



VERONICA SALMASO, STEFANO MORO
MOLECULAR MODELING SECTION (MMS)
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
STEFANO.MORO@UNIPD.IT

L'INFLUENZA DEL TEMPO NEL COMPORAMENTO MOLECOLARE: UN'INTRODUZIONE ALLA DINAMICA MOLECOLARE

Non c'è vita senza tempo... e questo è sicuramente vero anche a livello molecolare. In questi ultimi anni, sta diventando sempre più forte la consapevolezza che per rappresentare in maniera realistica la struttura di un sistema molecolare e per poterne calcolare in maniera accurata alcune delle sue proprietà, tale struttura deve poter essere influenzata dalla coordinata tempo. Le tecniche computazionali di dinamica molecolare hanno proprio questo come loro obiettivo principale.

Lo studio del processo di riconoscimento di un farmaco (*drug*), o più generalmente di un candidato farmaco, con il suo bersaglio molecolare (*drug target*) ha un ruolo chiave nella razionalizzazione del meccanismo d'azione di un farmaco e nella sua ottimizzazione. In questi ultimi anni, la possibilità di predire il meccanismo di riconoscimento (*binding*) in assenza del dato sperimentale è risultata particolarmente attrattiva per ridurre i tempi (solitamente tra 10 e i 12 anni di sperimentazione), e conseguentemente le risorse economiche (oggi giorno anche superiori al miliardo di euro per sperimentazione) necessarie per lo sviluppo di un nuovo farmaco, in particolare nelle sue fasi iniziali. In questo contesto, a partire dagli anni Ottanta, ha visto la sua affermazione in un ambito farmaceutico, sia industriale che accademico, quella che è stata definita progettazione di farmaci supportata da tecniche computazionali (*Computer-Aided Drug Design, CADD*), approccio a cui è stata riservata la copertina della rivista *Fortune* del 5 ottobre 1981, con il titolo "*Next Industrial Revolution: Designing Drugs by Computer at Merck*" (Prossima rivoluzione industriale: progettare farmaci al computer in Merck).

All'interno degli approcci CADD, le tecniche di progettazione basate sulla disponibilità della struttura tridimensionale del bersaglio molecolare di interesse, definite come "*Structure-Based Drug Design (SBDD)*", hanno visto accrescere il loro interesse, soprattutto grazie ai notevoli progressi nell'ambito della biochimica strutturale e della cristallografia a raggi X. In particolare quest'ultima rimane la tecnica d'elezione per ottenere un modello a risoluzione atomica della struttura tridimensionale di macromolecole d'interesse biologico, siano esse acidi nucleici, proteine, complessi multiproteici o virus [1]. La disponibilità della struttura tridimensionale del bersaglio molecolare di interesse farmaceutico-farmacologico, ovvero correlabile ad un particolare stato patologico, rappresenta sicuramente il punto di partenza fondamentale per poter virtualizzare il processo di riconoscimento ligando-recettore. Anche se non entreremo in alcuni dettagli operativi, è chiaro che la qualità della struttura cristallografica a nostra disposizione è un elemento cruciale per poter procedere con la necessaria accuratezza al processo di virtualizzazione. Un secondo aspetto fondamentale è legato alla possibilità di stabilire con esattezza in



quale particolare regione del nostro bersaglio molecolare avvenga il riconoscimento con il ligando (farmaco o suo candidato). Definiremo questa particolare regione del bersaglio molecolare come *sito di riconoscimento* o *sito di legame*, che in funzione del tipo di bersaglio molecolare che stiamo considerando (enzima, recettore, trasportatore oppure acido nucleico) potrà assumere la definizione biochimica-farmacologica di sito catalitico, sito ortosterico, sito allosterico oppure sito di intercalazione. Disponendo quindi della struttura tridimensionale del nostro bersaglio molecolare e avendo indicazioni, dirette o indirette, del sito di riconoscimento del nostro ligando, è possibile oggi anticipare, attraverso un processo di virtualizzazione, quale/quale potrebbero essere le possibili modalità di riconoscimento tra un ligando ed il suo bersaglio molecolare: definiremo convenzionalmente questo approccio come *docking molecolare*. L'obiettivo principale del docking molecolare è quindi quello di anticipare computazionalmente la plausibile struttura tridimensionale del complesso intermolecolare ligando-recettore energeticamente più stabile.

