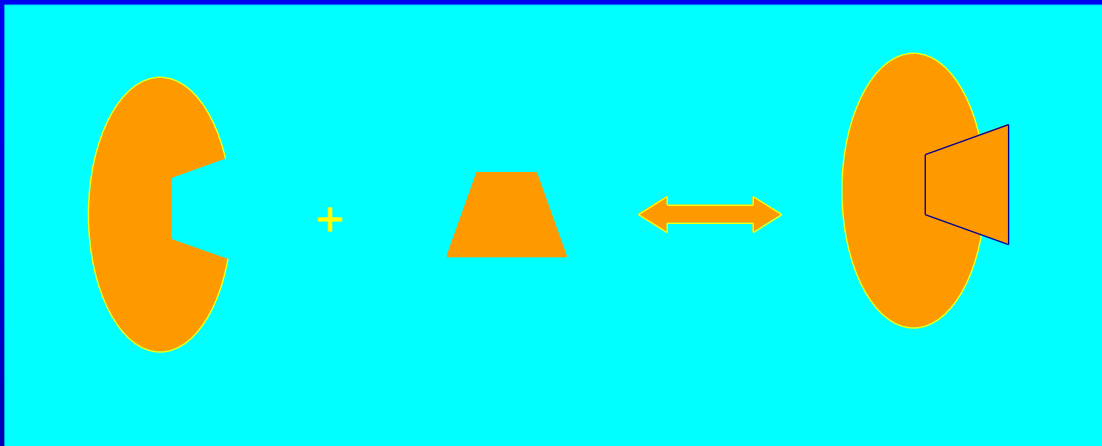


Modélisation d'interactions ligands- macromolécules

A. Dejaegere
UMR 7104 CNRS - ESBS
Strasbourg

- Fondamental: reconnaissance moléculaire dans un système complexe



- Appliqué: pharmacologie “drug design”

Ligand vs. Médicament

- Ligand: se lie à une cible biologique et affecte sa fonction
- Médicament
 - Ligand +
 - ADME/TOX: Adsorption; distribution; métabolisme; excrétion et toxicité

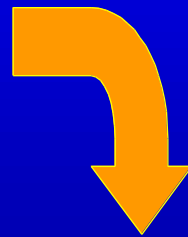
Trouver un lead
Ligand naturel
Criblage
Littérature

Lead: ligand non optimal



Synthèse de
Nouveaux Composés

Optimisation du lead



Test biologique



Etudes pré-cliniques



Structure 3D
de la cible?

OUI

NON

Conception in silico
basée sur la structure

QSAR; 3D QSAR,
pharmacophore

Trouver des ligands *in silico*

- Identifier le site actif de la cible
- Proposer des structures de complexes
 - criblage virtuel
 - conception de novo
- Evaluer l'énergie libre de formation des complexes proposés

Identifier le site actif

- **Biochimie**
- **Bioinformatique**
Lichtarge et Sowa Curr. Opin. Struct. Biol. 2002 12 21-27
- **Modélisation**
Hydrophobicité: M. Scarsi et al. Proteins 1999 37 565-575

Criblage virtuel

- Construire une base de données de ligands potentiels (structure 3D de chaque ligand)
- Placer chaque ligand dans le site actif de la cible
- Evaluer l'affinité relative de chaque ligand pour la cible

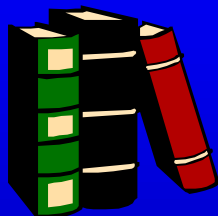
Conception de novo

- Construire une base de données de petits ligands peu ou pas flexibles
- Identifier des sites de liaison de ces ligands (fragments)
- Classer les sites par affinité
- Former les ligands complets
- Evaluer l'affinité des ligands pour la cible

- Base de données
- Placement : docking
- Evaluation : scoring

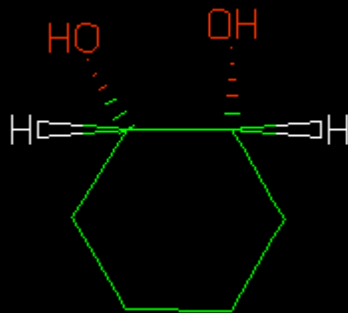
Base de données

Criblage virtuel



ACD/Isis
NCI/DIS

SMILES: O[C@H]1CCCC[C@H]1O



Filtres ADME/Tox

- Règles empiriques

Lipinski et al. Advanced Drug Delivery Reviews 1997 23 3

- Solubilité et partition eau/octanol

Duffy & Jorgensen J. Am. Chem. Soc. 2000 122 2868
<http://www.schroedinger.com/Products/qikprop.html>

Base de données *de novo*

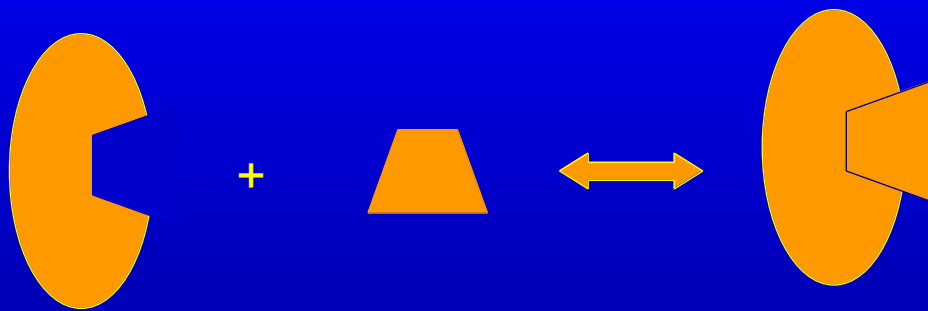
- Fragments adaptés au problème
 - peptides
 - squelettes de ligands connus
 - Bemis & Murcko J. Med. Chem. 1996 39 2887
& 1999 42 5095
 - synthèse: combinatoire, ..

