

Approcci *structure based* per la razionalizzazione delle interazioni proteina-inibitore applicate all'enzima Prostaglandina endoperossido sintasi



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

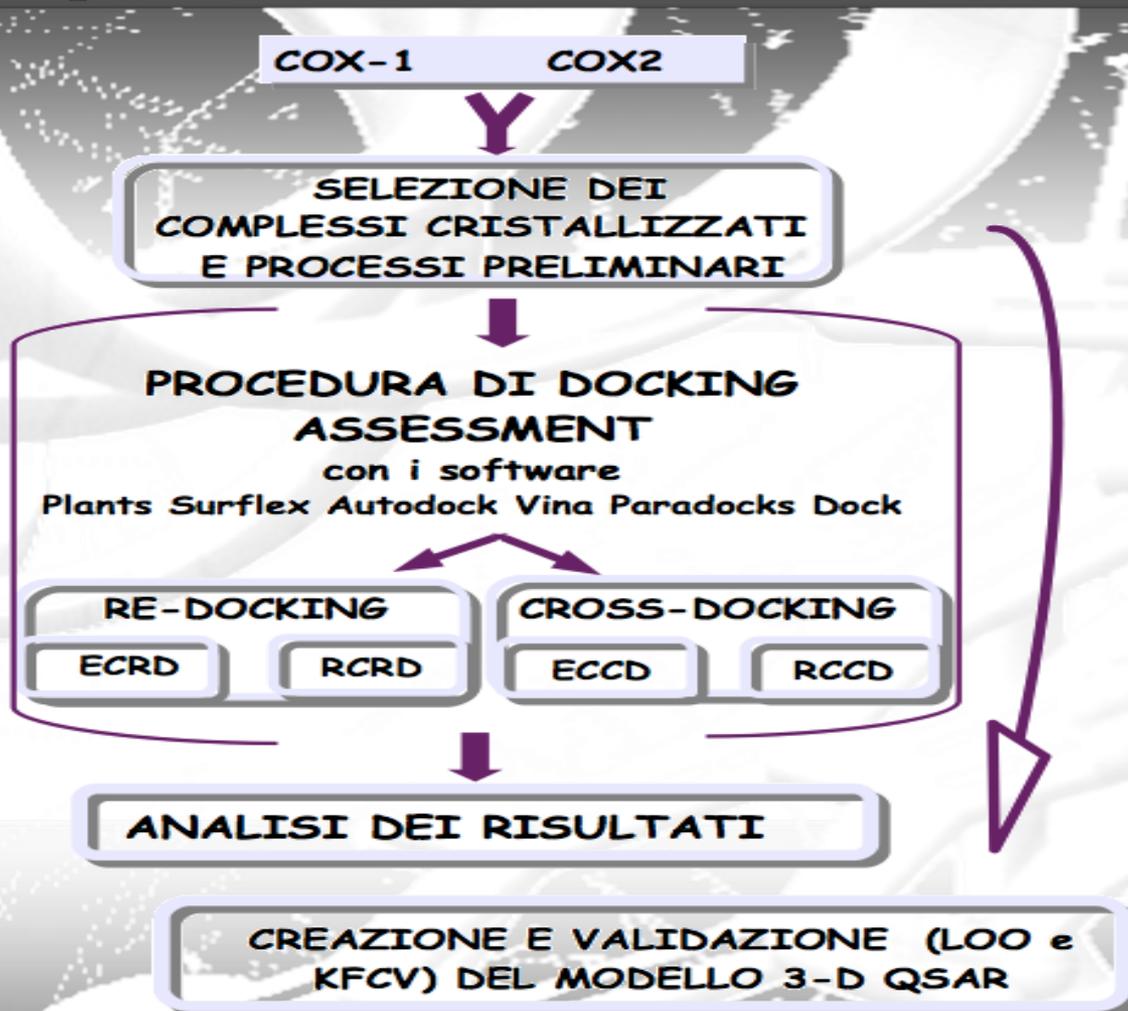
Facoltà di Farmacia e Medicina
Corso di Laurea in Biotecnologie Farmaceutiche
Tesi Sperimentale in Chimica Farmaceutica
a.a. 2013/2014

Laureanda : Elena Cerri
Matricola: 1148961

Relatore: Prof. Rino Ragno

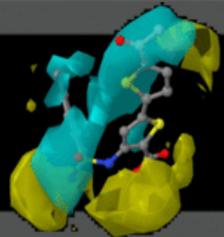


SCOPO DEL LAVORO



❖ DOCKING MOLECOLARE

❖ 3-D QSAR



DOCKING MOLECOLARE

STRUCTURE BASED DRUG DESIGN

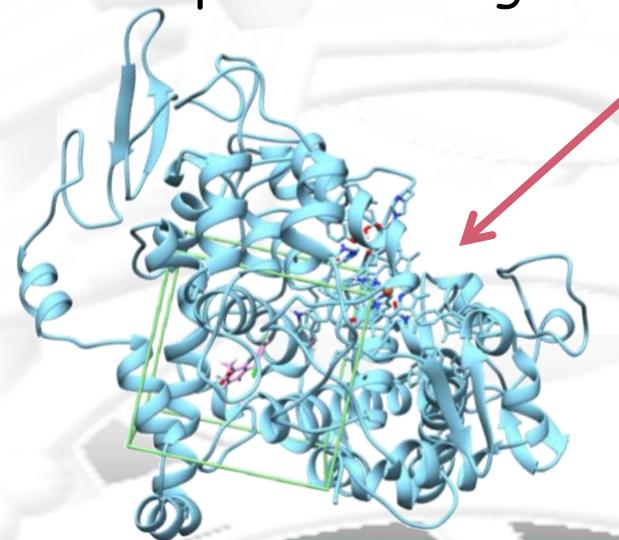
Individuazione di
lead compounds

Virtual screening



Predizione della conformazione del ligando deputata al legame e il suo grado di affinità per il sito attivo di una proteina target 