Una delle principali limitazioni di molte tecniche di SBDD, inclusa quella di docking molecolare, è che la rappresentazione del nostro sistema molecolare è congelata rispetto alla coordinata tempo, e quindi statica ed immutabile. Come è facilmente comprensibile, questo introduce molto spesso una riduzione importante del grado di realismo di queste rappresentazioni e inserisce inevitabilmente un elevato margine di errore in molte delle proprietà che descrivono il nostro sistema molecolare. Nasce quindi la necessità di dare vita alle nostre rappresentazioni molecolari... e non c'è vita senza tempo.

Virtualizzazione della coordinata tempo: la dinamica molecolare classica

La dinamica molecolare (MD) è una tecnica di simulazione computazionale che permette di studiare l'evoluzione temporale delle posizioni e delle interazioni tra gli atomi di un sistema molecolare, tramite l'integrazione delle loro equazioni del moto secondo le leggi della meccanica classica.

La possibilità di utilizzo di tecniche di questo tipo si basa sul fatto che un sistema classico è interamente determinato dall'assegnazione, a un dato istante di tempo, delle esatte posizioni e velocità di tutte le

particelle che lo compongono e dalla conoscenza delle leggi d'interazione: ogni configurazione, passata e futura, è in linea di principio ottenibile risolvendo esplicitamente il sistema di equazioni differenziali accoppiate che ne descrivono l'evoluzione. Se ciò vale in meccanica classica, non è invece vero in meccanica quantistica, nell'ambito della quale la predizione esatta del comportamento di un sistema risulta impossibile: non si possono infatti determinare simultaneamente con precisione assoluta posizioni e velocità delle particelle (principio di indeterminazione di Heisenberg). Di conseguenza, la dinamica molecolare è un metodo classico, e non può essere utilizzata per spiegare processi come la rottura o la formazione di un legame chimico, in cui la meccanica quantistica è essenziale alla corretta descrizione del fenomeno. Fortunatamente la meccanica classica può interpretare realisticamente una gran parte dei casi d'interesse per la biofisica e la farmacologia molecolare.

In dinamica molecolare sono rispettate le leggi della meccanica classica, in particolare la legge di Newton:

$$F_i = m_i a_i$$

dove i corrisponde ad ogni atomo di un sistema di N atomi, m_i è la massa dell'atomo considerato, a_i è la sua accelerazione e F_i è la forza che agisce su di esso, dovuta all'interazione con gli altri atomi.

Conoscendo la forza relativa di ogni atomo ad ogni istante t è possibile determinarne l'accelerazione nel sistema in quell'istante

$$a_i(t) = F_i(t)/m_i = d^2 r_i(t)/dt^2$$

con $r_i(t)$ posizione dell'atomo i al tempo t (Fig. 1).

Il tempo viene discretizzato in intervalli regolari, chiamati *timestep* (δt), utilizzati per far evolvere il sistema lungo la coordinata temporale. L'equazione del moto viene integrata per via numerica, consentendo di calcolare l'evoluzione delle posizioni e delle velocità ad ogni *timestep*. Le coordinate e le velocità di ciascun atomo nello *step* corrente sono calcolate considerando le coordinate e le velocità assunte dall'atomo nello *step* precedente. Le coordinate iniziali della simulazione corrispondono a

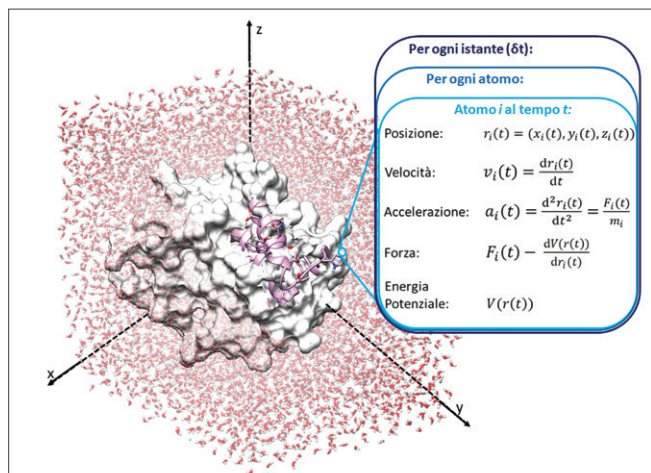


Fig. 1 - Un ciclo di dinamica molecolare, con indicazione delle variabili computate per ogni atomo del sistema