Base de données

- Structure 3D des composés
 - un conformère ou tous les conformères
- Champ de force
 - dépend des approximations employées dans le docking
 - mécanique moléculaire: MMFF

Placer le ligand: docking

- $A + B \rightarrow A-B$



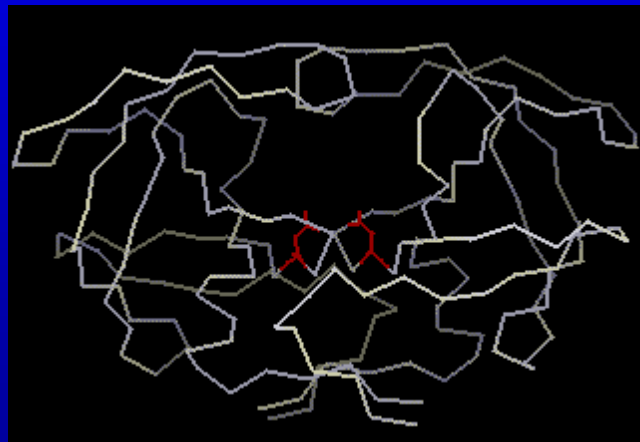
- exploration rapide et efficace de l'espace conformationnel

Docking

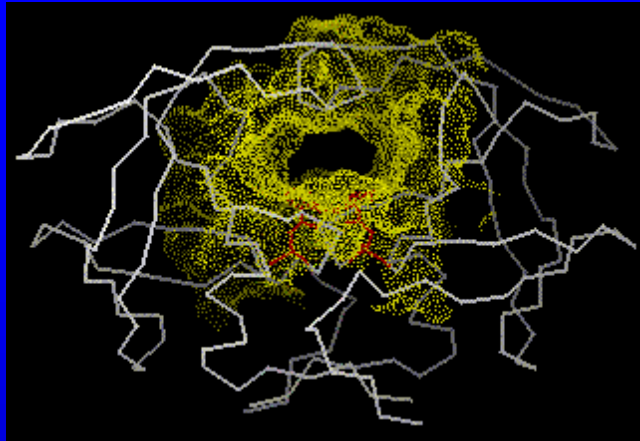
Algo géométriques

- Basés sur la complémentarité géométrique entre le récepteur et le ligand
- Dock Kuntz, I.D et al. "A geometric approach to macromolecule-ligand interactions", J. Mol. Biol.161, 269-288 (1982)

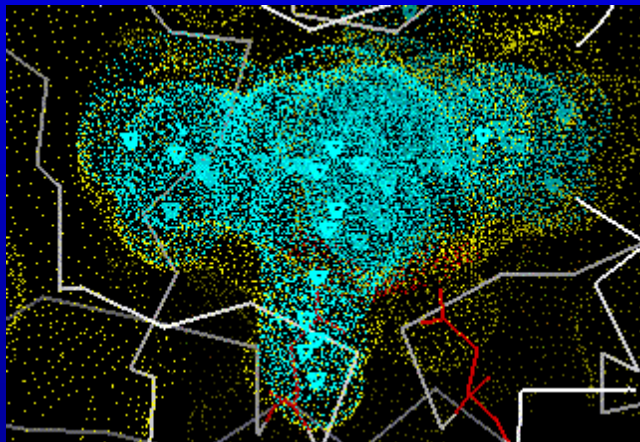
Protéase du HIV
Site actif: Asp

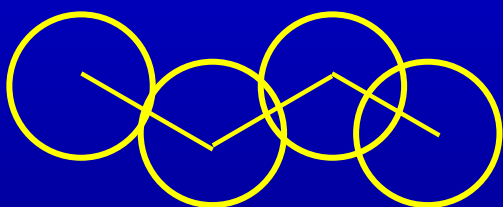
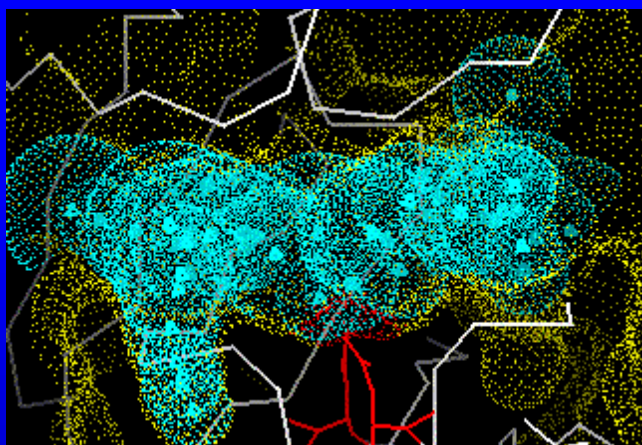


