

**ÉTUDES DE LA CONFORMATION DE  
PENTAPEPTIDES CYCLIQUES PAR LA  
RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE**

J. Meraldi, H. Moeschler, R. Schwyzer, A. Tun-Kyi, K. Wuthrich

► **To cite this version:**

J. Meraldi, H. Moeschler, R. Schwyzer, A. Tun-Kyi, K. Wuthrich. ÉTUDES DE LA CONFORMATION DE PENTAPEPTIDES CYCLIQUES PAR LA RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE. Journal de Physique Colloques, 1973, 34 (C8), pp.C8-41-C8-43. 10.1051/jphyscol:1973815 . jpa-00215368

**HAL Id: jpa-00215368**

**<https://hal.archives-ouvertes.fr/jpa-00215368>**

Submitted on 1 Jan 1973

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## ÉTUDES DE LA CONFORMATION DE PENTAPEPTIDES CYCLIQUES PAR LA RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE

J. P. MERALDI, H. MOESCHLER, R. SCHWYZER, A. TUN-KYI et K. WÜTHRICH

Institut für Molekularbiologie und Biophysik Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Switzerland

**Résumé.** — L'étude des propriétés du peptide bicyclique S, S'-bis-cyclo-glycyl-L-hemicystyl-glycyl-glycyl-L-prolyl vis-à-vis du transport actif des ions alcalins à travers une membrane nous a conduits à examiner par la spectroscopie RMN différents pentapeptides cycliques tels que ceux décrits dans la première figure [1], [2]. Tous les composés examinés se caractérisent par la présence dans la position (5) d'une proline, soit sous sa forme L, soit sous sa forme D. Les spectres RMN dans le DMSO montrent très clairement l'existence à température ambiante de deux conformations stables en équilibre, qui trouvent leur origine dans l'isomérisation cis-trans de la liaison peptidique entre le résidu (4) et la proline (5). Nous nous sommes donc attachés à décrire géométriquement les deux conformères ainsi que leurs populations relatives en fonction de la température et du solvant utilisé [3], [4], [5]. Pour garantir l'univocité de l'identification des différentes glycines, nous avons procédé à la deutériation, premièrement de la glycine (1) et deuxièmement des deux glycines (1) et (4) (Fig. 1). La spectroscopie RMN permet, par l'étude des constantes de couplage  $J_{\text{NH-CH}}$ , la détermination des angles  $\varphi$  d'un peptide [6]. La variation du déplacement chimique des protons amides en fonction de la température décrit le comportement de ceux-ci vis-à-vis du solvant. Dans certains cas ces mesures peuvent mettre en évidence la présence de ponts hydrogènes intra [7], [8]. Une description détaillée de la conformation du « backbone » d'un peptide exige également la connaissance des angles  $\psi$  et  $\omega$ . C'est pourquoi nous avons complété nos mesures expérimentales par la détermination théorique sur ordinateur de la carte énergétique de chaque conformère en fonction des angles de rotation  $\psi$  et  $\omega$  où les minima d'énergie désignent les conformations recherchées.

**Abstract.** — The study of the bicyclic peptide S, S'-bis-cyclo-glycyl-L-hemicystyl-glycyl-glycyl-L-prolyl for its effect on the active transport of alkali ions through membranes led us to an NMR-investigation of different cyclic pentapeptides such as those shown in the first figure [1], [2]. All the compounds investigated have a proline in position (5), either the L-form or the D-form. The NMR spectra in DMSO show clearly two stable conformations in equilibrium at room temperature. The two forms originate from the cis-trans isomerisation of the peptide bond between residue (4) and proline (5). Our goal was to describe the geometry of the two conformations as a function of temperature and solvent [3], [4], [5]. To guarantee the uniqueness of the identifications of the different glycines we deuterated either glycine (1) or both glycines (1) and (4) (Fig. 1). The NMR, coupling constants  $J_{\text{NH-CH}}$  allow the determination of  $\varphi$  angles of a peptide [6]. The interactions between solvent and amide protons can be determined from the temperature dependences of the chemical shifts. In certain cases these methods can yield evidence for intramolecular hydrogen bonds [7], [8]. For the whole description of the backbone of a peptide we must know the  $\psi$  and  $\omega$  angles. Therefore we complemented our experimental results by the theoretical calculation on a computer of the energy map of each conformation as a function of rotation angle  $\psi$  and  $\omega$ . The minima of the energy indicate the most probable conformations.

**Interprétation des spectres RMN.** — Les résonances magnétiques nucléaires des protons de quelques pentapeptides cycliques (Fig. 1) sont présentées dans les figures 2 à 5. Tous les spectres ont été enregistrés à 220 MHz avec un spectromètre VARIAN HR-220. Pour les mesures RMN, les peptides ont été dissous dans du diméthyl-sulfoxyde deutérié. La température était d'environ 22 °C.

