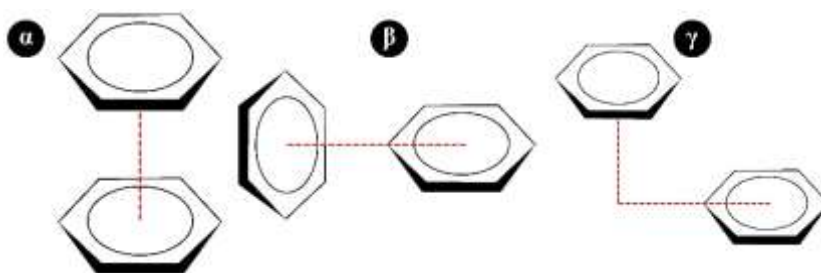
Η τιμή της μοριακής πολωσιμότητας (molecular polarizability), και στις δύο εξισώσεις, καθορίζεται με μετρήσεις της μοριακής διάθλασης, και ο γεωμετρικός παράγοντας εξαρτάται από τον σχετικό προσανατολισμό των διπόλων.

Το φαινόμενο μεταφοράς φορτίου λαμβάνει χώρα, όταν ένας δότης ηλεκτρονίων πλησιάσει αρκετά ένα δέκτη, ώστε να πραγματοποιηθεί μεταφορά ηλεκτρονίου από το μοριακό τροχιακό υψηλότερης ενέργειας (του δότη) σε κενό μοριακό τροχιακό χαμηλότερης ενέργειας (του δέκτη). Η ενέργεια αυτή εξαρτάται –σε εκθετικό βαθμό– από την απόσταση μεταξύ των ατόμων και σχετίζεται με τον προσανατολισμό της αλληλεπικάλυψης των τροχιακών. Οι δότες ηλεκτρονίων συνήθως είναι συστήματα πλεονάζοντα σε π ηλεκτρόνια (αλκένια, αλκύνια ή αρωματικοί δακτύλιοι με ηλεκτρονιοδοτικούς υποκαταστάτες). Αντίθετα, οι δέκτες είναι ελλειμματικοί σε ηλεκτρόνια π-τροχιακά (πουρίνες, πυριμιδίνες, αρωματικοί δακτύλιοι με ηλεκτρονιοελκτικούς υποκαταστάτες) (Σχήμα 7.8).



Σχήμα 7.8 Φαινόμενο μεταφοράς-φορτίου

Τα σύμπλοκα μεταφοράς φορτίου σταθεροποιούνται όταν τα μόρια περιέχουν επίπεδες επιφάνειες και υπάρχει ισχυρή αλληλεπικάλυψη των μοριακών τροχιακών. Στις αλληλεπιδράσεις μεταφοράς φορτίου συμπεριλαμβάνονται και οι αλληλεπιδράσεις π-π μεταξύ αρωματικών πυρήνων (stacking effect–φαινόμενο στίβαξης), όπως παριστάνεται στο Σχήμα 7.9.



Σχήμα 7.9 Σύμπλοκα μεταφοράς φορτίου, (α) παράλληλοι δακτύλιοι, (β) κάθετοι δακτύλιοι, (γ) οριζόντια μετατόπιση. Οι αρωματικοί δακτύλιοι στιβάζονται ή συσσωρεύονται όταν είναι παράλληλοι ή κάθετοι μεταξύ

7.3.3 Μη πολικές αλληλεπιδράσεις

Οι διαμοριακές δυνάμεις που περιγράφηκαν παραπάνω αφορούν μόρια που παρουσιάζουν διπολική ροπή ή αποκτούν στιγμιαία διπολική ροπή εξαιτίας της παρουσίας πολωμένου μορίου στο χημικό περιβάλλον (επαγόμενες αλληλεπιδράσεις). Ισχυρές αλληλεπιδράσεις εμφανίζονται και μεταξύ άπολων μορίων, ιδιαίτερα όταν αυτά βρίσκονται σε πολύ μικρές αποστάσεις μεταξύ τους.

Οι δυνάμεις London ή διασποράς, είναι ελκτικές δυνάμεις, οι οποίες εμφανίζονται μεταξύ μη πολικών μορίων. Η στιγμιαία πολικότητα των άπολων μορίων, η οποία οφείλεται στην κίνηση των ηλεκτρονίων τους, παρέχει τη δυνατότητα δημιουργίας παροδικών διπόλων στα άπολα μόρια. Τέτοια στιγμιαία δίπολα επηρεάζουν τα γειτονικά τους μόρια, δημιουργώντας αντίθετα φορτισμένα δίπολα με αποτέλεσμα να εμφανίζονται ελκτικές δυνάμεις. Οι δυνάμεις αυτές, αν και είναι ασθενείς, συνεισφέρουν συνολικά σε σημαντικό βαθμό στις μοριακές προσδέσεις, όταν η απόσταση μεταξύ των δύο μορίων είναι πολύ μικρή. Συγκεκριμένα, η ενέργεια είναι αντιστρόφως ανάλογη της έκτης δύναμης της απόστασης μεταξύ των άπολων μορίων. Οι δυνάμεις van der Waals περιγράφηκαν αναλυτικά στο Κεφάλαιο 4, στην υποπαράγραφο 4.2.2.6.

7.3.3.1 Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις περιγράφουν τη σχέση μεταξύ του νερού και των υδρόφοβων μορίων, δηλαδή των μορίων που παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα στο νερό. Τα υδρόφοβα μόρια είναι μη πολικά, και συνήθως αποτελούνται από μακριές ανθρακικές αλυσίδες και δεν αλληλεπιδρούν με τα μόρια του νερού. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το μίγμα νερού-λαδιού. Ένα τυπικό λάθος στην εξήγηση γιατί το παραπάνω μίγμα είναι διφασικό και δεν αναμειγνύεται είναι ότι οι van der Waals αλληλεπιδράσεις που σχηματίζονται μεταξύ των μορίων νερού και λαδιού είναι πολύ ασθενείς. Η πραγματική εξήγηση έγκειται στην ενθαλπία και την εντροπία, δηλαδή στους θερμοδυναμικούς όρους, της αντίδρασης.

Όταν δύο υδρόφοβα μόρια βρίσκονται σε υδατικό περιβάλλον, τείνουν να δημιουργούν «συσσωματώματα», αντί να επιδιαλυτώνεται κάθε υδρόφοβο μόριο με μόρια νερού. Όταν ένα άπολο μόριο τοποθετηθεί σε νερό, δημιουργούνται δυνάμεις μεταξύ των μορίων του νερού γύρω από το διαλυμένο μόριο, οι οποίες αντισταθμίζουν τις πιο αδύναμες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του νερού και της διαλυμένης σε αυτό ουσίας. Αυτό οδηγεί στην αυξανόμενη συγκέντρωση μορίων νερού γύρω από τη διαλυμένη ουσία, που συμπερασματικά οδηγεί σε αρνητική εντροπία διάλυσης. Η ελάττωση της εντροπίας είναι ανάλογη της μη πολικής επιφάνειας του μορίου. Η σύνδεση δύο μη πολικών μορίων στο νερό ελαττώνει τη συνολική επιφάνεια, που έρχεται σε επαφή με τον διαλύτη (νερό), παρέχοντας μια ευνοϊκή εντροπία για τη σύνδεσή τους.

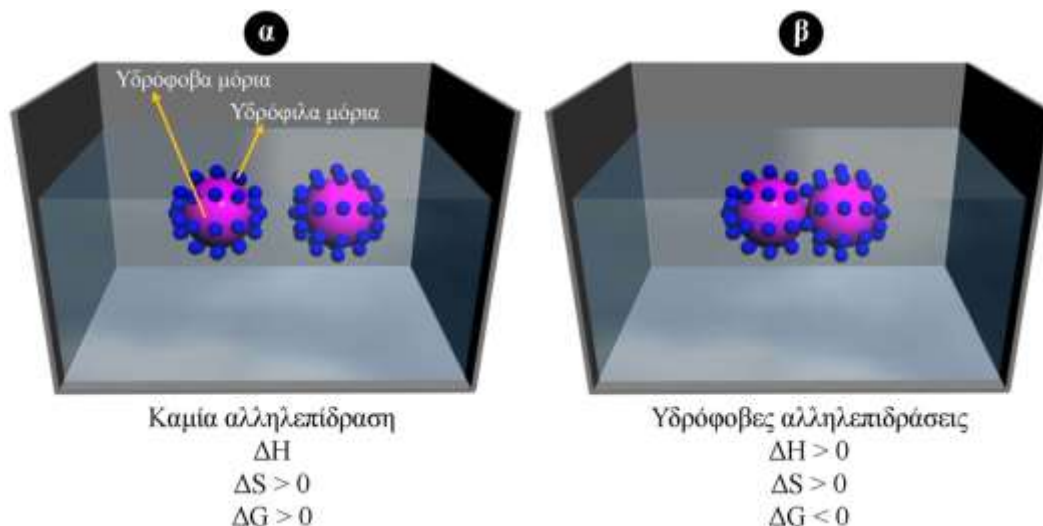
Αυτό συμβαίνει διότι, όταν ένα υδρόφοβο μόριο βρίσκεται σε νερό, οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των μορίων του νερού διασπώνται, ώστε να «χωρέσει» το υδρόφοβο μόριο ανάμεσα στα μόρια του διαλύτη. Η αντίδραση αυτή, διάσπασης δεσμού, αποτελεί ενδόθερμη αντίδραση. Επιπλέον, τα μόρια νερού δεν αλληλεπιδρούν με το υδρόφοβο μόριο, ώστε να δημιουργηθούν νέοι δεσμοί, με αποτέλεσμα να αντισταθμιστεί η ενέργεια αυτών που διασπάστηκαν. Τα μόρια νερού που εκτοπίστηκαν από το υδρόφοβο μόριο, δημιουργούν νέους δεσμούς υδρογόνου και μια κοιλότητα γύρω από το υδρόφοβο μόριο, όπως αυτή που εμφανίζεται στον πάγο, η οποία ονομάζεται «κοιλότητα εγκλωβισμού» (clathrate cage). Κατ' αυτόν τον τρόπο, προκύπτει μια περισσότερο οργανωμένη δομή του συστήματος, με μειωμένη εντροπία, $\Delta S < 0$.

Η μεταβολή της ενθαλπίας του συστήματος (ΔH) μπορεί να είναι αρνητική, μηδέν ή θετική, ανάλογα με το αν οι νέοι δεσμοί υδρογόνου που δημιουργούνται στη «δομή εγκλωβισμού» μπορούν να αντισταθμίσουν την ενέργεια εκείνων που διασπάστηκαν, προκειμένου να εισέλθει το υδρόφοβο μόριο στον διαλύτη. Συνήθως το πρόσημο της ΔG κρίνεται από τη μεταβολή της εντροπίας (Εξίσωση 7.9).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (7.9)$$

Όπου
 ΔG : μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας
 ΔH : μεταβολή της ενθαλπίας
 ΔS : μεταβολή της εντροπίας

Συμπερασματικά η άγνωστη τιμή της ΔH είναι μικρή και η αρνητική τιμή για τη ΔS είναι μεγάλη. Συνολικά, η συνολική τιμή της ελεύθερης ενέργειας (ΔG) θα είναι θετική. Η θετική τιμή της ελεύθερης ενέργειας υποδεικνύει ότι η παραπάνω μεταβολή δεν πραγματοποιείται αυθόρμητα (Σχήμα 7.10).



Σχήμα 7.10 (α) Δύο υδρόφοβα μόρια εισέρχονται σε υδατικό περιβάλλον, όπου καθένα επιδιαλύτωναται με μόρια νερού. Αυτή η επιδιαλύτωση δεν ευνοείται θερμοδυναμικά, καθώς όπως προκύπτει αποτελεί διεργασία, η οποία δεν πραγματοποιείται αυθόρμητα. (β) Δύο υδρόφοβα μόρια εισέρχονται σε υδατικό περιβάλλον, όπου σχηματίζουν μεταξύ τους «συσσωματώματα» λόγω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των υδρόφοβων τμημάτων. Τέλος, τα συσσωματώματα αυτά επιδιαλύτωναται με μόρια νερού, έτσι ώστε να επιτευχθεί η ελάχιστη επιφάνεια επαφής των υδρόφοβων μορίων με τα μόρια του διαλύτη. Η διεργασία αυτή

Οι παραπάνω παρατηρήσεις πραγματοποιήθηκαν για την περίπτωση της ύπαρξης υδρόφοβου μορίου σε υδατικό περιβάλλον (διαλύτη νερό).

Στη συνέχεια θα εξετάσουμε την περίπτωση που τα υδρόφοβα μόρια είναι περισσότερα από ένα σε υδατικό διαλύτη, ώστε να αντιληφθούμε τον σχηματισμό των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων. Όπως αναλύθηκε παραπάνω, η ανάμειξη υδρόφοβων μορίων στο νερό δεν πραγματοποιείται αυθόρμητα. Αντίθετα, ο σχηματισμός υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων αυτών πραγματοποιείται αυθόρμητα. Όταν τα υδρόφοβα μόρια βρίσκονται σε χωρική εγγύτητα, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και ο ενθαλπικός όρος αυξάνεται ($\Delta H > 0$), καθώς ορισμένοι δεσμοί υδρογόνου της «κοιλότητας εγκλωβισμού» διασπώνται. Από τη διάσπαση αυτών των δεσμών, προκύπτει και αύξηση της εντροπίας του συστήματος ($\Delta S > 0$). Συμπερασματικά, λόγω την εξίσωσης, αφού το ΔH έχει μικρή θετική τιμή και το ΔS μεγάλη θετική τιμή, το ΔG θα είναι αρνητικό. Επομένως, ο σχηματισμός υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων πραγματοποιείται αυθόρμητα σε υδατικό διάλυμα.

Η υδρόφοβη επίδραση μπορεί να υπολογιστεί με θεωρητικούς υπολογισμούς στατιστικής μηχανικής ή με προσομοιώσεις της ελεύθερης ενέργειας, αλλά και με εμπειρικό τρόπο από μετρήσεις της διαλυτότητας απλών υδρογονανθράκων σε νερό, των οποίων οι δομές αποτελούν τμήματα των περισσότερων φαρμακευτικών μορίων.

Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις είναι σχετικά πιο ασθενείς από τις υπόλοιπες ασθενείς αλληλεπιδράσεις (δηλαδή Van der Waals, δεσμοί υδρογόνου). Η ισχύς των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων (~0,1–0,2 kJ/mol) εξαρτάται από:

- ♦ Τη θερμοκρασία. Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία, αυξάνεται και η ισχύς των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων.

- ♦ Τον αριθμό των ανθράκων της ανθρακικής αλυσίδας. Όσο μεγαλύτερη είναι η ανθρακική αλυσίδα, τόσο αυξάνεται και η ισχύς των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων.

- ♦ Το σχήμα των υδρόφοβων μορίων. Τα αλειφατικά οργανικά μόρια σχηματίζουν ισχυρότερες υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις από τις αρωματικές ενώσεις. Η ύπαρξη διακλαδώσεων στην ανθρακική αλυσίδα μειώνει την ισχύ των αλληλεπιδράσεων, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης.

Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις είναι ιδιαίτερα σημαντικές στα βιολογικά συστήματα. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές αποτελούν τον λόγο που αναδιπλώνονται οι πρωτεΐνες στο υδατικό περιβάλλον του κυττάρου, καθώς επίσης και καθορίζουν τη διαμόρφωση που θα προσαρμόσει το φάρμακο στις κοιλότητες του ενζύμου.

7.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την πρόσδεση του φαρμακευτικού μορίου στο ένζυμο

7.4.1 Στερεοχημικοί παράγοντες

Οι κοιλότητες των πρωτεϊνών στις οποίες προσδένονται τα βιοδραστικά μόρια, είτε πρόκειται για ενεργά κέντρα ή για αλλοστερικά, έχουν καθορισμένο μέγεθος και χωρητικότητα. Επιπλέον, οι διαμορφώσεις των αμινοξέων και των πλευρικών τους αλυσίδων στο εσωτερικό των κοιλοτήτων δεν είναι καθορισμένες, οι αλυσίδες κινούνται σε υδατικό διάλυμα, τροποποιώντας τη διαμόρφωσή τους. Ως αποτέλεσμα, μεγάλου μοριακού βάρους φαρμακευτικά μόρια, αν δεν λάβουν την κατάλληλη διαμόρφωση δεν μπορούν να προσδεθούν σε συγκεκριμένη κοιλότητα του υποδοχέα, επομένως θεωρείται ανεπιτυχής η μοριακή πρόσδεση. Σε άλλες περιπτώσεις, αν το φαρμακευτικό μόριο δεν μπορεί να προσδεθεί στο ενεργό κέντρο, λόγω στερεοχημικών παρεμποδίσεων, ενδεχομένως να μπορεί να προσδεθεί σε κάποιο αλλοστερικό. Η διερεύνηση της διαμόρφωσης του ενεργού κέντρου των πρωτεϊνών, σε συγκεκριμένη θερμοκρασία, πίεση και pH είναι καθοριστικής σημασίας για τη διεξαγωγή πειραμάτων μοριακής πρόσδεσης. Η διαμόρφωση που επικρατεί στο ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης ορίζει τόσο την επιτυχία όσο και την ισχύ της πρόσδεσης των βιοδραστικών μορίων στα ενεργά ή αλλοστερικά κέντρα.

7.4.2 Παράγοντες που συντελούν στην ελάττωση της αυθόρμητης σύμπλεξης

Στην παράγραφο 3 του κεφαλαίου αυτού, αναλύθηκαν όλες οι ελκτικές δυνάμεις που μπορεί να ασκηθούν μεταξύ πρωτεΐνης–φαρμακευτικού μορίου, οι οποίες συνεισφέρουν στην ενίσχυση της μοριακής πρόσδεσης. Αντίθετα, κατά το πείραμα μοριακής πρόσδεσης, υπάρχουν παράγοντες που δρουν ανασταλτικά στην πρόσδεση του μορίου μειώνοντας την τιμή της ελεύθερης ενέργειας πρόσδεσης. Οι παράγοντες αυτοί είτε είναι εντροπικοί ή ενθαλπικοί. Για παράδειγμα, το μόριο που προσδένεται στην κοιλότητα ενός ενζύμου, χάνει την ελευθερία της περιστροφής, της μεταφοράς και της διαμόρφωσής του, γεγονός που οδηγεί σε μείωση της εντροπίας του συστήματος ($\Delta S < 0$). Αντίστοιχα, αύξηση της ενθαλπίας του συστήματος ($\Delta H > 0$) μπορεί να επιτευχθεί μετά τη συμπλοκοποίηση, στην περίπτωση που προκύπτει διαμόρφωση του μορίου που επιφέρει ισχυρότερη σύμπλεξη με την πρωτεΐνη ή με την εξώθερμη διάσπαση των δεσμών μεταξύ των μορίων του διαλύτη και των πολικών τμημάτων του βιοδραστικού μορίου.

Κατά τη συμπλοκοποίηση βιοδραστικού μορίου–πρωτεΐνης, το βιοδραστικό μόριο το οποίο χαρακτηρίζεται από 3 βαθμούς ελευθερίας περιστροφής και 3 βαθμούς ελευθερίας μεταφοράς, χάνει του βαθμούς ελευθερίας αυτούς, οι οποίοι αντικαταθίστανται από 6 βαθμούς ελευθερίας λόγω δόνησης του συμπλόκου. Για ένα τυπικό σύμπλοκο, η εκτιμώμενη αλλαγή στην ελεύθερη ενέργεια, λόγω της απώλειας της εντροπίας κατά την πρόσδεση στους 37 °C, κυμαίνεται από 12 kJ/mol για μια

χαλαρή πρόσδεση έως τα 60 kJ/mol για ένα ιδιαίτερα σταθερό σύμπλοκο. Στην περίπτωση άκαμπτων μορίων, για τα οποία δεν υπάρχει απώλεια εντροπίας λόγω διαμορφωτικών περιορισμών κατά την πρόσδεση, η σύμπλεξη είναι πιο αυθόρμητη ($\Delta G < 0$).

Από παρατηρήσεις της μεταβολής της εντροπίας σε αντιδράσεις κυκλοποίησης, υπολογίζεται πως ο βαθμός συνεισφοράς των διαμορφωτικών περιορισμών στην ελάττωση της εντροπίας είναι 5–6 kJmol⁻¹ για κάθε εσωτερική περιστροφή, και εξαρτάται από το πόσο σταθερό είναι το σχηματισμένο σύμπλεγμα μεταξύ του φαρμάκου και του υποδοχέα.

Οι διαμορφώσεις του υποδοχέα ή του φαρμακευτικού μορίου κατά την πρόσδεση μπορεί να είναι:

- ◆ Υψηλής ενέργειας,
- ◆ Χαμηλής ενέργειας (τοπικό ελάχιστο),
- ◆ Χαμηλότερης ενέργειας (ολικό ελάχιστο).

Στις πρώτες δύο περιπτώσεις, όπως είναι κατανοητό, θα παρατηρηθεί ελάττωση στο αυθόρμητο της ικανότητας σύμπλεξης σε σχέση με την τελευταία περίπτωση, όπου ο παράγοντας της διαμόρφωσης δεν αποτελεί συντελεστή ελάττωσης του αυθόρμητου της σύμπλεξης πρωτεΐνης–φαρμακευτικού μορίου. Τα παραπάνω παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 7.2.

Πίνακας 7.2 Περιπτώσεις ελάττωσης του βαθμού αυθόρμητης σύμπλεξης πρωτεΐνης-φαρμακευτικού μορίου

$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$	
Ενθαλπικοί παράγοντες που οδηγούν στη $\Delta H > 0$	Εντροπικοί παράγοντες που οδηγούν στη $T \cdot \Delta S < 0$
Τα μόρια συμπλέκονται με διαμορφώσεις υψηλής ενέργειας. Διάσπαση δεσμού διαλύτη ή φαρμακοφόρων τμημάτων του μορίου.	Περιορισμοί διαλύτη ή φαρμακοφόρων τμημάτων που συμπλέκονται... ◆ Περιστροφικοί ◆ Μεταφορικοί ◆ Διαμορφωτικοί

7.4.3 Η ολική ενέργεια της διαμοριακής αλληλεπίδρασης

Όπως προαναφέρθηκε, η ολική μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας ΔG , που προκύπτει από μια αλληλεπίδραση φαρμάκου–πρωτεΐνης, είναι το άθροισμα των μεταβολών των ελεύθερων ενεργειών που σχετίζονται με όλες τις ηλεκτροστατικές, επαγωγικές, μη πολικές και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μείον τις απώλειες ενέργειας, οι οποίες οφείλονται σε ενθαλπικούς ή εντροπικούς παράγοντες. Κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες μπορούν να υπολογιστούν συγκριτικά, με χρήση των εξισώσεων που δόθηκαν στις προηγούμενες παραγράφους. Άλλοι, όπως είναι οι εντροπικοί, είναι πιο πολύπλοκοι και συνήθως υπολογίζονται εμπειρικά.

Υπολογισμοί της συνολικής ενέργειας αλληλεπίδρασης, πραγματοποιούνται σχεδόν σε κάθε επίπεδο σύμπλεξης του μορίου με τον υποδοχέα. Οι υπολογισμοί αυτοί μπορούν να βασίζονται στην υπόθεση ότι οι απωστικές δυνάμεις μεταξύ των ατόμων του φαρμάκου και του υποδοχέα γίνονται απαγορευτικές, όταν η απόσταση μεταξύ των ατόμων είναι μικρότερη από το άθροισμα των van der Waals ακτίνων τους. Τα άτομα στους υπολογισμούς αυτούς θεωρούνται ως άκαμπτες σφαίρες (hard sphere calculations) και παρέχουν μια στατική Σχήμα της ηλεκτροστατικής διασποράς και άπωσης, μεταξύ των θεωρούμενων άκαμπτων ατόμων ή μορίων (rigid body calculations). Μπορεί επίσης στους υπολογισμούς να λαμβάνονται υπόψη οι διαμορφωτικές μεταβολές (ύπαρξη ευκαμψίας στα άτομα του μορίου) κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασης και να συμπεριλαμβάνουν πληροφορίες για τον ρόλο των μορίων του διαλύτη στην αλληλεπίδραση (flexible body calculations).

Στο επόμενο στάδιο της σύμπλεξης του φαρμακευτικού μορίου με τον υποδοχέα, πραγματοποιούνται υπολογισμοί μοριακής δυναμικής, σε μια προσπάθεια κάλυψης του εύρους των εναλλακτικών προσδέσεων. Παρέχεται με αυτόν τον τρόπο εκτίμηση των αντίστοιχων εντροπιών της αλληλεπίδρασης. Τεχνικές διατάραξης της ελεύθερης ενέργειας χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της διαφοράς στην ελεύθερη ενέργεια πρόσδεσης μεταξύ δύο φαρμακευτικών μορίων και ενός κοινού υποδοχέα ή μεταξύ των ίδιων φαρμακευτικών μορίων και του διαλύτη.

Μια ολοκληρωμένη θεωρητική περιγραφή όλων των ενεργειών, που συμμετέχουν και περιγράφηκαν παραπάνω, θα απαιτούσε κβαντομηχανική προσέγγιση όλου του συστήματος, συμπεριλαμβανομένης της επίλυσης της χρονικά εξαρτώμενης εξίσωσης Schrödinger για το φαρμακευτικό μόριο, τον υποδοχέα, τον περιβάλλοντα διαλύτη και όποιες άλλες τυχόν διαλυμένες ουσίες. Η τελική ελεύθερη ενέργεια της αλληλεπίδρασης θα ήταν άμεσα συγκρίσιμη με την παρατηρούμενη σταθερά διαχωρισμού (dissociation constant) για την αλληλεπίδραση φαρμάκου–υποδοχέα. Είναι αμφίβολο ωστόσο, αν υπάρχει πραγματικό όφελος, στην εφαρμογή του 3D QSAR ή του Μοριακού Σχεδιασμού, η επιδίωξη του υπολογισμού των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων σε τόσο προχωρημένο επίπεδο πολυπλοκότητας. Στην πραγματικότητα δεν ενδιαφέρει το πόσο συνεισφέρει ο ένας ή ο άλλος τύπος δεσμού στην διαμοριακή αλληλεπίδραση, αλλά το πόσο αυξάνεται η ικανότητα πρόσδεσης του φαρμάκου στον υποδοχέα, κατά την τροποποίηση των φαρμακοφόρων τμημάτων του φαρμακευτικού μορίου.

7.5 Σχεδιασμός πειράματος μοριακής πρόσδεσης και ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων

Ο σχεδιασμός των πειραμάτων μοριακής πρόσδεσης βασίζεται στον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμάκων. Ο ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με βάση τη δομή του μορίου–στόχου (target) ή με βάση τη δομή του προσδέτη (ligand). Κατ' αντιστοιχία, υπάρχουν δύο διαφορετικές προσεγγίσεις στον ορθολογικό σχεδιασμό (target based drug design & ligand based drug design).

7.5.1 Μοριακή πρόσδεση με βάση τη δομή της πρωτεΐνης

Ο σχεδιασμός φαρμάκων με βάση τη δομή της πρωτεΐνης–στόχου λαμβάνει υπόψη τα δομικά χαρακτηριστικά της πρωτεΐνης και τις πιθανές διαμορφώσεις της σε συγκεκριμένες συνθήκες. Η συγκεκριμένη προσέγγιση απαιτεί τη γνώση της δομής του υποδοχέα, η οποία προηγουμένως έχει διευκρινιστεί μέσω κρυσταλλογραφίας ακτίνων X ή NMR. Στην περίπτωση που η τριδιάστατη δομή της πρωτεΐνης δεν έχει διευκρινιστεί, υπάρχει η δυνατότητα πρόβλεψης της τριδιάστατης δομής της πρωτεΐνης μέσω μοντελοποίησης γνωστών ομολόγων πρωτεϊνών (homology modeling).

Η γνώση της διαμόρφωσης των αμινοξέων του ενεργού κέντρου του ενζύμου μπορεί να αξιοποιηθεί στον σχεδιασμό πιθανών φαρμακευτικών μορίων που στοχεύουν μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Διάφορα υπολογιστικά εργαλεία έχουν σχεδιαστεί ώστε με βάση τη δομή του ενεργού κέντρου να προτείνουν δομές πιθανών προσδετών (*de novo* μέθοδος).

Πολλές διαφορετικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τον σχεδιασμό φαρμάκων με βάση την τριδιάστατη δομή του ενεργού κέντρου. Μια από τις μεθόδους αυτές αποτελεί ο σχεδιασμός φαρμάκων με βάση δομικά τμήματα του προσδέτη (Fragment–Based Drug Design).

Οι μέθοδοι αυτοί κατηγοριοποιούνται σε:

α) Μέθοδος Τοποθεσίας του δομικού τμήματος (Fragment location methods)

Στόχος της συγκεκριμένης μεθόδου αποτελεί ο εντοπισμός μικρών δομικών τμημάτων ή ατόμων εντός του ενεργού κέντρου που μπορούν να αλληλεπιδράσουν ισχυρά με πιθανούς προσδέτες.

β) Μέθοδος τοποθεσίας και σύνδεσης (Site point connection methods)

Στόχος της μεθόδου αποτελεί ο εντοπισμός περιοχών του ενεργού κέντρου που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με πιθανούς προσδέτες και στη συνέχεια ή τοποθέτηση μικρών δομικών

τμημάτων (fragments), ώστε η κάθε υποπεριοχή του ενεργού κέντρου να είναι κατηλλειμένη με τα κατάλληλα άτομα του προσδέτη.

γ) Μέθοδος σύνδεσης δομικών τμημάτων (Fragment connection methods)

Σύμφωνα με την συγκεκριμένη μέθοδο, αφού έχουν τοποθετηθεί στο ενεργό κέντρο τα δομικά τμήματα του προσδέτη που εξασφαλίζουν τις κατάλληλες αλληλεπιδράσεις με το ενεργό κέντρο, τα δομικά τμήματα αυτά ενώνονται με ανθρακικές αλυσίδες ή ομάδες (linkers), με στόχο να διατηρούν τα δομικά τμήματα σε συγκεκριμένη απόσταση μεταξύ τους και σε ευνοϊκό προσανατολισμό.

δ) Αλυσιδωτή μέθοδος ανοικοδόμησης (Sequential buildup method)

Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει την ανοικοδόμηση του προσδέτη με την τοποθέτηση ενός επιπλέον ατόμου κάθε φορά στη δομή του ή την τοποθέτηση ενός δομικού τμήματος και στη συνέχεια αξιολογούνται οι αλληλεπιδράσεις του με το ενεργό κέντρο.

ε) Μέθοδος ολοκληρωμένου μορίου (Whole molecule method)

Χημικές ενώσεις τοποθετούνται στο ενεργό κέντρο σε ποικίλες διαμορφώσεις με στόχο την αξιολόγηση του σχήματός τους και τη συμπληρωματικότητα που παρουσιάζουν ως προς τις ηλεκτροστατικές τους αλληλεπιδράσεις με το ενεργό κέντρο.

ζ) Μέθοδος τυχαίας σύνδεσης (Random connection method)

Μέθοδος κατά την οποία τεχνικές εφαρμόζονται ώστε να σχεδιάσουν μόρια με σύνδεση των δομικών τμημάτων τους ή με τη χρήση της αλυσιδωτής μεθόδου ανοικοδόμησης, μαζί με μεθόδους διάσπασης δεσμού ώστε να προκύψουν τυχαία χημικές δομές που σχηματίζουν μοριακές αλληλεπιδράσεις με το ενεργό κέντρο του ενζύμου.

7.5.1.1 Μοριακή πρόσδεση με τη χρήση βιβλιοθηκών

Οι μέθοδοι που παρουσιάστηκαν παραπάνω για την εύρεση προσδετών για ένα συγκεκριμένο ένζυμο αποτελούν ενδεδειγμένους μεθόδους σχεδιασμού φαρμάκων με βάση το ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης και χρησιμοποιούνται ευρέως. Επίσης, μια ακόμα μέθοδος που χρησιμοποιείται ιδιαίτερα και βασίζεται στη δομή του ενεργού κέντρου του ενζύμου αποτελεί η **εικονική σάρωση** (Virtual Screening). Η μέθοδος αυτή δεν βασίζεται στον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμάκων, αλλά στην αρχή της τυχειότητας.

Κατά την εφαρμογή αυτής της μεθόδου, δημιουργούνται τεράστιες βιβλιοθήκες χημικών μορίων με διαφορετικά δομικά χαρακτηριστικά και εξετάζονται με αλγορίθμους χαμηλότερης ακρίβειας για την πρόσδεσή τους στο ενεργό κέντρο ενός συγκεκριμένου ενζύμου. Σε αυτό το πείραμα μοριακής πρόσδεσης, αξιολογούνται χιλιάδες μόρια με χαμηλό υπολογιστικό κόστος (λόγω της μικρής ακρίβειας του υπολογισμού) ως προς την πρόσδεσή τους σε μια πρωτεΐνη. Από τα χιλιάδες μόρια που αξιολογούνται, λίγες δεκάδες μορίων παρουσιάζουν ευνοϊκά αποτελέσματα και προσδένονται στις υπό εξέταση πρωτεΐνες. Τα μόρια αυτά στη συνέχεια μπορούν να μελετηθούν περαιτέρω με τη χρήση αλγορίθμων υψηλότερης ακρίβειας, ώστε να αξιολογηθεί η πρόσδεσή τους στο ενεργό κέντρο.

7.5.2 Μοριακή πρόσδεση με βάση τη δομή του προσδέτη

Ο ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων με βάση τη δομή του προσδέτη βασίζεται στην απουσία της τριδιάστατης δομής του υποδοχέα και στη γνώση μορίων που εμφανίζουν βιολογική δράση στον υποδοχέα αυτόν.

Στην περίπτωση αυτή, η μέθοδος τριδιάστατης ποσοτικής σχέσης δομής-δράσης (3D QSAR) και μοντελοποίησης του φαρμακοφόρου πρέπει να εφαρμοστούν, ώστε να καθοριστούν τα απαραίτητα δομικά χαρακτηριστικά του προσδέτη για την εκδήλωση της φαρμακευτικής δράσης.

7.6 Βασικές έννοιες υπολογισμών μοριακής πρόσδεσης

7.6.1 Μέθοδοι υπολογισμού του ενεργού κέντρου πρωτεϊνικών υποδοχέων

Υπάρχουν τέσσερις κυρίως τρόποι για την ταυτοποίηση των θέσεων πρόσδεσης των υποδοχέων. Ο πρώτος (αναλύεται εκτενέστερα στην επόμενη ενότητα) βασίζεται στην αλληλουχία των αμινοξέων του υποδοχέα (homology-based) και έχουν ήδη συσταθεί πολλές βάσεις δεδομένων (Πίνακας 7.3), ο δεύτερος στη μέθοδο της επιδιαλύτωσης (solvation-based), ο τρίτος στην μέθοδο πλέγματος (grid-based) και ο τέταρτος στη μέθοδο των ψευδοϋποδοχέων (pseudoreceptor). Ο Πίνακας 7.4 παρέχει συνοπτικά τα λογισμικά, που διατίθενται για την εύρεση των θέσεων πρόσδεσης του υποδοχέα, ανάλογα με τη μέθοδο που εκτελούν.

Πίνακας 7.3 Πρωτεϊνικές βάσεις δεδομένων για την εύρεση των δραστικών κέντρων των υποδοχέων

Βάση δεδομένων	Σύγκριση
CATH	Πρωτεϊνική λειτουργία
CAVBASE	Πρωτεϊνικές κοιλότητες
Entrez Structure	Πρωτεϊνική αλληλουχία και δομή
FSSP	Πρωτεϊνική δομή
ProMax	Πρωτεϊνική δομή
RELIBASE	Σύμπλεγμα πρωτεΐνης – μορίου προσδέτη

Πίνακας 7.4 Λογισμικά μοντελοποίησης του ενεργού κέντρου του

Μέθοδος	Λογισμικό
Επιδιαλύτωσης	◆ DynaPharm ◆ MOLCAD ◆ PASS (Putative Active Site with Spheres) ◆ SiteID
Πλέγματος	◆ Cerius-LigandFit ◆ LigSite (ligand site) ◆ Site Finder ◆ Site ID
Ψευδοϋποδοχέα	◆ Cerius-Receptor ◆ GERM (Genetically Evolved Receptor Models) ◆ HASL (Hypothetical Active Site Lattice) ◆ PARM (Pseudo Atomic Receptor Model) ◆ Quasi-atomistic receptor surface models

Μέθοδος	Λογισμικό
Επιδιαλύτωση	<ul style="list-style-type: none"> ◆ DynaPharm ◆ MOLCAD ◆ PASS (Putative Active Site with Spheres) ◆ SiteID
Πλέγματος	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Cerius-LigandFit ◆ LigSite (ligand site) ◆ Site Finder ◆ Site ID
Ψευδουποδοχέα	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Cerius-Receptor ◆ GERM (Genetically Evolved Receptor Models) ◆ HASL (Hypothetical Active Site Lattice) ◆ PARM (Pseudo Atomic Receptor Model) ◆ Quasi-atomistic receptor surface models

7.6.1.1 Μέθοδοι που στηρίζονται σε πρωτεϊνικές βάσεις και στη μοριακή μοντελοποίηση

Στις περισσότερες γονιδιακές και πρωτεϊνικές βάσεις δεδομένων περιέχονται όλες οι απαιτούμενες πληροφορίες, για τον προσδιορισμό του ενεργού κέντρου πρόσδεσης ενός υποδοχέα.

Στην περίπτωση που αναζητείται η θέση πρόσδεσης ενός φυσικού μορίου, είναι λογικό τα αμινοξέα που εμπλέκονται στην πρόσδεση αυτή, να διατηρούνται στα διάφορα είδη, όπως και κατά τη φυσική τους εξέλιξη. Έτσι, κατά την σύγκριση των αλληλουχιών των αμινοξέων του υποδοχέα, απομονώνονται τα συγκεκριμένα τμήματα, που διατηρούνται στους υπό εξέταση υποδοχείς και τα οποία πιθανώς αποτελούν τμήματα των θέσεων πρόσδεσης. Παράδειγμα αποτελεί η τριάδα των αμινοξέων Ser-His-Asp, τα οποία απαρτίζουν τη θέση κατάλυσης των σερινοπρωτεασών.

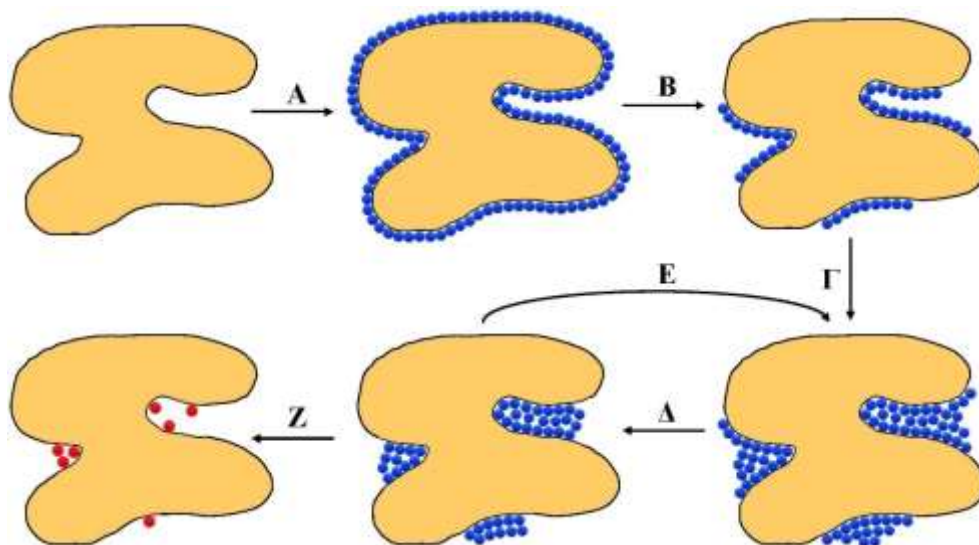
Αν η διαμόρφωση της πρωτεΐνης που μελετάται είναι άγνωστη, η μοριακή μοντελοποίησή της μπορεί να γίνει με βάση τη γνωστή διαμόρφωση μιας άλλης πρωτεΐνης. Αυτό επιτυγχάνεται με την τοποθέτηση της αλληλουχίας των αμινοξέων της υπό εξέταση πρωτεΐνης σε μια πολυπεπτιδική αλυσίδα ομόλογης πρωτεΐνης, της οποίας η διαμόρφωση είναι γνωστή (τεχνική threading). Η μέθοδος αυτή παρέχει μοριακή μοντελοποίηση, στην οποία η θέση πρόσδεσης προσδιορίστηκε από τη γνωστή πρωτεΐνη (π.χ. G-συζευγμένες πρωτεΐνες μοντελοποιούνται με βάση τη ροδοψίνη).

Ένα λογισμικό πρωτεϊνικής βάσης δεδομένων Promax (Structural Bioinformatics-San Diego) εκτελεί μια παρόμοια λειτουργία, χρησιμοποιώντας την κρυσταλλική δομή μέλους μιας οικογένειας πρωτεϊνών για τον σχεδιασμό της δομής οποιουδήποτε άλλου μέλους της οικογένειας. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι προστιθέμενες ή υπολειπόμενες αλληλουχίες μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά την υπέρθεση των δύο πρωτεϊνών.

Ένα ακόμη πρόβλημα στη μοντελοποίηση προκύπτει από το γεγονός ότι δύο πρωτεΐνες με ίδια λειτουργία δεν είναι απαραίτητα ομόλογες στην αλληλουχία τους. Με τον τρόπο αυτό εμποδίζεται η εύρεση της θέσης πρόσδεσης σε τέτοιες πρωτεΐνες, αφού πολλοί αλγόριθμοι και βάσεις δεδομένων έχουν αναπτυχθεί και λειτουργούν με βάση τη διαμόρφωση της πρότυπης πρωτεΐνης και όχι την αλληλουχία της.

7.6.1.2 Η μέθοδος της επιδιαλύτωσης

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αρχική επικάλυψη της επιφάνειας της πρωτεΐνης με σφαιρικά μόρια νερού ή άλλο διαλύτη και στη συνέχεια σταδιακή απομάκρυνση όσων δεν πληρούν ορισμένα κριτήρια, τα οποία και θα αναφερθούν παρακάτω. Με τον τρόπο αυτό προσδιορίζονται οι περιοχές, όπου παραμένουν οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των σφαιρικών μορίων. Ένα γενικό διάγραμμα της μεθόδου παρουσιάζεται στο Σχήμα 7.11.



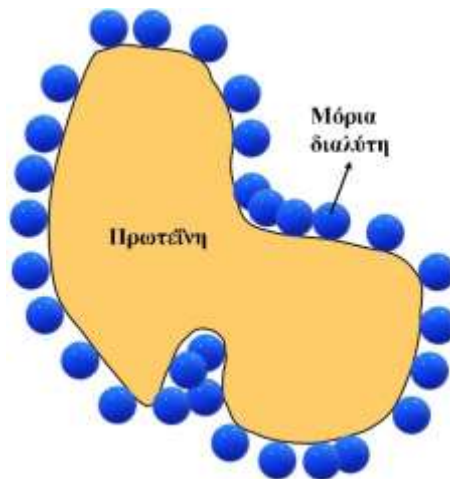
Σχήμα 7.11 Πορεία αναγνώρισης των ευνοϊκών θέσεων πρόσδεσης μιας πρωτεΐνης με τη μέθοδο της επιδιαλύτωσης: (Α) Επικάλυψη της επιφάνειας της πρωτεΐνης με ένα στρώμα σφαιρών του διαλύτη, (Β) Απομάκρυνση ορισμένων σφαιρών που βρίσκονται σε επιφανειακές θέσεις (φιλτράρισμα), (Γ) Προσκόλληση νέων σφαιρικών μορίων σε στρώματα περισσότερο απομακρυσμένα από την πρωτεΐνη, (Δ) Φιλτράρισμα των νέων σφαιρικών μορίων, (Ε) Επαναληπτική διαδικασία των σταδίων Γ και Δ, (Ζ) Αναγνώριση των θέσεων πρόσδεσης του υποδοχέα.

Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο αυτή, οι Brady και Stouten αναγνώρισαν τα ενεργά κέντρα σε 29 από 32 πρωτεΐνες, των οποίων οι δομές είχαν εξαχθεί από πειράματα κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ.

Τα βήματα της μεθόδου του Σχήματος 7.11 περιγράφονται αναλυτικότερα παρακάτω. Οι προεπιλεγμένες τιμές διαφόρων σταθερών αναφέρονται στο λογισμικό Sybyl της εταιρείας TRIPOS.

Βήμα 1. Η πρωτεΐνη αρχικά διαλύεται σε ένα στρώμα νερού. Για τον σκοπό αυτό, αρκετά λογισμικά χρησιμοποιούν τον αλγόριθμο Molecular Silverware (Σχήμα 7.12).

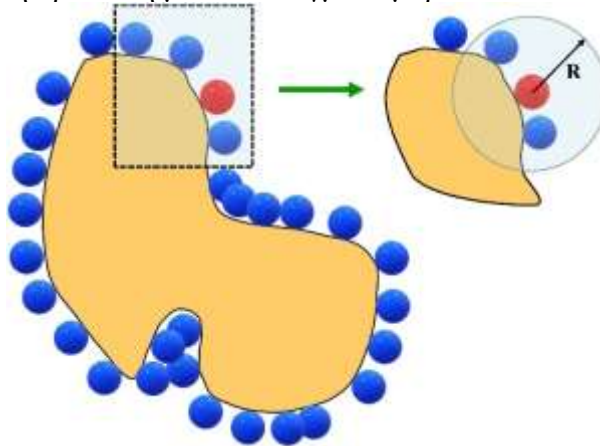
Ο αλγόριθμος Molecular Silverware χρησιμοποιείται για την επιδιαλύτωση ενός μορίου με μόρια διαλύτη, ή για τον υπολογισμό του ευνοϊκότερου τρόπου σύμπλεξης δύο μορίων. Με αυτόν κατασκευάζεται ένα σύμπλεγμα μορίων (drop solvation) ή ένας κύβος περιοδικών διαστάσεων (periodic box solvation), με συνεχή προσθήκη μορίων του διαλύτη σε ένα υπό διαλυτοποίηση μόριο (π.χ. πρωτεΐνη). Κάθε μόριο διαλύτη προστίθεται, έτσι ώστε η επιφάνεια van der Waals του να μην επικαλύπτει την επιφάνεια van der Waals των ατόμων του συμπλέγματος. Κάθε φορά προστίθεται ένα μόριο διαλύτη, με αποτέλεσμα η σύμπλεξη να είναι αρκετά αποτελεσματική.



Σχήμα 7.12 Επιδιάλυτωση της πρωτεΐνης με ένα στρώμα διαλύτη (νερού).

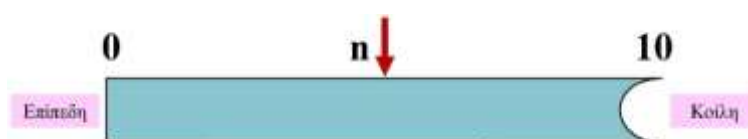
Βήμα 2. Για κάθε μόριο διαλύτη που καλύπτει την επιφάνεια της πρωτεΐνης, προσδιορίζεται ο αριθμός των μη υδρογονικών ατόμων, που βρίσκονται εντός μιας συγκεκριμένης ακτίνας (προεπιλεγμένη τιμή: 8\AA). Μόνο στην περίπτωση που ο αριθμός αυτός υπερβαίνει ένα όριο (προεπιλεγμένη τιμή: 75), το μόριο αυτό του διαλύτη διατηρείται, αλλιώς διαγράφεται. Η προεπιλεγμένη τιμή 75 προκύπτει από υπολογισμούς των μορίων του νερού με ακτίνα περίπου 1.5\AA , που χωρούν σε σφαίρα ακτίνας 8\AA .

Στο Σχήμα 7.13 φαίνεται η πρωτεΐνη με τα επιλεγμένα μόρια του διαλύτη στην επιφάνειά της.



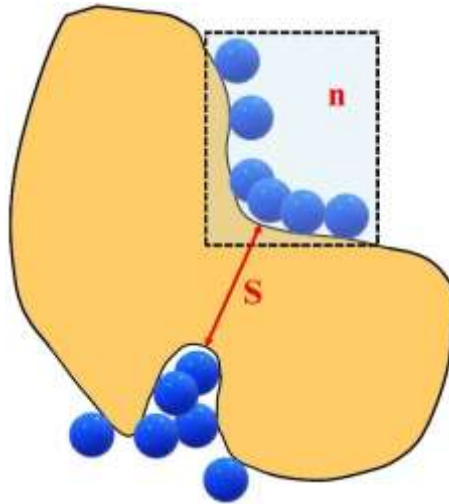
Σχήμα 7.13 Διατήρηση ορισμένων μορίων διαλύτη στην επιφάνεια της πρωτεΐνης.

Μια σημαντική γεωμετρική παράμετρος, η οποία εμπλέκεται στην εύρεση θέσεων πρόσδεσης, είναι η μεταβλητή « n », η οποία ρυθμίζει την κοιλότητα μιας θέσης. Είναι ένας ακέραιος αριθμός μεταξύ του 0 και του 10 και ορίζεται συνήθως από το χρήστη (Σχήμα 7.14).



Σχήμα 7.14 Παράμετρος κοιλότητας.

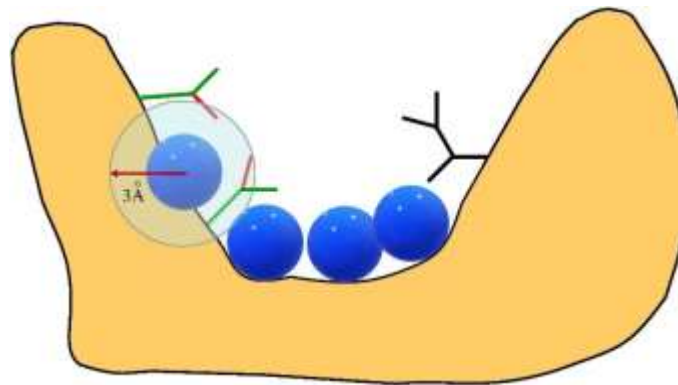
Βήμα 3. Στη συνέχεια διακρίνονται τα μόρια του διαλύτη, τα οποία απαρτίζουν μια θήκη. Ο αριθμός αυτός κυμαίνεται από το 3 έως το 15. Τα μόρια του διαλύτη, που τελικώς παραμένουν, είναι αυτά που τυπικά βρίσκονται εντός των θηκών (Σχήμα 7.15).



Σχήμα 7.15 Διαχωρισμός θέσεων πρόσδεσης. S: Ελάχιστη διαχωριστικότητα μεταξύ των ομάδων. n: Ελάχιστος αριθμός σφαιρών διαλύτη.

Βήμα 4. Τελικά, τα διαπερατά από το διαλύτη μόρια της πρωτεΐνης, μέσα σε μια συγκεκριμένη θήκη, προσδιορίζονται ως ακολούθως:

Για κάθε μόριο διαλύτη, μέσα στη θήκη, μελετώνται όλα τα άτομα της πρωτεΐνης που βρίσκονται εντός μιας συγκεκριμένης ακτίνας (3Å από προεπιλογή). Η ένωση όλων αυτών των ατόμων σχηματίζει το ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης (Σχήμα 7.16).



Σχήμα 7.16 Προσδιορισμός των προσβάσιμων πρωτεϊνικών ατόμων από το διαλύτη, εντός μιας θήκης

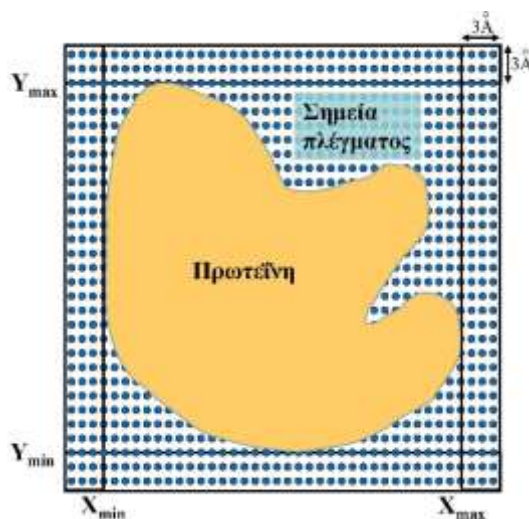
Πρέπει να σημειωθεί πως η μέθοδος της επιδιαλύτωσης εμφανίζει τρία σοβαρά μειονεκτήματα:

- ◆ Ανομοιογενής επιδιαλύτωση
- ◆ Αδυναμία ανίχνευσης εσωτερικών θηκών ή άλλων αδιαπέραστων χώρων από τον διαλύτη
- ◆ Εξάρτηση της ανίχνευσης των θηκών από τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης.

7.6.1.3 Η μέθοδος του πλέγματος

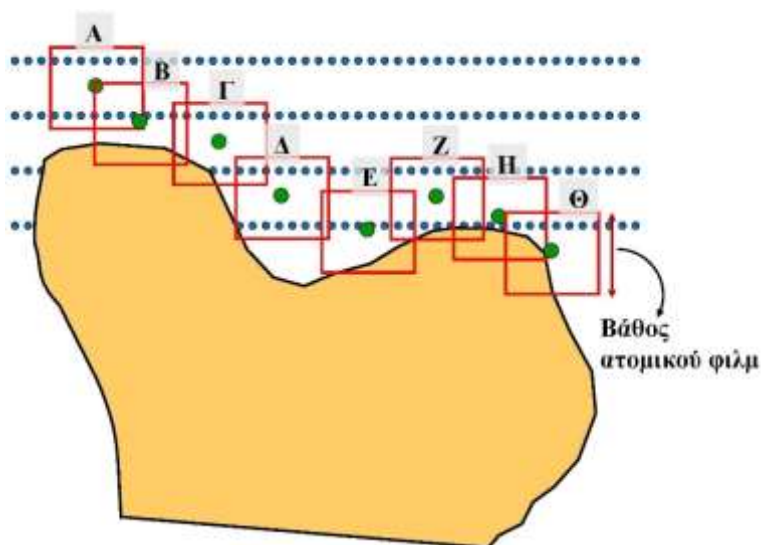
Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην χρήση ενός τριδιάσταστου πλέγματος, στο οποίο τοποθετείται η πρωτεΐνη. Στόχος της διαδικασίας, όπως θα παρουσιαστεί και στη συνέχεια, είναι ο διαχωρισμός κάποιων σημείων του πλέγματος με βάση συγκεκριμένες ιδιότητές τους. Τα βήματα που απαρτίζουν την τεχνική αυτή είναι έξι.

Βήμα 1. Ο πρωτεϊνικός υποδοχέας τοποθετείται μέσα σε πλέγμα, όπως φαίνεται στο Σχήμα 7.17.



Σχήμα 7.17 Τοποθέτηση της πρωτεϊνικής μονάδας μέσα στο πλέγμα.

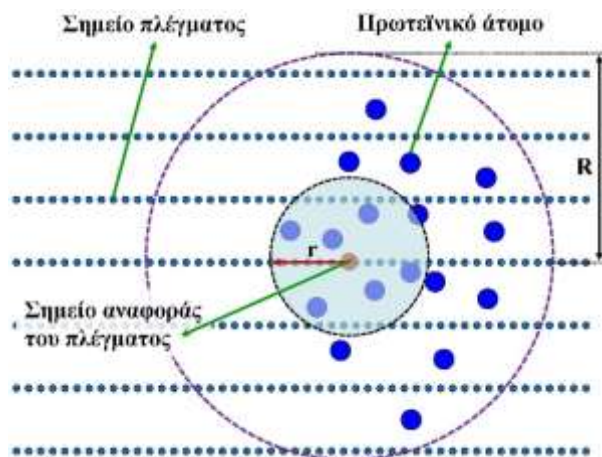
Βήμα 2. Στο στάδιο αυτό διατηρούνται τα σημεία του πλέγματος, που βρίσκονται κοντά στον υποδοχέα, αλλά δεν επικαλύπτονται από τα άτομά του. Όλα τα υπόλοιπα σημεία διαγράφονται. Κατά τη διαδικασία αυτή, ορίζεται η παράμετρος του «βάθους του ατομικού φιλμ» (atomic film depth) ως μια καθορισμένη απόσταση μεταξύ συγκεκριμένου σημείου του υποδοχέα και συγκεκριμένου σημείου του πλέγματος. Παράλληλα ορίζεται και η «ακτίνα αποκλεισμού» (exclusion radius), όπως καλείται η ελάχιστη τιμή της απόστασης μεταξύ των προαναφερθέντων σημείων (Σχήμα 7.18).



Σχήμα 7.18 Διαχωρισμός των σημείων του πλέγματος που βρίσκονται κοντά στον υποδοχέα (βήμα 2). Κατά το 3^ο βήμα απορρίπτονται σημεία, όπως το Α.

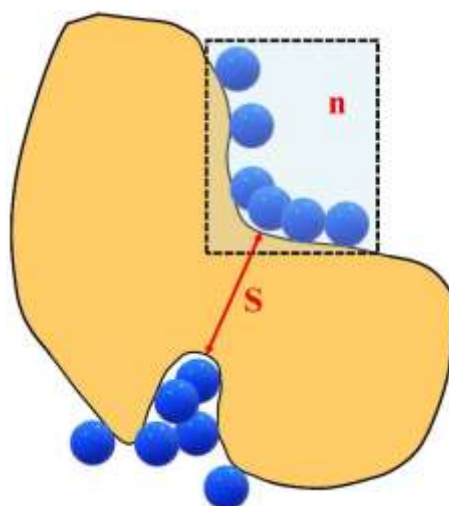
Βήμα 3. Από τα σημεία του πλέγματος, που διατηρήθηκαν στο Βήμα 2, επιλέγονται αυτά που περιλαμβάνουν και επιπλέον άτομα της πρωτεΐνης μέσα σε συγκεκριμένη ακτίνα n (σε Å).

Βήμα 4. Εκτός από τα σημεία του πλέγματος, που επιλέχθηκαν στο προηγούμενο στάδιο, συνυπολογίζονται και τα γειτονικά τους που βρίσκονται σε καθορισμένη ακτίνα. Η ακτίνα αυτή καλείται συνυπολογιζόμενη ακτίνα (r) (inclusion radius) (Σχήμα 7.19).



Σχήμα 7.19 Προσδιορισμός των σημείων του πλέγματος που βρίσκονται εντός της συνυπολογιζόμενης ακτίνας (r).

Βήμα 5. Η περιοχή του υποδοχέα, που ορίστηκε στο προηγούμενο βήμα, υφίσταται ένα είδος σάρωσης, ώστε να διακριθούν τα συμπλέγματα των σημείων εκείνων, που σχηματίζουν θήκες. Ο διαχωρισμός των σημείων αυτών γίνεται με βάση ένα κριτήριο, που αφορά την ελάχιστη απόσταση, που μπορεί να υπάρχει μεταξύ δύο συσσωματωμάτων, (προεπιλεγμένη τιμή απόστασης: 3Å) (Σχήμα 7.20).