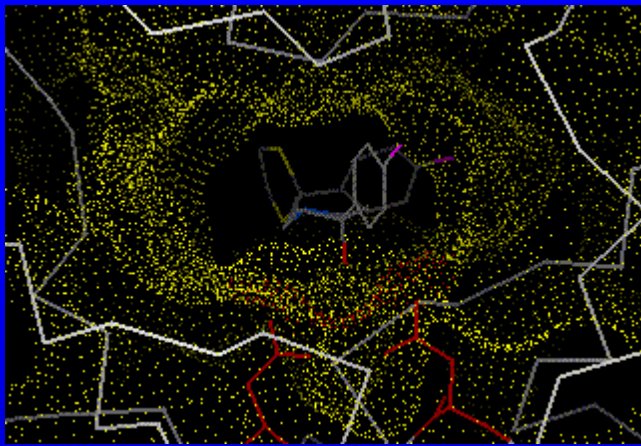
Surface moléculaire
de la protéase



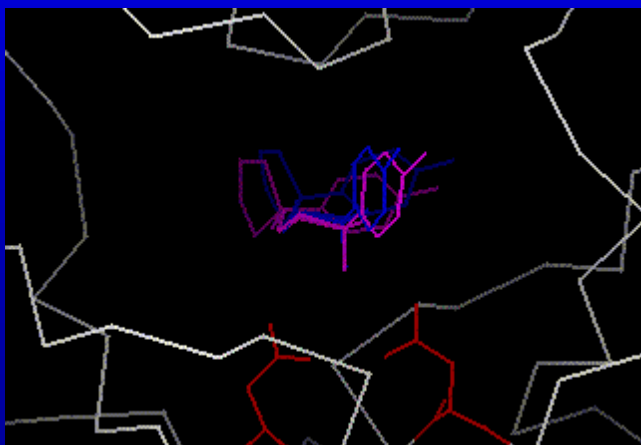
Ensemble de
sphères définissant
le site actif







Thioketal



Algo géométriques Computer vision

- **FlexX** M. Rarey et al. J. Comp.-Aid. Mol. Design, 10, 41-54, 1996

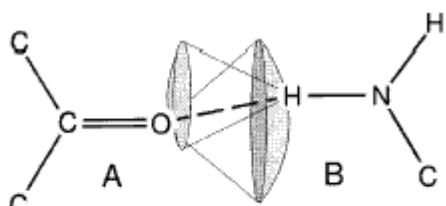


Figure 2. Condition for the formation of interactions: a hydrogen bond between the carbonyl oxygen and the nitrogen. The interaction centers are the oxygen and the hydrogen atom forming the hydrogen bond. They have to fall mutually on the surrounding interaction surfaces.

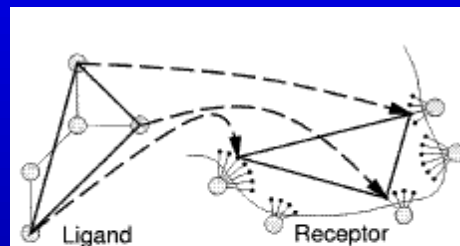
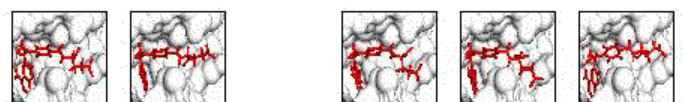
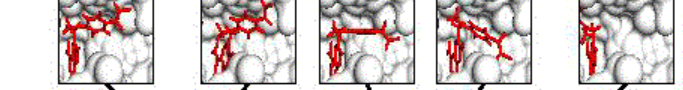
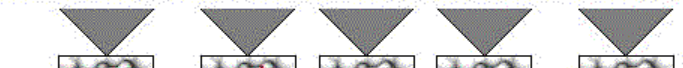


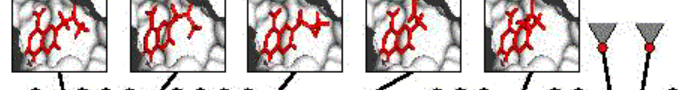
Figure 4. The fragment placing algorithm: mapping three interaction centers (grey spheres) of the ligand onto three discrete interaction points in the active site (black dots) defines a unique transformation of the ligand into the active site.



placement of the complete ligand



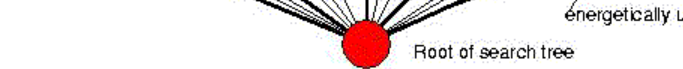
placement of the 8th fragment



placement of the second fragment



placement of the base fragment



Root of search tree

energetically favorable interaction
energetically unfavorable interaction

Docking

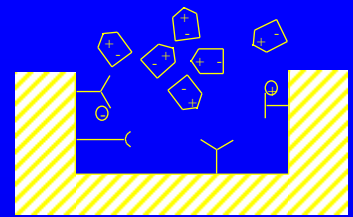
Algo mécanique moléculaire

- Trouver les conformations stables d'un complexe: optimisation numérique d'une fonction à minima multiples
- Minimisation: SD, CG, etc.
- Monte-Carlo
- Algo génétiques
- Dynamique Moléculaire