quelle della struttura di partenza, e le velocità iniziali sono generate in maniera casuale. Ad ogni *step*, l'accelerazione di ogni atomo viene calcolata a partire dalle forze che agiscono sullo stesso, computate dall'energia potenziale relativa ad ogni atomo:

$$F_i(t) = -dV(r(t))/dr_i(t)$$

dove $V(r(t))$ è l'energia potenziale in funzione della posizione r al tempo t , data dalla somma delle energie intra ed intermolecolari dell'atomo i al tempo t (energia del campo di forze).

Il cuore di un programma di dinamica molecolare consiste nell'iterazione di un ciclo comprendente il calcolo delle forze agenti in un determinato istante su ciascun atomo o molecola e l'esecuzione del moto delle particelle per un timestep δt .

La lunghezza di δt deve essere breve a sufficienza da permettere di approssimare a costanti le forze nell'intervallo di tempo. δt deve inoltre essere compatibile con la scala dei tempi dei moti più veloci osservabili nel sistema, quindi, affinché l'integrazione delle equazioni sia corretta, δt non può di norma essere maggiore di circa un ventesimo del tempo caratteristico di oscillazione di una particella attorno alla sua posizione di equilibrio: l'ordine di grandezza di δt dev'essere di 10^{-15} secondi (femtosecondi). Per questo motivo, un adeguato numero di iterazioni è richiesto per raggiungere la scala dei tempi necessaria ad osservare il fenomeno di interesse. Oggigiorno si raggiungono in tempi ragionevoli da 10^6 a 10^9 cicli di dinamica, permettendo di esplorare le scale dei tempi del nano-microsecondo.

Applicazioni della dinamica classica a fini farmaceutici

Il grande vantaggio apportato dalla dinamica molecolare nell'ambito SBDD è la possibilità di tener conto dei gradi di libertà dell'intero sistema nello studio dell'interazione ligando-macromolecola. Nelle parole "intero sistema" rientra anche il ruolo dell'acqua, che ormai è rappresentata prevalentemente in modo esplicito nel corso delle simulazioni di dinamica. Il ruolo assunto dalle molecole del solvente è di cruciale importanza nel determinare la posizione dell'equilibrio di molti processi biochimici, incluso il riconoscimento di un ligando con il suo bersaglio molecolare, ed il loro contributo alla variazione di energia complessiva del processo non può essere tralasciato se si vuole ottenere una stima accurata di qualunque proprietà termodinamica associata a tale processo. È quindi indispensabile che le molecole d'acqua, così come gli eventuali ioni che garantiscono l'elettroneutralità, siano esplicitamente presenti nel sistema da simulare; requisito non triviale, dal momento in cui il numero di molecole d'acqua da considerare può essere dell'ordine di molte migliaia di unità.

Le simulazioni con solvente esplicito, inoltre, permettono di investigare direttamente il contributo dell'acqua nel legame ligando-macromolecola: varie tecniche consentono, infatti, di individuare molecole di acqua stabili che mediano interazioni tra il ligando e il bersaglio molecolare.

Alcune delle applicazioni della dinamica prevedono un'integrazione con il *docking* molecolare. In particolare, per sopperire al limite della staticità delle strutture cristallografiche, simulazioni di dinamica di macromolecole apo (senza ligando) possono essere sfruttate per generare un insieme di strutture da utilizzare successivamente nel *docking* di ligandi. Inoltre, simulazioni di dinamica possono far emergere tasche criptiche o siti di legame allosterici, come riportato per l'HIV-1 integrasi, che possono essere sfruttate per ottimizzare la complementarità di nuovi farmaci per questi siti.