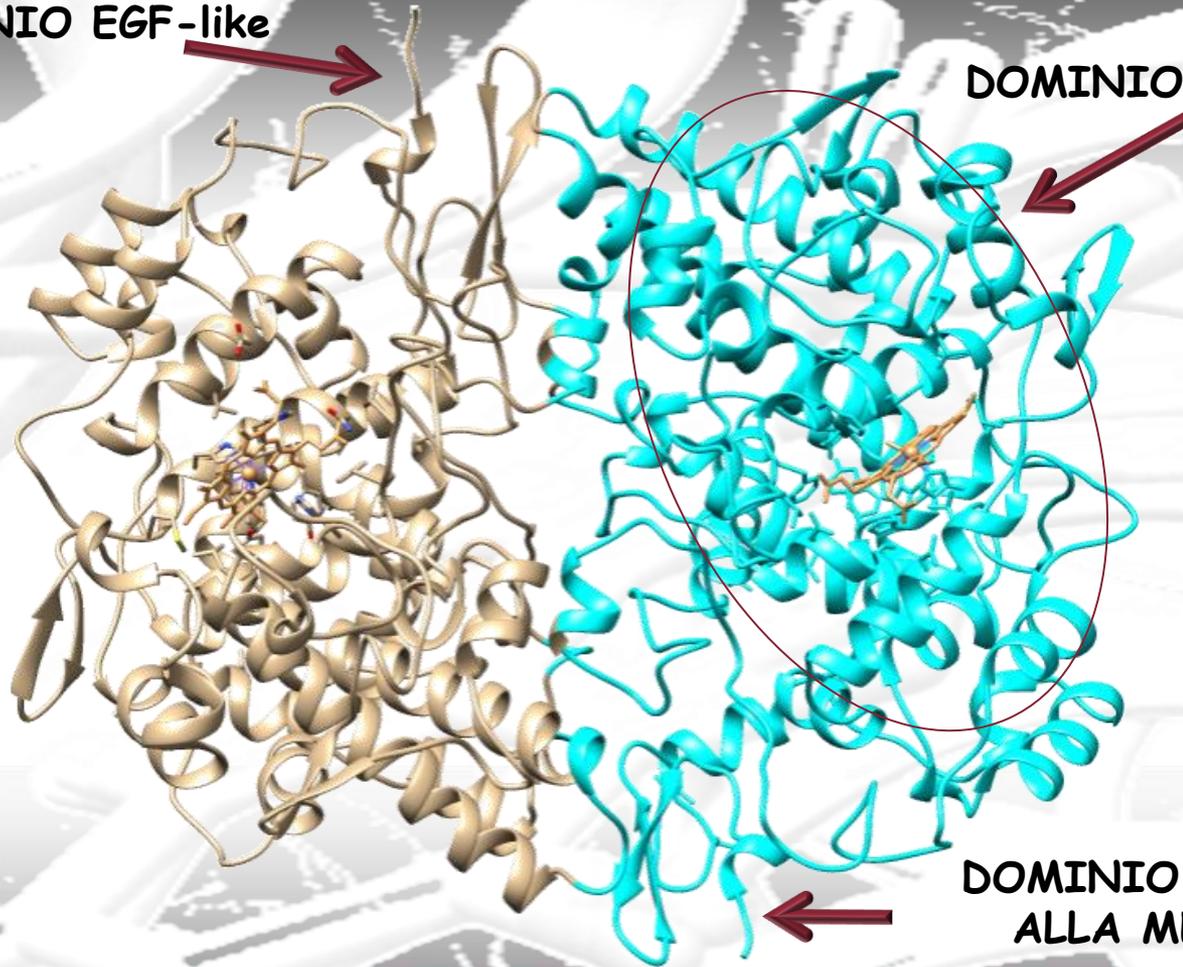
- Algoritmi per la generazione delle pose
- *Scoring functions* per il calcolo dell'energia di legame





PROSTAGLANDINA ENDOPEROSSIDO SINTASI

DOMINIO EGF-like



DOMINIO CATALITICO

**DOMINIO DI LEGAME
ALLA MEMBRANA**



COX-1 (costitutiva)

