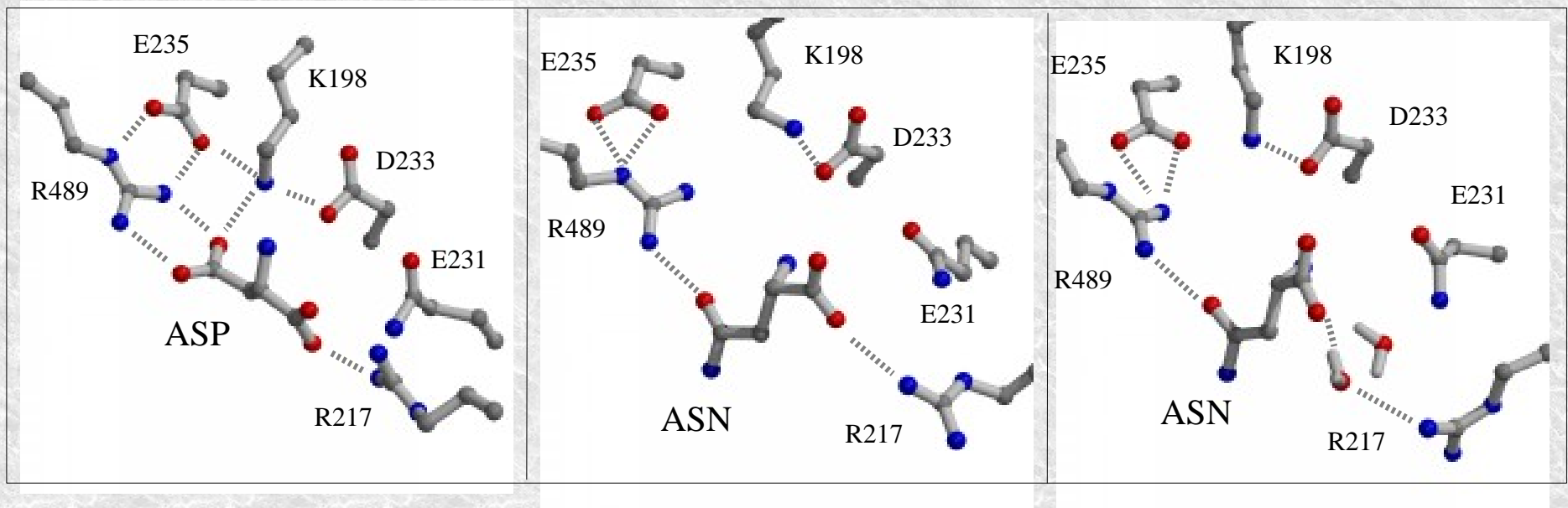


# Interactions protéine:ligand



Mastère *Ingénierie des BioMolécules*  
Module Bioinformatique Structurale  
Novembre 2013  
T. Simonson, Ecole Polytechnique

# Interactions protéine:ligand

**Généralités, définitions**

**Rappels thermodynamiques:**

**constante d'équilibre, énergie libre standard**

**Aspects structuraux**

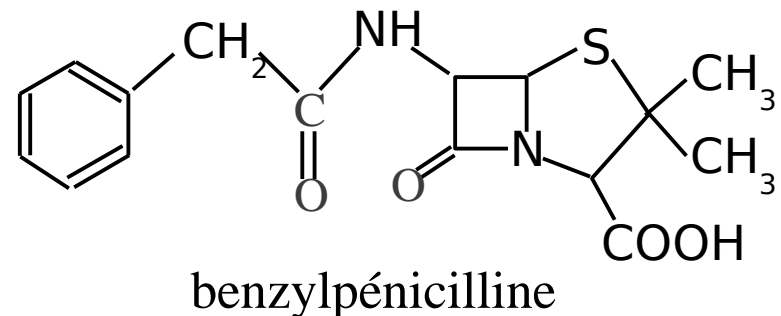
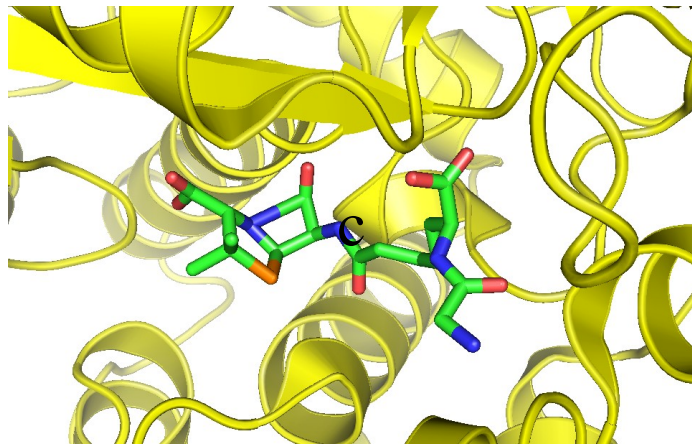
**Prédictions des interactions: docking, criblage virtuel**

**Ligand (latin ligare):** substance qui peut former un *complexe non-covalent* avec une biomolécule

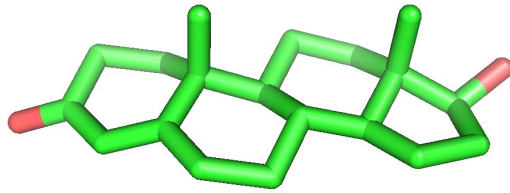
Liaison *réversible* en général (complexe non-covalent)

Caractère fort ou faible de la liaison, ou “affinité”:  
peut être caractérisée par une constante d'équilibre  $K_a$   
et/ou une énergie libre standard

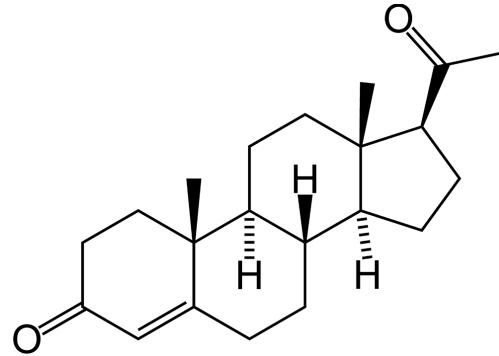
Ligands possibles: substrats, cofacteurs, activateurs,  
inhibiteurs, ions métalliques, autres biomolécules



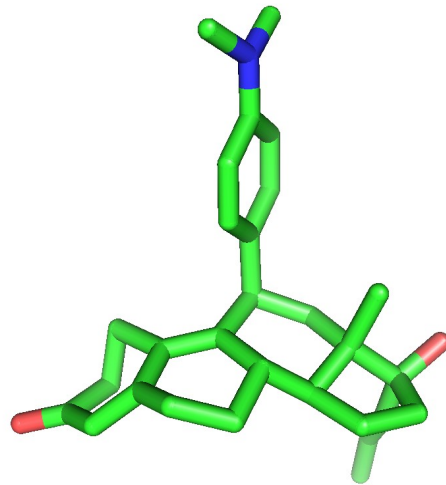
testosterone



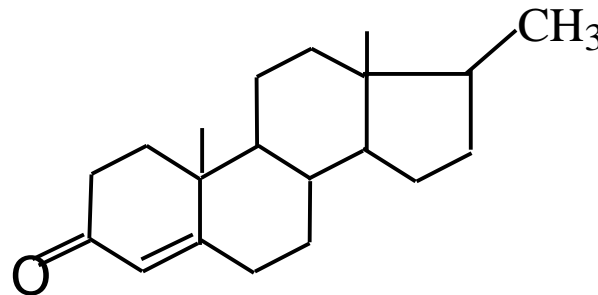
progesterone



mifepristone  
ou RU486  
ou Mifegyne™



DMT



*NEW PRODUCTS* convert into the exact same esters of testosterone found in the body after oral administration of the following anabolic steroids:

- \*Methandrostenolone ( Dianabol ® )
- \*Boldenone ( Equi-gan ® )
- \*Stanozolol ( Winstrol V ® )
- \*Drostanolone ( Masteron ® )



- \*Methandrostenolone is the active ingredient in the anabolic steroid DIANABOL®
- \*Boldenone is the active ingredient in the anabolic steroid EQUI-GAN®
- \*Stanozolol is the active ingredient in the anabolic steroid WINSTROL V®
- \*Drostanolone is the active ingredient in the anabolic steroid MASTERON®

**GAIN INCREDIBLE MUSCLE SIZE AND STRENGTH!**

# Ligands: notion d'espace chimique

Ensemble de molécules stables possibles: nombre estimé  $> 10^{60}$

Seulement  $5 \cdot 10^7$  citées dans la littérature  
(Chemical Abstracts: <http://www.cas.org>)

Chimiothèques: librairies de molécules (environ  $10^4$ - $10^5$ ) issues de la chimie combinatoire

Chimiothèques virtuelles: bases de données *in silico*

# Ligands: “druggability”



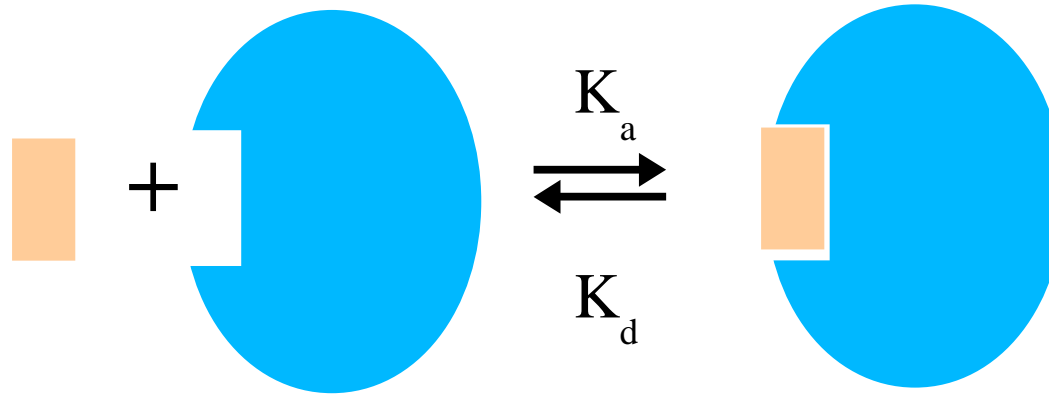
→ restriction de l'espace chimique

Critères “ADME”: Adsorption, Distribution, Metabolism, Excretion

→ règles de Lipinski:

- pas plus de 5 donneurs de liaison H
- pas plus de 10 accepteurs de liaison H
- masse moléculaire < 500 Daltons (~40 carbones)
- coefficient de partition octanol/eau < 5

# Constantes d'association/dissociation

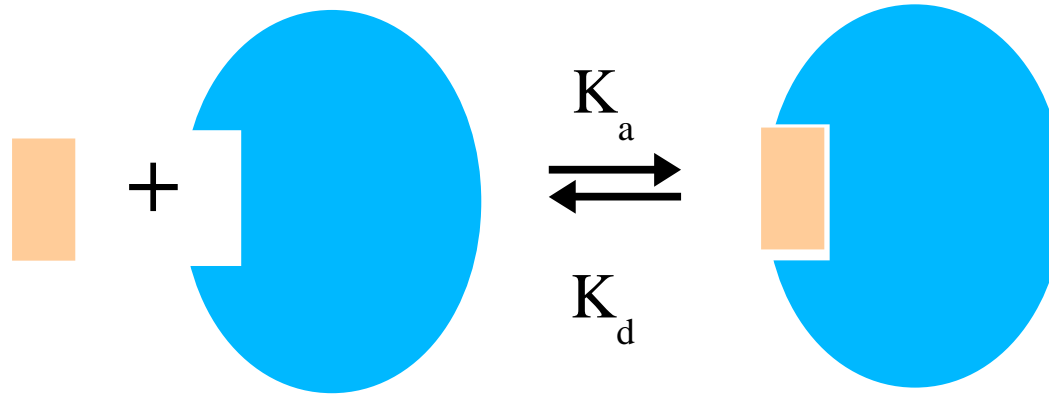


Le rapport des concentrations à l'équilibre est *constante*:

$$K_a = \frac{[P:L]_{\text{éq}}}{[P]_{\text{éq}} [L]_{\text{éq}}} = 1 / K_d$$

$K_a$  dépend de la température, la pression, le pH, mais pas des concentrations

# Constantes d'association/dissociation

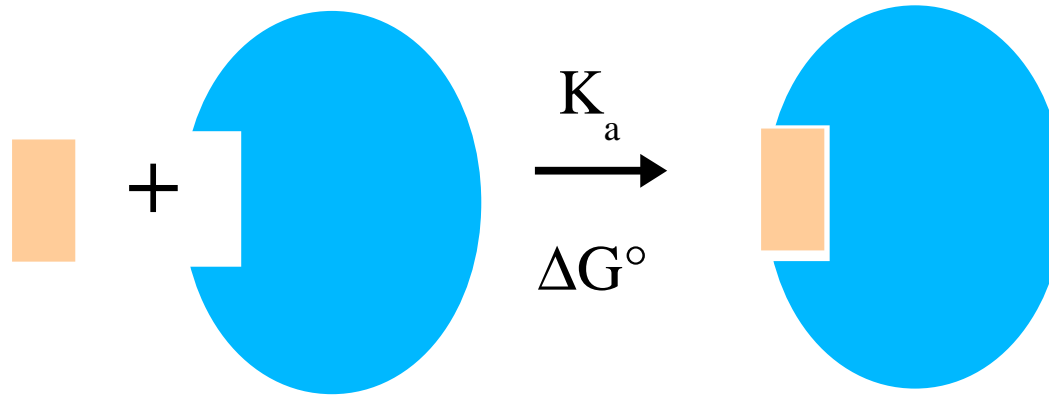


$K_a$  grand  $\leftrightarrow$  la fraction de réactifs liés est grande: association “forte”

$$K_a = \frac{[P:L]_{\text{éq}}}{[P]_{\text{éq}} [L]_{\text{éq}}} = 1 / K_d$$



# Energie libre standard d'association/dissociation

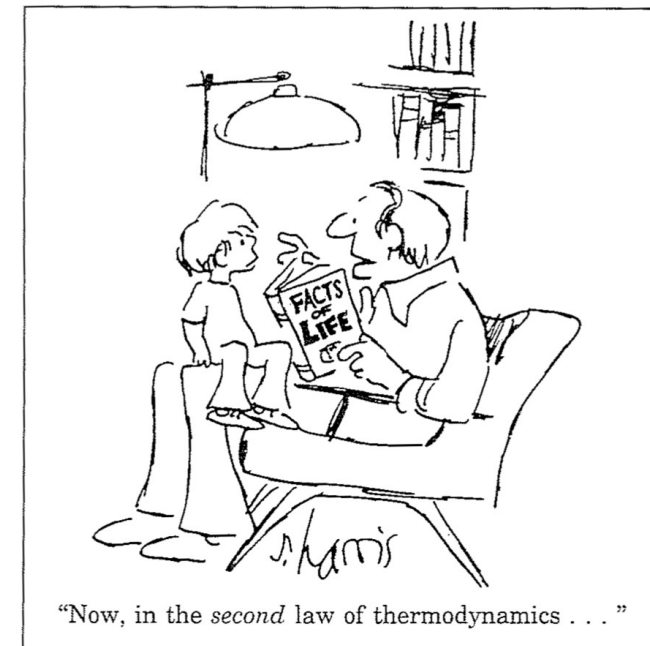


$$\Delta G^\circ = -RT \text{Log } K_a$$

$$K_a = \exp(-\Delta G^\circ/RT)$$

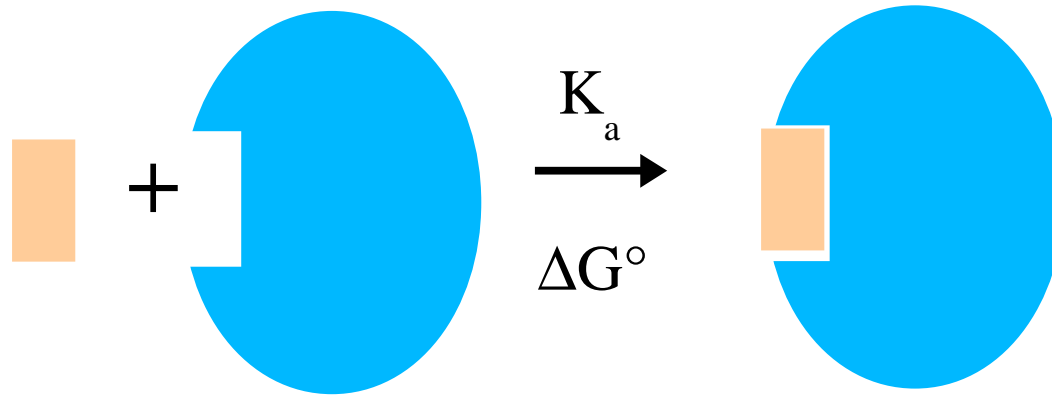
*“The standard free energy change of a reaction is simply another mathematical way of expressing its equilibrium constant”*

Lehninger, Principles of Biochemistry, pg 492



“Now, in the *second* law of thermodynamics . . .”