In ambito "computazionale biologico-farmaceutico" la dinamica molecolare può essere usata per simulare la strutturazione (o *folding*) di peptidi o piccole proteine, analizzare lo spazio conformazionale di particolari domini all'interno di una proteina, studiare l'effetto di una mutazione a livello strutturale-funzionale di una proteina, studiare il processo di



riconoscimento (o *binding*) di un ligando e del suo bersaglio molecolare e valutarne l'energia.

È bene considerare che le dimensioni dei sistemi simulati pongono una questione fondamentale riguardante la validità del metodo: sebbene il numero di particelle sia relativamente grande, esso resta infatti di molti ordini di grandezza inferiore al numero di atomi che compongono i sistemi macroscopici (dell'ordine di 10^{23}). Non è ovvio *a priori* che le proprietà di un sistema della taglia accessibile alla simulazione siano effettivamente rappresentative del sistema macroscopico che si desidera studiare: spesso quindi l'uso di sistemi relativamente piccoli per lo studio di un problema specifico può essere giustificato solo *a posteriori*.

Studio di processi di *binding* e *unbinding* grazie alla dinamica molecolare

La dinamica molecolare fu inizialmente introdotta da Alder e Wainwright negli anni Cinquanta per lo studio di sistemi composti da sfere rigide e portò rapidamente ottimi risultati anche nello studio di liquidi semplici. La prima simulazione di dinamica molecolare di un sistema realistico, l'acqua in fase liquida, risale al 1974 (Rahman e Stillinger). La prima simulazione di proteine fu fatta nel 1977 da McCammon e altri: si trattava di una simulazione della Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor (BPTI), nel vuoto, della durata di 9,2 ps [2].

Nel 1998 Duan e Kollman effettuarono la prima simulazione di una proteina in solvente esplicito della durata di 1 μ s, osservando il *fold*ing di una porzione di 36 residui di villina da uno stato completamente non strutturato. Questa simulazione era due ordini di grandezza più lunga rispetto ad una simulazione allo stato dell'arte della stessa epoca, e fu resa possibile da supercomputer e da codici parallelizzati; nonostante ciò richiese due mesi di simulazione su *Central Processing Units* (CPU).

D'altra parte, la simulazione di processi lenti, come il *fold*ing o il *binding* (micro-millisecondi), comportano uno sforzo computazionale molto oneroso. Fenomeni di questo tipo richiedono, infatti, il superamento di barriere energetiche elevate, che rallentano la cinetica del processo e che intrappolano il sistema in un minimo di energia potenziale.

Nel tempo sono state sviluppate macchine da calcolo ottimizzate e dedicate alla dinamica molecolare, come il supercomputer Anton, che ha permesso al

gruppo di Shaw di caratterizzare il *fold*ing del dominio FiP35 della proteina WW con una simulazione da 100 μ s, e di raggiungere il traguardo del millisecondo nelle simulazioni di BPTI ed ubiquitina. Inoltre, lo stesso gruppo è riuscito a simulare l'intero processo di riconoscimento di beta bloccanti ed agonisti al recettore adrenergico β_2 , e di inibitori della chinasi Src, attraverso dinamiche *unbiased* [3, 4].

Tuttavia, i supercomputer dedicati sono estremamente costosi ed alla portata di una piccola parte della comunità scientifica. Il più recente sviluppo di codici in grado di sfruttare la velocità di calcolo delle *Graphic Processing Units* (GPU) ha consentito invece di ottenere lunghe simulazioni (ordine del microsecondo) a basso costo.

Accanto a questo, un cambio di paradigma ha iniziato ad evolversi nell'ambito della dinamica molecolare, che prevede la simulazione di molte traiettorie corte in parallelo invece di un'unica lunga traiettoria. Dato che gran parte del calcolo viene sprecato con sistemi intrappolati in un minimo energetico nell'attesa di un evento fortuito, l'idea è di avviare molte simulazioni in parallelo di uno stesso sistema, per poi, non appena una simulazione sfugge dal minimo, interrompere le restanti traiettorie convergendo nel nuovo stato fortunato. Quest'idea è stata sfruttata dal progetto *fold*ing@home, una rete di calcolo globale, che sfrutta i computer messi a disposizione da privati cittadini.