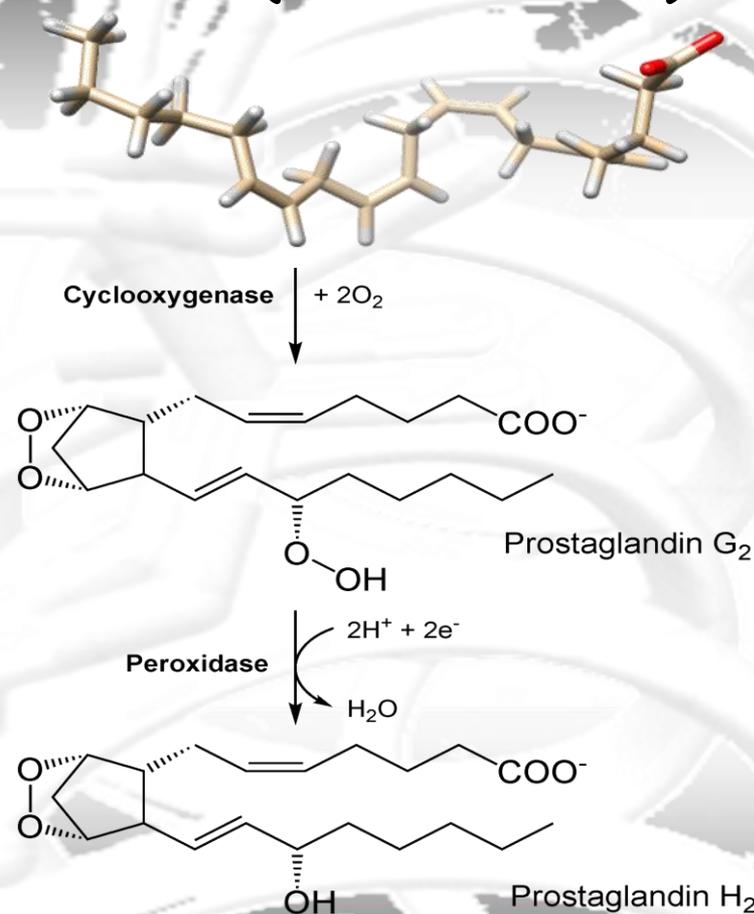
- ✓ Processi biologici distinti
 - COX-1 omeostasi piastrinica, gastrica e renale
 - COX-2 processi infiammatori

✓ Similarità strutturale (60%)

✓ Stessa azione catalitica

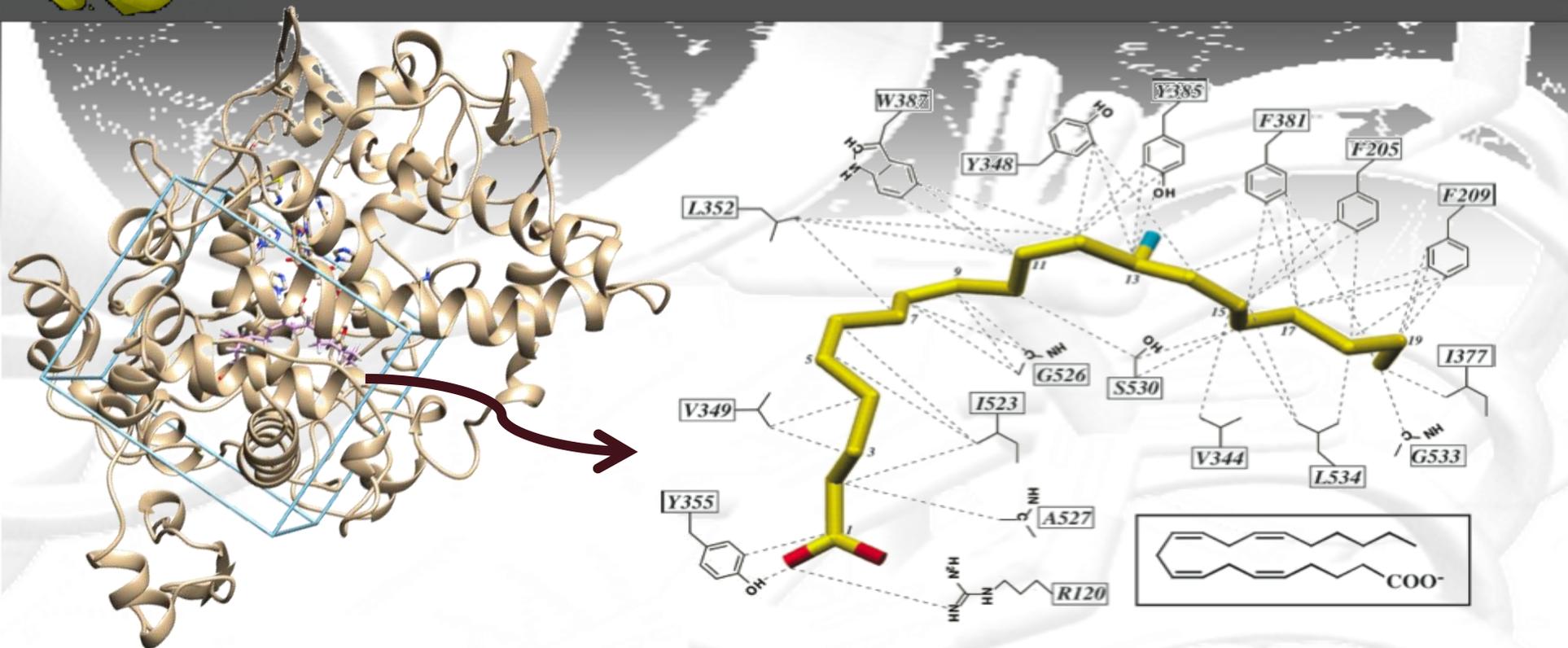


COX-2 (inducibile)