Dans le spectre de c[-Gly-L-Ala-Gly-Gly-L-Pro-] (Fig. 2 I) on observe de droite à gauche les résonances

suivantes [3]. A 1,2 ppm nous trouvons le groupe méthyle de l'alanine. La région spectrale de 1,5 à 2,3 ppm comprend les protons  $\beta$  et  $\gamma$  de la proline. Le DMSO et l'eau donnent une résonance à 2,5 ppm et à 3,3 ppm. Le signal de l'eau masque en grande partie celui des protons  $\delta$  de la proline. Entre 3,3 ppm et 4,6 ppm, on observe les résonances des protons  $\alpha$  des cinq acides aminés. Les quatre protons amidiques donnent lieu à huit résonances dans la région spectrale de 6,5 à 9 ppm. Ceci montre que deux conformations

I	A	c - [GLY(1) - L - ALA(2) - GLY(3) - GLY(4) - L - PRO(5)]
	B	c - [GLY(D <sub>2</sub> ) - L - ALA - GLY - GLY - L - PRO]
	C	c - [GLY(D <sub>2</sub> ) - L - ALA - GLY - GLY(D <sub>2</sub> ) - L - PRO]
II	A	c - [GLY - L - CYS(DPM) - GLY - GLY - L - PRO]
	B	c - [GLY(D <sub>2</sub> ) - L - CYS(DPM) - GLY - GLY - L - PRO]
	C	c - [GLY(D <sub>2</sub> ) - L - CYS(DPM) - GLY - GLY(D <sub>2</sub> ) - L - PRO]
III	A	c - [GLY - L - ALA - GLY - GLY - D - PRO]
	B	c - [GLY(D <sub>2</sub> ) - L - ALA - GLY - GLY - D - PRO]
	C	c - [GLY(D <sub>2</sub> ) - L - ALA - GLY - GLY(D <sub>2</sub> ) - D - PRO]

FIG. 1. — Formules des trois cycles pentapeptidiques décrits dans le texte et de leurs analogues deutériés. A non deutérié, B Gly(1) deutérié, C Gly(1) et Gly(4) deutériés. La deutériation ne concerne que les protons  $\alpha$ .

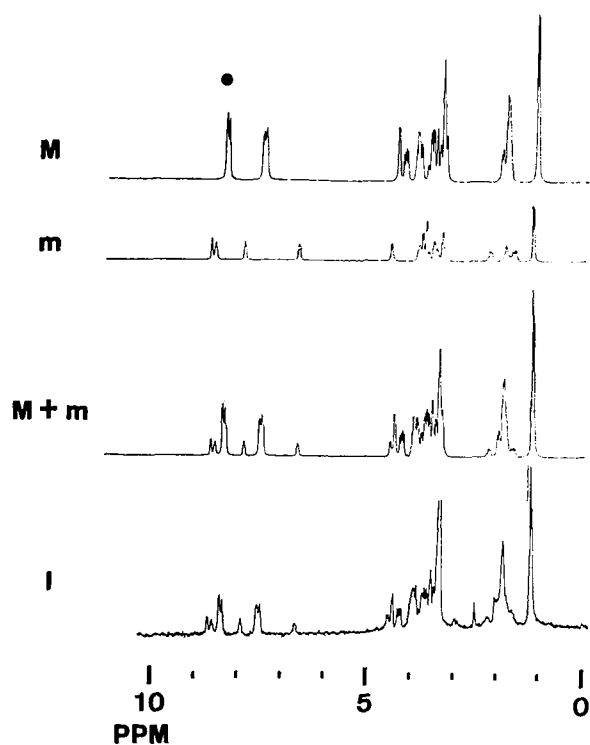


FIG. 2. — Spectre RMN de c-[Gly-L-Ala-Gly-Gly-L-Pro-]. I Spectre observé, M + m spectre simulé selon les paramètres de la table I de la référence [3], M spectre simulé de la conformation majeure, m spectre simulé de la conformation mineure.

coexistent dans cette solution du peptide. L'isomérisie cis-trans de la liaison peptidique entre la glycine (4) et la proline (5) est à l'origine de ces deux conformères. La forme trans caractérise la conformation majeure [3], [4].