Il nuovo paradigma ha trovato la sua massima espressione nell'uso di modelli markoviani (*Markov State Models*, MSM) e campionamento adattativo. La costruzione di MSM prevede: una discretizzazione della traiettoria in microstati, in cui la stessa viene proiettata, e il calcolo della matrice di probabilità di transizione rispetto ad un tempo chiamato *lagtime*, scelto in modo che la probabilità di transizione sia dipendente solo dallo stato corrente e non dalla sua "storia" (transizioni markoviane). La matrice risultante approssima il comportamento dinamico del sistema, consentendo di estrapolare le scale dei tempi dei processi più lenti e la distribuzione di probabilità all'equilibrio, da cui possono essere calcolate le costanti cinetiche e l'energia libera del processo. Da un punto di vista qualitativo, questo tipo di analisi permette di costruire modelli multi-stadio del processo in esame, individuando stati metastabili del sistema. Una delle prime applicazioni di MSM ai processi di riconoscimento è stato lo studio del percorso di *bin-*

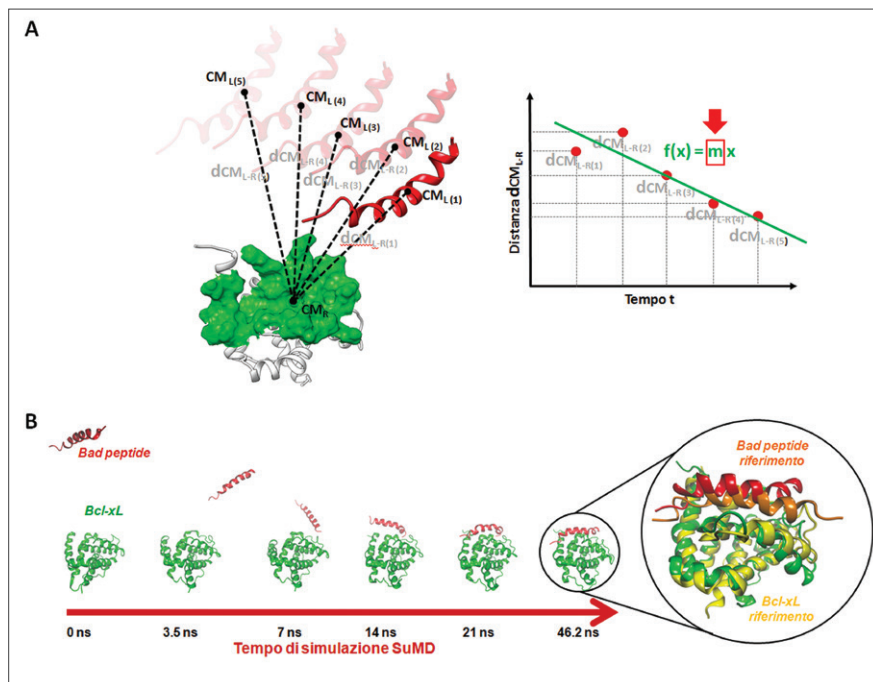


Fig. 2 - a) Schematizzazione di un *SuMD step*, in cui vengono compute le distanze tra i centri di massa di ligando (rosso) e recettore (verde). I valori di distanza vengono interpolati da una funzione lineare, il cui coefficiente angolare determina la simulazione di un nuovo ($m < 0$) o dello stesso ($m > 0$) *SuMD step*; b) rappresentazione del processo di riconoscimento tra il peptide Bad e il target Bcl-xL nel corso di una traiettoria SuMD, in cui l'evento di *binding* viene osservato in soli 46,2 ns. Sulla destra, la sovrapposizione con la struttura sperimentale di riferimento (PDB ID: 1G5J) mostra la capacità della tecnica di riprodurre il dato sperimentale

ding di benzamidina e tripsina ad opera di De Fabritiis *et al.* che ha permesso di individuare tre stati di transizione e di calcolare l'energia libera di legame con 1 kcal/mol di errore rispetto al dato sperimentale [5]. Questa analisi ha richiesto 500 traiettorie da 100 ns, il 37% delle quali produttive. I MSM possono essere usati anche per quantificare la copertura di campionamento dello spazio configurazionale e delle transizioni di un sistema, suggerendo dove focalizzare le successive simulazioni per aumentare l'efficienza della computazione: questo metodo è definito campionamento adattativo.

