

Etudes quantiques sur la conformation de la valinomycine et de ses éléments constitutifs

Bernard Maigret et Bernard Pullman

Institut de Biologie Physico-Chimique, Laboratoire de Biochimie Théorique, Paris

Reçu le 9 juillet 1974

Quantum Mechanical Study of the Conformation of Valinomycin and Its Constituents

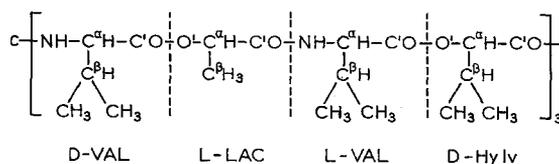
Quantum mechanical calculations using the PCICO method are performed on the conformational properties of constituents and models of valinomycin.

The work is executed in a progressive way and uses the results obtained for model compound of size i (i being the total number of both amino acid and hydroxy acid residues in a model molecule) to study those of size $i+1$. Conformational energy maps for compounds of size $i=1$ and $i=2$ (respectively the "dipeptide" and the "tripeptide" models) are obtained. For greater compounds, a minimization procedure is used to localize the energy minima. The results shows that valinomycin can adopt essentially three conformations, two of them involving only C_{10} like structures in a bracelet-shaped conformation, and the third one a combination of C_{10} and C_{13} hydrogen bonded rings. These results agree well with crystallographic studies but are different from some models presented earlier to explain the uncomplexed \rightarrow complexed transition of valinomycin with ions.

Key word: Valinomycin

1. Introduction

La valinomycine est un depsipeptide cyclique formé par 12 résidus alternativement amino-acides et hydroxyacides et prenant des configurations L ou D. Sa structure est la suivante:



L'intérêt essentiel de ce macrocycle est le transport sélectif des ions Rb^+ et K^+ (de préférence aux autres ions alcalins) à travers les membranes biologiques ou artificielles [1-15]. Cette propriété est intimement liée à sa flexibilité conformationnelle, elle-même fonction de son environnement (polarité du milieu, présence d'ions, etc.).

Ainsi, les études conformationnelles de la valinomycine présentent un intérêt tout particulier, essentiel quant à la compréhension de son activité.

De telles études ont été menées intensivement ces dernières années, utilisant essentiellement la RMN du proton [16–24], du carbone 13 [25–27], la spectroscopie IR [16, 17; 27, 28], l'ORD [16–18], la conductimétrie [29–31], la diffraction des RX [32–35] et les calculs conformationnels [18, 36–38]. D'autres techniques moins classiques ont aussi été utilisées [16, 17, 39–41]. Les résultats de ces études sont parfois contradictoires et de nombreux problèmes essentiels se posent encore. La situation peut se résumer ainsi:

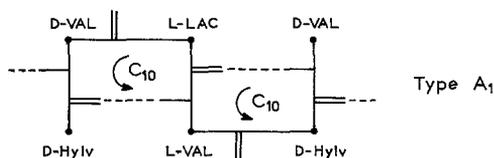
1.1. Molécule libre

La valinomycine non complexée peut prendre un grand nombre de conformations variables selon le milieu dans lequel on l'étudie, ce qui explique les difficultés rencontrées dans les études en solution, ces formes étant en équilibre plus ou moins dynamique.

On peut néanmoins les classer en 3 types selon le nombre de liaisons hydrogènes intramoléculaires stabilisant l'édifice moléculaire.

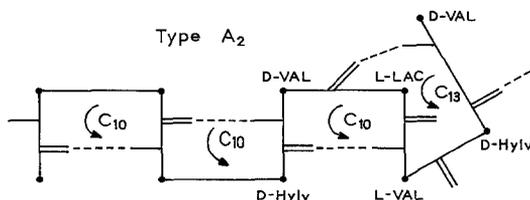
1.1.1. Formes stabilisées par 6 liaisons H (type A)

Selon la plupart des auteurs, la forme la plus courante de ce type est stabilisée dans les solvants non polaires et comporte 6 «U-turns» formant des cycles à 10 côtés du type C_{10} , fermés par liaison hydrogène entre groupes NH et CO des résidus aminoacide et hydroxyacide respectivement:



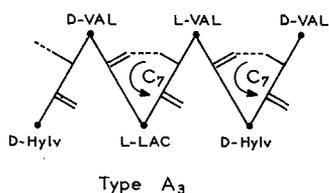
Dans cette conformation, les groupements carbonyles des résidus aminoacides seraient orientés vers l'extérieur du bracelet constitué par la succession des six C_{10} . Les protons $HN-C^{\alpha}H$ des résidus L-Valyl sont gauches et ceux des résidus D-valyl sont *cis*.

Cependant, d'autres formes du type A existent: Duax *et al.* [33] donnent un arrangement différent pour la forme cristalline de la valinomycine et proposent une combinaison de cycles à 10 et 13 côtés telle que la structure finale perde la symétrie d'ordre 3 et possède quatre C_{10} + deux C_{13} :



Ces auteurs proposent, pour expliquer l'existence de cette forme, un passage plus aisé à la forme complexée par suite de déformations conformationnelles plus simples.

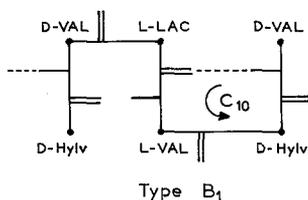
Patel et Tonelli [37] proposent pour la valinomycine plongée dans un solvant du type dioxane-eau une conformation stabilisée par 6 liaisons hydrogènes du type 3→1 stabilisant des cycles du type C₇:



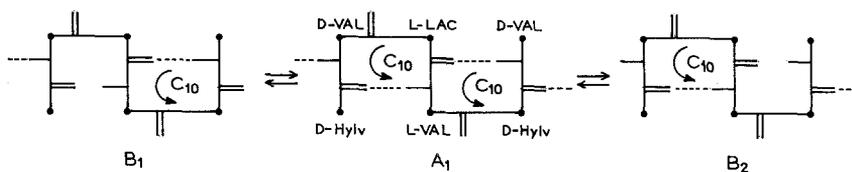
Cette forme est basée sur des calculs conformationnels et semble assez peu probable compte tenu de la destabilisation du cycle C₇ dans les systèmes peptidiques [42].

1.1.2. Formes stabilisées par 3 liaisons hydrogènes (type B)

Elles existent en équilibre avec la forme A et sont favorisées dans les solvants de polarité moyenne (méthanol, diméthylsulfoxyde). La structure décrite le plus couramment fait intervenir les 3 groupes NH des résidus D-valyl seulement:



Cependant Ohnishi et Urry [20] proposent l'existence de deux formes de type B d'énergie équivalente et s'interconvertissant par passage à la forme A₁:



Dans les structures de type B, les protons HN-C^αH seraient tous *cis*¹.

1.1.3. Formes sans liaisons hydrogène (type C)

Très peu de renseignement existent sur ce type conformationnel qui devrait être stabilisé dans les solvants fortement polaires et à température élevée.

¹ Dans un article récent [48] Urry discute le problème de la conformation des chaînes latérales.