# Energie libre standard d'association/dissociation

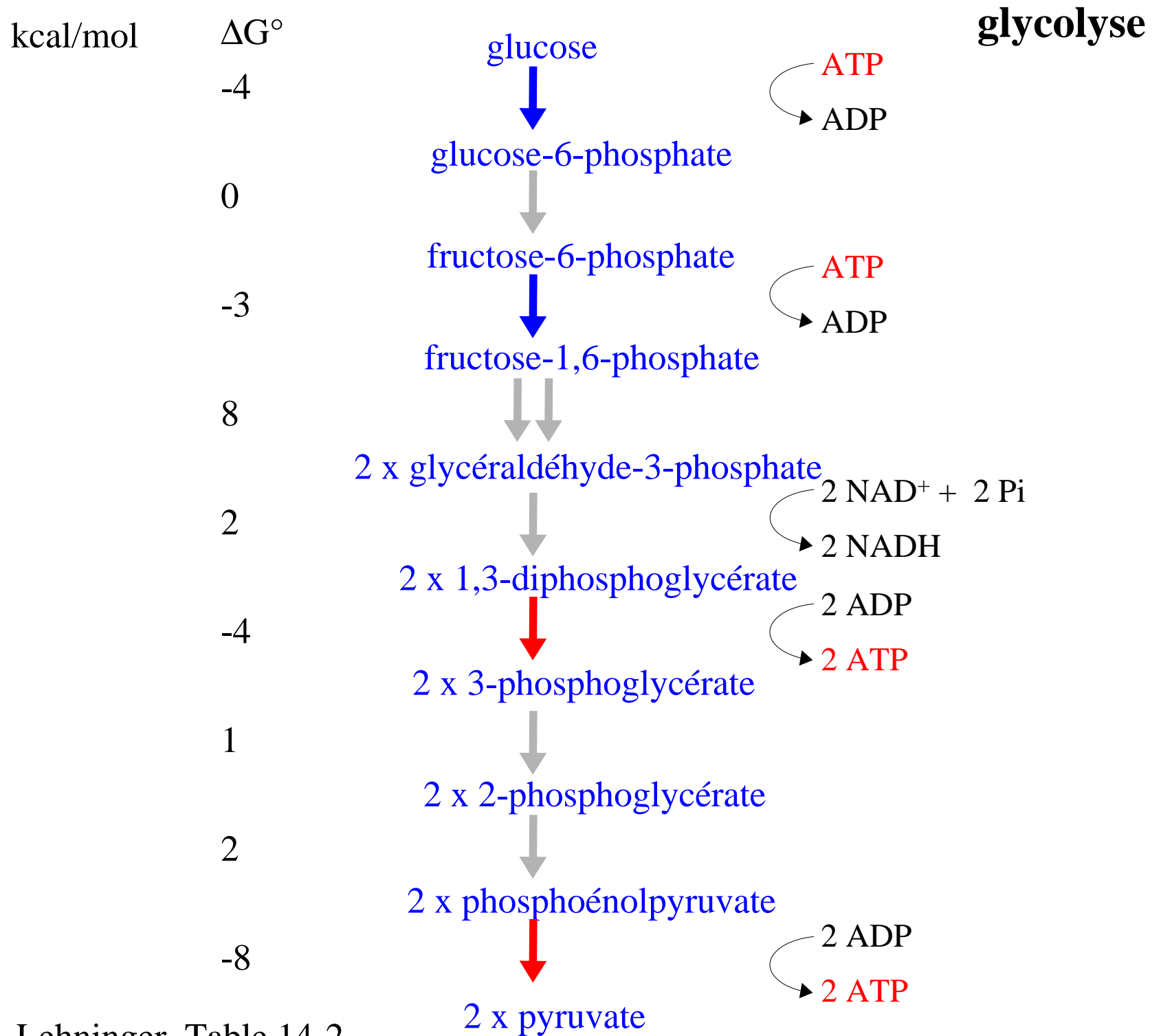


$$\Delta G^\circ = -RT \text{Log } K_a$$

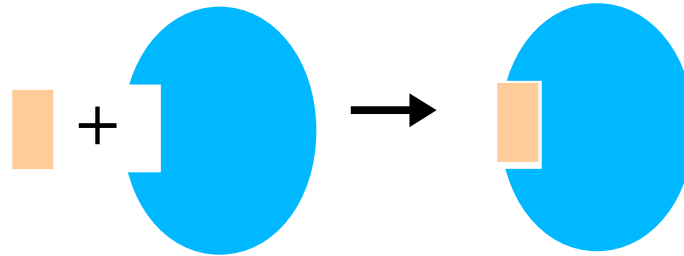
$$K_a = \exp(-\Delta G^\circ/RT)$$

Énergie libre = le travail qu'on peut extraire de la réaction

Un système évolue de manière à minimiser son énergie libre



# Energie libre standard d'association/dissociation



$$\Delta G^\circ = -RT \text{Log } K_a$$

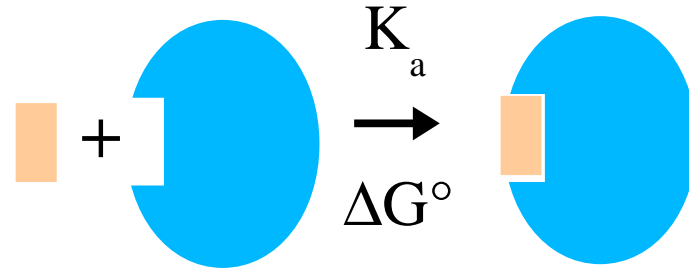
$$K_a = \exp(-\Delta G^\circ/RT)$$

$$K_a = \frac{[P:L]_{\text{éq}}}{[P]_{\text{éq}} [L]_{\text{éq}}} = 1 / K_d$$

$K_a$  grand  $\leftrightarrow \Delta G^\circ$  très négative  $\leftrightarrow$  association très favorable

Choix habituel d'état standard:  $[PL]^\circ = [P]^\circ = [L]^\circ = 1 \text{ M}$

# Energie libre standard d'association/dissociation



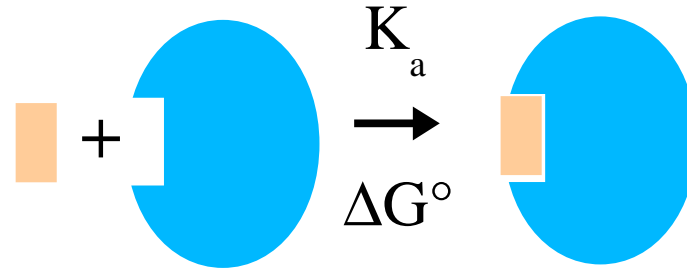
$$\Delta G^\circ = -RT \text{Log } K_a$$

$$K_a = \exp(-\Delta G^\circ/RT)$$

$$K_a = \frac{[\text{P:L}]_{\text{éq}}}{[\text{P}]_{\text{éq}} [\text{L}]_{\text{éq}}} = 1 / K_d$$

|                             |           |           |           |   |        |        |        |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|---|--------|--------|--------|
| $K_d$ (mol/l)               | $10^{-9}$ | $10^{-6}$ | $10^{-3}$ | 1 | $10^3$ | $10^6$ | $10^9$ |
| $\Delta G^\circ$ (kcal/mol) | -12       | -8        | -4        | 0 | 4      | 8      | 12     |

# Energie libre standard d'association/dissociation



$$\Delta G^\circ = -RT \text{Log } K_a$$

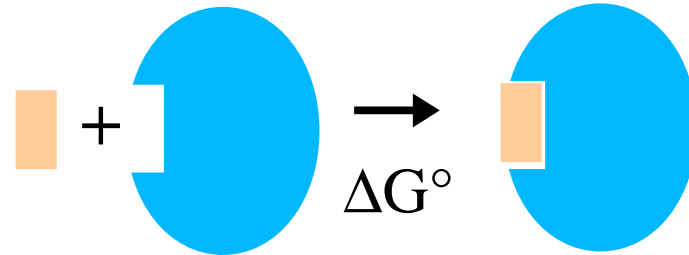
$$K_a = \exp(-\Delta G^\circ/RT)$$

$$K_a = \frac{[P:L]_{\text{éq}}}{[P]_{\text{éq}} [L]_{\text{éq}}} = 1 / K_d$$

|                             |           |           |           |   |        |        |        |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|---|--------|--------|--------|
| $K_d$ (mol/l)               | $10^{-9}$ | $10^{-6}$ | $10^{-3}$ | 1 | $10^3$ | $10^6$ | $10^9$ |
| $\Delta G^\circ$ (kcal/mol) | 12        | 8         | 4         | 0 | -4     | -8     | -12    |

NB: liaison covalente C-C = 83 kcal/mol

# Difficulté: l'énergie libre contient énergie *et* entropie

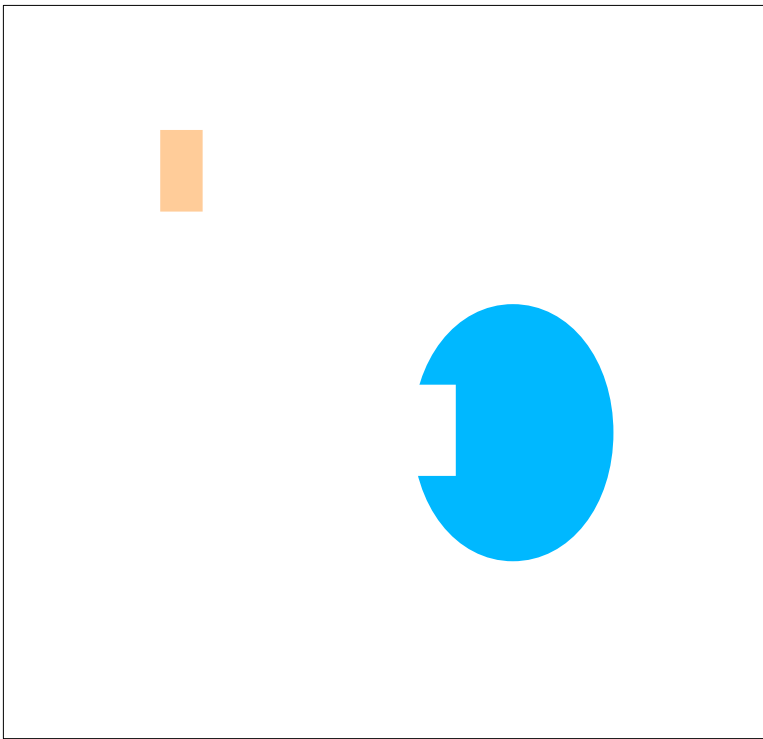


$$\Delta G^\circ = \Delta E^\circ - T \Delta S^\circ + p \Delta V^\circ$$

négligeable  
en biochimie

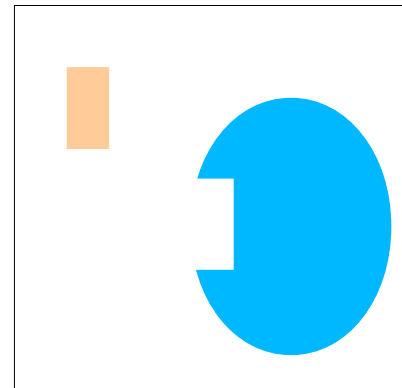
Énergie intra- et inter-ligands,  
interactions ligands-eau, eau-eau.  
*Ce terme correspond à la  
fonction d'énergie XPLOR*

Ce terme mesure le degré de  
"désordre": désordre de  
translation et rotation des  
ligands et de l'eau; désordre  
vibrationnel

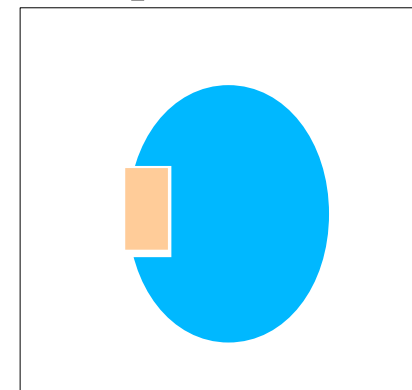


faible concentration  $\rightarrow$  possibilité de  
grandes translations  $\rightarrow$  favorise la dissociation

forte concentration  $\rightarrow$  translations limitées  
 $\rightarrow$  défavorise la dissociation



translations encore  
plus limitées:  
entropie très faible

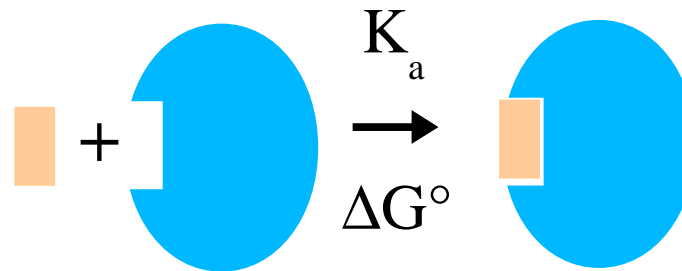


entropie de translation croissante:

contribution à l'énergie libre de  
dissociation de plus en plus favorable



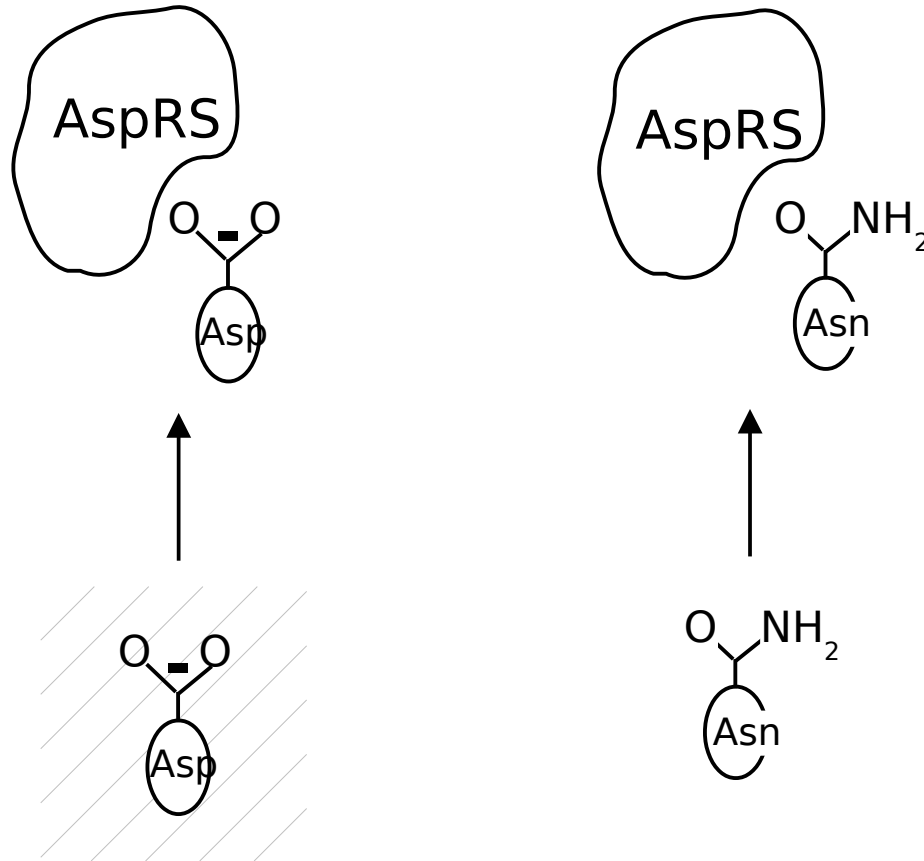
# Valeurs des entropies d'association pour quelques ligands: contributions de la rotation et translation



$$\Delta G^\circ = \Delta E^\circ - T \Delta S^\circ$$

|                                       | Entropie (cal/mol/K) | TS (kcal/mol) |
|---------------------------------------|----------------------|---------------|
| Translation (molécule de 20 à 200 Da) | 29 à 36              | 9 à 11        |
| Rotation                              |                      |               |
| eau                                   | 10                   | 3             |
| propane                               | 22                   | 7             |
| dicyclopentadiène                     | 27                   | 8             |

# L'entropie de translation et de rotation est très similaire pour Asp et Asn: elle disparaît de l'analyse (ouf!)

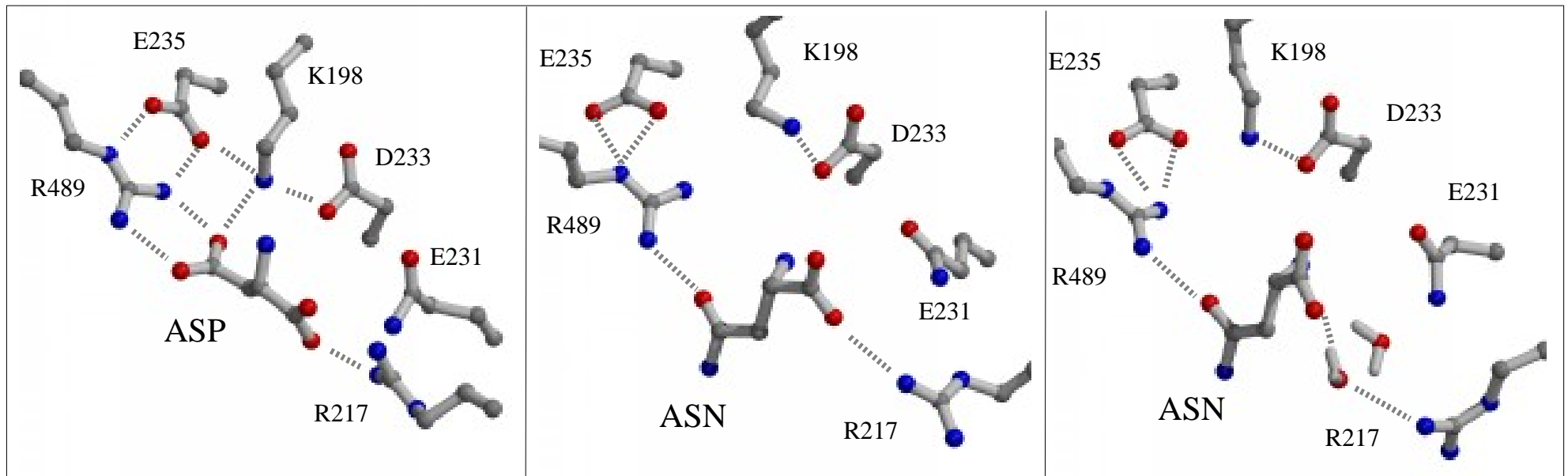


|                                       | Entropie (cal/mol/K) | TS (kcal/mol) |
|---------------------------------------|----------------------|---------------|
| Translation (molécule de 20 à 200 Da) | 29 à 36              | 9 à 11        |
| Rotation                              |                      |               |
| eau                                   | 10                   | 3             |
| propane                               | 22                   | 7             |
| dicyclopentadiène                     | 27                   | 8             |

(Conditions standards: 1 M)

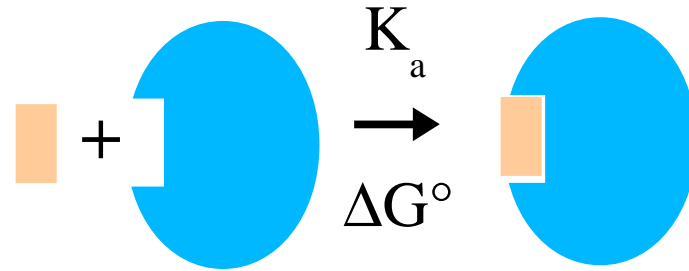
# L'entropie totale est très similaire pour Asp et Asn: elle disparaît de l'analyse (ouf!)

L'état associé est caractérisé par une conformation prédominante (ou un petit nombre de conformations).



Asp, Asn liés à l'aspartyl-tRNA synthétase

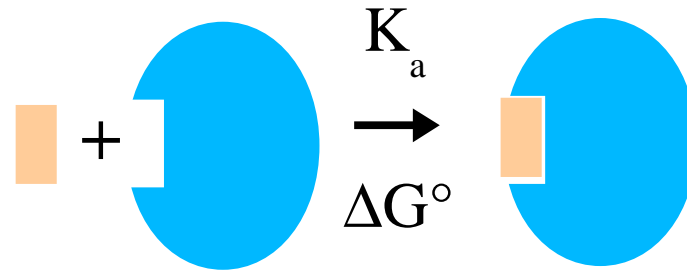
# Energie libre *standard* d'association/dissociation



C'est l'énergie libre de réaction quand on impose les concentrations standards.

Choix habituel d'état standard:  $[PL]^\circ = [P]^\circ = [L]^\circ = 1 \text{ M}$   
pH neutre, température et pression ambiante

# Energie libre *standard* d'association/dissociation



C'est l'énergie libre de réaction quand on impose les concentrations standards.

$$\Delta G^\circ = \Delta E^\circ - T \Delta S^\circ$$

Pour des solutés très dilués, *seul*  $\Delta S^\circ$  dépend de la concentration.

# L'énergie libre d'association protéine-ligand est définie aussi pour d'autres choix de concentrations (non-standards, donc)

Lehninger, Principles of Biochemistry, Eq. (13-3)

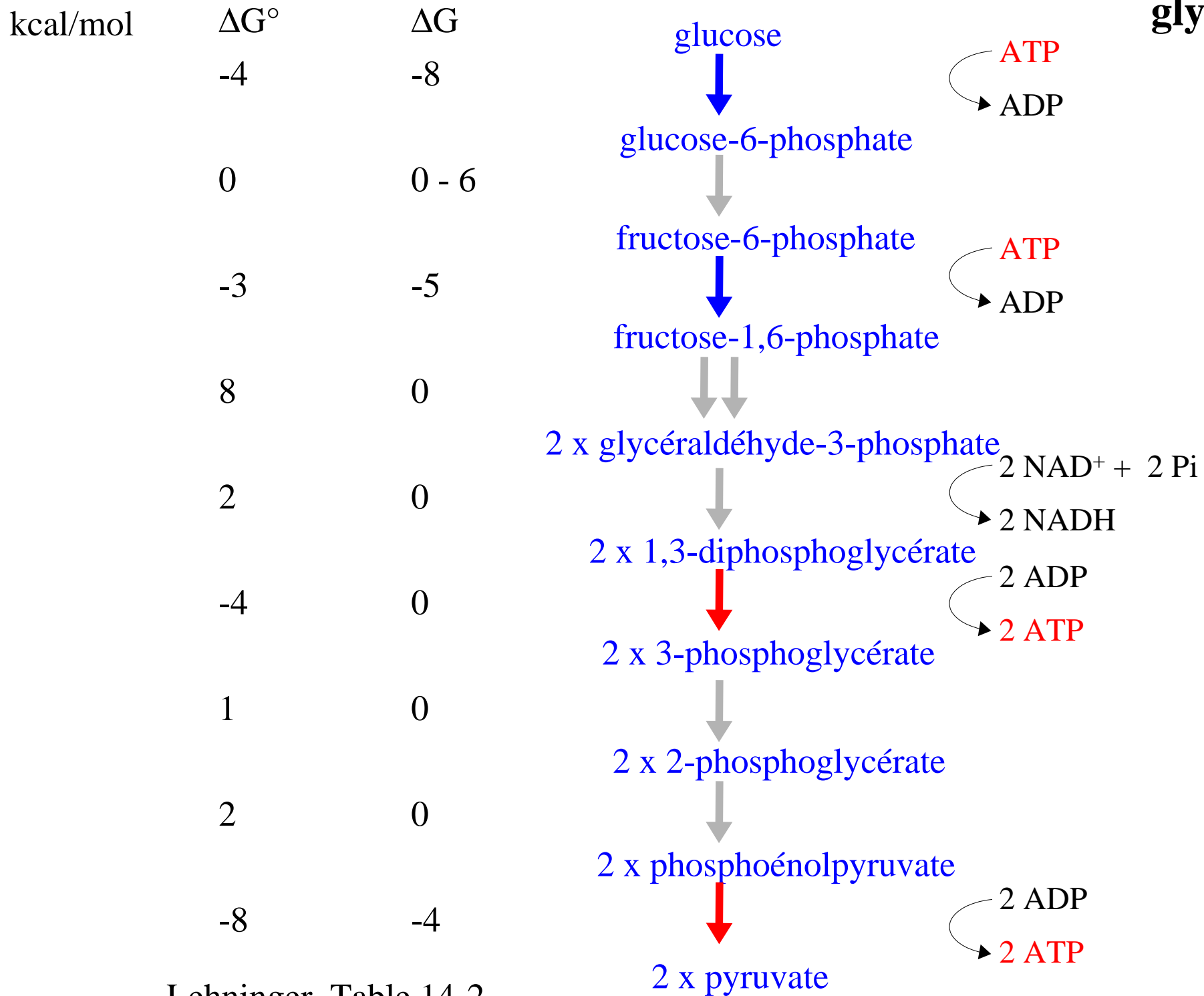
$$\Delta G = \underbrace{\Delta G^\circ} + RT \operatorname{Log} \frac{[PL]/[P][L]}{\underbrace{[PL]^\circ/[P]^\circ[L]^\circ}}$$