Σχήμα 7.20 Διάκριση των σχηματιζόμενων συμπλεγμάτων.

Βήμα 6. Τελικά, προσδιορίζονται τα άτομα του υποδοχέα, που απαρτίζουν μια συγκεκριμένη θήκη και είναι προσβάσιμα στο διαλύτη. Για τη διαδικασία αυτή χρησιμοποιείται συγκεκριμένος

αλγόριθμος (CAVITY). Για κάθε μόριο, διαλύτη εντός της θήκης, επιλέγονται όλα τα διπλανά άτομα της πρωτεΐνης (προεπιλεγμένη απόσταση: 3Å). Όλα τα παραπάνω άτομα θεωρούνται πως ανήκουν στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα.

7.6.1.4 Η μέθοδος των ψευδοϋποδοχέων

Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι μοναδικές διαθέσιμες πληροφορίες για έναν άγνωστο πρωτεϊνικό υποδοχέα είναι οι δομές των μορίων, που συμπλέκονται και ο βαθμός σύμπλεξής τους. Ακόμη και στην περίπτωση αυτή, που δεν υπάρχουν πληροφορίες για την πρωτεΐνη, μπορεί να ξεκινήσει η διαδικασία μοντελοποίησης του ενεργού κέντρου του υποδοχέα.

Πολλοί ερευνητές ισχυρίζονται ότι τα άτομα ενός υποδοχέα, που δεν αποτελούν τμήμα του ενεργού του κέντρου, καταναλώνουν απλά υπολογιστικό χώρο και χρόνο, και μπορούν να παραληφθούν. Με το σκεπτικό αυτό, οι έρευνές τους εστιάζονται στον υπολογισμό ψευδο- ή ελαχίστων- υποδοχέων.

Υπάρχουν πολλά λογισμικά, που σχεδιάζουν ψευδοϋποδοχείς. Όλα στηρίζονται σε τρεις βασικές προϋποθέσεις:

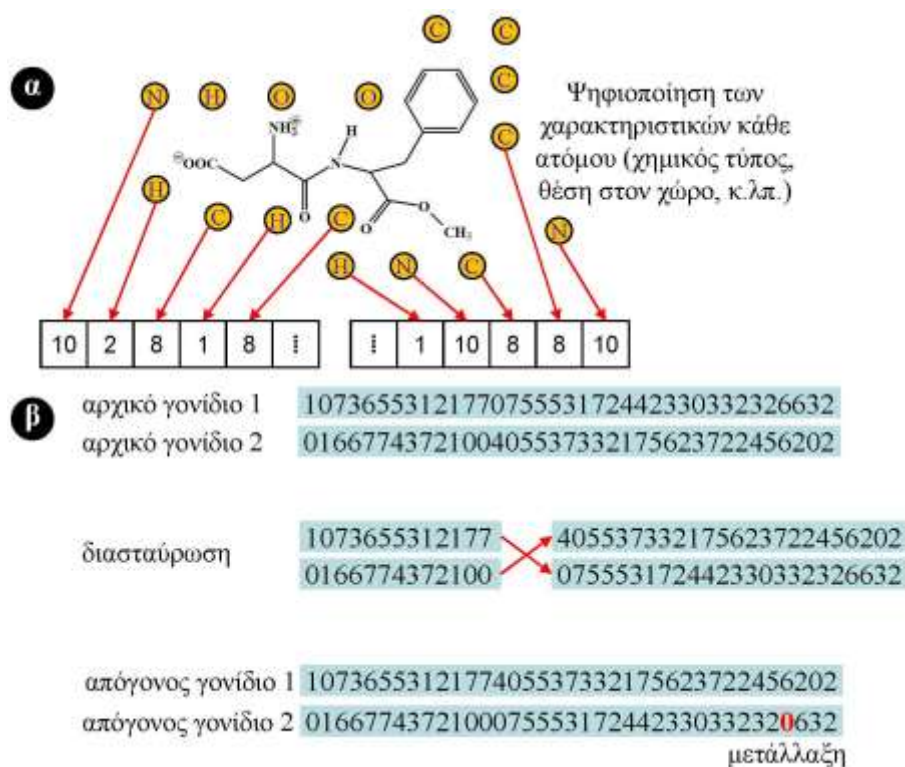
- ◆ Όλα τα φαρμακευτικά μόρια, με την ίδια βιολογική δράση, προσδένουν στο ίδιο ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης
- ◆ Η βιολογική δράση είναι ανάλογη της συγγένειας φαρμάκου-υποδοχέα
- ◆ Όλα τα φαρμακευτικά μόρια προσδένονται στον υποδοχέα με διαμόρφωση χαμηλής ενέργειας – όχι απαραίτητα της χαμηλότερης ενέργειας.

Παράδειγμα τέτοιου αλγορίθμου αποτελεί η μέθοδος GERM (genetically evolved receptor models). Με τη μέθοδο αυτή, όλα τα φαρμακευτικά μόρια ελαχιστοποιούνται ενεργειακά και στη συνέχεια γίνεται υπέρθεση των διαμορφώσεών τους, ώστε να βρεθούν οι ομάδες, που εμπλέκονται στην πρόσδεση. Απαραίτητο είναι όλες αυτές οι φαρμακευτικές ενώσεις, που χρησιμοποιούνται, να παρουσιάζουν δομική ποικιλία και ευρύ φάσμα βιολογικής δράσης.

Στη συνέχεια γύρω από κάθε φαρμακευτικό μόριο, που υπερτίθεται, δημιουργείται μια επιφάνεια από 45–60 άτομα, τα οποία θεωρητικά ανήκουν στον ψευδοϋποδοχέα και ομαδοποιούνται ανάλογα με τις χημικές τους ιδιότητες (π.χ. ένας δότης δεσμού υδρογόνου του ψευδοϋποδοχέα τοποθετείται δίπλα σε έναν δέκτη δεσμού υδρογόνου του φαρμακευτικού μορίου). Επειδή τα άτομα τοποθετούνται τυχαία και καταλαμβάνουν διαφορετικές θέσεις, δημιουργείται μια σειρά από σχηματιζόμενες επιφάνειες. Τα άτομα των επιφανειών αυτών χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία ενός τύπου «γονιδίου», που περιέχει δεδομένα για τον τύπο του ατόμου (αλειφατικό H, καρβονυλικός C, υδροξυλικό O κ.λπ.), και τη θέση του στον χώρο (Σχήμα 7.21). Έτσι σε κάθε επιφάνεια αντιστοιχεί ένα συγκεκριμένο γονίδιο.

Καθένα από αυτά τα γονίδια εισέρχεται σε έναν γενετικό αλγόριθμο, ο οποίος επιτρέπει στα ζευγάρια των αρχικών γονιδίων να εναλλάσσουν τα δεδομένα τους, αλλά και να τα μεταλλάσσουν. Κάθε νέος απόγονος των αρχικών γονιδίων δοκιμάζεται για την ικανότητά του να προσδένεται σε μια συγκεκριμένη ομάδα του φαρμακευτικού μορίου. Αν προσδένεται με ευνοϊκότερη ενέργεια από τα αρχικά γονίδια, τότε χρησιμοποιούνται τα νέα γονίδια και τα αρχικά απομακρύνονται από τον αλγόριθμο. Αντίγραφο του ίδιου γονιδίου δεν επιτρέπεται να λαμβάνουν μέρος στη διαδικασία. Ο αλγόριθμος επαναλαμβάνεται, μέχρι που τα νέα παραγόμενα γονίδια να μην ικανοποιούν τα κριτήρια της πρόσδεσης.

Στο τέλος της διαδικασίας σχηματίζεται ένας ψευδοϋποδοχέας, ο οποίος ταιριάζει στα χαρακτηριστικά πρόσδεσης των γνωστών φαρμακευτικών μορίων. Αυτός ο ψευδοϋποδοχέας μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα, για τον σχεδιασμό νέων μορίων με μεγαλύτερη ικανότητα πρόσδεσης.



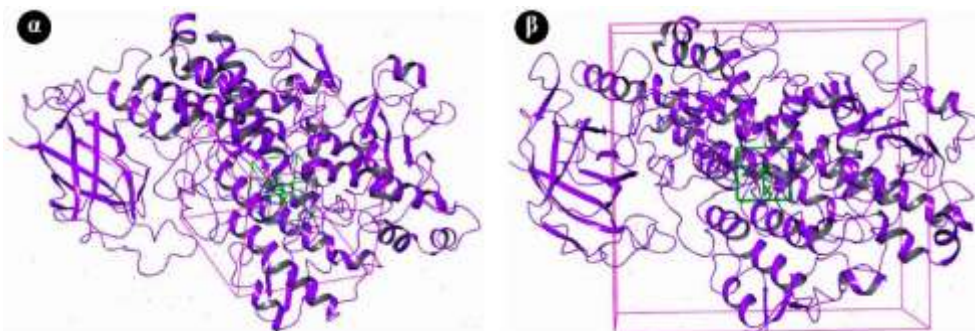
Σχήμα 7.21 Κατασκευή ψευδοϋποδοχέα με τον αλγόριθμο GERM: (α) Δημιουργία σειράς επιφανειών από διαφορετικά άτομα, γύρω από φαρμακευτικά μόρια που προσδέονται στον υποδοχέα, (β) Δημιουργία κωδικοποιημένων «γονιδίων» τα οποία πολλαπλασιάζονται με διασταυρώσεις και μεταλλάξεις. Τα γονίδια απόγονοι, μπορούν να κωδικοποιούν νέους υποδοχείς, που δύνανται να προσδέονται καλύτερα με τα φαρμακευτικά μόρια.

7.6.2 Πλέγμα υποδοχέα (Grid box)

Πριν τη εφαρμογή του πειράματος μοριακής πρόσδεσης, ένα απαραίτητο βήμα είναι η δημιουργία τριδιάστατου πλέγματος (κύβου ή ορθογώνιου παραλληλεπίπεδου με καθορισμένη απόσταση των τριών αξόνων που το προσδιορίζει) στον υποδοχέα (Σχήμα 7.22). Ουσιαστικά το πλέγμα δημιουργείται μέσω αλγορίθμου, με στόχο στη συνέχεια να κατευθύνεται η διεξαγωγή του πειράματος μοριακής πρόσδεσης. Για παράδειγμα, αν το ενεργό κέντρο του υποδοχέα είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία, ως πλέγμα ορίζεται η περιοχή της πρωτεΐνης που είναι γνωστή από τη βιβλιογραφία ως ενεργό κέντρο. Αντίστοιχα, ορίζεται το πλέγμα και για πιθανές αλλοστερικές περιοχές της πρωτεΐνης. Ο ορισμός του πλέγματος ορίζει την περιοχή στην οποία στη συνέχεια θα πραγματοποιηθεί η μοριακή πρόσδεση. Αν οριστεί ως πλέγμα μόνο η περιοχή του ενεργού κέντρου και ο προσδέτης που εξετάζεται στη μοριακή πρόσδεση δεν μπορεί να προσδεθεί σε αυτό, το πείραμα μοριακής πρόσδεσης δε θα αποδώσει αποτελέσματα. Επιπλέον, σε αυτή την περίπτωση επειδή μέσω του πλέγματος, η μοριακή πρόσδεση πραγματοποιείται σε μια συγκεκριμένη περιοχή, καθίσταται αδύνατος ο εντοπισμός πιθανού αλλοστερικού κέντρου που μπορεί να προσδεθεί το μόριο κατά τη μοριακή πρόσδεση.

Ως αποτέλεσμα, η επιλογή του πλέγματος (grid) πρέπει να πραγματοποιείται πολύ προσεκτικά ανάλογα με την περιοχή που θέλουμε να παρατηρήσουμε σε κάθε πείραμα μοριακής πρόσδεσης.

Επιπλέον, στην περίπτωση που το ενεργό κέντρο της πρωτεΐνης δεν είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία, υπάρχει η δυνατότητα διεξαγωγής «τυφλής» μοριακής πρόσδεσης (blind docking), με στόχο την εύρεση του ενεργού κέντρου της πρωτεΐνης. Στην περίπτωση αυτή, ορίζεται ως πλέγμα το σύνολο της πρωτεΐνης και η μοριακή πρόσδεση πραγματοποιείται σε όλες τις κοιλότητες της πρωτεΐνης.



Σχήμα 7.22 (α) Δημιουργία πλέγματος υποδοχέα με μικρές διαστάσεις ($X=20\text{\AA}$, $Y=20\text{\AA}$ και $Z=20\text{\AA}$). (β) Δημιουργία πλέγματος υποδοχέα με μεγάλες διαστάσεις ($X=60\text{\AA}$, $Y=60\text{\AA}$ και $Z=60\text{\AA}$), λόγω ελλιπούς γνώσης για το ενεργό κέντρο του υποδοχέα.

Το ενεργό κέντρο της κάθε πρωτεΐνης προσδιορίζεται αξιοποιώντας είτε τον συγκρυσταλλωμένο αναστολέα που βρίσκεται στο εκάστοτε ενεργό κέντρο (αν υπάρχει) ή με βάση τα καθορισμένα αμινοξέα του ενεργού κέντρου, όπως υποδεικνύονται από τη βιβλιογραφία. Στην επιλογή όπου καθορίζεται το μέγεθος των προσδετών που θα προσδεθούν, επιλέχθηκε να είναι παρόμοιο με εκείνο του αναστολέα και σε περίπτωση που δεν υπάρχει συγκρυσταλλωμένος αναστολέας (Σχήμα 7.22α), οι υπό μελέτη ενώσεις να έχουν μέγεθος μικρότερο ή ίσο με 20\AA . Ο αριθμός αυτός υποδεικνύει τη διάμετρο από το κέντρο μάζας του προσδέτη αναφοράς στους υπολογισμούς μοριακής πρόσδεσης. Οι ρυθμίσεις που γίνονται κατά τη δημιουργία του πλέγματος καθορίζουν πώς θα τοποθετηθούν τα πλέγματα βαθμολόγησης (scoring grids). Ο αλγόριθμος Glide, μέσω του οποίου έχει ληφθεί το Σχήμα 7.22), αξιοποιεί δύο κύβους (boxes), για να πραγματοποιηθούν οι *in silico* υπολογισμοί. Ο πρώτος ονομάζεται κύβος πλέγματος (gridbox) ή εξωτερικός κύβος (outerbox), στο χώρο του οποίου υπολογίζεται το πλέγμα. Ο συγκεκριμένος κύβος περιλαμβάνει όλα τα άτομα του προσδέτη. Ο δεύτερος κύβος κέντρου προσδέτη (ligand centerbox) ή εσωτερικός κύβος (inner box) περιλαμβάνει τις αποδεκτές διαμορφώσεις για το κέντρο του προσδέτη και την αναζήτηση των σημείων πρόσδεσης (site points). Το μήκος των καρτεσιανών συντεταγμένων του κύβου με κέντρο τον προσδέτη μπορεί να οριστεί με τους άξονες X,Y,Z. Στο Σχήμα 7.22β, το πλέγμα έχει μεγαλύτερες διαστάσεις συγκριτικά με το α, ώστε να οριστεί μεγαλύτερη περιοχή πρόσδεσης στην πρωτεΐνη.

7.6.3 Μέθοδοι και αλγόριθμοι εντοπισμού του ενεργού κέντρου

Σύμφωνα με την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία, ως ενεργό κέντρο των πρωτεϊνών ορίζουμε μια εσοχή ή κοιλότητα στην επιφάνεια της πρωτεΐνης και όχι ένα σημείο της πρωτεΐνης, διότι η μεγάλη χημική συγγένεια «πρωτεΐνης-χημικού μορίου» μπορεί να εξασφαλιστεί μόνο με μεγάλη επιφάνεια επαφής. Επομένως, η προσπάθεια εντοπισμού του ενεργού κέντρου βασίζεται στην ειδική γεωμετρία και στα ενεργειακά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνικών δομών. Η μέθοδος εντοπισμού του ενεργού κέντρου παρουσιάζει δύο διαφορετικές εφαρμογές. Η πρώτη αφορά τη διεξαγωγή χωρικών και γεωμετρικών υπολογισμών στην πρωτεϊνική δομή με στόχο την εύρεση εσοχών και κοιλοτήτων στην επιφάνεια της πρωτεΐνης, και η δεύτερη εφαρμογή περιλαμβάνει την τοποθέτηση μορίων-

«ανιχνευτών» στην επιφάνεια της πρωτεΐνης και στη συνέχεια τον εντοπισμό των ενεργών κέντρων με βάση την ενέργεια που αναπτύσσεται μεταξύ των ανιχνευτών και των κοιλοτήτων.

7.6.3.1 Αλγόριθμος SURFNET

Η κεντρική ιδέα της μεθόδου αυτής είναι η τοποθέτηση σφαιρών στα κενά που δημιουργούνται μεταξύ δύο πρωτεϊνικών ατόμων, σύμφωνα με την τριδιάστατη δομή των πρωτεϊνών, ώστε να ανιχνευθούν πιθανές περιοχές μοριακής πρόσδεσης. Στο λογισμικό SURFNET, το μέγεθος της κάθε σφαίρας ρυθμίζεται έτσι ώστε να εφάπτεται στην επιφάνεια του ατόμου. Αν η σφαίρα συγκρούεται με άλλα γειτονικά άτομα, ο όγκος της σφαίρας μειώνεται. Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου όλα τα ζευγάρια των ατόμων της πρωτεΐνης έχουν ληφθεί υπόψη. Τέλος, εντοπίζεται συνδυασμός σφαιρών που βρίσκονται στους κενούς χώρους των πρωτεϊνών, ο οποίος υποδηλώνει την ύπαρξη μεγάλων εσοχών και κοιλοτήτων στην πρωτεΐνη που μπορούν να θεωρηθούν πιθανά ενεργά κέντρα.

7.6.3.2 Αλγόριθμος LIGSITE

Μια πιο σύγχρονη μέθοδος για τον εντοπισμό του ενεργού κέντρου, η οποία εφαρμόστηκε πρώτη φορά από τους Manfred Hendlich και συνεργάτες και ονομάστηκε LIGSITE, χρησιμοποιεί συνήθως τριδιάστατα πλέγματα, τα οποία καλύπτουν την πρωτεΐνη-στόχο. Ξεκινώντας από κάθε σημείο του πλέγματος, ελέγχονται συνολικά 7 κατευθύνσεις, συμπεριλαμβανομένων των αξόνων x , y , z και των τεσσάρων διαγωνίων του πλέγματος, και στη συνέχεια βαθμολογείται το κάθε σημείο του πλέγματος. Μετά τη διερεύνηση του κάθε σημείου του πλέγματος προς όλες τις κατευθύνσεις, τα αμινοξέα των πιθανών ενεργών κέντρων προκύπτουν σύμφωνα με αυτά που διαθέτουν την ευνοϊκότερη βαθμολόγηση.

7.6.3.3 SITEHOUND και FTSite

Η αρχή της μεθόδου εντοπισμού του ενεργού κέντρου μέσω της ενέργειας, βασίζεται αρχικά στην τοποθέτηση ενός μορίου στην πρωτεΐνη και στον υπολογισμό των ενεργειακών αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσονται μεταξύ του μορίου και των αμινοξέων της κοιλότητας. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται η εύρεση περιοχών της πρωτεϊνικής δομής μέσω της κατανομής των εντάσεων των ενεργειακών σημάτων που ελήφθησαν. Μια τέτοια μέθοδος εντοπισμού του ενεργού κέντρου αποτελεί η μέθοδος SITEHOUND. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί ένα «κουτί (box)» που περιλαμβάνει πλέγμα, το οποίο καλύπτει όλη την πρωτεΐνη. Ένα άτομο άνθρακα και ένα φωσφόρου χρησιμοποιούνται ως άτομα-πρότυπα, τα οποία τοποθετούνται στα σημεία του πλέγματος, με στόχο να υπολογιστούν οι δυνάμεις αλληλεπίδρασης μεταξύ των ατόμων αυτών και της πρωτεΐνης. Τα σημεία του πλέγματος όπου υπολογίζεται μεγάλη ενέργεια λόγω αλληλεπιδράσεων, ομαδοποιούνται. Αφού έχει πραγματοποιηθεί χαρτογράφηση όλων των ατόμων-πρωτύπων με τα αμινοξέα της πρωτεΐνης, καθορίζονται τα πιθανά ενεργά κέντρα των ενζύμων έπειτα από τις προηγούμενες ομαδοποιήσεις των σημείων του πλέγματος.

Μια παρόμοια μέθοδος εντοπισμού του ενεργού κέντρου που βρίσκεται στη βιβλιογραφία αποτελεί η βασισμένη στην ενέργεια μέθοδος FTSite. Η βασική ιδέα για την εφαρμογή της μεθόδου αποτελεί η τοποθέτηση ενός πυκνού πλέγματος γύρω από την πρωτεΐνη και η τοποθέτηση 16 διαφορετικών μικρών προτύπων-μορίων μέσα στο πλέγμα. Στη συνέχεια, η επίλυση συναρτήσεων ελεύθερης ενέργειας θα καθορίσουν την κατάλληλη θέση αυτών των μορίων, τα οποία ομαδοποιούνται ανάλογα με την ελεύθερη ενέργεια «πρωτεΐνης-πρωτύπου μορίου» που έχει υπολογιστεί. Τα αμινοξέα που αλληλεπιδρούν με την ενεργειακά ευνοϊκότερη ομάδα από αυτές που προέκυψαν αποτελούν τα αμινοξέα του πιθανού ενεργού κέντρου.

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για πολλά χρόνια, ενώ παρουσιάζει ένα σημαντικό μειονέκτημα. Η μέθοδος αυτή εξαρτάται εξολοκλήρου από την τριδιάστατη δομή των πρωτεϊνών, επομένως σε περίπτωση που το ενεργό κέντρο δεν υφίσταται στη δομή του αποενζύμου της πρωτεΐνης, αλλά προκύπτει μέσω διαμορφωτικών αλλαγών του, η συγκεκριμένη μέθοδος δεν μπορεί να ανιχνεύσει την πιθανή κοιλότητα του ενεργού κέντρου.

7.6.4 Συναρτήσεις Βαθμολόγησης (Scoring functions)

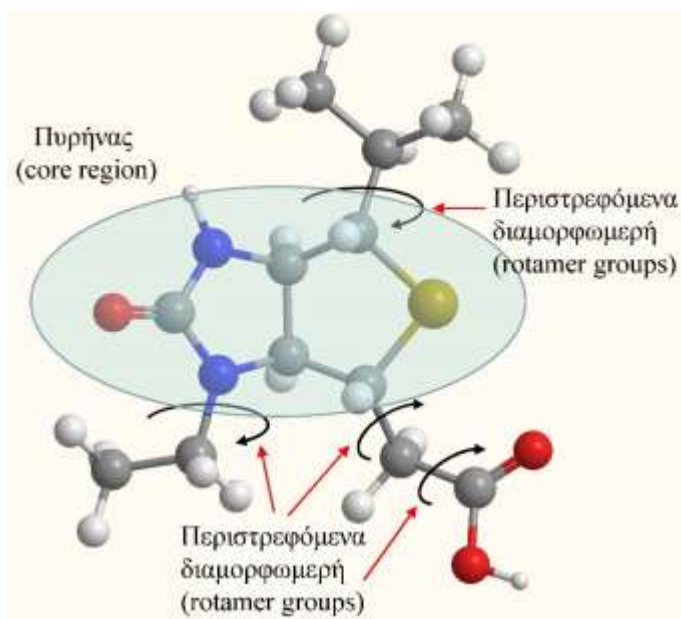
Τα πειράματα μοριακής πρόσδεσης αξιολογούνται με τη χρήση συναρτήσεων βαθμολόγησης. Οι συναρτήσεις που περιλαμβάνονται συνήθως στους διαφορετικούς αλγορίθμους μοριακής πρόσδεσης ονομάζονται εμπειρικές συναρτήσεις βαθμολόγησης. Οι συναρτήσεις αυτές παρουσιάζουν μικρές διαφορές από λογισμικό σε λογισμικό μοριακής πρόσδεσης, αλλά στο μεγαλύτερό τους τμήμα παραμένουν οι ίδιες. Στην παράγραφο αυτή, θα αναλυθεί η κύρια συνάρτηση βαθμολόγησης που εξάγεται από όλα τα προγράμματα μοριακής πρόσδεσης και προσδιορίζει την ελεύθερη ενέργεια δημιουργίας του συμπλόκου «ενζύμου–προσδέτη». Επιπλέον συναρτήσεις βαθμολόγησης εντοπίζονται και στις περιπτώσεις που εφαρμόζονται διαφορετικά πρωτόκολλα για τη μοριακή πρόσδεση, π.χ. Πρωτόκολλο Επαγόμενης Προσαρμογής, το οποίο διαθέτει μια επιπρόσθετη συνάρτηση βαθμολόγησης, το IFDScore.

Στη συγκεκριμένη παράγραφο ως παράδειγμα θα αναλυθεί η περίπτωση της χρήσης του αλγορίθμου μοριακής πρόσδεσης Glide, της εταιρείας Schrödinger, ο οποίος επιτρέπει την πρόσδεση μικρών ευέλικτων μορίων στον υποδοχέα βιολογικών μακρομορίων διατηρώντας τη δομή των μακρομορίων άκαμπτη.

Με τη χρήση του αλγορίθμου Glide αναζητούνται ευνοϊκές αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενός ή περισσότερων προσδετών και του υποδοχέα, ο οποίος μπορεί να είναι μία πρωτεΐνη μαζί με ή χωρίς ένα μη πρωτεϊνικό συμπάραγοντα. Η μοριακή πρόσδεση με το Glide μπορεί να επιτευχθεί θεωρώντας τον προσδέτη άκαμπτο επιτρέποντας μόνο την περιστροφή ορισμένων υδροξυλομάδων ή εύκαμπτο. Στην περίπτωση που επιλεγεί ο προσδέτης να είναι άκαμπτος τότε αυτός προσδέεται στον υποδοχέα ως έχει, ενώ αν επιλεγεί να είναι εύκαμπτος πριν ξεκινήσει η πρόσδεση δημιουργείται αυτόματα ένα σύνολο διαμορφώσεων που μπορεί να αποκτήσει. Η απεικόνιση που δείχνει τη θέση, τον προσανατολισμό και τη διαμόρφωση κάθε προσδέτη μέσα στην κοιλότητα του υποδοχέα ονομάζεται διαμόρφωση/τρόπος μοριακής πρόσδεσης, πρόσδεση ή πόζα πρόσδεσης (ligand pose). Οι προσανατολισμοί του προσδέτη που δημιουργούνται από τη χρήση του προγράμματος περνούν διαμέσου μια σειράς από ιεραρχικά φίλτρα (hierarchical filters) που εκτιμούν και αξιολογούν τις αλληλεπιδράσεις του προσδέτη στην κοιλότητα του υποδοχέα. Τα ιεραρχικά φίλτρα ελέγχουν τη χωρική εφαρμογή του προσδέτη στην καθορισμένη κοιλότητα του υποδοχέα και τη συμπληρωματικότητα των αλληλεπιδράσεων υποδοχέα–προσδέτη χρησιμοποιώντας μια μέθοδο–πλέγματος που χρησιμοποιεί την εμπειρική συνάρτηση βαθμολόγησης ChemScore. Οι προσανατολισμοί των μορίων που διέρχονται από τα ιεραρχικά φίλτρα υποβάλλονται στη συνέχεια στο τελικό στάδιο της μοριακής πρόσδεσης, στο οποίο περιλαμβάνεται η αξιολόγηση και η ελαχιστοποίηση ενέργειας των μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων υποδοχέα–προσδέτη, χρησιμοποιώντας το πεδίο δυνάμεων OPLS–AA και λαμβάνοντας υπόψη τα πεδία του ενεργού κέντρου του υποδοχέα. Η τελική βαθμολόγηση διεξάγεται, στον ελαχιστοποιημένο ενεργειακά προσανατολισμό του προσδέτη. Εξ' ορισμού το GlideScore είναι η συνάρτηση βαθμολόγησης του Glide, η οποία επίσης χρησιμοποιείται για να βαθμολογείται η πρόσδεση των δημιουργούμενων προσανατολισμών ενός προσδέτη. Ο όρος βαθμολόγησης Emodel χρησιμοποιείται για να κατατάσσει τους προσανατολισμούς του προσδέτη και να εντοπιστεί ποιος είναι ο πιο ευνοϊκός. Το Emodel περιλαμβάνει τη βαθμολόγηση του GlideScore, την ενέργεια μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων και την εσωτερική ενέργεια της διαμόρφωσης που δημιουργήθηκε για τον προσδέτη.

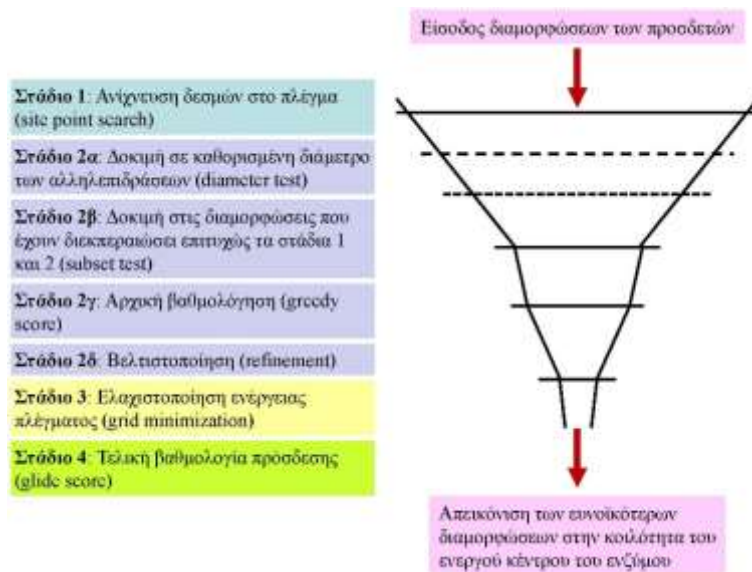
Το σχήμα και οι ιδιότητες του ενζύμου/υποδοχέα, αναπαρίστανται με ένα εικονικό «πλέγμα» το

οποίο αποτελείται από διάφορα μικρότερα πεδία τα οποία αντιστοιχούν σε αυξανόμενης ακρίβειας αποτελέσματα βαθμολόγησης. Στον αλγόριθμο Glide, θεωρώντας δεδομένη την ευκαμψία του προσδέτη, πραγματοποιείται εκτεταμένη αναζήτηση διαμορφώσεων και απορρίπτονται οι διαμορφώσεις που δεν προσαρμόζονται στην πρωτεϊνική κοιλότητα που μελετάται. Σύμφωνα με αυτή τη διαδικασία ο κάθε προσδέτης χωρίζεται σε διαφορετικές νοητές περιοχές. Ειδικότερα, χωρίζεται στην περιοχή του πυρήνα και σ' έναν αριθμό περιστρεφόμενων διαμορφωμένων ομάδων (rotamer groups). Η καθεμία από αυτές τις διαμορφωμένες ομάδες συνδέεται με τον πυρήνα μέσω ενός περιστρεφόμενου δεσμού. Ο πυρήνας ορίζεται ως το δομικό τμήμα του μορίου που παραμένει αν αγνοηθούν όλα τα δομικά τμήματα του μορίου τα οποία μπορούν να περιστραφούν (Σχήμα 7.23).



Σχήμα 7.23 Προσδιορισμός περιοχών πυρήνα (core region) και διαμορφωμένων

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ένα μόριο απαρτίζεται από άκαμπτα τμήματα που ονομάζονται πυρήνες και εύκαμπτα τμήματα. Στην πορεία της μοριακής πρόσδεσης τα εύκαμπτα τμήματα είναι εκείνα που μπορούν να προσαρμοστούν στις διάφορες δυνατές διαμορφώσεις. Όλες οι διαμορφώσεις που προκύπτουν προσδένονται στην κοιλότητα του υποδοχέα και αξιολογείται η ικανότητα πρόσδεσής τους. Η διαδικασία τοποθέτησης του προσδέτη στην κοιλότητα του υποδοχέα διεξάγεται αρχικά με την τοποθέτηση των ατόμων του προσδέτη τα οποία βρίσκονται σε μια καθορισμένη απόσταση από τον πυρήνα του προσδέτη. Αυτό γίνεται αρχικά με την επιλογή πιθανών προσανατολισμών αυτών των ατόμων του προσδέτη στην κοιλότητα του υποδοχέα. Στη συνέχεια, λαμβάνονται υπόψη οι αλληλεπιδράσεις ενός υποσυνόλου ατόμων τα οποία δύνανται να συμμετέχουν σε δεσμούς υδρογόνου ή σε αλληλεπιδράσεις με ιόντα μετάλλων, όταν πρόκειται για μεταλλοπρωτεΐνες και βαθμολογούνται. Αν η βαθμολόγηση είναι ευνοϊκή, τότε ο συγκεκριμένος προσανατολισμός του προσδέτη θεωρείται αποδεκτός και βαθμολογούνται όλες οι αλληλεπιδράσεις όλων των ατόμων με το ενεργό κέντρο του υποδοχέα. Όσες διαμορφώσεις καταφέρουν να περάσουν τα συνεχή φίλτρα αξιολόγησης καταλήγουν στο τρίτο στάδιο της διαδικασίας, όπου και ελαχιστοποιούνται ενεργειακά. Στη συνέχεια, οι συγκεκριμένες διαμορφώσεις επανεξετάζονται ως προς τις γωνίες των δεσμών τους σε μια προσπάθεια να βρεθεί μια ακόμα πιο ευνοϊκή ενεργειακά διαμόρφωση (Σχήμα 7.25). Όσες διαμορφώσεις περάσουν από όλα αυτά τα φίλτρα αξιολογούνται από τη συνάρτηση Glide Score και λαμβάνουν την τελική βαθμολογία πρόσδεσης. Όσο μικρότερη, δηλαδή πιο αρνητική είναι η βαθμολογία αυτή, τόσο ισχυρότερη είναι η πρόσδεση του μορίου στον υποδοχέα.



Σχήμα 7.24 Τα φίλτρα αξιολόγησης που εφαρμόζονται με τη χρήση του αλγορίθμου Glide.

Η βαθμολόγηση της πρόσδεσης κάθε προσδέτη στην κοιλότητα του υποδοχέα, πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας την εμπειρική συνάρτηση βαθμολόγησης ChemScore, η οποία ονομάζεται GlideScore και είναι κατοχυρωμένη με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας από την εταιρεία Schrödinger. Η συνάρτηση βαθμολόγησης GlideScore βασίζεται στην εμπειρική συνάρτηση βαθμολόγησης ChemScore και περιλαμβάνει επιπλέον έναν όρο για τις στερικές αλληλεπιδράσεις και ένα ακόμα πολικό άκρο, ώστε να περιοριστούν οι ηλεκτροστατικές απώσεις (Εξίσωση 7.10):

$$\text{GScore} = 0,05 \times \text{vdW} + 0,15 \times \text{Coul} + \text{Lipo} + \text{Hbond} + \text{Metal} + \text{Rewards} + \text{RotB} + \text{Site} \quad (7.10)$$

vdW: Ενέργεια των van der Waals αλληλεπιδράσεων.

Coul: Ενέργεια Coulomb.

Οι όροι αυτοί υπολογίζονται με ελαττωμένα τα αμιγή ιοντικά φορτία των ομάδων που φέρουν τυπικά φορτία, όπως τα μεταλλοϊόντα, τις καρβοξυλομάδες και τις γουανιδινικές ομάδες.

Lipo: Όρος ο οποίος αφορά υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Ο όρος αυτός υπολογίζει τις πιθανές υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, δίνοντας μεγαλύτερη έμφαση σε αυτές που είναι ευνοϊκές.

Hbond: Όρος ο οποίος αφορά δεσμούς υδρογόνου. Ο όρος αυτός χωρίζεται σε διαφορετικής βαρύτητας βαθμολόγηση, ανάλογα αν ο δεσμός υδρογόνου είναι μεταξύ ουδέτερου δέκτη και δότη δεσμών υδρογόνου, μεταξύ ενός ουδέτερου και ενός φορτισμένου ή μεταξύ δύο φορτισμένων ατόμων.

Metal: Όρος ο οποίος αφορά την πρόσδεση μετάλλου. Μόνο οι αλληλεπιδράσεις με ανιοντικούς ή ισχυρά πολικούς δέκτες συμπεριλαμβάνονται στον όρο αυτόν. Αν το αμιγές φορτίο του μετάλλου στο ενεργό κέντρο του ενζύμου είναι θετικό, περιλαμβάνονται οι αλληλεπιδράσεις με ανιοντικά ή πολικά άτομα του προσδέτη, ενώ αν το αμιγές φορτίο του μετάλλου είναι μηδέν, οι αλληλεπιδράσεις δε λαμβάνονται υπόψη.

Rewards: Ευνοϊκές και μη ευνοϊκές βαθμολογήσεις για διάφορα χαρακτηριστικά γνωρίσματα, όπως επικαλυπτόμενες πολικές ομάδες, υδρόφοβα περιβλήματα, συσχετιζόμενους δεσμούς υδρογόνου, αμιδικές περιστροφές κ.λπ. Η συγκεκριμένη κατηγορία καλύπτει όλους τους όρους εκτός από εκείνους που αναφέρονται ξεκάθαρα προηγουμένως.

RotB: Μη ευνοϊκή βαθμολόγηση για τον περιορισμό περιστροφής σε δεσμούς που έχουν τη

δυνατότητα περιστροφής.

Site: Πολικές αλληλεπιδράσεις στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα. Ο όρος περιλαμβάνει τις πολικές αλληλεπιδράσεις του προσδέτη με την κοιλότητα του υποδοχέα που δεν εμπίπτουν στους δεσμούς υδρογόνου μιας υδρόφοβης περιοχής της κοιλότητας του υποδοχέα.

Σε ένα πείραμα αλγορίθμου Glide, μπορούν να εφαρμοστούν τρία επίπεδα ακριβείας. Το επίπεδο HTVS (High Throughput Virtual Screening) σάρωσης υψηλού ρυθμού απόδοσης, το οποίο είναι κατάλληλο για πολύ μεγάλες βιβλιοθήκες καθώς είναι πολύ γρήγορο. Το επίπεδο SP (Standard Precision) το οποίο παρέχει μικρότερο βαθμό ακριβείας και είναι αρκετά γρήγορο. Το επίπεδο XP (Extra Precision) το οποίο παρέχει την υψηλότερη ακρίβεια στους υπολογισμούς σε μεγαλύτερο, όμως, χρόνο. Η ακρίβεια πρόσδεσης XP συνδυάζει ένα ισχυρό πρωτόκολλο δειγματοληψίας με μία τροποποιημένη συνάρτηση βαθμολόγησης για να αναγνωρίζει τους προσανατολισμούς του προσδέτη, οι οποίοι αναμένεται να παρουσιάσουν μη ευνοϊκή ενέργεια πρόσδεσης, βασισμένη σε πολύ γνωστές φυσικοχημικές αρχές. Ο απώτερος σκοπός της XP μεθόδου είναι η απομάκρυνση των διαμορφώσεων που δίνουν λανθασμένα θετικά αποτελέσματα/βαθμολογίες και να παρέχει την ακριβέστερη βαθμολόγηση στους ευνοϊκά προσδεμένους προσανατολισμούς του προσδέτη. Συνήθως, χρησιμοποιείται το επίπεδο XP λόγω της υψηλής του ακριβείας, την ικανότητά του να απορρίπτει εσφαλμένες «θετικές» βαθμολογίες και του συνεπούς συσχετισμού μεταξύ ευνοϊκών λύσεων και επιτυχούς βαθμολογίας. Κατά τη μέθοδο XP, στον αλγόριθμο τοποθετούνται αρχικά τμήματα του προσδέτη στο ενεργό κέντρο και δομείται το μόριο δεσμού προς δεσμό. Οι λύσεις που προκύπτουν υποβάλλονται σε ελαχιστοποίηση ενέργειας και αξιολογούνται από τη συνάρτηση βαθμολόγησης XP.

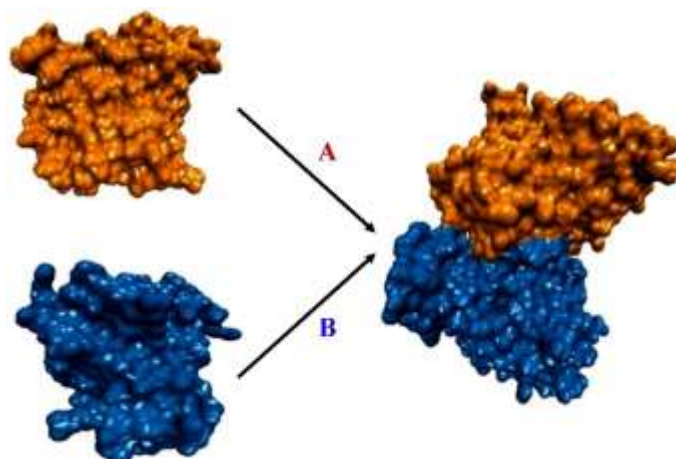
7.7 Μοριακή πρόσδεση σε χημικά συστήματα διαφορετικά από «πρωτεΐνης–προσδέτη», αντίστροφη και κβαντικά πολωμένη μοριακή πρόσδεση

7.7.1 Δημιουργία συμπλόκου «πρωτεΐνης–πρωτεΐνης»

Τα σύμπλοκα «πρωτεΐνης–πρωτεΐνης» συνδέονται με μεγάλο αριθμό μοριακών λειτουργιών, όπως είναι η ενζυμική κατάλυση, η ομοιόσταση και η ανοσολογική απόκριση. Η διερεύνηση, λοιπόν, των πρωτεϊνικών συμπλόκων, καθώς επίσης και του τρόπου σύνδεσής των υπομονάδων τους αποτελεί βασική προϋπόθεση για τη μελέτη διαφόρων ασθενειών και βιολογικών αποκρίσεων.

Οι διαμοριακές δυνάμεις που επικρατούν μεταξύ «πρωτεΐνης–πρωτεΐνης» είναι οι ίδιες που αναλύθηκαν στην παράγραφο 3 του κεφαλαίου για τα σύμπλοκα «πρωτεΐνης–προσδέτη», δηλαδή δεσμοί υδρογόνου, δυνάμεις van der Waals, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, κ.λπ.

Μια ουσιαστική διαφορά που εντοπίζεται στην μοριακή πρόσδεση πρωτεϊνών συγκριτικά με την μοριακή πρόσδεση προσδετών είναι ότι σε αυτή την περίπτωση δεν διερευνούμε κοιλότητες της πρωτεΐνης στις οποίες μπορεί να προσδεθεί κάποια πρωτεΐνη, αλλά ομάδες στην επιφάνεια των πρωτεϊνών, οι οποίες μπορεί να αλληλεπιδράσουν με άλλη πρωτεΐνη (protein interface) (Σχήμα 7.25).



Σχήμα 7.25 Μοριακή πρόσδεση πρωτεΐνης-πρωτεΐνης.

Το μέγεθος της επιφάνειας της πρωτεΐνης που αλληλεπιδρά υποδηλώνεται με τον αριθμό των αμινοξέων στην επιφάνεια της πρωτεΐνης που συμμετέχουν στην μοριακή πρόσδεση. Στην πλειοψηφία των συμπλόκων «πρωτεΐνης-πρωτεΐνης», βρίσκονται επιφάνειες μεγέθους 40 έως 80 αμινοξέων.

Οι επιφάνειες αυτές αποτελούνται είτε από υδρόφοβα ή από υδρόφιλα αμινοξέα. Στατιστικά επικρατούν οι επιφάνειες που χαρακτηρίζονται από μη πολικά αμινοξέα, χωρίς ωστόσο αυτό να σημαίνει ότι ο αριθμός των υδρόφιλων επιφανειών είναι αμελητέος.

Τα αμινοξέα της επιφάνειας των πρωτεϊνών όπου σε αυτά ευνοείται η πρόσδεση με άλλες πρωτεΐνες, ονομάζονται «αμινοξέα πρόσδεσης-hot spots». Τα αμινοξέα αυτά συμβάλλουν στη σταθερότητα των συμπλόκων «πρωτεΐνης-πρωτεΐνης». Επομένως, ο εντοπισμός των αμινοξέων πρόσδεσης στην επιφάνεια της πρωτεΐνης είναι ύψιστης σημασίας, όσο και ο εντοπισμός του ενεργού κέντρου στην μοριακή πρόσδεση μικρού μορίου στην πρωτεΐνη.

7.7.2 Δημιουργία συμπλόκου «DNA/RNA-προσδέτη»

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ «νουκλεϊκού οξέος-προσδέτη» διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές κυτταρικές διεργασίες, όπως η γονιδιακή λειτουργία και ρύθμιση. Επομένως, τα νουκλεϊκά οξέα, όπως τα μόρια RNA, αποτελούν ολοένα και περισσότερο σημαντικούς φαρμακευτικούς στόχους, όπου ο καθορισμός της δομικής σταθερότητας των συμπλόκων είναι καθοριστικός για την κατανόηση των λειτουργιών και την ανάπτυξη θεραπευτικών παρεμβολών. Η μοριακή πρόσδεση αποτελεί ιδιαίτερα χρήσιμο υπολογιστικό εργαλείο για τον σχεδιασμό συμπλόκων και είναι μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρύτατα για την εύρεση νέων μορίων-προσδετών που στοχεύουν πρωτεΐνες. Η μέθοδος αυτή δεν είναι τόσο διαδεδομένη όταν στόχος είναι το γενετικό υλικό. Δυστυχώς, η πλειοψηφία των υπολογιστικών προγραμμάτων που χρησιμοποιούνται για τη μοριακή πρόσδεση έχουν βαθμονομηθεί μόνο για τη δημιουργία συμπλόκων «πρωτεΐνης-προσδέτη» και όχι για «γενετικό υλικό-προσδέτη». Υπάρχουν προγράμματα τα οποία πραγματοποιούν μοριακή πρόσδεση στο DNA/RNA, ωστόσο τα πειράματα που πραγματοποιούνται δεν είναι τόσο συχνά όσο αυτά των πρωτεϊνών. Η μοριακή πρόσδεση στο γενετικό υλικό έχει κερδίσει έδαφος τα τελευταία χρόνια, διότι μεγάλο μέρος φαρμακευτικών μορίων, π.χ. αντιβιοτικών και αντικαρκινικών φαρμάκων, στοχεύουν στο γενετικό υλικό.

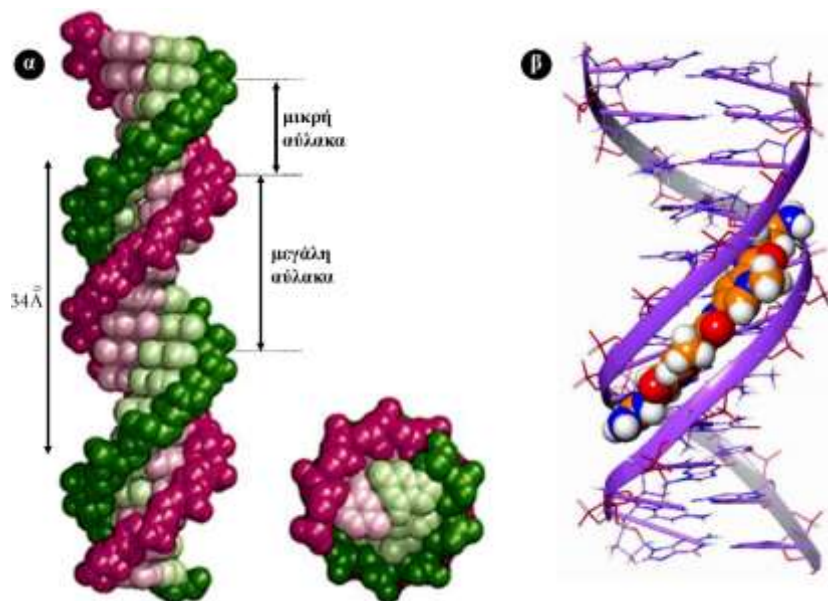
Τα νουκλεϊκά οξέα διαφέρουν ως προς τις πρωτεΐνες, διότι διαθέτουν μοναδικά δομικά χαρακτηριστικά, όπως υψηλή πυκνότητα φορτίου και χειρόμορφη γεωμετρία της έλικας. Επιπλέον, σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες, δεν διαθέτουν μοναδικό και καθορισμένο ενεργό κέντρο, καθώς επίσης και διαθέτουν κοιλότητες προσβάσιμες στον διαλύτη σε μεγάλο ποσοστό.

Γενικά, αλληλεπίδραση μικρών μορίων με το DNA πραγματοποιείται με δύο διαφορετικούς τρόπους: παρεμβολή μεταξύ των ζευγών βάσεων ή αναγνώριση αύλακας του DNA. Αν και η αναγνώριση της μεγάλης αύλακας προσφέρει περισσότερους δότες και δέκτες δεσμών υδρογόνου, πρόκειται για μια μεγάλη και «ρηχή» περιοχή πρόσδεσης μικρών χημικών μορίων συγκριτικά με τη μικρή αύλακα. Για τον λόγο αυτό, τα περισσότερα χημικά μόρια προσδένονται στη μικρή αύλακα του DNA, ενώ η μεγάλη αύλακα προσφέρεται για μοριακή πρόσδεση πρωτεϊνών και πεπτιδίων λόγω της μεγαλύτερης κοιλότητας.

Από τις κύριες μεθόδους πρόσδεσης μορίων στο DNA, η παρεμβολή αποτελεί τον συνηθέστερο τρόπο πρόσδεσης, μέσω της οποίας μικρά και συμπαγή αρωματικά μόρια αναγνωρίζουν το DNA. Οι περισσότεροι από τους κλασικούς, απλούς παρεμβολείς δεν προσδένονται στην αλληλουχία του DNA εκλεκτικά, αφού οι βασικές αλληλεπιδράσεις που σχηματίζονται μεταξύ των μορίων και του DNA είναι η π - π επιστίβαξη και οι σταθεροποιητικές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Είναι γνωστό ότι η παρεμβολή επιβάλλει δομικές αλλαγές στο DNA, ώστε να ανοίξει ένα «κενό» παρεμβολής μεταξύ δύο συμπληρωματικών ζευγών βάσεων. Επομένως, η πρόσδεση μέσω παρεμβολής στο DNA μπορεί να θεωρηθεί ως μηχανισμός επαγόμενης πρόσδεσης.

Αντίθετα, η αναγνώριση της μικρής αύλακας από χημειοεκλεκτικά μόρια μοιάζει περισσότερο με το μοντέλο κλειδιού-κλειδαριάς, καθώς παρατηρείται μικρή και ή και καθόλου στο DNA μετά την πρόσδεση. Σε αυτό το είδος μοριακής πρόσδεσης, αυτή εξαρτάται από συνδυασμό τριών παραγόντων, van der Waals αλληλεπιδράσεις, δεσμοί υδρογόνου και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις (Σχήμα 7.26).

Επομένως, οι μέθοδοι μοριακής πρόσδεσης που δεν λαμβάνουν υπόψη την ευελιξία της πρωτεΐνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο για την αξιολόγηση προσδετών της μικρής αύλακας και όχι για την αξιολόγηση μορίων-παρεμβολέων.



Σχήμα 7.26 (α) Υποδεικνύεται η μικρή και η μεγάλη αύλακα στη δομή διπλής έλικας του DNA. (β) Υποδεικνύεται η μοριακή πρόσδεση του χημικού μορίου στη μικρή αύλακα του DNA.

7.7.3 Αντίστροφη μοριακή πρόσδεση (Reverse ligand docking)

Η μέθοδος της αντίστροφης μοριακής πρόσδεσης έχει αρχίσει να αναπτύσσεται σημαντικά τα τελευταία πέντε χρόνια, καθώς ο επαναπροσδιορισμός του ρόλου των φαρμάκων (drug repurposing) έχει κερδίσει έδαφος στον τομέα του σχεδιασμού φαρμάκων. Σύμφωνα με την μέθοδο αντίστροφης μοριακής πρόσδεσης, χρησιμοποιείται ο προσδέτης ως κύριο μόριο, το οποίο αξιολογείται ως προς

την πιθανή προσδεσμή του σε διαφορετικά ένζυμα ή υποδοχείς με στόχο να βρεθεί πιθανό ένζυμο ή υποδοχέας-στόχος όπου το μόριο προσδέεται ιδιαίτερα ισχυρά. Στην αντίστροφη μοριακή πρόσδεση, χρησιμοποιούνται πρωτεΐνες από μεγάλες βάσεις δεδομένων (π.χ Potential drug target database (PDTD), sc-PDB), στις οποίες πριν τη μοριακή πρόσδεση θα πρέπει να έχει καθοριστεί το ενεργό κέντρο είτε μέσω συγκρυσταλλωμένου προσδέτη, αν υπάρχει, ή μέσω προγραμμάτων ανίχνευσης του ενεργού κέντρου, όπως το SiteMap ή το focket. Με στόχο τη μείωση του υπολογιστικού κόστους, εφόσον εξετάζεται ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων ή υποδοχέων, η διαδικασία θα πρέπει να γίνει περισσότερο αυτοματοποιημένη. Επομένως προτείνεται η χρήση λογισμικών για την ανίχνευση του ενεργού κέντρου των ενζύμων. Κάθε λογισμικό που πραγματοποιεί αντίστροφη μοριακή πρόσδεση ακολουθεί διαφορετική διαδικασία για τον καθορισμό των ενεργών κέντρων των ενζύμων.

Η χρήση μεγάλων βιβλιοθηκών που περιέχουν τα απαραίτητα στοιχεία για την πραγματοποίηση αντίστροφης μοριακής πρόσδεσης είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη. Για παράδειγμα, η sc-PDB είναι μια τριδιάστατη βιβλιοθήκη ενεργών κέντρων, που περιέχει ενεργά κέντρα ενζύμων ή υποδοχέων με συγκρυσταλλωμένους προσδέτες. Στην βιβλιοθήκη αυτή, περιέχονται μόνο κρυσταλλογραφικές δομές υψηλής διακριτικής ικανότητας ($\leq 2,5\text{\AA}$) με συγκρυσταλλωμένους προσδέτες μόρια μικρού μοριακού βάρους. Η βιβλιοθήκη αυτή περιέχει τρεις βάσεις δεδομένων:

- (i) τις συντεταγμένες της κάθε πρωτεΐνης,
- (ii) τις συντεταγμένες του κάθε προσδέτη,
- (iii) τις συντεταγμένες του κάθε ενεργού κέντρου.

Τα δεδομένα αυτά μπορούν να εισαχθούν σε προγράμματα μοριακής πρόσδεσης όπως το GOLD ή το Glide και να εξεταστούν συνήθως με τη χρήση αλγορίθμων εικονικής σάρωσης ως προς την πρόσδεσή τους σε συγκεκριμένους προσδέτες.

7.7.4 Ομοιοπολική μοριακή πρόσδεση (Covalent docking)

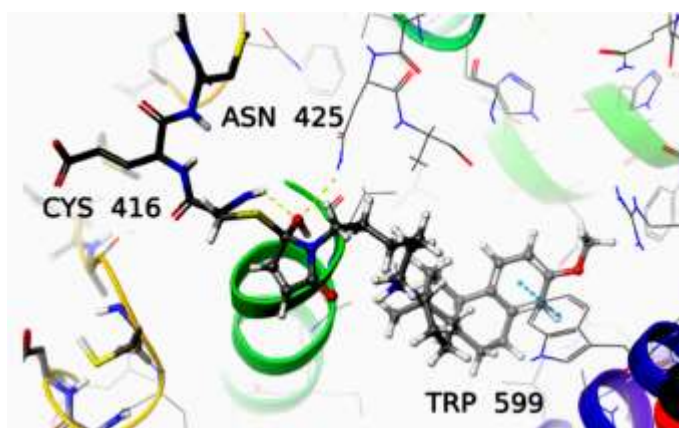
Η αναστολή μέσω δημιουργίας ομοιοπολικού δεσμού μεταξύ του φαρμακευτικού μορίου και της πρωτεΐνης-στόχου έχει κερδίσει έδαφος τις τελευταίες δεκαετίες. Οι ομοιοπολικοί αναστολείς χαρακτηρίζονται από τη δημιουργία χημικού δεσμού μεταξύ μια ηλεκτρονιόφιλης χαρακτηριστικής ομάδας του προσδέτη και ενός πυρηνόφιλου αμινοξέος, κυρίως κυστεΐνης, της πρωτεΐνης. Ανάλογα με τη φύση του ηλεκτρονιόφιλου, η ομοιοπολική πρόσδεση μπορεί να οδηγήσει σε προσωρινή ή μόνιμη αναστολή. Ο συγκεκριμένος τύπος μοριακής πρόσδεσης αντιμετωπίζει τις ίδιες προκλήσεις με την παραδοσιακή μοριακή πρόσδεση, όπου σχηματίζονται μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις και μοντελοποιούνται οι βέλτιστες γεωμετρίες των ηλεκτρονιόφιλων ομάδων στο σημείο που πραγματοποιείται η αντίδραση ως απαιτήσεις-κλειδί για την δημιουργία διαμορφώσεων πρόσδεσης υψηλής ακρίβειας.

Επιπλέον, οι συμβατικές συναρτήσεις βαθμολόγησης δεν επιτρέπουν την αξιολόγηση της δημιουργίας ομοιοπολικού δεσμού, η οποία απαιτεί κβαντικούς υπολογισμούς με μεγάλο υπολογιστικό κόστος.

Η δημιουργία ομοιοπολικών συμπλόκων βασίζεται σε επτά τύπους μηχανισμών αντιδράσεων που μπορούν να πραγματοποιηθούν μεταξύ πρωτεΐνης-προσδέτη: αντίδραση Michael, πυρηνόφιλη προσθήκη σε νιτρίλιο, αλδεΐδη ή κετόνη, πυρηνόφιλη υποκατάσταση, διάνοιξη τριμελούς δακτυλίου και δημιουργία δισουλφιδικού δεσμού.

Ένα από τα λογισμικά που πραγματοποιούν ομοιοπολική μοριακή πρόσδεση αποτελεί το ConDock, της εταιρείας Schrödinger. Πρόκειται για έναν αλγόριθμο με πολλά βήματα, που στοχεύει στην ακριβή πρόβλεψη του μηχανισμού πρόσδεσης ομοιοπολικών προσδετών, αφού έχει επιλεγεί ο ένας από τους επτά μηχανισμούς αντίδρασης που παρατέθηκαν παραπάνω. Ως πρώτο βήμα του αλγορίθμου, πραγματοποιείται μη ομοιοπολική μοριακή πρόσδεση με τον αλγόριθμο του Glide, χρησιμοποιώντας χωρικούς περιορισμούς για την επιλογή πόζας (απόσταση 5 Å μεταξύ των δύο ατόμων που συμμετέχουν στον σχηματισμό δεσμού). Το πρωτόκολλο χρησιμοποιεί τον αλγόριθμο

ConfGen για τη δειγματοληψία των διαμορφώσεων του προσδέτη πριν τη μοριακή πρόσδεση, όπου ο προσδέτης προσδένεται στο ενεργό κέντρο, ενώ το δραστικό αμινοξύ που καταλύει την επιθυμητή αντίδραση στο ενεργό κέντρο μεταλλάσσεται σε αλανίνη. Στη συνέχεια, η μετάλλαξη μεταστρέφεται και τα περιστρεφόμενα μέρη της πυρηνόφιλης κυστεΐνης ελέγχονται ώστε να σχηματίσουν ομοιοπολικό δεσμό και τις διαφορετικές πόζες του προσδέτη που προβλέφθηκαν από τη μη ομοιοπολική μοριακή πρόσδεση, βάσει γεωμετρικών κριτηρίων (Σχήμα 7.27). Η ενέργεια πρόσδεσης υπολογίζεται ως ο μέσος όρος της μη ομοιοπολικής πρόσδεσης με την τελική πόζα που λαμβάνεται στην ομοιοπολική.