Tuttavia, il legame di un ligando al suo bersaglio molecolare rimane un evento raro, che richiede diversi microsecondi. Nella Sezione di Modellistica Molecolare (MMS) dell'Università di Padova è stata recentemente sviluppata una tecnica chiamata Dinamica Molecolare Supervisionata (SuMD), che permette di accelerare il processo di legame, consentendone l'esplorazione in decine-centinaia di nanosecondi (Fig. 2A).

Questo metodo non interviene sul profilo energetico del sistema, a cui non aggiunge né sottrae alcuna componente, ma funziona unicamente direzionando

la simulazione verso gli eventi produttivi. Viene definito un intervallo di simulazione, chiamato *SuMD-step*, in cui la distanza dei centri di massa tra ligando e bersaglio molecolare viene supervisionata; le distanze collezionate ad intervalli regolari durante un *SuMD-step* vengono interpolate da una retta, il cui coefficiente angolare determina come procedere (Fig. 2B). Se la pendenza è positiva, significa che il ligando si sta allontanando, perciò il *SuMD-step* corrente viene eliminato e simulato nuovamente riassegnando le velocità; altrimenti, se la pendenza è negativa, significa che il ligando si sta avvicinando, perciò un nuovo *SuMD-step* viene simulato, partendo dalle ultime coordinate e velocità dello step corrente. Applicazioni di SuMD hanno permesso di ottenere una conformazione del ligando molto vicina a quella sperimentale, come nei casi dell'agonista NECA con il recettore

A_{2A} dell'adenosina, e del peptide Bad con il suo bersaglio Bcl-xL [6, 7].

La dinamica classica ha il vantaggio di rispettare la distribuzione statistica di Boltzmann degli stati di un sistema, che ha come limite, però, il problema del campionamento: dal momento che non sono permesse fluttuazioni dell'energia totale del sistema, è impedito il superamento di barriere di energia superiori dell'energia totale del sistema. Negli anni sono state proposte evoluzioni della dinamica, chiamate "Enhanced Sampling Methods", che si pongono come obiettivo il campionamento esaustivo dello spazio conformazionale agendo sull'hamiltoniano dell'energia potenziale del sistema, in modo da superare le barriere energetiche presenti sulla superficie di energia potenziale.

Altre evoluzioni della dinamica, chiamate tecniche alchemiche, prevedono la costruzione di trasformazioni irrealistiche, non fisiche (alchemiche), utili per estrapolare l'energia libera di legame di un composto rispetto ad un altro.

In seguito sono riportati, come esempio, le tecniche d'elezione tra gli "Enhanced Sampling Methods" e



tra gli “Alchemical Methods”, rispettivamente la metadinamica e la “Free Energy Perturbation”.

Campionamento conformazionale attraverso tecniche di metadinamica

La metadinamica è in grado di esplorare con grande efficienza superfici di energia potenziale di elevata complessità ed ha il pregio di avere una comprensibile interpretazione in termini fisici. Allo scopo di far fuggire il sistema eventualmente intrappolato in minimi locali, che appaiono come buche profonde nella superficie di energia potenziale del sistema molecolare, viene aggiunta all’energia potenziale del sistema, e ad intervalli di tempo discreti di tempo, una funzione addizionale di energia potenziale (solitamente descritta da una funzione gaussiana di opportuna ampiezza e larghezza) che aumenta, conseguentemente, l’energia totale posseduta dal sistema in quel particolare istante. L’energia viene aggiunta in funzione di una o più variabili collettive, ossia quel numero ristretto di variabili interne selezionate per l’evoluzione del sistema, in quanto ritenute indispensabili per la sua descrizione [8].

Poiché le gaussiane vengono aggiunte ad intervalli di tempo regolari e solitamente un sistema molecolare tende a stazionare più a lungo in buche di potenziale più profonde, l’effetto è quello di spingere il sistema fuori da questi minimi profondi e permettergli di campionare altre zone del suo spazio conformazionale. Se da una parte la metadinamica è un valido sistema per ottenere un adeguato campionamento dello spazio delle conformazioni, dall’altra l’introduzione di un potenziale esterno dipendente dal tempo modifica la dinamica del sistema che, quindi, non può più essere considerata realistica. Questo è un problema generale: i metodi che consentono una dinamica realistica solitamente non danno un adeguato campionamento, quelli che consentono un buon campionamento (e quindi restituiscono un’accurata termodinamica) alterano la dinamica del sistema.