Correspond à un état standard.  
Dépend de la nature des partenaires,  
du solvant, et de leurs interactions.  
Inclut le changement d'entropie de  
translation et de rotation quand P et  
L se lient *aux concentrations  
standard.*

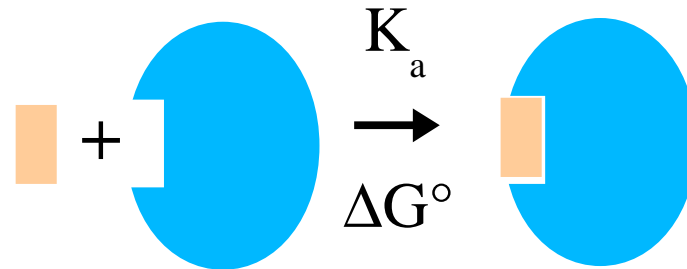
dépend des  
concentrations

**Exc:** que vaut  $\Delta G$  pour des concentrations d'équilibre?

# glycolyse



# Energie libre *standard* d'association/dissociation



En général:

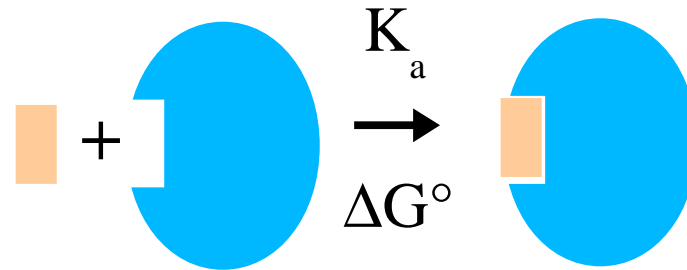
- (1) on raisonne sur (ou on modélise) un état dilué expérimental
- (2) on sait extrapoler vers d'autres états plus ou moins concentrés, car on connaît la variation de l'entropie avec la concentration (formule théorique)
- (3) on accepte, par convention, d'extrapoler jusqu'à des concentrations de 1 M, même si ce n'est plus vraiment très dilué
- (4) en modélisant un seul complexe P:L, on peut analyser correctement  $\Delta E^\circ$

$$\Delta G^\circ = \Delta E^\circ - T \Delta S^\circ$$

Pour des solutés très dilués, *seul*  $\Delta S^\circ$  dépend de la concentration.



# Mesures expérimentales de constantes d'équilibre



Nombreuses techniques biophysiques: fluorescence, RMN, calorimétrie, ...

Mesures via la cinétique enzymatique et la constante de Michaelis:

$$V = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad K_M \cong K_d$$

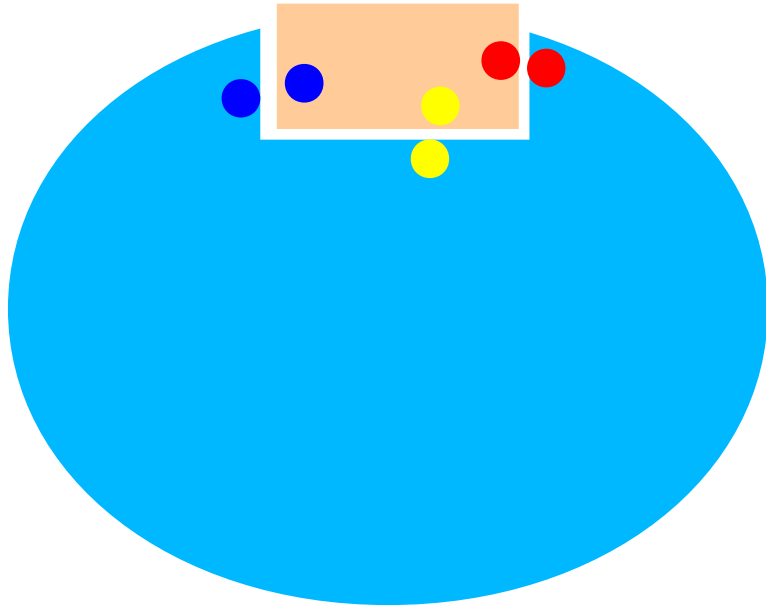
$$V = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_M (1 + K_I/K_M)} \quad \text{en présence d'un inhibiteur}$$

Bases de données de constantes expérimentales:

- PDSP  $K_i$  database: “Psychoactive Drug Screening Program”
- BindingDB.org

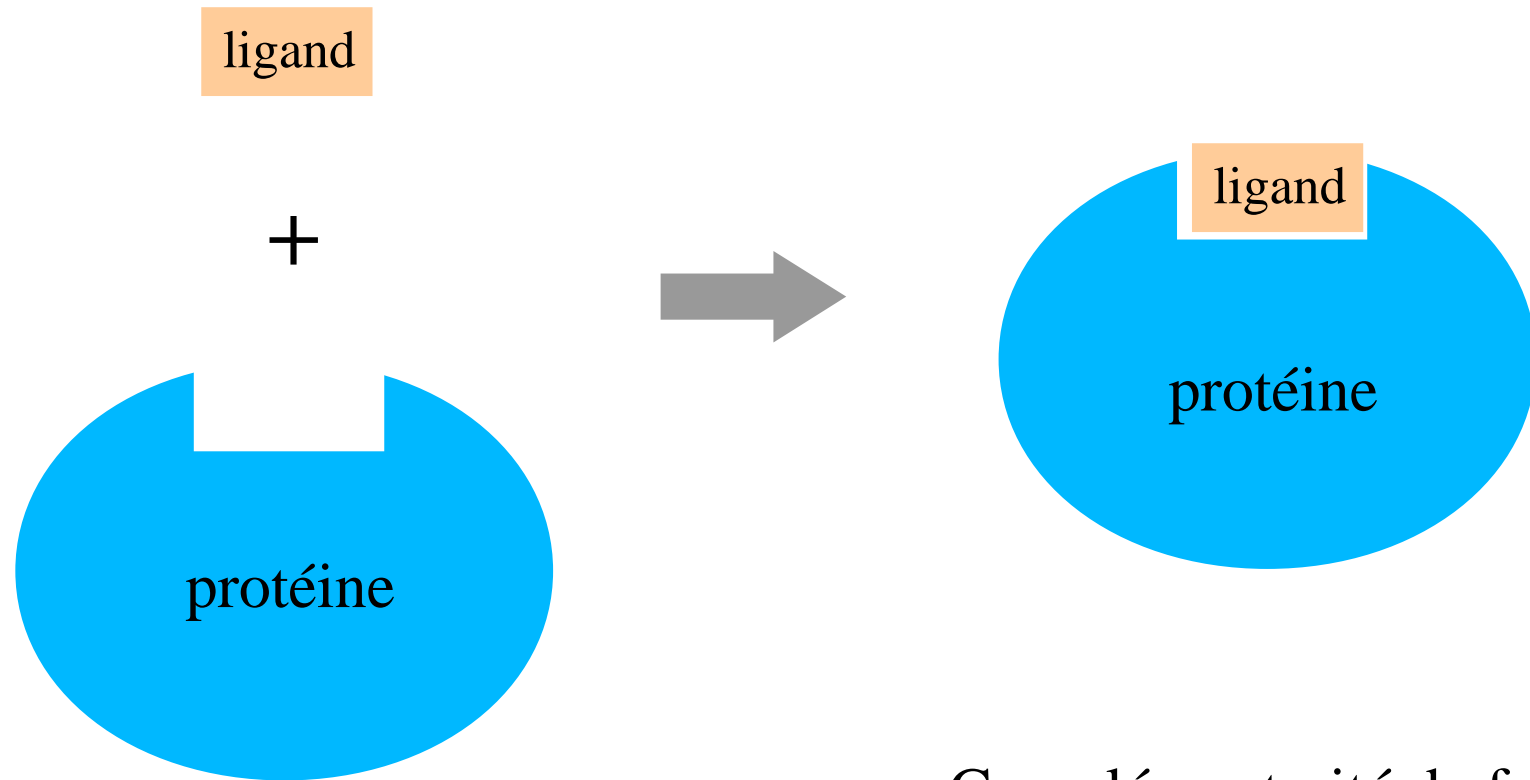
# Aspects structuraux

Interactions non-covalentes entre deux molécules



Complémentarité de forme  
Complémentarité chimique

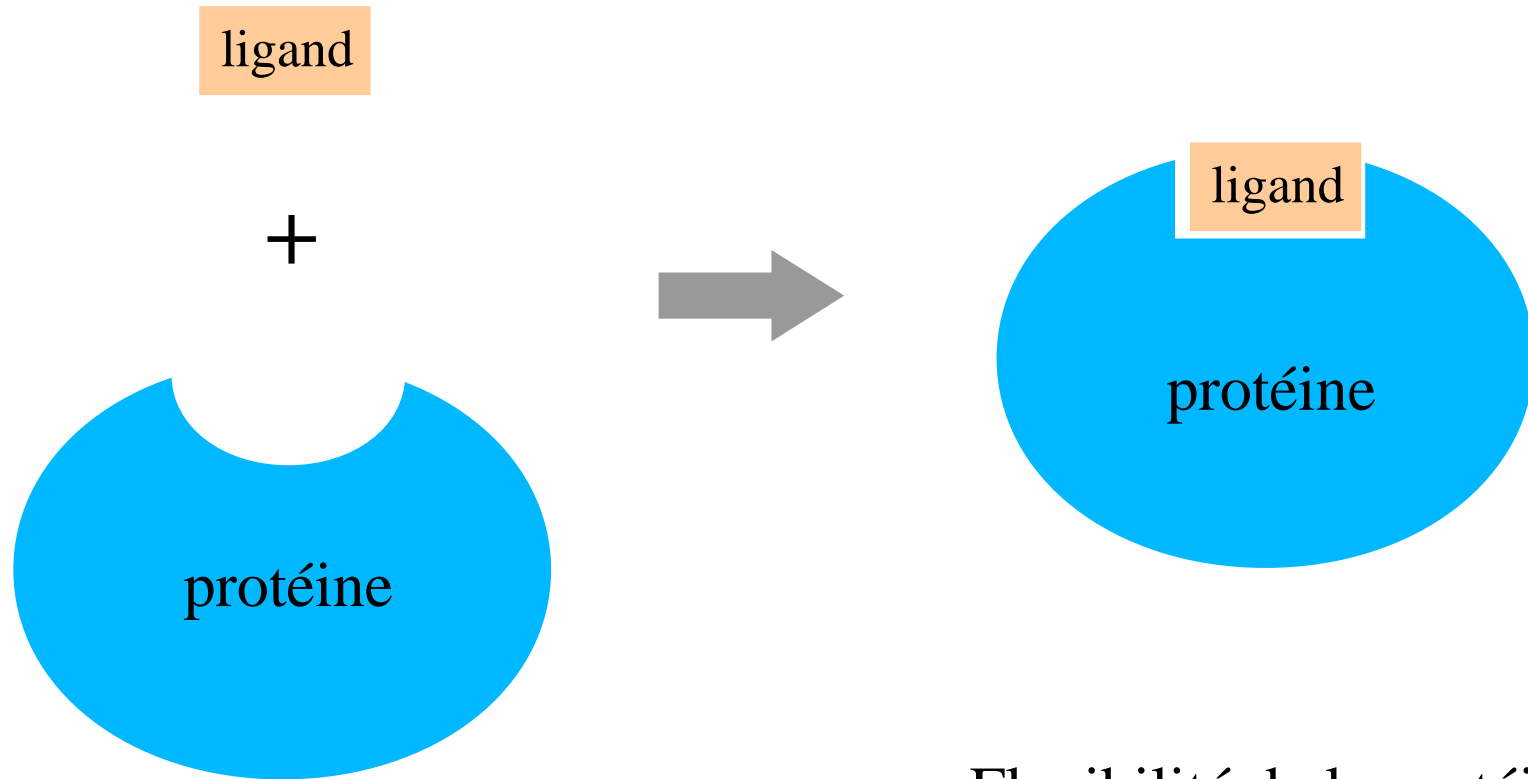
# Le modèle “clé-serrure” (Emil Fischer, 1890)



Complémentarité de forme

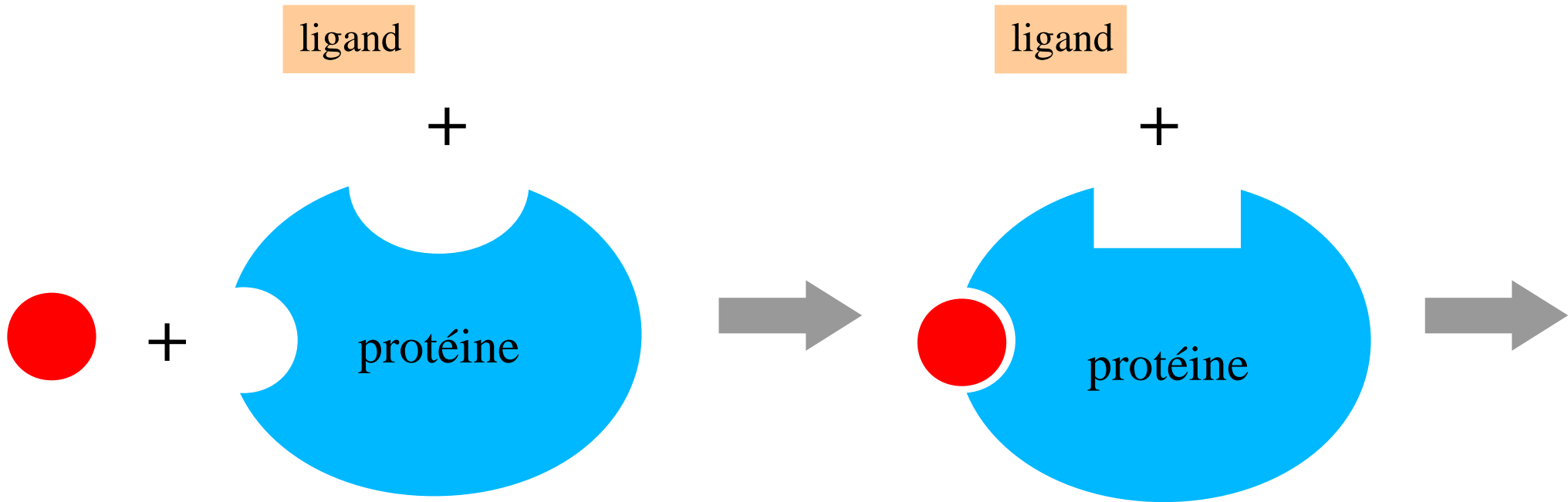
Exc: Qu'en est-il de l'AspRS?

# Le modèle “fit induit” (Daniel Koshland, 1958)



Flexibilité de la protéine

# Le cas particulier d'un effecteur allostérique



La fixation d'un effecteur allostérique modifie le site de fixation du ligand

# Bases de données structurales

PDB: environ 10500 ligands différents (codes résidus à 3 lettres)

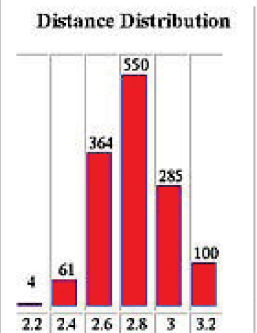
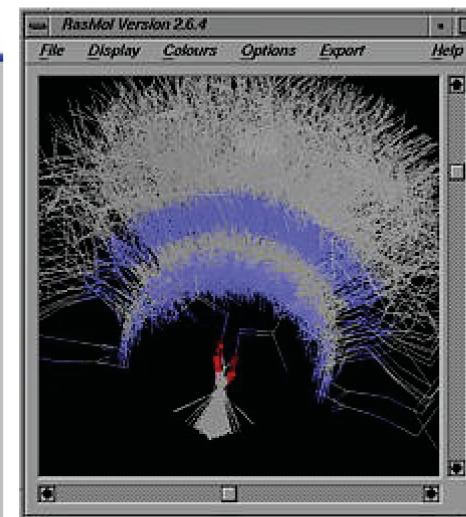
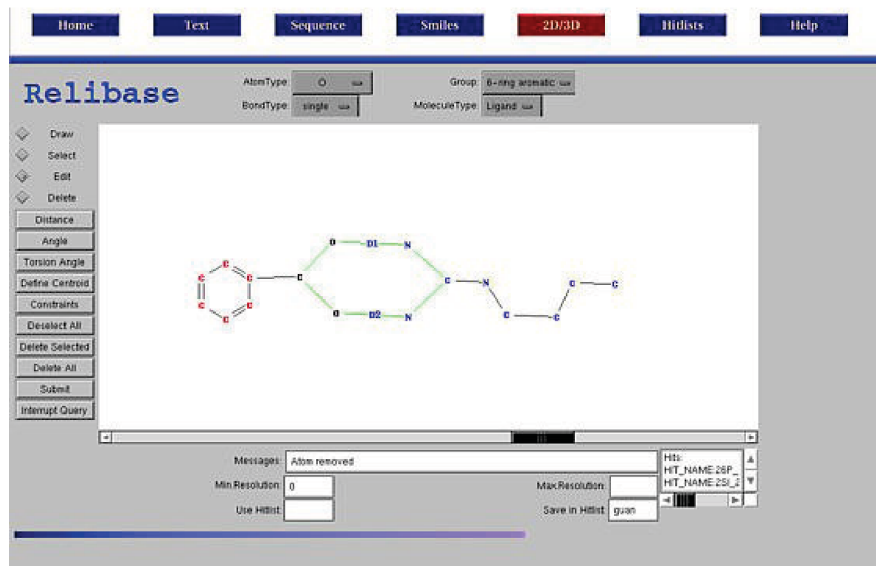
Téléchargement des coordonnées:

<ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/msd/pdbechem/readme.htm>

Bases industrielles: beaucoup plus de ligands

Analyse structurale: nombreux outils

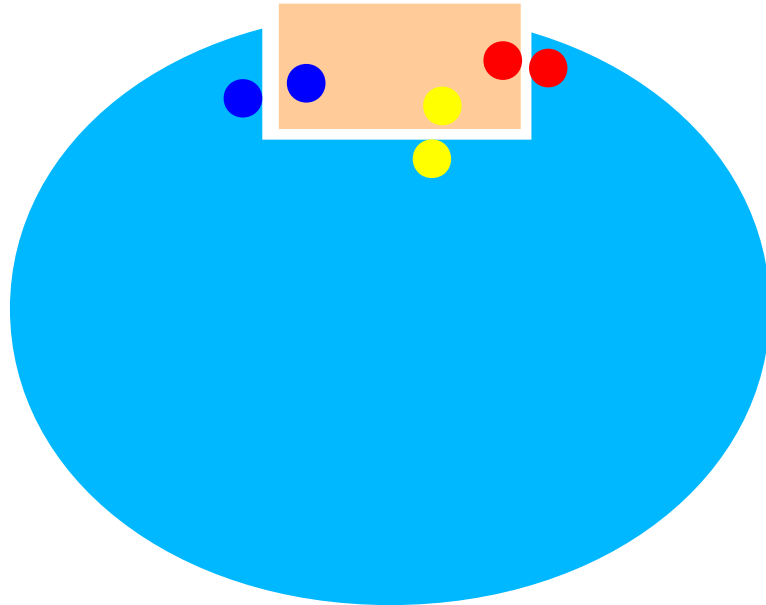
Interaction  
benzoate -  
guanidinium



<http://relibase.ccdc.cam.ac.uk>

# Aspects structuraux

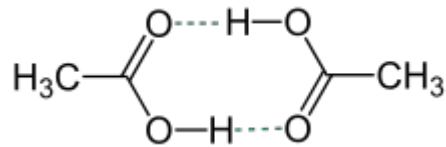
Interactions non-covalentes entre deux molécules



Complémentarité de forme  
Complémentarité chimique

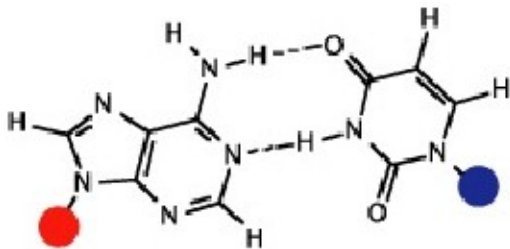
- On peut distinguer:**
- 1) liaisons hydrogène
  - 2) interactions ioniques
  - 3) interactions apolaires
  - 4) ne pas oublier les interactions eau-eau!

# Liaisons hydrogènes

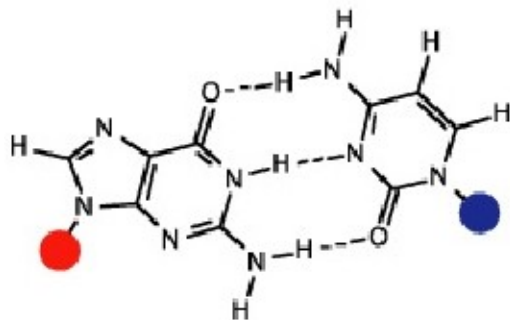


D-H .... A    donneur : accepteur  
distance D...A    2.5 à 3.2 Å environ  
angle DHA assez proche de  $180^\circ$  ( $>130^\circ$  environ)  
énergie: quelques kcal/mol  
caractère faiblement covalent

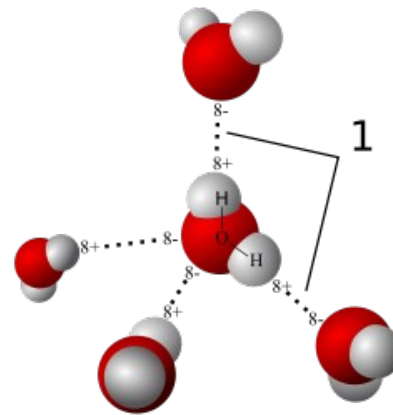
**Dans XPLOR:** modèle électrostatique, charges partielles



Paire A-U



Paire G-C





# Interactions ioniques

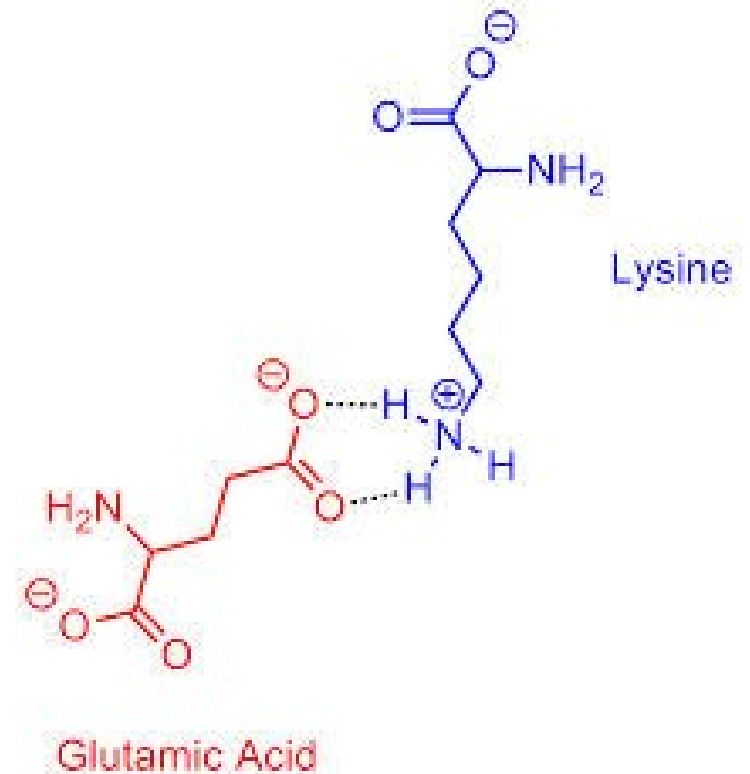
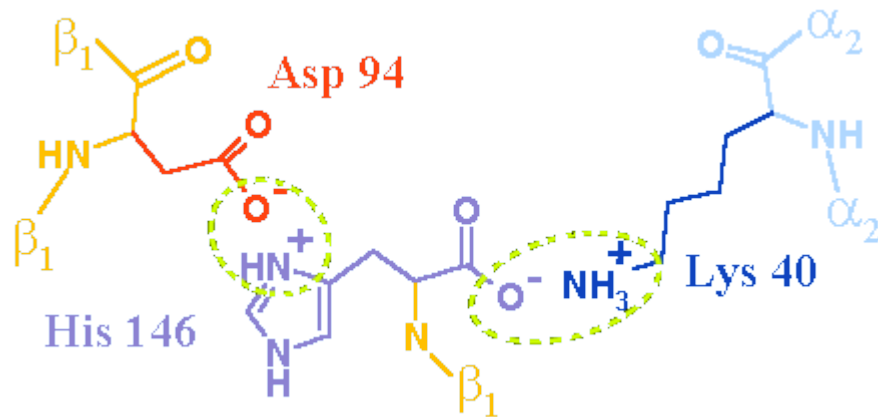
“Pont salin”

Entre groupes ioniques

Interaction charge-charge

Potentiel de Coulomb:

$$U = q q'/r$$



# Liaisons apolaires

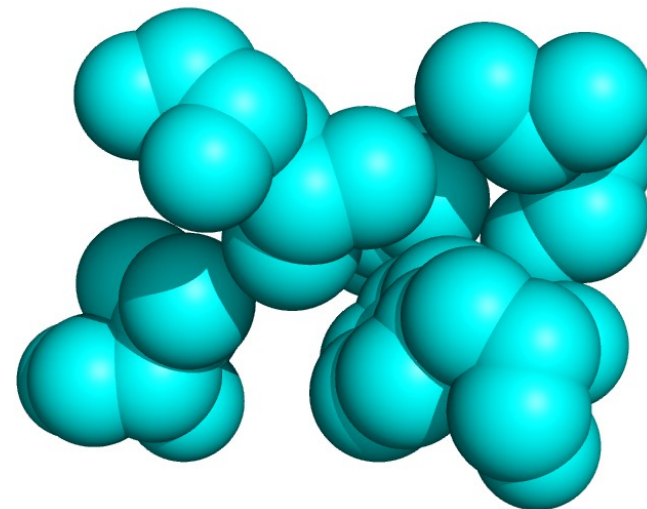
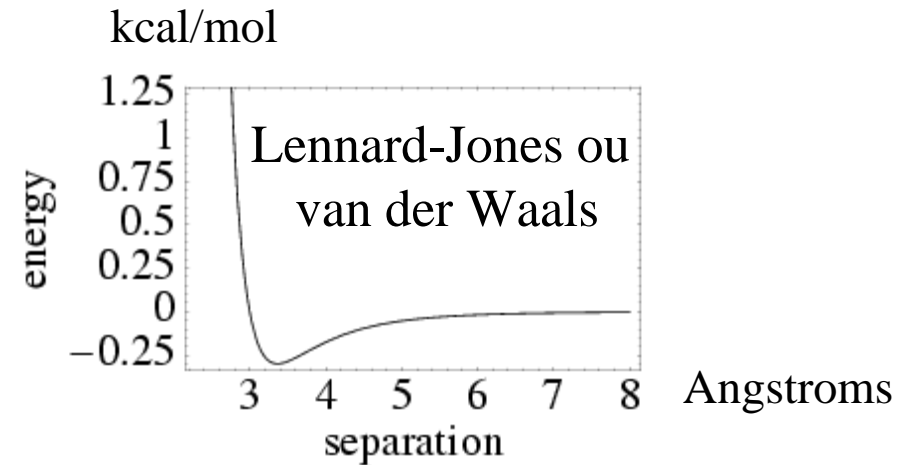
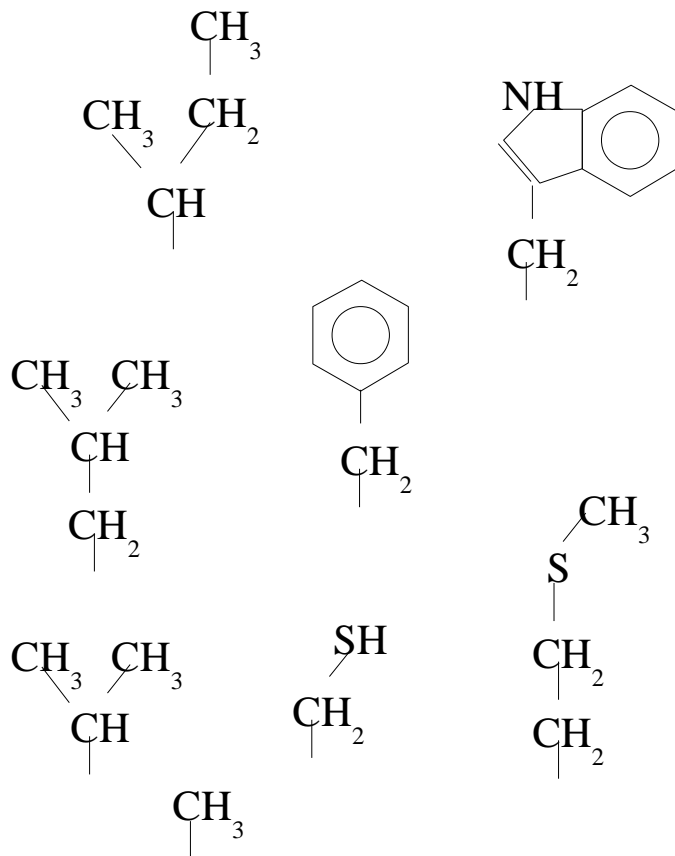
Interaction de type van der Waals ou Lennard-Jones