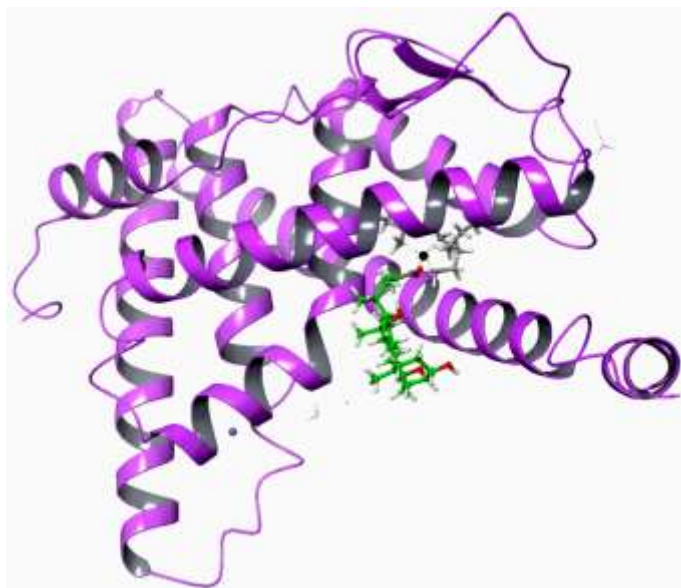
Σχήμα 7.27 Ομοιοπολική μοριακή πρόσδεση χημικού μορίου στο αμινοξύ CYS416 της 5-λιποξυγονάσης. Η κετονομάδα του χημικού μορίου έχει αναχθεί σε υδροξυλομάδα και έχει συνδεθεί ομοιοπολικά με ομάδα -SH της κυστεΐνης.

7.7.5 Κβαντικά πολωμένη μοριακή πρόσδεση (Quantum Polarized Ligand Docking–QPLD)

Ο ακριβής υπολογισμός των ηλεκτροστατικών φορτίων είναι ύψιστης σημασίας για την επιτυχία του αλγορίθμου μοριακής πρόσδεσης. Παρόλο που τα σύγχρονα πεδία δυνάμεων μπορούν να μοντελοποιήσουν τα μερικά ατομικά φορτία των προσδετών με σχετική ακρίβεια, δεν μπορούν να λάβουν υπόψη την πόλωση του μορίου που προκαλείται από το πρωτεϊνικό περιβάλλον. Όσο περισσότερη πόλωση δημιουργείται στον προσδέτη από το περιβάλλον της πρωτεΐνης, τόσο δυσκολότερο είναι να προβλεφθεί ο σωστός τρόπος πρόσδεσης του μορίου με αλγορίθμους μοριακής μηχανικής. Για μεγαλύτερη ακρίβεια στη μοριακή πρόσδεση, χρησιμοποιείται η κβαντομηχανική μέθοδος με πολωμένο προσδέτη QM–Polarized Ligand Docking (QPLD), στην οποία εφαρμόζονται *ab initio* υπολογισμούς φορτίου ώστε να ξεπεράσει τον περιορισμό που περιγράφηκε παραπάνω.

Ο συγκεκριμένος αλγόριθμος συνδυάζει τη δυναμικότητα του Glide με την ακρίβεια των κβαντικών υπολογισμών. Ο αλγόριθμος ξεκινάει με απλή μοριακή πρόσδεση με Glide που δημιουργεί σύμπλοκα «πρωτεΐνης–προσδέτη», των οποίων η ενέργεια ελαχιστοποιείται στη συνέχεια (μηδενικού βαθμού ελαχιστοποίηση, single–point) και προκύπτουν τα μερικά ατομικά φορτία για την κάθε πόζα του προσδέτη. Στη συνέχεια, στον αλγόριθμο Glide πραγματοποιείται εκ νέου μοριακή πρόσδεση με τα νέα μερικά φορτία για τον προσδέτη.

Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι απαραίτητη για την πραγματοποίηση μοριακή πρόσδεσης φαρμακευτικών μορίων με δομή μεταλλικών συμπλόκων στα ενεργά κέντρα των πρωτεϊνών, αλλά και για μεγαλύτερη ακρίβεια μοριακών προσδέσεων οργανικών μορίων σε πρωτεΐνες (Σχήμα 7.28).



Σχήμα 7.28 Μοριακή πρόσδεση οργανοκασσιτερικού συμπλόκου στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα οιστρογόνων.

7.8 Λογισμικά πρόσδεσης μορίων σε υποδοχείς

Όπως είδαμε και προηγουμένως, τα φαρμακευτικά μόρια έχουν την δυνατότητα να προσδένονται σε τοπογραφικές περιοχές βιολογικών μακρομορίων, με αποτέλεσμα να λαμβάνουν μέρος σε βιοχημικές διεργασίες, όπως, για παράδειγμα σε αναστολές ενζυμικής δράσης ή σε διαδικασίες μετάδοσης σήματος. Η γνώση της τριδιάστατης δομής και των ευνοϊκά ενεργειακών διαμορφωμένων των υποδοχέων, ώθησε τους θεωρητικούς φαρμακοχημικούς στην ανάπτυξη αλγορίθμων, για την προσομοίωση της πρόσδεσης φαρμακευτικών μορίων στα ενεργά κέντρα των υποδοχέων, ως ένα σημαντικό βήμα για τον μοριακό σχεδιασμό καινοτόμων φαρμάκων.

Για τις μελέτες αυτές, εκτός του κατάλληλου λογισμικού, απαιτείται και η χρήση ισχυρού ηλεκτρονικού υπολογιστή με περιβάλλον Μοριακών Γραφικών. Οι μεγάλες απαιτήσεις σε μαθηματικές επεξεργασίες, βιολογικές γνώσεις και υπολογιστική ισχύ, δικαιολογούν την ανάπτυξη των μελετών αυτών στις τελευταίες δεκαετίες.

Για τη μελέτη της πρόσδεσης φαρμακευτικών μορίων (ΦΜ) στον υποδοχέα (Υ), έχουν αναπτυχθεί αρκετά προγράμματα για ηλεκτρονικούς υπολογιστές. Αυτά αποτελούν μεθοδολογία Υπολογιστικής Χημείας και Μοριακής Μοντελοποίησης. Την επιτυχία των λογισμικών προγραμμάτων μοριακής πρόσδεσης, την έχουν ανάγει σε εργαλείο πρόβλεψης της δράσης «πραγματικών» ή «θεωρητικών» μορίων.

Με δεδομένες τις διαμορφώσεις του ΦΜ και της θήκης πρόσδεσης του υποδοχέα, ένας αλγόριθμος πρόσδεσης μπορεί να δώσει 3 βασικές πληροφορίες:

- ♦ Το κατά πόσο μπορεί να γίνει αυθόρμητα η πρόσδεση του ΦΜ σε συγκεκριμένη θήκη του υποδοχέα,
- ♦ Την ενέργεια της πρόσδεσης,
- ♦ Τη διαμόρφωση του συμπλόκου Υ-ΦΜ.

Τα λογισμικά πρόσδεσης μπορούν να διαιρεθούν σε δύο βασικά τμήματα: Το πρώτο αφορά την ανίχνευση της σωστής γεωμετρίας πρόσδεσης του ΦΜ, και εξαρτάται από τους βαθμούς ελευθερίας του. Το δεύτερο μέρος αφορά τη βαθμολόγηση της πρόσδεσης. Η συνάρτηση βαθμολόγησης της

πρόσδεσης, πρέπει να είναι αρκετά ρεαλιστική και συνήθως υπολογίζει τη στερική και χημική συμπληρωματικότητα μεταξύ προσδέτη και υποδοχέα, όπως είδαμε και παραπάνω.

Ο αλγόριθμος της πρόσδεσης, όσον αφορά το πρώτο μέρος, πρέπει να αναλύσει εξονυχιστικά την επιφάνεια δυναμικής ενέργειας και να βρει το ολικό ελάχιστο. Γίνεται εύκολα κατανοητό ότι η διαμόρφωση τόσο του ΦΜ, όσο και της θήκης του υποδοχέα κατά την πρόσδεση, παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στα αποτελέσματα της διαδικασίας. Σε σχέση με αυτό, οι αλγόριθμοι πρόσδεσης μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες.

(α) Άκαμπτη πρόσδεση (rigid body): τόσο η πρωτεΐνη-υποδοχέας, όσο και το ΦΜ θεωρούνται άκαμπτα κατά τη διαδικασία της πρόσδεσης.

(β) Ημι-εύκαμπτη πρόσδεση (semi-flexible): μόνο ο προσδέτης θεωρείται εύκαμπτος κατά την πρόσδεση.

(γ) Εύκαμπτη πρόσδεση (fully flexible): η πρωτεΐνη και ο προσδέτης είναι εύκαμπτα μόρια κατά την πρόσδεση.

Στην περίπτωση που το ΦΜ διατηρεί σταθερή γεωμετρία, η χρήση του αλγορίθμου περιορίζεται στη μελέτη των διαφορετικών θέσεων του ΦΜ εντός της θήκης του υποδοχέα, χρησιμοποιώντας μόνο τους βαθμούς ελευθερίας, που αφορούν τη μεταφορά και την περιστροφή. Αντίθετα, στην περίπτωση που ο προσδέτης υιοθετεί διαφορετικές διαμορφώσεις κατά την πρόσδεση, το λογισμικό προσθέτει και τους βαθμούς ελευθερίας, που αφορούν τις διέδρες γωνίες του μορίου. Τέλος, στην περίπτωση που λαμβάνεται υπόψη, τόσο η διαμορφωτική ευκαμψία του ΦΜ, όσο και του υποδοχέα, η διαδικασία γίνεται αρκετά πιο περίπλοκη, δεδομένου του μεγάλου αριθμού ατόμων της πρωτεΐνης του υποδοχέα.

Τα προγράμματα μελέτης της πρόσδεσης συμβάδισαν με την ανάπτυξη των προγραμμάτων των μοριακών γραφικών, τα οποία επέτρεπαν τη διευθέτηση δύο μορίων, προκειμένου να βρεθούν διαφορετικές διαμορφώσεις τους με βάση τη συμπληρωματικότητά τους, γεωμετρική και χημική.

Ο αριθμός των πιθανών τρόπων, με τους οποίους συνδέονται τα δύο μόρια, είναι μεγάλος και προκειμένου να καταστεί δυνατή η αναζήτηση, το πρόγραμμα απλοποιείται και χρησιμοποιούνται μόνο συγκεκριμένοι βαθμοί ελευθερίας.

Τα πρώτα προγράμματα μοριακής πρόσδεσης χρησιμοποιούσαν αλγορίθμους άκαμπτης πρόσδεσης, διατηρώντας σταθερούς όλους τους εσωτερικούς βαθμούς ελευθερίας, εκτός από τους τρεις της μεταφοράς και τους τρεις της περιστροφής. Τα άτομα της πρωτεΐνης αναπαρίστανται αναλυτικά, ενώ γίνεται χρήση απλών εξισώσεων δυναμικής ενέργειας για τον προσδιορισμό της συμπληρωματικότητας του συμπλόκου μορίου-υποδοχέα.

Η προσέγγιση της σταθερής γεωμετρίας του ΦΜ είχε πολλά προβλήματα και περιορισμούς, κυρίως στις περιπτώσεις εκείνες όπου η διαμόρφωση της θήκης του υποδοχέα μεταβαλλόταν κάτω από την πρόσδεση του ΦΜ. Αυτό γίνεται ευκολότερα αντιληπτό σε περιπτώσεις, όπου το μόριο του προσδέτη έχει κρυσταλλωθεί ξεχωριστά από το μόριο του υποδοχέα και όχι και τα δύο μαζί με τη μορφή συμπλόκου. Σε τέτοιες περιπτώσεις, είναι πολύ πιθανές οι διαμορφωτικές αλλαγές κατά την πρόσδεση του προσδέτη στον υποδοχέα. Η πρώτη προσέγγιση, που περιλάμβανε τις μεταβολές ορισμένων βαθμών ελευθερίας του ΦΜ, περιγράφηκε από τον DesJarlais. Από τότε, έχουν αναπτυχθεί αρκετοί αλγόριθμοι, που ερευνούν τη διαμόρφωση του ΦΜ κατά τη διαδικασία της πρόσδεσης. Τέλος, κάποιοι άλλοι συμπεριλαμβάνουν και την ευκαμψία του μορίου του υποδοχέα.

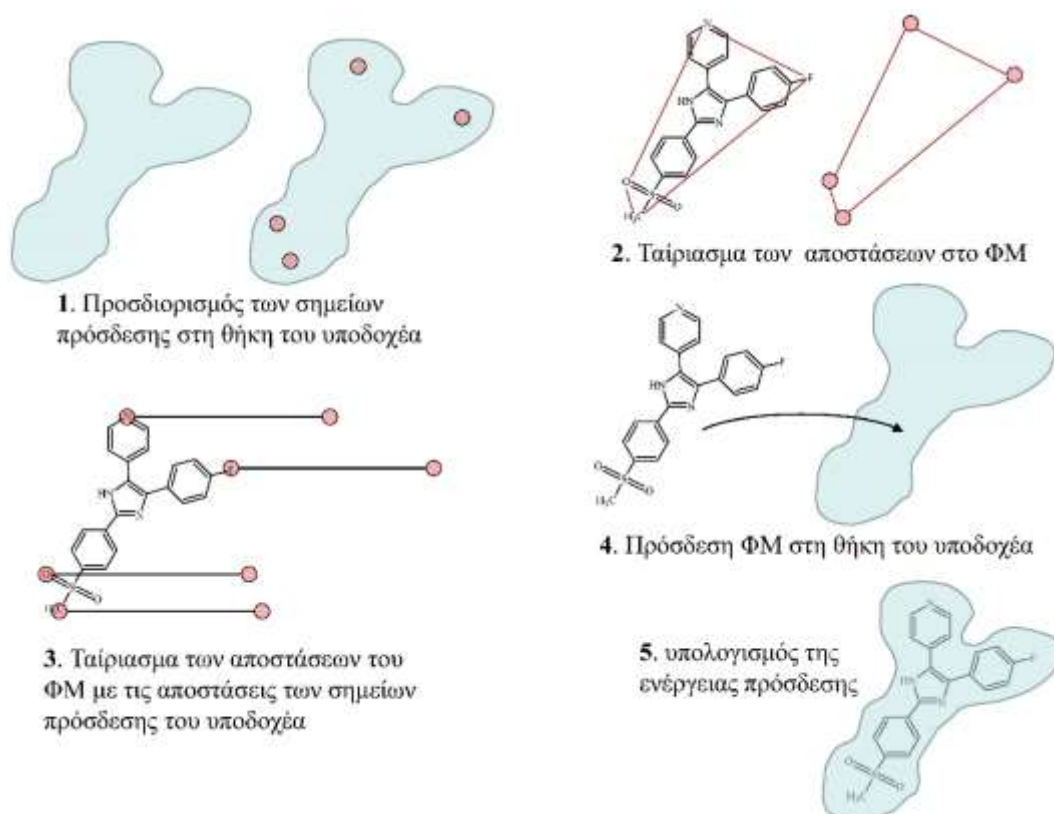
7.8.1 Ανάπτυξη αλγορίθμων

Δύο είναι οι προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούνται, προκειμένου τα προγράμματα μοριακής πρόσδεσης να αποτελούν χρήσιμη μεθοδολογία στο σχεδιασμό φαρμάκων. Η πρώτη είναι η ακρίβεια και η δεύτερη η ταχύτητα. Για την επίτευξη και των δύο αυτών αντιθετικών παραμέτρων χρειάζονται ορισμένοι συμβιβασμοί. Η ταχύτητα διεκπεραίωσης των προγραμμάτων έχει εκ των πραγμάτων αυξηθεί σημαντικά, εξαιτίας των υψηλότερων ταχυτήτων που χρησιμοποιούν οι επεξεργαστές των σύγχρονων Η/Υ. Σημαντικό ρόλο διαδραμάτισε και η δυνατότητα

αναπαράστασης της επιφάνειας των πρωτεϊνών με χρήση των μοριακών γραφικών.

Αρχικά, τα προγράμματα πρόσδεσης αναπαριστούσαν, τόσο τον υποδοχέα, όσο και το ΦΜ με αναλυτικό τρόπο, περιγράφοντας όλα τους τα άτομα. Αυτό όμως είχε ως αποτέλεσμα να δημιουργούνται πολύπλοκα συστήματα, τα οποία ήταν δύσκολο να εκτιμηθούν. Η ανάπτυξη των μοριακών γραφικών για την αναπαράσταση των μοριακών επιφανειών και η χρήση τους σε εφαρμογές πρόσδεσης ελαττώνει σημαντικά τον αριθμό των πιθανών προσδέσεων, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ταχύτητα των αλγορίθμων.

Το επόμενο μεγάλο βήμα, στην μοριακή πρόσδεση, ήταν η χρήση του προγράμματος πλέγματος (GRID) για την αποθήκευση φυσικοχημικών ιδιοτήτων του υποδοχέα. Το πλέγμα αρκεί να υπολογιστεί μόνο στην αρχή, δεδομένου ότι ο υποδοχέας παραμένει σταθερός. Παράδειγμα αποτελεί το λογισμικό DOCKER, το οποίο αποθηκεύει τις τιμές των ακτίνων van der Waals πάνω σε ένα πλέγμα, που χρησιμοποιείται για την εξερεύνηση των ελεύθερων επιφανειών πρόσδεσης μιας πρωτεΐνης. Το πρόγραμμα GRID για κάθε σημείο του πλέγματος υπολογίζει τη δυναμική ενέργεια της αλληλεπίδρασης μεταξύ ενός ατόμου ή ομάδας του υποδοχέα και ενός ατόμου ή ομάδας αισθητήρα (probe), που τοποθετείται σε διαφορετικά σημεία του πλέγματος. Τα άτομα αισθητήρες, που συνήθως χρησιμοποιούνται, είναι οι αμινο-, μεθυλ- και υδροξυλ- ομάδες. Το πλέγμα απεικονίζει το είδος των αλληλεπιδράσεων (πολικές/μη πολικές), που υφίστανται σε κάθε σημείο της θήκης πρόσδεσης του υποδοχέα. Τα μειονεκτήματα των εφαρμογών DOCKER και GRID είναι ότι οι ενέργειες αλληλεπίδρασης μεταξύ υποδοχέα και ΦΜ δεν μπορούν να υπολογιστούν με ευκολία. Ωστόσο, δύο διαφορετικές εφαρμογές επιτρέπουν τον άμεσο υπολογισμό της ενέργειας κατά τη διάρκεια της πρόσδεσης. Το πρόγραμμα του Langridge χαρτογραφεί τις αλληλεπιδράσεις van der Waals και Coulomb του υποδοχέα πάνω στο πλέγμα. Μια άλλη εφαρμογή βασισμένη στο GRID του Goodford χαρτογραφεί τις αλληλεπιδράσεις διαφορετικών ατόμων αισθητήρων με τον υποδοχέα πάνω στο πλέγμα και τα δεδομένα δίνονται σε σχετικό πίνακα. Η ενέργεια αλληλεπίδρασης του ΦΜ με τον υποδοχέα υπολογίζεται αθροίζοντας τις ενέργειες αλληλεπίδρασης κάθε ατόμου αισθητήρα, που αντιστοιχεί σε άτομο του ΦΜ. Εκτός από τις υδρόφοβες και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, γίνεται χρήση ενός πλέγματος για τη χαρτογράφηση των δεσμών υδρογόνου. Τα πρώτα προγράμματα, που εφαρμόσαν τη χρήση πλεγμάτων με αυτοματοποιημένη διαδικασία, ήταν το AUTODOCK και το DOCK (Σχήμα 7.29). Η σημαντική ελάττωση του χρόνου, που προήλθε από τη χρήση του πλέγματος, είχε ως αποτέλεσμα την εφαρμογή περισσότερο



Σχήμα 7.29 Σχηματική απεικόνιση της λειτουργίας του αλγορίθμου DOCK.

προηγμένων μεθόδων βαθμολόγησης της πρόσδεσης.

7.8.2 Διαμορφωτική ευκαμψία του φαρμακευτικού μορίου

Η διαμορφωτική ανάλυση του ΦΜ, κατά τη διάρκεια τη πρόσδεσής του στον υποδοχέα, είναι μια απαραίτητη διαδικασία, αφού συνήθως δεν είναι γνωστή η διαμόρφωση, με την οποία προσδένει.

Η απλούστερη μέθοδος για τη μελέτη της διαμόρφωσης του ΦΜ κατά την πρόσδεση, είναι η δημιουργία πολλών διαφορετικών διαμορφωμένων του ΦΜ, αποθήκευσή τους σε μια βάση δεδομένων και στη συνέχεια πραγματοποίηση άκαμπτης πρόσδεσης κάθε μίας από αυτές στον υποδοχέα. Έτσι όμως, η διαδικασία της πρόσδεσης πραγματοποιείται ξεχωριστά για κάθε διαμόρφωση, ως να ήταν διαφορετικό μόριο. Ο Lorber και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν ωστόσο και μια πιο γρήγορη μέθοδο, η οποία εκτελούσε την πρόσδεση έχοντας όλες τις διαμορφώσεις μαζί σαν μια ομάδα, μέσα στη θήκη πρόσδεσης του υποδοχέα. Για μια ομάδα n διαμορφώσεων του ίδιου ΦΜ, η διεύθυνση μέσα στη θήκη πρόσδεσης υπολογίζεται μόνο μία φορά, ενώ η αξιολόγηση της πρόσδεσης πραγματοποιείται n φορές αφού εξαρτάται από τη διαμόρφωση του ΦΜ. Το FLOG είναι επίσης ένα πρόγραμμα πρόσδεσης, που δημιουργεί και προσδένει διαμορφωτικές βάσεις δεδομένων, οι οποίες ονομάζονται Flexibases. Ο αλγόριθμος, που χρησιμοποιεί το FLOG για την πρόσδεση είναι ίδιος με αυτόν του DOCK.

Πολλοί είναι πλέον οι αλγόριθμοι, που μέσω αυτών εξερευνούνται διαμορφωτικά το ΦΜ κατά τη διαδικασία της πρόσδεσης. Αυτοί διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με το μηχανισμό διερεύνησης της διαμόρφωσης του ΦΜ:

- ◆ Συστηματικής αναζήτησης,
- ◆ Στοχαστικής αναζήτησης και
- ◆ Ντετερμινιστικής (αιτιοκρατικής) αναζήτησης.

Ορισμένα προγράμματα πρόσδεσης, ωστόσο, κάνουν χρήση περισσότερων από μίας κατηγορίας. Οι αλγόριθμοι **συστηματικής αναζήτησης** βασίζονται σε ένα πλέγμα τιμών για κάθε βαθμό ελευθερίας του προσδέτη, και κάθε μία από αυτές τις τιμές ερευνάται με συστηματικό τρόπο κατά τη διάρκεια της αναζήτησης. Όσο αυξάνεται όμως ο αριθμός των βαθμών ελευθερίας, αυξάνεται και ο αριθμός των πιθανών διαμορφώσεων, που εξετάζονται από το λογισμικό. Το πρόβλημα αυτό καλείται **συνδυαστική έκρηξη** και αντιμετωπίζεται με κριτήρια τερματισμού, που εμποδίζουν τον αλγόριθμο να μελετά περιπτώσεις διαμορφώσεων, που εκ των προτέρων γνωρίζουμε πως δεν αποτελούν λύση. Παράδειγμα αλγορίθμου συστηματικής αναζήτησης αποτελούν οι αλγόριθμοι σταδιακής κατασκευής (incremental construction algorithms).

Οι αλγόριθμοι **στοχαστικής αναζήτησης** εκτελούν τυχαίες αλλαγές, συνήθως σε έναν βαθμό ελευθερίας του μορίου κάθε φορά. Το κυριότερο πρόβλημα με τους αλγορίθμους της κατηγορίας αυτής είναι η αμφιβολία του σημείου σύγκλισης. Προκειμένου να βελτιωθεί το πρόβλημα αυτό, μπορούν να γίνουν πολλές παράλληλες αναζητήσεις από το πρόγραμμα. Παράδειγμα στοχαστικής αναζήτησης αποτελεί η μέθοδος (και οι αλγόριθμοι που στηρίζονται σε αυτή) Monte Carlo.

Η **ντετερμινιστική αναζήτηση** στο αρχικό στάδιο προσδιορίζει το βήμα εκείνο, που θα δώσει την επόμενη διαμόρφωση με ενέργεια ίση ή μικρότερη από την προηγούμενη. Αν οι αλγόριθμοι αυτής της κατηγορίας εφαρμοστούν στην ίδια ακριβώς εναρκτήρια διαμόρφωση και με τις ίδιες παραμέτρους, θα φτάσουν ακριβώς στο ίδιο αποτέλεσμα. Ένα πρόβλημα της κατηγορίας αυτής των αλγορίθμων είναι ότι πολύ συχνά παγιδεύονται σε ένα τοπικό ελάχιστο, επειδή δεν μπορούν να ξεπεράσουν ενεργειακά φράγματα. Υπάρχουν διαφορετικές προσεγγίσεις, προκειμένου να αυξηθεί η ικανότητα υπερπήδησης ενεργειακών φραγμάτων ή ελάττωσης του ύψους αυτών. Παραδείγματα ντετερμινιστικών μεθόδων αποτελούν η πρόσδεση με χρήση ελαχιστοποίησης της ενέργειας και της προσομοίωσης μοριακής δυναμικής.

Στη συνέχεια θα δούμε περιληπτικά ορισμένα λογισμικά από κάθε προαναφερθείσα κατηγορία.

7.8.3 Αλγόριθμοι σταδιακής ανοικοδόμησης (Incremental construction)

Οι αλγόριθμοι σταδιακής ανοικοδόμησης διαιρούν το ΦΜ σε μικρότερα άκαμπτα τμήματα, διασπώντας όλους τους δεσμούς με ικανότητα περιστροφής. Στη συνέχεια επιλέγεται ένα τμήμα του ΦΜ, που ονομάζεται τμήμα βάσης και το οποίο είναι το πρώτο που προσδένεται μέσα στη θήκη του υποδοχέα. Σε αυτό τοποθετούνται ένα-ένα όλα τα υπόλοιπα άκαμπτα τμήματα του ΦΜ. Με κάθε νέο τμήμα, που προστίθεται στο προηγούμενο, μεταβάλλονται οι διέδρες γωνίες (οι απλοί δεσμοί με ικανότητα περιστροφής που συνδέουν τα μικρά τμήματα μεταξύ τους), ούτως ώστε να προσδιοριστεί η διαμόρφωση, που δίνει τα βέλτιστα αποτελέσματα πρόσδεσης. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση αλγορίθμων ελαχιστοποίησης της ενέργειας. Παραδείγματα λογισμικών, που κάνουν χρήση της μεθόδου αυτής, είναι το FlexX και το Dock. Περισσότερα γι' αυτή την κατηγορία αλγορίθμων θα αναφερθούν στη συνέχεια με την παρουσίαση του λογισμικού πρόσδεσης FlexX.

7.8.4 Αλγόριθμοι Monte Carlo

Οι αλγόριθμοι της κατηγορίας αυτής τοποθετούν ολόκληρο το ΦΜ εντός της θήκης του υποδοχέα και εκτελούν τυχαίες αλλαγές στη μεταφορά, στην περιστροφή και στις διέδρες γωνίες του. Μετά από κάθε βήμα ελαχιστοποιείται η ενέργεια της διαμόρφωσης του ΦΜ και υπολογίζεται η νέα τιμή της. Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τον αλγόριθμο Monte Carlo δίνονται στο Κεφάλαιο 8 της προσομοίωσης των μοριακών συστημάτων.

Συγκεκριμένα, το ΦΜ τοποθετείται με τυχαίο τρόπο μέσα στη θήκη του υποδοχέα. Προκειμένου να αυξηθεί η πιθανότητα εύρεσης του ολικού ελαχίστου, η διαδικασία μπορεί να αποτελείται από αρκετούς κύκλους. Ο πρώτος κύκλος λαμβάνει χώρα σε υψηλή θερμοκρασία, ενώ οι επόμενοι κύκλοι πραγματοποιούνται σε σταδιακά χαμηλότερες θερμοκρασίες (προσομοιώσεις ανόπτωσης με χρήση Monte Carlo). Συνήθως κάθε κύκλος ξεκινά με τη διαμόρφωση χαμηλότερης ενέργειας από τον προηγούμενο κύκλο.

Το πρώτο πρόγραμμα πρόσδεσης, που χρησιμοποιεί προσομοιώσεις ανόπτωσης με χρήση Monte Carlo μεθόδους, ήταν το AutoDock. Δεκάδες χιλιάδες βήματα πραγματοποιούνται συνήθως σε κάθε κύκλο, ενώ στην αρχή κάθε νέου κύκλου η θερμοκρασία ελαττώνεται.

7.8.5 Γενετικοί αλγόριθμοι (Genetic algorithms–GA)

Στην κατηγορία αυτή, η ευκαμψία του ΦΜ (γύρω από τους δεσμούς περιστροφής του) κωδικοποιείται σε γονίδια. Οι γενετικές λειτουργίες της διασταύρωσης και της μετάλλαξης, που στοχεύουν εκλεκτικά στα γονίδια αυτά, αντιπροσωπεύουν την ευκαμψία του μορίου *per se*. Οι αλγόριθμοι αυτοί προϋποθέτουν ότι οι καλύτερες λύσεις του προχωρούν στο επόμενο στάδιο (επόμενη γενιά). Πάνω σε αυτές πραγματοποιούνται τυχαίες ή μη μεταλλάξεις και διασταυρώσεις προκειμένου να αυξηθεί η γενετική διαφοροποίηση και να αποφευχθεί η πρόωρη σύγκλιση. Το μέγεθος του πληθυσμού, η συχνότητα διασταυρώσεων και μεταλλάξεων, όπως επίσης και ο αριθμός των επαναλήψεων είναι παράμετροι, που επηρεάζουν το αποτέλεσμα της πρόσδεσης. Συνήθως δεν πραγματοποιείται ελαχιστοποίηση της ενέργειας, μέχρι να γίνει σύγκλιση. Παραδείγματα προγραμμάτων πρόσδεσης, που χρησιμοποιούν γενετικούς αλγορίθμους, είναι το Gold και το Autodock. Ο αλγόριθμος GOLD ήταν ο πρώτος αλγόριθμος πρόσδεσης, που δοκιμάστηκε με επιτυχία σε ένα μεγάλο σετ (>100) συμπλόκων πρωτεΐνης–πρόσδετη.

7.8.6 Αλγόριθμοι Μοριακής Δυναμικής

Η μέθοδος της Μοριακής Δυναμικής MD αντίθετα με τους αλγορίθμους MC δε μπορεί να υπερπηδήσει ενεργειακά φράγματα μεγαλύτερα από $1-2 k_bT$ (όπου k_b η θερμοδυναμική σταθερά

Boltzmann και T η θερμοκρασία του συστήματος) εντός λογικών χρόνων προσομοίωσης. Το αποτέλεσμα είναι η εφαρμογή της να οδηγεί εύκολα σε παγίδευση σε τοπικά ελάχιστα. Έχουν αναπτυχθεί διαφορετικές μέθοδοι, που επιτρέπουν βελτιωμένη διερεύνηση της επιφάνειας δυναμικής ενέργειας πρόσδεσης. Θεωρητικά μπορούν να διερευνηθούν όλοι οι βαθμοί ελευθερίας του υποδοχέα. Ωστόσο, ο χρόνος προσομοίωσης για κάθε σύμπλοκο περιορίζει τη χρήση της μεθόδου για ένα μόνο σύμπλοκο κάθε φορά.

7.8.7 Διαμορφωτική ευκαμψία του υποδοχέα

Οι πρωτεΐνες είναι πολύ εύκαμπτα μόρια. Οι διαμορφώσεις τους στην επιφάνεια της δυναμικής ενέργειας διαχωρίζονται μεταξύ τους από χαμηλής ενέργειας φράγματα. Οι πρωτεϊνικές κινήσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες:

α) Μικρής κλίμακας γρήγορες κινήσεις που περιλαμβάνουν κυρίως τις κινήσεις των πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων, αλλά και κάποιες κινήσεις των ατόμων του πρωτεϊνικού σκελετού. Εξαιτίας των κινήσεων αυτών, οι θήκες πρόσδεσης συχνά εμφανίζουν ιδιαίτερη ευκαμψία, σε σχέση με άλλες περιοχές της επιφάνειας της πρωτεΐνης.

β) Μεγάλης κλίμακας αργές κινήσεις, όπως οι κάμψεις των αρθρώσεων (hinge bending). Αρθρώσεις είναι οι εύκαμπτοι σύνδεσμοι μεταξύ των άκαμπτων τομέων της πρωτεΐνης. Οι σύνδεσμοι αυτοί σταθεροποιούν και περιορίζουν τις κινήσεις των τομέων. Η κάμψη των αρθρώσεων πιστεύεται πως είναι η αιτία της επαγόμενης πρόσδεσης (induced fit) του ΦΜ.

γ) Αλλαγή της διαμόρφωσης (renaturation) κατά την πρόσδεση του μορίου προσδέτη. Η πρόσδεση σταθεροποιεί την τελική διαμόρφωση. Οι διαμορφωτικές αλλαγές της πρωτεΐνης κατά την πρόσδεση μπορούν να περιλαμβάνουν κινήσεις των πλευρικών αλυσίδων μέχρι μεγάλες κάμψεις των αρθρώσεων. Από τα παραπάνω γίνεται ξεκάθαρο πως οι πρωτεΐνες θα έπρεπε να θεωρούνται εύκαμπτα μόρια κατά τη διαδικασία της πρόσδεσης, ιδίως όταν γίνεται χρήση ενός πρωτεϊνικού μοντέλου του υποδοχέα, στο οποίο το ενεργό κέντρο δεν έχει προσδεθεί κάποιο μόριο (από κρυσταλλογραφικές μελέτες). Η ανάπτυξη αλγορίθμων πρόσδεσης, που λαμβάνουν υπόψη τη διαμορφωτική ευκαμψία των πρωτεϊνικών υποδοχέων, ξεκίνησε σχετικά πρόσφατα, υποβοηθούμενη από τις νέες γενιές επεξεργαστών με μεγαλύτερη υπολογιστική ισχύ και ταχύτητα, καθώς και τη χωρητικότητα των ολοκληρωμένων κυκλωμάτων μνήμης και των σκληρών δίσκων.

Ένας τρόπος να ληφθεί υπόψη η διαμορφωτική ευκαμψία των πρωτεϊνών είναι να γίνει η έναρξη με μια αρχική διαμόρφωση και στη συνέχεια να επιτραπεί η κίνηση μόνο σε συγκεκριμένα αμινοξέα της θήκης του υποδοχέα κατά τη διαδικασία της πρόσδεσης. Αυτό επιτεύχθηκε από τον Leach και τους συνεργάτες του, οι οποίοι χρησιμοποίησαν μια μέθοδο, που εξερευνά το διαμορφωτικό χώρο των πλευρικών αλυσίδων της πρωτεΐνης, λαμβάνοντας τιμές για τις δίδρες γωνίες τους από μια βάση δεδομένων (rotamer library). Διατηρώντας τον πεπτιδικό σκελετό σταθερό, επιχειρείται μέσω του αλγορίθμου να βρεθεί το ολικό ελάχιστο της ενέργειας, μεταβάλλοντας τις διαμορφώσεις των πλευρικών αλυσίδων της πρωτεΐνης και του ΦΜ. Ο Sandak και οι συνεργάτες του εισήγαγαν μια εντελώς διαφορετική προσέγγιση, που δεν λαμβάνει υπόψη τις κινήσεις των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων, αλλά επιτρέπει τις κινήσεις των σταθερών τμημάτων των πρωτεϊνών μέσω των κάμψεων των αρθρώσεών τους, που συνεισφέρουν σημαντικά στη συνολική πρόσδεση. Έτσι, κατά τη διάρκεια της πρόσδεσης επιτρέπεται η σχετική κίνηση των σταθερών τμημάτων του ενός σε σχέση με τον άλλο. Εντούτοις το ίδιο το τμήμα διατηρείται σταθερό στη διαμόρφωσή του. Ο Schneck και οι συνεργάτες του περιέγραψαν μία μεθοδολογία (SLIDE), που λαμβάνει υπόψη την ευκινησία του ΦΜ και του υποδοχέα, όταν άτομα του ενός προσδεθούν στα άτομα του άλλου. Αυτό επιτυγχάνεται με κατευθυνόμενη περιστροφή του ΦΜ ή των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων της πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματα από τέτοιες μελέτες δείχνουν ότι η επιλογή της αρχικής διαμόρφωσης του ΦΜ είναι ο καθοριστικός παράγοντας για την πρόσδεση.

Μια άλλη κατηγορία μεθόδων χρησιμοποιεί ένα σύνολο πιθανών διαμορφώσεων, που έχουν προκύψει από πειραματικά δεδομένα: π.χ. περίθλασης ακτίνων-X, NMR, ή ακόμα και από

προσομοίωση του μοριακού συστήματος με χρήση αλγορίθμων Μοριακής Δυναμικής ή Monte Carlo. Μία από τις πρώτες μεθόδους που έκαναν χρήση των πιθανών διαμορφωμένων, περιγράφηκε από τον Knegtel και τους συνεργάτες του, που χρησιμοποίησαν ένα σύνθετο πλέγμα (energy-weighted average ή geometry weighted average), που χρησιμοποιούσε διαμορφώσεις του συμπλόκου Y-ΦΜ, προερχόμενες από κρυσταλλογραφία ακτίνων-X ή NMR. Αυτή η μέση διαμόρφωση από τα πειραματικά δεδομένα (αντιπροσωπεύει τον μέσο όρο των διαμορφώσεων) χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ενέργειας αλληλεπίδρασης μέσα στο σύνθετο πλέγμα για κάθε «άτομο αισθητήρα». Το πλέγμα, στη συνέχεια, χρησιμοποιείται για τη μοριακή πρόσδεση με μια απλή ανάγνωση των τιμών της ενέργειας αλληλεπίδρασης, που αποθηκεύτηκαν προηγουμένως.

Ο Glaussen και οι συνεργάτες του εισήγαγαν το εργαλείο εύκαμπτης πρόσδεσης FlexE, που χρησιμοποιεί υπερτιθέμενα τμήματα της πρωτεΐνης, για να μεταβάλλει τη διαμόρφωσή της. Όλα τα βασικά τμήματα του αλγορίθμου, που αφορούν την αναπαράσταση των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, τη σταδιακή ανοικοδόμηση και τη βαθμολόγηση της πρόσδεσης, προέρχονται από τον αρχικό κώδικα του FlexX μετά από κατάλληλη προσαρμογή τους.

Η εύκαμψια των πρωτεϊνών στη διαδικασία της πρόσδεσης είναι πολύ σημαντικό να συμπεριληφθεί, ιδίως όταν τα μοντέλα των μορίων έχουν χαμηλή ανάλυση. Αυτό συμβαίνει κυρίως σε περιπτώσεις, που ο υποδοχέας έχει μοντελοποιηθεί με βάση τη διαμόρφωση ενός άλλου υποδοχέα ομόλογης σειράς. Μια πιο νέα προσέγγιση εισήχθη από τον Wojciechowski και τους συνεργάτες του, στην οποία τόσο το ΦΜ, όσο και ο υποδοχέας αναπαράστανται με προσεγγιστικά μοντέλα, αντισταθμίζοντας τις δομικές ανακρίβειες, που προκύπτουν από τη θεωρητική πρόβλεψη του υποδοχέα. Με χρήση εξονυχιστικής μελέτης στις 6 διαστάσεις του μορίου προσδέτη (βαθμοί ελευθερίας μεταφοράς και περιστροφής), η ευνοϊκότερη σχετική διευθέτηση των δύο μορίων υπολογίζεται με βάση τη στερική και χημική συμπληρωματικότητα.

7.8.8 Ανάλυση αλγορίθμου σταδιακής ανοικοδόμησης (FlexX-Sybyl)

7.8.8.1 Φυσικοχημική προσέγγιση

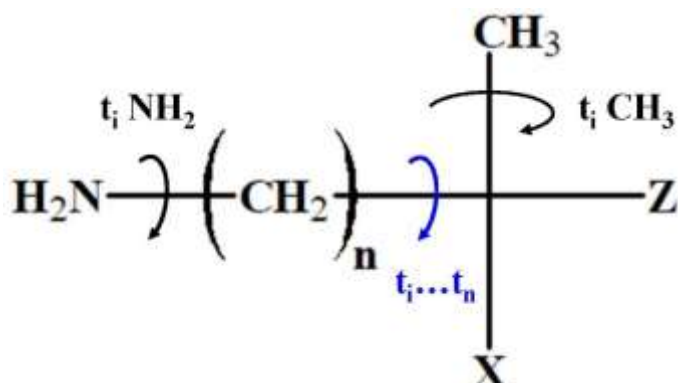
Το λογισμικό FlexX αποτελεί μεθοδολογία προσομοίωσης της πρόσδεσης των φαρμακευτικών μορίων σε πρωτεϊνικούς υποδοχείς. Η φυσικοχημική προσέγγιση, που χρησιμοποιεί το λογισμικό, συνίσταται:

- ♦ Στην ανάλυση του διαμορφωτικού χώρου του φαρμακευτικού μορίου,
- ♦ Μοντελοποίηση των αλληλεπιδράσεων φαρμάκου-υποδοχέα, και
- ♦ Εφαρμογή κριτηρίων βαθμολόγησης της πρόσδεσης του φαρμακευτικού μορίου – υποδοχέα, για τη σύγκριση των παραγόμενων αποτελεσμάτων.

Ανάλυση διαμορφωτικού χώρου του φαρμακευτικού μορίου

Η ανάλυση του διαμορφωτικού χώρου για ένα φαρμακευτικό μόριο, δηλαδή η εύρεση διαμορφωμένων χαμηλής ενέργειας, επιτελείται από τον αλγόριθμο MIMUMBA. Για κάθε αλκυλικό απλό δεσμό (t) του φαρμακευτικού μορίου ορίζεται μια ομάδα τιμών των δίδρων γωνιών του. Εξαιρέση αποτελούν οι δεσμοί (t_i), που είναι γειτονικοί σε μεθυλομάδες ή σε επίπεδες αμινομάδες. Οι δεσμοί αυτοί παραμένουν ίδιοι, όπως δίνονται στην αρχική διαμόρφωση (Σχήμα 7.30). Όλοι οι υπόλοιποι δεσμοί αποτιμώνται αυτόματα από βάση δεδομένων, που περιέχει περισσότερα από 900 τμήματα μορίων με ένα κεντρικό απλό δεσμό. Εκτός από την αναγνώριση κάθε τμήματος του μορίου, παρέχεται και ένα ιστόγραμμα για τις τιμές των δίδρων γωνιών από τη Δομική Βάση Δεδομένων του Cambridge (Cambridge Structural Database). Οι τιμές των δίδρων γωνιών με τη μεγαλύτερη επαναληπτικότητα στο ιστόγραμμα, επιλέγονται για την εύρεση των διαμορφώσεων χαμηλής ενέργειας.

Για τα συστήματα των δακτυλίων παράγονται πολλαπλές διαμορφώσεις με το λογισμικό SCA. Στο πρόγραμμα αυτό υπολογίζονται εναλλακτικές διαμορφώσεις των πολυκυκλικών συστημάτων, που περιέχουν πενταμελείς έως επταμελείς δακτυλίους.



Σχήμα 7.30 Οι δίεδρες γωνίες που παραμένουν σταθερές t_i (t_i =initial value) και οι μεταβαλλόμενες $t_i...t_n$, ενός μορίου κατά την πρόσδεσή του στον υποδοχέα. Τα X, Z παριστάνουν το υπόλοιπο τμήμα του μορίου.

Μοντελοποίηση της αλληλεπίδρασης φαρμακευτικού μορίου – υποδοχέα

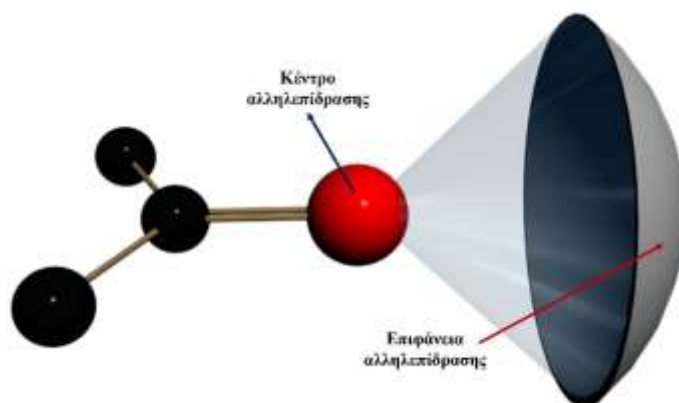
Κατά την αλληλεπίδραση του φαρμακευτικού μορίου ή τμήματός του στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα υπάρχουν πολλοί τοπογραφικοί περιορισμοί. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται το ακόλουθο μοντέλο που περιγράφει τις μοριακές αλληλεπιδράσεις, βασισμένο σε σφαιρικές επιφάνειες. Για κάθε τμήμα του μορίου, που αλληλεπιδρά, ορίζεται ο τύπος αλληλεπίδρασης και η τοπογραφική επιφάνεια αλληλεπίδρασης.

Οι τύποι της αλληλεπίδρασης παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.5.

Πίνακας 7.5 Τύποι αλληλεπίδρασης Y-ΦΜ.

Τύπος αλληλεπίδρασης	Παράδειγμα
Δότες υδρογόνου για δεσμούς H	O-H, N-H
Ιόντα μετάλλων	Zn^{2+}
Δέκτες δεσμών υδρογόνου ή ιόντα μετάλλων	C=O (καρβοξυλομάδων) C=O, S=O, V=O, R-O-H, R_2O , R_3N
Αρωματικά συστήματα	Ph-
Ομάδες που αλληλεπιδρούν με αρωματικά συστήματα	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Αρωματικές ομάδες ◆ Μεθυλομάδες ◆ Αμιδομάδες

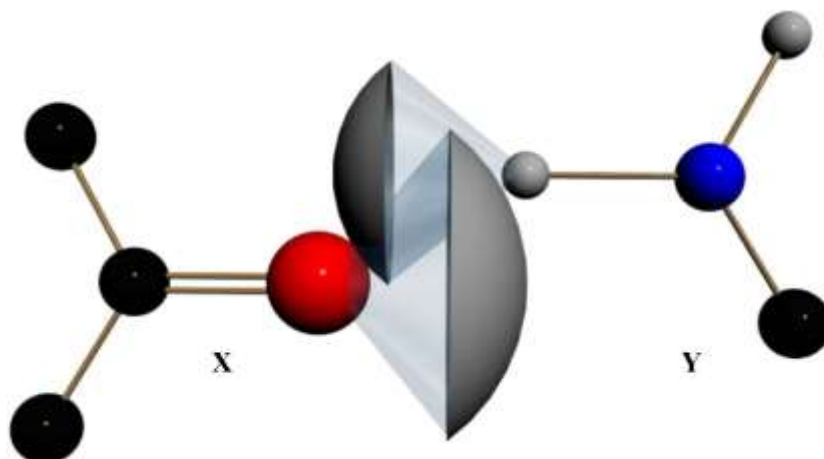
Η τοπογραφική επιφάνεια της αλληλεπίδρασης περιλαμβάνει ένα κέντρο αλληλεπίδρασης K και μια επιφάνεια αλληλεπίδρασης, η οποία ορίζεται από το τόξο της σφαιρικής επιφάνειας με κέντρο K και ακτίνα ρ . Οι πιθανοί τύποι των επιφανειών αλληλεπίδρασης είναι οι σφαίρες, οι κώνοι, τμήματα κόλυρων κώνων και τετραγωνικά τμήματα κωνικών επιφανειών (Σχήμα 7.31).



Σχήμα 7.31 Ορισμός τοπογραφικής επιφάνειας αλληλεπίδρασης για την καρβονυλομάδα.

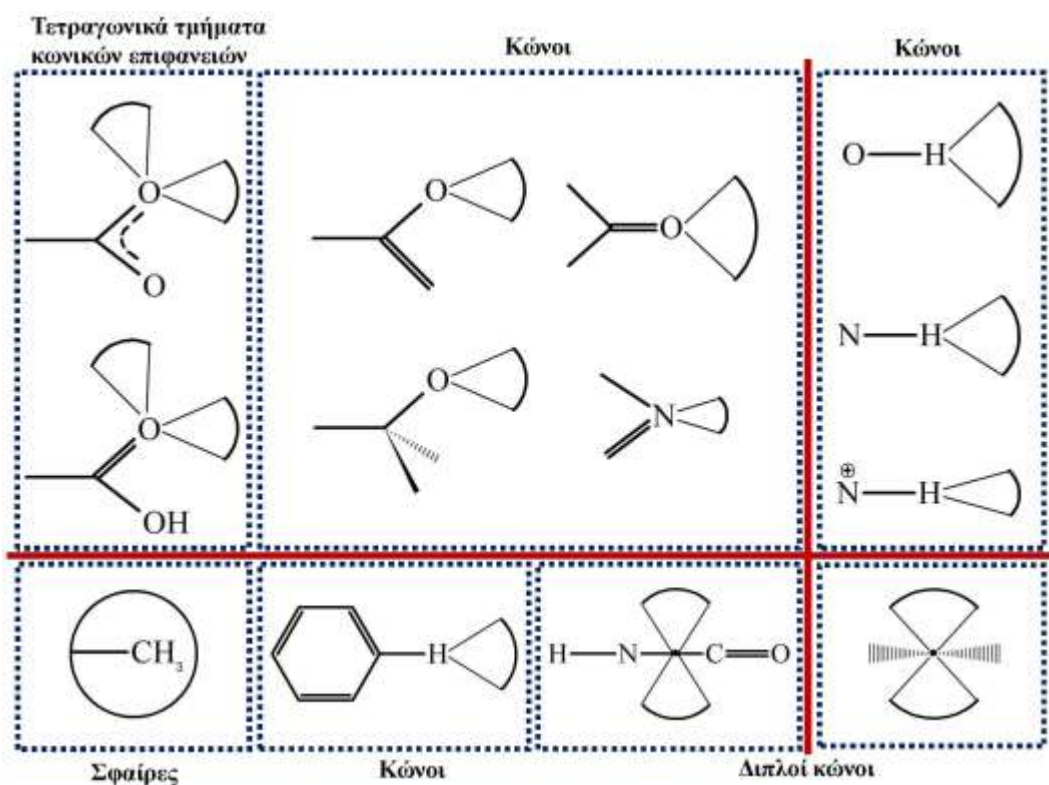
Η αλληλεπίδραση μιας ομάδας X του φαρμακευτικού μορίου με μια ομάδα Y του υποδοχέα επιτυγχάνεται, όταν:

- ♦ Ο τύπος αλληλεπίδρασης μεταξύ των ομάδων X και Y είναι συμβατός,
- ♦ Το κέντρο αλληλεπίδρασης της ομάδας X, βρίσκεται σχεδόν πάνω στην επιφάνεια αλληλεπίδρασης της ομάδας Y και αντίστροφα (Σχήμα 7.32).



Σχήμα 7.32 Προϋπόθεση για την αλληλεπίδραση, μέσω δεσμού υδρογόνου του οξυγόνου της καρβονυλομάδας και του αζώτου της αμινομάδας, είναι να βρίσκεται το κέντρο αλληλεπίδρασης της μιας ομάδας στην επιφάνεια αλληλεπίδρασης της άλλης ομάδας

Τα γεωμετρικά σχήματα των επιφανειών αλληλεπίδρασης, που χρησιμοποιούνται στο λογισμικό FlexX, παρουσιάζονται στην Σχήμα 7.33. Για τα μέταλλα η επιφάνεια αλληλεπίδρασης θεωρείται ότι είναι πάντα σφαιρική.



Σχήμα 7.33 Γεωμετρικά σχήματα αλληλεπίδρασης που χρησιμοποιούνται στο λογισμικό FlexX. Το επάνω αριστερά τεταρτημόριο περιλαμβάνει δέκτες δεσμών υδρογόνου, το επάνω δεξιά δότες δεσμών υδρογόνου, το κάτω αριστερά άτομα υδρογόνου αρωματικών δακτυλίων, μεθυλίων και αμιδίων, ενώ το κάτω δεξιά περιλαμβάνει κέντρα αρωματικών δακτυλίων.

Βαθμολόγηση της πρόσδεσης

Πριν από την πρόσδεση, το μόριο έχει αυξημένη εντροπία. Μπορεί δηλαδή θεωρητικά να προσδεθεί σε διάφορες θέσεις του υποδοχέα. Όταν όμως προσδεθεί, η εντροπία ελαττώνεται ($\Delta S < 0$). Δεν έχει πια την ευελιξία να προσεγγίσει οποιεσδήποτε θέσεις του υποδοχέα. Η πρόσδεση στον υποδοχέα επιφέρει ελάττωση στην ΔH , επειδή δημιουργούνται ισχυρότεροι δεσμοί ($\Delta H < 0$). Η πρόσδεση θα είναι εφικτή ($\Delta G < 0$), μόνο αν ο ενθαλπικός παράγοντας (ΔH) είναι κατά απόλυτη τιμή μικρότερος του εντροπικού ($\Delta H < T\Delta S$). Η βαθμολόγηση των παραγόμενων αποτελεσμάτων πραγματοποιείται με τη χρήση συνάρτησης, που υπολογίζει την ελεύθερη ενέργεια πρόσδεσης ΔG για το σύμπλεγμα φαρμάκου – υποδοχέα.

$\Delta G = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{rot}} \times N_{\text{rot}}$	(1)
$+ \Delta G_{\text{hb}} \times \sum_{\text{neutral H-bonds}} f(\Delta R, \Delta \alpha)$	(2)
$+ \Delta G_{\text{io}} \times \sum_{\text{ionic interactions}} f(\Delta R, \Delta \alpha)$	(3) (7.11)
$+ \Delta G_{\text{aro}} \times \sum_{\text{aromatic interactions}} f(\Delta R, \Delta \alpha)$	(4)
$+ \Delta G_{\text{lipo}} \times \sum_{\text{lipo cont.}} f^*(\Delta R)$	(5)

Η παραπάνω συνάρτηση (Εξίσωση 7.11) χωρίζεται σε τρία σκέλη.

Το **πρώτο** (1) αποτελείται από τη σταθερά ΔG_0 και τον όρο $\Delta G_{\text{rot}} \times N_{\text{rot}}$ (N_{rot} είναι ο αριθμός των δεσμών με δυνατότητα περιστροφής), που λαμβάνει υπόψη την ελάττωση της εντροπίας κατά την πρόσδεση του φαρμακευτικού μορίου.

Το **δεύτερο** σκέλος περιλαμβάνει τις ενεργειακές συνεισφορές των ομάδων, που αλληλεπιδρούν, όπως οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ ουδέτερων ατόμων (2), οι γέφυρες άλατος, φορτισμένοι δεσμοί υδρογόνου (3), καθώς και οι αρωματικές αλληλεπιδράσεις (4). Καθένας από τους παραπάνω όρους αποτελείται από μια καθορισμένη συνεισφορά για κάθε αλληλεπίδραση (π.χ. ΔG_{hb}), πολλαπλασιασμένη με μία συνάρτηση απόκλισης από την ιδανική συμπεριφορά (penalty function) $f(\Delta R, \Delta a)$. Η παράμετρος Δa αναφέρεται στην απόκλιση από την ιδανική γεωμετρία του συστήματος. Η παραπάνω είναι μια γραμμική συνάρτηση, στην οποία υπολογίζονται οι αποκλίσεις από την ιδανική τοπογραφική προσέγγιση, που προκύπτει από την ιδανική απόσταση μεταξύ των κέντρων των ατόμων.

Πιο συγκεκριμένα:

Δηλαδή, στο δεύτερο σκέλος βαθμολογείται, η απόκλιση από την ιδανική τοπογραφία (match score).

Το **τρίτο** σκέλος, βαθμολογεί την επαφή μεταξύ ενός ατόμου του φαρμακευτικού μορίου και ενός ατόμου του υποδοχέα. Παρακάτω δίνονται οι τιμές του παράγοντα $f^*(\Delta R)$ ως άθροισμα όλων των ζευγών επαφών ατόμου-ατόμου. Ο παράγοντας αυτός συνεισφέρει θετικά για επαφές σε ιδανική

$$\Delta R = R - R_0 \quad (7.12)$$

Όπου
 R : η απόσταση μεταξύ των κέντρων των ατόμων
 R_0 : η ιδανική τιμή της απόστασης υπολογισμένη ως το άθροισμα των δύο ακτίνων van der Waals, η καθεμία από αυτές αυξημένη κατά 0.3Å

απόσταση, και αρνητικά για απαγορευτικά κοντινές αποστάσεις. Στο τρίτο σκέλος βαθμολογείται, δηλαδή, η αποτελεσματική επαφή μεταξύ των ατόμων (contact score).

7.8.8.2 Αλγόριθμος πρόσδεσης

Η παραπάνω φυσικοχημική προσέγγιση αποτελεί ένα επαναλαμβανόμενο τμήμα του συνολικού αλγορίθμου πρόσδεσης, που παριστάνεται στο Σχήμα 7.34.

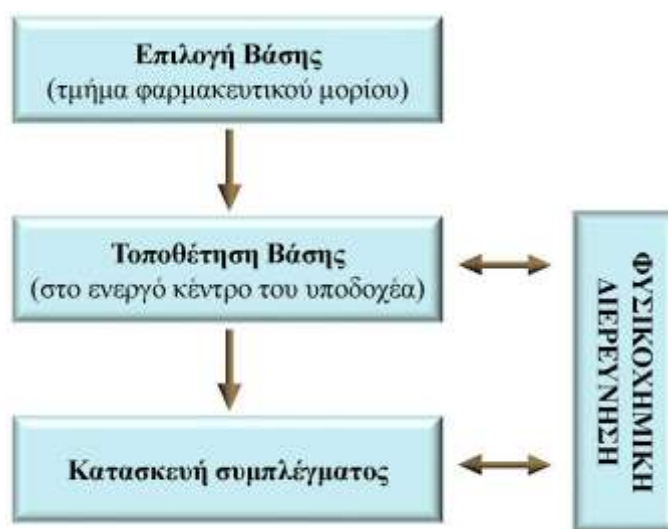
Ο αλγόριθμος πρόσδεσης του λογισμικού FlexX βασίζεται σε μια στρατηγική σταδιακής

$$f^*(\Delta R) = \begin{cases} 0 & \Delta R > 0,6\text{\AA} \\ 1 - \frac{\Delta R - 0,2}{0,4} & 0,2\text{\AA} < \Delta R \leq 0,6\text{\AA} \\ 1 & -0,2\text{\AA} < \Delta R \leq 0,2\text{\AA} \\ 1 - \frac{-\Delta R - 0,2}{0,4} & -0,6\text{\AA} < \Delta R \leq -0,2\text{\AA} \\ \frac{\Delta R + 0,6}{0,2} & \Delta R \leq -0,6\text{\AA} \end{cases} \quad (7.13)$$

κατασκευής, η οποία αποτελείται από τρεις φάσεις:

- ♦ Επιλογή της βάσης. Η πρώτη φάση του αλγορίθμου εστιάζεται στην επιλογή ενός τμήματος του φαρμακευτικού μορίου, το οποίο ονομάζεται βάση.
- ♦ Τοποθέτηση της βάσης. Στη δεύτερη φάση, το τμήμα της βάσης τοποθετείται στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα, ανεξάρτητα από το υπόλοιπο τμήμα του μορίου του φαρμάκου.