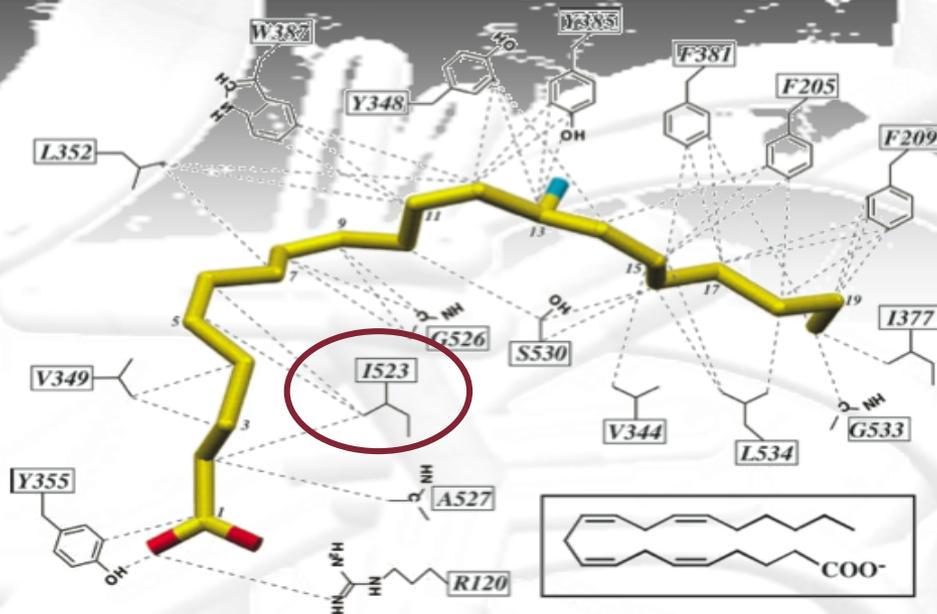
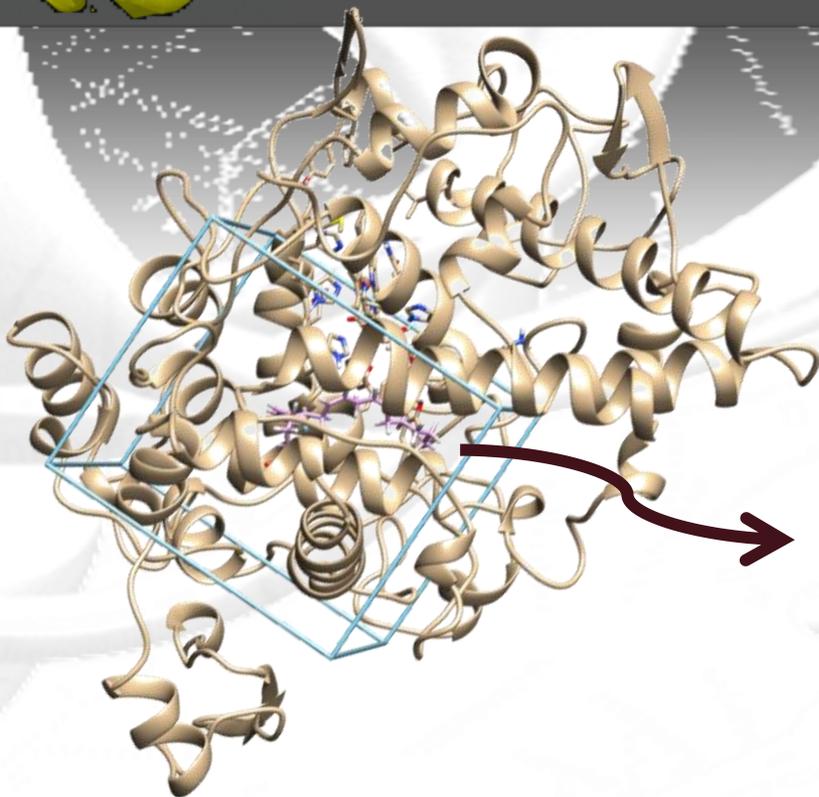
SITO CICLOSSIGENASICO



- Residuo necessario per l'attivazione della reazione
- Sito di legame per il substrato
- Sito d'azione di FANS e di inibitori COX-2 selettivi



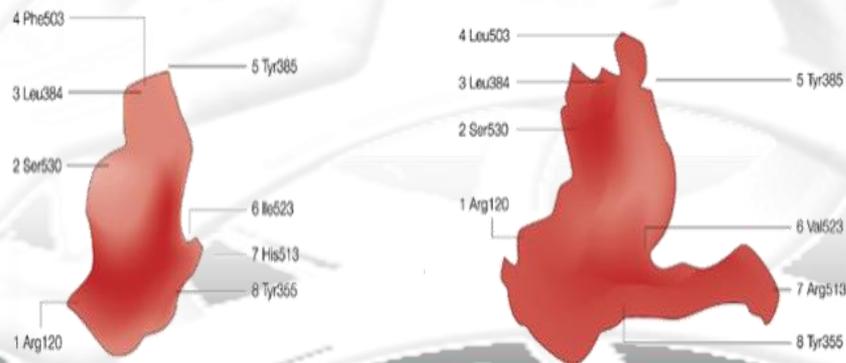
SITO CICLOSSIGENASICO



Selettività d'azione dei farmaci

COX-1 (Ile523)