Peu directionnelles

Faiblement attractif (polarisation mutuelle des nuages électroniques)

Répulsion stérique à courte distance

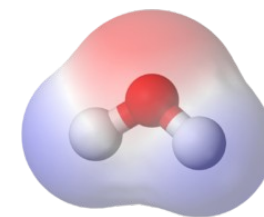
Énergie XPLOR:  $U = A_{ij}/r_{ij}^{12} - B_{ij}/r_{ij}^6$



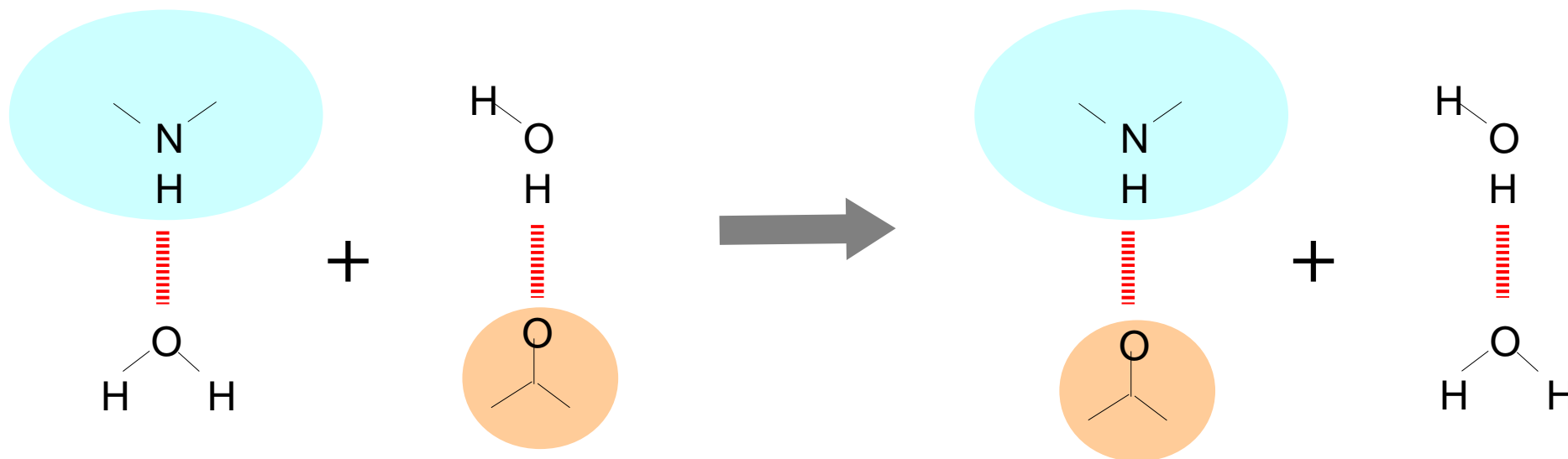
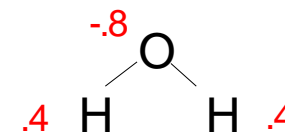
Chaines latérales aliphatiques d'un domaine SH3

# Interactions avec et entre molécules d'eau

- La molécule d'eau est très polaire: interactions forte eau-eau
- Dans **XPLOR**, le modèle GB représente les interactions avec l'eau
- Quand deux solutés s'associent, il faut prendre en compte les interactions nouvellement formes ou détruites:



eau



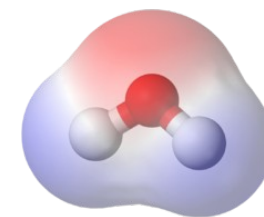
2 liaisons H eau-solutés

1 liaison H soluté-soluté  
1 liaison H eau-eau

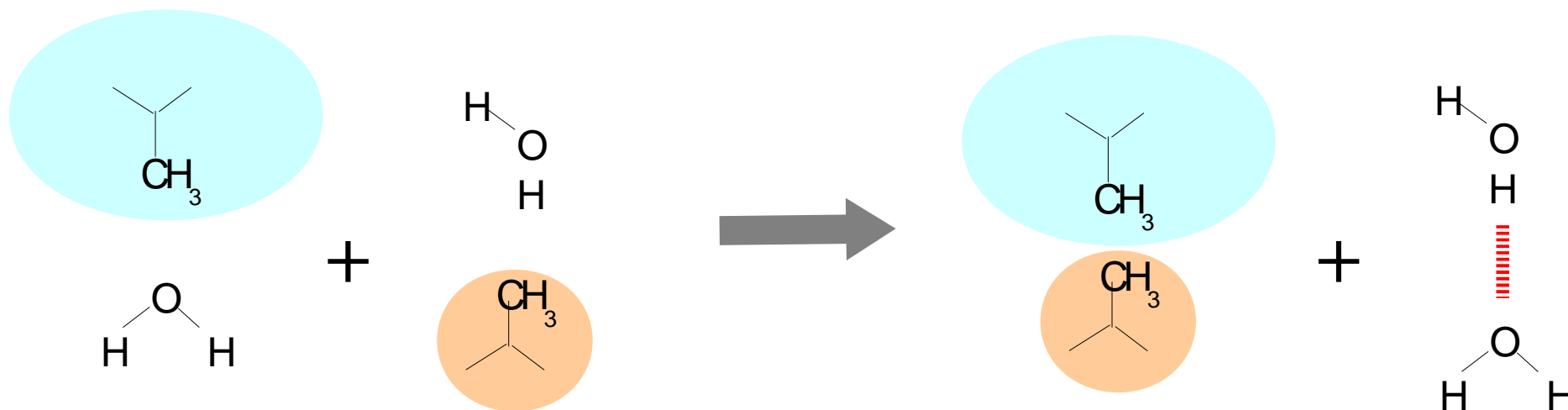
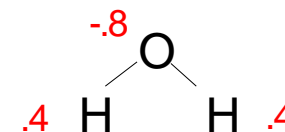
Bilan proche de 0

# Interactions avec et entre molécules d'eau

- La molécule d'eau est très polaire: interactions forte eau-eau
- Dans **XPLOR**, le modèle GB représente les interactions avec l'eau
- Quand deux solutés s'associent, il faut prendre en compte les interactions nouvellement formes ou détruites:



eau



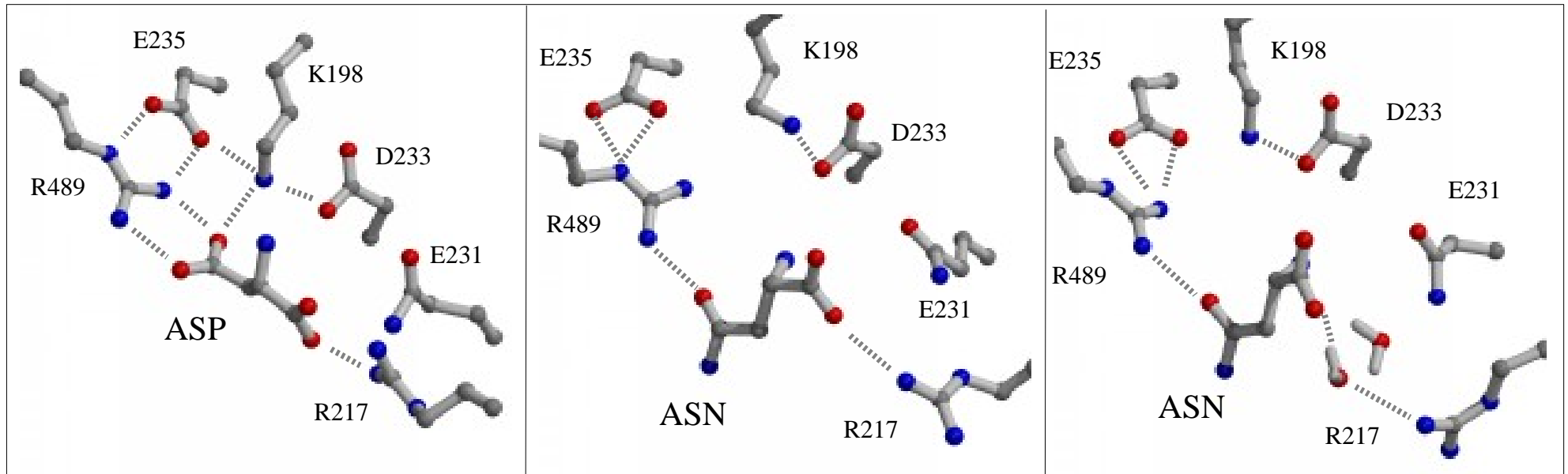
Pas de liaisons H

1 liaison H eau-eau

Bilan favorable à cause de l'eau

# Effet du pH, couplage entre association protéine-ligand et protonation/déprotonation

**Exc:** est-ce que la fixation de l'Asn dans la poche de l'AspRS modifie l'état de protonation de la Lys198 voisine?



Réponse en salle info 36