♦ Σύμπλεξη φαρμακευτικού μορίου–υποδοχέα. Στην τελευταία φάση, το φαρμακευτικό μόριο ανοικοδομείται και προσδένεται σταδιακά, ξεκινώντας από διαφορετικές τοποθετήσεις της βάσης. Στη συνέχεια θα αναλυθούν τα τρία στάδια του αλγορίθμου πρόσδεσης.



Σχήμα 7.34 Σχηματική απεικόνιση του αλγορίθμου προσομοίωσης.

7.8.8.2.1 Επιλογή της βάσης

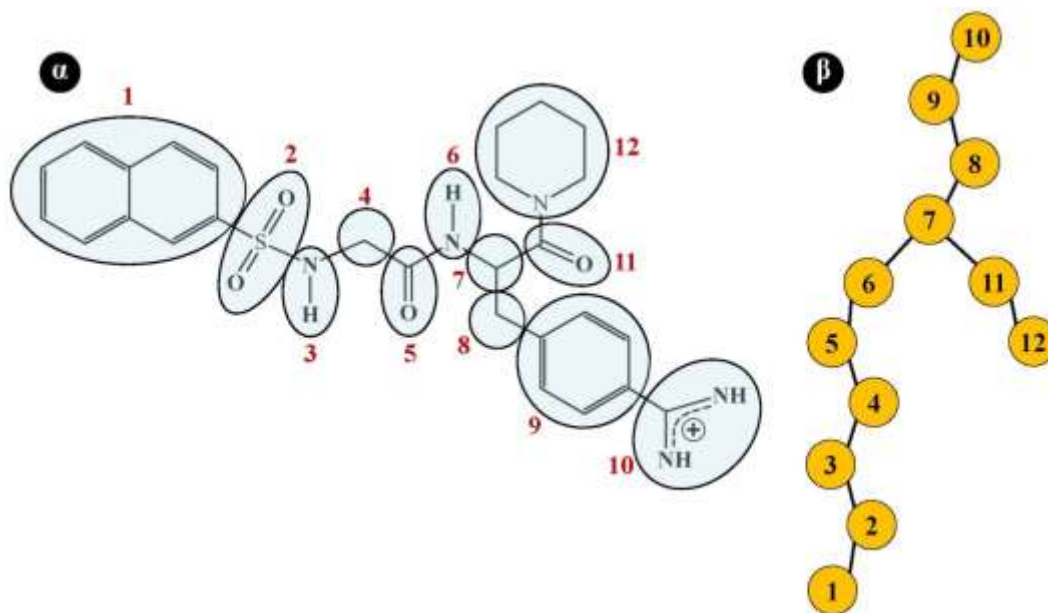
Το στάδιο αυτό είναι πολύ σημαντικό στην περαιτέρω διεξαγωγή της μελέτης της πρόσδεσης. Λανθασμένη επιλογή βάσης οδηγεί τον αλγόριθμο σε λάθος εκτιμήσεις για την πρόσδεση του φαρμακευτικού τμήματος στον υποδοχέα.

Σε γενικές γραμμές, η βάση πρέπει να είναι αρκετά μεγάλη, ώστε να αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη, και να μπορεί να προσδιοριστεί ο βέλτιστος προσανατολισμός της. Όσο το μέγεθος του τμήματος της βάσης αυξάνεται, οι αλληλεπιδράσεις του με την πρωτεΐνη αυξάνονται, και συνεπώς μεγαλώνει και η πιθανότητα εύρεσης του ορθού τρόπου πρόσδεσης πάνω σε αυτή. Ταυτόχρονα όμως μεγαλώνει και ο αριθμός δεσμών με ικανότητα περιστροφής, με συνέπεια να αυξάνεται ο αριθμός των πιθανών διαμορφώσεων του τμήματος της βάσης και ο χρόνος της διαδικασίας πρόσδεσης. Συνεπώς, το ιδανικότερο τμήμα βάσης αποτελείται από πολλές άκαμπτες ομάδες.

Μετά την επιλογή της βάσης, το υπόλοιπο τμήμα του φαρμακευτικού μορίου διαιρείται σε τμήματα. Όσο μικρότερα είναι τα τμήματα, τόσο καλύτερα είναι τα αποτελέσματα.

Σε ένα πρώτο στάδιο, το φαρμακευτικό μόριο διαιρείται σε κάθε αλκυλικό δεσμό με ελευθερία περιστροφής (Σχήμα 7.35). Δεσμοί με ελευθερία περιστροφής θεωρούνται όλοι οι δεσμοί, εκτός των διπλών, τριπλών, και δεσμών ενωμένων σε μεθυλομάδες και αμινομάδες, όπως έχει ήδη προαναφερθεί. Τα συστήματα δακτυλίων παραμένουν αδιαίρετα και τοποθετούνται πάντα μέσα στο ίδιο τμήμα.

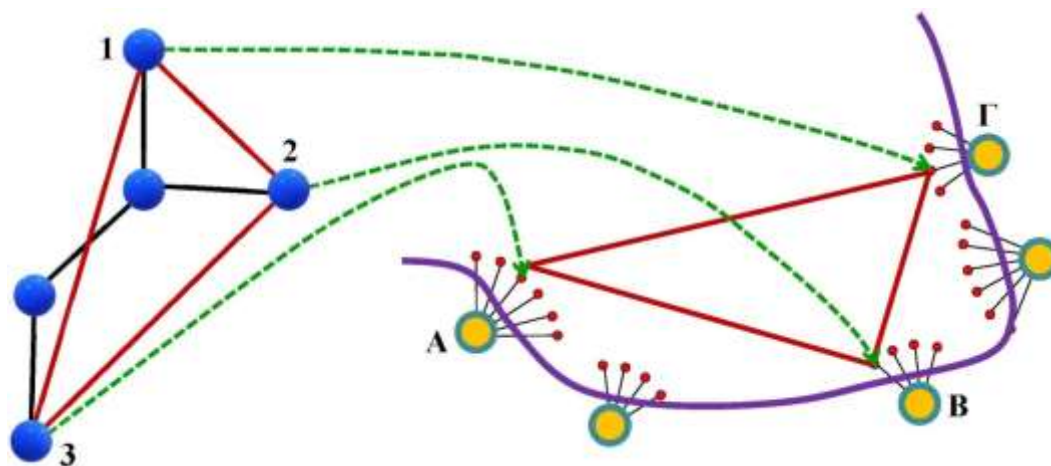
Τα τμήματα του μορίου αποτελούν τα δομικά συστατικά για τη μετέπειτα ανοικοδόμηση του μορίου πάνω στη βάση.



Σχήμα 7.35 (α) Αποικοδόμηση του αναστολέα της θρομβίνης NAPAP σε 12 τμήματα και (β) Παράσταση των τμημάτων του μορίου υπό τη μορφή δένδρουγράμματος.

7.8.8.2 Τοποθέτηση της βάσης στον χώρο σύμπλεξης

Ο στόχος του αλγορίθμου «τοπογραφίας σύμπλεξης» της βάσης (pose clustering), είναι η εύρεση θέσεων της βάσης μέσα στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα, στις οποίες υφίστανται ταυτόχρονα πολλές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του μορίου και της πρωτεΐνης. Η κύρια λειτουργία του αλγορίθμου είναι να σχηματίζει ταυτόχρονα τριάδες αλληλεπιδράσεων μεταξύ του φαρμάκου και της πρωτεΐνης (Σχήμα 7.36).



Σχήμα 7.36 Ο αλγόριθμος «τοπογραφίας σύμπλεξης» βασίζεται στη δημιουργία τριών κέντρων αλληλεπίδρασης της βάσης του φαρμακευτικού μορίου (μπλε σφαίρες 1,2,3) πάνω σε τρία συγκεκριμένα σημεία αλληλεπίδρασης του ενεργού κέντρου του υποδοχέα (κόκκινα μικρά σφαιρίδια A,B,Γ), για να οριστεί ένας μοναδικός τρόπος πρόσδεσης (1Γ, 2B, 3A).

Για το λόγο ότι το τμήμα της βάσης μπορεί να σχηματίσει περισσότερες από τρεις αλληλεπιδράσεις, αυτές ομαδοποιούνται διαδοχικά. Αν το τμήμα της βάσης είναι πολύ μικρό, ενδέχεται να μην σχηματίζονται τρεις αλληλεπιδράσεις ταυτόχρονα. Τότε, το λογισμικό χρησιμοποιεί μια διαφορετική ρουτίνα, η οποία υπολογίζει μόνο ζεύγη αλληλεπιδράσεων.

7.8.8.2.3 Κατασκευή του συμπλέγματος μορίου-υποδοχέα

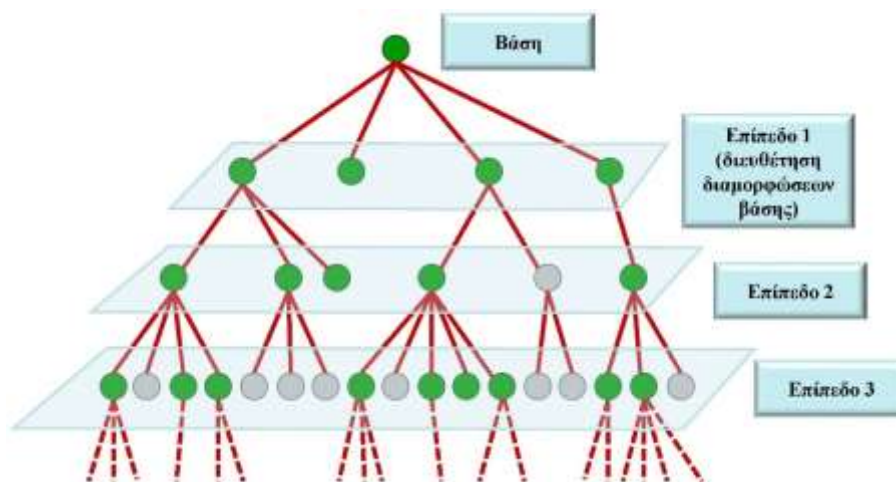
Μετά από μια σειρά υπολογισμών για την εύρεση της ενεργειακά ευνοϊκότερης τοπογραφικής σύμπλεξης της βάσης, αρχίζει η διαδικασία σταδιακής ανοικοδόμησης, η οποία προσθέτει διαδοχικά τα υπολειπόμενα τμήματα του φαρμακευτικού μορίου πάνω στη βάση με επαναληπτικό τρόπο. Η μέθοδος αυτή ανάγεται σε μια δενδροειδή αναζήτηση. Κάθε σημείο διακλάδωσης του δενδρογράμματος αντιπροσωπεύει την τοποθέτηση του επόμενου τμήματος του φαρμακευτικού μορίου.

Η επαναληπτική αυτή διαδικασία συγκροτείται από τα επόμενα στάδια:

- ♦ Προσθήκη του επόμενου τμήματος του μορίου σε όλες τις πιθανές διαμορφώσεις,
- ♦ Αναζήτηση των νέων αλληλεπιδράσεων,
- ♦ Βελτιστοποίηση των θέσεων του τμήματος του μορίου και
- ♦ Επιλογή μιας νέας ομάδας λύσεων. Ως ομάδα λύσεων θεωρείται κάθε τμήμα του δενδρογράμματος, που ξεκινά από τη βάση και καταλήγει στο $i-1$ τμήμα του φαρμακευτικού μορίου, όπου i ο αριθμός των τμημάτων του φαρμακευτικού μορίου.

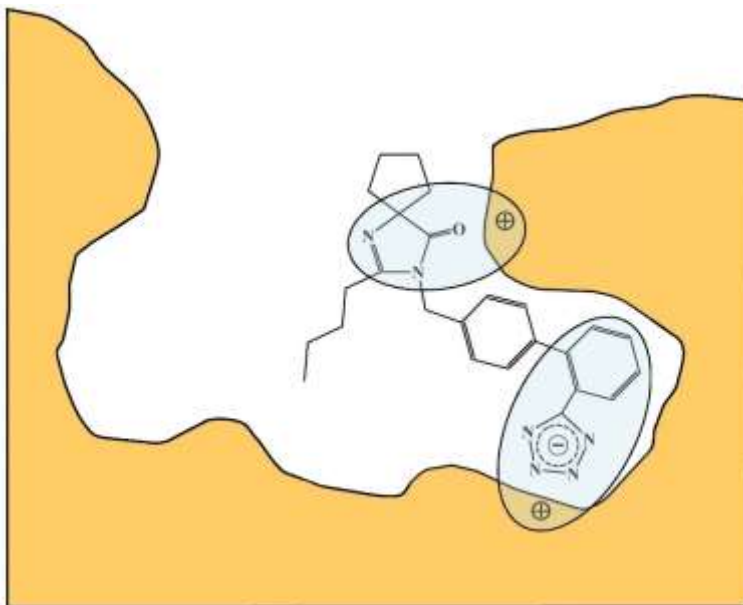
Στο πρώτο επίπεδο του δενδρογράμματος διευθετούνται οι διαφορετικές διαμορφώσεις του τμήματος της βάσης. Κάθε ένα από τα υπόλοιπα επίπεδα αντιπροσωπεύει μία εναλλακτική τοποθέτηση του επόμενου τμήματος του μορίου στο προηγούμενο τμήμα (Σχήμα 7.36). Η σειρά, με την οποία προστίθενται τα τμήματα, διατηρείται σταθερή κατά τη διάρκεια της δενδροειδούς αναζήτησης.

Αν υπάρχουν εναλλακτικές τοποθετήσεις του ίδιου τμήματος, προστίθενται πρώτα τα τμήματα που σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου ή γέφυρες άλατος, αφού οι αλληλεπιδράσεις αυτές είναι πιο άμεσες και μπορεί να προσδιοριστεί η γεωμετρία τους με ακρίβεια (Σχήμα 7.37). Η τοπογραφία της προσθήκης ενός τμήματος εξαρτάται από την τοπογραφία του προηγούμενου τμήματος.



Σχήμα 7.37 Δενδρογράμμα του αλγορίθμου σταδιακής ανοικοδόμησης του φαρμακευτικού μορίου. Το πρώτο επίπεδο περιλαμβάνει τις διαφορετικές διευθετήσεις των διαμορφώσεων της βάσης. Τα υπόλοιπα περιλαμβάνουν τις διευθετήσεις των υπόλοιπων τμημάτων του μορίου έως το τμήμα $i-1$. Οι έγχρωμες σφαίρες αντιπροσωπεύουν τις διευθετήσεις, που συνεχίζουν στην επόμενη επανάληψη.

Ο στόχος της δενδροειδούς αναζήτησης είναι η εύρεση διαμορφωμερών με ευνοϊκές ενέργειες πρόσδεσης, οι οποίες υπολογίζονται από τη διαδικασία της βαθμολόγησης. Μια εξαντλητική δενδροειδής αναζήτηση είναι αδύνατη, αφού το δέντρο μεγαλώνει εκθετικά, όσο αφορά τους βαθμούς ελευθερίας. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιείται μια τεχνική, όπου μόνο οι k , καλύτερες ενεργειακά δομές από κάθε επίπεδο, συνεχίζουν την επαναληπτική διαδικασία ανοικοδόμησης. Ο αριθμός k δε μπορεί να πάρει μεγάλες τιμές, αφού μεγάλος αριθμός δομών επιφέρει αύξηση στον υπολογιστικό χρόνο.



Σχήμα 7.38 Πρόσδεση τμημάτων του φαρμακευτικού μορίου ιμπεσαρτάνη στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα, τα οποία προσδιορίζουν άμεσα την τοπογραφία της συνολικής σύμπλεξης εξαιτίας των αλληλεπιδράσεών τους.

7.8.9 Λογισμικό DOCK

Η θεωρητική βάση του λογισμικού DOCK είναι παρόμοια με αυτή των προγραμμάτων GRID και GRIN, που αναπτύχθηκαν από τον Goodford. Τα πεδία των πιθανών μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων, που αναπτύσσονται στο περιβάλλον του υποδοχέα, υπολογίζονται πάνω σε ένα πλέγμα σημείων, που μεταξύ τους απέχουν 0.25Å.

Οι συντεταγμένες κάθε ατόμου του μορίου προσδέτη προσεγγίζονται από τις αντίστοιχες του εγγύτερου χωρικά σημείου του πλέγματος. Με τον τρόπο αυτό παράγεται μια απλή έκφραση για τον υπολογισμό της ενέργειας αλληλεπίδρασης.

Πιο συγκεκριμένα, η ολική ενέργεια από τις στερικές και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις δίνεται με την αξιοποίηση των Εξισώσεων 7.14–17.19.

7.8.9.1 Παράδειγμα

$$E_{LS} = \sum_i Q_G q_i - A_G a_i + B_G b_i \quad (7.14)$$

$$a_i = 2,0\sqrt{k}(\sqrt{2,0R})^3 \quad (7.15)$$

$$b_i = \sqrt{k}(\sqrt{2,0R})^6 \quad (7.16)$$

$$Q_G = \sum_s \frac{q_s}{r_{Gs}^2} \quad (7.17)$$

$$A_G = \sum_s \frac{a_s}{r_{Gs}^6} \quad (7.18)$$

$$B_G = \sum_s \frac{b_s}{r_{Gs}^{12}} \quad (7.19)$$

Όπου

q_i : φορτίο του ατόμου (i) του μορίου προσδέτη

q_s : φορτίο του ατόμου (s) του υποδοχέα

Q_G : ηλεκτροστατικό δυναμικό του σημείου πλέγματος που βρίσκεται εγγύτερα στο άτομο (i)

A_G, B_G : ελκτική και απωστική συνεισφορά στο δυναμικό Lennard–Jones και αναφέρεται στο σημείο του πλέγματος, που βρίσκεται εγγύτερα στο άτομο (i)

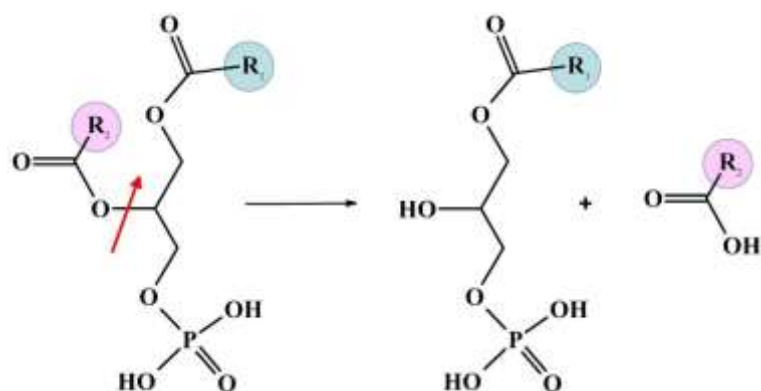
r_{Gs} : η απόσταση μεταξύ του κάθε σημείου G του πλέγματος και του ατόμου (s)

R, k : αναφέρονται στον τύπο του ατόμου και προκύπτουν από σχετικούς πίνακες

\sum_s : Οι αθροίσεις εκτελούνται στα άτομα (s) του υποδοχέα, τα οποία περιλαμβάνονται στο καθορισμένο πλέγμα

Η φωσφολιπάση A_2 καταλύει την $sn-2$ θέση των φωσφολιπιδίων, παράγοντας αραχιδονικό οξύ. Αυτό μεταβολίζεται σε εικοσανοειδή, στα οποία περιλαμβάνονται οι προσταγλανδίνες, τα λευκοτριένια και ενεργοποιητές αιμοπεταλίων. Τα μεταβολικά αυτά παράγωγα ενοχοποιούνται για την πρόκληση ρευματοειδούς αρθρίτιδας και βρογχικού άσθματος.

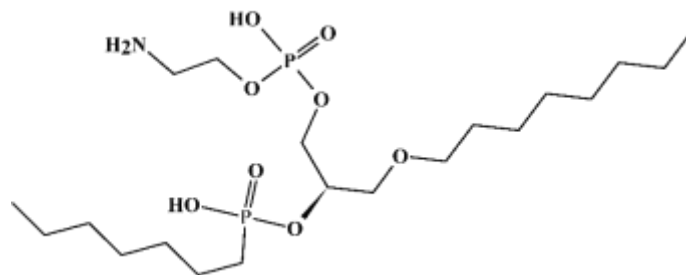
Η ανθρώπινη μη παγκρεατική φωσφολιπάση A_2 φέρει το όνομά της, γιατί απομονώθηκε από το μη παγκρεατικό, αρθρικό υγρό ασθενών, που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα. Στο όνομά της περιλαμβάνεται επίσης και ο συμβολισμός A_2 , επειδή υδρολύει την $sn-2$ θέση του φωσφογλυκερολικού σκελετού (Σχήμα 7.39).



Σχήμα 7.39 Υδρόλυση φωσφολιπιδίου από την hnp_s-PLA₂ στη θέση sn-2, η οποία υποδεικνύεται από το βέλος.

Παρακάτω, περιγράφεται ο μηχανισμός δράσης του ενζύμου, ο οποίος επιτρέπει την κατανόηση του τρόπου, με τον οποίο το ένζυμο καταλύει την υδρόλυση των φωσφολιπιδίων. Επίσης παρέχει πληροφορίες για τα σημαντικότερα αμινοξέα, που λαμβάνουν μέρος σε αυτόν. Η γνώση των αλληλεπιδράσεων του υποστρώματος με το ένζυμο χρησιμοποιείται στη μελέτη αυτή, για τον ορθολογικό σχεδιασμό ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων της hnp_s-PLA₂. Ο μηχανισμός αυτός βασίστηκε στη δομή της hnp_s-PLA₂, συμπλεγμένης με ένα ανάλογο μεταβατικής κατάστασης, αναφερόμενο στη βιβλιογραφία ως TSA. Η μοριακή δομή του αναλόγου αυτού παρουσιάζεται στο Σχήμα 7.40. Θεωρήθηκε από τους ερευνητές που παρασκεύασαν το προϊόν, ότι η φωσφονική ομάδα και ειδικότερα οι αλληλεπιδράσεις της με το ένζυμο είναι ίδιες με αυτές του τετραεδρικού ενδιάμεσου, που σχηματίζεται κατά την υδρόλυση των φωσφολιπιδίων. Με βάση, λοιπόν, τον τρόπο αλληλεπίδρασης του TSA με το ένζυμο, προτάθηκε ο πιθανός μηχανισμός δράσης του, που περιγράφεται πιο κάτω.

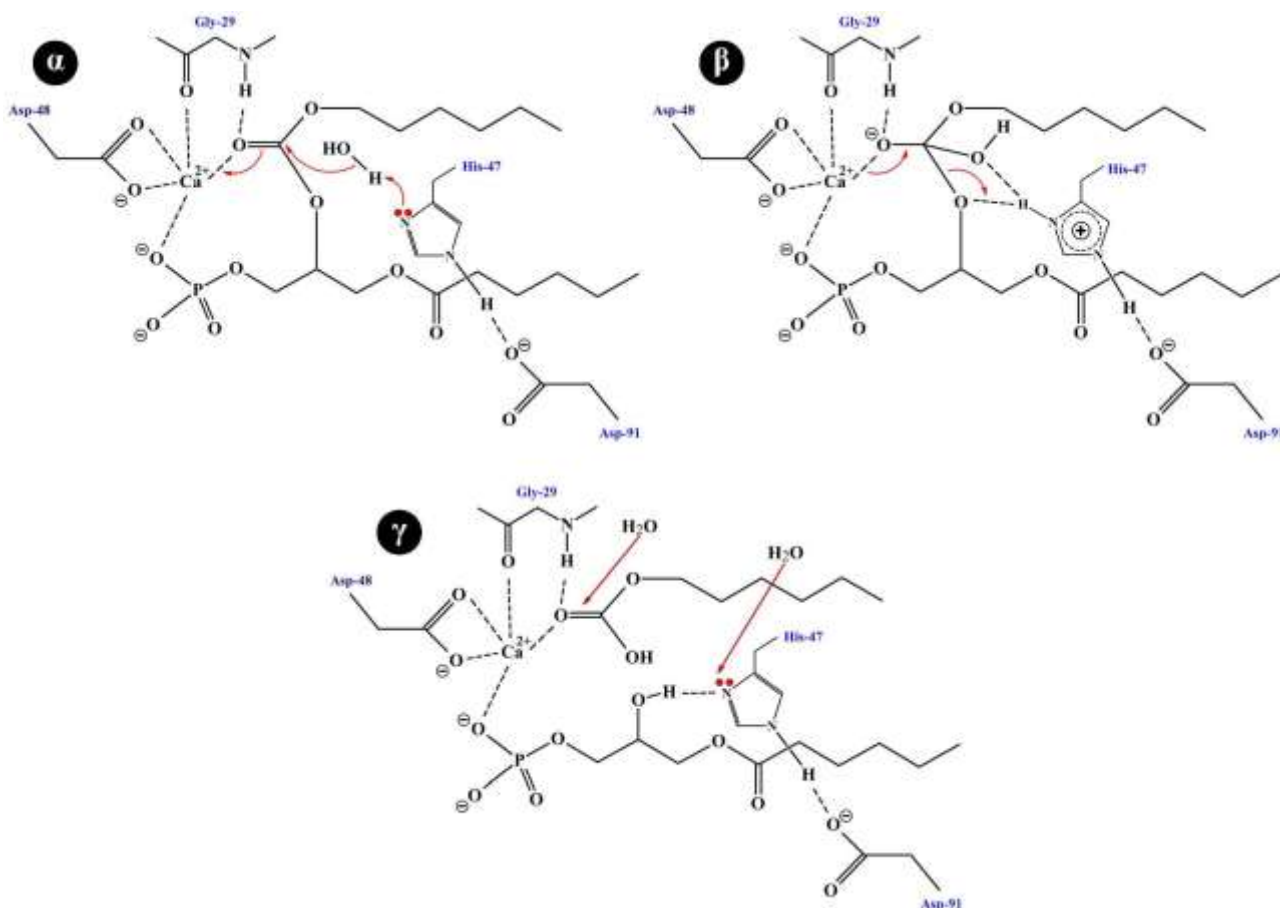
Στο μηχανισμό δράσης προτείνεται ότι η His-47, που αποτελεί αμινοξύ τμήμα του ενεργού κέντρου, αποσπά ένα υδρογόνο από ένα μόριο νερού, που εντοπίζεται στην κοιλότητα του ενεργού κέντρου. Το αποσπώμενο πρωτόνιο προσανατολίζεται με τέτοιο τρόπο προς το σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος, ώστε να ευνοείται ενεργειακά η δημιουργία των προϊόντων της υδρόλυσης. Το θετικό φορτίο που αποκτά το ένζυμο από την απόσπαση του πρωτονίου, πιθανό να σταθεροποιείται από ένα εκτεταμένο δίκτυο δεσμών υδρογόνου, που περιλαμβάνει την His-47 και το Asp-91. Το φορτίο αυτό μπορεί εύκολα να ανακληθεί, για να γίνει η πρωτονίωση του αλκοξειδίου. Το κατιόν ασβεστίου, από την άλλη, είναι απαραίτητο και για την πρόσδεση του υποστρώματος αλλά και για την υδρόλυση του. Το κατιόν ασβεστίου σταθεροποιείται από τα πέντε οξυγόνα των αμινοξέων His-27, Asp-48, Gly-29 και Gly-31. Το σύμπλεγμα ασβεστίου με τα πέντε οξυγόνα παρουσιάζει γεωμετρική δομή τριγωνικής διπυραμίδας. Το κατιόν ασβεστίου ενοποιεί την κατάλυση και τη σταθεροποίηση του υποστρώματος, παρέχοντας δύο θέσεις πρόσδεσης, μία ισημερινή για το



Σχήμα 7.40 Μοριακή δομή του αναστολέα TSA.

τετραεδρικό ενδιάμεσο και μία αξονική για το οξυγόνο της φωσφορικής ομάδας της *sn*-3 θέσης του φωσφολιπιδίου. Σταθεροποιητικό ρόλο παίζει και η Gly-29 με το σχηματισμό ενός δεσμού υδρογόνου, του υδρογόνου του αζώτου της, με το οξυγόνο του τετραεδρικού ενδιάμεσου. Αναλυτικά ο μηχανισμός παρουσιάζεται στην Σχήμα 7.41.

Έχει περιγραφεί βιβλιογραφικά ότι κατά το το μηχανισμό δράσης του ενζύμου sPLA₂ εμπλέκονται δύο μόρια νερού, τα οποία βοηθούν στην απομάκρυνση των προϊόντων της ενζυματικής υδρόλυσης. Κατά τη δράση των αναστολέων τα δύο αυτά νερά εκτοπίζονται.

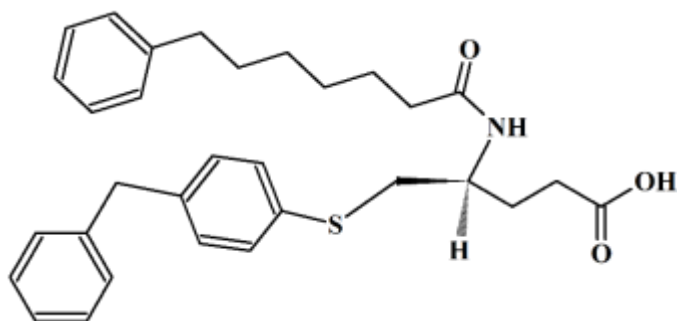


Σχήμα 7.41 Πιθανός μηχανισμός δράσης της sPLA₂.

Για τον ορθολογικό σχεδιασμό ισχυρών και εκλεκτικών αναστολέων της hnpS-PLA₂ χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό FlexX, το οποίο πραγματοποιεί μοριακή πρόσδεση (Docking) ενός μικρού μορίου, που ονομάζεται προσδέτης (ligand) σε ένα μεγαλύτερο μόριο, που ονομάζεται υποδοχέας (receptor). Το λογισμικό FlexX πραγματοποιεί πρόσδεση του προσδέτη στον υποδοχέα και υπολογίζει την ενέργεια πρόσδεσης. Βαθμολόγηση της πρόσδεσης από το FlexX γίνεται ως εξής: Πριν από την πρόσδεση, το μόριο έχει αυξημένη εντροπία. Μπορεί δηλαδή θεωρητικά να προσδεθεί σε διάφορες θέσεις του υποδοχέα. Όταν όμως προσδεθεί, η εντροπία ελαττώνεται ($\Delta S < 0$). Δεν έχει πια την ευελιξία να προσεγγίσει οποιεσδήποτε θέσεις του υποδοχέα. Η πρόσδεση στον υποδοχέα επιφέρει ελάττωση στη ΔH , επειδή δημιουργούνται ισχυρότεροι δεσμοί ($\Delta H < 0$). Η πρόσδεση θα είναι εφικτή ($\Delta G < 0$), μόνο αν ο ενθαλπικός παράγοντας (ΔH) είναι κατά απόλυτη τιμή μεγαλύτερος του εντροπικού ($\Delta H > T\Delta S$). Η βαθμολόγηση των παραγόμενων αποτελεσμάτων πραγματοποιείται με τη χρήση συνάρτησης, που υπολογίζει την ελεύθερη ενέργεια πρόσδεσης ΔG για το σύμπλεγμα προσδέτη – υποδοχέα.

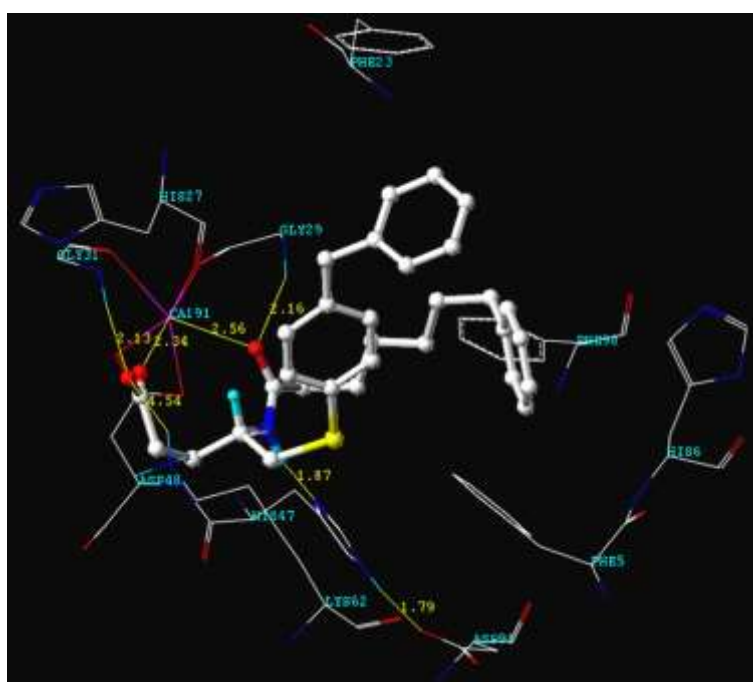
Καταρχάς έγινε επικύρωση της αξιοπιστίας του λογισμικού FlexX. Γι' αυτό το σκοπό χρησιμοποιήθηκαν έξι μοριακές δομές αναστολέων, που αναφέρεται στην βιβλιογραφία ότι είναι ισχυροί αναστολείς της hnpS-PLA₂ και κρυσταλλώνονται μαζί με το ένζυμο, άρα μπορούμε να παρατηρήσουμε τον τρόπο αλληλεπίδρασης τους με αυτό, καθώς και τη διαμόρφωση που έχουν μέσα στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Πραγματοποιώντας πρόσδεση των μορίων αυτών στην hnpS-PLA₂ με το FlexX, το πρόγραμμα αναπαράγει τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Ενδεικτικά εδώ, αναφέρεται ο αναστολέας FPL67047XX (Σχήμα 7.42), τον οποίο και μελετάμε διεξοδικότερα στην παρούσα εργασία. Ο αναστολέας αυτός αποτελεί εκτεταμένη τροποποίηση των φωσφολιπιδίων, που είναι το φυσικό υπόστρωμα της hnpS-PLA₂ και το στερεογονικό του κέντρο έχει διαμόρφωση S.



Σχήμα 7.42 Δομή του αναστολέα FPL67047XX.

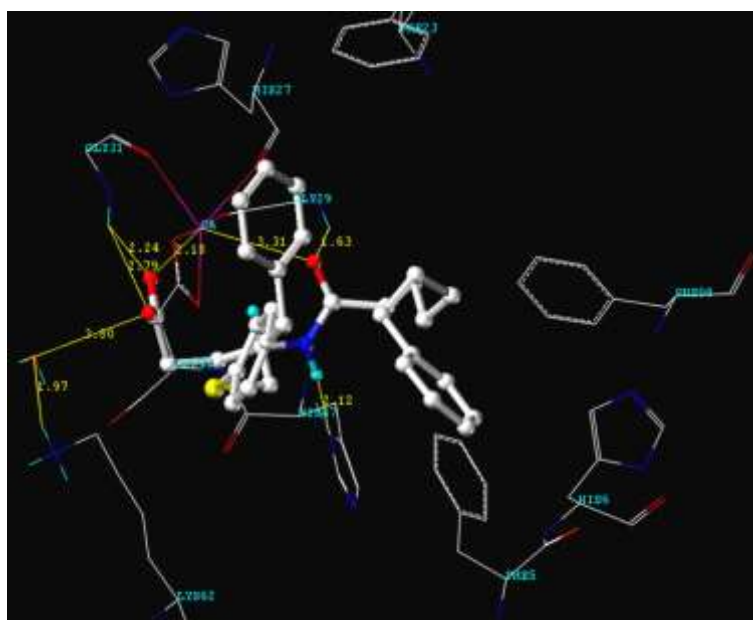
Στο Σχήμα 7.43 παριστάνονται οι αλληλεπιδράσεις του παραπάνω αναστολέα με την hnpS-PLA₂, όπως προέκυψαν από κρυσταλλογραφικά δεδομένα.



Σχήμα 7.43 Ο αναστολέας FPL67047XX κρυσταλλωμένος με την hnpS-PLA₂ από το PDB αρχείο με κωδικό 1KVO, διακριτικής ικανότητας 2.0Å.

Οι σημαντικότερες αλληλεπιδράσεις του αναστολέα με την hnpS-PLA₂ αποτελούν: Δεσμό υδρογόνου του αζώτου του αμιδίου με την His-47, και δύο ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο οξυγόνων, αμιδικού και καρβοξυλίου, με το κατιόν του ασβεστίου. Επίσης παρατηρούνται δύο σταθεροποιητικές αλληλεπιδράσεις, ένας δεσμός υδρογόνου της Gly-29 με το οξυγόνο του αμιδίου και ένας δεσμός υδρογόνου της Gly-31 με το οξυγόνο του καρβοξυλίου, που δεν αλληλεπιδρά με το ασβέστιο. Οι φαινολικοί δακτύλιοι συμμετέχουν σε εκτεταμένες αρωματικές/αλειφατικές και αρωματικές/αρωματικές αλληλεπιδράσεις με τα υδρόφοβα αμινοξέα του ενεργού κέντρου της hnpS-PLA₂. Επίσης αλληλεπιδρούν και ενδομοριακά μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα αρωματικό πυρήνα, και ειδικότερα ο φαινολικός δακτύλιος της sn-2 αλυσίδας είναι σχεδόν κάθετος προς τους δύο φαινολικούς δακτυλίους της sn-1 αλυσίδας. Αν και ογκώδεις, οι αλυσίδες sn-1 και sn-2, εντούτοις διευθετούνται μέσα στο υδρόφοβο ενεργό κέντρο του ενζύμου, χωρίς η hnpS-PLA₂ να υφίσταται σημαντικές διαμορφωτικές μεταβολές, εκτός από την περιστροφή της πλευρικής αλυσίδας της His-6 εξαιτίας της μετατόπισής της από τον φαινολικό δακτύλιο sn-2 αλυσίδας. Όπως σημειώνεται στη βιβλιογραφική παραπομπή, στην οποία περιγράφεται η κρυσταλλογραφική αυτή δομή, δεν παρατηρείται καμία αλληλεπίδραση με τη Lys-62, όπως παρατηρείται σε κρυσταλλογραφικές του ίδιου ενζύμου με άλλες δομές αναστολέων. Με βάση λοιπόν την παραπάνω βιβλιογραφική παραπομπή, η κοιλότητα του ενεργού κέντρου, που προσδιορίζεται μεταξύ Lys-62 και του καρβοξυλίου, στερείται αλληλεπιδράσεων. Επομένως αντικατάσταση του καρβοξυλίου με μία εκτεταμένη ομάδα, που να προκαλεί αλληλεπιδράσεις, αναμένεται να αυξάνει την ισχύ του αναστολέα.

Το λογισμικό FlexX αναπαράγει με ακρίβεια τις αλληλεπιδράσεις, που αναφέρθηκαν πιο πάνω. Στην Σχήμα 7.45 παριστάνονται οι αλληλεπιδράσεις και η διαμόρφωση του αναστολέα, μετά από πρόσδεση του στο ένζυμο με το λογισμικό FlexX.



Σχήμα 7.44 Ο αναστολέας FPL67047XX μετά από πρόσδεση στη hnpS-PLA₂ με το λογισμικό FlexX.

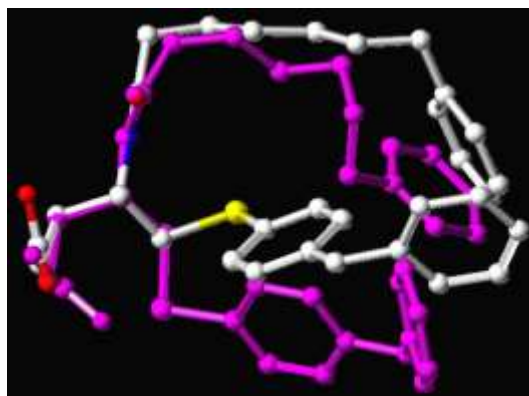
Στον πίνακα 7.6 παριστάνονται οι αποστάσεις, που μετρούνται από την κρυσταλλογραφική δομή και αυτές που μετρούνται μετά από πρόσδεση με το FlexX. Όπως παρατηρείται, οι αποκλίσεις είναι μικρότερες του 1Å. Η Lys-62, όπως σημειώνεται σε μερικά άρθρα που αναφέρονται σε άλλες κρυσταλλικές δομές, αλληλεπιδρά με τον αναστολέα μέσω ενός μορίου νερού. Τέτοια πληροφορία

δεν παρέχεται στη βιβλιογραφική παραπομπή με το FPL67047XX – hnpS-PLA₂. Για τη μελέτη με χρήση του λογισμικού FlexX έγινε χρήση του PDB αρχείου με κωδικό 1DB4, που περιέχει το μόριο νερού, το οποίο αλληλεπιδρά με τη Lys-62. Το οξυγόνο του καρβοξυλίου δεν βρίσκεται σε χωρική εγγύτητα με το μόριο του νερού και δεν συμμετέχει στο δίκτυο δεσμών υδρογόνου Lys-62-H₂O-λειτουργική ομάδα αναστολέα.

Πίνακας 7.6 Οι αποστάσεις, που μετρούνται από την κρυσταλλογραφική δομή και αυτές που μετρούνται μετά από πρόσδεση με το FlexX.

Κυριότερες αλληλεπιδράσεις αναστολέα FPL67047XX-hnpS-PLA ₂	Αποστάσεις κρυσταλλογραφίας	Αποστάσεις FlexX
Ca ²⁺ —C—O ⁻	2,34Å	2,18Å
Ca ²⁺ —C=O	2,56Å	3,31Å
His-47 — N—H	1,87Å	2,12Å
Gly-29 — C=O	2,16Å	1,63Å
Gly-31 — C=O	2,13Å	2,79Å
H ₂ O — C=O	3,80Å
H ₂ O — Lys-62	1,97Å
Lys-62 — C=O	4,54Å

Στη συνέχεια έγινε υπέρθεση της κρυσταλλογραφικής δομής και της προβλεπόμενης μοριακής δομής, που δίνει το FlexX, όταν πραγματοποιεί την πρόσδεση. Στο Σχήμα 7.45 παριστάνεται η υπέρθεση των δύο δομών. Το RMSD (Root Mean Squared Deviation) μεταξύ της κρυσταλλογραφικής δομής και της υπολογισμένης σε κατάσταση αλληλεπίδρασης με το ένζυμο (πορφυρό χρώμα) είναι 0.081Å. Η μικρή τιμή του RMSD αποδεικνύει ότι έχουν μικρές διαμορφωτικές αλλαγές.



Σχήμα 7.45 Υπέρθεση κρυσταλλογραφικής και υπολογιζόμενης από το λογισμικό FlexX δομής του μορίου FPL67047XX.

7.9 Μοντελοποίηση υποδοχών

Έχουν αναπτυχθεί αλγόριθμοι που βασίζονται στην εξεύρεση δομικών ομοιοτήτων μεταξύ του εξεταζόμενου υποδοχέα και άλλων πρωτεϊνών που έχουν κρυσταλλωθεί και έχουν παρόμοια βιολογική δράση ή μεγάλη ομολογία αμινοξέων.

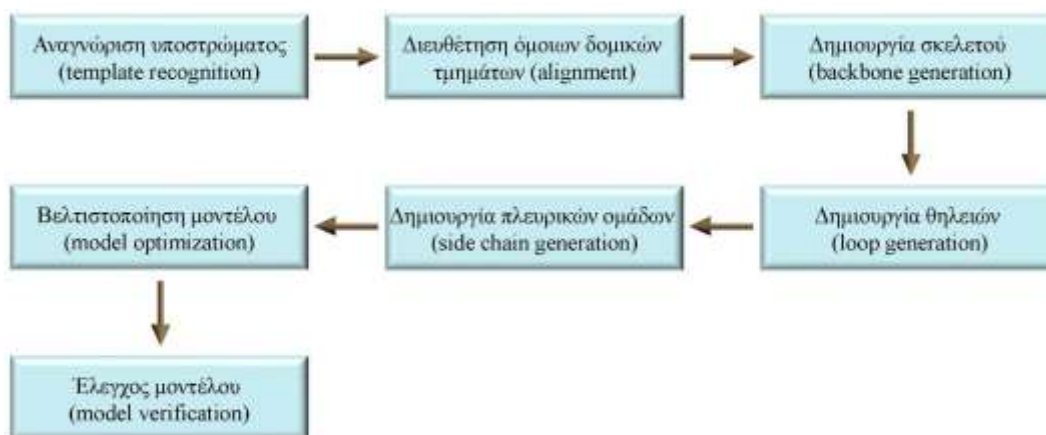
Η εξεύρεση της πρωτεΐνης με χρήση αλγορίθμων ομοιότητας (similarity algorithms), η οποία θα έχει μεγάλη ομοιότητα με τον εξεταζόμενο υποδοχέα, θα αποτελέσει το υπόστρωμα για τη μοντελοποίηση. Η ίδια διαδικασία μπορεί να ακολουθηθεί και για τα νουκλεϊνικά οξέα. Το υπόστρωμα θα χρησιμοποιηθεί για να δημιουργηθεί μία εναρκτήρια στερεοδομή (μοντέλο) για τον

υποδοχέα που μελετάται.

Οι αλγόριθμοι ομοιότητας πλεονεκτούν έναντι των άλλων μεθοδολογιών διαμορφωτικής ανάλυσης, γιατί είναι λιγότερο χρονοβόροι συγκριτικά με άλλες μεθοδολογίες και μπορούν να δώσουν με επιτυχία τριτοταγείς δομές. Υπάρχουν και μειονεκτήματα στους αλγορίθμους, όπως το ότι δεν είναι πλήρως αυτοματοποιημένοι, δεν καθορίζουν τις πλευρικές αλυσίδες και θηλιές του υποδοχέα και δεν μπορούν να εφαρμοσθούν αν δεν είναι γνωστή η διαμόρφωση πρωτεΐνης που έχει κρυσταλλωθεί.

Το ποσοστό ομολογίας για τη μοντελοποίηση είναι καθοριστικό. Αν η ομολογία είναι μεγαλύτερη από 90% τότε τα αποτελέσματα είναι συγκρίσιμα με τα κρυσταλλογραφικά. Διαφορές παρατηρούνται μόνο στις πλευρικές αλυσίδες. Αν η ομολογία είναι μεταξύ 75–90% τα αποτελέσματα συνήθως είναι επιτυχή αλλά εξαρτώνται και από τον υπολογιστικό χρόνο. Ομολογία η οποία κυμαίνεται μεταξύ 50–75% δίνει RMSD της τάξεως των 1,5 Å και σημαντικά λάθη σε μερικά τμήματα του υποδοχέα. Χρήση ομολογιών 25–50% δίνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα αν δεν γίνεται αυτοματοποιημένη χρήση. Σε ποσοστά μικρότερα των 25% δεν είναι χρήσιμη και προτιμάται η Γεωμετρία Απόστασης.

Η διαδικασία που ακολουθείται για την ανάπτυξη τελικού μοντέλου του υποδοχέα μετά την αναγνώριση του υποστρώματος (template recognition), η οποία γίνεται από βιβλιοθήκες βάσεων δεδομένων, είναι η ακόλουθη (Σχήμα 7.46).



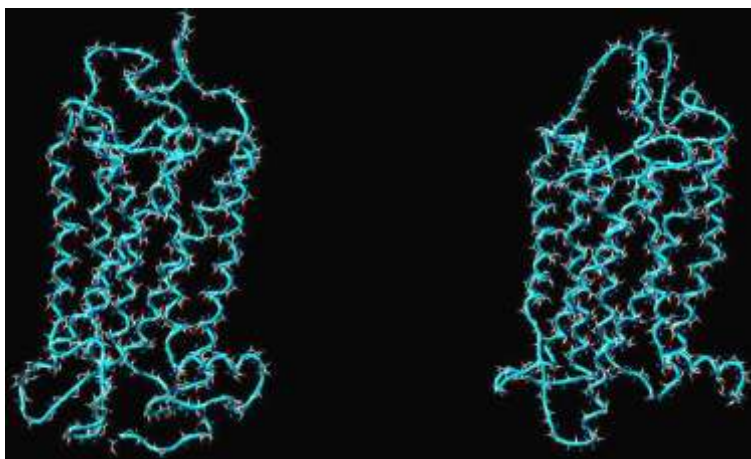
Σχήμα 7.46 Αναλυτική παρουσίαση βημάτων που ακολουθούνται για τη μοντελοποίηση υποδοχέων.

Η αρχική δομή ελαχιστοποιείται ενεργειακά με χρήση μεθόδων ενέργειας ελαχιστοποίησης και με περιορισμένες μεθοδολογίες εξερεύνησης του διαμορφωτικού χώρου. Γίνεται διευθέτηση όμοιων δομικών τμημάτων (alignment) και δίνεται κάποιο σκορ που εκφράζει την ομοιότητα μεταξύ των συγκρινόμενων τμημάτων. Υψηλό σκορ σημαίνει ότι υπάρχουν ταυτόσημα τμήματα. Ενδιάμεσο σκορ σημαίνει ότι υπάρχουν όμοια τμήματα και χαμηλό σκορ ότι τα τμήματα που συγκρίνονται είναι ανόμοια. Οι αλγόριθμοι διευθέτησης βασίζονται στην πρωτοταγή δομή της πρωτεΐνης.

Το επόμενο βήμα είναι η δημιουργία του τριδιάστατου μοντέλου. Ανιχνεύονται πρώτα δομικές ομοιότητες στον σκελετό του μελετούμενου υποδοχέα και εξευρίσκεται ο προσανατολισμός και η διαμόρφωση του, ώστε να ομοιάζει με αυτό του υποστρώματος. Απλές αλλαγές στα αμινοξέα θεωρείται ότι δεν επηρεάζουν την τριτοταγή δομή. Το επόμενο βήμα είναι να δημιουργηθεί η διαμόρφωση των θηλιών, η οποία επιτυγχάνεται με χρήση βάσεων δεδομένων πρωτεϊνών, που έχουν θηλιές με παρόμοια αμινοξική αλληλουχία. Αφού καθορισθεί η διαμόρφωση των θηλιών διευθετείται η διαμόρφωση των πλευρικών αλυσίδων. Για τη διευθέτηση των πλευρικών αλυσίδων, οι οποίες μπορούν να έχουν ποικίλες διαμορφώσεις, λαμβάνονται υπόψη πρώτα οι πλευρικές αλυσίδες, οι οποίες έχουν σταθερή διαμόρφωση. Οι πλευρικές αλυσίδες με μεταβαλλόμενη διαμόρφωση θα καθορισθούν σύμφωνα με αυτές που έχουν σταθερές διαμορφώσεις. Το μοντέλο

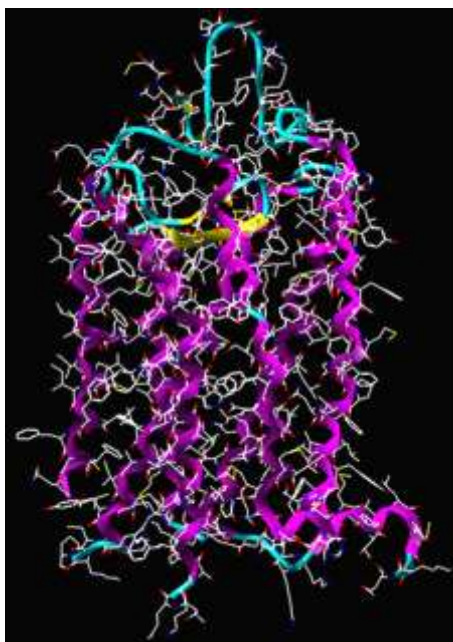
βελτιστοποιείται μέσω χρήσης Μοριακής Μηχανικής (Ελαχιστοποίηση Ενέργειας και χρήση Μοριακής Δυναμικής και ιδιαίτερα μεθοδολογίας προσομοίωσης με ανόπτηση). Γίνεται έλεγχος του μοντέλου με δύο τρόπους. Καταρχάς η ενέργεια του πρέπει να συμφωνεί με αυτή των ομόλογων πρωτεϊνών και δεύτερο θα πρέπει να εξηγεί βιολογικά δεδομένα όσο αφορά το ενεργό του κέντρο.

Πολλοί διαμεμβρανικοί υποδοχείς δεν έχουν κρυσταλλωθεί. Η Μοριακή Μοντελοποίηση σε αυτή την περίπτωση αποτελεί τη μόνη μεθοδολογία για την ανάπτυξη μοντέλων υποδοχέων που δεν έχουν κρυσταλλωθεί. Ο AT_1 υποδοχέας αποτελεί ένα τέτοιο παράδειγμα (Σχήμα 7.47).



Σχήμα 7.47 Μοντέλα του AT_1 υποδοχέα που έχουν δομηθεί με βάση τις διαμορφώσεις του υποδοχέα της ροδοψίνης που έχουν προκύψει από κρυσταλλογραφικά δεδομένα.

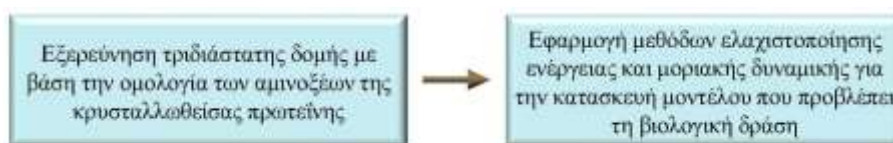
Η μοντελοποίησή του βασίστηκε στη χοίρεια ροδοψίνη η οποία έχει κρυσταλλωθεί. Κύριο χαρακτηριστικό της είναι οι 7 διαμεμβρανικοί έλικες. Η μοντελοποίησή του βασίζεται στη χοίρεια ροδοψίνη (Σχήμα 7.48).



Σχήμα 7.48 Υποδοχέας της ροδοψίνης από κρυσταλλογραφικά δεδομένα.

Η βελτιστοποίηση του μοντέλου έγινε με τη χρήση προσδετών AT_1 ανταγωνιστών. Ένα

ικανοποιητικό μοντέλο είναι αυτό που μπορεί να προβλέψει τη βιολογική δράση ήδη συντιθεμένων ουσιών. Έτσι με βάση το προτεινόμενο μοντέλο θα σχεδιασθούν και συντεθούν καινοτόμα φαρμακευτικά προϊόντα, τα οποία θα εξασκούν βελτιωμένη βιολογική δράση. Συνοπτικότερα λοιπόν η διαδικασία έχει ως περιγράφεται στο Σχήμα 7.49.



Σχήμα 7.49 Συνοπτική παρουσίαση σταδίων μοντελοποίησης υποδοχέα.

7.10 Άσκηση (Tutorial)

Στη συγκεκριμένη άσκηση θα πραγματοποιηθεί μοριακή πρόσδεση του μορίου της φαινόλης στο ένζυμο BCL-XL (PDB:3zlr) με τη χρήση του προγράμματος ελεύθερης πρόσβασης Autodock.

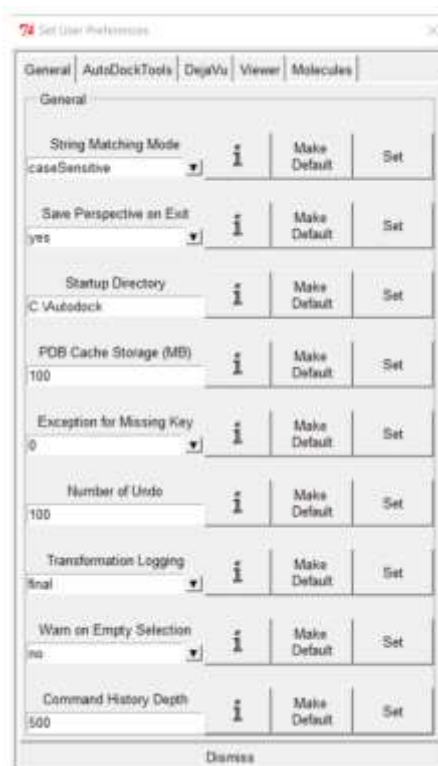
Αρχικά, κατεβάζετε και εγκαθιστάτε τα προγράμματα Autodock και AutoDockTools (ADT) σε περιβάλλον Windows από τις παρακάτω σελίδες:

<https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/> (Για το Autodock)

<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/downloads/> (Για το AutoDockTools)

Αφού έχετε εγκαταστήσει τα παραπάνω προγράμματα, δημιουργείτε έναν φάκελο στον τοπικό δίσκο C:\, τον οποίο ονομάζετε «Autodock». Ορίζετε το περιβάλλον εργασίας (working directory) του Autodock σε αυτόν το φάκελο που δημιουργήσατε με τις παρακάτω εντολές:

File → Preferences → Set → General → Start up directory «C:\Autodock» και κάνετε κλικ το «Make default» δίπλα από το «start up directory» και έπειτα το «Set».



Επιπλέον, για την σωστή λειτουργία του προγράμματος, απαιτείται η αντιγραφή των δύο αρχείων «*.exe» Autogrid.exe και Autodock.exe από τον φάκελο στον οποίο έχει εγκατασταθεί το

πρόγραμμα (C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute\Autodock\4.2.6) στον φάκελο του «Autodock» που δημιουργήσατε (C:\Autodock).

Στη συνέχεια, κατεβάζετε το αρχείο παραμέτρων της μοριακής πρόσδεσης για το Autodock από την ιστοσελίδα:

(https://github.com/marekolsak/fastgrid/blob/master/autogrid_original_4_2_1_ref/autodock/AD4_parameters.dat). Το αρχείο παρατίθεται αναλυτικά στην συνέχεια της άσκησης, ώστε αν δεν υπάρχει ελεύθερο στο διαδίκτυο να μπορεί να δημιουργηθεί ως ένα απλό αρχείο .dat στον υπολογιστή.

Χρησιμοποιείτε το πρόγραμμα Avogadro ή κάποιο άλλο σχεδιαστικό πρόγραμμα για τον σχεδιασμό και την ελαχιστοποίηση της ενέργειας του προσδέτη.