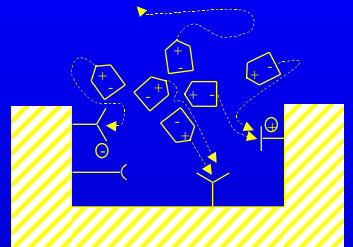
Minimisation MCSS

Miranker & Karplus
Proteins 1991 11 29

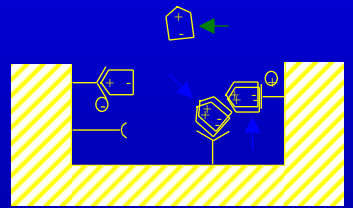
- 500/10000 copies du fragment



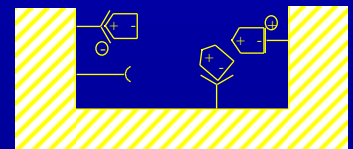
- Minimisation simultanée



- Elimination basée sur RMS/E_{int}

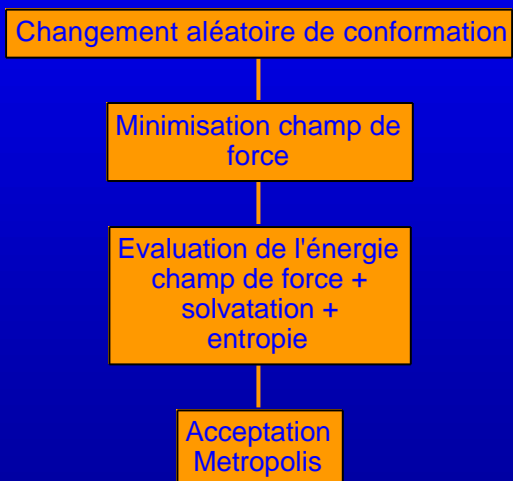


- Carte fonctionnelle



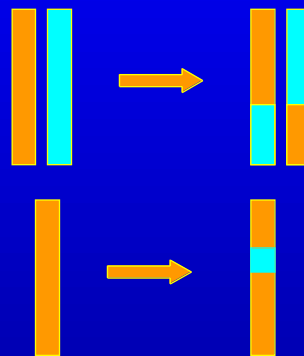
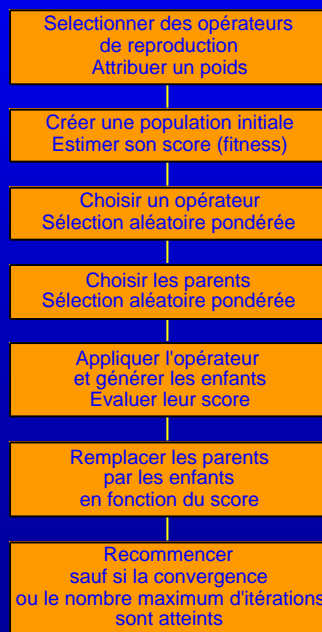
Monte-Carlo

- **ICM** Abagyan et Totrov J. Mol. Biol. 235 983 (1994)