1.2. Molécule complexée (forme D)

La situation est ici moins confuse que dans le cas précédent car tous les travaux concordent sur la forme prise par la valinomycine complexée par K^+ , Rb^+ et Cs^+ : le complexe ressemble à un bracelet inverse de celui correspondant à la forme A_1 et stabilisé par 6 repliements C_{10} . Mais cette fois, les groupes carbonyles des résidus amino-acides pointent vers l'intérieur du bracelet (et non pas vers l'extérieur comme pour A_1) et sont liés à un ion non hydraté. Les travaux de Grell *et al.* [27] ont montré l'existence d'une conformation différente lorsque l'ion est Na^+ . Le complexe valinomycine/ Na^+ donne des propriétés spectrales qui sont plus proches de celles obtenues pour la forme libre de l'antibiotique dans les solvants polaires: cette structure peut être caractérisée par un nombre de liaisons hydrogènes réduit par rapport au complexe obtenu avec de plus gros cations.

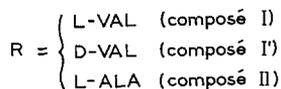
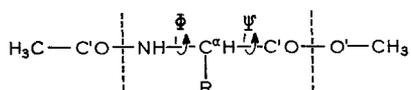
Dans leur étude conformationnelle théorique, Patel et Tonelli [37] proposent deux sortes de conformations du type D. La première forme (type D_1) correspond à celle observée pour le complexe formé avec K^+ et correspond à un solvant de type méthanol. L'autre forme (type D_2) correspondrait à un complexe stabilisé dans la diméthylformamide: sa structure serait favorisée par des liaisons hydrogènes du type $3 \rightarrow 1$ après destruction de celles du type $4 \rightarrow 1$.

La valinomycine apparaît donc comme une molécule flexible et dans ce travail, nous nous proposons d'étudier la conformation des différentes formes que peut prendre cet antibiotique et leur stabilité relative à l'aide de calculs conformationnels utilisant la méthode PCILO [43]. Cependant, compte tenu de la difficulté du problème, nous avons travaillé en plusieurs étapes, de façon à limiter au maximum le nombre d'états conformationnels envisageables pour chacun des résidus constitutifs. La philosophie de ce mode de traitement deviendra, nous croyons, évidente dans la présentation de la suite des résultats obtenus.

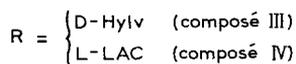
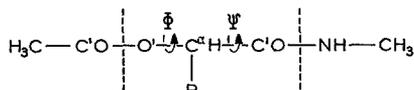
2. Résultats

2.1. Étude des résidus constitutifs de la valinomycine sous leur forme «didepsipeptidiques»

Nous avons étudié les possibilités conformationnelles des résidus L-VAL, D-VAL, L-LAC, D-Hylv, en utilisant les composés suivants:



Type amino-acide



Type hydroxyacide

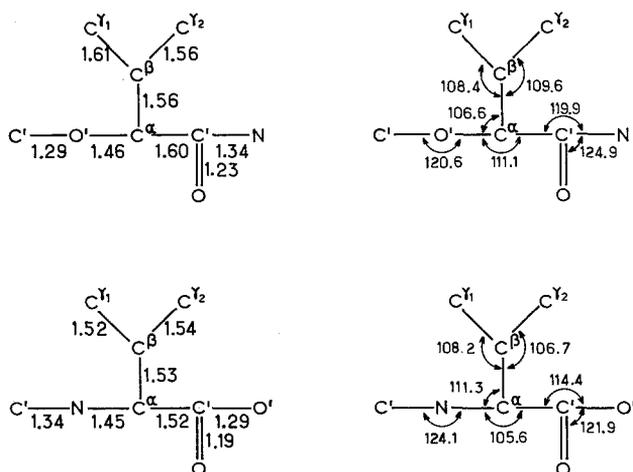


Fig. 1. Paramètres géométriques utilisés dans nos calculs (longueurs de liaison en Å et angles de liaison en degrés)

Le composé II a été ajouté afin de vérifier qu'une chaîne latérale $-C^{\beta}H_3$ peut, d'une façon générale, représenter une chaîne latérale valyle et être ainsi utilisée par la suite afin de simplifier les calculs ultérieurs. Nous avons rassemblé dans la figure 1 les paramètres géométriques (angles et longueurs de liaisons) utilisés pour la représentation de ces résidus. Les cartes conformationnelles obtenues pour tous ces composés sont décrites sur les figures 2–5. Les résultats pour le composé I' se déduisent de ceux obtenus pour le composé I en faisant $(\Phi, \Psi)_D = -(\Phi, \Psi)_L$. Le tableau 1 présente les minima énergétiques obtenus à partir de l'étude des cartes conformationnelles.

A partir de ces résultats, nous pouvons déjà vérifier facilement la possibilité de remplacer les groupes isopropyles des résidus L- et D-VAL par une chaîne latérale $-C^{\beta}H_3$ d'un résidu ALA car la carte conformationnelle obtenue pour ce dernier comprend les 6 zones de stabilité énergétique obtenues pour L(ou D)-VAL. Il en est de même pour le résidu D-Hylv qui pourra être remplacé par un résidu D-LAC sans qu'il y ait perte d'information conformationnelle.

Contrairement à ce que nous avons obtenu pour les modèles «dipeptides», les structures stabilisées par liaison hydrogène 3→1 formant des cycles à 7 côtés sont ici fortement défavorisées, ce résultat étant en excellent accord avec les observations de Boussard *et al.* [42]. De nouvelles formes pouvant être stabilisées par des interactions du type H→ π [44] apparaissent (A, A', B); pour les constructions ultérieures, nous pourrons ainsi utiliser le code conformationnel suivant:

résidu L-Aminoacide → formes possibles: A, A', B, M, R, C₅

résidu D-Aminoacide → formes possibles: A, A', B, M', L, C₅

résidu L-Hydroxyacide → formes possibles: A, A', B, M, R, C₇, C'₇

résidu D-Hydroxyacide → formes possibles: A, A', B, M', L, C₇, C'₇

en utilisant pour chaîne latérale le modèle $-C^{\beta}H_3$.