COX-2 (Val523)





SCelta DEI COMPLESSI

OPERAZIONI PRELIMINARI AL DOCKING

❖ Selezione dei complessi proteici relativi ad ogni target



19 Complessi oCOX-1

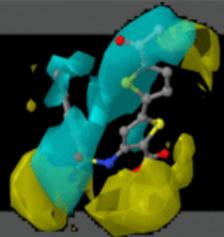
14 Complessi mCOX-2



❖ Processi di preparazione dei *target* al docking

UCSF CHIMERA

an Extensible Molecular
Modeling System



PREPARAZIONE DEI TARGET

OPERAZIONI PRELIMINARI AL DOCKING

❖ Selezione dei complessi proteici relativi ad ogni target

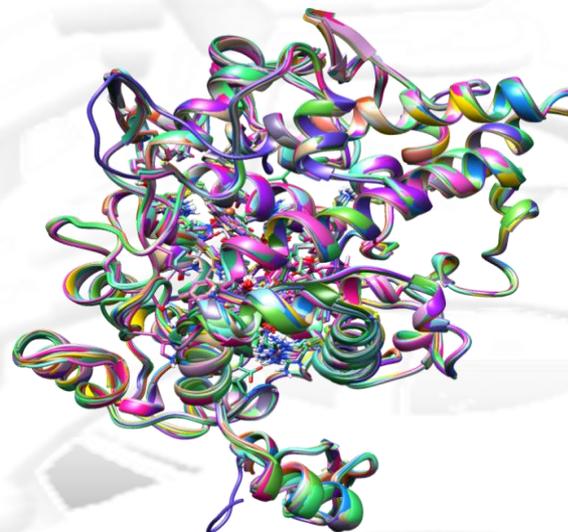
RCSB
PDB
PROTEIN DATA BANK

❖ Processi di preparazione dei target al docking

UCSF CHIMERA

an Extensible Molecular
Modeling System

- Pulizia dei cristalli
- Protanazione (pH=7,4)
- Assegnazione cariche parziali
- Minimizzazione
- Allineamento *structure based*





OPERAZIONI PRELIMINARI
AL DOCKING



ESECUZIONE DEL DOCKING:

- Plants (chemplp, plp, plp95)
- Surflex
- Autodock Vina
- Autodock4
- Paradocks (pscore, pmf04)
- Dock (grid, contact, continuous)

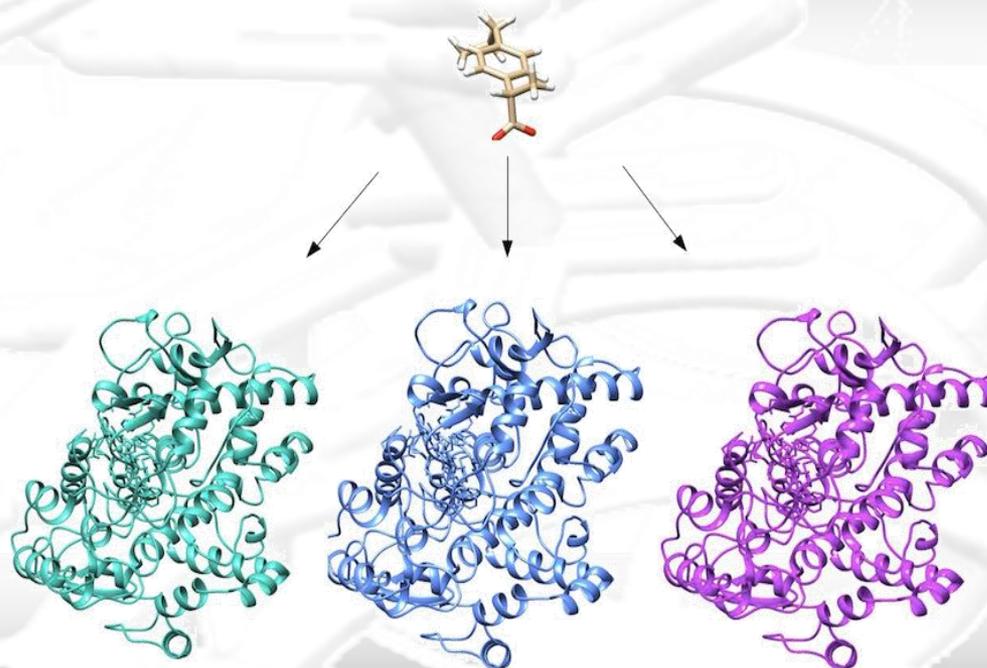


ESECUZIONE DOCKING

RE-DOCKING



CROSS-DOCKING





ESECUZIONE DOCKING

RE-DOCKING

ECRD
(*Experimental conformation
Re-docking*)

RCRD
(*Random conformation
Re-docking*)