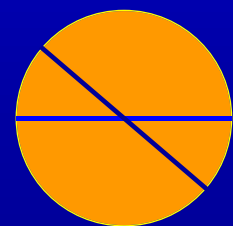


Algo génétique

- **GOLD** G. Jones et al. J. Mol. Biol. (1997) 267 727-748

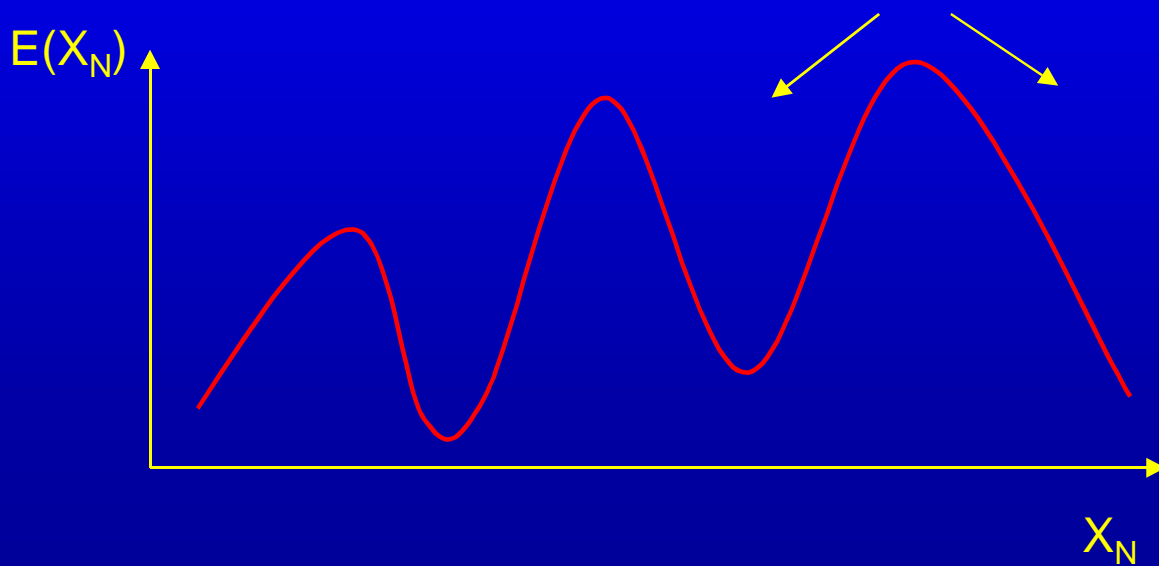


Chromosome:
conformation du
ligand

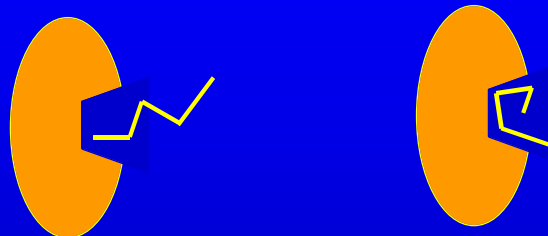


Dynamique Moléculaire

- Recuit Simulé Vieth et al. J. Comp. Chem. 1998 14 1623



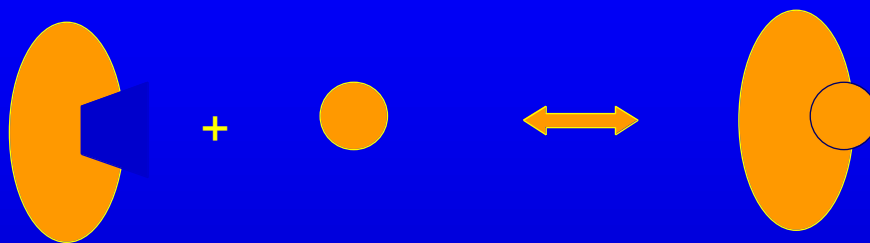
Quel espace explore-t-on?



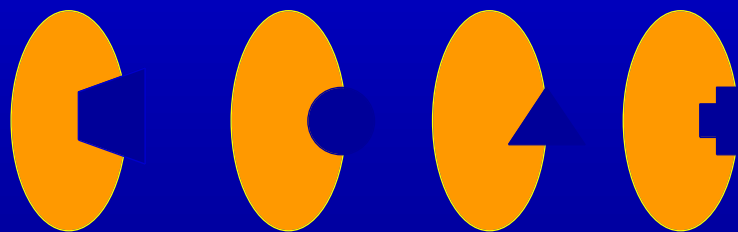
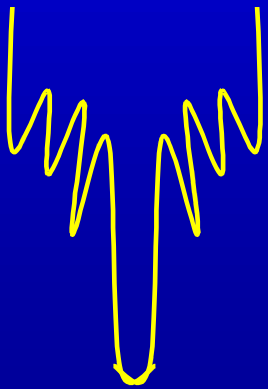
- Conformations du ligand
- L'exploration permet souvent d'identifier des structures proches de la structure expérimentale

Flexibilité cible

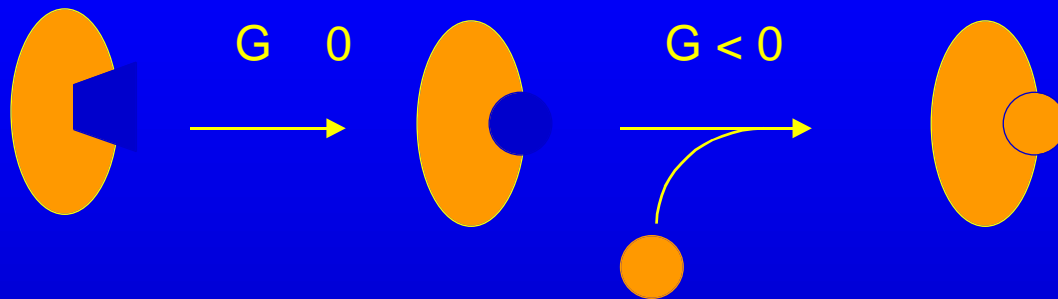
Induced Fit



Ensemble des conformations d'une protéine



Flexibilité Cible

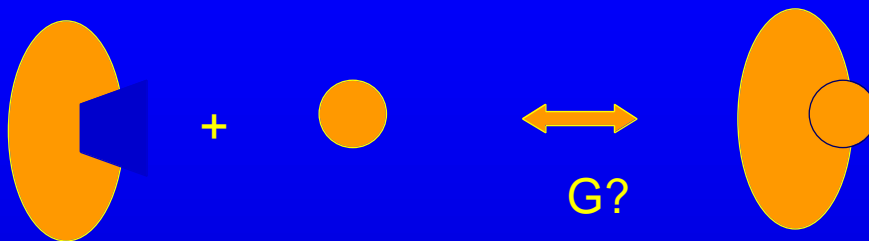


- Soft - core van der Waals
- Flexibilité de chaînes latérales
 - Apostokalis et al. J. Comp. Chem. 1998 19 21
- Exploration des conformations natives: MD, Modes Normaux, NMR, XRAY
 - Docking séparé de chaque conformation:
 - Lin et al. J.Am. Chem. Soc.2002 124 5632
 - Utilisation d'une protéine dont certaines parties sont dupliquées
 - H. Claussen et al. J. Mol. Biol 2001 308 377.