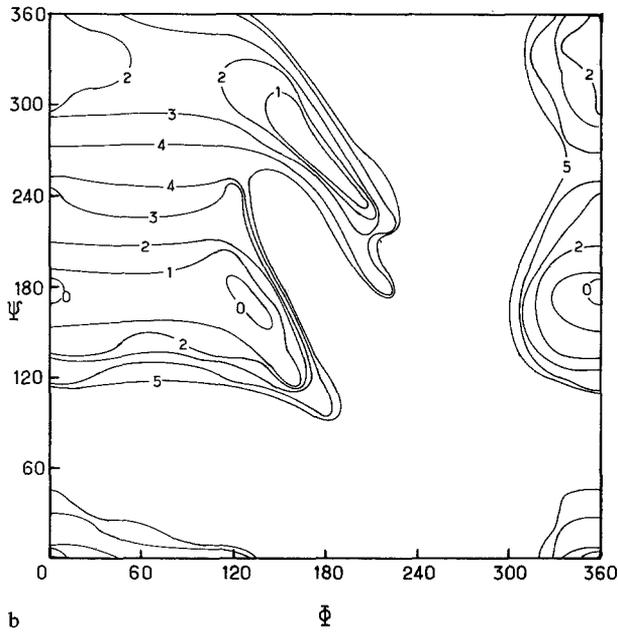
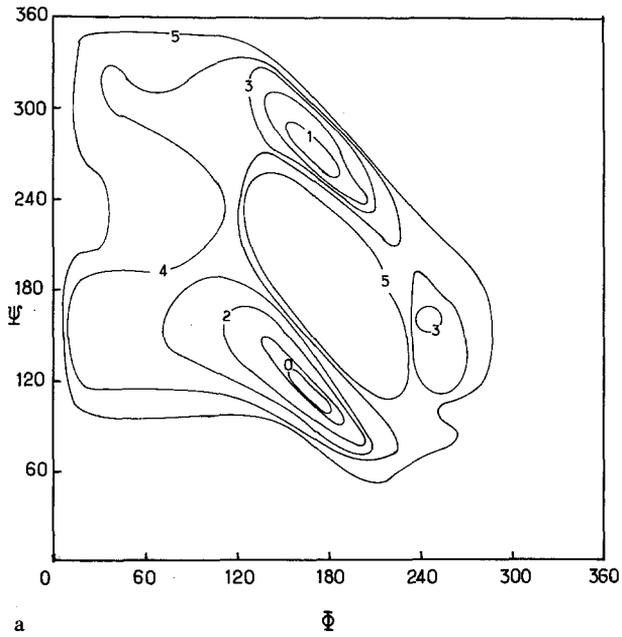


Fig. 2. (a) Carte conformationnelle obtenue pour le modèle didepsipeptidique L-VAL (composé I) pour $\chi^1 = 300^\circ$. (b) Carte conformationnelle obtenue pour le modèle didepsipeptidique L-VAL (composé I) pour $\chi^1 = 180^\circ$

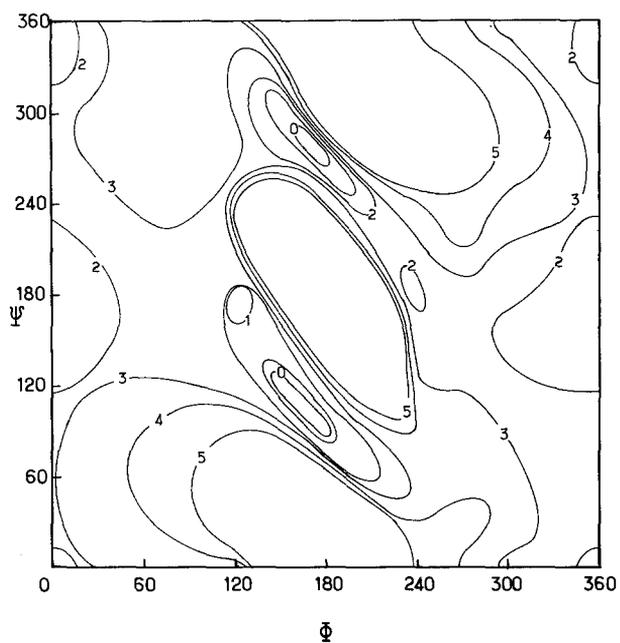


Fig. 3. Carte conformationnelle obtenue pour le modèle didepsipeptidique L-ALA (composé II)

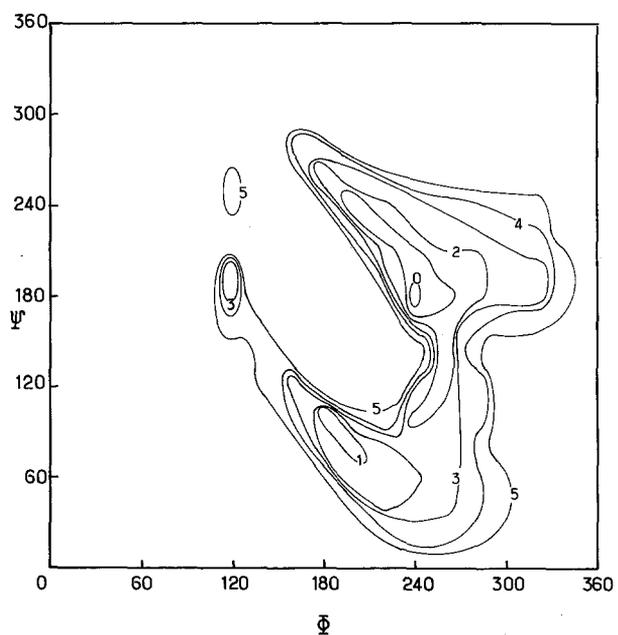


Fig. 4. (a) Carte conformationnelle obtenue pour le modèle didepsipeptidique D-Hylv (composé III) pour $\chi^1 = 180^\circ$

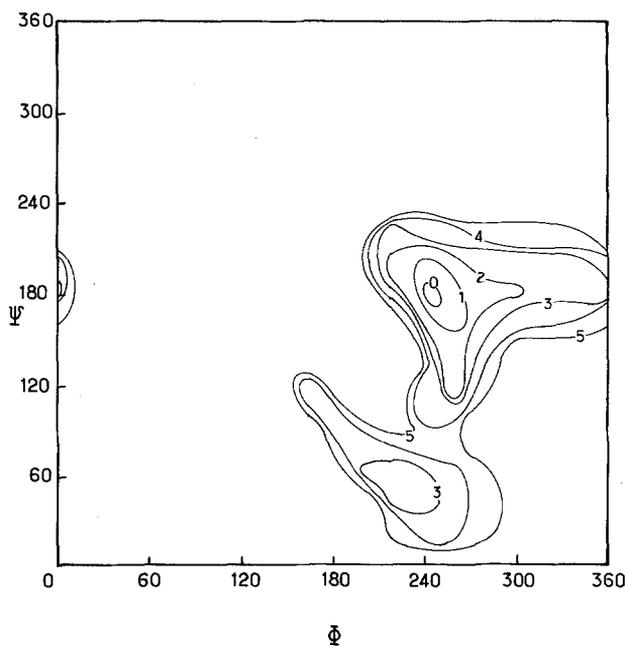


Fig. 4. (b) Carte conformationnelle obtenue pour le modèle didepsipeptidique D-Hylv (composé III) pour $\chi^1 = 300^\circ$

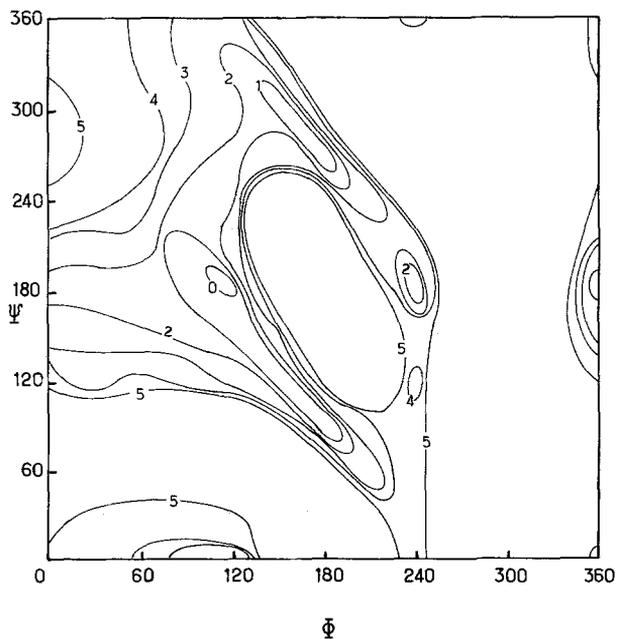


Fig. 5. Carte conformationnelle obtenue pour le modèle didepsipeptidique L-LAC (composé IV)