Αφού εγκαταστήσετε τα παραπάνω προγράμματα στον υπολογιστή, ανοίγετε το πρόγραμμα AutoDockTools, το οποίο αποτελεί το γραφικό περιβάλλον του Autodock. Τα βήματα για την προετοιμασία του προσδέτη, της πρωτεΐνης και τη μοριακή πρόσδεση είναι τα παρακάτω:

Προετοιμασία του προσδέτη

Βήμα 1. Επιλέγετε το αρχείο του προσδέτη που το έχετε προηγουμένως είτε κατεβάσει από το διαδίκτυο σε μορφή ligand.pdb (ή ligand.mol2) ή το έχετε σχεδιάσει σε κάποιο πρόγραμμα σχεδιασμού μορίων (π.χ. ChemDraw) και το έχετε αποθηκεύσει σε αρχείο της μορφής *.pdb ή mol2.

Βήμα 2. Από την καρτέλα Ligand ακολουθείτε τα επόμενα στάδια

- i) Input → Open και επιλέγετε το *.mol2 αρχείο.
- ii) Torsion Tree → Detect Root.
- iii) Aromatic Carbons → Aromaticity Criterion.
- iv) Output → Save as PDBQT.

Βήμα 3. Από την καρτέλα Grid ακολουθείτε τα επόμενα στάδια

- i) Grid → Set Map Types → Choose Ligand. Επιλέγετε το ligand και τον αποθηκεύετε στον ίδιο φάκελο με την πρωτεΐνη.
- ii) Grid → Grid Box (number of points 100 x 100 x 100) → File → Close saving current

iii) Grid → Other Options → Parameter Library Filename

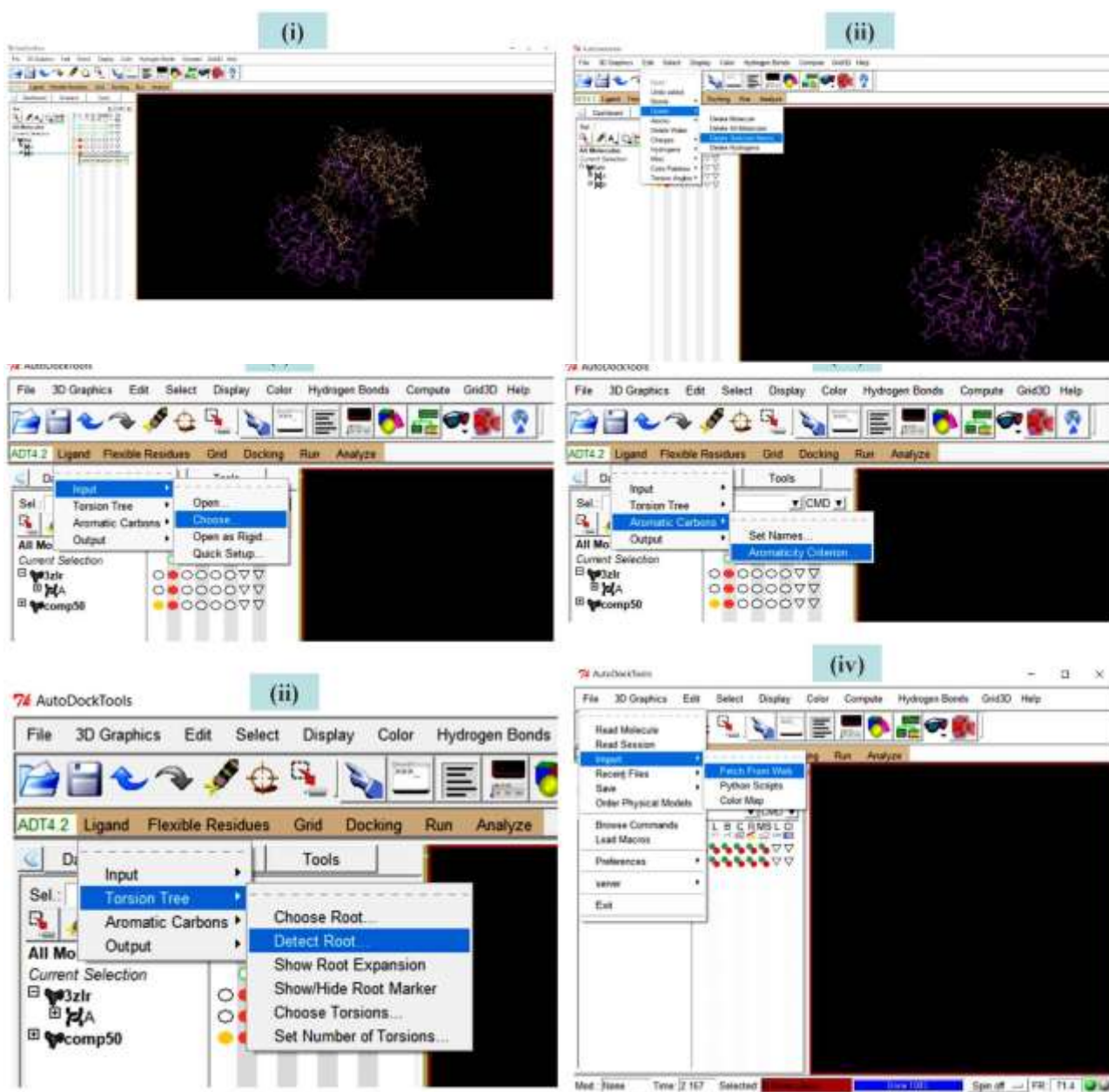
Προετοιμασία της πρωτεΐνης

Βήμα 1. Κατεβάστε την κρυσταλλογραφική δομή του ενζύμου από την ιστοσελίδα της Protein Data Bank (προαπαιτούμενο: σύνδεση στο διαδίκτυο), File → Import → Fetch From Web και πληκτρολογείτε τον μοναδικό κωδικό PDB ID: 3zlr → OK.

Βήμα 2. Διαγραφή αλυσίδας

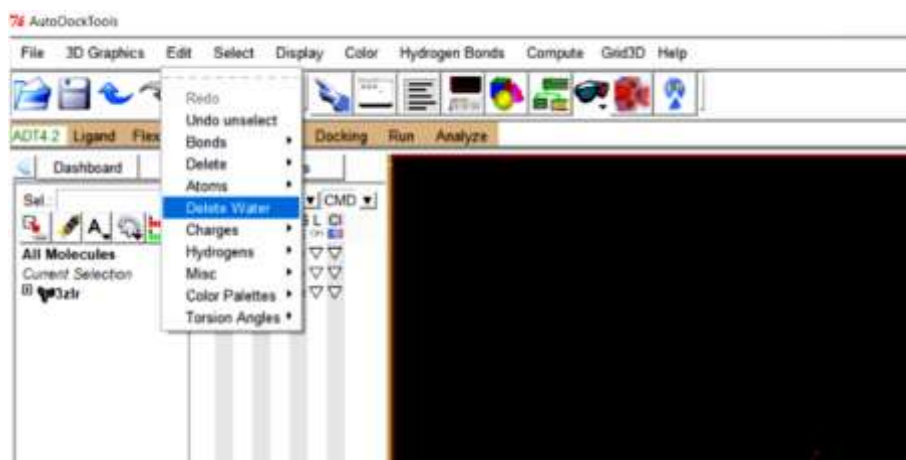
i) Το συγκεκριμένο ένζυμο που εμφανίζεται στην οθόνη είναι ομοδιμερές, δηλαδή αποτελείται από 2 ταυτόσημες αλυσίδες A και B. Για την εφαρμογή του πειράματος μοριακής πρόσδεσης μόνο η μία αλυσίδα είναι απαραίτητη, επομένως η B αλυσίδα θα διαγραφεί. Για τον σκοπό αυτό, κάνετε κλικ πάνω στο «+» που βρίσκεται δίπλα στην «3zlr», ώστε να εμφανιστούν τα γράμματα A και B. Στη συνέχεια, επιλέγετε το στρογγυλό κίτρινο κουτάκι δίπλα από την αλυσίδα B.

ii) Έπειτα, αφού έχετε επιλέξει την αλυσίδα B, η οποία υποδεικνύεται ως κίτρινη πλέον στην τριδιάστατη δομή του ενζύμου, κάνετε κλικ στο Edit → Delete → Delete Selected Atoms.



Βήμα 3. Αφαίρεση κρυσταλλογραφικών νερών

Στην συνέχεια, αφαιρείτε τα κρυσταλλογραφικά νερά από την τριδιάστατη δομή της πρωτεΐνης, κάνοντας κλικ στο Edit → Delete Water.

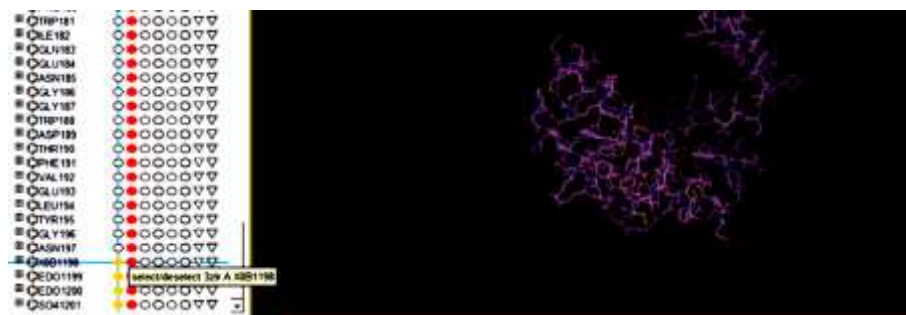


Βήμα 4. Διαγραφή συγκρυσταλλωμένου προσδέτη και παραγόντων συγκρυστάλλωσης

i) Με στόχο να διαγράψετε από την τριδιάστατη κρυσταλλογραφική δομή τον συγκρυσταλλωμένο προσδέτη και τους παράγοντες συγκρυστάλλωσης, επιλέγετε το «+» που βρίσκεται δίπλα από την αλυσίδα A. Τώρα παρατίθεται όλη η αλληλουχία της πρωτεΐνης.

ii) Στο τέλος της αλληλουχίας βρίσκεται το μόριο X0B1198 (συγκρυσταλλωμένος προσδέτης) και τα μόρια ED01199, EDO1200 και SO41201 (παράγοντες συγκρυστάλλωσης), τα οποία επιλέγετε (κίτρινο στρογγυλό κουτάκι).

iii) Αφού επιλέξετε τα 4 μόρια, κάνετε κλικ στο Edit → Delete → Delete Selected Atoms.

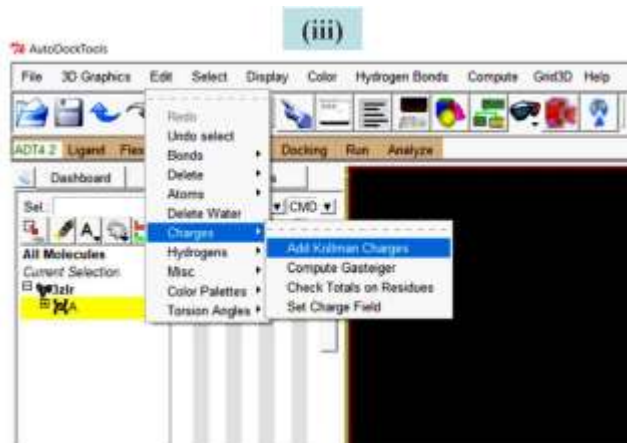
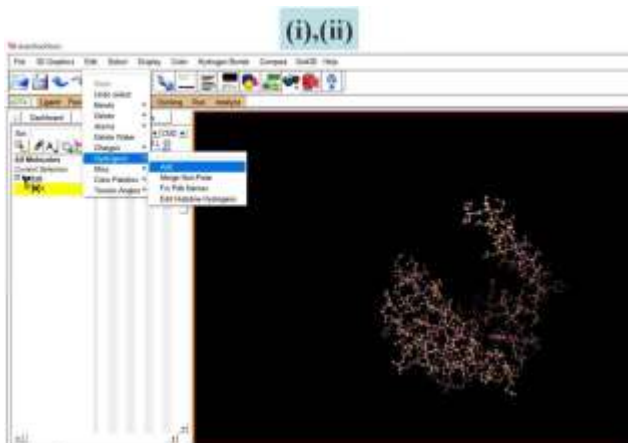


Βήμα 5. Επεξεργασία ατόμων υδρογόνου και φορτίων

i) Επιλέγετε όλη την πρωτεΐνη, πατώντας πάνω στο κίτρινο στρογγυλό κουτάκι, δίπλα από το «3Z1F» και κάνετε κλικ στο Edit → Hydrogens → Add.

ii) Στη συνέχεια, κάνετε κλικ στο Edit → Hydrogens → Merge non polar.

iii) Προσθέτετε φορτία στην πρωτεΐνη κάνοντας κλικ: Edit → Charges → Compute Gasteiger, στο παράθυρο που εμφανίζεται κάνετε κλικ OK.



Βήμα 6. Αποθήκευση της πρωτεΐνης

Κάνετε κλικ στην καρτέλα Grid → Macromolecule → Choose, επιλέγετε την 3z1r και την αποθηκεύετε, Grid → Output → Save GPF.

```

#
# Atom Rii          Rij_hb  rec_index
# Type  epsii      solpar  epsij_hb  map_index
#      vol          hbond  bond_index
#
# $Id: AD4.1_bound
atom_par H 2.00 0.020 0.0000 0.00051 0.0 0.0 0 -1 -1 3 # Non H-bonding Hydrogen
atom_par HD 2.00 0.020 -0.0000 0.00051 0.0 0.0 2 -1 -1 3 # Donor 1 H-bond Hydrogen
# AutoDock atom_par HS 2.00 0.020 0.0000 0.00051 0.0 0.0 1 -1 -1 3 # Donor S Spherical Hydrogen
atom_par C 4.00 0.150 33.5103 -0.00143 0.0 0.0 0 -1 -1 0 # Non H-bonding Aliphatic Carbon
# Copyright (C) 198 atom_par A 4.00 0.150 33.5103 -0.00052 0.0 0.0 0 -1 -1 0 # Non H-bonding Aromatic Carbon
David S. Goodsell atom_par N 3.50 0.160 22.4493 -0.00162 0.0 0.0 0 -1 -1 1 # Non H-bonding Nitrogen
# All Rights Reserve atom_par NA 3.50 0.160 22.4493 -0.00162 1.9 5.0 4 -1 -1 1 # Acceptor 1 H-bond Nitrogen
atom_par NS 3.50 0.160 22.4493 -0.00162 1.9 5.0 3 -1 -1 1 # Acceptor S Spherical Nitrogen
# atom_par OA 3.20 0.200 17.1573 -0.00251 1.9 5.0 5 -1 -1 2 # Acceptor 2 H-bonds Oxygen
# AutoDock is a Tra atom_par OS 3.20 0.200 17.1573 -0.00251 1.9 5.0 3 -1 -1 2 # Acceptor S Spherical Oxygen
atom_par F 3.09 0.080 15.4480 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Fluorine
# This program is fre atom_par Mg 1.30 0.875 1.5600 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Magnesium
# modify it under the atom_par MG 1.30 0.875 1.5600 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Magnesium
# as published by the atom_par P 4.20 0.200 38.7924 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 5 # Non H-bonding Phosphorus
# of the License, or atom_par SA 4.00 0.200 33.5103 -0.00214 2.5 1.0 5 -1 -1 6 # Acceptor 2 H-bonds Sulphur
atom_par S 4.00 0.200 33.5103 -0.00214 0.0 0.0 0 -1 -1 6 # Non H-bonding Sulphur
# This program is di atom_par Cl 4.09 0.276 35.8235 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Chlorine
# but WITHOUT AD atom_par CL 4.09 0.276 35.8235 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Chlorine
# MERCHANTABILITY atom_par Ca 1.98 0.550 2.7700 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Calcium
# GNU General Publi atom_par CA 1.98 0.550 2.7700 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Calcium
atom_par Mn 1.30 0.875 2.1400 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Manganese
# You should have n atom_par MN 1.30 0.875 2.1400 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Manganese
# along with this pro atom_par Fe 1.30 0.010 1.8400 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Iron
# Foundation, Inc., 5 atom_par FE 1.30 0.010 1.8400 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Iron
atom_par Zn 1.48 0.550 1.7000 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Zinc
# AutoDock Linear I atom_par Br 4.33 0.389 42.5661 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Bromine
# Version atom_par BR 4.33 0.389 42.5661 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Bromine
# $REvis atom_par I 4.72 0.550 55.0585 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding Iodine
atom_par Z 4.00 0.150 33.5103 -0.00143 0.0 0.0 0 -1 -1 0 # Non H-bonding covalent map
# FE_unbound mod atom_par O 4.00 0.150 33.5103 -0.00143 0.0 0.0 0 -1 -1 0 # Ring closure Glue Aliphatic Carbon # SF
# ligand should be tr atom_par GA 4.00 0.150 33.5103 -0.00052 0.0 0.0 0 -1 -1 0 # Ring closure Glue Aromatic Carbon # SF
# and can be set to atom_par J 4.00 0.150 33.5103 -0.00143 0.0 0.0 0 -1 -1 0 # Ring closure Glue Aliphatic Carbon # SF
atom_par Q 4.00 0.150 33.5103 -0.00143 0.0 0.0 0 -1 -1 0 # Ring closure Glue Aliphatic Carbon # SF
# unbound same as atom_par Cu 3.50 0.005 12.0000 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 1 # Non H-bonding Copper
# unbound same as atom_par Sn 4.39 0.567 12.0000 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 4 # Non H-bonding
# sur
# extended -- this assumes the internal energy of the ligand is that of an
# extended conformation when unbound.
# compact -- this assumes the internal energy of the ligand is that of a
# compact conformation when unbound.
# FE_unbound_model unbound same as bound
# AutoDock 4 free energy coefficients with respect to original (AD2) energetic
parameters
# geometric mean of the epsii values for the two atom types.
# epsij = sqrt( epsii * epsjj )
#
# - Note that the Rij_hb value is non-zero for heteroatoms only, and zero for H atoms,
# to obtain the length of an H-bond, look up Rij_hb for the heteroatom only,
# this is combined with the Rii value for H in the receptor, in AutoGrid.
# For example, the Rij_hb for OA-HD H-bonds will be (1.9 + 1.0) Angstrom,
# and the weighted epsij_hb will be 5.0 kcal/mol * FE_coeff_hbond

```

Στη συνέχεια, παρατίθεται ολόκληρο το αρχείο παραμέτρων, σε περίπτωση που δεν είναι διαθέσιμο στο διαδίκτυο.

Προετοιμασία της μοριακής πρόσδεσης

Βήμα 1. Εισαγωγή των δομών της πρωτεΐνης και του προσδέτη

i) Docking → Macromolecule → Set Rigid Filename

ii) Docking → Ligand → Choose και κάνετε κλικ «ACCEPT».



Βήμα 2.

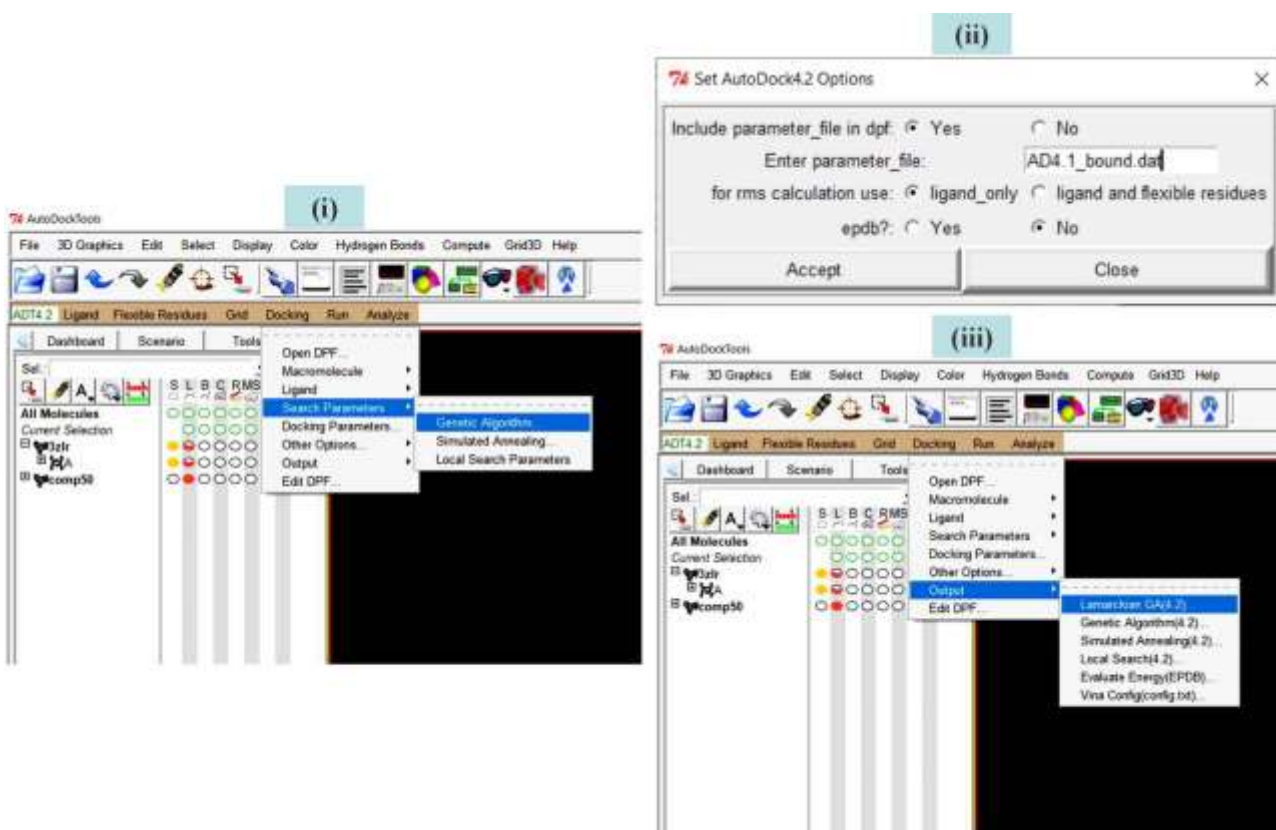
i) Docking → Search Parameters → Generic Algorithm, κάνετε κλικ «accept» στο παράθυρο που εμφανίζεται.

ii) Docking → Docking Parameters → Other Options, στη συνέχεια πληκτρολογείτε το όνομα του αρχείου, όπως έχει αποθηκευτεί στον υπολογιστή.

iii) Docking → Output → Lamarckian GA(4.2)

iv) Run → Run Autodock. Ανοίγει ένα μικρό παράθυρο, όπου υποδεικνύεται ότι «τρέχει» το πρόγραμμα. Μόλις κλείσει το μικρό παράθυρο, ο αλγόριθμος της μοριακής πρόσδεσης έχει τελειώσει.

v) Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων, κάνετε κλικ στο Analyse Dockings → Open, επιλέγετε και

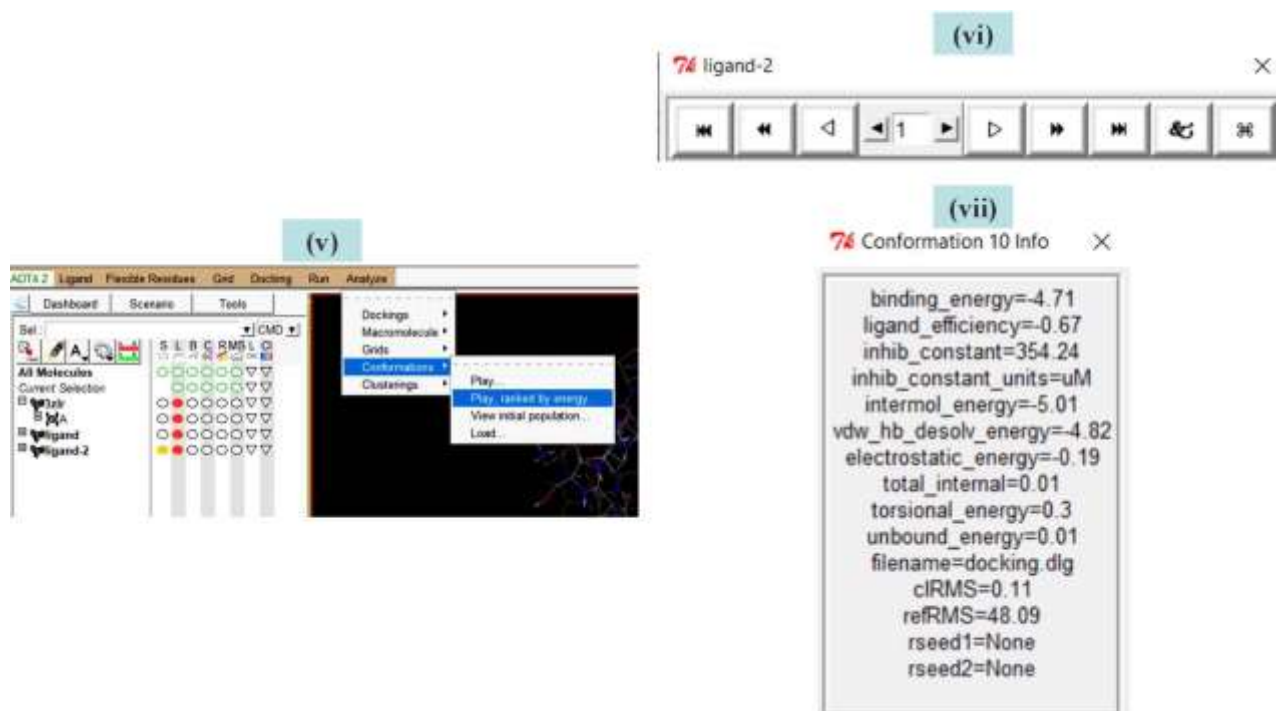


φορτώνετε το αρχείο *.dlg. Στην οθόνη μας εμφανίζεται η διαμόρφωση του προσδέτη.

Analyse → Conformations-Play, ranked by energy και κάνετε κλικ στο play.

vi) Κάνετε κλικ στο εικονίδιο που είναι δεύτερο από τα δεξιά.

vii) Επιλέγετε στο αναδυόμενο παράθυρο «show info», όπου υποδεικνύεται η ελεύθερη ενέργεια πρόσδεσης.



Βιβλιογραφία/Αναφορές

1. Saxena A., Wong D., Diraviyam K., Sept D. (2009). The Basic Concepts of Molecular Modeling. In Abelson J.N., Simon M.I. *Methods in enzymology, computer methods, part B*, 467, 307–334.
2. Shoichet B.K., McGovern S.L., Wei B., Irwin J.J. (2002). Lead discovery using molecular docking. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 6(4), 439–446.
3. Leach A.R. (2001). *Molecular modelling : principles and applications Second Edition*. Dorset Press, Henry Ling Ltd.
4. Onuchic J.N., Luthey-Schulten Z., Wolynes P.G. (1997). Theory of protein folding: The Energy Landscape Perspective. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 48, 545–600.
5. Muegge I., Rarey M. (2001). Small Molecule Docking and Scoring in Lipkowitz K.B., Donald B. Boyd D.B. *Reviews in Computational Chemistry*, 17, 1–60. John Wiley & Sons, Inc.

Κριτήρια αξιολόγησης

7.1 Ερωτήσεις

1. Ποιο άθροισμα αλληλεπιδράσεων χαρακτηρίζει τη ΔG μίας μοριακής πρόσδεσης;
2. Από τι εξαρτάται η δυναμική ενέργεια σε οποιαδήποτε αλληλεπίδραση ηλεκτροστατικής φύσης;
3. Ποια σχέση καθορίζει την αλληλεπίδραση ιόντος–διπόλου;
4. Τι καλείται επαγόμενη πόλωση;
5. Από ποια εξίσωση δίνεται η συνεισφορά της επαγόμενης πόλωσης στη συνολική δυναμική ενέργεια;
6. Τι καλείται μεταφορά φορτίου και πότε λαμβάνει χώρα; Να δώσετε ένα παράδειγμα φαινομένου μεταφοράς φορτίου.
7. Ποιες καλούνται δυνάμεις διασποράς και ποια είναι η σημασία τους στις αλληλεπιδράσεις υποδοχέα–φαρμάκου;
8. Ποια είναι η σημασία των υδρογονικών δεσμών στη μοριακή πρόσδεση;
9. Τι καλούνται υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις;

10. Ποιες διεργασίες ελαττώνουν το αυθόρμητο μίας αντίδρασης;
11. Ποιοι τρόποι υπάρχουν για την ταυτοποίηση των θέσεων πρόσδεσης στους υποδοχείς;
12. Να περιγράψετε τη μέθοδο επιδιалύτωσης.
13. Να περιγράψετε τα βήματα που ακολουθούνται, όταν χρησιμοποιείται η μέθοδος πλέγματος.
14. Πού βασίζεται η μέθοδος του ψευδοϋποδοχέα και πώς κατασκευάζεται;
15. Πού βασίζεται ο αλγόριθμος πρόσδεσης του λογισμικού Flex X; Από ποιες φάσεις αποτελείται;
16. Να εξηγήσετε τη σημασία της μοριακής πρόσδεσης στον ορθολογικό σχεδιασμό.
17. Να περιγράψετε τα βήματα που ακολουθούνται για τη μοντελοποίηση των υποδοχέων.
18. Πότε εφαρμόζεται η μέθοδος της κβαντικά πολωμένης μοριακής πρόσδεσης (QPLD);
19. Τι σημαίνει «μοριακή πρόσδεση» όπου μελετάται ο σχηματισμός ομοιοπολικού δεσμού;
20. Τι σημαίνει βαθμολόγηση στη μοριακή πρόσδεση;
21. Πώς υπολογίζεται το ΔG στο λογισμικό Glide;
22. Ποιες μεθοδολογίες υπάρχουν για την εξεύρεση της κοιλότητας πρόσδεσης;
23. Αναφέρατε παραδείγματα όπου κατά τη μοριακή πρόσδεση όπου (α) μπορεί να υπάρξει μεγάλη μεταβολή στην ενθαλπία (β) μεγάλη μεταβολή στην εντροπία.
24. Πότε μια πρόσδεση θεωρείται αυθόρμητη;
25. Τι γνωρίζετε για τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης με άλλη πρωτεΐνη;
26. Ποιοι τύποι αντιδράσεων μπορούν να υπολογιστούν μέσω ομοιοπολικών προσδέσεων;
27. Σε τι χρησιμεύουν οι βάσεις δεδομένων στη μοριακή πρόσδεση;
28. Ποιες μεθοδολογίες χρησιμοποιούνται για την εξεύρεση του ενεργού κέντρου όταν αυτό δεν είναι γνωστό;
29. Ποιες διαφορετικές προσεγγίσεις υπάρχουν για τη μελέτη πρόσδεσης ΦΜ στο κέντρο δράσης του;
30. Ποιες κατηγορίες αλγορίθμων υπάρχουν που μέσω αυτών εξερευνάται διαμορφωτικά το ΦΜ κατά τη διαδικασία της πρόσδεσης;

7.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Η διηλεκτρική σταθερά είναι μεγαλύτερη σε πολικό μέσο συγκριτικά με το υδρόφοβο.
2. Η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση αυξάνεται, όσο ελαττώνεται η απόσταση μεταξύ των φορτίων που αλληλεπιδρούν.
3. Η υδρόφοβη επίδραση μπορεί να υπολογιστεί με θεωρητικούς υπολογισμούς στατιστικής μηχανικής ή με προσομοιώσεις της ελεύθερης ενέργειας.
4. Ο αλγόριθμος Molecular Silverware χρησιμοποιείται για την επιδιалύτωση ενός μορίου με μόρια διαλύτη και για τον υπολογισμό του καλύτερου τρόπου σύμπλεξης δύο μορίων.
5. Κατά την πρόσδεση ενός μορίου στον υποδοχέα η διαμόρφωση του δεν μπορεί να μεταβληθεί.
6. Κατά την πρόσδεση ενός μορίου στον υποδοχέα η διαμόρφωση του υποδοχέα μεταβάλλεται, σύμφωνα με τον αλγόριθμο επαγόμενης πρόσδεσης.
7. Το λογισμικό FlexX αποτελεί μεθοδολογία προσομοίωσης της πρόσδεσης ΦΜ σε πρωτεϊνικούς υποδοχείς.
8. Μία πρόσδεση θεωρείται αυθόρμητη όταν $\Delta H < 0$.
9. Οι πρωτεϊνικές βάσεις δεδομένων είναι χρήσιμες για την εύρεση των δραστικών κέντρων των υποδοχέων.
10. Οι συζευγμένες G πρωτεΐνες μοντελοποιούνται, καθώς είναι διαμεμβρανικές και είναι δύσκολο να κρυσταλλωθούν με το ΦΜ προσδέτη.
11. Το ποσοστό ομολογίας για τη μοντελοποίηση υποδοχέα δεν είναι καθοριστικό.

7.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση.

1. Το λογισμικό που δεν χρησιμοποιείται στην ανίχνευση του ενεργού κέντρου του υποδοχέα είναι:
α) MOLCAD β) SiteID γ) PARM δ) CAT
2. Ποια από τα κάτωθι αποτελούν μειονεκτήματα στη μέθοδο επιδιалύτωσης:
α) Ανομοιογενής επιδιалύτωση
β) Ομοιογενής επιδιалύτωση
γ) Αδυναμία ανίχνευσης θεϊκού ή άλλων αδιαπέραστων από το διαλύτη χώρων
δ) Εξάρτηση της ανίχνευσης των θηκών από τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης.
3. Οι ορισμοί της «παραμέτρου του βάθους» και του «ατομικού φίλμ» χρησιμοποιούν τη μέθοδο
α) πλέγματος β) ψευδοϋποδοχέων γ) επιδιалύτωσης δ) καμια από τις παραπάνω
4. Η Μέθοδος GERM είναι παράδειγμα αλγορίθμου
α) πλέγματος β) ψευδοϋποδοχέων γ) επιδιалύτωσης δ) καμια από τις παραπάνω
5. Το Promax είναι λογισμικό
α) πρωτεϊνικής βάσης δεδομένων β) νουκλεϊνικής βάσης δεδομένων
γ) και τα δύο δ) κανένα από τα δύο
6. Οι αλγόριθμοι πρόσδεσης μπορεί
α) να επιτρέπουν διαμορφωτική αλλαγή στο ΦΜ
β) να επιτρέπουν διαμορφωτική αλλαγή στον Υ
γ) να επιτρέπουν διαμορφωτική αλλαγή στο Φ και Υ
δ) όλα τα παραπάνω είναι ορθά
7. Στο λογισμικό GRID γίνεται η θεώρηση ότι οι αλληλεπιδράσεις
α) γίνονται σε πλέγμα καθορισμένων διαστάσεων
β) απαιτείται η εισαγωγή του όρου αισθητήρα (probe)
γ) α και β ορθά
δ) α και β λάθος
8. Στο λογισμικό FlexX χρησιμοποιούνται
α) κριτήρια βαθμολόγησης πρόσδεσης του ΦΜ-Υ για τη σύγκριση των παραγόμενων αποτελεσμάτων
β) μοντελοποίηση αλληλεπιδράσεων ΦΜ-Υ
γ) α και β λάθος
δ) α και β ορθά
9. Μία πρόσδεση είναι αυθόρμητη όταν:
α) $\Delta G < 0$ β) ΔH είναι κατά απόλυτη τιμή μικρότερη της $T\Delta S$
γ) α και β ορθά δ) α και β λανθασμένα
10. Αν η ομολογία είναι μεγαλύτερη από 50% και μικρότερη από 70%
α) τα αποτελέσματα είναι συγκρίσιμα με τα κρυσταλλογραφικά
β) είναι συνήθως επιτυχή
γ) δίνει RMSD της τάξεως των 1,5Å
δ) δεν δίνει σημαντικά λάθη σε όλα τα τμήματα του υποδοχέα

11. Το λογισμικό Glide

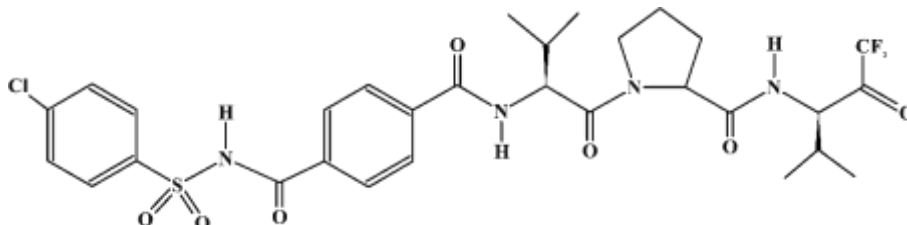
α) έχει παραχθεί από την εταιρεία Schrödinger
γ) α και β είναι ορθά

β) είναι κατάλληλο για μοριακές προσδέσεις
δ) α και β είναι λανθασμένα

12. Η μεθοδολογία QPLD:

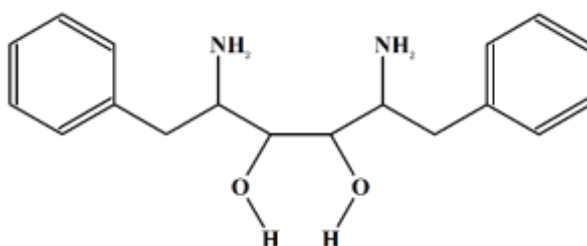
α) εφαρμόζεται για οποιαδήποτε πρόσδεση
γ) όταν χρησιμοποιούνται μεταλλοθεραπευτικά

β) όταν η πρωτεΐνη περιέχει μέταλλο
δ) β και γ είναι ορθά



13. Το λογισμικό Autodock

α) χρησιμοποιείται για βαθμονομήσεις μοριακών προσδέσεων
β) χρησιμοποιείται για δημιουργία πλεγμάτων μοριακής πρόσδεσης
γ) είναι ελεύθερης πρόσβασης
δ) όλα είναι ορθά



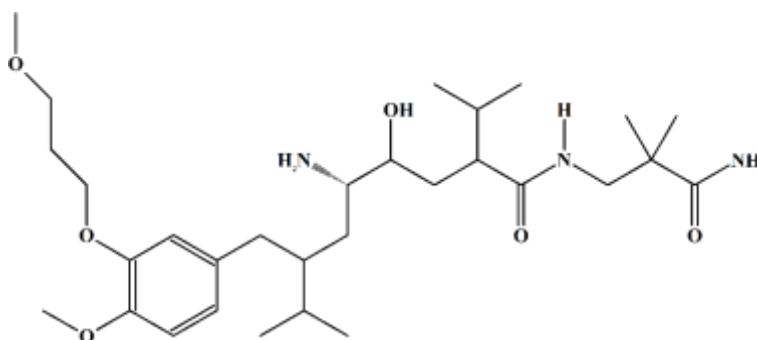
7.4 Ασκήσεις

1. Η ανθρώπινη ελαστάση λευκοκυττάρων είναι μια πρωτεάση σερίνης, η οποία απελευθερώνεται από πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα σε ανταπόκριση φλεγμονώδους διέγερσης. Ανταγωνιστές της ελαστάσης λευκοκυττάρων μπορεί να έχουν θεραπευτική χρησιμότητα σε ασθένειες, όπως είναι το εμφύσημα. Το παρακάτω μόριο (ICI-200880) είναι ανταγωνιστής. Τι αλληλεπιδράσεις αναμένετε να παρουσιάζει με τον υποδοχέα;

2. Πειράματα ακτίνων X έδειξαν ότι στο σύμπλοκο της HIV-1 πρωτεάσης με το παρακάτω μόριο, τα δύο υδροξύλιά του συνάπτουν υδρογονικό δεσμό με δύο καρβοξύλια των Asp25 και Asp25' οξέων.

Μπορείτε να σκεφτείτε μια δομική αλλαγή του υποστρώματος, ώστε να διατηρείται ο αριθμός των υδρογονικών δεσμών και η απόσταση των δύο φαινυλίων να παραμένει σταθερά;

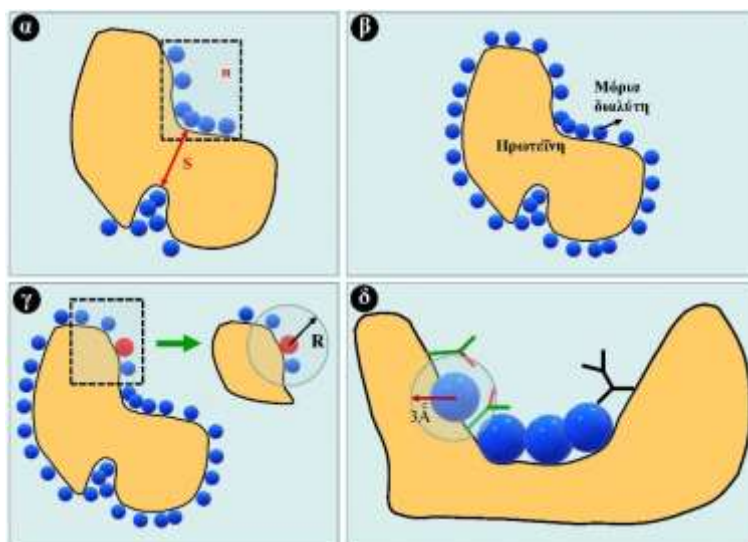
3. Ποιες αλληλεπιδράσεις μπορεί να έχει το παρακάτω μόριο (Aliskiren) με ένα πιθανό υποδοχέα;



4. Να αντιστοιχίσετε τα στοιχεία της 2^{ης} στήλης με αυτά της 4^{ης} στήλης.

(α)	$E = \propto \frac{1}{D} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$	(i)	Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις
(β)	$E = \propto \frac{a_1 a_2}{r^6} \frac{l_1 l_2}{l_1 + l_2}$	(ii)	Επαγόμενου διπόλου από ιόν
(γ)	$E = \propto \frac{Ae^{(b/r)}}{r^D} - \frac{C}{r^6}$	(iii)	Δυνάμεις Lennard-Jones
(δ)	$E = \propto \frac{z\mu}{Dr^2} \cos \phi$	(iv)	Μη πολικές αλληλεπιδράσεις

5. Να αντιστοιχίσετε τα βήματα 1,2,3,4 με τις εικόνες (α,β,γ,δ).



6. Να εκτελέσετε πείραμα μοριακής πρόσδεσης της πρωτεΐνης με PDB ID: 4F5S με το μόριο της ασπιρίνης (ακετυλο-σαλικυλικό οξύ) με το πρόγραμμα Autodock.

Κεφάλαιο 8

Προσομοίωση Μοριακών Συστημάτων



Σύνοψη

Ο όρος προσομοίωση χρησιμοποιείται, για να περιγράψει τη μοντελοποίηση ενός πραγματικού συστήματος. Η προσομοίωση με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή αποτελεί μία σημαντική μεθοδολογία στις σύγχρονες επιστήμες: την τεχνολογία αλλά και την ψυχαγωγία. Βοηθά στη διερεύνηση των μηχανισμών των φυσικών συστημάτων στον τομέα της Βιολογίας, της Φυσικής και της Χημείας, της Ψυχολογίας αλλά και των κοινωνικών επιστημών. Πιο συγκεκριμένα, η προσομοίωση γίνεται μέσω μαθηματικών μοντέλων και επιτρέπει την πρόβλεψη της συμπεριφοράς των υπό μελέτη συστημάτων, λαμβάνοντας υπόψη παραμέτρους της αρχικής τους θέσης και κατάστασης, καθώς και από το περιβάλλον μέσα στο οποίο βρίσκονται.

Προαπαιτούμενη γνώση

Βασικές αρχές Στατιστικής Θερμοδυναμικής.

8.1 Εισαγωγή στην Στατιστική Θερμοδυναμική

Η Στατιστική Μηχανική επιτρέπει τη συσχέτιση των μηχανικών ιδιοτήτων των σωματιδίων ενός συστήματος, όπως είναι η θέση και η ταχύτητά τους, με τις θερμοδυναμικές ιδιότητες του συστήματος όπως η εσωτερική ενέργεια, η εντροπία ή η πίεση. Με αυτόν τον τρόπο, η Στατιστική Μηχανική λειτουργεί ως γέφυρα μεταξύ του μικροκόσμου (των σωματιδίων) και του μακροκόσμου (του χημικού συστήματος) και εξηγεί πώς τα μεγέθη που παρατηρούμε μακροσκοπικά σχετίζονται με την μικροσκοπική συμπεριφορά των σωματιδίων. Επομένως περιγράφει το πώς οποιαδήποτε θερμοδυναμική ιδιότητα εξαρτάται από τις μηχανικές ιδιότητες του συστήματος. Ένα παράδειγμα για το πώς εξαρτάται η θερμοκρασία T από την ορμή των σωματιδίων που απαρτίζουν το σύστημα παρουσιάζεται στην εξίσωση 8.1.

$$K = \sum_{i=1}^N \frac{|p_i|^2}{2m_i} = \frac{3}{2} N k_b T \quad (8.1)$$

Όπου
 K : η κινητική ενέργεια του συστήματος
 N : ο αριθμός των σωματιδίων
 m_i : οι μάζες των σωματιδίων
 p_i : οι ορμές των σωματιδίων
 k_b : η θερμοδυναμική σταθερά Boltzmann
 T : θερμοκρασία
 K : σταθερά ισορροπίας

Η χρήση της Στατιστικής Θερμοδυναμικής επιτρέπει τη μελέτη ενός συστήματος πολλών βαθμών ελευθερίας χρησιμοποιώντας στατιστικές μεθόδους. Συγκεκριμένα, ένα σύστημα N σωματιδίων μπορεί να περιγραφεί ολοκληρωμένα προσδιορίζοντας τις θέσεις και τις ορμές όλων των N σωματιδίων, καταλήγοντας σε ένα πρόβλημα $6N$ συντεταγμένων, όπου οι $3N$ συντεταγμένες απαρτίζουν τις θέσεις των σωματιδίων στον τριδιάστατο χώρο και οι υπόλοιπες $3N$ τις ορμές. Ο χώρος $6N$ διαστάσεων που προκύπτει ονομάζεται «χώρος των φάσεων» του συστήματος. Μία θερμοδυναμική ιδιότητα A εξαρτάται από αυτές τις $6N$ συντεταγμένες και η τιμή της διακυμαίνεται γύρω από μία μέση τιμή. Οι περισσότερες πειραματικές τεχνικές μπορούν να μετρήσουν μία μέση τιμή της ιδιότητας A ως προς τον χρόνο. Για παράδειγμα, σύμφωνα με την κινητική θεωρία των αερίων, η κινητική ενέργεια του συστήματος K περιγράφεται με την εξίσωση 8.1.

Αυτό που μπορεί να μετρηθεί πειραματικά (με τη χρήση ενός θερμομέτρου) είναι η μέση θερμοκρασία που προκύπτει από τις μέσες ορμές των σωματιδίων ως προς το χρόνο, αφού τα σωματίδια ενός συστήματος κινούνται συνεχώς και οι ταχύτητες και οι θέσεις τους αλλάζουν. Όταν όμως το σύστημα φτάσει σε θερμοδυναμική ισορροπία, δηλαδή μία κατάσταση κατά την οποία δεν παρατηρείται καμία αλλαγή μακροσκοπικά, οι ταχύτητες των σωματιδίων ακολουθούν μία

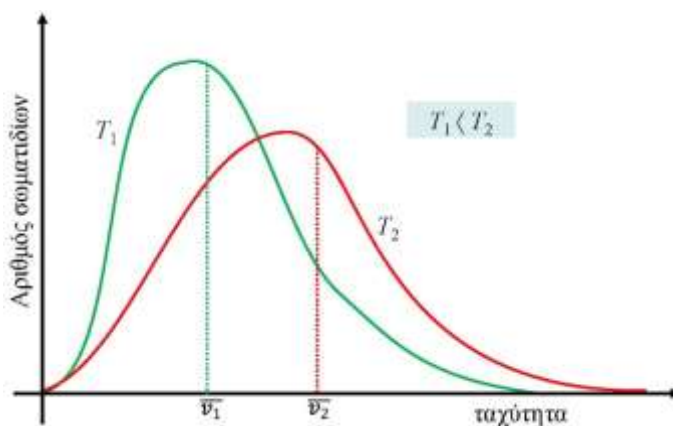
πιθανοτική κατανομή, γνωστή ως κατανομή Maxwell–Boltzmann.

Ένθετο 8.1



Ο Ludwig Boltzmann (1844-1906) ήταν Αυστριακός θεωρητικός φυσικός και φιλόσοφος. Θεωρείται ένας από τους θεμελιωτές της Στατιστικής Θερμοδυναμικής, καθώς ήταν αυτός που συνέδεσε τον αριθμό των πιθανών μικροκαταστάσεων (W) ενός συστήματος, δηλαδή των διαμορφώσεων των μικροσκοπικών σωματιδίων που απαρτίζουν το σύστημα και οι οποίες οδηγούν στην ίδια μακροσκοπικά παρατηρούμενη κατάσταση, με την εντροπία του συστήματος (S). Η σχέση αυτή είναι τόσο σημαντική που έχει χαραχθεί πάνω στον τάφο του. Συνόδεσε τη θεωρία πιθανοτήτων με τους νόμους της θερμοδυναμικής, και συγκεκριμένα με τον 2^ο θερμοδυναμικό νόμο, αποδεικνύοντας ότι η πιθανότερη κατάσταση ενός θερμοδυναμικού συστήματος είναι η κατάσταση ισορροπίας. Υπήρξε οπαδός της ατομικής θεωρίας σε μία περίοδο που οι περισσότεροι φυσικοί δεν πίστευαν πως υπάρχουν άτομα και μόρια! Δυστυχώς έπασχε από μανιοκατάθλιψη και σε μία κρίση της ασθένειάς τον Σεπτέμβριο του 1906 απαγχονίστηκε στην μικρή πόλη Duino κοντά στην Τεργέστη όπου παραθέριζε. Η σορός του μεταφέρθηκε στη Βιέννη όπου βρίσκεται θαμμένος μέχρι σήμερα.

Τα άτομα ή μόρια που απαρτίζουν ένα αέριο έχουν διάφορες ταχύτητες (κατά μέτρο και κατεύθυνση), όμως λόγω του μεγάλου αριθμού των μορίων και των τυχαίων μεταξύ τους συγκρούσεων, η κατανομή των ταχυτήτων τους καθώς και η μέση τους ταχύτητα παραμένουν σταθερές. Επομένως, οι ταχύτητες των σωματιδίων συγκλίνουν γύρω από μία μέση τιμή παρά τις διακυμάνσεις που παρουσιάζουν, σύμφωνη με την κατανομή ταχυτήτων κατά Maxwell–Boltzmann. Η μέση τιμή της ταχύτητας καθορίζει και τη μέση θερμοκρασία του συστήματος. Το Σχήμα 8.1 δείχνει ότι όταν η θερμοκρασία αυξάνεται, η κατανομή τείνει να λαμβάνει μια πιο επίπεδη μορφή, οδηγώντας σε υψηλότερες μέσες ταχύτητες.



Σχήμα 8.1 Η κατανομή μοριακών ταχυτήτων κατά Maxwell–Boltzmann για θερμοκρασίες $T_1 < T_2$. Όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία, τόσο αυξάνεται η μέση μοριακή ταχύτητα \bar{v} .

Γενικά η μέση τιμή ως προς το χρόνο για οποιαδήποτε ιδιότητα A σε κατάσταση ισορροπίας περιγράφεται ως:

$$\bar{A} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \int_{t=0}^{t=\tau} A[p^N(t), r^N(t)] dt \quad (8.2) \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{Όπου} \\ p^N: \text{ οι } N \text{ ορμές ως προς τον χρόνο } t \\ r^N: \text{ οι } N \text{ θέσεις ως προς τον χρόνο } t \end{array} \right.$$

Όσο ο χρόνος της μέτρησης αυξάνει και τείνει προς το άπειρο, η τιμή του ολοκληρώματος της

εξίσωσης 8.2 προσεγγίζει την πραγματική μέση τιμή της ιδιότητας A . Παρ' όλα αυτά, εφόσον η μέτρηση μιας ιδιότητας για επ' άπειρον δεν είναι δυνατή, η Στατιστική Θερμοδυναμική επιτρέπει την μετατροπή της μέσης τιμής ως προς το χρόνο σε μέση τιμή ως προς το στατιστικό σύνολο, όπου ένα πλήθος αντιγράφων του συστήματος εξετάζεται ταυτόχρονα. Ο όρος **στατιστικό σύνολο** περιγράφει μία συλλογή από όλες τις πιθανές διαμορφώσεις (μικροκαταστάσεις) ενός συγκεκριμένου συστήματος, οι οποίες οδηγούν στην ίδια μακροσκοπικά παρατηρούμενη κατάσταση (μακροκατάσταση). Η μέση τιμή ως προς το στατιστικό σύνολο μιας θερμοδυναμικής ιδιότητας A , υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση 8.3.

$$\langle A \rangle = \iint d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N A(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N) \rho(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N) \quad (8.3)$$

Όπου
 $\langle A \rangle$: η αναμενόμενη τιμή της ιδιότητας A ,
 ως μέση τιμή όλων των αντιγράφων
 του στατιστικού συνόλου
 $\rho(\mathbf{p}^N, \mathbf{r}^N)$: πυκνότητα πιθανότητας, δηλαδή
 η πιθανότητα να βρεθεί μια διαμόρφωση
 με ορμές \mathbf{p}^N και θέσεις \mathbf{r}^N

Σύμφωνα με τη Στατιστική Θερμοδυναμική, η πιθανότητα εύρεσης σε ένα δεδομένο σημείου του χώρου των φάσεων ενός συστήματος σχετίζεται με την ενέργεια του σημείου αυτού, όπως περιγράφεται στις εξισώσεις 8.4 και 8.5.

$$\rho(\mathbf{p}, \mathbf{r}) = Q^{-1} e^{-\frac{E(\mathbf{p}, \mathbf{r})}{k_b T}} \quad (8.4)$$

$$Q = \iint e^{-\frac{E(\mathbf{p}, \mathbf{r})}{k_b T}} d\mathbf{p}^N d\mathbf{r}^N \quad (8.5)$$

Όπου
 E : η συνολική ενέργεια του συστήματος
 Q : συνάρτηση κατανομής του συστήματος
 για το συγκεκριμένο στατιστικό σύνολο,
 δηλαδή ο αριθμός των μικροκαταστάσεων
 που είναι προσβάσιμες από το σύστημα
 για δεδομένη θερμοκρασία T

Παρόλο που το εξεταζόμενο σύστημα εξελίσσεται με το χρόνο, το στατιστικό σύνολο δεν θα μεταβληθεί αν περιέχει όλες τις παρελθοντικές και μελλοντικές φάσεις του συστήματος, με άλλα λόγια αν κάθε πιθανή διαμόρφωση που θα μπορούσε να πάρει ένα σύστημα στο χρόνο περιέχεται ως παροντική διαμόρφωση ενός από την πληθώρα αντιγράφων του συστήματος που περιέχονται στο στατιστικό σύνολο. Ένα τέτοιο στατιστικό σύνολο ονομάζεται **στατικό** και αναπαριστά την κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας που περιγράφηκε προηγουμένως. Σε ένα σύστημα σε ισορροπία, οι μακροσκοπικές ιδιότητες εμφανίζονται σταθερές παρόλο που οι μικροκαταστάσεις από τις οποίες προκύπτουν μεταβάλλονται συνεχώς.

Τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά κάθε στατιστικού συνόλου καθορίζονται από τους μακροσκοπικούς περιορισμούς που εφαρμόζονται στο κάθε σύνολο, όπως για παράδειγμα ο σταθερός όγκος, η σταθερή θερμοκρασία, η σταθερή πίεση ή ο σταθερός αριθμός σωματιδίων. Τα πιο συνήθη στατιστικά σύνολα που ορίστηκαν από τον Gibbs είναι

- ◆ το μικροκανονικό (NVE),
- ◆ το κανονικό (NVT) και
- ◆ το μεγαλοκανονικό (μVT).

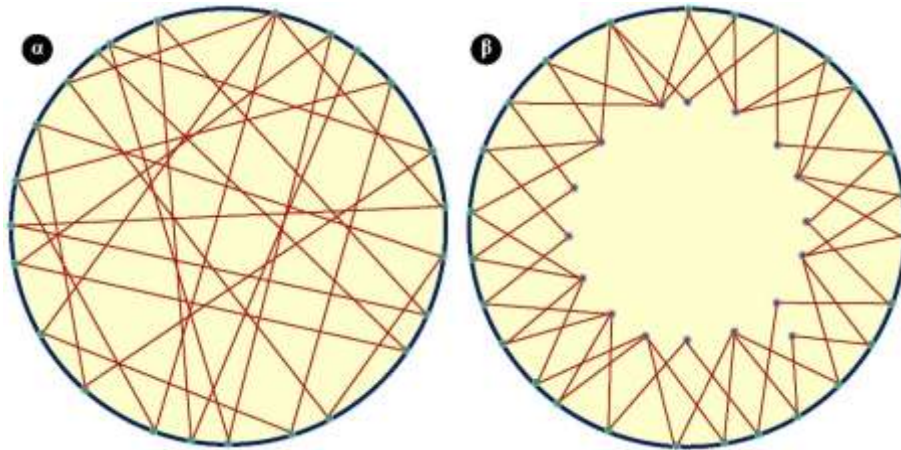
Στο **μικροκανονικό** σύνολο η συνολική ενέργεια E , ο όγκος V και η θερμοκρασία T ορίζονται σε μία σταθερή τιμή και διατηρούνται σταθερά. Οι μικροκαταστάσεις που οδηγούν σε αυτές τις προκαθορισμένες, σταθερές τιμές ενέργειας, όγκου και αριθμού σωματιδίων θεωρούνται μέλη του στατιστικού συνόλου.

Αντίστοιχα, στο **κανονικό** σύνολο οι μικροκαταστάσεις που το απαρτίζουν οδηγούν σε σταθερή θερμοκρασία, όγκο και αριθμό σωματιδίων.

Στο **μεγαλοκανονικό** σύνολο ο αριθμός σωματιδίων μπορεί να μεταβάλλεται αλλά το χημικό δυναμικό μ , δηλαδή η ενέργεια που σχετίζεται με την μεταβολή του αριθμού των σωματιδίων,

διατηρείται σταθερό. Ένα άλλο παράδειγμα ενός στατιστικού συνόλου που χρησιμοποιείται ευρέως στις προσομιώσεις βιομοριακών συστημάτων είναι το ισόθερμο–ισοβαρές (NPT), όπου ο όγκος μπορεί να μεταβάλλεται αλλά η πίεση, η θερμοκρασία και ο αριθμός των σωματιδίων διατηρούνται σταθερά.

Η μετάβαση στη μέση τιμή ως προς το στατιστικό σύνολο αντί της μέσης τιμής ως προς το χρόνο είναι δυνατή μόνο αν ισχύει η **Εργοδική Υπόθεση** για το μελετώμενο σύστημα. Σύμφωνα με την Εργοδική Υπόθεση, όλες οι καταστάσεις ενός συστήματος οι οποίες αντιστοιχούν στην ίδια ενέργεια είναι ισοπίθανες, ή με άλλα λόγια, ο χρόνος τον οποία περνά το σύστημα σε μία περιοχή του χώρου των φάσεων είναι ίδιος για καταστάσεις με την ίδια ενέργεια. Μία σχηματική αναπαράσταση της Εργοδικής Υπόθεσης παρουσιάζεται στο Σχήμα 8.2.