Calcolo dell’energia libera di legame attraverso il metodo della “Free Energy Perturbation”

Tra i diversi metodi rigorosi messi a punto in questi ultimi anni il metodo chiamato della “Free Energy Perturbation” (FEP), implementato dal gruppo di ricerca del prof. Jorgensen dell’Università di Yale, rappresenta uno dei metodi basati su simulazioni di dinamica molecolare che trovano un’importante applicazione nell’ambito del processo di ottimizzazione di un nuo-

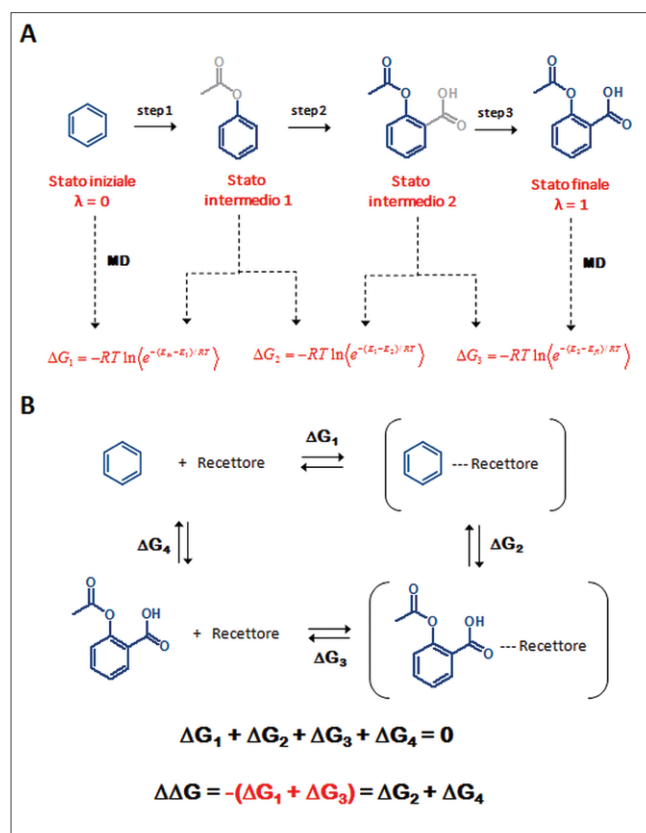


Fig. 3 - a) Schematizzazione di una trasformazione alchemica tipica della FEP; b) schematizzazione del ciclo termodinamico utilizzato per computare l’energia libera di legame grazie alla FEP

vo candidato farmaco [9]. L’idea che sta alla base del metodo FEP è quella di scomporre il problema del calcolo della variazione della $\Delta G_{\text{binding}}$ relativo alla formazione del complesso ligando-recettore in una serie di stadi intermedi e consecutivi, ognuno dei quali è più facile da descrivere computazionalmente, e quindi anche da risolvere, rispetto al processo nel suo insieme. Questa procedura di scomposizione (semplificazione) del processo di riconoscimento non necessita di essere realistica, così come descritto dall’esempio che segue. Si immagini di simulare il riconoscimento dell’acido acetilsalicilico con un suo possibile bersaglio molecolare: il processo nella sua interezza potrebbe essere semplificato immaginando di partire da una molecola di benzene alla quale progressivamente vengono aggiunti atomi e legami in maniera consequenziale fino ad arrivare alla struttura che caratterizza lo stato finale così come descritto in Fig. 3A.