**LIGANDO CON POSA
SPERIMENTALE**

**LIGANDO CON GEOMETRIA
RANDOMIZZATA**

CROSS-DOCKING

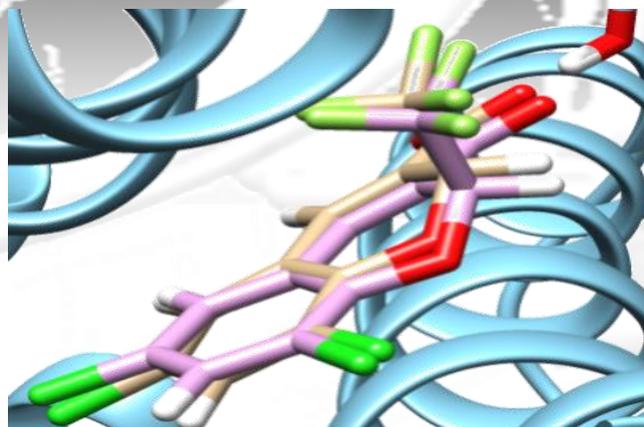
ECCD
(*Experimental conformation
Cross-docking*)

RCCD
(*Random conformation
Cross-docking*)



ANALISI DELLE POSE GENERATE

Calcolo dell'**RMSD** (*Root Mean Square Deviation*)



Posa a minor energia generata
dal *docking*



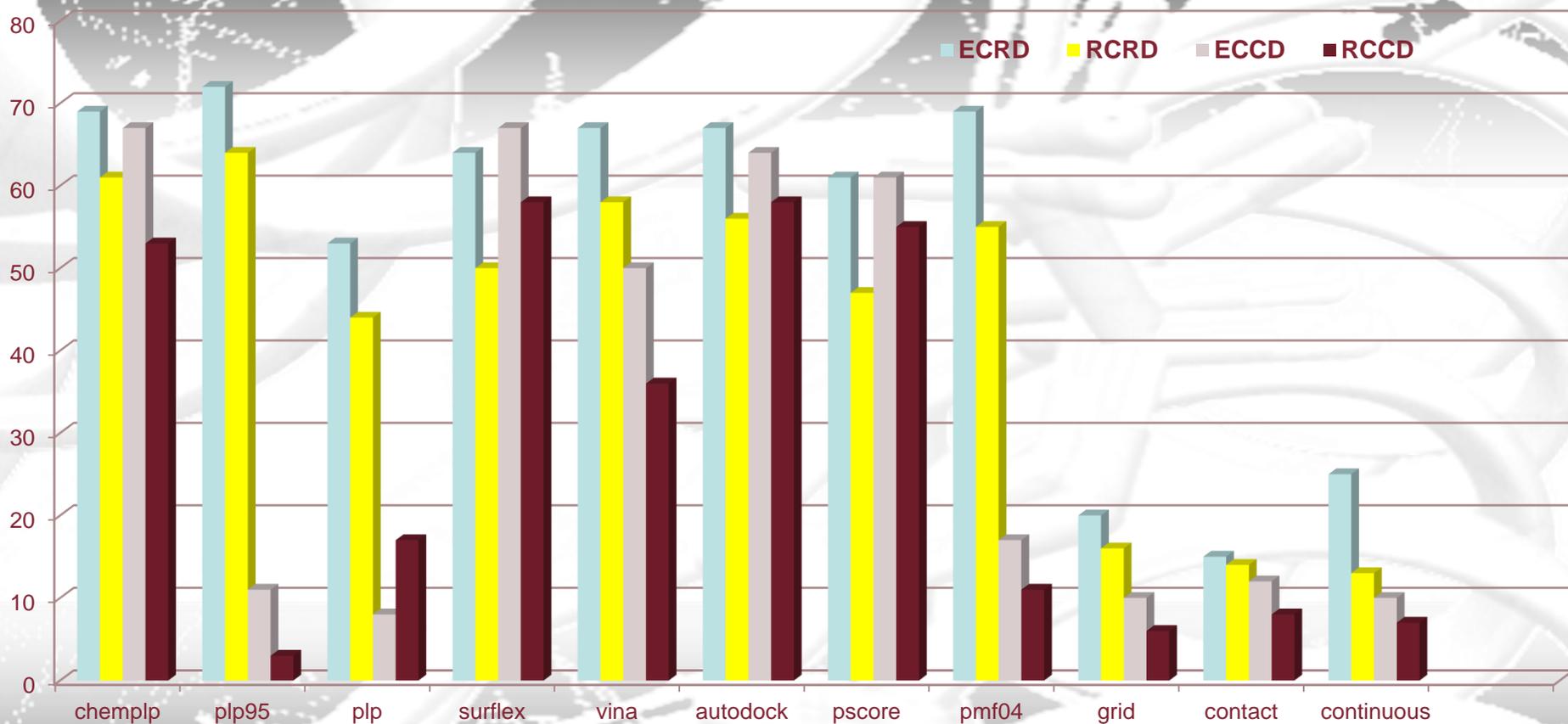
Conformazione sperimentale
del ligando nella proteina