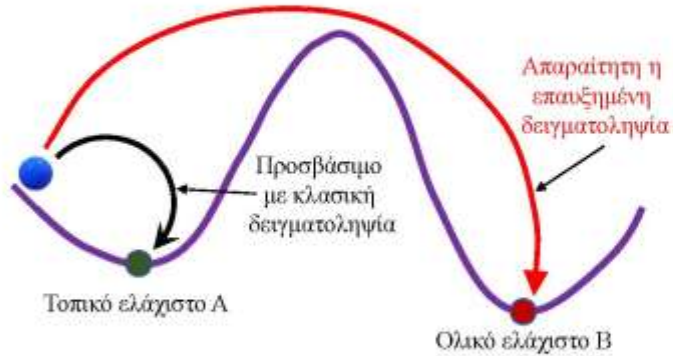
Σχήμα 8.2 Σχηματική αναπαράσταση ενός εργοδικού (α) και ενός μη εργοδικού συστήματος (β). Στην περίπτωση του εργοδικού συστήματος όλες οι περιοχές του χώρου των φάσεων ίδιας ενέργειας είναι προσιτές, ενώ στην περίπτωση του μη εργοδικού συστήματος υπάρχουν περιοχές στις οποίες η δειγματοληψία δεν είναι επαρκής.

Σύμφωνα με την υπόθεση της εργοδικότητας, καταστάσεις για τις οποίες απαιτείται η υπερπήδηση ενός ενεργειακού φράγματος θεωρούνται σπάνιες, δηλαδή η πιθανότητα το να βρεθεί το υπό μελέτη σύστημα σε αυτές είναι μικρή. Για να παρατηρήσουμε τέτοιου είδους καταστάσεις χρειάζεται να εφαρμόσουμε ειδικές τεχνικές δειγματοληψίας, όπως η δειγματοληψία προσαρμογής (adaptive sampling) ή οι τεχνικές μεταδυναμικής. Περισσότερα για αυτές τις τεχνικές μπορείτε να δείτε στο Ένθετο 8.2.

Ένθετο 8.2

Τεχνικές επαυξημένης (enhanced) δειγματοληψίας

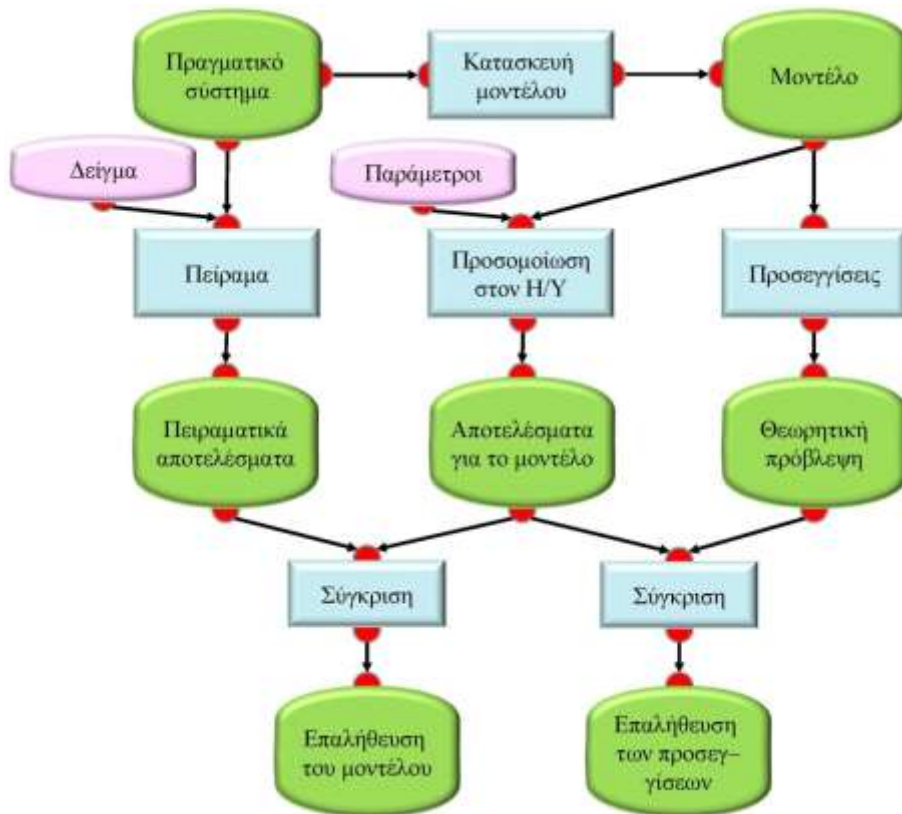
Οι κλασικές μέθοδοι δειγματοληψίας περιορίζονται σε περιοχές του χώρου των φάσεων οι οποίες χαρακτηρίζονται από χαμηλή ενέργεια, αφού σύμφωνα με την *αρχή της εργοδικότητας*, ο χρόνος που ένα σύστημα περνά σε μία περιοχή του χώρου των φάσεων είναι αντιστρόφως ανάλογος της ενέργειάς του. Με άλλα λόγια, αν η αρχική διαμόρφωση του συστήματος που μελετάται είναι κοντά σε ένα τοπικό ελάχιστο στην επιφάνεια δυναμικής ενέργειας, είναι πολύ σπάνιο το σύστημα να υπερπηδήσει κάποιο ενεργειακό φράγμα για να «επισκεφτεί» ένα ολικό ελάχιστο, όπως φαίνεται στο σχήμα.



Μία ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος επαυξημένης δειγματοληψίας είναι η *δειγματοληψία προσαρμογής*. Με αυτή τη μέθοδο, αντί της κλασικής μοριακής προσομοίωσης η οποία περνά πολύ υπολογιστικό χρόνο εγκλωβισμένη σε ένα τοπικό ελάχιστο, πραγματοποιούνται διαδοχικοί γύροι παράλληλων προσομοιώσεων που ονομάζονται *εποχές*. Η κάθε νέα εποχή ξεκινά από τις πιο σπάνιες διαμορφώσεις που προκύπτουν από την προηγούμενη εποχή και με αυτό τον τρόπο αυξάνεται η δειγματοληψία σε περιοχές του χώρου των φάσεων που θα ήταν δυσπρόσιτες με την κλασική δειγματοληψία. Εφαρμόζοντας αυτή τη μέθοδο μπορούν να παρατηρηθούν υπερβάσεις ενεργειακών φραγμάτων σε πολύ μικρότερο χρόνο από ότι με την κλασική δειγματοληψία.

8.2 Προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής

Ο όρος προσομοίωση χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη μοντελοποίηση ενός πραγματικού συστήματος. Η προσομοίωση με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή αποτελεί μία σημαντική μεθοδολογία στις σύγχρονες επιστήμες, την τεχνολογία, αλλά και την ψυχαγωγία. Βοηθά στην διερεύνηση των μηχανισμών των φυσικών συστημάτων στον τομέα της Βιολογίας, της Φυσικής και της Χημείας, της Ψυχολογίας αλλά και των κοινωνικών επιστημών. Πιο συγκεκριμένα, η προσομοίωση γίνεται μέσω μαθηματικών μοντέλων και επιτρέπει την πρόβλεψη της συμπεριφοράς των υπό μελέτη συστημάτων λαμβάνοντας υπόψη παραμέτρους της αρχικής τους θέσης και κατάστασης καθώς και από το περιβάλλον μέσα στο οποίο βρίσκονται. Στο Σχήμα 8.3 παρουσιάζεται η διαδικασία της προσομοίωσης σε σχέση με τη θεωρία και το πείραμα.



Σχήμα 8.3 Η μελέτη ενός φυσικού συστήματος γίνεται με τους εξής τρόπους: α) πειραματική μελέτη, β) προσομοίωση μοντέλου τους συστήματος, γ) θεωρητική πρόβλεψη μέσω προσεγγιστικών διαδικασιών. Σύγκριση των αποτελεσμάτων του πειράματος και της προσομοίωσης καθορίζει την ορθότητα του χρησιμοποιούμενου μοντέλου. Αντίστοιχα, σύγκριση των αποτελεσμάτων της προσομοίωσης και της θεωρητικής πρόβλεψης παρέχει πληροφορίες για την

Η μέθοδος της Μοριακής Δυναμικής είναι μια μέθοδος μοριακών προσομοιώσεων, η οποία περιγράφει τη δυναμική του συστήματος (δηλαδή τη χρονική του εξέλιξη), υπολογίζοντας μέσες τιμές των ιδιοτήτων ισορροπίας. Εκκινώντας από μία ελαχιστοποιημένη ενεργειακά διαμόρφωση του υπό μελέτη συστήματος, όπως περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 4 και ορίζοντας αρχικές ταχύτητες σύμφωνα με την κατανομή Maxwell-Boltzmann, επιλύονται οι εξισώσεις κίνησης του Νεύτωνα και με αυτόν τον τρόπο προβλέπονται οι νέες θέσεις των σωματιδίων του συστήματος έπειτα από χρόνο t . Η Μοριακή Δυναμική είναι μία μέθοδος αιτιοκρατική (ή αλλιώς ντετερμινιστική – Ένθετο 8.3), δηλαδή κάθε μελλοντική κατάσταση του συστήματος μπορεί να προβλεφθεί από την τρέχουσα κατάστασή του.

Σύμφωνα με τους νόμους κίνησης του Νεύτωνα, ένα σώμα συνεχίζει να κινείται ευθεία σε συγκεκριμένη και σταθερή ταχύτητα (ευθύγραμμη ομαλή κίνηση) έως ότου του ασκηθεί μία δύναμη. Μπορεί να υπολογιστεί η τροχιά του σωματιδίου i , μάζας m_i , πάνω στο οποίο ασκείται μία δύναμη F , επιλύοντας την διαφορική εξίσωση (εξίσωση 8.6) που προκύπτει από τον δεύτερο νόμο του

$$F = m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} \quad (8.6) \quad \left| \begin{array}{l} \text{Όπου} \\ m_i: \text{η μάζα του σωματιδίου } i \\ F: \text{η δύναμη που ασκείται στο σωματίδιο } i \end{array} \right.$$

Νεύτωνα.

Οι εξισώσεις λύνονται για όλα τα σωματίδια που απαρτίζουν το σύστημα ταυτόχρονα, θεωρώντας μικρά χρονικά διαστήματα dt . Η επιλογή του χρονικού διαστήματος πρέπει να είναι τέτοια ώστε να

μπορεί να μετρηθεί και η πιο γρήγορη διαδικασία του συστήματος που μας ενδιαφέρει, όπως είναι συνήθως η δόνηση του δεσμού που περιλαμβάνει υδρογόνο. Γι' αυτό το λόγο επιλέγονται μικρά χρονικά «βήματα» επίλυσης των εξισώσεων, της τάξης των $1-2fs$. Έπειτα από κάποιες αρχικές μεταβολές, το σύστημα θα φτάσει σε μια κατάσταση ισορροπίας (ένα τοπικό ελάχιστο στην επιφάνεια δυναμικής ενέργειας) όπου δεν θα λαμβάνει χώρα καμία αλλαγή.

Ένθετο 8.3

Ντετερμινισμός Vs Πιθανοκρατία: Η μεγάλη Φιλοσοφική Μάχη του 20ου αιώνα

Η αιτιοκρατία ή ντετερμινισμός είναι μια φιλοσοφική τάση η οποία αντιλαμβάνεται το σύμπαν ως ένα απόλυτα καθορισμένο σύστημα στο οποίο όλα τα φαινόμενα είναι νομοτελεστικά καθορισμένα και συνδέονται με αιτιώδεις σχέσεις. Με ποιο απλά λόγια, τα πάντα συνδέονται με μια αιτιώδη αλυσιδωτή σχέση και δεν υπάρχει καμία τυχαιότητα, εκκινώντας από την ίδια κατάσταση και κάνοντας τις ίδιες επιλογές καταλήγουμε στο ίδιο αποτέλεσμα πάντα. Η προφανής ορθότητα αυτών των ισχυρισμών στα πλαίσια της Νευτώνειας Μηχανικής έδωσε πολλούς φανατικούς υποστηρικτές αυτής της θεωρίας, από τους αρχαίους Λεόκτιο και Δημόκριτο έως τον Galileo, τον Descartes, τον Laplace, τον Spinoza και άλλους. Για τον Laplace ήταν ακόμη δυνατό να εφαρμοστούν οι νόμοι της αιτιοκρατίας και στην ανθρώπινη συμπεριφορά καθώς επίσης και όχι μόνο να γνωρίσουμε την παρούσα φάση του σύμπαντος, αλλά, βάσει των κατάλληλων μετρήσεων, είμαστε σε θέση να προβλέψουμε και τη μελλοντική του κατάσταση.

Οι ραγδαίες εξελίξεις που σημάδεψαν τη σύγχρονη φυσική στις απαρχές του 20ου αιώνα προκάλεσε τριγμούς στην αιτιοκρατία. Συγκεκριμένα, μία από τις πρώτες ενδείξεις που οδήγησε σε αμφιβολίες σχετικά με αυτή τη θεωρία παρουσιάστηκε κατά τη μελέτη της ακτινοβολίας των θερμών σωμάτων, όπως τα άστρα. Με βάση τις αντιλήψεις που επικρατούσαν, ένα θερμό αντικείμενο έπρεπε να ακτινοβολεί στο περιβάλλον του την ίδια ποσότητα ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας σε όλες τις περιοχές συχνοτήτων. Επειδή όμως οι περιοχές συχνοτήτων είναι άπειρες, έπρεπε να είναι άπειρη και η συνολική ποσότητα ακτινοβολούμενης ενέργειας. Για να αποφύγει αυτό το προφανώς μη αποδεκτό συμπέρασμα, ο Γερμανός φυσικός Max Planck υπέθεσε το 1900 ότι η ηλεκτρομαγνητική ενέργεια εκπέμπεται κατά ασυνεχή ποσά, που ονομάστηκαν κβάντα, δίνοντας την εκκίνηση για την κβαντική θεωρία και την πιθανοκρατική της αντίληψη.

Σύμφωνα με την πιθανοκρατία, τα φυσικά φαινόμενα που διέπουν το σύμπαν δεν υπακούουν σε έναν «σκληρό» ντετερμινισμό, αλλά αντίθετως υπάρχει ένας μεγάλος βαθμός τυχαιότητας που καθορίζει την τροπή τους. Το «πλήγμα» στην αιτιοκρατία ενισχύθηκε και από την αρχή της απροσδιοριστίας του Heisenberg, σύμφωνα με την οποία είναι αδύνατον να προσδιοριστεί η θέση και η ταχύτητα ενός σωματιδίου σε μια δεδομένη στιγμή χωρίς να αλλάξουν την επόμενη. Αυτό συμβαίνει διότι η ίδια η διαδικασία της παρατήρησης, μέσω της οποίας π.χ. μετρούμε μία ιδιότητα ενός φωτονίου, αλλάζει κάποια άλλη του ιδιότητα. Έτσι ο ίδιος ο παρατηρητής παρεμβαίνει στη φύση του παρατηρούμενου αντικειμένου.

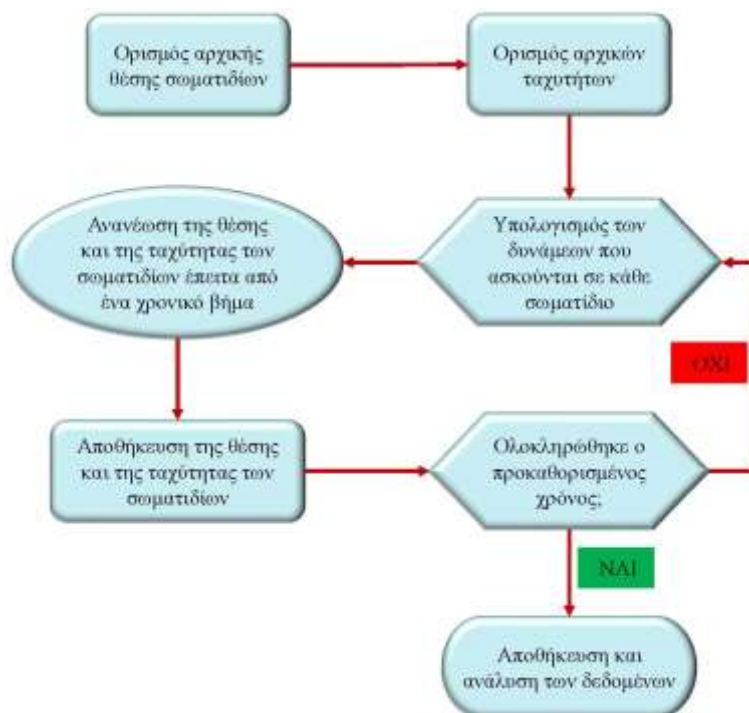
Η ερμηνεία αυτή οδήγησε σε μια μεγάλη διαμάχη ανάμεσα σε δύο σχολές της «κβαντομηχανικής». Από τη μία η επικρατούσα σχολή της Κοπεγχάγης (Sommerfeld, Born, Bohr, Pauli, Heisenberg, Dirac, Jordan) σύμφωνα με την οποία δεν υπάρχει μία αντικειμενική πραγματικότητα, ένα σύμπαν αντικειμενικό, έξω από τις αισθητηριακές μας αντιλήψεις. Από την άλλη, η ρεαλιστική σχολή (Planck, Ehrenfest, Einstein, Schrödinger, de Broglie) σύμφωνα με την οποία υπάρχει μια αντικειμενική πραγματικότητα, ανεξάρτητα από την παρατήρηση και τα φαινόμενα που τη διέπουν συνδέονται αιτιοκρατικά. Η διαμάχη αυτή οδήγησε και στη γνωστή στιχομυθία ανάμεσα στον Αϊνστάιν και τον Bohr:

«Ο Θεός δεν παίζει ζάρια», αναφώνησε ο Αϊνστάιν αναφερόμενος στην ερμηνεία του Bohr. «Μην λες στο Θεό τι να κάνει και τι να μην κάνει!», λέγεται πως ήταν η απάντηση του Bohr στον Αϊνστάιν.

Με αυτό τον τρόπο, η Μοριακή Δυναμική προσομοίωση παράγει πληροφορία σε μικροσκοπικό επίπεδο, βασισμένη στις ατομικές θέσεις και ταχύτητες και συνδέει αυτή την πληροφορία με τις μακροσκοπικές ιδιότητες του συστήματος (πίεση, θερμοκρασία κ.α.) μέσω της Στατιστικής Θερμοδυναμικής. Αξίζει να σημειωθεί πως η Μοριακή Δυναμική είναι μία προσεγγιστική μέθοδος, η οποία «θυσιάζει» την ακρίβεια των κβαντομηχανικών μεθόδων προς όφελος της υπολογιστικής αποδοτικότητας. Με αυτόν τον τρόπο, επιτρέπει να μελετηθούν πολύ μεγαλύτερα συστήματα από ότι η κβαντική μηχανική. Για παράδειγμα, τα βιολογικά συστήματα, τα οποία απαρτίζονται από χιλιάδες άτομα, μπορούν να περιγραφούν με επαρκή ακρίβεια χρησιμοποιώντας τα εμπειρικά πεδία δυνάμεων που περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο 4, λόγω της εγκυρότητας των προσεγγίσεων που χρησιμοποιήθηκαν στο πλαίσιο αυτό.

Συνοψίζοντας, σε μια προσομοίωση Μοριακής Δυναμικής, μία ενεργειακά ελαχιστοποιημένη διαμόρφωση χρησιμοποιείται ως αρχική διαμόρφωση της προσομοίωσης, καθορίζοντας τις αρχικές θέσεις των σωματιδίων του συστήματος. Έπειτα, δίνονται τυχαίες αρχικές ταχύτητες στα σωματίδια του συστήματος βάση της κατανομής μοριακών ταχυτήτων κατά Maxwell-Boltzmann και υπολογίζονται οι δυνάμεις που ασκούνται πάνω στα σωματίδια, με βάση το εφαρμοζόμενο πεδίο δυνάμεων. Το επόμενο βήμα είναι η επίλυση των εξισώσεων κίνησης που προκύπτουν από το δεύτερο νόμο του Νεύτωνα ώστε να προβλεφθούν οι θέσεις των σωματιδίων στο επόμενο χρονικό βήμα dt . Η διαδικασία συνεχίζεται για ένα χρονικό διάστημα το οποίο καθορίζεται από τον χρήστη του προγράμματος Μοριακής Δυναμικής και οι τροχιές που προκύπτουν αποθηκεύονται για

περαιτέρω αναλύσεις. Συνήθως, μία προσομοίωση Μοριακής Δυναμικής ξεκινά με κάποια ns στα οποία το σύστημα αφήνεται να φτάσει σε ισορροπία πριν ξεκινήσει ο γύρος στον οποίο συλλέγονται τα δεδομένα, δηλαδή ο γύρος «παραγωγής», ο οποίος διαρκεί κάποια ns ή μs. Τα παραπάνω φυσικά εξαρτώνται από το υπό μελέτη σύστημα κι έτσι οι χρόνοι ισορροπίας και παραγωγής μπορούν να διαφέρουν, περιορίζονται όμως πάντα από τις υπολογιστικές δυνατότητες που έχει στη διάθεσή του ο επιστήμονας που διεξάγει τις προσομοιώσεις. Ο αλγόριθμος της Μοριακής Δυναμικής παρουσιάζεται σχηματικά στο Σχήμα 8.4.



Σχήμα 8.4 Ο αλγόριθμος της Μοριακής Δυναμικής. Αρχικά καθορίζονται οι θέσεις των σωματιδίων από μία αρχική διαμόρφωση και καθορίζονται οι ταχύτητες βάση της κατανομής Maxwell-Boltzmann. Έπειτα υπολογίζονται οι δυνάμεις που ασκούνται σε κάθε σωματίδιο και επιλύονται οι εξισώσεις κίνησης του Νεύτωνα ώστε να προβλεφθούν οι νέες θέσεις των σωματιδίων. Η διαδικασία συνεχίζεται για ένα καθορισμένο χρόνο και οι πληροφορίες αποθηκεύεται ως τροχιά των σωματιδίων που απαρτίζουν το σύστημα. Τα δεδομένα της τροχιάς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για περαιτέρω αναλύσεις.

8.2.1 Επίλυση των εξισώσεων κίνησης

Υπό την επίδραση ενός συνεχούς δυναμικού, η δύναμη που ασκείται σε κάθε σωματίδιο του συστήματος μεταβάλλεται κάθε φορά που μεταβάλλεται η θέση του σωματιδίου ή οποιουδήποτε σωματιδίου με το οποίο αλληλεπιδρά το εν λόγω σωματίδιο. Οι κινήσεις όλων των σωματιδίων είναι συζευγμένες μεταξύ τους, δηλαδή δεν μπορούν να θεωρηθούν ανεξάρτητες η μία από την άλλη. Λόγω αυτής της σύζευξης προκύπτει ένα πρόβλημα πολλαπλών σωμάτων το οποίο δεν μπορεί να λυθεί αναλυτικά. Γι' αυτό το λόγο χρειάζεται να χρησιμοποιηθούν αριθμητικοί ολοκληρωτές (numerical integrators). Η ολοκλήρωση των διαφορικών εξισώσεων κίνησης γίνεται σε μικρά χρονικά διαστήματα ενός σταθερού χρονικού βήματος dt . Η συνολική δύναμη που ασκείται σε κάθε σωματίδιο προσομοιώνεται ως το διανυσματικό άθροισμα όλων των αλληλεπιδράσεων με τα υπόλοιπα σωματίδια και από τις δυνάμεις που προκύπτουν υπολογίζεται η επιτάχυνση του κάθε σωματιδίου. Η επιτά-

χυνση συνδυάζεται με τις θέσεις και τις ταχύτητες των σωματιδίων σε χρόνο t ώστε να υπολογιστούν οι θέσεις και οι ταχύτητες σε χρόνο $t+dt$. Η δύναμη θεωρείται σταθερή κατά τη χρονική διάρκεια dt , επομένως είναι σημαντικό το χρονικό βήμα που θα επιλεγεί να είναι αρκετά μικρό ώστε να μπορεί να ισχύει αυτή η προσέγγιση. Έπειτα υπολογίζονται οι δυνάμεις που ασκούνται στα σωματίδια στις νέες θέσεις και επαναλαμβάνεται η διαδικασία μέχρις ότου να συμπληρωθεί ο χρόνος της προσομοίωσης.

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ολοκληρωτών οι οποίοι εφαρμόζονται για την ολοκλήρωση των εξισώσεων κίνησης σε προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής. Ένας από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους είναι ο αλγόριθμος Verlet. Ο αλγόριθμος Verlet χρησιμοποιεί τις θέσεις και τις επιταχύνσεις των σωματιδίων σε χρόνο t , καθώς επίσης και τις θέσεις του προηγούμενου χρονικού βήματος, σε χρόνο δηλαδή $t-dt$, ούτως ώστε να υπολογίσει τις θέσεις του επόμενου βήματος $r(t+dt)$. Ο υπολογι-



Verlet Loup (1931-2019)

$$\begin{aligned}
 r(t+dt) &= r(t) + dtv(t) + \frac{1}{2}dt^2a(t) + \dots \\
 + \\
 r(t-dt) &= r(t) - dtv(t) + \frac{1}{2}dt^2a(t) + \dots \quad (8.7) \\
 \hline
 r(t+dt) + r(t-dt) &= 2r(t) + dt^2a(t) + \dots
 \end{aligned}$$

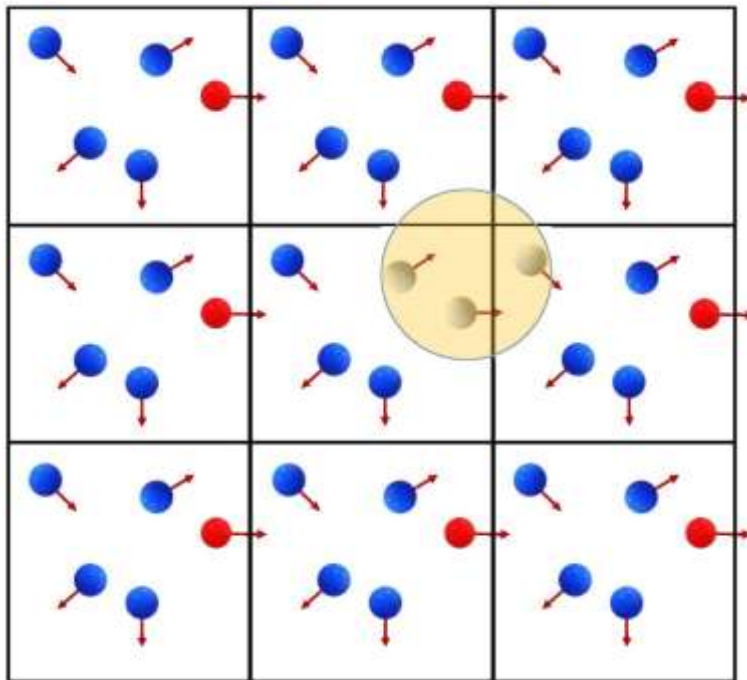
σμός αυτός μπορεί να πραγματοποιηθεί προσεγγιστικά μέσω σειρών Taylor. Προσθέτοντας το βήμα προς τα εμπρός με το βήμα προς τα πίσω δίνεται ο βασικός φορμαλισμός Verlet, από τον οποίο έχουν απαλειφθεί οι ταχύτητες.

Παρόλο που ο αλγόριθμος Verlet είναι απλός και σχετικά γρήγορος, το γεγονός ότι απαλείφονται οι ταχύτητες από την εξίσωση 8.8 καθυστερεί τον υπολογισμό τους. Επίσης, το γεγονός ότι ο υπολογισμός βασίζεται και στο προηγούμενο βήμα οδηγεί σε απαραίτητες προσεγγίσεις για τη χρονική στιγμή $t=0$ κατά την οποία φυσικά δεν υπάρχουν δεδομένα για τον χρόνο $t-dt$. Μία βελτίωση του αλγορίθμου Verlet αποτελεί ο αλγόριθμος leap-frog, ο οποίος υπολογίζει τις ταχύτητες σε χρονική στιγμή t χρησιμοποιώντας πληροφορία από τα μεσοδιαστήματα $t+\frac{1}{2}dt$.

8.2.2 Εφαρμογή περιοδικών συνθηκών

Οι ιδιότητες ενός μακροσκοπικού συστήματος μπορούν να υπολογιστούν προσομοιώνοντας ένα μόνο μικρό τμήμα του το οποίο αποτελείται από μερικές χιλιάδες μόρια. Γι' αυτό το λόγο είναι σημαντικό να απαλειφθούν οποιαδήποτε φαινόμενα ορίων ή τοιχωμάτων, έτσι ώστε τα σωματίδια να συμπεριφέρονται ως αν να βρίσκονταν στο κύριο μέρος του υπό μελέτη συστήματος, μακριά από οποιαδήποτε τοιχώματα με τα οποία θα μπορούσαν να αλληλεπιδράσουν. Για να επιτευχθεί αυτός ο στόχος, προσομοιώνεται ένα «κουτί» στο οποίο εφαρμόζονται περιοδικές συνθήκες. Το κουτί αυτό αντιγράφεται άπειρες φορές στις 3 διαστάσεις του χώρου, όπως παρουσιάζεται σχηματικά στο Σχήμα 8.5. Αν ένα σωματίδιο φύγει από το κεντρικό κουτί προσομοίωσης αντικαθίσταται από το είδωλό του το οποίο επιστρέφει από την αντίθετη κατεύθυνση. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε σχήμα κουτιού, αρκεί να πληρείται όλος ο χώρος κατά την αντιγραφή του κουτιού στις τρεις διαστάσεις. Τα σχήματα που ικανοποιούν αυτή τη συνθήκη είναι ο κύβος (ή το παραλληλεπίπεδο), το εξαγωνικό πρίσμα, το οκτάεδρο και το ρομβικό δωδεκάεδρο. Η επιλογή του κουτιού εξαρτάται από το σχήμα του συστήματος που εξετάζεται. Για παράδειγμα, για τη μελέτη μιας πρωτεΐνης η οποία βρίσκεται μέσα στην κυτταρική μεμβράνη, καταλληλότερο σχήμα αποτελεί ένα παραλληλεπίπεδο, ώστε να εξασφαλιστεί πως η μεμβράνη θα συνεχίζεται επ' άπειρον στις δύο διαστάσεις που καταλαμβάνει. Φυσικά ένα μικρό σύστημα το οποίο επαναλαμβάνεται άπειρες φορές δεν παύει να είναι μία προσέγγιση του πραγματικού συστήματος. Παρ' όλα αυτά, τα σφάλματα που προκύπτουν από

αυτή την προσέγγιση είναι αμελητέα σε σύγκριση με τα σφάλματα που θα προέκυπταν αν εφαρμόζονταν στο σύστημα οριακές συνθήκες ή τοιχώματα.



Σχήμα 8.5 Σχηματική αναπαράσταση των περιοδικών συνθηκών. Το κεντρικό κουτί προσομοίωσης αντιγράφεται σε όλες τις διαστάσεις έτσι ώστε όταν ένα σωματίδιο βγαίνει από το κεντρικό κουτί, επανέρχεται από την αντίθετη κατεύθυνση. Με αυτόν τον τρόπο δεν υπάρχουν οριακά φαινόμενα ή φαινόμενα τοιχωμάτων και κάθε σωματίδιο συμπεριφέρεται ως αν να βρισκόταν στο κύριο μέρος του συστήματος. Τα σωματίδια που παρουσιάζονται μέσα σε κύκλο βρίσκονται εντός της συνθήκης του πλησιέστερου ειδώλου.

Οι μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις μεγάλης εμβέλειας είναι το πιο χρονοβόρο τμήμα μιας προσομοίωσης Μοριακής Δυναμικής, επειδή κλιμακώνονται κατά N^2 για ένα σύστημα N σωματιδίων όπου λαμβάνονται υπόψη αλληλεπιδράσεις ανά δύο. Στα πλαίσια των περιοδικών συνθηκών, η εμβέλεια των αλληλεπιδράσεων πρέπει να είναι μικρότερη από το μισό του μήκους του κουτιού, έτσι ώστε να μην αλληλεπιδρά ένα σωματίδιο με το είδωλό του ή με περισσότερα από ένα αντίγραφο οποιουδήποτε άλλου σωματιδίου. Για να επιτευχθεί αυτό, η δυναμική ενέργεια περικόπτεται σε μία ακτίνα αποκοπής και εφαρμόζεται η συνθήκη του πλησιέστερου ειδώλου. Για παράδειγμα, το δυναμικό Lennard-Jones που χρησιμοποιείται συνήθως για να περιγράψει τις μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις μεγάλης εμβέλειας (δυνάμεις Van der Waals), έχει σε απόσταση $2,5\sigma$ τιμή μικρότερη από το 1% της τιμής του σε απόσταση σ , γεγονός που δικαιολογεί τον περιορισμό του σε ακτίνα αποκοπής χωρίς να προκύπτουν ιδιαίτερα σημαντικά σφάλματα. Επίσης, εφαρμόζοντας τη συνθήκη πλησιέστερου ειδώλου, κάθε σωματίδιο αλληλεπιδρά με το πλησιέστερο αντίγραφο οποιουδήποτε άλλου σωματιδίου εντός της ακτίνας αποκοπής, ανεξάρτητα από το αν βρίσκονται στο ίδιο κουτί ή όχι, όπως φαίνεται από τα κυκλωμένα σωματίδια στο Σχήμα 8.5. Όταν εφαρμόζεται η προσέγγιση της ακτίνας αποκοπής, όλες οι αλληλεπιδράσεις που βρίσκονται εκτός της σφαίρας που ορίζει θεωρούνται μηδενικές, εξασφαλίζοντας ραγδαία επιτάχυνση στον υπολογιστικό χρόνο που απαιτείται για να υπολογιστούν.

Η προσομοίωση των ηλεκτροστατικών δυνάμεων είναι ακόμη μεγαλύτερη πρόκληση από ότι οι

δυνάμεις Van der Waals επειδή η ισχύς τους μειώνεται με την απόσταση με πολύ αργό ρυθμό (ανάλογο του r^{-1}) και η εμβέλειά τους είναι συνήθως μεγαλύτερη από το μισό του κουτιού προσομοίωσης. Συνήθως για να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα χρησιμοποιείται η μέθοδος πλέγματος σωματιδίων Ewald (Particle Mesh Ewald), σύμφωνα με την οποία κάθε σωματίδιο αλληλεπιδρά με όλα τα υπόλοιπα σωματίδια στο κουτί προσομοίωσης, καθώς και με όλες τις περιοδικές τους εικόνες. Το δυναμικό χωρίζεται σε δύο όρους, έναν μικρής κι έναν μεγάλης εμβέλειας, όπου ο πρώτος υπολογίζεται στον πραγματικό χώρο ενώ ο δεύτερος μέσω ενός



μετασχηματισμού Fourier στον αντίστροφο χώρο. Με αυτόν τον τρόπο η δυναμική ενέργεια συγκλίνει γρήγορα και δεν δημιουργούνται ιδιαίτερα σφάλματα. Σε αυτή τη μέθοδο είναι απαραίτητο το συνολικό φορτίο του συστήματος να είναι ουδέτερο και για να επιτευχθεί αυτό προστίθενται αντισταθμιστικά ιόντα κατά την μοντελοποίηση του συστήματος, αν είναι απαραίτητο.

8.2.3 Προσομοιώνοντας σε διάφορα στατιστικά σύνολα

Όπως προαναφέρθηκε, οι προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής μπορούν αν λάβουν χώρα σε διάφορα στατιστικά σύνολα, ανάλογα με τις πραγματικές συνθήκες του συστήματος που θα μοντελοποιηθεί. Για παράδειγμα, ένα βιολογικό σύστημα συνήθως απαιτεί συνθήκες σταθερής πίεσης και θερμοκρασίας για να προσομοιωθούν οι φυσιολογικές συνθήκες του οργανισμού και έτσι προτιμάται η προσομοίωση στο ισόθερμο-ισοβαρές. Τα πιο συνήθη στατιστικά σύνολα που χρησιμοποιούνται στις προσομοιώσεις Μοριακή Δυναμικής είναι το κανονικό (NVT) και το ισόθερμο-ισοβαρές (NPT). Για να επιτευχθούν αυτές οι συνθήκες, πρέπει να εφαρμοστεί ένας θερμοστάτης για τη διατήρηση της θερμοκρασίας (ώστε να προσομοιωθεί το κανονικό σύνολο) και ένας βαροστάτης για τη διατήρηση της πίεσης (ώστε να προσομοιωθεί το ισόθερμο-ισοβαρές σύνολο).

Οι θερμοστάτες και βαροστάτες είναι κατάλληλοι αλγόριθμοι που ρυθμίζουν την θερμοκρασία και την πίεση αντίστοιχα. Ένας από τους πιο συνήθεις θερμοστάτες είναι ο θερμοστάτης Berendsen. Ο αλγόριθμος Berendsen συζεύγει την κινητική του συστήματος με ένα εξωτερικό λουτρό θερμότητας το οποίο διατηρεί της θερμοκρασία σταθερή, δίνοντας θερμική ενέργεια στο σύστημα ή απομακρύνοντας από αυτό. Οι ταχύτητες των σωματιδίων ρυθμίζονται αναλόγως ώστε να αντιστοιχούν στην επιθυμητή θερμοκρασία. Μία βελτιωμένη εκδοχή του θερμοστάτη Berendsen αποτελεί ο θερμοστάτης V-rescale, ο οποίος χειρίζεται με μεγαλύτερη ακρίβεια όχι μόνο τις ταχύτητες αλλά και την κι-

νητική ενέργεια του συστήματος. Ένας ακόμη πιο ακριβής θερμοστάτης, ο οποίος χρησιμοποιεί μια αποθήκη θερμότητας και ένα συντελεστή τριβής για να ρυθμίσει τη θερμοκρασία στην επιθυμητή τιμή, είναι ο θερμοστάτης Nosé–Hoover, ο οποίος χρησιμοποιείται συνήθως στους γύρους παραγωγής των μοριακών προσομοιώσεων.

Σε συστήματα που είναι απαραίτητο να διατηρηθεί και η πίεση σταθερή, μπορεί να εφαρμοστεί ο βαροστάτης Berendsen. Αντίστοιχα με τον θερμοστάτη, ο βαροστάτης Berendsen συζεύγει το σύστημα σε ένα εξωτερικό λουτρό πίεσης διατηρώντας την πίεση σταθερή. Η ρύθμιση της πίεσης μπορεί να γίνει είτε και στις τρεις διαστάσεις (ισοτροπικά) είτε σε δύο από τις τρεις (ημι-ισοτροπικά). Η δεύτερη επιλογή συνήθως επιλέγεται σε συστήματα που περιέχουν λιπιδικές μεμβράνες. Ένας ακριβέστερος αλγόριθμος διατήρησης της πίεσης, ο οποίος συνήθως χρησιμοποιείται στους γύρους παραγωγής των μοριακών προσομοιώσεων, είναι ο βαροστάτης Parinello–Rahman.

8.3 Εφαρμογές σε βιομοριακά συστήματα

Πειραματικά δεδομένα όπως αυτά της ανταλλαγής υδρογόνου του Linderstrom–Lang και των συννεργατών του έδειξαν ότι οι πρωτεΐνες δεν πρέπει να θεωρούνται στατικά μοριακά συστήματα. Η δημοσίευση της πρώτης προσομοίωσης Μοριακής Δυναμικής ενός μακρομορίου με βιολογικό ενδιαφέρον πριν τριάντα περίπου χρόνια επιβεβαίωσε την αντίληψη ότι οι πρωτεΐνες αποτελούν δυναμικά συστήματα. Η προσομοίωση αφορούσε τον αναστολέα της παγκρεατικής θρυψίνης από βοοειδές (BPTI –Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor), ένα μόριο που θεωρήθηκε ως το «υδρογονικό μόριο» της δυναμικής των πρωτεϊνών λόγω του μικρού του μεγέθους, της μεγάλης σταθερότητας και τη σχετικά ακριβή κρυσταλλογραφική δομή του που ήταν διαθέσιμη το 1975. Αξίζει να σημειωθεί ότι η φυσιολογική λειτουργία του εν λόγω μορίου παραμένει ακόμα άγνωστη. Παρόλο που η προσομοίωση αυτή πραγματοποιήθηκε στο κενό με ένα απλό δυναμικό μοριακής μηχανικής και διήρκεσε μόνο 9,2 ps, τα αποτελέσματα που προέκυψαν όπως προαναφέρθηκε θεμελίωσαν την αλλαγή της αντίληψης που είχαν οι ερευνητές έως τότε για τις πρωτεΐνες. Από σχετικά άκαμπτες δομές κατανόησαν ότι αποτελούν δυναμικά συστήματα των οποίων οι εσωτερικές κινήσεις παίζουν καθοριστικό ρόλο στη λειτουργικότητά τους.

Στα επόμενα 10 χρόνια μελετήθηκε ένα μεγάλο εύρος κινητικών φαινομένων των πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων με προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής. Πολλές εφαρμογές παρουσίασαν την σπουδαιότητα των εσωτερικών κινήσεων στις βιολογικές λειτουργίες, όπως για παράδειγμα του μηχανισμού ανοίγματος και κλεισίματος ενεργών κέντρων υποδοχέων, της ευκαμψίας του μορίου του tRNA, ή τις διαμορφωτικές μεταβολές που απαιτούνται προκειμένου να εισέλθει ή να εξέλθει ένα μόριο στις πρωτεΐνες της αίμης.

Σήμερα, στον τομέα της βιολογίας, οι προσομοιώσεις έχουν συντελέσει στην πληρέστερη κατανόηση της λειτουργίας των βιομορίων. Οι πρωτεϊνικές λειτουργίες όπως η ενζυμική κατάλυση δεν μελετάται μόνο μέσω της κρυσταλλογραφίας ακτινών–X, αλλά και θεωρητικών πειραμάτων προσομοίωσης με χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή. Η διαμόρφωση που λαμβάνεται από τις ακτίνες–X αντιστοιχεί στο μέσο όρο των συντεταγμένων των ατόμων του μορίου και δίνει λύσεις σε πολλά προβλήματα της δομικής χημείας. Ωστόσο η αναγνώριση της σημασίας των κινήσεων των ατόμων σε ένα μόριο με βιολογική σημασία άνοιξε νέους δρόμους στην κατανόηση των ιδιοτήτων των βιομορίων.

Φυσικά, η σημασία των πειραματικών δεδομένων παραμένει άκρως σημαντική ιδιαίτερα στην επικύρωση της μεθοδολογίας που ακολουθείται κατά την προσομοίωση. Συγκρίσεις των δεδομένων της προσομοίωσης με αυτά των πειραματικών βοηθούν να ελεγχθεί η ακρίβεια των αποτελεσμάτων και να βελτιωθεί η πειραματική διεργασία (Σχήμα 8.3).

8.4 Βασικές αρχές για την προσομοίωση Monte Carlo

Στην υπολογιστική χημεία αναφέρονται πολλοί τύποι υπολογισμών ως Monte Carlo. Όλοι τους έχουν σχεδιαστεί να εκτελούν μια τυχαία δειγματοληψία, που βασίζεται σε έναν αλγόριθμο, που

λειτουργεί ως γεννήτρια τυχαίων αριθμών. Η μέθοδος Monte Carlo παράγει με τυχαίο τρόπο διαμορφώσεις και χρησιμοποιεί ένα ειδικό σύνολο κριτηρίων, για να επιλέξει αν θα αποδεχθεί ή όχι κάθε νέα διαμόρφωση. Τα κριτήρια αυτά διασφαλίζουν πως η πιθανότητα να ληφθεί μια συγκεκριμένη διαμόρφωση είναι ίση με τον συντελεστή Boltzmann $\exp\{-V(\mathbf{r}^N)/k_B T\}$, όπου ο όρος $V(\mathbf{r}^N)$ υπολογίζεται, χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση της δυναμικής ενέργειας. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται χαμηλής ενέργειας στάθμες, στις οποίες η πιθανότητα να βρεθεί το μόριο είναι μεγάλη, σε σχέση με στάθμες που αντιστοιχούν σε μεγαλύτερες ενέργειες. Για κάθε διαμόρφωση που γίνεται δεκτή, υπολογίζονται οι τιμές των επιθυμητών ιδιοτήτων και στο τέλος της διαδικασίας λαμβάνεται ο μέσος όρος των τιμών τους (εξίσωση 8.8).

$$\langle A \rangle = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M A(\mathbf{r}^N) \quad (8.8)$$

Όπου
 $\langle A \rangle$: η αναμενόμενη τιμή της ιδιότητας A ,
 ως μέση τιμή όλων των αντιγράφων
 του στατιστικού συνόλου
 M : ο αριθμός των ιδιοτήτων που υπολογίστηκαν

Οι περισσότερες προσομοιώσεις Monte Carlo αναφέρονται ως Metropolis Monte Carlo υπολογισμοί, από τότε που ο Metropolis και οι συνεργάτες του ανέφεραν έναν τέτοιο υπολογισμό για πρώτη φορά. Υπάρχουν και άλλοι τρόποι με τους οποίους παράγονται ομάδες διαμορφώσεων. Η προσομοίωση Monte Carlo μπορεί να διακριθεί στα ακόλουθα βήματα:

1. **Επιλέγονται οι αρχικές συντεταγμένες των ατόμων του συστήματος.** Χρησιμοποιούνται οι ίδιες τεχνικές, όπως στην περίπτωση της Μοριακής Δυναμικής.
2. **Υπολογίζεται η ενέργεια του συστήματος.**
3. **Επιλέγεται μια τυχαία κίνηση του συστήματος στο χώρο.** Θεωρητικά μπορούν να κινηθούν ταυτόχρονα όλα τα άτομα του συστήματος, συνήθως όμως, για λόγους απλούστευσης των υπολογισμών, κινείται ένα μόνο άτομο (ή μόριο αν πρόκειται για σύστημα μορίων).
4. **Υπολογίζεται η ενέργεια του συστήματος για τη νέα του διαμόρφωση.**
5. **Ελέγχεται, αν θα διατηρηθεί η νέα διαμόρφωση ή θα απορριφθεί και τα άτομα θα επιστρέψουν στις προηγούμενες θέσεις τους.** Το κριτήριο, με βάση το οποίο γίνεται η επιλογή, βασίζεται στην ενέργεια της αρχικής και τελικής διαμόρφωσης. Με τον τρόπο αυτό διασφαλίζεται ότι τα αποτελέσματα αναπαράγουν μια κατανομή Boltzmann. Συγκεκριμένα, αν αυτή είναι μικρότερη από την ενέργεια, που κατείχε η διαμόρφωση του προγενέστερου σταδίου, γίνεται αποδεκτή. Αν πάλι, είναι μεγαλύτερη από την ενέργεια που κατείχε η προγενέστερη διαμόρφωση, τότε υπολογίζεται ο συντελεστής Boltzmann της διαφοράς της ενέργειας,

$$\exp \{ -[V_{\text{νέα}}(\mathbf{r}^N) - V_{\text{προγ}}(\mathbf{r}^N)] / k_B T \}$$

Κατόπιν παράγεται ένας αριθμός τυχαία μεταξύ του 0 και του 1 και συγκρίνεται με το αποτέλεσμα του συντελεστή Boltzmann. Αν ο τυχαίος αριθμός είναι μεγαλύτερος από τον συντελεστή Boltzmann, τότε η νέα διαμόρφωση απορρίπτεται και ανακτάται η προηγούμενη, προκειμένου να χρησιμοποιηθεί για το επόμενο βήμα. Αντιθέτως, αν ο τυχαίος αριθμός είναι μικρότερος, 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 $V_{\text{νέα}}(\mathbf{r}^N) - V_{\text{προγ}}(\mathbf{r}^N)$), τόσο πιο πιθανή είναι η αποδοχή της κίνησης αυτής και κατά συνέπεια της παραγόμενης διαμόρφωσης.

6. **Επαναλαμβάνονται τα βήματα 3 έως 5 μέχρι το σύστημα να έρθει σε ισορροπία.**
7. **Συλλέγονται τα δεδομένα κατά τη διάρκεια της επαναληπτικής διαδικασίας για τον υπολογισμό της ζητούμενης ιδιότητας.** Η αναμενόμενη τιμή της ζητούμενης ιδιότητας είναι ίση με τη μέση τιμή (το άθροισμα των τιμών της διαιρείται με τον αριθμό των επαναλήψεων). Αυτό ισχύει όσο το κριτήριο επιλογής του βήματος 5 εξασφαλίζει ότι η πιθανότητα να διατηρηθεί μια νέα διαμόρφωση είναι ίση με την πιθανότητα να συμπεριληφθεί σε μια κατανομή Boltzmann. Αν σε κάθε βήμα κινείται ένα μόνο άτομο του συστήματος, τότε αθροίζοντας κάθε λίγα βήματα τις διαμορφώσεις, εμποδίζουμε το

μέσο όρο να λαμβάνει ακραίες τιμές, δηλαδή να αντιπροσωπεύσει σε μεγαλύτερο ποσοστό κάποιες διαμορφώσεις.

Το μέγεθος της κίνησης στο βήμα 3 επηρεάζει την αποδοτικότητα της προσομοίωσης. Η αποδοτικότητα σχετίζεται με το ρυθμό, που γίνονται αποδεκτές οι κινήσεις, δηλαδή με τον αριθμό των περιπτώσεων που μια κίνηση έγινε αποδεκτή στο βήμα 5 δια το συνολικό αριθμό των επαναλήψεων. Στην περίπτωση αυτή, μια μη ικανοποιητική προσομοίωση απαιτεί περισσότερες επαναλήψεις, για να δώσει αποτελέσματα μεγαλύτερης ακριβείας. Αν η κίνηση είναι πολύ μικρή, θα χρειαστούν πολλές επαναλήψεις, προκειμένου να αλλάξουν οι θέσεις των ατόμων. Αν πάλι είναι πολύ μεγάλη, ελάχιστες κινήσεις θα γίνουν αποδεκτές. Ο πιο αποδοτικός υπολογισμός λαμβάνεται συνήθως με έναν ρυθμό αποδοχής μεταξύ 0,5 και 0,7.

Όπως και στη Μοριακή Δυναμική, οι προσομοιώσεις Monte Carlo εφαρμόζονται σε σταθερό αριθμό σωματιδίων (N), όγκου (V) και θερμοκρασίας (T), Μπορούν επίσης να εκτελεστούν και προσομοιώσεις με σταθερή πίεση (P). Υπολογισμοί με μεταβλητό αριθμό σωματιδίων (N) μπορούν να πραγματοποιηθούν, αλλά παρουσιάζουν τεχνικές δυσκολίες, αφού απαιτούν πολύ μεγάλο δείγμα μορίων και μεγάλους χρόνους προσομοίωσης.

Η προσομοίωση Monte Carlo απαιτεί λιγότερο υπολογιστικό χρόνο, για να εκτελέσει μία επανάληψη συγκριτικά με ό,τι χρειάζεται η Μοριακή Δυναμική για το ίδιο σύστημα. Ωστόσο, η προσομοίωση Monte Carlo έχει περιορισμούς, αφού δεν μπορεί να εξάγει πληροφορίες για ιδιότητες του συστήματος σε σχέση με το χρόνο, όπως, για παράδειγμα, ο συντελεστής διάχυσης ή το ιζώδες.

Στην προσομοίωση με τη Μοριακή Δυναμική, οι διαδοχικές διαμορφώσεις, που λαμβάνει το μοριακό σύστημα, συνδέονται μέσω του χρόνου. Αυτό δεν συμβαίνει στην προσομοίωση Monte Carlo, όπου κάθε νέα διαμόρφωση εξαρτάται μόνο από την προηγούμενή της και δεν σχετίζεται με καμία από τις υπόλοιπες, που μπορεί να έχει υιοθετήσει το σύστημα μέχρι τη στιγμή εκείνη. Επίσης, στην προσομοίωση Μοριακής Δυναμικής συμπεριλαμβάνεται και η κινητική ενέργεια του συστήματος, ενώ στη Μοριακή Μηχανική η ολική ενέργεια είναι αποτέλεσμα μόνο της δυναμικής ενέργειας.

Στην προσομοίωση Monte Carlo κάθε νέα διαμόρφωση του συστήματος παράγεται από μια τυχαία κίνηση ενός ή περισσότερων ατόμων του μορίου ή και με περιστροφή ενός ή περισσότερων δεσμών. Στη συνέχεια υπολογίζεται η ενέργεια της νέας διαμόρφωσης.

8.5 Άσκηση (Tutorial)

Στην συγκεκριμένη άσκηση θα μελετηθούν οι διαμορφώσεις που λαμβάνει η λυσοζύμη (που βρίσκεται στον ασπράδι του αυγού) σε διαλύτη νερό με τη χρήση του προγράμματος Gromacs σε περιβάλλον Linux. Το πρόγραμμα αυτό διατίθεται δωρεάν στο διαδίκτυο και οι πληροφορίες για την εγκατάστασή του βρίσκονται στην ιστοσελίδα:

<https://manual.gromacs.org/documentation/2021/install-guide/index.html>

Αφού εγκαταστήσετε το πρόγραμμα, σύμφωνα με τις οδηγίες σε περιβάλλον Linux, κατεβάξτε την κρυσταλλογραφική δομή της λυσοζύμης (PDB ID: 1AKI).

<https://www.rcsb.org/structure/1AKI>

Στη συνέχεια δημιουργήστε φάκελο με όνομα «lysozyme_tutorial» στον υπολογιστή σας με την εντολή:

```
mkdir lysozyme_tutorial
```

Στον φάκελο αυτό, αποθηκεύστε την κρυσταλλογραφική δομή 1aki.pdb.

1. Αρχικά, αφαιρέστε από την κρυσταλλογραφική δομή τα μόρια νερού.

2. Το αρχείο 1AKI_clean.pdb που δημιουργήθηκε χρησιμοποιείται ως input για τη δημιουργία του ενυδατωμένου συστήματος.

```
1 lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ grep -v HOH 1aki.pdb > 1AKI_clean.pdb
```

```
2 lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx pdb2gmx -f 1AKI_clean.pdb -o 1AKI_processed.gro -water spce -ingh -ter
```


3. Πληκτρολογήστε

α) τον αριθμό «15», ώστε να επιλέξετε ως πεδίο δυνάμεων το OPLS-AA/L.

β) τον αριθμό «0» για την επιλογή της κατάστασης πρωτονίωσης του πρώτου αμινοξέος της πρωτεΐνης (LYS-1).

γ) τον αριθμό «0» για την επιλογή της κατάστασης πρωτονίωσης του τελικού αμινοξέος της πρωτεΐνης (LEU-129).

```
Select the Force Field:
From ' /usr/share/gromacs/top ':
1: AMBER03 protein, nucleic AMBER94 (Duan et al., J. Comp. Chem. 24, 1999-2012, 2003)
2: AMBER94 force field (Cornell et al., JACS 117, 5179-5197, 1995)
3: AMBER96 protein, nucleic AMBER94 (Kollman et al., Acc. Chem. Res. 29, 461-469, 1996)
4: AMBER99 protein, nucleic AMBER94 (Wang et al., J. Comp. Chem. 21, 1049-1074, 2000)
5: AMBER99SB protein, nucleic AMBER94 (Hornak et al., Proteins 65, 712-725, 2006)
3α 6: AMBER99SB-ILDN protein, nucleic AMBER94 (Lindorff-Larsen et al., Proteins 78, 1950-58, 2010)
7: AMBERGS force field (Garcia & Sanbonmatsu, PNAS 99, 2782-2787, 2002)
8: CHARMM27 all-atom force field (CHARM22 plus CMAP for proteins)
9: GROMOS96 43a1 force field
10: GROMOS96 43n2 force field (improved alkane dihedrals)
11: GROMOS96 45a3 force field (Schuler JCC 2001 22 1205)
12: GROMOS96 53a5 force field (JCC 2004 vol 25 pag 1656)
13: GROMOS96 53a6 force field (JCC 2004 vol 25 pag 1656)
14: GROMOS96 54n7 force field (Eur. Biophys. J. (2011), 40., 843-856, DOI: 10.1007/s00249-011-0700-9)
15: OPLS-AA/L all-atom force field (2001 aminoacid dihedrals)

Select start terminu type for LYS-1
0: NH3+
3β 1: ZWITTERION_NH3+ (only use with zwitterions containing exactly one residue)
2: NH2
3: None

Start terminus LYS-1: NH3+
Select end terminus type for LEU-129
0: COO-
3γ 1: ZWITTERION_COO- (only use with zwitterions containing exactly one residue)
2: COOH
3: None
```

4. Πληκτρολογήστε

♦ τις εντολές (4α) για τη δημιουργία του κυβικού «κουτιού» της προσομοίωσης, (4β) ώστε να προστεθούν μόρια νερού στο «κουτί» της προσομοίωσης που δημιουργήθηκε.

```
4α lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx editconf -f IAKI_processed.gro
-o IAKI_newbox.gro -c -d 1.0 -bt cubic

4β lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx solvate -cp IAKI_newbox.gro
-es spc216.gro -o IAKI_solv.gro -p topol.top
```

5. Χρησιμοποιήστε το παρακάτω αρχείο, το οποίο ονομάζεται «ions.mdp» για την προσθήκη ιόντων Na⁺ και Cl⁻ στο ενυδατωμένο σύστημα της προσομοίωσης και τη δημιουργία του ουδέτερου συστήματος.

```

; ions.mdp – used as input into grompp to generate ions.tpr
; Parameters describing what to do, when to stop and what to save
integrator      = steep      ; Algorithm (steep = steepest descent minimization)
emtol           = 1000.0    ; Stop minimization when the maximum force < 1000.0 kJ/mol/nm
emstep         = 0.01     ; Minimization step size
nsteps         = 50000    ; Maximum number of (minimization) steps to perform
                ; Parameters describing how to find the neighbors
                ; of each atom and how to calculate the interactions
nstlist        = 1        ; Frequency to update the neighbor list and long range forces
cutoff-scheme  = Verlet    ; Buffered neighbor searching
ns_type        = grid     ; Method to determine neighbor list (simple, grid)
coulombtype    = cutoff    ; Treatment of long range electrostatic interactions
rcoulomb       = 1.0      ; Short-range electrostatic cut-off
rvdw           = 1.0      ; Short-range Van der Waals cut-off
pbc            = xyz      ; Periodic Boundary Conditions in all 3 dimensions

```

Πληκτρολογήστε

- ♦ τις εντολές (5α) χρησιμοποιώντας το αρχείο το οποίο ονομάζεται «ions.mdp», (5β) για να προστεθούν τα ιόντα στο σύστημα.
- ♦ τον αριθμό «13» (5γ), ώστε τα ιόντα να τοποθετηθούν μεταξύ των μορίων του διαλύτη.

```

5α lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx grompp -f ions.mdp -c
1AK1_solv.gro -p topol.top -o ions.tpr

```

```

5β lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx genion -s ions.tpr -o
1AK1_solv_ions.gro -p topol.top -pname NA -nname CL -neutral

```

```

Select a continuous group of solvent molecules
Group 0 (      System) has 33892 elements
Group 1 (      Protein) has 1960 elements
Group 2 (    Protein-H) has 1001 elements
Group 3 (      C-alpha) has 129 elements
Group 4 (    Backbone) has 387 elements
Group 5 (    MainChain) has 517 elements
Group 6 ( MainChain+Cb) has 634 elements
Group 7 ( MainChain+H) has 646 elements
5γ Group 8 (    SideChain) has 1314 elements
Group 9 (    SideChain-H) has 484 elements
Group 10 (   Prot-Masses) has 1960 elements
Group 11 (   non-Protein) has 31932 elements
Group 12 (      Water) has 31932 elements
Group 13 (      SOL) has 31932 elements
Group 14 (   non-Water) has 1960 elements
Select a group: 13
Selected 13: 'SOL'
Number of (3-atomic) solvent molecules: 10644

```

6. Χρησιμοποιήστε το παρακάτω αρχείο, το οποίο ονομάζεται «minim.mdp» όπου περιέχονται όλες οι πληροφορίες για την ελαχιστοποίηση της ενέργειας του συστήματος της προσομοίωσης.

```

; minim.mdp – used as input into grompp to generate em.tpr
; Parameters describing what to do, when to stop and what to save
integrator      = steep      ; Algorithm (steep = steepest descent minimization)
emtol          = 1000.0     ; Stop minimization when the maximum force < 1000.0 kJ/mol/nm
emstep         = 0.01      ; Minimization step size
nsteps         = 50000     ; Maximum number of (minimization) steps to perform
; Parameters describing how to find the neighbors
; of each atom and how to calculate the interactions
nstlist        = 1         ; Frequency to update the neighbor list and long range forces
cutoff-scheme  = Verlet     ; Buffered neighbor searching
ns_type        = grid      ; Method to determine neighbor list (simple, grid)
coulombtype    = PME       ; Treatment of long range electrostatic interactions
rcoulomb       = 1.0       ; Short-range electrostatic cut-off
rvdw           = 1.0       ; Short-range Van der Waals cut-off
pbc            = xyz       ; Periodic Boundary Conditions in all 3 dimensions

```

Πληκτρολογήστε

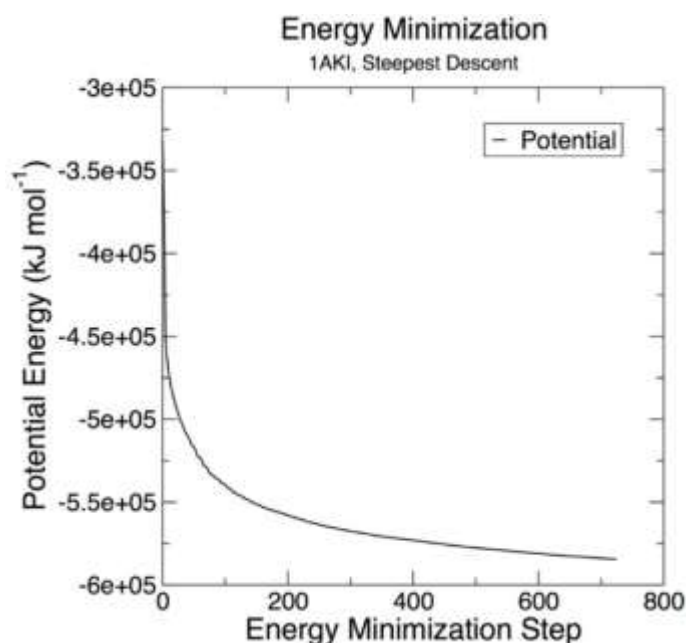
♦ τις εντολές (6α) για τη δημιουργία του αρχείου στο οποίο θα πραγματοποιηθεί ελαχιστοποίηση ενέργειας, (6β) για να πραγματοποιηθεί η ελαχιστοποίηση ενέργειας, (6γ) ώστε να πραγματοποιήσετε έλεγχο για την ελαχιστοποίηση της ενέργειας του συστήματος και να παρατηρήσετε το διάγραμμα του δυναμικού «potential», ώστε να διαπιστώσετε τη μείωση της ενέργειας του συστήματος.