Grâce à la technique de la double résonance et de l'INDOR, que nous avons pratiquée à 100 MHz sur un spectromètre VARIAN XL-100, nous avons pu établir la correspondance, pour chaque acide aminé, entre le proton amide et les protons  $\alpha$  et  $\beta$ , aussi bien pour la conformation majeure que pour la conformation mineure. Ces résultats nous ont permis d'identifier les résonances des deux conformères,

également dans la région spectrale de 0 à 5 ppm (Fig. 2). De plus, grâce à l'INDOR, nous avons pu apparier les résonances amidiques correspondant au même proton dans les deux conformations. De la structure fine, il est aisé de différencier les résonances de l'alanine de celles des trois glycines. Par contre, il n'est pas possible de déterminer le numérotage des glycines sur la base des spectres de la figure 2. Par conséquent nous avons procédé à la deutériation successive des glycines (Fig. 3), premièrement de

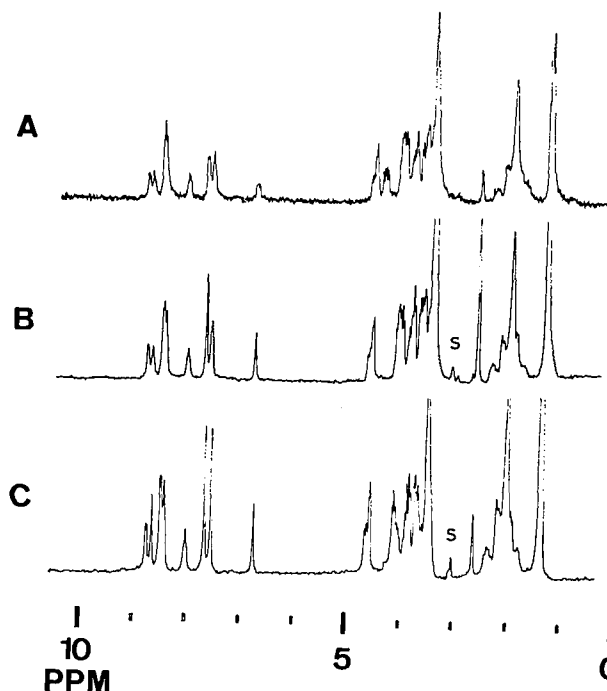


FIG. 3. — A spectre RMN de c-[Gly-L-Ala-Gly-Gly-L-Pro-], B spectre du peptide deutérié I B, C spectre du peptide deutérié I C (cf. Fig. 1). La lettre S indique des bandes latérales de rotation de la résonance de l'eau.

la glycine (1) (Fig. 3B) et deuxièmement des glycines (1) et (4) (Fig. 3C). Cette modification permet une identification immédiate et univoque des résonances. En effet, dans la région des protons amides, la deutériation se manifeste par l'apparition, dans les deux conformations, d'un proton non couplé, c'est-à-dire d'un singulet. Dans la région des protons  $\alpha$ , nous observons la disparition de la partie AB d'un système ABX, c'est-à-dire huit lignes. La deutériation nous a permis également de confirmer notre analyse première [3] et d'en affiner les paramètres par des simulations des composés A, B et C (Fig. 3).

La variation du déplacement chimique des protons amides en fonction de la température indique un contact avec le solvant [7], [8]. Dans notre cas, les déplacements chimiques des résonances amidiques en haut champ, c'est-à-dire celle de la glycine (1) dans la conformation mineure et celles des glycines (1) et (4) dans la conformation majeure, sont insensibles à la variation thermique [3]. Nous en concluons que

nous avons deux protons amides protégés du solvant dans la conformation majeure, et un seul dans la conformation mineure. Ceci peut être dû à la formation de ponts hydrogènes intra. Cette analyse RMN nous permet de déterminer parmi tous les types de conformations, qui se distinguent par la formation de différents ponts hydrogènes intra, suggérés par les modèles moléculaires, ceux qui sont présents dans notre système.

Toute l'interprétation des spectres RMN que nous venons de faire s'applique également aux pentapeptides II et III (Fig. 4 et 5). Nous en déduisons que les conformations moléculaires des pentapeptides I et II (Fig. 1) sont essentiellement identiques. Les différences spectrales (Fig. 3 et 4) proviennent surtout de l'introduction du groupe DPM, qui donne des résonances à 5,3 et à 7,3 ppm. L'électronégativité du