Table 1. Définition des zones de stabilité dans les résidus L-VAL et D-Hylv étudiés sous le modèle «dipeptide» et définition des zones de code conformationnel

Code	Φ, Ψ
A	120, 180
A'	240, 180
B	0, 180
M	160 – 180, 260 – 280
M'	200 – 220, 60 – 80
R	150 – 180, 100 – 120
L	200, 240
C ₇	120, 240
C' ₇	260, 120
C ₅	0, 340

Composés	Résidu	Figure de la carte	Φ, Ψ, χ° au minimum	$\Delta E/\text{minimum global}$ (kcal/mole)	Type
I	L-VAL	2b	120, 180, 180	2,0	A
			0, 180, 180	2,2	B
			160, 280, 180	2,8	M
		2a	0, 340, 180	3,7	C ₅
			180, 100, 300	0,0	R
			180, 260, 300	0,7	M
			240, 160, 300	3,3	A'
IV	D-Hylv	4a	240, 180, 180	1,3	A'
			200, 240, 180	2,0	L
			200, 80, 180	2,3	M'
			260, 120, 180	2,8	C' ₇
			120, 180, 180	4,0	A
		4b	120, 240, 180	5,2	C ₇
			240, 180, 300	0,0	A'
			260, 120, 300	2,5	C' ₇
			220, 60, 300	2,8	M'

2.2. Définition et étude des zones de stabilité des cycles C₁₀ dans le modèle «tripeptide»

Dans la valinomycine, nous trouvons 2 groupes possibles de séquences X – Y:

(groupe 1)

Séquence réelle:

modèle représentant le groupe:

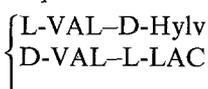
{ L-LAC-L-VAL
{ D-Hylv-D-VAL

L-LAC-L-ALA

liaisons H du type
C₅ et C₇ possibles.

(groupe 2)

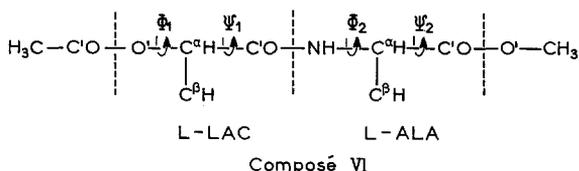
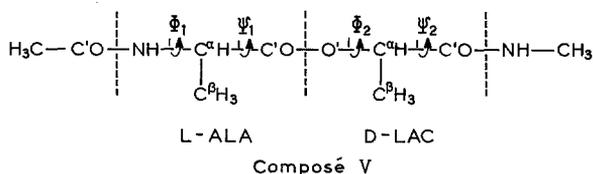
Séquence réelle:



modèle représentant le groupe:

liaisons H du type
C₅, C₇ et C₁₀
possibles.

Nous avons donc entrepris une étude systématique des modèles «tridipeptides» L-LAC-L-ALA et L-ALA-D-LAC en utilisant pour cela les composés suivants:



et en explorant tout l'espace conformationnel $\{\Phi_1, \Psi_1; \Phi_2, \Psi_2\}$ avec un pas de 30° sur chaque angle.

Nous avons procédé ainsi d'une façon identique à celle récemment utilisée dans notre étude du modèle «tripeptide» [45] et nous ne reviendrons pas ici sur les détails de notre analyse conformationnelle.

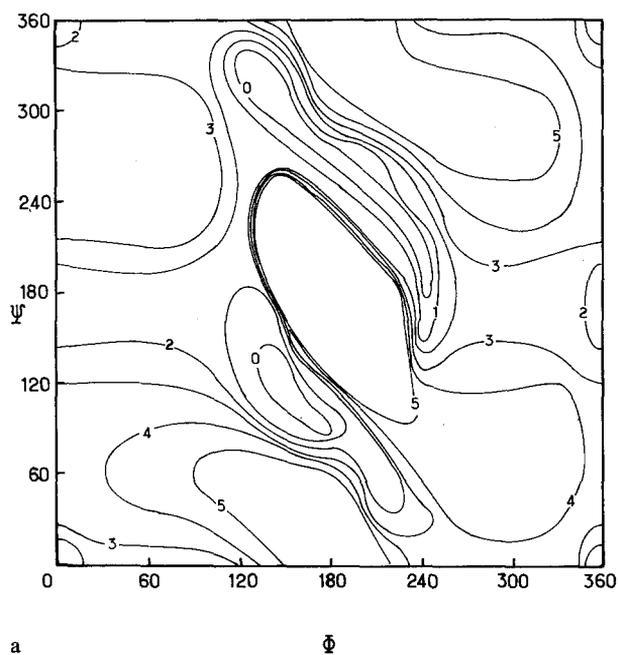
Cette façon de procéder nous permet de localiser tous les minima énergétiques et de vérifier l'hypothèse selon laquelle seules des combinaisons de minima «dipeptidiques» sont stables, mis à part la structure C₁₀ qui n'apparaît pas dans le modèle «dipeptide».

Ainsi, les cartes d'énergie conformationnelle globale [45] obtenues pour les composés V, VI ne diffèrent guère de celles obtenues pour les composés II, IV:

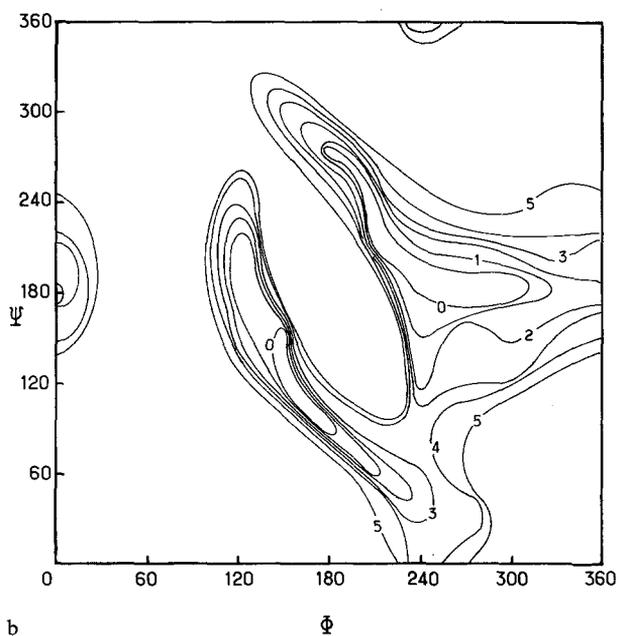
a) Pour la séquence L-LAC-L-ALA, les cartes conformationnelles globales des résidus L-LAC et L-ALA sont identiques à quelques détails près aux cartes des figures 5 et 3 respectivement représentant les résidus L-LAC et L-ALA placés dans un modèle «dipeptidique».

b) Pour la séquence L-ALA-D-LAC, les cartes conformationnelles globales des résidus L-ALA et D-LAC (figures 6a, b) possèdent un contour de stabilité analogue à celui obtenu pour les résidus placés dans un modèle «dipeptidique». Cependant, à l'intérieur de ce contour, les zones de fortes stabilité sont déplacées et correspondent à la stabilisation de structures de type C₁₀ formant un repliement du type «U-turn» de la chaîne dipéptidique.