♦ τους αριθμούς «10 0» για την δημιουργία του διαγράμματος ελαχιστοποίησης ενέργειας. Μπορείτε να παρατηρήσετε το διάγραμμα σε κάποιο πρόγραμμα όπως το excel ή το grace και να ελέγξετε αν η ενέργεια του υπό μελέτη συστήματος έχει ελαχιστοποιηθεί.

```

6α lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx grompp -f minim.mdp -c
1AK1.solv_ions.gro -p topol.top -o em.tpr
6β lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx mdrun -v -deffnm em
6γ lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx energy -f em.edr -o potential.xvg

```



7. Χρησιμοποιήστε το παρακάτω αρχείο το οποίο ονομάζεται «nvt.mdp» για την εξισορρόπηση (equilibration) του συστήματος στο κανονικό στατιστικό σύνολο NVT.

```

                                NVT
Title                          = OPLS Lysozyme NVT equilibration
Define                         = -DPOSRES      ; position restrain the protein ; Run parameters
Integrator                     = md          ; leap-frog integrator
nsteps                         = 50000       ; 2 * 50000 = 100 ps
dt                             = 0.002      ; 2 fs; Output control
nstxout                       = 500         ; save coordinates every 1.0 ps
nstvout                       = 500         ; save velocities every 1.0 ps
nstenergy                     = 500         ; save energies every 1.0 ps
nstlog                         = 500         ; update log file every 1.0 ps ; Bond parameters
continuation                   = no          ; first dynamics run
constraint_algorithm           = lincs       ; holonomic constraints
constraints                    = h-bonds     ; bonds involving H are constrained
lincs_iter                     = 1          ; accuracy of LINCS
lincs_order                    = 4          ; also related to accuracy ; Nonbonded settings
cutoff-scheme                  = Verlet     ; Buffered neighbor searching

```

```

ns_type                        = grid       ; search neighboring grid cells
nstlist                        = 10         ; 20 fs, largely irrelevant with Verlet
rcoulomb                       = 1.0       ; short-range electrostatic cutoff (in nm)
rvdw                           = 1.0       ; short-range van der Waals cutoff (in nm)
DispCorr                       = EnerPres  ; account for cut-off vdW scheme; Electrostatics
coulombtype                    = PME       ; Particle Mesh Ewald for long-range electrostatics
pme_order                      = 4         ; cubic interpolation
fourierspacing                 = 0.16      ; grid spacing for FFT; Temperature coupling is on
tcoupl                         = V-rescale  ; modified Berendsen thermostat
tc-grps                        = Protein Non-Protein ; two coupling groups - more accurate
tau_t                          = 0.1 0.1   ; time constant, in ps
ref_t                          = 300 300   ; reference temperature, one for each group, in K; Pressure coupling is off
pcoupl                         = no        ; no pressure coupling in NVT; Periodic boundary conditions
pbc                             = xyz      ; 3-D PBC; Velocity generation
gen_vel                        = yes        ; assign velocities from Maxwell distribution
gen_temp                       = 300       ; temperature for Maxwell distribution
gen_seed                       = -1        ; generate a random seed

```

Πληκτρολογήστε

- ♦ τις εντολές (7α), (7β) για την εξισορρόπηση του συστήματος και (7γ) για τον έλεγχο της εξισορρόπησης του συστήματος στο κανονικό στατιστικό σύνολο με τον έλεγχο της θερμοκρασίας.
- ♦ τους αριθμούς «16 0» για τη δημιουργία του διαγράμματος μέσω του οποίου μπορεί να ελεγχθεί η εξισορρόπηση υπολογιστικού χρόνου 100ps.

```

7α lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx grompp
-f nvt.mdp -c em.gro -r em.gro -p topol.top -o nvt.tpr

```

```

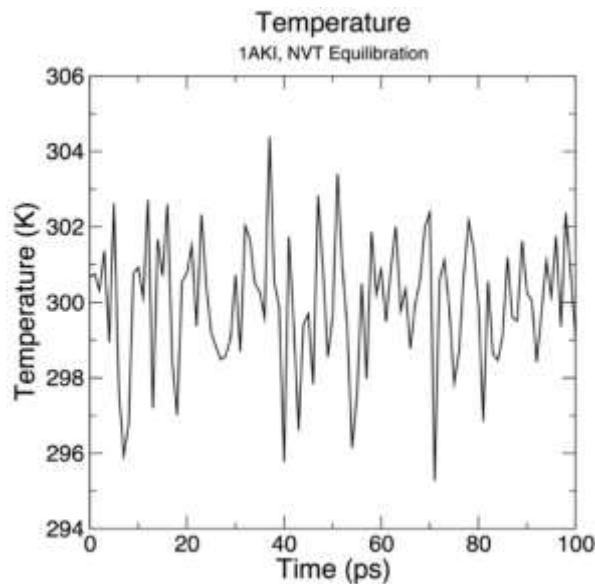
7β lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx mdrun -deffnm nvt

```

```

7γ lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx energy -f nvt.edr
-o temperature.svg

```



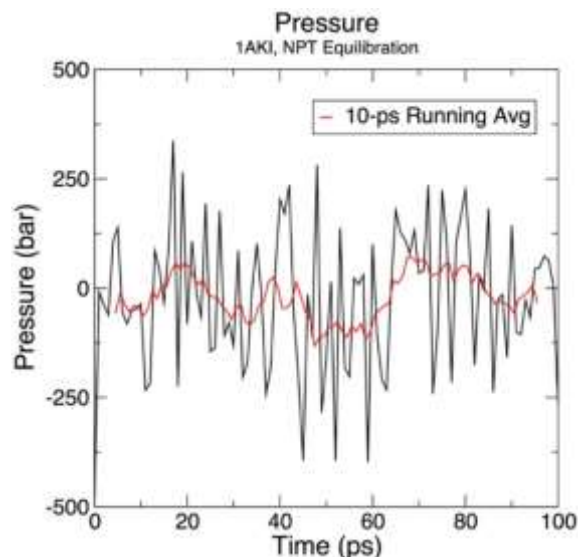
8. Στη συνέχεια, αφού πραγματοποιήθηκε εξισορρόπηση στο κανονικό στατιστικό σύνολο, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί και στο «ισόθερμο-ισοβαρές» στατιστικό σύνολο NPT. Οι πληροφορίες για τον υπολογισμό αυτόν δίνονται από το παρακάτω αρχείο. Αντιγράψετε το αρχείο αυτό και το ονομάζετε «npt.mdp».

title	= OPLS Lysozyme NPT equilibration	
define	= -DPOSRES	; position restrain the protein
integrator	= md	; leap-frog integrator
nsteps	= 50000	; 2 * 50000 = 100 ps
dt	= 0.002	; 2 fs
nstxout	= 500	; save coordinates every 1.0 ps
nstvout	= 500	; save velocities every 1.0 ps
nstenergy	= 500	; save energies every 1.0 ps
nstlog	= 500	; update log file every 1.0 ps
continuation	= yes	; Restarting after NVT
constraint_algorithm	= lincs	; holonomic constraints
constraints	= h-bonds	; bonds involving H are constrained
lincs_iter	= 1	; accuracy of LINC6
lincs_order	= 4	; also related to accuracy
cutoff-scheme	= Verlet	; Buffered neighbor searching
ns_type	= grid	; search neighboring grid cells
nstlist	= 10	; 20 fs, largely irrelevant with Verlet scheme
rcoulomb	= 1.0	; short-range electrostatic cutoff (in nm)
rvdw	= 1.0	; short-range van der Waals cutoff (in nm)
DispCorr	= EnerPres	; account for cut-off vdW scheme
coulombtype	= PME	; Particle Mesh Ewald for long-range electrostatics
pme_order	= 4	; cubic interpolation
fourierspacing	= 0.16	; grid spacing for FFT
tcoupl	= V-rescale	; modified Berendsen thermostat
tc-grps	= Protein Non-Protein	; two coupling groups - more accurate
tau_t	= 0.1 0.1	; time constant, in ps
ref_t	= 300 300	; reference temperature, one for each group, in K
pcoupl	= Parrinello-Rahman	; Pressure coupling on in NPT
pcoupltype	= isotropic	; uniform scaling of box vectors
tau_p	= 2.0	; time constant, in ps
ref_p	= 1.0	; reference pressure, in bar
compressibility	= 4.5e-5	; isothermal compressibility of water, bar ⁻¹
pbc	= xyz	; 3-D PBC
gen_vel	= no	; Velocity generation is off

Πληκτρολογήστε

- ♦ τις εντολές (8α), (8β) και (8γ) ώστε να ελεγχθεί η εξισορρόπηση του συστήματος στο στατιστικό σύνολο NPT με τη δημιουργία διαγράμματος «πίεσης-χρόνου» κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης.
- ♦ τους αριθμούς «18 0» για τη δημιουργία διαγράμματος, μέσω του οποίου μπορεί να ελεγχθεί η εξισορρόπηση υπολογιστικού χρόνου 100 ps.

- 8α lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme\$ gmx grompp -f npt.mdp -c nvt.gro -r nvt.gro -t nvt.cpt -p topol.top -o npt.tpr
- 8β lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme\$ gmx mdrun -deffnm npt
- 8γ lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme\$ gmx energy -f npt.edr -o pressure.xvg



title	= OPLS Lysozyme NPT equilibration	: Run parameters
integrator	= md	: leap-frog integrator
nsteps	= 500000	: 2 * 500000 = 1000 ps (1 ns)
dt	= 0.002	: 2 fs
nstxout	= 0	: suppress bulky .trr file by specifying
nstfout	= 0	: 0 for output frequency of nstxout,
nstfout	= 0	: nstxout, and nstfout
nstenergy	= 5000	: save energies every 10.0 ps
nstlog	= 5000	: update log file every 10.0 ps
nstxout-compressed	= 5000	: save compressed coordinates every 10.0 ps
compressed-x-grps	= System	: save the whole system
continuation	= yes	: Restarting after NPT
constraint_algorithm	= lincs	: holonomic constraints
constraints	= h-bonds	: bonds involving H are constrained
lincs_iter	= 1	: accuracy of LINCS
lincs_order	= 4	: also related to accuracy
cutoff-scheme	= Verlet	: Buffered neighbor searching
ns_type	= grid	: search neighboring grid cells
nstlist	= 10	: 20 fs, largely irrelevant with Verlet scheme
rcoulomb	= 1.0	: short-range electrostatic cutoff (in nm)
rvdw	= 1.0	: short-range van der Waals cutoff (in nm)
coulombtype	= PME	: Particle Mesh Ewald for long-range electrostatics
pme_order	= 4	: cubic interpolation
fourierspacing	= 0.16	: grid spacing for FFT
tcoupl	= V-rescale	: modified Berendsen thermostat
tc-grps	= Protein Non-Protein	: two coupling groups - more accurate
tau_t	= 0.1 0.1	: time constant, in ps
ref_t	= 300 300	: reference temperature, one for each group, in K
pcoupl	= Parrinello-Rahman	: Pressure coupling on in NPT
pcoupltype	= isotropic	: uniform scaling of box vectors
tau_p	= 2.0	: time constant, in ps
ref_p	= 1.0	: reference pressure, in bar
compressibility	= 4.5e-5	: isothermal compressibility of water, bar ⁻¹
pbc	= xyz	: 3-D PBC; Dispersion correction
DispCorr	= EnerPres	: account for cut-off vdW scheme
gen_vel	= no	: Velocity generation is off

9. Στη συνέχεια, αφού πραγματοποιήθηκε η εξισορρόπηση του χημικού συστήματος, θα πραγματοποιηθεί η φάση παραγωγής με τις πληροφορίες που δίνονται από το παρακάτω αρχείο. Αντιγράψτε το αρχείο και αποθηκεύστε το με το όνομα «md.mpd».


```
9α lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx grompp -f  
md.mdp -c npt.gro -t npt.cpt -p topol.top -o md_0_1.tpr
```

```
9β lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx mdrun -deffnm md_0_1
```

Πληκτρολογήστε τις εντολές (9α) και (9β) για την εκτέλεση του πειράματος μοριακής δυναμικής για υπολογιστικό χρόνο Ins.

10. Ανάλυση αποτελεσμάτων και υπολογισμός RMSD πρωτεΐνης.

```
10α lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx trjconv -s md_0_1.tpr  
-f md_0_1.xtc -o md_0_1_noPBC.xtc -pbc mol -center
```

```
10β lab@lab-Z390-UD:~/Eleni/tutorial_lysozyme$ gmx rms -s md_0_1.tpr -f  
md_0_1_noPBC.xtc -o rmsd.svg -tu ns
```

Εκτελέστε την εντολή (10α), ώστε να αφαιρέσετε την περιοδικότητα του συστήματος. Για τον υπολογισμό της σύγκλισης της τετραγωνικής ρίζας της μέσης απόκλισης (RMSD) της πρωτεΐνης, εκτελέστε την εντολή (10β).

Βιβλιογραφία/Αναφορές

1. Cramer C.J. (2013). *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. Wiley.
2. Atkins P.W., De Paula J. (2006). *Atkins' Physical Chemistry*. 8th ed., Oxford University Press.
3. Berendsen H.J.C., et al. (1984). Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*, 81(8), 3684–3690.
4. Nosé S. (1984). A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble. *Molecular Physics*, 52(2), 255–268.
5. Parrinello M., Rahman A. (1981). Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *Journal of Applied Physics*, 52(12), 7182–7190.
6. Gallavotti G., Reiter W. L., Yngvason J. (2008) *Boltzmann's legacy*. European Mathematical Society.
7. Battimelli G., Ciccotti G., Greco P. (2020). *Computer Meets Theoretical Physics. The New Frontier of Molecular Simulation*. Springer.
8. Böttcher L., Herrmann H.J. (2021). *Computational Statistical Physics*. Cambridge University Press.

Κριτήρια αξιολόγησης

8.1 Ερωτήσεις

1. Ποιες μεθοδολογίες χρησιμοποιούνται για τη προσομοίωση των Μοριακών Συστημάτων;
2. Ποιες είναι οι διαφορές τους από τις διαμορφωτικές μεθόδους ανάλυσης;
3. Ποια στάδια περιλαμβάνει η Μοριακή Δυναμική; Να εξηγήσετε, γιατί απαιτούνται και τι επιτυγχάνεται στο σύστημα με το κάθε στάδιο.
4. Ποιες αρχές διέπουν την προσομοίωση Monte Carlo;
5. Ποιες οι ομοιότητες και ποιες οι διαφορές μεταξύ Monte Carlo και Μοριακής Δυναμικής;
6. Αναφέρατε εφαρμογές του Monte Carlo και Μοριακής Δυναμικής προσομοιώσεων στα πεδία της Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας.

8.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

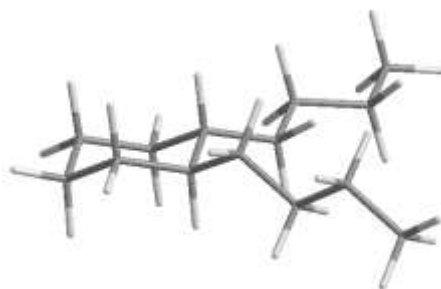
1. Η Μοριακή Δυναμική είναι η μόνη μέθοδος προσομοίωσης μοριακών συστημάτων.
2. Η Μοριακή Δυναμική είναι η προσομοίωση των εσωτερικών κινήσεων του μορίου.
3. Στην Μοριακή Δυναμική τα άτομα συμπεριφέρονται ως σωματίδια, για τα οποία ισχύουν οι εξισώσεις κίνησης του Νεύτωνα.
4. Η προσομοίωση με χρήση Μοριακής Δυναμικής σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες (1500 K) δεν έχει κάποιο νόημα για τη διαμορφωτική ανάλυση.
5. Η Μοριακή Δυναμική δεν εφαρμόζεται σε διάφορες θερμοκρασίες.
6. Η μέθοδος Monte Carlo επιτυγχάνει την υπερπήδηση ενεργειακών φραγμάτων, μέσω αύξησης της θερμοκρασίας προσομοίωσης.
7. Το αρχείο τροχιάς (trajectory file) περιλαμβάνει πληροφορίες για τις ατομικές συντεταγμένες, οι οποίες καταγράφονται σε κάθε βήμα της προσομοίωσης.
8. Η προσομοίωση ανόπτησης είναι μια τεχνική στην οποία το μόριο ψύχεται σταδιακά, ώστε να λαμβάνονται ενεργειακά ελάχιστα.
9. Με τη χρήση της Μοριακής Δυναμικής μπορούμε να εξακριβώσουμε τη σταθερότητα στο χρόνο κάποιων ομάδων του μορίου σε σχέση με άλλες.

8.3 Ερωτήσεις Πολλαπλής Επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση.

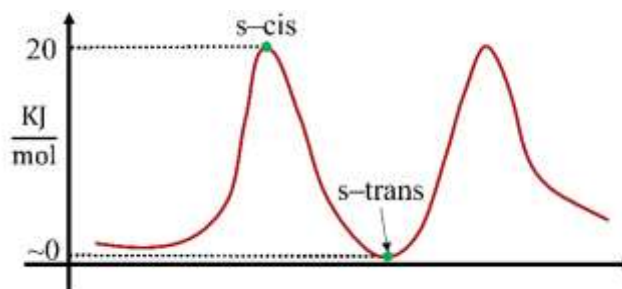
1. Αύξηση της θερμοκρασίας στη Μοριακή Δυναμική επιτρέπει στα διαμορφωμερή
 - α) αύξηση του ρυθμού των συγκρούσεων στα άτομα που απαρτίζουν το μοριακό σύστημα
 - β) στην υπερπήδηση ενεργειακών φραγμών
 - γ) ελαττωμένη κινητικότητα των ατόμων του μορίου
 - δ) α και γ ορθά
2. Στη μοριακή δυναμική κάθε άτομο θεωρείται ότι συμπεριφέρεται ως σωματίδιο, που ανταποκρίνεται
 - α) στις εξισώσεις κίνησης του Νεύτωνα
 - β) στις εξισώσεις κίνησης του Einstein
 - γ) α και β ορθά
 - δ) α και β λάθος
3. Η Μοριακή Δυναμική επιτυγχάνεται με προσομοίωση των δυναμικών κινήσεων ενός μορίου όταν
 - α) μεταβάλλει τη διαμόρφωση από μη διεγερμένη σε διεγερμένη κατάσταση
 - β) ταλαντώνεται και υφίσταται εσωτερική περιστροφή
 - γ) κινείται και συγκρούεται με άλλα μόρια
 - δ) α, β, γ ορθά
4. Η Μοριακή Δυναμική
 - α) αποτελεί μια μέθοδο Διαμορφωτικής Ανάλυσης
 - β) με χρήση της μπορούν να υπολογιστούν χαμηλής ενέργειας διαμορφωμερή
 - γ) με χρήση τους πιθανά να ευρεθεί το απόλυτο ελάχιστο στο μόριο
 - δ) α, β, γ είναι ορθά

5. Ένα μόριο στο οποίο έχει εφαρμοσθεί ελαχιστοποίηση της ενέργειάς του
- αποτελεί με βεβαιότητα την πραγματική δομή, που προσεγγίζει το βιοδραστικό κέντρο
 - μπορεί να αποτελεί την πραγματική δομή, που προσεγγίζει το βιοδραστικό κέντρο
 - δεν έχει πιθανότητα να αποτελεί την πραγματική δομή, που προσεγγίζει το βιοδραστικό κέντρο
 - δεν έχει σχέση με την πραγματική δομή, που θα προσεγγίσει το βιοδραστικό κέντρο του υποδοχέα
6. Δίνεται το παρακάτω μόριο:



- Μετά από ελαχιστοποίηση της ενέργειάς του
- η ολική συνεισφορά ενέργειας από την τάση κάμψης και διέδρες γωνίες θα αυξηθεί
 - η ολική συνεισφορά ενέργειας από την τάση κάμψης και διέδρες γωνίες θα ελαττωθεί
 - η ολική συνεισφορά ενέργειας από την τάση κάμψης και διέδρες γωνίες δεν θα μεταβληθεί
 - όλα είναι πιθανά

7. Το μόριο του βουταδιενίου μπορεί να υπάρξει στις *s-cis* και *s-trans* διαμορφώσεις.
- Η *s-cis* διαμόρφωση είναι ενεργειακά χαμηλότερη από την *s-trans*
 - Η *s-cis* διαμόρφωση είναι ισοενεργειακή με την *s-trans*
 - Η *s-cis* διαμόρφωση είναι ενεργειακά υψηλότερη από την *s-trans*
 - Δεν μπορούμε να αποφανθούμε



8. Στο σύστημα του διφαινυλίου
- οι δύο δακτύλιοι βρίσκονται υπό γωνία, για να μην ασκούνται απώσεις μεταξύ των ορθο-υδρογόνων
 - είναι επίπεδο λόγω συζυγίας των δεσμών
 - είναι κάθετοι οι δύο δακτύλιοι
 - α και β μπορεί να είναι ορθά

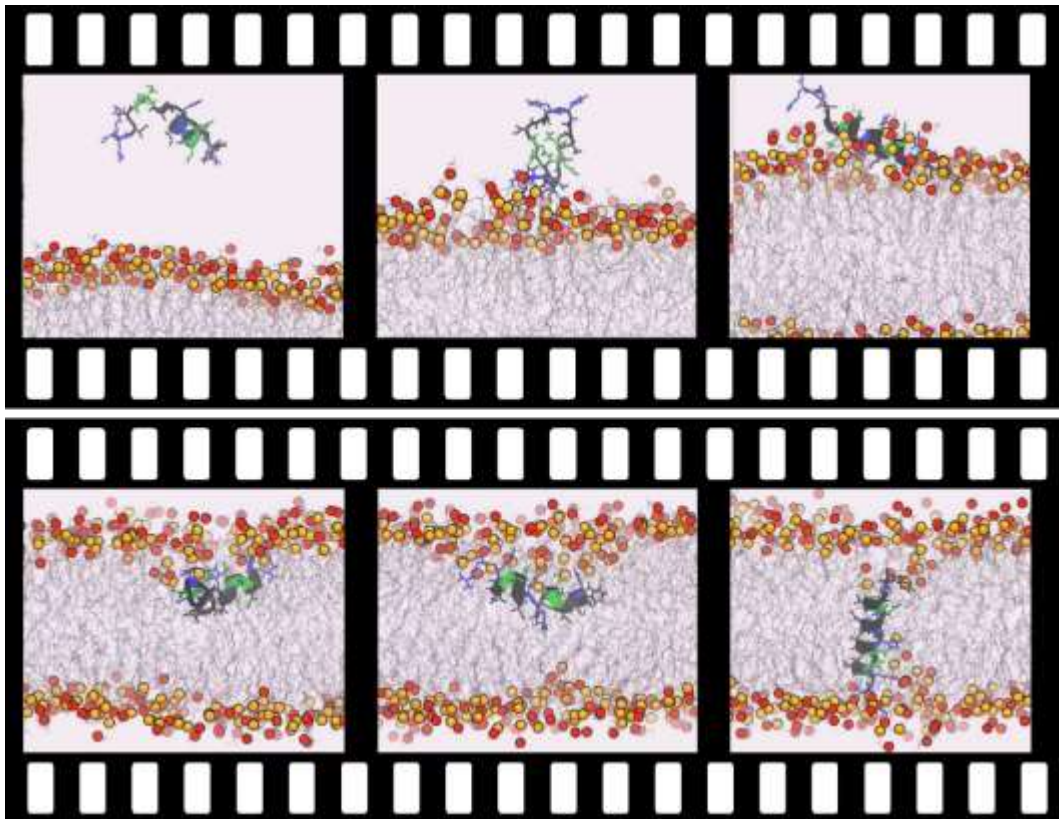
Ασκήσεις

1. Να εφαρμόσετε Μοριακή Δυναμική στην πρωτεΐνη με PDB ID: 3ZLR και να δημιουργήσετε το διάγραμμα «RMSD-χρόνος» που προκύπτει μετά τη μοριακή δυναμική.

2. Να εφαρμόσετε μοριακή δυναμική στο μόριο της ασπιρίνης σε υδατικό περιβάλλον.

Κεφάλαιο 9

Η δομή της «λιποειδούς διπλοστιβάδας» των μεμβρανών
ως καθοριστικός παράγοντας της βιοδραστικότητας
των φαρμακευτικών μορίων



Σύνοψη

Οι λιπιδικές διπλοστιβάδες αποτελούν τον στόχο για αρκετά φαρμακευτικά μόρια. Αποτελούν επίσης φραγμό για να διαπεράσουν τα φαρμακευτικά μόρια προς το κύτταρο. Ο σημαντικός ρόλος οφείλεται στη δομή και τα συστατικά της.

Προαπαιτούμενη γνώση

Γνώση της δομής και των συστατικών που απαρτίζουν τις λιπιδικές διπλοστιβάδες.

9.1 Σύνθεση και δομή των μεμβρανών



Οι βιολογικές μεμβράνες αποτελούνται από νερό (~20% κ.β.), λιπίδια, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες. Τα σχετικά ποσοστά λιπιδίων και πρωτεϊνών ποικίλουν πολύ στις διάφορες μεμβράνες, π.χ. το ποσοστό της μυελίνης σε λιπίδια είναι 80%, ενώ το αντίστοιχο της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης είναι 25%.

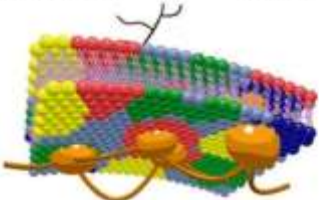
Τα λιπίδια αποτελούν περίπου 50% της μάζας των περισσότερων ζωικών κυττάρων. Υπάρχουν περίπου 5 εκατομμύρια μόρια λιπιδίων σε 1cm^2 μεμβράνης.

Οι σημαντικότερες κατηγορίες λιπιδίων είναι τα φωσφολιπίδια, η χοληστερόλη και τα γλυκολιπίδια. Στις μεμβράνες, τα φωσφολιπίδια είναι συχνά ακόρεστα. Η ποσότητα της χοληστερόλης μπορεί να είναι ισομοριακή με αυτή των φωσφολιπιδίων και είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της ρευστότητας των μεμβρανών. Οι μεμβράνες περιέχουν και άλλες στερόλες εκτός της χοληστερόλης. Στα ζωικά κύτταρα, τα γλυκολιπίδια παράγονται από το κεραμίδιο (ceramide), μία πρόδρομο ένωση της σφιγγομυελίνης. Θεωρούνται ότι συμμετέχουν στην προσκόλληση και την αναγνώριση των κυττάρων, καθώς επίσης παρουσιάζουν και προστατευτική λειτουργία.

Η θεωρία του «**ρευστού μωσαϊκού**» (Ενθετο 9.1) δίνει ιδιαίτερη έμφαση στη ρευστότητα των λιπιδίων και στην ετερογένεια της σύστασης της μεμβράνης ως σύνολο.

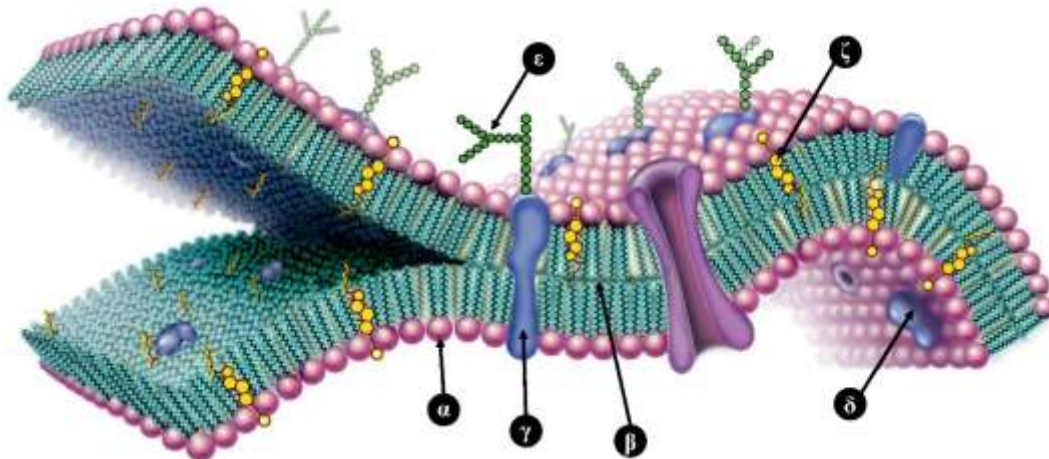
Ένθετο 9.1

		<p>Η έννοια πως υπάρχουν ολόκληρες πρωτεΐνες ενσωματωμένες στην λιπιδική διπλοστιβάδα σχηματίζοντας μια δυναμική δομή προέκυψε με το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού των Singer και Nicolson το 1972, το οποίο εξακολουθεί να είναι αποδεκτό ως το βασικό πλαίσιο της δομής των πλισματικών μεμβρανών. Παρά το γεγονός ότι το πρότυπο του ρευστού μωσαϊκού χρησιμοποιείται εκτεταμένα, πειραματικά δεδομένα συνηγορούν στην περαιτέρω βελτίωσή του. Για παράδειγμα, πρόσφατα αποτελέσματα συνηγορούν στην ύπαρξη περιοχών διαφορετικής ρευστότητας στη μεμβράνη (domains) (κάτω σχήμα). Αυτό, τη βοήθη στην άσκηση διάφορων λειτουργιών της με αποτελεσματικότερο τρόπο.</p>
<p>Singer Seymour J. (1924–2017)</p>	<p>Nicolson Garth L. (1943–)</p>	



Στο πρότυπο του ρευστού μωσαϊκού προτείνεται μια ρευστή διπλοστιβάδα από φωσφολιπίδια, στην οποία ενσωματώνονται διάφορες πρωτεΐνες και έτσι η διπλοστιβάδα μοιάζει με ένα μωσαϊκό. Οι περισσότερες από αυτές τη διαπερνούν, ενώ άλλες εισδύουν στη διπλοστιβάδα μόνο μέχρι σε ένα συγκεκριμένο βάθος. Επίσης στην εσωτερική επιφάνεια της μεμβράνης συνδέονται και άλλες μη ενσωματωμένες πρωτεΐνες, οι **περιφερικές** πρωτεΐνες. Τέλος, αλυσίδες ολιγοσακχαριτών συνδέονται στενά, τόσο με τις πρωτεΐνες που καλούνται γλυκοπρωτεΐνες, όσο και με ορισμένα

λιπίδια, όπως τα γαγγλιοσίδια (Σχήμα 9.1).



Σχήμα 9.1 Δομή μεμβρανών. Απεικόνιση της πλασματικής μεμβράνης. (α) λιπίδιο, (β) λιποειδής διπλοστιβάδα, (γ) ενσωματωμένη πρωτεΐνη, (δ) περιφερική πρωτεΐνη, (ε) αλυσίδα υδατάνθρακα, (ζ) χοληστερόλη.

Το λειτουργικό έργο της κυτταρικής μεμβράνης είναι αρκετά σημαντικό. Η μεμβράνη δρα ως ρυθμιστής του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος και συγχρόνως λειτουργεί ως επικοινωνιακό δίκτυο μεταξύ των κυττάρων, μέσω υποδοχέων που έχει στην επιφάνειά της.

Η πιο σημαντική λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης είναι ο σχηματισμός ενός φράγματος μεταξύ του κυττάρου και του περιβάλλοντός του, με σκοπό τη διατήρηση της σταθερότητας του κυτταροπλάσματος και την προστασία του κυττάρου από δυσμενείς για τη ζωή και τη λειτουργία του εξωτερικές συνθήκες. Συγχρόνως, όμως, απαιτείται μία συνεχής ροή ύλης και ενέργειας από το εξωτερικό περιβάλλον του κυττάρου προς το εσωτερικό του και αντίστροφα. Η ροή αυτή καθορίζεται από τα δομικά χαρακτηριστικά της κυτταρικής μεμβράνης, η οποία πρέπει να πληρεί τις εξής ιδιότητες:

- ♦ να είναι αδιαπέραστη από διάφορες ανεπιθύμητες ουσίες, που μπορεί να διαταράσσουν την κανονική λειτουργία του κυττάρου και
- ♦ να είναι διαπερατή από ενώσεις και συστατικά, που είναι απαραίτητα για να ασκήσει το κύτταρο τη βιολογική του δράση.

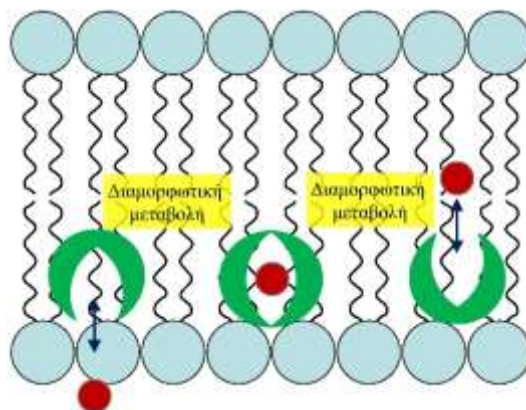
Η στεγανότητα της μεμβράνης οφείλεται στο λιποειδή πυρήνα της, ο οποίος είναι υδρόφοβος και δεν επιτρέπει την είσοδο νερού ή φορτισμένων μορίων στο εσωτερικό του κυττάρου. Επιπλέον όμως, υπάρχουν πρωτεϊνικοί διάλυοι και συστήματα μεταφοράς, η λειτουργία των οποίων είναι η ρύθμιση της διαπερατότητας της πλασματικής μεμβράνης, σύμφωνα με τις ιδιαίτερες απαιτήσεις του κυττάρου. Έτσι, οι μεμβράνες μέσω των λιπιδίων δρουν ως φραγμοί του κυττάρου με εκλεκτικές διαπερατότητες σε υλικό και πληροφορίες. Οι εκλεκτικές λειτουργίες των μεμβρανών είναι το αποτέλεσμα της ύπαρξης διαφόρων πρωτεϊνών. Τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες δρουν συμπληρωματικά στον έλεγχο της διαπερατότητας της μεμβράνης.

Μεταφορά ιόντων στις μεμβράνες: Τα ιονοφόρα είναι υδρόφοβα μόρια, τα οποία διευκολύνουν τη διάχυση των ιόντων μέσω των λιποειδών διπλοστιβάδων των μεμβρανών. Είναι φυσικά προϊόντα, απομονωμένα από μικροοργανισμούς ή και συνθετικά μόρια. Το εσωτερικό τμήμα των ιονοφόρων αποτελείται από πολικά τμήματα με γεωμετρία τετραέδρου ή οκταέδρου, μέσα στο οποίο προσαρμόζεται και εσωκλείεται το ιόν, που πρόκειται να μεταφερθεί. Γύρω από αυτή την πολική μήτρα υπάρχουν υδρόφοβα τμήματα, που επιτρέπουν την αύξηση της διαλυτότητας του συμπλέγματος ιονοφόρου και ιόντος σε άπολους διαλύτες ή στις λιπιδικές μεμβράνες. Το ιονοφόρο θωρακίζει το ηλεκτρικό φορτίο, καθώς μεταφέρει το ιόν από τη μεμβράνη μέσω διάχυσης,

εξασφαλίζοντάς του με αυτό τον τρόπο ένα πολικό περιβάλλον.

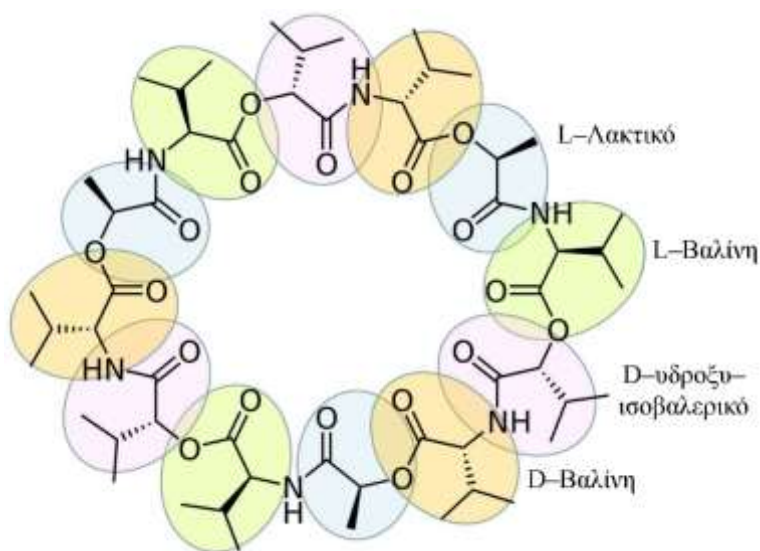
Η διαδικασία μεταφοράς ιόντων από τα ιονοφόρα μπορεί να γίνει με έναν από τους παρακάτω τρόπους:

♦ Δέσμευση του ιόντος από το ιονοφόρο μόριο και μεταφορά του μέσω διαμορφωτικών αλλαγών. Οι αλλαγές αυτές στη διαμόρφωση σχηματίζουν μία υδρόφοβη λιπιδική μήτρα, που προστατεύει το ιόν κατά τη διαδικασία διάχυσης. (Σχήμα 9.2).



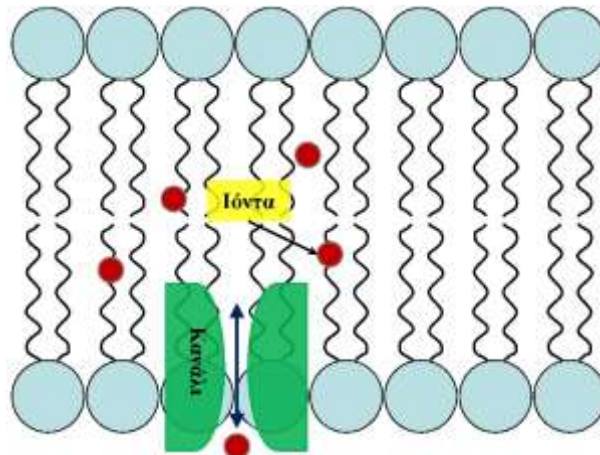
Σχήμα 9.2 Διαπερατότητα ιόντων μέσω της υδρόφοβης λιπιδικής μήτρας από μόρια μεταφορείς.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα μορίου μεταφορέα είναι η βαλινομυκίνη (Σχήμα 9.3), η οποία μεταφέρει ιόντα καλίου (K^+) διαμέσου των μεμβρανών. Είναι ένα κυκλικό μόριο, που σχηματίζεται από τρεις επαναλήψεις της αλληλουχίας L-Βαλίνης, D-υδροξυ-ισοβαλερικό οξύ, D-Βαλίνη, L-Λακτικό οξύ (Σχήμα 9.3).



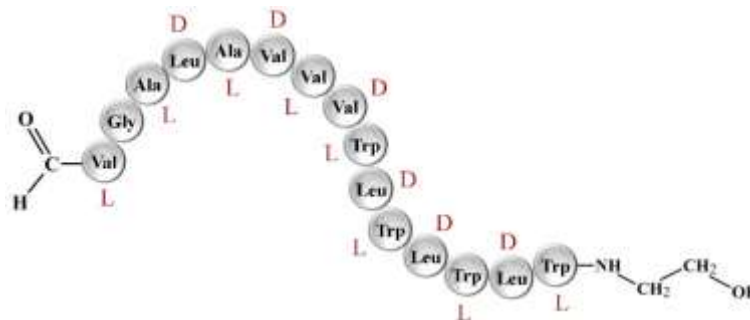
Σχήμα 9.3 Χημική δομή της βαλινομυκίνης.

♦ Ιοντικά κανάλια δημιουργούν μικρούς πόρους, οι οποίοι εκτείνονται κατά μήκος της μεμβράνης. Όταν ο πόρος είναι ανοικτός, επιτρέπεται η εισχώρηση και διάχυση ιόντων συγκεκριμένου μεγέθους και φορτίου (Σχήμα 9.4).



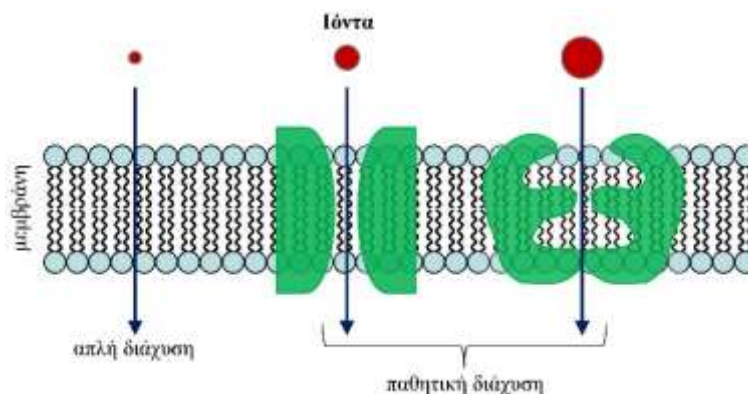
Σχήμα 9.4 Μεταφορά ιόντων μέσω των ιοντικών καναλιών.

Η γραμισιδίνη A (Σχήμα 9.5) είναι ένα παράδειγμα ιονοφόρου, που δημιουργεί κανάλια στη μεμβράνη. Είναι ένα ασυνήθιστο πεπτιδίο, αφού αποτελείται από 15 αμινοξέα με εναλλασσόμενη D και L αλληλουχία. Επιπλέον όλα τα αμινοξέα περιέχουν υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες (R – groups).



Σχήμα 9.5 Χημική δομή γραμισιδίνης A.

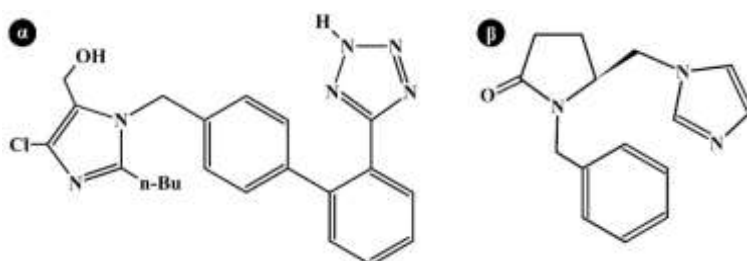
Τα ιονοφόρα επιτρέπουν την παθητική διάχυση των ιόντων. Η κατεύθυνση της μεταφοράς των ιόντων διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης, καθορίζεται από τη συγκέντρωση των ιόντων και η διάχυση γίνεται από μεγαλύτερες σε μικρότερες συγκεντρώσεις. Επιπλέον, το φορτίο του ιόντος παίζει καθοριστικό ρόλο για τη διάχυσή του (Σχήμα 9.6) .



Σχήμα 9.6 Διάχυση ιόντων διαμέσου των μεμβρανών.

Ο ρόλος των μεμβρανών στη Φαρμακευτική Χημεία: Οι κυτταρικές μεμβράνες παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον και από πλευράς φαρμακολογίας και ιδιαίτερα Φαρμακευτικής Χημείας. Τα φαρμακευτικά μόρια, για να εξασκήσουν τη δράση τους στο εσωτερικό του κυττάρου, πρέπει να διαπεράσουν τις μεμβρανικές λιποειδείς διπλοστιβάδες. Αν δεν έχουν τα κατάλληλα στερεοηλεκτρονιακά χαρακτηριστικά, η εισδοχή τους καθίσταται αδύνατη. Επίσης, πολλά φάρμακα δρουν απευθείας στους μεμβρανικούς υποδοχείς. Η αλληλεπίδραση τους αυτή οδηγεί σε μήνυμα, που θα μεταδοθεί περαιτέρω στο κύτταρο και έτσι το φάρμακο θα εξασκήσει τη βιολογική του δράση. Αρκετά φάρμακα είναι πολύ λιπόφιλα και προτιμούν να εισδύσουν μέσα στις λιποειδείς διπλοστιβάδες και να διαχυθούν σε αυτές, προτού δράσουν στον υποδοχέα. Εδώ το πρώτο μήνυμα για τη δράση του φαρμάκου σηματοδοτείται με την αλλαγή, που προκαλείται στις διαμορφώσεις των λιπιδίων από τα φαρμακευτικά μόρια. Βιολογικά δραστικά μόρια έχουν ακόμη τη δυνατότητα να εξασκήσουν τη βιολογική τους δράση απευθείας μέσω των λιπιδίων.

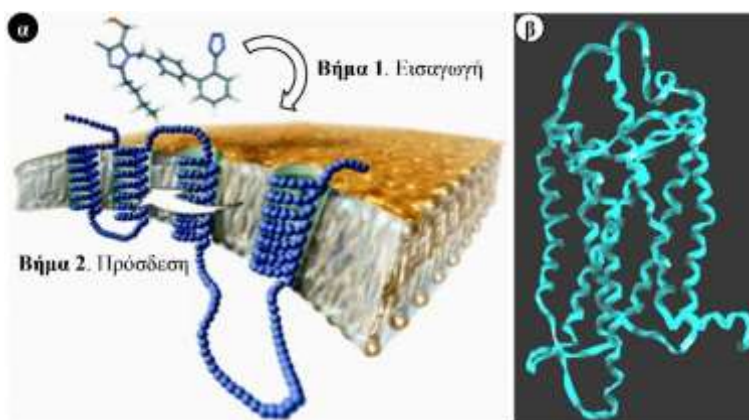
Η αλληλεπίδραση φαρμακευτικών μορίων με τις μεμβράνες: Το παρακάτω ζεύγος φαρμακευτικών μορίων αλληλεπιδρά με τον AT_1 υποδοχέα και ανταγωνίζονται την αγγειοσυσταλτική δράση της πεπτιδορμόνης Αγγειοτασίνης II (Σχήμα 9.7).



Σχήμα 9.7 Χημικές δομές (α) λοσαρτάνης και (β) MMK1.

Ποια είναι η πορεία του φαρμάκου, ώστε να φτάσει στο ενεργό κέντρο του AT_1 υποδοχέα;

Στο Σχήμα 14 εμφανίζεται ένας πιθανός μηχανισμός για την προσέγγιση του AT_1 ανταγωνιστή, στο ενεργό κέντρο του υποδοχέα. Ο προτεινόμενος αυτός μηχανισμός είναι απόρροια βιοφυσικών μελετών. Στο πρώτο βήμα το φαρμακευτικό μόριο πρέπει να ξεπεράσει τον υδατινό φραγμό της μεμβράνης. Στη συνέχεια εισέρχεται στις λιποειδείς διπλοστιβάδες και με πλευρική διάχυση κατευθύνεται στο ενεργό κέντρο του AT_1 υποδοχέα, όπου και προσδένεται.

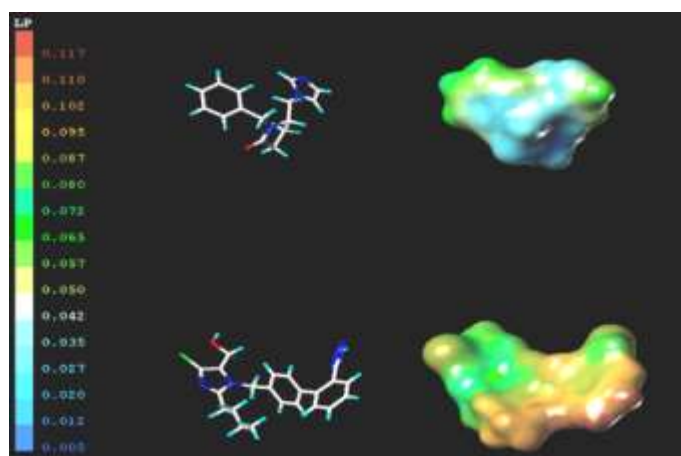


Σχήμα 9.8 (α) Πορεία της λοσαρτάνης σε δύο βήματα προς το στόχο. (β) Τριδιάστατη δομή του ανθρώπινου AT_1 υποδοχέα. Το μοντέλο έχει δομηθεί με βάση τη διαμόρφωση του υποδοχέα της ροδοψίνης.

Η λοσαρτάνη είναι ένα φαρμακευτικό μόριο, το οποίο επιτυγχάνει το στόχο αυτό. Είναι αμφίφιλο μόριο, διαλύεται σε υδατικό περιβάλλον και λόγω των λιπόφιλων τμημάτων του μπορεί να εισέρχεται στο μεμβρανικό υπόστρωμα. Εκεί, με διάχυση προσεγγίζει το στόχο.

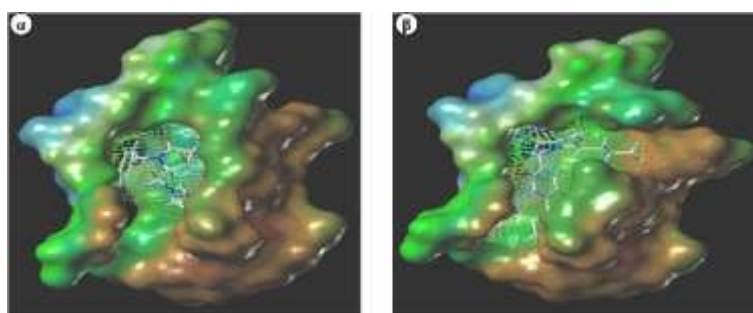
Στην προσπάθεια ανεύρεσης οργανικών μορίων με απλούστερη συνθετική πορεία και βέλτιστες φαρμακοκινητικές ιδιότητες, οδηγηθήκαμε στο σχεδιασμό και τη σύνθεση του MMK1. Το μόριο αυτό συντέθηκε στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο εργαστήριο της Καθηγήτριας Π. Μουτεβελή – Μηνακάκη.

Το καινοτόμο συνθετικό μόριο κατευθύνεται προς τον υποδοχέα έχοντας την ίδια τοπογραφική θέση στην μεμβράνη, όπως η λοσαρτάνη. Το MMK1 είναι υδρόφιλο και δεν αναμένεται να διευθετείται τοπογραφικά σε ένα λιπόφιλο περιβάλλον. Περιέχει όμως στη δομή του και λιπόφιλα τμήματα, τα οποία του επιτρέπουν να διευθετείται σε ένα ενδιάμεσης πολικότητας τμήμα της μεμβράνης, όπως συμβαίνει με τη λοσαρτάνη. Το λιποφιλικό προφίλ των δύο μορίων παρουσιάζεται στο Σχήμα 9.9.



Σχήμα 9.9 Το σχετικό λιποφιλικό προφίλ της λοσαρτάνης και του MMK1. Με μπλε χρώμα παριστάνεται το υδρόφιλο τμήμα του μορίου και με καφέ το λιπόφιλο. Τα ενδιάμεσα χρώματα παριστάνουν ενδιάμεση πολικότητα.

Τα δύο μόρια προσεγγίζουν το ενεργό κέντρο. Τα πειράματα πρόσδεσης στον υποδοχέα (docking) έδειξαν ότι τα μόρια μπορούν να προσδεθούν, στην ίδια θέση του υποδοχέα (Σχήμα 9.10) με διαφορετικό όμως τρόπο.. Η διαφορά έγκειται στο ότι οι αλληλεπιδράσεις τους δεν είναι ισοδύναμες, και σε αυτό οφείλεται η μικρότερη δράση του MMK1. Η λοσαρτάνη εξασκεί –εκτός από τις λιπόφιλες αλληλεπιδράσεις– και ηλεκτροστατικές. Αντίθετα, το MMK1 χαρακτηρίζεται κυρίως μόνο από λιπόφιλες αλληλεπιδράσεις. Έτσι –στο παράδειγμα αυτό– γίνεται εμφανές πόσο τα λιπόφιλα και υδρόφιλα φαρμακοφόρα τμήματα κάποιου μορίου είναι καθοριστικά για τη βιολογική του δράση.

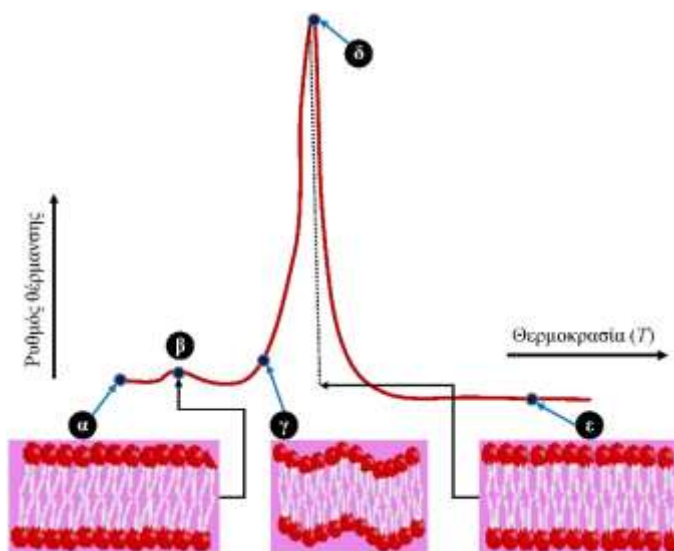


Σχήμα 9.10 (α) Το MMK1 και (β) η λοσαρτάνη στη θέση του υποδοχέα

Χρήση μοριακής δυναμικής. Προσομοιώσεις στις λιποειδείς διπλοστιβάδες.

Οι λιποειδείς διπλοστιβάδες μπορούν να υπάρξουν σε μορφή άκαμπτης στερεάς γέλης (gel) ή υγρού κρυστάλλου, ανάλογα με τη θερμοκρασία ή και σε ενδιάμεσες φάσεις. Η «μετάβαση φάσης» μεταξύ αυτών των δύο καταστάσεων, μπορεί να ανιχνευθεί με τη Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης, μέσω της οποίας μετράται η αύξηση της θερμοκρασίας και της θερμότητας, που συνδέεται με τη μετάβαση φάσης. Στη φάση πηκτής, οι ακυλικές αλυσίδες επεκτείνονται πλήρως. Κατά τη θερμοκρασία μετάβασης, οι ακυλικές αλυσίδες διαστρεβλώνονται και συμβαίνει *trans-gauche* ισομερίωση.

Σε λιποειδείς διπλοστιβάδες, μοντέλα όπου χρησιμοποιούνται μόνο ενυδατωμένες φωσφατιδυλοχολίνες, στο θερμογράφημα (Σχήμα 9.11) παρατηρούνται διάφορες μεσομορφικές καταστάσεις.



Σχήμα 9.11 Μετάβαση φάσης λιπιδικής διπλοστιβάδας, όπως καταγράφεται με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης: (α) φάση στερεάς πηκτής, (β) προμετάβαση φάσης, (γ) ενδιάμεση φάση, (δ) μετάβαση φάσης, (ε) υγρή κρυσταλλική φάση.

Παράγοντες που επηρεάζουν τη θερμοκρασία μετάβασης φάσης.

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν τη θερμοκρασία μετάβασης φάσης.

♦ **Μήκος αλυσίδων:** Παρατηρείται αύξηση της θερμοκρασίας μετάβασης με αύξηση του μήκους των αλυσίδων.

♦ **Ακορεστότητα:** Η ύπαρξη ακόρεστων δεσμών στις αλυσίδες των λιπιδίων, προκαλεί ελάττωση στη θερμοκρασία μετάβασης φάσης, επειδή τα ακόρεστα λιπαρά οξέα δεν «συσκευάζονται» (packing) ικανοποιητικά, λόγω των ασθενέστερων λιπόφιλων αλληλεπιδράσεων (εξαιτίας της ύπαρξης των ακόρεστων δεσμών) μεταξύ των ακυλικών αλυσίδων και των αλληλεπιδράσεων van der Waals.