Docking vs. scoring

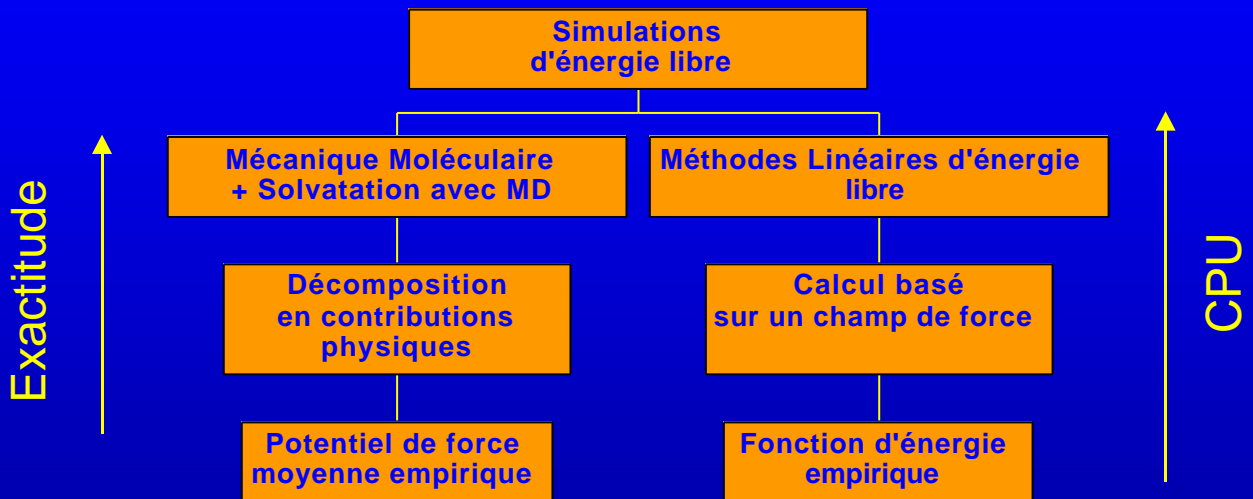
- Seule une recherche exhaustive de toutes les conformations possibles du complexe permet de découpler docking et scoring
- Si la recherche des conformations du complexe est basée sur l'optimisation d'une fonction d'interaction, il faut que cette fonction aie des minima proches des minima d'énergie libre pour le complexe sinon le découplage docking-scoring est absurde.

Evaluation de l'affinité (scoring)



- Désolvatation du ligand et de la protéine
- Perte d'entropie de rotation/translation
- Interaction protéine-ligand
 - interactions non liées: élec + vdw
 - changements de conformations
 - changements de mobilité interne

Scoring



Fonctions empiriques

- **Böhm** J. Comp. Aid Mol. Des. 8 243 (1994)

$$G = G_0 + G_{hb} \text{ h-bonds } f(R, \dots) + G_{ionic} \text{ ionic int. } f(R, \dots) + G_{lipo} A_{lipo} + G_{rot} N_{rot}$$

G_0 : terme constant, perte entropie

G_{hb} : contribution d'une liaison H idéale

$f(R, \dots)$: pénalité pour déviation de la géométrie idéale

G_{ionic} : contribution ionique idéale

G_{lipo} : contribution lipophile

A_{lipo} : surface de contact lipophile

G_{rot} : perte d'énergie libre lié a perte de rotation interne

N_{rot} : nombre de liaison libres

$$G = G_0 + G_{\text{hb}} \text{ h-bonds } f(R, \dots) + G_{\text{ionic}} \text{ ionic int. } f(R, \dots) \\ + G_{\text{lipo}} A_{\text{lipo}} + G_{\text{rot}} N_{\text{rot}}$$

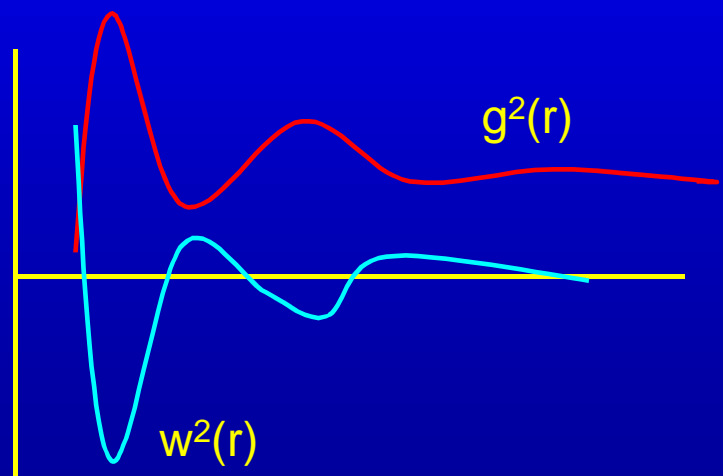
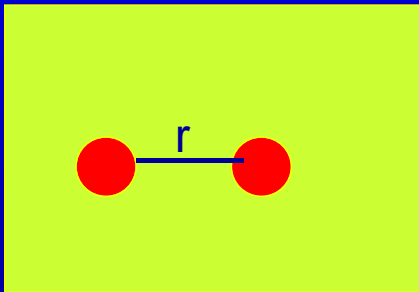
- Les facteurs géométriques sont calculés sur les structures
- Les contributions d'énergie libre sont obtenues par fit sur une base de données de complexes.

Böhm 1994 45 complexes (kcal/mol)