La forme énergiquement la plus stable obtenue pour le composé V est donc une structure du type C₁₀^H caractérisée par $(\Phi_1, \Psi_1; \Phi_2, \Psi_2) = (150, 300; 210, 210^\circ)$. Cependant tous les autres types de structure C₁₀ apparaissent dans



a



b

Fig. 6. (a) Carte conformationnelle globale obtenue pour le résidu L-ALA placé dans une séquence L-ALA-D-LAC (composé V). (b) Carte conformationnelle globale obtenue pour le résidu D-LAC placé dans une séquence L-ALA-D-LAC (composé V)

Dans la valinomycine, ce modèle correspond aux séquences XYZ suivantes:



Pour effectuer cette étude, nous avons utilisé une technique de minimisation (Méthode du Simplexe) déjà amplement employée au cours de nos calculs antérieurs [45]. Les conformations utilisées comme points de départ du processus de raffinement de l'énergie seront celles obtenues par combinaisons du code conformationnel «didepsipeptidique», ou parmi les structures de type C_{10} définies au paragraphe précédent: nous aurons ainsi, par exemple, $(\Phi_1, \Psi_1; \Phi_2, \Psi_2; \Phi_3, \Psi_3)_{\text{initial}} = (120, 180; 240, 180; 270, 180^\circ)$ pour une conformation de départ de code $(A \cdot C'_{10})$. Les résultats conformationnels que nous avons ainsi obtenus sont résumés dans le tableau 2.

Il apparaît que les principales formes stables correspondent à des structures du type $X \cdot C_{10}$ (X correspondant au code conformationnel «didepsipeptide» pour un résidu L-LAC).

Dans notre étude, nous n'avons obtenu qu'une seule structure faisant intervenir plusieurs liaisons hydrogènes de type $3 \rightarrow 1$ et d'énergie ne dépassant pas 10 kcal/mole au dessus du minimum global obtenu. Celle-ci, de code $C'_7 \cdot M \cdot C_7$ a une énergie défavorable (+ 6.6 kcal/mole au-dessus du minimum global), ce qui laisse prévoir le peu de chances de trouver les modèles de type A_3 et D_2 stabilisés par des liaisons hydrogènes $3 \rightarrow 1$ et proposé par Patel et Tonelli [37], pour la Valinomycine.

Par contre nous obtenons pour la structure C'_{13} une énergie relativement bonne, ce qui plaiderait assez en faveur de l'existence du modèle proposé par Duax *et al.* [33]. La situation dans le cas des depsipeptides est donc très particulière et ne peut absolument pas être extrapolée à partir de résultats obtenus sur des modèles peptidiques: en effet, pour un modèle peptidique de séquence L-ALA-L-ALA-L-ALA de structure analogue au composé VII, nos résultats [46] montrent que nous avons toujours $C_{13} > X \cdot C_{10}$, alors que pour la séquence L-LAC-L-ALA-D-LAC nous obtenons $X \cdot C_{10} > C_{13}$.

L'examen du tableau 2 nous montre que nous pouvons essentiellement obtenir 3 types de C_{10} pour la séquence LD depsipeptidique: C''_{10} , C^I_{10} , C^I_{10} .

Une séquence DL (D-ALA-L-LAC) inverse de la précédente devrait donc être favorisée par les C_{10} du type C''_{10} , C^I_{10} et C^I_{10} . Compte tenu des valeurs X du code didepsipeptidique qui permettent d'obtenir les meilleurs conformations. $X \cdot C_{10}$, nous avons ici une façon plus nette que dans le chapitre précédent d'estimer la stabilité que prendront des conformations de type $C_{10} \cdot C_{10}$ dans le modèle de séquence DLLD.

En effet, si nous écrivons le code conformationnel «didepsipeptidique» qui correspond approximativement aux cycles C_{10} favorables pour une séquence DL, nous avons:

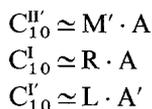
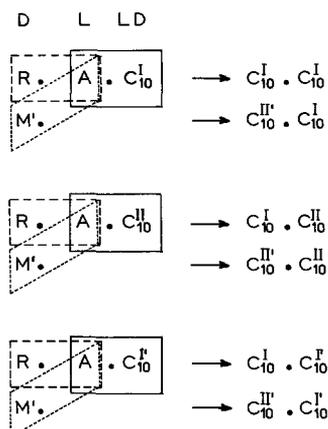


Table 2. Principales conformations stables du modèle «tetradepsipeptide» correspondant au composé VII

Type conformationnel	Code	Φ_1, Ψ_1°	Φ_2, Ψ_2°	Φ_3, Ψ_3°	ΔE kcal/mole au-dessus du minimum global	
Présence de cycles C_{13}	C_{13}^I	122, 151	150, 132	357, 200	2,4	
	C_{13}^{II}	123, 163	122, 218	354, 188	4,1	
	C_{13}^{III}	147, 308	302, 152	347, 180	4,8	
Présence de cycles C_{10}	$C_7 \cdot C_{10}^I$	113, 229	135, 319	244, 175	0,0 ^a	
	M ·	166, 282	136, 318	247, 168	0,4	
	$C_7 \cdot$	113, 223	146, 290	216, 216	0,6	
	R ·	163, 109	131, 297	241, 188	0,7	
	A ·	116, 187	150, 283	215, 219	0,7	
	C_7'	244, 142	132, 311	242, 181	1,0	
	M ·	165, 287	179, 274	281, 171	1,1	
	A' ·	241, 171	133, 315	243, 176	1,3	
	$C_7 \cdot C_{10}^I$	132, 221	132, 134	123, 168	0,2	
	M ·	164, 287	132, 135	122, 170	0,6	
	A	110, 163	132, 132	124, 167	1,0	
	C_7'	244, 141	133, 133	123, 170	1,3	
	$C_7 \cdot$	113, 222	168, 112	157, 123	1,3	
	B ·	14, 174	133, 134	124, 169	1,7	
	M ·	164, 286	176, 107	158, 126	2,1	
	$A' \cdot C_{10}^{IV}$	241, 164	225, 61	130, 164	4,2	
	B ·	12, 174	227, 54	125, 171	4,2	
	$A \cdot C_{10}^V$	117, 188	231, 218	248, 186	0,2	
	M ·	162, 288	227, 235	245, 179	1,3	
	A' ·	242, 158	230, 220	243, 191	1,9	
	B ·	14, 178	231, 218	245, 188	1,9	
	$C_7 \cdot$	112, 231	239, 164	317, 182	2,9	
	$A' \cdot C_{10}^{VI}$	240, 172	220, 229	224, 210	2,7	
	Présence de cycles C_7	$C_7 \cdot R \cdot A'$	114, 224	163, 113	245, 167	2,8
		$C_7 \cdot M \cdot B$	113, 226	174, 269	342, 180	4,9
	Présence de cycles C_5	$A \cdot C_5 \cdot A'$	116, 192	0, 351	244, 174	4,2
	Formes libres	$A \cdot R \cdot M'$	115, 196	169, 110	193, 77	2,8
$A \cdot R \cdot A'$		115, 196	168, 110	244, 169	2,9	
$M \cdot R \cdot M'$		162, 287	164, 114	193, 78	3,5	
$M \cdot R \cdot A'$		162, 287	163, 116	246, 163	3,6	
$A' \cdot R \cdot M'$		242, 166	166, 113	190, 80	4,1	
$A' \cdot R \cdot A'$		242, 158	166, 112	246, 166	4,2	
$A \cdot B \cdot M'$		116, 190	356, 173	199, 71	4,2	
$B \cdot R \cdot A'$		12, 176	168, 111	245, 167	4,5	
$M \cdot R \cdot B$		164, 287	165, 112	347, 187	4,9	