Παρόλο που τα μοντέλα των λιποειδών διπλοστιβάδων, που αποτελούνται από ένα ή περισσότερες κυρίως φωσφατιδυλοχολίνες, προσομοιάζουν τις δυναμικές ιδιότητες των βιολογικών μεμβρανών, οι τελευταίες αποτελούν συμπλοκότερο σύστημα. Αυτό οφείλεται κυρίως στην περιεκτικότητά τους σε χοληστερόλη, η οποία μπορεί να φθάσει μέχρι 50% κατά βάρος. Οι άκαμπτοι, επίπεδοι στεροειδείς δακτύλιοι αλληλεπιδρούν με τις περιοχές των αλυσίδων, που είναι στην επιφάνεια της μεμβράνης. Αυτό συμβάλλει στην κατασκευή μίας ενδιάμεσης ρευστότητας λιποειδούς

διπλοστιβάδας και μειώνει τη διαπερατότητά της σε μικρά μόρια. Έτσι αυξάνει τη ρευστότητα των ακυλικών αλυσίδων σε θερμοκρασίες χαμηλότερες της T_m , ενώ ελαττώνει τη ρευστότητα σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες της T_m . Η προσθήκη χοληστερόλης σε διπλοστιβάδες DPPC, επιφέρει μείωση της T_m και ελαττώνει τη θερμότητα, που απορροφάται κατά τη μετάβαση (ΔH), έως ότου αυτή εξαλείφεται σε μοριακό κλάσμα χοληστερόλης–φωσφολιπιδίου 1:1. Η ύπαρξη των ογκωδών μορίων της χοληστερόλης εμποδίζει επίσης την οργάνωση (packing) των αλυσίδων, και αυτό οδηγεί στην δημιουργία «πηκτωμάτων».

Οι πρωτεΐνες μεμβρανών είναι επίσης ικανές να κινηθούν μέσα στη διπλοστιβάδα. Οι πρωτεΐνες μεμβρανών χαρακτηρίζονται από περιστροφική και πλευρική διάχυση. Αυτή η πλευρική διάχυση είναι μεγάλης λειτουργικής σπουδαιότητας, γιατί πολλές από αυτές τις πρωτεΐνες είναι οι φορείς μεταφοράς λιπόφιλων μορίων μέσα στη μεμβράνη.

Παρατήρηση της φάσης μετασχηματισμού και της ρευστότητας των μεμβρανών μέσω φασματοσκοπικών μεθόδων

Εκτός από τη Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης, υπάρχουν και άλλες τεχνικές, οι οποίες είναι χρήσιμες για την απόκτηση πληροφοριών, που αφορούν τη μεσομορφική κατάσταση των ακυλικών αλυσίδων, καθώς και το λόγο *gauche/trans* που υπάρχουν σε αυτές τις ακυλικές αλυσίδες. Μία τέτοια τεχνική είναι η Φασματοσκοπία Raman. Από τις παρατηρούμενες αλλαγές στις εντάσεις των κορυφών, ιδιαίτερα αυτών που εμφανίζονται γύρω στα 1090 και 1130 cm^{-1} , εξάγονται χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με τις ενδομοριακές αλλαγές (*trans, gauche*), που συντελούνται στη διαμόρφωση των ακυλικών αλυσίδων της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Επίσης, με τη μεθοδολογία του NMR Στερεάς Κατάστασης μπορεί να υπολογιστεί «η τάξη παραμέτρου (order parameter)», η οποία σχετίζεται με τη ρευστότητα μίας λιποειδούς διπλοστιβάδας. Η ανάλυση του όρου ξεφεύγει από τους στόχους του βιβλίου αυτού.

Συνεισφορά της μοριακής δυναμικής στη δημιουργία μοντέλων μεμβρανών και των αλληλεπιδράσεων φαρμακευτικών μορίων σε αυτές.

Η Μοριακή Δυναμική μπορεί να συνεισφέρει στη δημιουργία μοριακών μοντέλων με βάση τα πειραματικά δεδομένα (π.χ. κρυσταλλογραφικά δεδομένα ακτίνων-X και φασματοσκοπικών μεθόδων). Ένα μοντέλο μίας λιποειδούς διπλοστιβάδας, η οποία περιέχει μόνο φωσφολιπίδιο διπαλμιτικής φωσφατιδυλοχολίνης και νερό, παρέχεται στο Σχήμα 9.12.

Τέτοια μοντέλα βοηθούν στην κατανόηση της αλληλεπίδρασης φαρμακευτικών και βιολογικά σημαντικών μορίων με λιποειδείς διπλοστιβάδες.

Οι λιποειδείς μεμβράνες των ευκαρυωτικών κυττάρων περιέχουν χοληστερόλη και άλλες παρεμφερείς δομικά στερόλες. Στα κύτταρα των θηλαστικών η χοληστερόλη βρίσκεται και μέχρι 50% της λιπιδικής συγκέντρωσης. Η χοληστερόλη εκτελεί διάφορους ρόλους στα ανθρώπινα κύτταρα και είναι η πρόδρομος ένωση για τη σύνθεση ορμονών και πολλών άλλων βιολογικά σημαντικών ενώσεων.

Η επίδραση της χοληστερόλης και άλλων βιολογικά σημαντικών στερολών, όπως της λινωστερόλης και εργοστερόλης στις λειτουργικές, δομικές και δυναμικές ιδιότητες των μεμβρανών, έχει εστιάσει το ερευνητικό ενδιαφέρον πολλών ερευνητών τις τελευταίες δεκαετίες. Η χοληστερόλη αποδείχθηκε να επηρεάζει τις φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών και να ρυθμίζει τη ρευστότητά τους, καθώς και να διατελεί άλλους ρόλους, όπως είναι η μεταφορά σήματος και η διαπερατότητα των ιόντων. Η εργοστερόλη (προβιταμίνη D2) βρίσκεται στις μεμβράνες των μυκήτων, τύπων μαγιάς και πρωτόζωων. Η λανωστερόλη είναι εξελικτικά η πρόδρομος ουσία της χοληστερόλης και το κύριο συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών.

Το ερώτημα –που προκύπτει για τις ενώσεις αυτές– είναι, γιατί ενώ είναι τόσο χημικά παρεμφερείς, εξασκούν διαφορετική βιολογική δράση. Επηρεάζουν, δηλαδή ποικιλότροπα τις

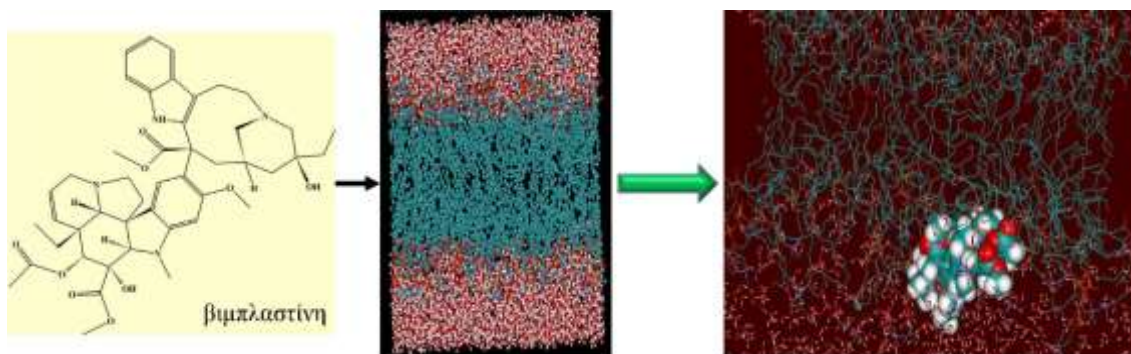
ιδιότητες των μεμβρανών.

Η χοληστερόλη περιέχει μία κορεσμένη αλκυλική πλευρική αλυσίδα, ενώ η εργοστερόλη έχει ένα *trans* διπλό δεσμό στη θέση C22. Η λανοστερόλη έχει διπλό δεσμό στη θέση C24. Η κύρια δομική διαφορά της λανοστερόλης, σε σχέση με τις άλλες δύο στερόλες, είναι η παρουσία τριών επιπλέον μεθυλομάδων (δύο στη θέση C4 και μία στη θέση C14), οι οποίες επεκτείνονται εκτός της επιφάνειας του στεροειδούς δακτυλίου. Στο σύστημα του στεροειδούς δακτυλίου η χοληστερόλη έχει ένα διπλό δεσμό μεταξύ C5 και C6 σε αντίθεση με τη λανοστερόλη, η οποία περιέχει διπλό δεσμό μεταξύ C8 και C9. Η εργοστερόλη, από την άλλη πλευρά έχει ένα συζυγές π-σύστημα στον δεύτερο στεροειδή δακτύλιο ο οποίος έχει δύο *cis* υδρογόνα στις θέσεις C6 και C7.

Όπως αποδεικνύεται από διάφορες φυσικοχημικές μεθόδους, οι μικρές διαφορές μεταξύ των τριών στερολών είναι ικανές να δώσουν διαφορετικούς βιολογικούς ρόλους. Για παράδειγμα, μόνο η χοληστερόλη βρέθηκε να επηρεάζει τη φάση μετασχηματισμού των φωσφολιπιδικών μεμβρανών με τέτοιο τρόπο, ώστε να σχηματίζει μία νέα θερμοδυναμική σταθερή περιοχή μεταξύ της υγρής κρυσταλλικής και στερεάς φάσης.

Η Μοριακή Δυναμική εφαρμόστηκε πρόσφατα, για να δώσει περισσότερες λεπτομέρειες στις δυναμικές διαφορές των τριών στερολών. Έτσι, αρχίζει να κατανοείται σε μοριακό επίπεδο σε συστήματα, όπως είναι οι βιολογικές μεμβράνες, γιατί οι μικρές δομικές διαφορές, που περιγράψαμε πιο πάνω είναι τόσο σημαντικές, ώστε να προσδώσουν διαφορετικό βιολογικό ρόλο στα μόρια.

Επίσης μελετάται με μοριακή δυναμική η ενδοπεριχώρηση (*interdigitation*) ογκωδών μορίων, όπως είναι η βιμπλασίνη (Σχήμα 9.12).



Σχήμα 9.12 Ενδοπεριχώρηση αλκυλικών αλυσίδων με την εισχώρηση του ογκώδου αντικαρκινικού μορίου της βιμπλαστίνης.

Βιβλιογραφία/Αναφορές

1. Andrea T. Da Poian A.T., Castanho M.A.R.B. (2021). *Integrative Human Biochemistry*. A Textbook for Medical Biochemistry. 2nd Edition. Springer.
2. Singer S.J., Nicolson G.L. (1972). The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175(4023), 720–731.
3. Doolittle R.F. (2017). S. Jonathan Singer: A man who loved ideas and detested walls. *PNAS*, 114(14), 3550–3551.
4. Nicolson G.L. (2013). Update of the 1972 Singer–Nicolson Fluid–Mosaic Model of Membrane Structure. *Discoveries*, Oct–Dec; 1(1): e3.

Κριτήρια αξιολόγησης

9.1 Ερωτήσεις

1. Ποιο πρότυπο της μεμβράνης χρησιμοποιείται και ποια είναι τα κύρια χαρακτηριστικά του;
2. Πώς μπορεί να δράσει ένα φαρμακευτικό μόριο στο επίπεδο της λιποειδούς διπλοστιβάδας;
3. Γιατί η λιποειδής διπλοστιβάδα θεωρείται σπουδαίος καθοριστικός παράγων για τη βιολογική δράση ενός μορίου;
4. Ποιος μηχανισμός δράσης σε μοριακό επίπεδο έχει προταθεί για τη λοσαρτάνη;
5. Ποιες αλληλεπιδράσεις υπάρχουν στον AT₁ υποδοχέα στην λοσαρτάνη και ποιες στο MMK1;
6. Γιατί νομίζετε ότι το μόριο MMK1 δεν έχει την ίδια βιολογική δραστηριότητα με τη λοσαρτάνη; Τι θα προτεινάτε για να αυξηθεί η δραστηριότητά του;
7. Να αναφέρετε, γιατί η Μοριακή Δυναμική είναι χρήσιμη στη μελέτη αλληλεπιδράσεων φαρμακευτικών μορίων με λιποειδείς διπλοστιβάδες.
8. Ποιοι παράγοντες επηρεάζουν τη φάση μετασχηματισμού των μεμβρανών;
9. Γιατί η χοληστερόλη συμπεριφέρεται διαφορετικά από τη λανοστερόλη και εργοστερόλη στις λιποειδείς διπλοστιβάδες;

9.2 Ερωτήσεις Σωστού–Λάθους

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Τα βιοδραστικά μόρια πρέπει να μην είναι λιπόφιλα.
2. Τα βιοδραστικά μόρια δρουν μόνο στα φωσφολιπίδια των λιποειδών διπλοστιβάδων.
3. Τα ιοντικά κανάλια βοηθούν την διαπερατότητα των μορίων μέσα από τις λιποειδείς διπλοστιβάδες.
4. Το μοντέλο Singer ανακαλύφθηκε το 1988 και είναι το κατεξοχήν χρησιμοποιούμενο στην διεθνή βιβλιογραφία.
5. Μία νέα θεωρία, που αφορά τις λιποειδείς διπλοστιβάδες, αναφέρει την ύπαρξη ετερογενών περιοχών.
6. Ένα μόριο, για να εξασκήσει τη βιολογική του δράση, πρέπει να περάσει τον φραγμό της βιολογικής μεμβράνης.
7. Η λιποφιλικότητα είναι καθοριστικός παράγοντας για τη βιολογική δράση των φαρμακευτικών μορίων.
8. Η γραμισιδίνη Α είναι ιονοφόρο.
9. Η βαλινομυκίνη δεν αποτελεί μόριο μεταφοράς.
10. Η πορεία ενός φαρμάκου στο στόχο, μπορεί να παρομοιασθεί με την πορεία του Οδυσσέα στην Ιθάκη.

9.3 Ερωτήσεις Πολλαπλής Επιλογής

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση.

1. Ένα φαρμακευτικό μόριο μπορεί να δράσει

α) απευθείας στον υποδοχέα	β) στο λιποειδές τμήμα της διπλοστιβάδας
γ) κανένα από τα πιο πάνω είναι ορθό	δ) και τα δύο είναι ορθά
2. Η λιποειδής διπλοστιβάδα

α) είναι δυναμικό σύστημα	β) είναι στατικό σύστημα
γ) κανένα από τα παραπάνω είναι ορθά	δ) και τα δύο παραπάνω είναι ορθά
3. Ένας υποδοχέας

- α) είναι μη διαμεμβρανικός
- β) μπορεί να περιέχει διαμεμβρανικά τμήματα
- γ) είναι συνήθως εκτός των λιποειδών διπλοστιβάδων
- δ) κανένα από τα παραπάνω

4. Η αλληλεπιχώρηση των αλκυλικών αλυσίδων συμβαίνει, όταν εισχωρούν στη λιποειδή διπλοστιβάδα

- α) μικρά μόρια
- β) ογκώδη μόρια
- γ) υδρόφιλα μόρια
- δ) λιπόφιλα μόρια

5. Η φασματοσκοπία Raman μπορεί να δώσει πληροφορίες για

- α) το λόγο *trans/gauche* στις αλκυλικές αλυσίδες
- β) την ενδοπεριχώρηση των αλκυλικών αλυσίδων
- γ) το λόγο *trans:gauche* στις αλκυλικές αλυσίδες και την ενδοπεριχώρηση των αλκυλικών αλυσίδων
- δ) κανένα από τα παραπάνω

6. Η φασματοσκοπία NMR σε στερεή κατάσταση μπορεί να δώσει πληροφορίες

- α) για τη ρευστότητα των μεμβρανών
- β) την ενδοπεριχώρηση των αλκυλικών αλυσίδων
- γ) για τη ρευστότητα των μεμβρανών και την ενδοπεριχώρηση των αλκυλικών αλυσίδων
- δ) κανένα από τα παραπάνω

7. Τα φωσφολιπίδια στο νερό

- α) κρυσταλλώνονται
- β) παρουσιάζουν πολυμορφισμό
- γ) παρουσιάζουν αμορφισμό
- δ) κανένα από τα παραπάνω

8. Αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί στην αύξηση

- α) της τάξης των λιποειδών διπλοστιβάδων
- β) της ρευστότητας των λιποειδών διπλοστιβάδων
- γ) και τα δύο παραπάνω είναι ορθά
- δ) κανένα από τα παραπάνω είναι ορθά

9.4 Ασκήσεις

1. Να βρείτε από τη βιβλιογραφία μόρια, τα οποία δρουν σε επίπεδο λιποειδούς διπλοστιβάδας και να καταγράψετε τη μοριακή βάση του μηχανισμού δράσης τους.

2. Υπάρχουν μόρια τα οποία, εκτός από τη λιποειδή διπλοστιβάδα και τον υποδοχέα, μπορούν να δράσουν σε άλλα κέντρα (π.χ. DNA); Μελετήστε από τη βιβλιογραφία και αν η απάντηση είναι θετική, δώστε ένα παράδειγμα.

ελα

Απαντήσεις

9.2 Ερωτήσεις Σωστού—Λάθους

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Σ	Λ	Σ	Λ	Σ	Σ	Σ	Σ	Λ	Σ

9.3 Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής

1	2	3	4	5	6	7	9
δ	α	β	β	α	α	β	β

Σκοπίμως κενή σελίδα

Κεφάλαιο 10

Γενικά συμπεράσματα Μελλοντικές προοπτικές της Μοριακής Μοντελοποίησης



Εἶτα λέγει τῷ Θωμᾶ· Φέρε τὸν δάκτυλόν σου ὧδε καὶ ἴδε τὰς χεῖράς μου, καὶ φέρε τὴν χεῖρά σου καὶ βάλε εἰς τὴν πλευράν μου, καὶ μὴ γίνου ἄπιστος, ἀλλὰ πιστός. (Ἰωάννη Κ', 27).

Ένα κεντρικό ερώτημα που θα πρέπει να μας απασχολήσει είναι το μέλλον της Μοριακής Μοντελοποίησης. Ποια αναμένεται να είναι η μελλοντική προσφορά της Μοριακής Μοντελοποίησης; Αναμφίβολα θα αποτελέσει μελλοντικά την προγνωστική και επιβεβαιωτική μεθοδολογία στα πειραματικά δεδομένα.

Νέες μεθοδολογίες θα αναπτύσσονται οι οποίες θα προβλέπουν με περισσότερη ακρίβεια τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ προσδέματος και προσδέτη και τις διαμορφωτικές ιδιότητες του μορίου. Ήδη συνεχώς νέα λογισμικά αναπτύσσονται στη Μοριακή Πρόσδεση και η Μοριακή Δυναμική βρίσκει καινοτόμες εφαρμογές. Πολυπλοκότερα συστήματα όπως οι βιολογικές μεμβράνες θα προσομοιώνονται με μεγαλύτερη ακρίβεια και μεγαλύτερη ταχύτητα λόγω των υπερυπολογιστικών συστημάτων. Η τοπογραφία εισδοχής του μορίου σε αυτές θα μπορεί να εντοπίζεται με χρήση προσμοιώσεων Μοριακής Δυναμικής. Έτσι, δεν θα δαπανάται σημαντικός πειραματικός χρόνος για την απόκτηση αυτών των πληροφοριών.

Ο Ορθολογικός Σχεδιασμός θα εφαρμόζεται ταχύτερα και με μεγαλύτερη ακρίβεια. Η Μοριακή Δυναμική θα βοηθήσει πολύ και στον τομέα αυτό. Πρέπει να κατανοηθεί ότι παρόλο που είμαστε πολύ μακριά από ένα ιδεατό ορθολογικό σχεδιασμό που θα προϋποθέτει ακρίβεια, ταχύτητα και αποτελεσματικότητα, διαφαίνεται ότι ο στόχος αυτός μελλοντικά θα μπορεί να πραγματοποιηθεί.

Θα λέγαμε ότι βρισκόμαστε σε μία εποχή που γνωρίζουμε τον στόχο κι αρχίσαμε το ταξίδι προς την Ιθάκη. Το ταξίδι είναι ακόμη μακρινό και σίγουρα θα το συνοδεύουν οι Λαιστρυγόνες και οι Κύκλωπες. Είναι όμως στην ιδιοσυγκρασία των ανθρώπων πάντα να μελετά και να ερευνά.

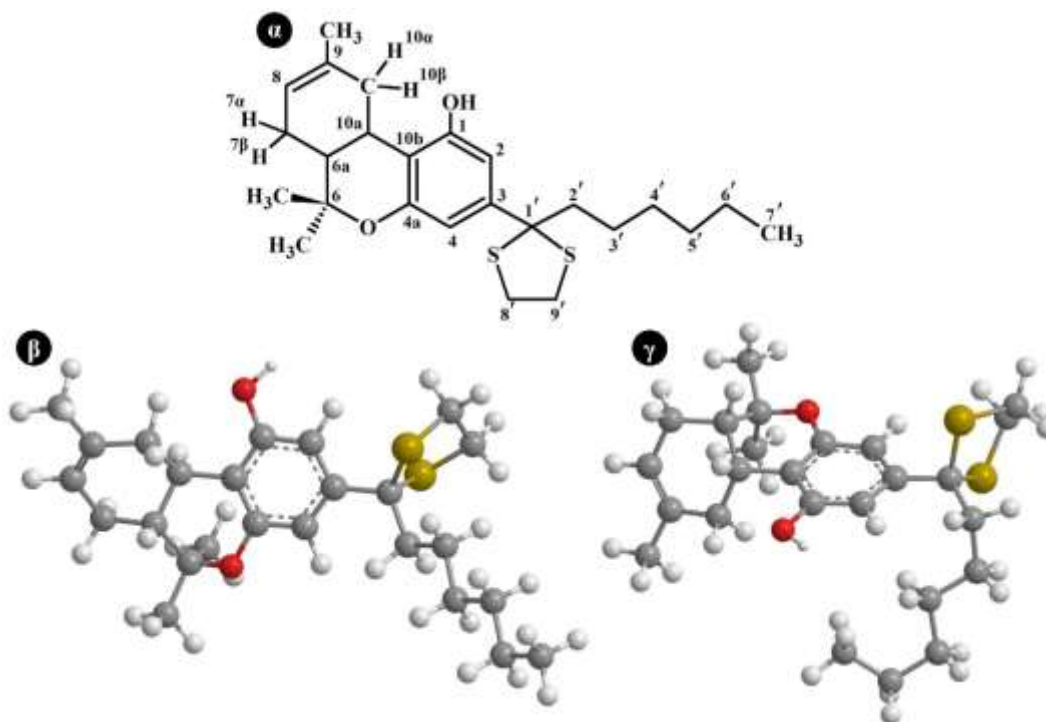
Δύο σημαντικά ερωτήματα τα οποία αντιμετωπίζουν οι φαρμακευτικές επιστήμες είναι τα εξής:

♦ Ποια είναι η πιθανή βιοδραστική διαμόρφωση με την οποία ένα φαρμακευτικό προϊόν προσεγγίζει ένα υποδοχέα ;

♦ πώς αλληλεπιδρά η βιοδραστική διαμόρφωση με το δραστικό κέντρο του υποδοχέα;

Ας αναφέρουμε ένα παράδειγμα από τη δική μας ερευνητική εργασία για να καταδείξουμε πόσο χρήσιμο είναι μελλοντικά το πεδίο της Μοριακής Μοντελοποίησης στην προσέγγιση αυτών των δύο ερωτημάτων. Το παράδειγμα που θα συζητηθεί αναφέρεται στο αναλγητικό κανναβινοειδές AMG-3 το οποίο συντέθηκε από την ομάδα του ερευνητή Δ. Παπαχατζή στο Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Έχουν δημοσιευτεί στη βιβλιογραφία διαφορετικές διαμορφώσεις για το μόριο του κανναβινοειδούς AMG-3. Δύο πιθανές βιοδραστικές διαμορφώσεις οι οποίες είναι σχεδόν ισοενεργειακές παριστάνονται στο Σχήμα 10.1.

Ας εξετάσουμε λοιπόν πως μπορούμε να προσεγγίσουμε τη βιοδραστική διαμόρφωση. Θα εξηγήσουμε τις θεωρητικές και πειραματικές μεθοδολογίες που μπορούν να μας οδηγήσουν στην προσέγγιση αυτού του στόχου. Θα συζητήσουμε μία γενική στρατηγική η οποία θα εφαρμόζεται για όλα τα φαρμακευτικά μόρια. Ανάλογα δε με το κέντρο δράσης του μορίου κάποια από τα στάδια που θα συζητηθούν μπορούν να μην περιλαμβάνονται.



Σχήμα 10.1: (α) Συντακτικός τύπος του AMG-3. Στη διαμόρφωση (β) η αλκυλική αλυσίδα είναι *all trans*. Στη διαμόρφωση (γ) δημιουργούνται *gauche* δεσμοί οι οποίοι οδηγούν στη συστροφή της. Αυτή η συστροφή παρόλο που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενέργειας εντούτοις οδηγεί στη δημιουργία van der Waals αλληλεπιδράσεων με το τρικυκλικό τμήμα που εξισορροπεί την ανύψωση ενέργειας λόγω δημιουργία των *gauche* διαμορφωμένων.

Ένα φαρμακευτικό μόριο ομοιάζει με τον άνθρωπο που χαρακτηρίζεται από κινητική ευελιξία αλλά ταυτόχρονα και κινητικούς περιορισμούς. Η κινητική ευελιξία στα φαρμακευτικά μόρια παρέχεται από τα δομικά ευέλικτα τμήματα ενώ οι κινητικοί του περιορισμοί από τα δύσκαμπτα Τα εύκαμπτα τμήματα δυνητικά μπορούν να λάβουν μεγάλο αριθμό διαμορφώσεων. Από αυτή την ποικιλία των διαμορφώσεων καλούμεθα να ανιχνεύσουμε τις πιθανές βιοδραστικές διαμορφώσεις. Τις διαμορφώσεις οι οποίες δυνητικά θα προάγουν τη βιολογική δράση.

Οι διαμορφώσεις οι οποίες θα προσεγγίσουν και θα προσαρμοσθούν στο **κέντρο δράσης** είναι συνήθως χαμηλής ενέργειας. Γι αυτό το πρώτο βήμα προσέγγισης βιοδραστικών διαμορφώσεων αποτελεί η ελαχιστοποίηση της ενέργειας του μορίου. Τα βήματα που θα αναλυθούν παρακάτω καταγράφονται στον αλγόριθμο του Σχήματος 10.2.

Αν το μόριο είναι σχετικά χαμηλού μοριακού βάρους μπορεί να εφαρμοσθούν υπολογισμοί *ab initio*. Η μεθοδολογία αυτή περιλαμβάνει επίλυση της εξίσωσης Schrödinger και είναι αρκετά χρονοβόρος. Οι ημιεμπειρικές μεθοδολογίες ελαττώνουν τον υπολογιστικό χρόνο με χρήση απλοποιήσεων στην επίλυση της εξίσωσης. Η Μοριακή Μηχανική βασίζεται στην υπόθεση ότι η κατανομή του ηλεκτρονιακού νέφους –είναι βέλτιστη, γι' αυτό μελετώνται μόνο οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πυρήνων. Οι απλουστεύσεις εδώ είναι σημαντικές και το κέρδος σε υπολογιστικό χρόνο είναι σημαντικό.



Σχήμα 10.2 Αλγόριθμος στον οποίο περιγράφεται η στρατηγική εύρεσης πιθανών βιοδραστικών διαμορφώσεων.

Αν το μόριο είναι σχετικά χαμηλού μοριακού βάρους μπορεί να εφαρμοσθούν υπολογισμοί *ab initio*. Η μεθοδολογία αυτή περιλαμβάνει επίλυση της εξίσωσης Schrödinger και είναι αρκετά χρονοβόρος. Οι ημιεμπειρικές μεθοδολογίες ελαττώνουν τον υπολογιστικό χρόνο με χρήση απλοποιήσεων στην επίλυση της εξίσωσης. Η Μοριακή Μηχανική βασίζεται στην υπόθεση ότι η κατανομή του ηλεκτρονιακού νέφους είναι βέλτιστη, γι' αυτό μελετώνται μόνο οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πυρήνων. Οι απλουστεύσεις εδώ είναι σημαντικές και το κέρδος σε υπολογιστικό χρόνο είναι σημαντικό. Γι αυτό η Μοριακή Μηχανική στις Φαρμακευτικές Επιστήμες είναι η κατεξοχήν χρησιμοποιούμενη μέθοδος. Με χρήση αλγορίθμων πρώτης παραγώγου προσεγγίζεται το τοπικό ελάχιστο (π.χ. Steepest Descent, Conjugate Gradient, Powell) και με χρήση αλγορίθμων δεύτερης παραγώγου όπως Newton–Raphson επιτυγχάνεται η εύρεση του τοπικού ελαχίστου.

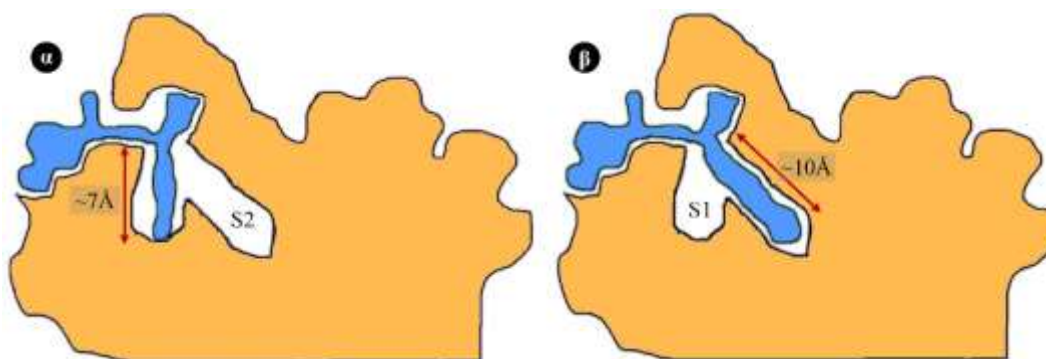
Στην τριδιάστατη απεικόνιση της κατανομής της δυναμικής ενέργειας, εφαρμογή των αλγορίθμων ελαχιστοποίησης της ενέργειας προκαλεί τη μετάβαση των ενεργειακά υψηλών διαμορφώσεων του μορίου, οι οποίες εντοπίζονται στην κορυφή του φρέατος, στον πυθμένα του αντίστοιχου φρέατος (τοπικό ελάχιστο). Οι παραπάνω αλγόριθμοι δεν οδηγούν υποχρεωτικά στο ολικό ελάχιστο δεδομένου ότι είναι αδύνατη η υπερπήδηση του ενεργειακού φράγματος.

Η εύρεση του ολικού ελαχίστου απαιτεί τη χρήση αλγορίθμων διαμορφωτικής ανάλυσης. Παράδειγμα τέτοιου αλγορίθμου αποτελεί αυτό της συστηματικής ανάλυσης (grid scan) όπου διερευνάται η δυναμική ενέργεια του μορίου κατόπιν συστηματικής περιστροφής γύρω από όλες τις διέδρες γωνίες με καθορισμένο βήμα (π.χ. 10°). Η μεθοδολογία αυτή είναι εφαρμόσιμη μόνο όταν ο αριθμός των ευέλικτων διέδρων γωνιών είναι μικρός. Σε αντίθετη περίπτωση, οι πολλαπλοί δυνατοί συνδυασμοί των τιμών τους αυξάνει δραματικά τον υπολογιστικό χρόνο και την απαιτούμενη υπολογιστική ισχύ. Στην περίπτωση αυτή εφαρμόζονται αλγόριθμοι στοχαστικής αναζήτησης (Monte Carlo) όπου διερευνάται ο διαμορφωτικός χώρος κατά τυχαίο τρόπο καθώς και η Μοριακή Δυναμική όπου τα μόρια λαμβάνουν κινητική ενέργεια (μέσω αύξησης της θερμοκρασίας) και προσομοιώνεται η κίνησή τους για κάποιο χρονικό διάστημα. Το τελευταίο στάδιο όλων των

μεθοδολογιών εξεύρεσης χαμηλών ενεργειακών διαμορφώσεων με την εξερεύνηση του διαμορφωτικού χώρου αποτελεί η εφαρμογή ενέργειας ελαχιστοποίησης.

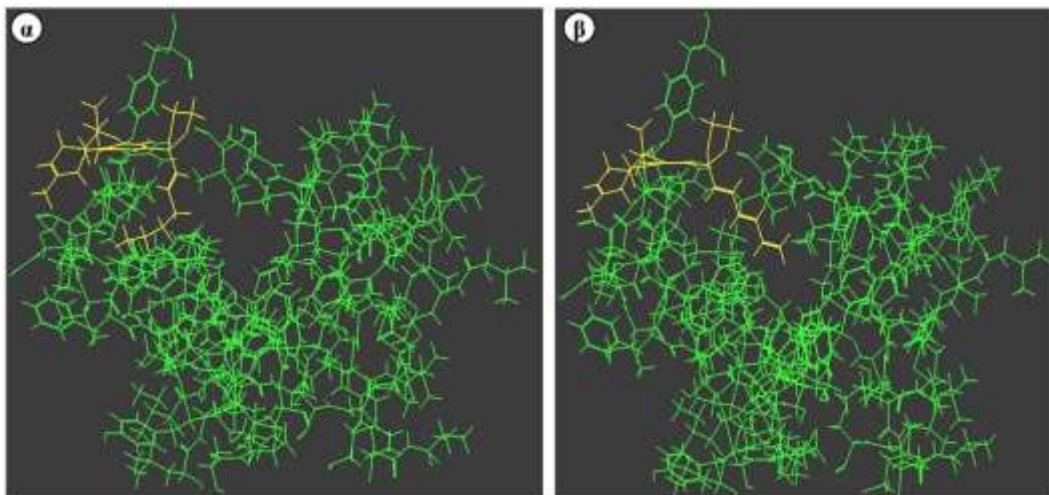
Οι μεθοδολογίες αυτές επιτρέπουν την υπέρβαση των τοπικών ελαχίστων και την πιθανή εύρεση των ολικών ελαχίστων. Το αποτέλεσμα των θεωρητικών αυτών μελετών είναι η εύρεση αριθμού πιθανών βιοδραστικών διαμορφωμένων. Παράλληλα μία μέση ή μέσες διαμορφώσεις του μορίου θα προκύψουν από τη μελέτη του μορίου με χρήση Φασματοσκοπίας NMR σε ένα ή περισσότερα περιβάλλοντα. Οι διαγνωστικές παράμετροι που χρησιμοποιούνται για τη διαμορφωτική ανάλυση στην Φασματοσκοπία NMR είναι οι γειτνιαζουσες σταθερές σύζευξης και το φαινόμενο Overhauser. Το φαινόμενο Overhauser παρατηρείται από πυρήνες οι οποίοι βρίσκονται σε χωρική εγγύτητα. Με την καταγραφή αυτών των χωρικά γειτνιαζόντων πυρήνων μπορεί να υπολογισθεί η διαμόρφωση η οποία είναι συνεπής με όλες αυτές τις παρατηρούμενες χωρικές αποστάσεις. Οι χωρικές αποστάσεις μετρώνται με την ολοκλήρωση των κορυφών που συσχετίζονται μέσω χωρικής εγγύτητας. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται **Γεωμετρία Απόστασης** και επιτυγχάνεται με κατάλληλα λογισμικά. Για τον υπολογισμό τους χρειάζεται μία χωρική απόσταση αναφοράς.

Οι χαμηλής ενέργειας διαμορφώσεις που προέκυψαν με χρήση σύζευξης θεωρητικών και πειραματικών αποτελεσμάτων μπορούν να επεξεργασθούν περαιτέρω. Με θεωρητικούς υπολογισμούς μπορούν να παραχθούν τα φάσματα NMR όλων των πιθανών βιοδραστικών διαμορφωμένων. Μόνο αυτά που είναι συμβατά με τα πειραματικά δεδομένα θα διατηρηθούν ως πιθανές βιοδραστικές διαμορφώσεις (Σχήμα 10.3).



Σχήμα 10.3 Θήκες στον CB1 υποδοχέα όπου μπορούν να προσδεθούν οι διάφορες πιθανές βιοδραστικές διαμορφώσεις του αναλγητικού κανναβινοειδούς AMG-3.

Τα φαρμακευτικά μόρια δρουν σε ένα **βιοδραστικό κέντρο**. Ανάλογα με τη δράση του μελετούμενου μορίου είναι απαραίτητα να εφαρμοσθούν επιπρόσθετες θεωρητικές και πειραματικές μελέτες οι οποίες θα συμπληρώσουν τις λαμβανόμενες πληροφορίες. Το παράδειγμά μας αναφέρεται σε ένα **λιπόφιλο** κανναβινοειδές. Το μόριο αυτό για να δράσει πρέπει να προσχωρήσει στις βιολογικές μεμβράνες και μετά από πλευρική διάχυση να κρούσει το ενεργό κέντρο του υποδοχέα (Σχήμα 10.4). Το μόριο αυτό δρα με ίδιο μηχανισμό ο οποίος προτάθηκε για τους AT_1 ανταγωνιστές όπως είναι η λοσαρτάνη.



Σχήμα 10.4 Ορθολογικά σχεδιασθέντα μόρια τα οποία στην αλκυλική αλυσίδα περιέχουν ένα ή τρεις διπλούς δεσμούς και τα οποία κατευθύνονται εκλεκτικά αντίστοιχα στις θήκες S1 ή S2 του υποδοχέα.

Επομένως εφαρμογές φυσικοχημικών ή βιοφυσικών μεθοδολογιών στις λιποειδείς διπλοστιβάδες (NMR σε στερεή κατάσταση, Φασματοσκοπία Ακτίνων-Χ και Raman) θα περιορίσουν ακόμη περισσότερο τον αριθμό των πιθανών βιοδραστικών διαμορφώσεων.

Οι τελικές αυτές πιθανές βιοδραστικές διαμορφώσεις θα αλληλεπιδράσουν με το βιοδραστικό κέντρο του υποδοχέα (docking). Οι θεωρητικοί υπολογισμοί του AMG-3 με τον CB1 υποδοχέα έδειξαν ότι οι πιθανές βιοδραστικές διαμορφώσεις μπορούν να προσαρμοσθούν σε δύο θήκες, την S1 και S2.

Ο Ορθολογικός Σχεδιασμός (Rational design) αρχίζει από το σημείο αυτό όπου θέλουμε να αναπτύξουμε μόρια τα οποία να προσαρμόζονται εκλεκτικά σε μία θήκη. Για παράδειγμα με σχεδιασμό νέων μορίων που περιέχουν ένα ή περισσότερους διπλούς δεσμούς, εκλεκτικά αυτά τα μόρια μπορούν να οδηγηθούν στις θήκες S1 ή S2.

Ο έλεγχος της βιολογικής δράσης θα δώσει την απάντηση αν ο στόχος έχει επιτευχθεί. Διαφορετικά νέες μελέτες αλληλεπίδρασης με το δραστικό κέντρο συνοδευόμενες με τριδιάστατες σχέσεις δομής-δράσης θα οδηγήσουν σε νέες ιδέες. Η διεργασία αυτή θα επαναληφθεί μέχρι να προκύψουν καινοτόμες δομές με την επιθυμητή βιολογική δράση.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η Μοριακή Μοντελοποίηση συνεχώς εμπλουτίζεται με την έκδοση νέων λογισμικών. Τα λογισμικά φαρμακοφόρων μοντέλων δίνουν πληροφορίες για τα φαρμακοφόρα δομικά τμήματα τα οποία είναι υπεύθυνα για τη βιολογική δράση μορίων. Λογισμικά που προβλέπουν την τοξικότητα και φυσικοχημικές ιδιότητες είναι επίσης πολύτιμα επειδή αποτρέπουν τη σύνθεση μορίων τα οποία δεν θα έχουν επιτυχή δράση.

Τελειώνοντας, να προσθέσουμε την πεποίθησή μας ότι η Μοριακή Μοντελοποίηση είναι μία μεθοδολογία η οποία είναι ανεκτίμητη σε πολλά πεδία και ιδιαίτερα στην Οργανική και Φαρμακευτική Χημεία στην οποία δόθηκε έμφαση στο σύγγραμμα αυτό. Θέτει το δάκτυλο στον «τύπον τῶν ἤλων» ως ο ερευνητής Απόστολος Θωμάς, για να ανιχνεύσει ορθολογικά τον σχεδιασμό νέων φαρμακευτικών προϊόντων και να ανοίξει νέους ορίζοντες στους Συνθετικούς Φαρμακοχημικούς.

Βιβλιογραφία/Αναφορές

1. Mavromoustakos T, Theodoropoulou E, Zervou M, Kourouli T, Papahatjis D. (1999). Structure elucidation and conformational properties of synthetic cannabinoids (-)-2-(6a,7,10,10a-tetrahydro-6,6,9-trimethyl-1-hydroxy-6H-dibenzo[b,d]pyranyl)-2-hexyl-1,3-dithiolane and its methylated analog. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18(6), 947-956.
2. Durdagi S, Papadopoulos MG, Papahatjis DP, Mavromoustakos T. (2007). Combined 3D QSAR and molecular docking studies to reveal novel cannabinoid ligands with optimum binding activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 17(24), 6754-63.
3. Δ. Ντουντανιώτης, Α. Τσαντίλη-Κακουλίδου, Θ. Μαυρομούστακος (2012). Αλληλεπιδράσεις Μορίων με τις Μεμβράνες και η Συνεισφορά της Λιπιδομικής στη Φαρμακευτική Έρευνα. *Φαρμακευτική* 24, IV, 89-105
4. Θ. Μαυρομούστακος (2014). Ο εν ασθενεία ευεργέτης. *Κυπριακά Χημικά Χρονικά*. Προσκεκλημένο άρθρο από τον Πρόεδρο της Ένωσης Κυπρίων Χημικών Καθ. Α. Κεραμιδά, Τεύχος Μαρτίου 4-11.
5. Ε. Βροντάκη, Γ. Μελεγράκη, Α. Αφαντίτης, Α.Τ. Κακουλίδου, Θ. Μαυρομούστακος (2015). Ποσοτικές Σχέσεις Δομής-Δράσης Τριών Διαστάσεων (3D-QSAR): Σύντομη Ανασκόπηση. *Φαρμακευτική*, 27, IV, 126-137.
6. Σ. Νικόλαος, Κ. Περικλής, Ζ. Αρτεμησία, Θ. Μαυρομούστακος (2021). Φάρμακα που άλλαξαν τον Κόσμο: Κινίνη. *Χημικά Χρονικά*, 14, 14-19.

Κεφάλαιο 11

Κριτήρια αξιολόγησης



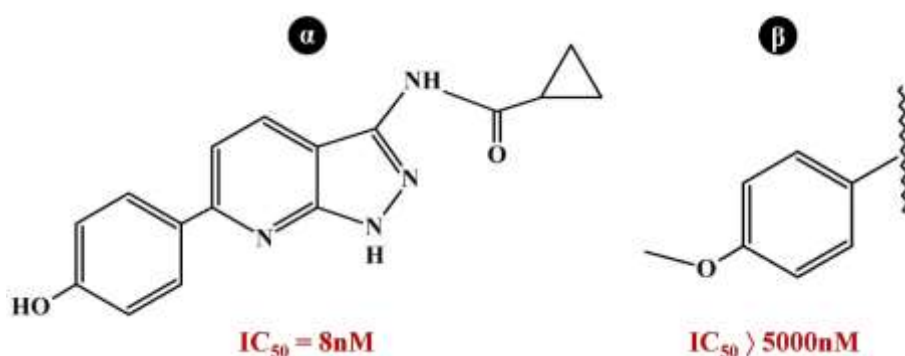
Κριτήριο Αξιολόγησης I

Θέμα 1ο

1. Ποιες εφαρμογές βρίσκει η Μοριακή Δυναμική;
2. Ποιους αλγορίθμους, χρησιμοποιούμε κατά την ελαχιστοποίηση των μορίων;

Θέμα 2ο

Δίδονται τα παρακάτω μόρια, τα οποία έχουν πολύ διαφορετική βιοδραστικότητα.



Ποιοι από τους ακόλουθους λόγους, νομίζετε, ότι θα διαφοροποιεί τη βιολογική τους δράση;

- α) Το υδροξύλιο διαφοροποιεί τη βιολογική δράση, επειδή μπορεί να εμπλέκεται ως δότης υδρογόνου σε πιθανό υδρογονικό δεσμό.
- β) Το υδροξύλιο διαφοροποιεί τη βιολογική δράση, επειδή μπορεί να εμπλέκεται ως δέκτης υδρογόνου σε πιθανό υδρογονικό δεσμό.
- γ) Έχουν πιθανά διαφορετικές ενέργειες διαλυτοποίησης και αποδιαλυτοποίησης.
- δ) Έχουν πιθανά διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες.
- ε) Έχουν διαφορετικές διαμορφώσεις στο κοινό δομικό τμήμα.

Θέμα 3ο

1. Όταν εφαρμόζεται ένα ερευνητικό συνθετικό πρόγραμμα, στο οποίο είναι γνωστή η ένωση οδηγός, τότε το πρώτο μόριο που θα συντεθεί, θα πρέπει να έχει πολλές δομικές διαφορές, συγκριτικά με την οδηγό ένωση.
2. Οι μοριακές υπερθέσεις μάς πληροφορούν για τις δομικές ομοιότητες και διαφορές μεταξύ των μορίων.
3. Η *de novo* σύνθεση με πεπτιδικών μορίων εμπλέκει την σύνδεση σημαντικών δομικών τμημάτων του πεπτιδίου αναφοράς.

Κριτήριο Αξιολόγησης II

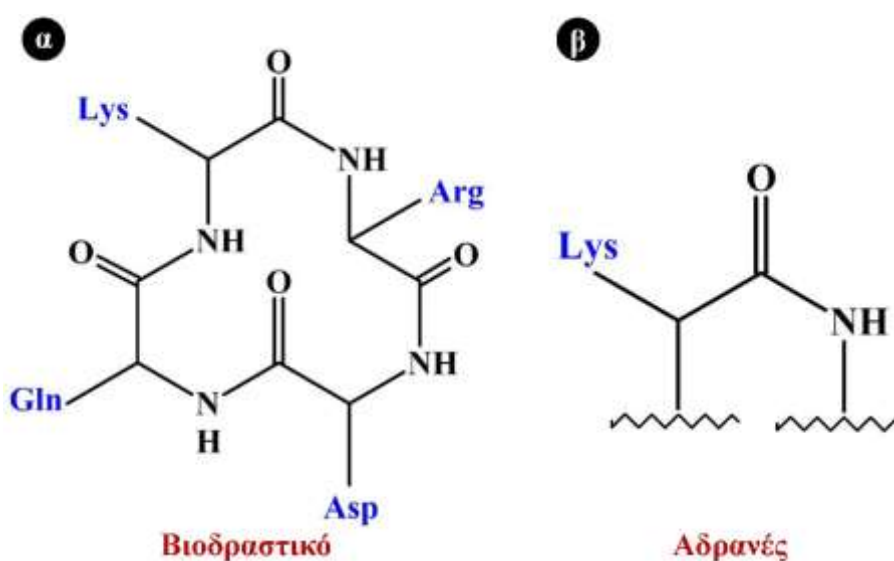
Θέμα 1ο

1. Πού χρησιμοποιούνται οι υπερθέσεις των μορίων;
2. Τι καθορίζει τη βιολογική δράση κάποιου μορίου;

Θέμα 2ο

Δίνονται τα παρακάτω μόρια με διαφορετική βιολογική δράση. Πιθανότερα αυτή θα οφείλεται στη διαφορετική τους:

- α) διαμόρφωση β) pKa γ) log P δ) κανένα από τα παραπάνω



Θέμα 3ο

1. Πεπτιδομιμητισμός καλείται η μίμηση
 - α) μιας μη πεπτιδικής ένωσης από ένα πεπτίδιο
 - β) μιας πεπτιδικής ένωσης από μια άλλη πεπτιδική ένωση
 - γ) μιας μη πεπτιδικής ένωσης από μια άλλη μη πεπτιδική ένωση
 - δ) μιας πεπτιδικής ένωσης από μια μη πεπτιδική ένωση
2. Πεπτιδομιμητικές ενώσεις είναι δομές, οι οποίες μερικώς ή ολικώς δεν είναι πεπτιδικές και μιμούνται τη φαρμακολογική δράση των πεπτιδίων.
3. Η ανακάλυψη πεπτιδομιμητικών φαρμάκων, ξεκινώντας από ένα πεπτίδιο οδηγό είναι εύκολη διαδικασία.
4. Τα πεπτίδια δεν μπορούν να είναι φάρμακα.

Κριτήριο Αξιολόγησης III

Θέμα 1ο

1. Ποιες αλληλεπιδράσεις στον υποδοχέα θεωρούνται οι περισσότερο καθοριστικές;
2. Αναφέρετε χρήσεις, που έχουν οι μεθοδολογίες των NMR και X-ray στον μοριακό σχεδιασμό καινοτόμων μορίων.

Θέμα 2ο

Να απαντήσετε αν οι επόμενες προτάσεις είναι ορθές (Σ) ή λανθασμένες (Λ).

1. Υπάρχουν πεπτίδια φάρμακα, γιατί αποτελούν φυσικές βιολογικές ουσίες.
2. Τα πεπτίδια δεν είναι εύκολο να αποτελέσουν φαρμακευτικά προϊόντα.
3. Τα πεπτίδια είναι μόρια, τα οποία βιολογικά είναι ασταθή.
4. Τα πεπτίδια απορροφούνται εύκολα.

Θέμα 3ο

Να σχεδιάσετε ένα μόριο το οποίο περιέχει ένα άκαμπτο τμήμα και ένα εύκαμπτο το οποίο περιέχει δύο διέδρες γωνίες. Να περιγράψετε την πορεία διαμορφωτικής ανάλυσής του.

Κριτήριο Αξιολόγησης V

Θέμα 1ο

1. Ποιες δυσκολίες συναντά ένα μόριο, για να φθάσει στο κέντρο δράσης του;
2. Σε τι χρησιμεύει η Κβαντική Χημεία στο Μοριακό Σχεδιασμό;

Θέμα 2ο

Να επιλέξετε την ορθή απάντηση

1. Ποια βήματα θεωρείται ότι ακολουθούνται κατά σειρά στη δημιουργία πεπτιδομιμητικών φαρμάκων;

- i) Έρευνα πεπτιδομητικών φαρμάκων
- ii) Συστηματικό συνθετικό χημικό πρόγραμμα
- iii) Ανακάλυψη δραστικών μικρών πεπτιδικών αναλόγων
- iv) Γνώση της δομής των πεπτιδικών μορίων

- α) (i), (ii), (iii), (iv) β) (iv), (ii), (iii), (i) γ) (iv), (iii), (ii), (i) δ) (i), (iii), (iv), (ii)

2. Τα κυκλικά πεπτίδια συντίθενται, γιατί

- α) είναι περισσότερο μεταβολικά σταθερά
- β) μπορούν να μιμούνται τη διαμόρφωση του πεπτιδίου, που δρα στον υποδοχέα
- γ) ο δακτύλιος μπορεί να διασπαστεί, όταν προσεγγίζει τη κοιλότητα των δραστικών κέντρων
- δ) όλα τα παραπάνω

4. Ιδανικά πεπτιδομιμητικά είναι αυτά, που μιμούνται τη φαρμακολογική δράση των πεπτιδίων και είναι

- α) πεπτίδια
- β) έχουν μερική πεπτιδική φύση
- γ) δεν περιέχουν πεπτιδικούς δεσμούς
- δ) α και β ορθά

Θέμα 3ο

Να σχεδιάσετε μία δομή, η οποία νομίζετε ότι εισέρχεται στην βιολογική μεμβράνη και ένα υποθετικό υποδοχέα, με τον οποίο αλληλεπιδρά. Στο σχήμα αυτό να συζητήσετε όλες τις πιθανές αλληλεπιδράσεις, οι οποίες θα υπάρχουν μεταξύ του μορίου και του υποδοχέα.

Γλωσσάρι



A

ADME (Absorption–Distribution–Metabolism–Excretion): Αναφέρεται στη μελέτη Απορρόφησης, Κατανομής, Μεταβολισμού και Απέκκρισης βιοδραστικών ουσιών δηλαδή της Φαρμακοκινητικής του μορίου.

Αλγόριθμοι Ελαχιστοποίησης Ενέργειας: Αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται για την εξεύρεση τοπικού ελαχίστου στη δυναμική επιφάνεια.

AT1 ανταγωνιστές: Ανταγωνιστές που παρεμποδίζουν τη δράση της Αγγειοτασίνης II στον AT1 υποδοχέα. Τέτοια μόρια είναι οι σαρτάνες με πρωτότυπο μόριο τη λοσαρτάνη.

B

Βιοϊσοστερισμός: Ομάδες ή ενώσεις οι οποίες παρουσιάζουν παρόμοια μοριακά σχήματα, όγκους κατανομή ηλεκτρονίων και φυσικές ιδιότητες και παράγουν παρόμοια βιολογική δράση.

D

Docking: Διαδικασία πρόσδεσης μορίου στον προσδέτη. Η ευνοϊκότητα της σύνδεσης χαρακτηρίζεται από το μέγεθος της ενέργειας πρόσδεσης.

Διαμορφωτική Ανάλυση (Conformational Analysis): Ανάλυση που βασίζεται σε μαθηματικούς αλγόριθμους οι οποίοι χρησιμοποιούνται προς εξεύρεση των χαμηλά ενεργειακά διαμορφωμένων μίας ένωσης ή μοριακού συστήματος.

Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (Differential Scanning Calorimetry): Θερμοδυναμική τεχνική όπου μελετώνται οι θερμικές μεταβολές μορίων ή μοριακών συστημάτων.

E

Εξ' υπαρχής (*ab initio*): Υπολογισμοί κβαντικής μηχανικής οι οποίοι βασίζονται στην επίλυση της εξίσωσης Schrödinger, χωρίς να γίνονται απλοποιήσεις. Στους ημιεμπειρικούς υπολογισμούς (semi-empirical calculations) γίνονται απλοποιήσεις (λαμβάνουν υπόψη μόνο τα ηλεκτρόνια σθένους).

H

HOMO (Highest Occupied Molecular Orbitals): Το υψηλότερα κατειλημμένο μοριακό τροχιακό που περιέχει ηλεκτρόνια.



Θεωρητική Χημεία: Η Χημεία η οποία βασίζεται σε θεωρητικούς υπολογισμούς



In silico Υπολογισμοί που εκτελούνται σε ηλεκτρονικούς υπολογιστές.



LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbitals): Το χαμηλότερα μη κατειλημμένο μοριακό τροχιακό. Τα HOMO όσο και τα LUMO (που παριστάνονται γραφικά) προκύπτουν υπολογιστικά και είναι καθοριστικά στις μοριακές προσδέσεις και αντιδράσεις.



Μοριακή Μηχανική: Σύστημα ατόμων και δεσμών που βρίσκεται μέσα σε ένα πεδίο δυνάμεων. Μέσα σ' αυτό η συνολική ενέργεια υπολογίζεται ως το άθροισμα των δεσμικών και μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων.

Μοριακά Γραφικά (Molecular Graphics): Τριδιάστατη απεικόνιση μορίων στην οθόνη των υπολογιστών.

Μοριακή Δυναμική: Μέθοδος προσομοίωσης κίνησης μορίου ή μοριακού συστήματος, η οποία βασίζεται στις εξισώσεις του Νεύτωνα.

Μοριακή Πρόσδεση: Ο τρόπος με τον οποίο μια χημική ένωση προσδένεται σε κοιλότητα του μορίου. Η ισχύς πρόσδεσης υπολογίζεται με διάφορες υπολογιστικές μεθόδους.

Μοριακή Μοντελοποίηση (Molecular Modelling): Η επιστήμη η οποία ασχολείται με τη μοντελοποίηση μοριακών συστημάτων.



Ορθολογικός Σχεδιασμός Φαρμακευτικών Προϊόντων: Καλείται ο σχεδιασμός καινοτόμων φαρμακευτικών προϊόντων, ο οποίος βασίζεται σε φυσικοχημικές αρχές και σχέσεις δομής-δράσης.



Πεδία Δυνάμεων (Force Fields): Αποτελούν μαθηματικά παραμετροποιημένες εξισώσεις, οι οποίες υπολογίζουν τις επί μέρους ενέργειες και συντελούν αθροιστικά στην ολική ενέργεια του μορίου.

Πειραματική Χημεία: Η Χημεία η οποία βασίζεται στο πείραμα.

Πεπτιδομιμητικά Μόρια: Οργανικά μόρια μικρού σχετικού μοριακού βάρους, τα οποία στερούνται πεπτιδικού δεσμού και μιμούνται τις βιολογικές ιδιότητες των πεπτιδίων.

Ποσοτικές Σχέσεις Δομής Δράσης (QSAR–Quantitative Structure Activity Relationships): Υπολογισμοί οι οποίοι βασίζονται κύρια σε υπερθετικές και στατιστικές αναλύσεις και στοχεύουν στην κατανόηση των στερεοηλεκτρονιακών απαιτήσεων υποθετικού ή πραγματικού υποδοχέα. Μπορεί να είναι δύο διαστάσεων (2D QSAR) ή μεγαλύτερης ακόμη διάστασης (3D QSAR και 4D QSAR).

Προσομοίωση: Η απεικόνιση πραγματικού γεγονότος σε μοντέλλα παραγόμενα από θεωρητικούς υπολογισμούς και μοριακά γραφικά.

Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR): Φασματοσκοπική τεχνική η οποία βασίζεται σε διεγέρσεις πυρήνων με spin. Η φασματοσκοπική αυτή τεχνική παρέχει συμπληρωματικές πληροφορίες αυτών που λαμβάνονται από την υπολογιστική χημεία όσον αφορά τις βιοδραστικές διαμορφώσεις απλών ή πολύπλοκων μορίων.



Σύστημα Ρενίνης Αγγειοτασίνης (Renin Angiotensin System–RAS): Χαρακτηρίζεται από μία σειρά ενζυμικών αντιδράσεων, όπου κατά το τελευταίο βήμα απελευθερώνεται η Αγγειοτασίνη II, ένα οκταπεπτίδιο που θεωρείται υπεύθυνο για την αύξηση της αρτηριακής πίεσης.



Τοπικό Ελάχιστο (local minimum): Ενεργειακό ελάχιστο στην δυναμική επιφάνεια. Το χαμηλότερης ενέργειας ελάχιστο είναι το απόλυτο (global minimum).



Υπολογιστική Χημεία (Computational Chemistry): Σε αυτή διεξάγονται υπολογισμοί θεωρητικοί (*in silico*) με στόχο την επίλυση χημικών προβλημάτων.



Χημική Μετατόπιση: Απόκλιση στην τιμή ενός φάσματος συγκριτικά με την τιμή του πρότυπου αναφοράς. Για παράδειγμα στην φασματοσκοπία NMR, πρότυπο αναφοράς χρησιμοποιείται το τετραμεθυλοσιλάνιο, το οποίο ορίζεται να έχει χημική μετατόπιση μηδέν. Άλλες λειτουργικές ομάδες, που υπάρχουν σε ένα οργανικό μόριο θα έχουν διαφορετική χημική μετατόπιση.