Valutazione dell'accuratezza del *docking* (DA%) per
ogni programma



RISULTATI DOCKING COX-1 (DA%) **rcmd**

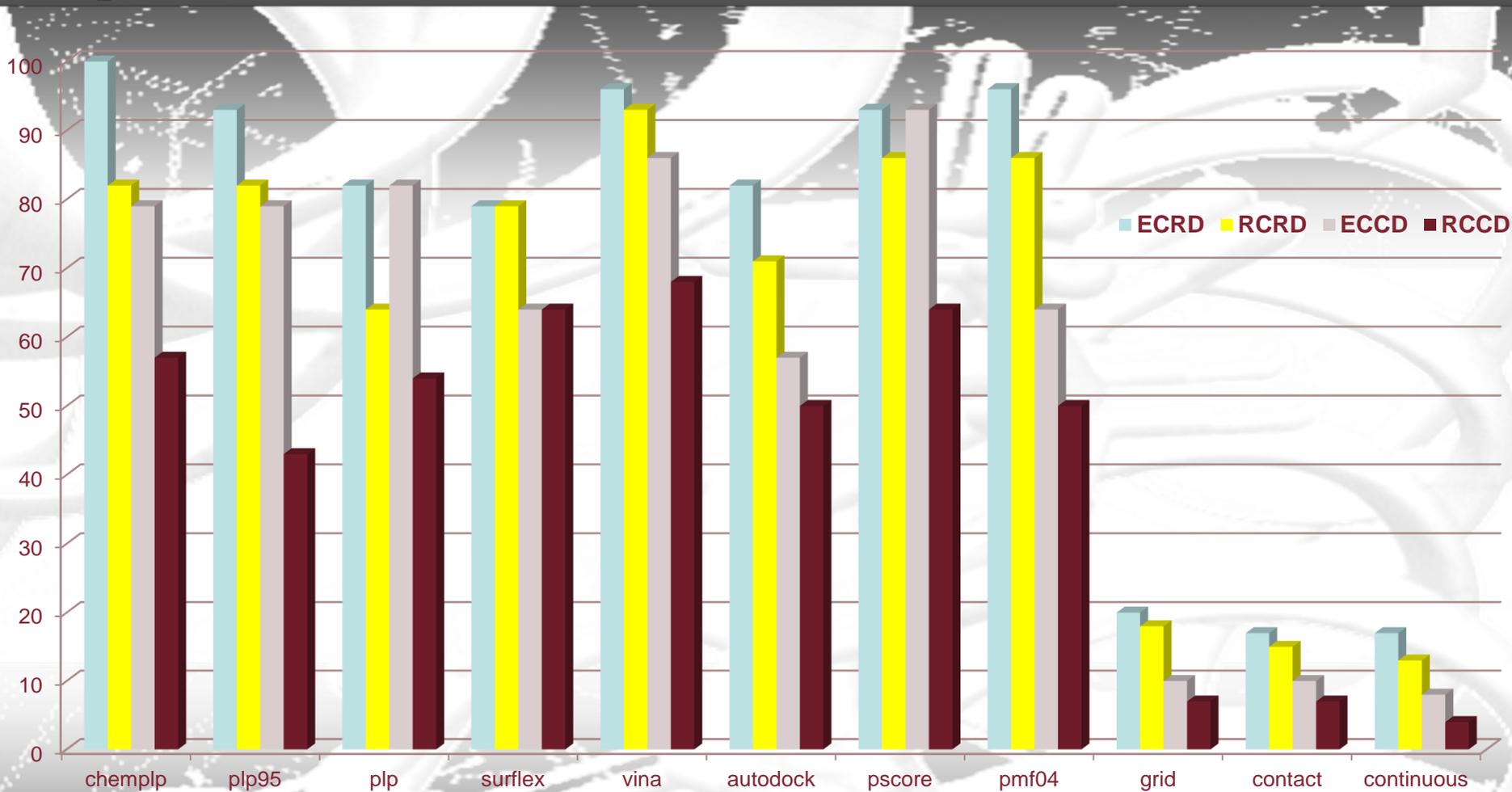
www.rcmd.it





RISULTATI DOCKING COX-2 (DA%) **rcmd**

www.rcmd.it





MIGLIOR PROGRAMMA

- Valutazione dei risultati del *Random Conformation Cross-docking* (RCCD)