^a Nous nous limitons aux conformations d'énergie ≤ 5 kcal/mole au dessus du minimum global.

la deuxième lettre étant à rapprocher du meilleur état X possible pour une conformation $X \cdot C_{10}$ du modèle LLD. Cela nous donnera les combinaisons suivantes pour le modèle DLLD:

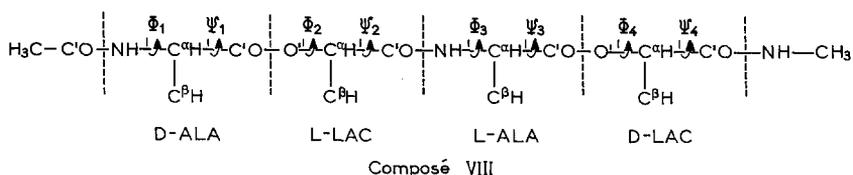


De plus, la valinomycine étant une molécule cyclique, il faut que la séquence DLLD ait la courbure voulue, ce qui élimine les associations de C_{10} de même type: $C_{10}^I \cdot C_{10}^I$, $C_{10}^I \cdot C_{10}^{II}$, $C_{10}^{II'} \cdot C_{10}^{I'}$.

En ce qui concerne les formes libres, le tableau 2 nous montre que seule la conformation de code R est favorable pour le résidu central L-ALA de notre séquence LLD modèle. Cela limitera d'une façon importante le choix des combinaisons possibles lors du passage au modèle de séquence DLLD.

2.4. Étude des possibilités conformationnelles de l'unité répétitive d'ordre 3 de la valinomycine, de séquence DLLD, sous forme de «pentadepsipeptide»

Notre but est de déterminer ici les conformations qui permettront d'aboutir aux structures A, B, C et D de la valinomycine. Dans ce but, nous avons, à l'aide des résultats précédents, sélectionné un certain nombre de points de départ pour l'étude conformationnelle du composé suivant:

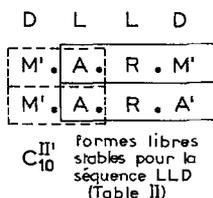


Sélection des meilleurs points de départ possibles

Nous avons déjà montré au chapitre précédent comment à partir de nos résultats sur les séquences DL et LLD on peut obtenir de bonnes informations pour la séquence DLLD, en particulier dans le cas de conformations du type $C_{10} \cdot C_{10}$.

a) Cas des conformations de type $C_{10} \cdot X \cdot Y$

Les formes C_{10} les plus favorables pour la séquence DL sont C_{10}^I , $C_{10}^{I'}$ et $C_{10}^{II'}$ et nous avons vu auparavant comment les décrire par le code conformationnel. Les combinaisons $X \cdot Y$ de ce code qui seront compatibles (au point de vue des résultats du tableau 2) avec ces formes C_{10} seront: $X \cdot Y = R \cdot A'$ ou $R \cdot M'$, par exemple:



Nous devons ainsi tester les conformations ayant le code conformationnel suivant:

$$\left\{ \begin{array}{ll} C_{10}^{II'} \cdot R \cdot M', & C_{10}^{II'} \cdot R \cdot A' \\ C_{10}^{I'} \cdot R \cdot M', & C_{10}^{I'} \cdot R \cdot A' \\ C_{10}^I \cdot R \cdot M', & C_{10}^I \cdot R \cdot A'. \end{array} \right.$$

b) Cas des conformations du type $X \cdot Y \cdot C_{10}$

Le tableau 2 montre que les meilleures formes $Y \cdot C_{10}$ possibles pour la séquence LLD étaient obtenues pour $Y = A, M, C_7$. Pour X nous avons choisi toutes les formes de code conformationnel correspondant à D-ALA, soit A, A', B, M', L, C_5 . Les types de C_{10} utilisés sont $C_{10}^I, C_{10}^{II}, C_{10}^{I'}$.

c) Cas des conformations du type $X \cdot C_{13}$

Nous n'avons utilisé ici que la forme C_{13}^I associée aux combinaisons X correspondant au code conformationnel obtenu pour D-ALA comme cité ci-dessus.

d) Cas des conformations du type $W \cdot X \cdot Y \cdot Z$

Nous avons choisi pour les séquences $X \cdot Y \cdot Z$ les meilleurs états conformationnels obtenus dans le tableau 2 pour les formes libres de la séquence LLD, c'est à dire $A \cdot R \cdot M', A \cdot B \cdot A', M \cdot R \cdot M'$ et $M \cdot R \cdot A'$. Pour W , nous avons utilisé les combinaisons du code conformationnel correspondant à D-ALA comme cité ci-dessus.

Les résultats que nous obtenons (tableau 3) montrent une nette prédominance énergétique pour les formes constituées de deux C_{10} accolées et ayant des types conformationnels $C_{10}^I \cdot C_{10}^{I'}$ ou $C_{10}^{II'} \cdot C_{10}^{II}$. Ces deux formes correspondent à des conformations du type bracelet stabilisées par 6 repliements de type «U», les carbonyles esters étant pointés vers l'extérieur dans le premier cas, et vers l'intérieur dans le second.