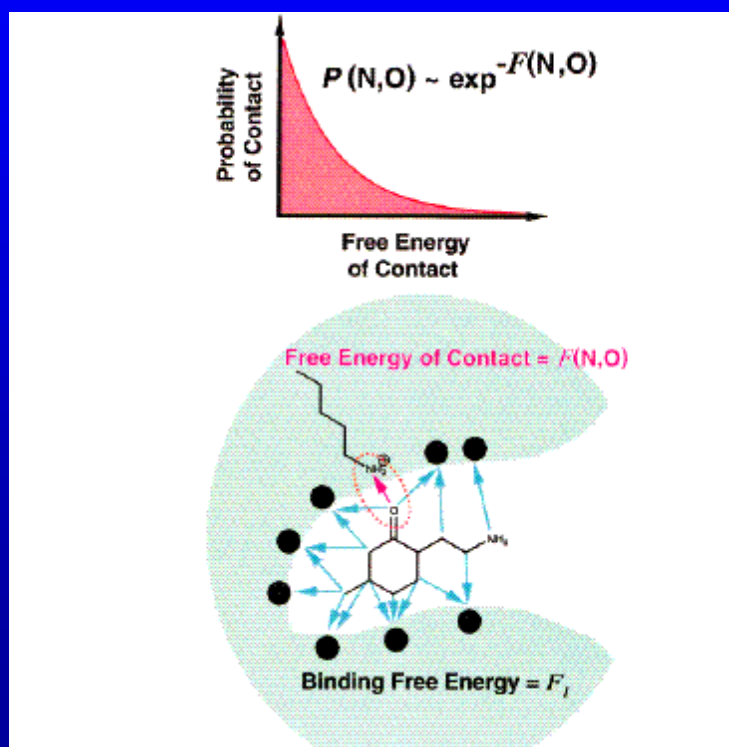
| G_0 | G_{HB} | G_{IONIC} | G_{LIPO} | G_{ROT} | S | R |
|-------|-----------------|--------------------|-------------------|------------------|-----|------|
| 1.3 | -1.1 | -2. | -0.04 | 0.33 | 1.9 | 0.87 |

Fonctions statistiques empiriques

- Potentiel de force moyenne:
- $w^2(r) = -RT \ln g^2(r)$



Fonctions statistiques



BS Grzybowski et al

Acc. Chem. Res. 2002 35 261

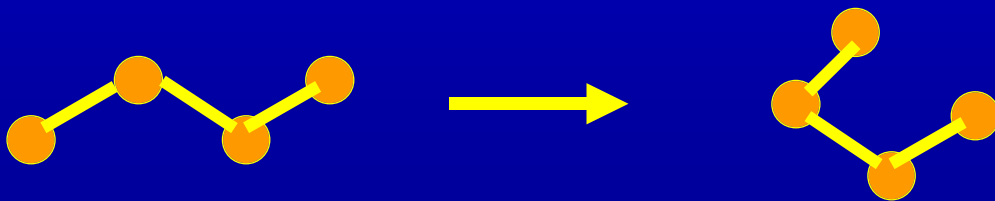
Décomposition d'énergie libre

Somme de contributions physiques

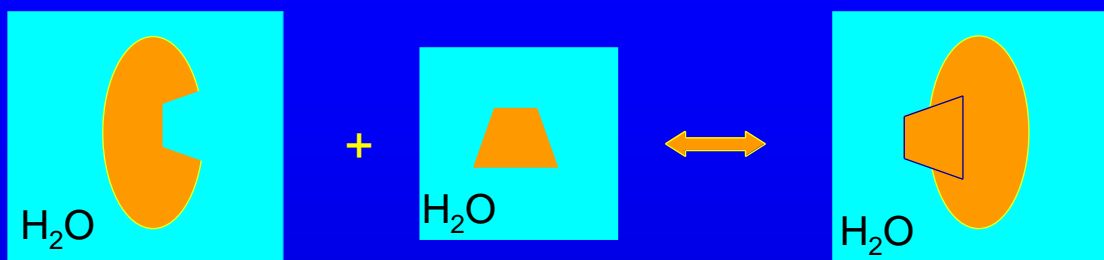
$$G_{binding} = E^{fragm} + E_{VdW}^{interm} + G_{np}^{complex} + G_{elect.binding}$$

Changement d'énergie interne du ligand (*fragm*)

$$E^{fragm} = E_{bonded}^{fragm} + E_{VdW}^{fragm} + E_{el}^{fragm}$$



Contribution non polaire

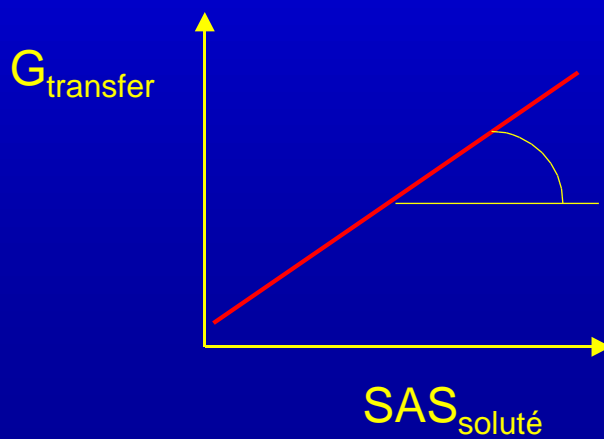
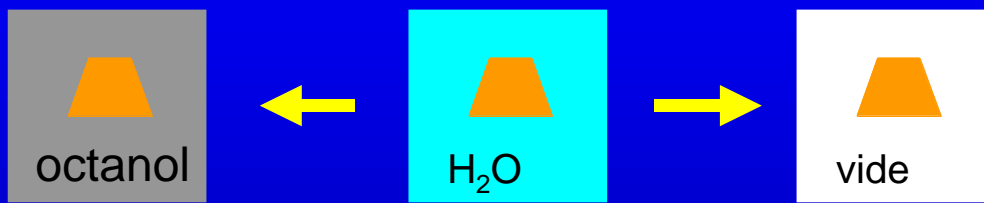


Contribution non polaire: interaction vdW ligand-protéine

$$E_{VdW}^{interm} = \sum_{i \in L} \sum_{j \in P} 4\epsilon_{ij} \left[\frac{\sigma_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{r_{ij}^6} \right]$$