La transizione dallo stato iniziale allo stato finale è controllata da un parametro definito λ a cui vengono associati valori crescenti nel corso della transizione, partendo da 0 nello stato iniziale fino a 1 nello sta-

to finale. L'approccio di dinamica molecolare implementato nel metodo FEP, utilizzando il calcolo dell'energia potenziale derivante da un campo di forze, è in grado di calcolare la variazione di energia libera relativa al passaggio tra due stati λ_i e λ_{i+1} :

$$\Delta G_i = -RT \ln \langle e^{[-E\lambda_i - E\lambda_{i+1}]/RT} \rangle$$

e di conseguenza è possibile calcolare l'energia libera relativa al riconoscimento del ligando attraverso la somma dei ΔG associati ad ogni singolo processo intermedio:

$$\Delta G_{\text{binding}} = \sum \Delta G_i$$

Va ancora una volta ricordato che questo valore di $\Delta G_{\text{binding}}$ non deve essere considerato come una stima reale del valore assoluto di variazione di energia libera legato al processo di riconoscimento, ma può essere utilizzato per un confronto relativo tra i valori di $\Delta G_{\text{binding}}$ attraverso l'utilizzo di cicli termodinamici come quello riportato in Fig. 3B.

Appare evidente da tutto ciò brevemente descritto che sempre di più, oggi e nel futuro prossimo, non ci sarà rappresentazione molecolare che non sia descritta nel tempo, e che non ci sia limite nell'estensione del tempo in cui la stessa rappresentazione non possa essere descritta... aumentando sempre più realismo e accuratezza predittiva delle simulazioni di dinamica molecolare. Prospettivamente due saranno le frontiere in questo ambito. La prima legata al cambio di paradigma nella descrizione atomica: transitando da quella attuale basata sulla meccanica classica a quella basata sulla meccanica quantistica. Il trattamento quantistico dei sistemi molecolari consentirebbe di aumentare sia l'accuratezza nella predizione delle variazioni strutturali del sistema sia in particolare di avere delle anticipazioni più precise relativamente a proprietà termodinamiche e cinetiche del sistema molecolare studiato. Il prezzo da pagare può essere elevato, in termini di tempo di calcolo e di dimensioni di memoria necessarie, in quanto bisogna poter seguire ad ogni passo temporale tutti i gradi di libertà atomici ed eventualmente elettronici del sistema. Per questo l'evoluzione tecnologica informatica, che vede oggi l'utilizzo delle GPUs come motore principale per la produzione di studi di dinamica molecolare classica, potrebbe trovare nei futuri processori quantistici la naturale soluzione per tentare di contenere gli imponen-

ti tempi computazionali intrinsecamente attesi per le simulazioni di dinamica molecolare quantistica.

Legenda

CADD	Computer-Aided Drug Design
SBDD	Structure Based Drug Design
MD	Molecular Dynamics
CPU	Central Processing Unit
GPU	Graphic Processing Unit
MSM	Markov State Model
SuMD	Supervised Molecular Dynamics
FEP	Free Energy Perturbation
BPTI	Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor
MMS	Molecular Modeling Section

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. Canevari, M. Fasolini, E. Casale, *Chimica e Industria*, 2017, **1**(2), 14.
- [2] J.A. McCammon, B.R. Gelin, M. Karplus, *Nature*, 1977, **267**(5612), 585.
- [3] R.O. Dror, A.C. Pan, D.H. Arlow *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, **108**(32), 13118.
- [4] Y. Shan, E.T. Kim, M.P. Eastwood *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**(24), 9181.
- [5] I. Buch, T. Giorgino, G. De Fabritiis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, **108**(25), 10184.
- [6] A. Cuzzolin, M. Sturlese, G. Deganutti *et al.*, *J. Chem. Inf. Model.*, 2016, **56**(4), 687.
- [7] V. Salmaso, M. Sturlese, A. Cuzzolin, S. Moro, *Structure*, 2017, **25**(4), 655.
- [8] A. Laio, M. Parrinello, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**(20), 12562.
- [9] W.L. Jorgensen, C. Ravimohan, *J. Chem. Phys.*, 1985, **83**(6), 3050.

The Influence of Time in Molecular Behaviour: an Introduction to Molecular Dynamics

Molecular Dynamics (MD) simulations can provide not only plentiful dynamical structural information on bio-macromolecules but also a wealth of energetic information about protein and ligand interactions. Such information is very important to understand the structure-function relationship of the target and the essence of protein-ligand interactions and to guide the drug discovery and design process. Thus, MD simulations have been applied widely and successfully in each step of modern drug discovery.