Table 3. Principales conformations stables du modèle «tetradepsipeptidique» correspondant au composé VIII

Groupe conformationnel	Type conformationnel	Φ_1, Ψ_1	Φ_2, Ψ_2	Φ_3, Ψ_3	Φ_4, Ψ_4	ΔE kcal/m au-dessus du minimum global
$C_{10} \cdot C_{10}$	$C_{10}^{II} \cdot C_{10}^{II}$	229, 52	121, 174	131, 306	240, 186	0,0 ^a
	$C_{10}^I \cdot C_{10}^I$	131, 137	113, 174	230, 219	245, 189	0,3
$X \cdot C_{13}$	$C_{10}^{II} \cdot C_{13}^I$	223, 65	133, 154	143, 140	353, 197	1,9
$C_{10} \cdot X \cdot Y$ et $X \cdot Y \cdot C_{10}$	$C_{10}^I \cdot R \cdot M'$	130, 141	113, 172	169, 109	188, 82	3,2
	$L \cdot M \cdot C_{10}^I$	191, 250	162, 288	227, 235	244, 181	3,5
Formes libres	$L \cdot A \cdot R \cdot M'$	193, 248	113, 227	170, 107	188, 83	6,1
	$L \cdot A \cdot R \cdot A'$	192, 249	113, 228	168, 110	245, 168	6,2

Nous nous sommes limité dans ce tableau aux conformations les plus représentatives des groupes suivants:

$$\left\{ \begin{array}{l} C_{10} \cdot C_{10} \\ X \cdot C_{13} \\ C_{10} \cdot X \cdot Y \\ X \cdot Y \cdot C_{10} \\ \text{formes libres} \end{array} \right.$$

les énergies sont données par rapport au minimum global obtenu^a.

Puis nous voyons la grande stabilité obtenue pour la conformation $C_{10}^{II} \cdot C_{13}^I$ pour laquelle les cycles C_{10} et C_{13} sont imbriqués de façon à donner une structure plus compacte que celle du type $C_{10} \cdot C_{10}$.

Quant aux formes du type $X \cdot C_{10}$ et $C_{10} \cdot X$, nos calculs montrent que les plus favorables d'entre elles sont d'énergies, équivalentes et correspondent à des structures du type $C_{10}^I \cdot R \cdot M'$ et $L \cdot M \cdot C_{10}^I$.

Nous obtenons essentiellement deux structures libres presque semblables et d'énergie équivalente: $L \cdot A \cdot R \cdot A'$ et $L \cdot A \cdot R \cdot M'$. Cependant plusieurs autres d'énergie moins favorable ($M' \cdot M \cdot R \cdot M'$, $A \cdot M \cdot R \cdot M'$, $M' \cdot A \cdot C_5 \cdot A'$) apparaissent dans la limite de 10 kcal/mole au-dessus du minimum absolu.

2.5. Étude de la valinomycine sous la forme du modèle (DLLD)₃

Dans cette étude, nous avons utilisé comme points de départ les valeurs des angles (Φ, Ψ) des 4 résidus de séquence DLLD étudiés dans le chapitre précédent et citées dans la tableau 3. Pour tenir compte des résultats précédents montrant l'existence de plusieurs possibilités pour l'obtention de formes libres, nous avons inclus dans la recherche des formes de type C les points de départ de code conformationnel ($M' \cdot M \cdot R \cdot M'$)₃, ($A \cdot M \cdot R \cdot M'$)₃, ($M' \cdot A \cdot C_5 \cdot A'$)₃. Afin de conserver la fermeture du macrocycle étudié, nous

Table 4. Principales conformations stables du modèle C-(D-ALA-L-LAC-L-ALA-D-LAC)₃ représentant la valinomycine

Type conformationnel	Type de structure correspondant	$\{\Phi_1 \Psi_1 \dots \Phi_{12} \Psi_{12}\}$	ΔE en kcal/m par rapport minimum global
$(C_{10}^I \cdot C_{10}^I)_3$	A ₁	(130, 132; 110, 175; 230, 218; 241, 187) ₃	0,0 ^a
$C_{10}^{II} \cdot C_{13}^I \cdot C_{10}^{II}$ $C_{10}^{II} \cdot C_{10}^{II} \cdot C_{13}^I$	A ₂	223, 65; 133, 156; 142, 138; 351, 192; 232, 61; 118, 174; 131, 304; 241, 184; (suite)-228, 62; 133, 156; 142, 138; 351, 192	2,9
$(C_{10}^{II} \cdot C_{10}^{II})_3$	D ₁	(231, 58; 119, 170; 137, 294; 235, 192) ₃	3,7
$(C_{10}^I \cdot R \cdot M)_3$	B ₁	(132, 143; 115, 175; 165, 112; 194, 78) ₃	7,4
$(L \cdot M \cdot C_{10}^I)_3$	B ₂	(198, 248; 159, 294; 228, 237; 246, 179) ₃	7,2
$(M' \cdot A \cdot C_5 \cdot A)_3$	C	(308, 28; 117, 190; 18, 355; 240, 177) ₃	9,7

^a Les énergies sont données par rapport au minimum global obtenu.

avons utilisé une fonctionnelle du type $F(X, k) = f(X) + k[c \cdot g(X)]^2$ avec

$$\begin{cases} f = \text{énergie du système moléculaire} \\ g = \text{fonction de fermeture} = \sqrt{d_1^2 + d_2^2 + d_3^2} \text{ où } d_1^2 \text{ représente l'écart à la} \\ \text{fermeture sur l'atome 1.} \\ X = \text{angles conformationnels } \{\Phi, \Psi, \omega\}. \end{cases}$$

La méthode de minimisation utilisée est du type «Penalty fonction» [47] utilisant comme précédemment l'algorithme du simplexe.

Les résultats que nous obtenons (tableau 4) sont très semblables à ceux obtenus pour le modèle DLLD, mis à part pour la forme ouverte de type C qui favorise une combinaison conformationnelle non optimale pour ce modèle.

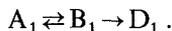
La forme la plus stable que nous prédisons pour la valinomycine sera donc du type bracelet formé par 6 «U-turns» et de type $C_{10}^I \cdot C_{10}^I$. La forme $C_{10}^{II} \cdot C_{10}^{II}$ est légèrement déstabilisée par suite d'interactions défavorables entre les groupes carbonyle esters pointant vers l'intérieur de la molécule.

3. Conclusions

Nous pouvons donc donner, compte tenu de nos résultats, les formes préférentielles suivantes pour la valinomycine:

$$\begin{cases} A_1 = (C_{10}^I \cdot C_{10}^I)_3 \\ A_2 = C_{10}^{II} \cdot C_{13}^I \cdot C_{10}^{II} \cdot C_{10}^{II} \cdot C_{10}^{II} \cdot C_{13}^I \\ D_1 = (C_{10}^{II} \cdot C_{10}^{II})_3 \\ B_1 = (L \cdot M \cdot C_{10}^I)_3 \\ B_2 = (C_{10}^I \cdot R \cdot M)_3 \\ C = (M' \cdot A \cdot C_5 \cdot A)_3 \end{cases} \quad \left. \begin{array}{l} \text{Stabilité} \\ \text{décroissante} \end{array} \right\}$$

Compte tenu de ces résultats, nous pouvons donc admettre avec Duax *et al.* [33] que le passage de la forme libre à la forme complexée pourra se faire très facilement si nous supposons un mécanisme du type $A_2 \rightarrow D_1$. Par contre le mécanisme envisagé par Ivanov et ses collaborateurs [17, 18] mettant en jeu les formes B_1 , A_1 et D semble beaucoup moins favorable par suite de la déstabilisation assez importante de la forme B_1 :



L'hypothèse de Urry et Ohnishi [20] selon laquelle deux formes de type B d'énergie équivalente existent et passent de l'une à l'autre à travers les formes A_1 se trouve parfaitement confirmée:



Aucune forme stabilisée par des liaisons hydrogène du type 3 \rightarrow 1 n'apparaît dans nos calculs, dans la limite de 10 kcal/mole au-dessus du minimum global. Ainsi, les modèles proposés par Patel et Tonelli [37] faisant intervenir de telles liaisons hydrogène semblent improbables.