Contribution non polaire: effet hydrophobe

$$G_{np}^{complex} = \gamma \left(SAS^{complex} - \left(SAS_{isolated}^{protein} + SAS_{isolated}^{fragm} \right) \right)$$

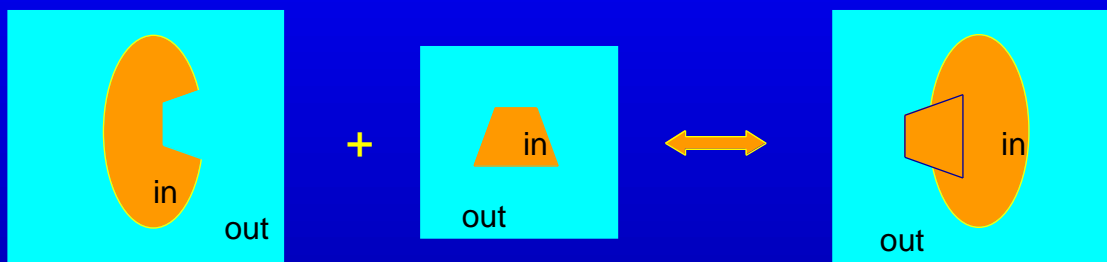


vide octanol
5 - 25 cal/mol Å²

Contribution électrostatique

$$G_{elect.binding} = G_{elect}^{interm} + G_{elect,desolv}^{protein} + G_{elect,desolv}^{ligand}$$

Electrostatique des milieux continus

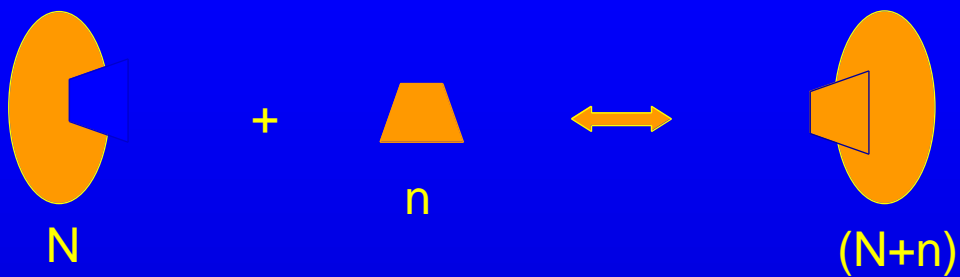


$\epsilon_{in} : 1-4 (20)$

$\epsilon_{out} : 80$

Force ionique

Entropie Conformationnelle



$$S = S_{\text{trans}} + S_{\text{rot}} + S_{\text{vib}}$$

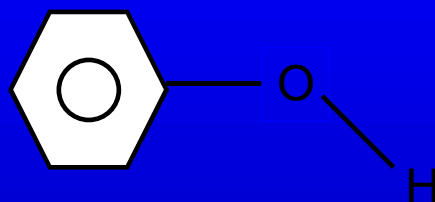
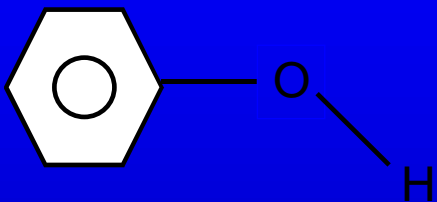
Bilan de la complexation

Translation : $3 + 3 \rightarrow 3$

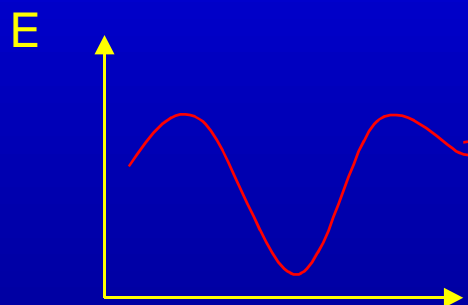
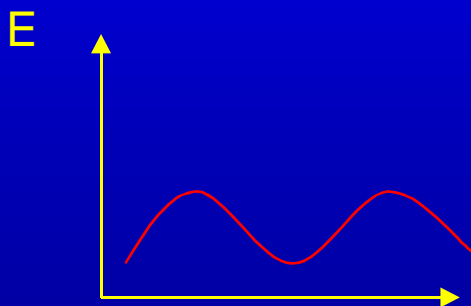
Rotation : $3 + 3 \rightarrow 3$

Vibration: $(3N - 6) + (3n - 6) \rightarrow 3(N+n) - 6$

Entropie Conformationelle



O=C



Incorporation des fluctuations

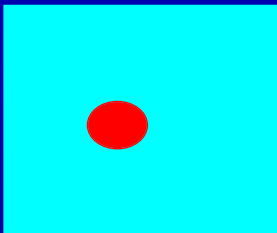
- Trajectoire de dynamique moléculaire
- Calcul de l'énergie libre par décomposition pour chacune des conformations (MM-PBSA)

Simulations d'énergie libre

- Linear Interaction Energy

Aqvist et al. Prot. Eng. 7 385 (1994)

$$G_{bind} = \alpha(\langle E_{L-P}^{vdw} \rangle - \langle E_{L-solv.}^{vdw} \rangle) + \frac{1}{2}(\langle E_{L-P}^{elec.} \rangle - \langle E_{L-solv.}^{elec.} \rangle)$$



Modèle de Born

$$G_{solv}^{ion} = \frac{1}{2} \langle E_{ion-solvant}^{elec.} \rangle$$