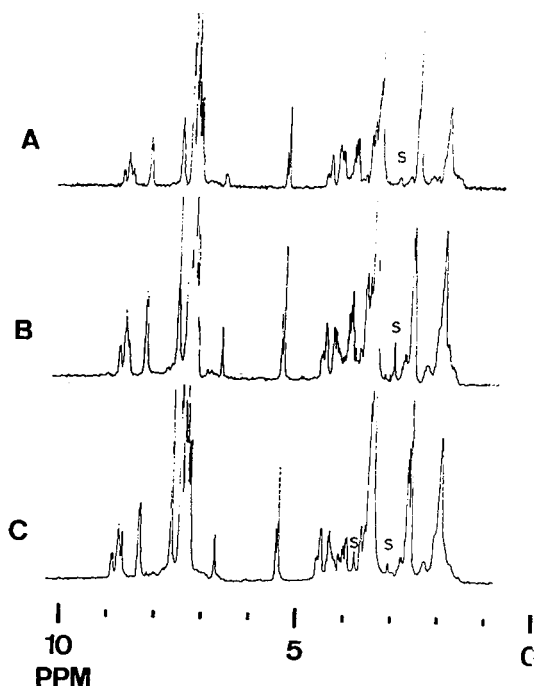


FIG. 4. — A spectre RMN de c-[Gly-L-Ala-Gly-Gly-D-Pro-], B spectre du peptide deutérié III B, C spectre du peptide deutérié III C (cf. Fig. 1).

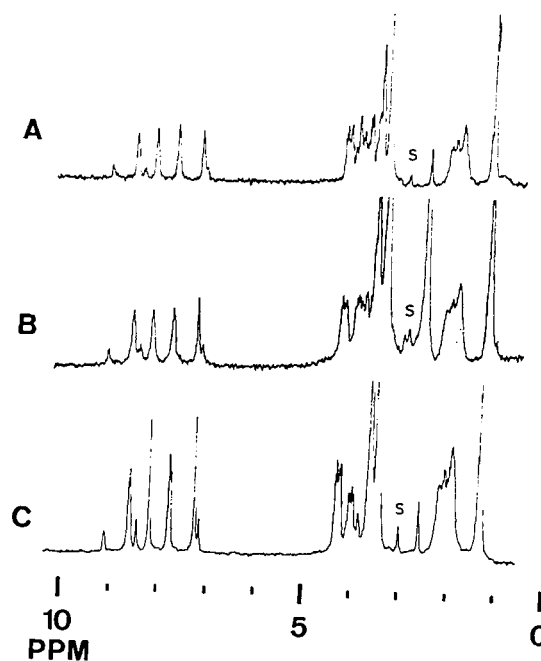


FIG. 5. — A spectre RMN de c-[Gly-L-Cys (DPM)-Gly-Gly-L-Pro-], B spectre du peptide deutérié II B, C spectre du peptide deutérié II C (cf. Fig. 1).

soufre influence également les déplacements chimiques des protons voisins. Le pentapeptide III, qui se distingue du peptide I uniquement par le remplacement de la proline L par une proline D (Fig. 1), présente un spectre totalement différent. D'une part l'équilibre entre les deux conformères s'est déplacé vers la conformation majeure, d'autre part toute la conformation a passablement changé.

Des rapports sur d'autres propriétés physico-chimiques de ces peptides, l'interprétation des constantes de couplages JNH-CH et leur incidence sur les conformations ainsi que les résultats des calculs sur les énergies des conformations, seront publiés prochainement.

**Remerciements.** — Ce travail a été subventionné par le Fond National Suisse pour la recherche scientifique, projets N° 3.374.70 et 3.423.70.

#### Bibliographie

- [1] SCHWYZER, R., TUN-KYI, A., CAVIEZEL, M. et MOSER, P., *Helv. Chim. Acta* **55** (1970) 15.
- [2] WÜTHRICH, K., MERALDI, J.-P., TUN-KYI, A. et SCHWYZER, R., *Proc. of the First European Biophysics Congress*, Vienna, September 14 to 17, 1971, Vol. 1, p. 93.
- [3] MERALDI, J.-P., SCHWYZER, R., TUN-KYI, A. et WÜTHRICH, K., *Helv. Chim. Acta* **55** (1972) 1962.
- [4] WÜTHRICH, K., TUN-KYI, A. et SCHWYZER, R., *FEBS LETTERS* **25** (1972) 104.
- [5] MERALDI, J.-P., SCHWYZER, R., TUN-KYI, A. et WÜTHRICH, K., *Chimia* **29** (1972) fasc. 12.
- [6] BYSTOV, V. F., PORTNOVA, S. L., ISETHLIN, V. I., IVANOV, V. T. et OVCHINNIKOV, Y. A., *Tetrahedron* **25** (1969) 493.
- [7] ONISHI, M. et URRY, D. W., *Biochem. Biophys. Res. Commun* **36** (1969) 194.
- [8] SCHWYZER, R., GRATHWOHL, Ch., MERALDI, J.-P., TUN-KYI, A., VOGEL, R. et WÜTHRICH, K., *Helv. Chim. Acta* **55** (1972) 2545.