Bibliographie

1. Pressman, B. C., Moore, C.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **15**, 562 (1964)
2. Pressman, B. C.: *P.N.A.S.* **53**, 1076 (1965)
3. Harry, E. S., Pressman, B. C.: *Nature (London)* **266**, 918 (1967)
4. Lev, A. A., Buzhinsky, P. E.: *Tsitologiya* **9**, 102 (1967)
5. Tosteson, D. C., Cook, P. C., Andreoli, T. E., Tieffenberg, M.: *J. Gen. Physiol.* **50**, 2513 (1967)
6. Andreoli, T. E., Tieffenberg, M., Tosteson, D. C.: *J. Gen. Physiol.* **50**, 2527 (1967)
7. Tosteson, D. C.: *Fed. Proc.* **26**, 1805 (1967)
8. Pressman, B. C.: *Fed. Proc.* **27**, 1283 (1968)
9. Mueller, P., Rudin, D. O.: *Biochim. Biophys. Res. Comm.* **26**, 298 (1967)
10. Tosteson, D. C., Andreoli, T. E., Tieffenberg, M., Cook, P.: *J. Gen. Physiol.* **51**, 373 (1968)
11. Henderson, P. J. F., McGivan, J. D., Chappell, J. B.: *Biochem. J.* **3**, 521 (1969)
12. Junge, N., Schmid, R.: *J. Membrane Biol.* **4**, 179 (1971)
13. Lardy, H. A., Graven, S. N., Estrada, O. S.: *Fed. Proc.* **26**, 1355 (1967)
14. Krasne, S., Eisenman, G., Szabo, G.: *Science* **174**, 412 (1971)
15. Lauger, P.: *Science* **178**, 24 (1972)
16. Shemyakin, M. M., Ovchinnikov, Yu. A., Ivanov, V. T., Antonov, V. K., Vinogradova, E. J., Shkrob, A. M., Malenkov, G. G., Laine, J. A., Melvik, E. J., Ryabova, J. D.: *J. Membrane Biol.* **1**, 402 (1969)
17. Ivanov, V. T., Laine, I. A., Abdulaev, N. D., Senyavina, L. B., Popov, E. M., Ovchinnikov, Yu. A., Shemyakin, M. M.: *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **34**, 803 (1969)
18. Ivanov, V. T., Laine, I. A., Abdulaev, N. D., Pletnev, V. Z., Lipkind, G. M., Arkhipova, S. F., Senyavina, L. B., Methtcheriakova, E. N., Popov, E. M., Bystrov, V. F., Ovchinnikov, J. A.: *Khim. Prir. Soedin* **3**, 221 (1971)
19. Ohnishi, M., Urry, D. W.: *Science* **168**, 1091 (1970)
20. Ohnishi, M., Urry, D. W.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **36**, 194 (1969)
21. Urry, D. W., Ohnishi, M.: Dans: Urry, D. W. (Ed.): *Spectroscopic approaches to biomolecular conformation*, p. 263. Chicago: American Medical Association Press 1970
22. Haynes, D. H., Konalsky, A., Pressman, B. C.: *J. Biol. Chem.* **244**, 502 (1969)
23. Hsu, M., Chan, S. I.: *Biochem.* **12**, 3872 (1972)
24. Patel, D. J.: *Biochem.* **12**, 496 (1973)
25. Ohnishi, M., Fedarko, M. C., Baldeschwieler, J. D., Johnson, L. F.: *Biochim. Biophys. Res. Comm.* **46**, 312 (1972)
26. Bystrov, V. F., Ivanov, V. T., Kozmin, S. A., Mikhalyova, I. I., Khaliluvina, K. Kh., Ovchinnikov, Yu.: *FEBS letters* **21**, 34 (1972)

27. Grell, E., Funck, T., Sauter, H.: Eur. J. Biochem. **34**, 415 (1973)
28. Ivanov, V. T., Kogan, G. A., Tulchinsky, V. M., Miroshnikov, A. V., Mikhalyova, I. J., Evstratov, A. V., Zenkin, A. A., Kostetsky, P. V., Ovchinnikov, Yu. A.: FEBS Letters **30**, 199 (1973)
29. Kemp, G., Wenner, C. E.: Biochim. Biophys. Acta **282**, 1 (1972)
30. Andreev, I. M., Malenkov, G. G., Shkob, A. M., Shemyakin, M. M.: Mol. Biol. (Russian) **5**, 614 (1971)
31. Kemp, G., Wenner, C. E.: Biochim. Biophys. Acta **323**, 161 (1973)
32. Pinkerton, M., Steinrauf, L. K., Dankins, P.: Biochim. Biophys. Res. Comm. **35**, 512 (1969)
33. Duax, W. L., Hauptman, H., Weeks, C. H., Norton, D. A.: Science **176**, 911 (1972)
34. Krigbaum, W. R., Kuegler, F. R., Oelschlaeger, H.: Biochem. **11**, 4548 (1972)
35. Duax, W. L., Hauptman, H.: Acta Cryst. B **28**, 2912 (1972)
36. Mayers, D. F., Urry, D. W.: JACS **94**, 77 (1972)
37. Patel, D. J., Tonelli, A. E.: Biochem. **12**, 486 (1973)
38. Ramachandran, G. N., Chandrasekaran, R.: *Second american peptide symposium*, Cleveland, Ohio, Aug. 17 – 19 (1970), paper n°28
39. Grell, E., Eggers, F., Funck, Th.: Chimia **26**, 632 (1972)
40. Funck, T. H., Eggers, F., Grell, E.: Chimia **26**, 637 (1972)
41. Grell, E., Funck, T. H., Eggers, F.: In: Munoz, E., Garcia Ferrandiz, F., Vasquez, D. (Eds.): *Molecular mechanisms of antibiotic action on protein biosynthesis and membranes*, p. 646. Amsterdam: Elsevier (North Holl.)
42. Boussart, G., Marraud, M., Neel, J.: Soumis pour publication
43. Pullman, A., Pullman, B.: Advan. Protein. Chem. **28**, 347 (1974)
44. Marraud, M., Neel, J.: Soumis pour publication
45. Maigret, B., Pullman, B.: Theoret. Chim. Acta (Berl.): Sous presse
46. Maigret, B., Pullman, B.: En preparation
47. Voir par exemple Davies et Swan, W. H., Dans: Fletcher, R. (Ed.): Optimization, p. 193. Academic Press 1969
48. Urry, D. W., Kumar, N. G.: Biochem. **13**, 1829 (1974)

Prof. Dr. B. Pullman
Institut de Biologie Physico-Chimique
Laboratoire de Biochimie Théorique
13, rue Pierre et Marie Curie
F-75005 Paris, France