↗ Docking accuracy (DA %)
↘ Deviazione standard

- Stima del tempo di calcolo



COX-1

COX-2

AUTODOCK : DA%= 58,33; STDEV=3,13

VINA : DA% = 67,86

SURFLEX : DA%= 58,33; STDEV=2,62



MODELLO 3-D QSAR COX-1

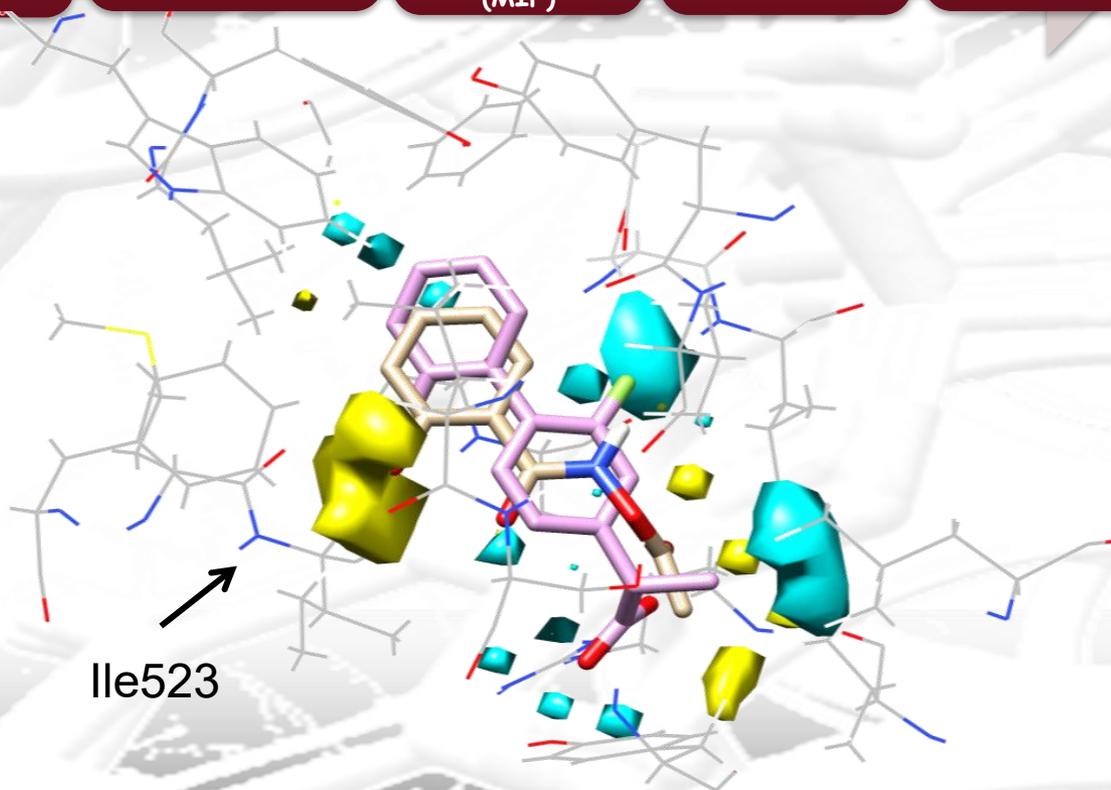
Scelta del
training set

Allineamento delle
molecole
Structure based

Calcolo del
campi di
interazione
molecolare
(MIF)

Generazione del
modello
statistico

Validazione
interna



Ile523

COX-1 Probe C



MODELLO 3-D QSAR COX-2

Scelta del training set

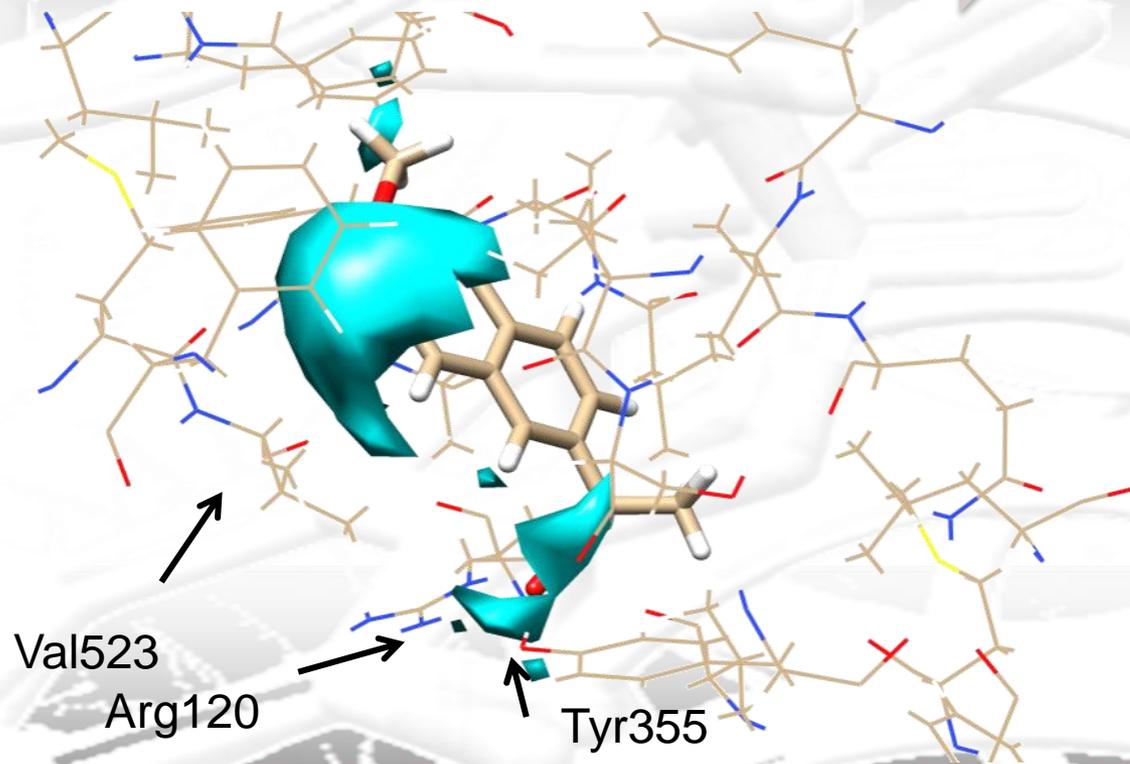
Allineamento delle molecole
Structure based

Calcolo dei campi di interazione molecolare (MIF)

Generazione del modello statistico

Validazione interna

COX-2 Probe HD





CONCLUSIONI

- Mediante un'estesa applicazione è stato identificato il programma da usare per studiare il modo di legare per nuovi inibitori COX
- Modelli 3-D QSAR sono stati sviluppati e saranno presto utilizzati in un virtual screening per identificare nuovi scaffold anti-COX



Progettazione di inibitori con attività selettiva verso la COX-2



Fine

rcmd
www.rcmd.it

**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE**