



*Je dédie cette thèse à ma chère petite famille :*

*À ma mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite. Tes prières m'ont toujours accompagné, je t'offre en guise de reconnaissance ce travail qui sans ton aide, ta générosité infinie, tes encouragements n'aurait vu le jour.*

*À mon père, je ne saurais exprimer mon dévouement et respect pour les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Ce travail est le fruit de tes efforts fournis jour et nuit pour mon bien être.*

*À mes frères qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études. Ce travail est ma profonde gratitude pour votre amour éternel.*

*Que Dieu vous garde.*

## Résumé

Dans le cadre de la recherche de la relation structure-activité des peptides endogènes et l'étude de l'effet de la thionation des liaisons amide sur l'activité biologique, ce travail présente deux études conformationnelles comparatives par la méthode de mécanique moléculaire PEPSEA : la première entre le tripeptide chimiotactique actif fMLP-OMe (formyl-Met-Leu-Phe-OMe) et son analogue thionylé au niveau de la leucine fML<sup>S</sup>P-OMe, dépourvu de toute activité biologique. La deuxième entre le pentapeptide opiacé Leu-Enképhaline (H-Tyr1-Gly2-Gly3-Phe4-Leu5-OH) et ses deux analogues thionylés respectivement en positions 2 et 3, (Thio-Gly2)-Leu-Enképhaline, plus actif que la molécule mère, et (Thio-Gly3)-Leu-Enképhaline moins actif.

La première étude a montré que la structure native des peptides chimiotactiques analogues de fMLP semble être une structure en tournant  $\gamma$  centrée sur le résidu Leu, et que les groupes CO(formyle) et NH(Leu) doivent être libres et prêts pour interagir avec le récepteur. Les résultats de cette étude combinés à ceux de la littérature nous ont permis de proposer le mécanisme d'interaction entre les peptides chimiotactiques et leur récepteur.

La deuxième étude a montré que la structure native des peptides opiacés analogues de Leu-Enképhaline est une structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4, et que l'analogue plus actif (Thio-Gly2)-Leu-Enképhaline a une tendance plus faible à adopter cette structure, mais sa résistance à l'hydrolyse enzymatique prolonge sa durée de vie, ce qui augmente son activité neuf fois comparativement au peptide parent. Pour l'analogue moins actif (Thio-Gly3)-Leu-Enképhaline, malgré sa résistance à l'hydrolyse, sa préférence à adopter une autre structure (tournant  $\beta$  centrée sur Gly2-Gly3) explique la diminution de son activité à 15 % dans certains tests pharmacologiques. L'importance de la distance entre Tyr1 et Phe4 ainsi que la disponibilité du groupement NH terminal qui doit être libre pour interagir avec le récepteur sont confirmées par cette étude.

## Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon travail et qui m'ont aidé lors de la rédaction de cette thèse.

Je voudrais dans un premier temps remercier, mon directeur de thèse Mr. Chakib AMEZIANE HASSANI, pour le temps qu'il a consacré à m'apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils ont été très commodes dans l'élaboration de ce rapport.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes :

- Pr El Mestefa EL HADRAMI d'avoir accepté d'être président de Jury.
- Pr Mohammed BOUACHRINE, Pr Adil TOUIMI BENJELLOUN et Pr Tahar LAKHLIFI d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse.
- Pr Abdellatif BOUKIR, Pr Youssef KANDRI RODI et Pr Jamal Eddine HAZM de juger ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de répondre à mes questions durant mes recherches.

Je remercie également mes amis et collègues qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

# Table des matières

<b>Résumé</b> .....	<b>iii</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>iv</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>v</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>viii</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>ix</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>xi</b>
<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre. 1 : Revue des méthodes d'analyse conformationnelle des protéines..</b>	<b>4</b>
<b>Introduction</b> -----	<b>4</b>
<b>I.1 Méthodes expérimentales</b> -----	<b>4</b>
I.1.1 Cristallographie aux rayons X .....	4
I.1.2 Résonance magnétique nucléaire RMN .....	5
I.1.3 Spectroscopie infrarouge IR .....	5
I.1.4 Fluorescence UV .....	5
I.1.5 Dichroïsme circulaire DC .....	6
<b>I.2 Méthodes théoriques</b> -----	<b>6</b>
I.2.1 Méthodes ab initio .....	6
I.2.2 Méthodes semi-empiriques .....	7
I.2.3 Méthodes empiriques .....	7
<b>I.3 Le problème de minima multiples et les méthodes d'exploration des hypersurfaces conformationnelles</b> -----	<b>9</b>
I.3.1 Le problème de minima multiples .....	9
I.3.2 Les méthodes d'exploration des hypersurfaces conformationnelles .....	10
I.3.2.1 Les méthodes de recherche systématique .....	10
I.3.2.2 La méthode dynamique .....	12
I.3.2.3 Les méthodes Monte Carlo .....	15
I.3.2.4 La méthode PEPSEA (Peptide Search) .....	21
<b>Chapitre. 2 : Description de la méthode d'exploration des hypersurfaces conformationnelles PEPSEA</b> .....	<b>22</b>
<b>Introduction</b> -----	<b>22</b>
<b>II.1 Les principes de la méthode PEPSEA</b> -----	<b>23</b>
<b>II.2 La structure du programme PEPSEA</b> -----	<b>23</b>
<b>II.3 Le champ de force ECEPP/2</b> -----	<b>24</b>

<b>II.4</b>	<b>La minimisation</b>	<b>25</b>
<b>II.5</b>	<b>Les méthodes d'analyse conformationnelle</b>	<b>26</b>
II.5.1	Le programme de traitement	26
II.5.2	Les histogrammes énergétiques	27
II.5.3	Les cartes de Ramachandran	27
II.5.4	Calcul des paramètres thermodynamiques	28
II.5.5	Liaisons hydrogène	30
<b>Chapitre. 3 : Effet de la thionation sur l'espace conformationnel de la</b>		
	<b>glycine et la leucine</b>	<b>31</b>
	<b>Introduction</b>	<b>31</b>
<b>III.1</b>	<b>Intégration des résidus ThioGly et ThioLeu dans le champ de</b>	
	<b>force ECEPP/2</b>	<b>33</b>
<b>III.2</b>	<b>Analyse conformationnelle</b>	<b>34</b>
<b>III.3</b>	<b>Résultats et discussion</b>	<b>35</b>
III.3.1	Analyse conformationnelle comparative de Gly et ThioGly	36
III.3.2	Analyse conformationnelle comparative de Leu et ThioLeu	39
	<b>Conclusion</b>	<b>42</b>
<b>Chapitre. 4 : Analyse conformationnelle comparative du peptide</b>		
	<b>chimiotactique fMLP-OMe et son analogue thioamide fML<sup>S</sup>P-OMe</b>	<b>43</b>
	<b>Introduction</b>	<b>43</b>
<b>IV.1</b>	<b>Calcul conformationnel</b>	<b>45</b>
<b>IV.2</b>	<b>Résultats et discussion</b>	<b>45</b>
IV.2.1	Présentation des conformères générés	45
IV.2.2	Présentation des conformères les plus stables	46
IV.2.3	Analyse conformationnelle	49
IV.2.4	Discussion	54
	<b>Conclusion</b>	<b>56</b>
<b>Chapitre. 5 : Analyse conformationnelle comparative du peptide opiacé</b>		
	<b>Leu-enképhaline et ses deux analogues thioamides (Thio-Gly2)-</b>	
	<b>Leu-enképhaline et (Thio-Gly3)- Leu-enképhaline</b>	<b>57</b>
	<b>Introduction</b>	<b>57</b>
<b>V.1</b>	<b>Calcul conformationnel</b>	<b>59</b>

<b>V.2</b>	<b>Résultats et discussion -----</b>	<b>60</b>
V.2.1	Présentation des conformères générés _____	60
V.2.2	Présentation des conformères les plus stables _____	60
V.2.3	Analyse conformationnelle _____	64
V.2.4	Discussion _____	66
<b>Conclusion</b>	<b>-----</b>	<b>69</b>
<b>Conclusion générale</b>	<b>.....</b>	<b>70</b>
<b>Annexe A : Structures secondaires des protéines. Carte de Ramachandran</b>	<b>.....</b>	<b>72</b>
<b>Annexe B : Champ de force ECEPP/2</b>	<b>.....</b>	<b>80</b>
<b>Annexe C : Angles dièdres des différents conformères étudiés</b>	<b>.....</b>	<b>83</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>.....</b>	<b>91</b>

## Liste des tableaux

1. Paramètres de la liaison thiopeptidique utilisés dans le programme PEPSEA.....	<b>34</b>
2. Zones conformationnelles ( $\varphi$ , $\psi$ ) préférentielles pour Gly et ThioGly. Pourcentages de population % et énergies conformationnelles E correspondants à chaque zone.....	<b>37</b>
3. Zones conformationnelles ( $\varphi$ , $\psi$ ) préférentielles pour Leu et ThioLeu. Structures secondaires, pourcentages de population %, et énergies conformationnelles E correspondants à chaque zone.....	<b>40</b>
4. Caractéristiques conformationnelles de fMLP-OMe.....	<b>47</b>
5. Caractéristiques conformationnelles de fML <sup>S</sup> P-OMe.....	<b>48</b>
6. Puissances inhibitrices relatives de Leu-Enképhaline et ses deux analogues thionylés sur les contractions induites électriquement de (GPI) et (MVD), et sur la liaison avec [3H]-DADLE et le [3H]-Dihydromorphine à partir des homogénats de cerveau du rat...	<b>58</b>
7. Caractéristiques conformationnelles de Leu-Enképhaline.....	<b>61</b>
8. Caractéristiques conformationnelles de (Thio-Gly <sub>2</sub> )-Leu-Enképhaline.....	<b>62</b>
9. Caractéristiques conformationnelles de (Thio-Gly <sub>3</sub> )-Leu-Enképhaline.....	<b>63</b>

## Liste des figures

1.	Illustration d'une courbe d'énergie potentielle en fonction d'un degré de liberté.....	10
2.	Organigramme expliquant les étapes d'une simulation de recuit simulé.....	19
3.	Séquence d'étapes majeures du pliage de la 18-alanine.....	20
4.	Structure du programme PEPSEA.....	24
5.	Exemple d'histogrammes représentant. a) Une mauvaise minimisation. b) Une bonne minimisation.....	27
6.	Courbe montrant la zone de stabilité de $\text{Log}(\det(F_i)) = f(\varepsilon)$ .....	29
7.	Présentation des deux contraintes géométriques indiquant la présence de liaisons hydrogène.....	30
8.	Structures des résidus natifs et thionylés. Les angles dièdres variables sont indiqués.....	33
9.	Positions des conformères dans le plan $(\varphi, \psi)$ avant la minimisation.....	36
10.	Zones de convergence préférentielles pour Gly et ThioGly.....	36
11.	Vue stéréoscopique de la structure présentant la 1 <sup>ère</sup> zone préférentielle pour Gly.....	37
12.	Vue stéréoscopique de la structure présentant la 2 <sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.....	38
13.	Vue stéréoscopique de la structure présentant la 3 <sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.....	38
14.	Vue stéréoscopique de la structure présentant la 4 <sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.....	38
15.	Vue stéréoscopique de la structure présentant la 5 <sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.....	39
16.	Vue stéréoscopique de la structure présentant la 6 <sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.....	39
17.	Zones de convergence préférentielles pour Leu et ThioLeu.....	40
18.	Structures des différentes zones préférentielles pour Leu et Thio-Leu.	41
19.	Structure de fMLP-OMe et fML <sup>S</sup> P-OMe.....	43

## Liste des figures

---

20.	Histogrammes énergétiques des conformères minimisés pour fMLP-OMe et fML <sup>SP</sup> -OMe.....	46
21.	Liaisons hydrogène stabilisant les conformères des différentes classes obtenues pour fMLP-OMe.....	49
22.	Vues stéréoscopiques des superpositions des conformères de différentes classes obtenues pour fMLP-OMe. a) Tournant $\beta$ , b) Tournant $\gamma$ centré sur Leu, c) Tournant $\gamma$ centré sur Met, d) Double tournant $\gamma$ .....	50
23.	Vue stéréoscopique de la superposition du conformère 2, tableau 4, avec ceux de la littérature adoptant une structure en tournant $\beta$ .....	51
24.	Vue stéréoscopique de la superposition du conformère 1, tableau 4, adoptant une structure en tournant $\gamma$ centrée sur Leu avec celui de la référence [132].....	52
25.	Vues stéréoscopiques des superpositions des conformères de différentes classes obtenues pour fML <sup>SP</sup> -OMe. a) Tournant $\beta$ , b) Tournant $\gamma$ centré sur Leu, c) Tournant $\gamma$ centré sur Met, d) Double tournant $\gamma$ .....	53
26.	Schéma représentatif du modèle de la fermeture éclair « Induced fit ».....	56
27.	Structures des deux formes de l'enképhaline.....	57
28.	Structure de Leu-Enk, (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk.....	59
29.	Distributions énergétiques des conformères minimisés pour Leu-Enk, (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk.....	60
30.	Liaisons hydrogène stabilisant les conformères des différentes classes obtenues pour Leu-Enk.....	64
31.	Vues stéréoscopiques des superpositions des conformères de différentes classes obtenues pour Leu-Enk. a) Tournant $\beta$ centré sur Gly3-Phe4, b) Tournant $\gamma$ centré sur Gly3 (1 $\gamma_D$ et 2 $\gamma_L$ ), c) Structure conduisant au pseudo cycle C <sup>16</sup> et d) Tournant $\beta$ centré sur Gly2-Gly3.....	66
32.	Vue stéréoscopique de la superposition des conformères de (Thio-Gly2)-Leu-Enk avec le conformère le plus stable de Leu-Enk adoptant la structure en tournant $\beta$ centré sur Gly3-Phe4 (en noire).....	67

### Liste des abréviations

<i>Acc5</i>	<i>1-Aminocyclohexane-1-carboxylic acid</i>
<i>Acc6</i>	<i>1-Aminocyclohexane-1-carboxylic acid</i>
<i>Acc8</i>	<i>1-Aminocyclohexane-1-carboxylic acid</i>
<i>Ace</i>	<i>Acétyl</i>
<i>ACES</i>	<i>Advanced Concepts in Electronic Structure</i>
<i>ACP</i>	<i>Analyse en Composantes Principales</i>
<i>Aib</i>	<i>2-Aminoisobutyric acid</i>
<i>Ala</i>	<i>Alanine</i>
<i>AMI</i>	<i>Austin Model 1</i>
<i>AMBER</i>	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>
<i>BDP</i>	<i>Protein Data Bank</i>
<i>Boc</i>	<i>Tert-butyloxycarbonyl</i>
<i>Cha</i>	<i>Cyclohexylalanin</i>
<i>CHARMM</i>	<i>Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics</i>
<i>CNDO</i>	<i>Complete Neglect of Differential Overlap</i>
<i>DC</i>	<i>Dichroïsme Circulaire</i>
<i>DM</i>	<i>Dynamique Moléculaire</i>
<i>ECEPP</i>	<i>Empirical Conformational Energy Program for Peptides</i>
<i>fMLP-OMe</i>	<i>N-formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine-OMe</i>
<i>fMLSP-OMe</i>	<i>N-formyl-méthionyl-(thio-leucyl)-phénylalanine-OMe</i>
<i>for</i>	<i>formyl</i>
<i>GAMESS</i>	<i>General Atomic and Molecular Electronic Structure System</i>
<i>Gly</i>	<i>Glycine</i>
<i>GPI</i>	<i>Guinea-pig ileum</i>
<i>GROMOS</i>	<i>Groningen Machine for Chemical Simulations</i>
<i>ID50</i>	<i>The median infective dose</i>
<i>INDO</i>	<i>Intermediate Neglect of Differential Overlap</i>
<i>IR</i>	<i>Infra-Rouge</i>
<i>IRTF</i>	<i>Infra-Rouge par Transformée de Fourier</i>
<i>Leu</i>	<i>Leucine</i>
<i>LCAO</i>	<i>Linear Combination of Atomic Orbitals</i>

## Liste des abréviations

---

<i>Leu-Enk</i>	<i>Leucine-Enképhaline</i>
<i>MC</i>	<i>Monte-Carlo</i>
<i>Met</i>	<i>Methionine</i>
<i>MM</i>	<i>Molecular Mechanics</i>
<i>MNDO</i>	<i>Modified Neglect of Diatomic Overlap</i>
<i>MVD</i>	<i>Mouse vas deferens</i>
<i>NOE</i>	<i>Nuclear Overhauser Effect</i>
<i>PepSea</i>	<i>Peptide Search</i>
<i>Phe</i>	<i>Phenylalanine</i>
<i>PM3</i>	<i>Parametric Method 3</i>
<i>PMN</i>	<i>PolyMorphonuclear Neutrophils</i>
<i>Pro</i>	<i>Proline</i>
<i>RMN</i>	<i>Résonance Magnétique Nucléaire</i>
<i>RX</i>	<i>Rayon X</i>
<i>SEP</i>	<i>Surface de l'Energie Potentielle</i>
<i>Tyr</i>	<i>Tyrosine</i>
<i>UNRES</i>	<i>United Residue</i>
<i>UV</i>	<i>Ultra-violet</i>

### Introduction générale

Un composé chimiquement actif, qui peut être naturel (hormone, neurotransmetteur...) ou synthétique (médicament) présente son activité physiologique lorsqu'il est reconnu spécifiquement par son récepteur. Plusieurs chercheurs [1–3] ont étudié les relations entre le récepteur et le substrat, ils ont conclu que la structure tridimensionnelle de chacun d'eux joue un rôle clé dans le processus de la reconnaissance moléculaire.

Deux modèles ont été proposés pour illustrer l'interaction entre les substrats et les récepteurs, le premier est celui de la clé et la serrure, proposé en 1894 par Emil Fischer [4], où le récepteur est symbolisé par une serrure et le ligand par sa clé. Ce dernier doit être suffisamment spécifique pour interagir uniquement avec son récepteur. Le deuxième modèle est celui de l'ajustement induit « induced fit » décrit en 1958 par Koshland [5]. Dans ce cas, le ligand subit des modifications conformationnelles au cours de son interaction avec le récepteur entraînant un ajustement de ce dernier. En fait, le processus de l'interaction se déroule telle une fermeture éclair « zipper ». En se basant sur ce modèle, la structure du ligand ne sera pas obligatoirement la structure la plus stable adoptée par la molécule, car chaque structure ayant une énergie conformationnelle acceptable et possédant l'agencement spatial requis par le récepteur peut aussi avoir la capacité de provoquer la réponse physiologique souhaitée. On parle ainsi de l'espace conformationnel accessible par le ligand, et en même temps reconnaissable par le récepteur.

L'exploration de l'espace conformationnel des peptides a fait l'objet de plusieurs études ; dans lesquelles les méthodes expérimentales et théoriques ont joué un rôle majeur [6]. Les méthodes expérimentales, comme la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) et la cristallographie aux rayons X, peuvent déterminer des structures moléculaires avec une haute résolution et fournissent continuellement des données qui peuvent servir à la construction des champs de force de la mécanique moléculaire [7]. Tandis que les méthodes théoriques (ab initio, semi-empirique, mécanique moléculaire ou la dynamique moléculaire...) sont très efficaces dans la prédiction des structures les plus dominantes et l'estimation de leurs populations.

Devant l'importance de la conformation tridimensionnelle du ligand, qui est associée à sa fonction biologique, les chercheurs ont pensé à étudier les structures des composés endogènes naturels, et par la suite, synthétiser des molécules possédant des comportements structurels similaires dans le but de les utiliser comme agents thérapeutiques. Lorsque ces composés sont des peptides, l'approche est nommée « Peptidomimétisme » et s'est avérée très prometteuse dans la synthèse de nouveaux médicaments [8]. Dans ce même contexte, diverses méthodes ont été

développées pour synthétiser de nouveaux agents en introduisant des groupes spécifiques dans les peptides parents. Certains chercheurs ont choisi d'intervenir sur les chaînes latérales en imposant des contraintes stériques pour rendre la molécule plus rigide. D'autres ont préféré apporter des modifications sur le squelette peptidique. Ces modifications conformationnelles visent à donner aux dérivés peptidiques synthétisés une conformation telle que la reconnaissance par les récepteurs soit étendue. Par ailleurs, il a été souhaité de prolonger la durée de vie de ces molécules en les protégeant contre l'hydrolyse enzymatique. L'une des méthodes utilisées à cette fin est la substitution d'une ou plusieurs liaisons amide conventionnelles C=O par une ou des liaisons thioamide C=S. Parmi les peptides qui ont subi la thionation on cite : le peptide chimiotactique fMLP-OMe (N-formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine-OMe), et le peptide opiacé Leu-Enképhaline. Les tests biologiques ont révélé que l'activité biologique des analogues thionylés peut augmenter ou diminuer (par rapport à celle des peptides parents) selon la position de la fonction amide remplacée sur le squelette de la molécule.

Les études conformationnelles effectuées par les différentes techniques expérimentales (cristallographie RX, spectroscopie RMN et IR...) n'ont malheureusement pas pu donner une explication structurelle à la différence d'activité biologique entre les molécules mères (fMLP-OMe et Leu-Enképhaline) et leurs dérivés thionylés, cela est sûrement dû au fait que les différentes analyses expérimentales sont réalisées dans des milieux différents de ceux où ces peptides exercent leurs fonctions biologiques. Par conséquent, les structures expérimentales obtenues ne sont pas forcément celles susceptibles de provoquer la réponse physiologique. En revanche, les méthodes théoriques, et plus précisément la mécanique moléculaire s'est montrée extrêmement efficaces dans la prédiction des conformations natives des biomolécules et d'expliquer leur relation structure-activité [7].

En utilisant la méthode PEPSEA (Peptidic Search), basée sur la mécanique moléculaire, nous présentons dans cette thèse deux études conformationnelles comparatives : La première entre le tripeptide chimiotactique actif fMLP-OMe et son analogue thionylé au niveau de la leucine fML<sup>S</sup>P-OMe, dépourvu de toute activité biologique. La deuxième entre le pentapeptide opiacé Leu-enképhaline (H-Tyr1-Gly2-Gly3-Phe4-Leu5-OH) et ses deux analogues thionylés respectivement en positions 2 et 3, (Thio-Gly2)-Leu-Enképhaline, plus actif que la molécule mère, et (Thio-Gly3)-Leu-Enképhaline moins actif. Le but ultime est de montrer les effets de la thionation sur le comportement structural des molécules mères étudiées, et d'essayer d'expliquer la différence d'activité entre ces peptides natifs et leurs analogues thionylés. Aussi, avons-nous

voulu détecter les conformations natives des peptides chimiotactiques analogues de fMLP, et des peptides opiacés analogues de Leu-Enképhaline.

Cette thèse sera présentée comme suit :

Dans le 1<sup>er</sup> Chapitre, nous présentons une revue des méthodes expérimentales et théoriques utilisées dans l'analyse conformationnelle des peptides.

Le 2<sup>ème</sup> Chapitre est consacré à la description de la méthode d'exploration des hypersurfaces conformationnelles PEPSEA.

Le 3<sup>ème</sup> chapitre est réservé à une étude de l'effet de la thionation sur l'espace conformationnel de la N-acetyl-N'-méthyle-glycyl-amide et la N-acetyl-N'-méthyle-leucyl-amide. Ce chapitre comprend aussi l'intégration des paramètres géométriques et énergétiques des résidus thionylés N-acetyl-N'-méthyle-thio-glycyl-amide et la N-acetyl-N'-méthyle-thio-leucyl-amide dans le champ de force ECEPP/2.

Le 4<sup>ème</sup> chapitre est voué à l'analyse conformationnelle comparative du peptide chimiotactique formyl-Met-Leu-Phe-OMe et son analogue thioamide formyl-Met-Leu $\psi$ [CSNH]Phe-OMe.

Le 5<sup>ème</sup> chapitre présente l'analyse conformationnelle comparative du pentapeptide opiacé Leu-enképhaline (H-Tyr1-Gly2-Gly3-Phe4-Leu5-OH) et ses deux analogues thionylés en positions 2 ((Thio-Gly2)-Leu-Enképhaline) et 3 ((Thio-Gly3)-Leu-Enképhaline).

# Chapitre. 1 :

## Revue des méthodes d'analyse conformationnelle des protéines

### Introduction

Une protéine se compose d'une chaîne d'acides aminés adoptant, en se repliant, une structure tridimensionnelle bien définie (appelée structure native), qui est étroitement attachée à sa fonction biologique. L'identification de cette structure peut alors donner un aperçu sur le mode d'action de la molécule.

Afin d'explorer l'espace conformationnel des protéines, diverses méthodes sont développées, elles sont de deux types expérimentales et théoriques. Nous présentons dans ce chapitre, une revue de ces méthodes avec leurs avantages et leurs limites.

### **I.1 Méthodes expérimentales**

#### **I.1.1 Cristallographie aux rayons X**

La cristallographie aux rayons X est la méthode la plus utilisée dans le domaine de l'analyse conformationnelle des protéines [9]. Elle fournit souvent des informations précises et détaillées sur la distribution atomique et se présente comme un point de départ dans les études de la recherche de la relation structure-activité des biomolécules.

Bien que la cristallographie puisse déterminer les structures de molécules de masses variées, cette technique se limite strictement aux molécules qu'on peut cristalliser [10].

### **I.1.2 Résonance magnétique nucléaire RMN**

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est la meilleure technique pour étudier les macromolécules en solutions, même si des études à l'état solide sont possibles maintenant [11,12]. Comme la diffraction X, cette technique est largement utilisée pour déterminer les structures tridimensionnelles des biomolécules [13]. Elle fournit des informations précieuses telles que :

- Les constantes de couplage vicinal permettent moyennant la relation de Karplus l'accès aux valeurs des angles de torsion.
- La variation des déplacements chimiques en fonction de la température ou de la nature du solvant permet de localiser les protons impliqués dans des liaisons hydrogène.
- Les variations des intensités dues à l'irradiation sélective (NOE) fournissent des renseignements sur la distance entre deux atomes proches spatialement et non liés chimiquement.
- La détermination des temps de relaxation ( $T_1$ ) des  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  permet de fournir des informations sur le mouvement des atomes à l'intérieur d'un système moléculaire.

### **I.1.3 Spectroscopie infrarouge IR**

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est une autre technique expérimentale utilisée pour effectuer l'analyse conformationnelle des molécules peptidiques, elle peut nous renseigner sur les structures secondaires de celles-ci (hélice  $\alpha$ , feuillet  $\beta$ , tournant  $\beta$ ...) [14]. L'annexe A présente les structures secondaires les plus courantes des protéines.

### **I.1.4 Fluorescence UV**

Dans l'analyse conformationnelle des molécules biologiques, la spectroscopie de fluorescence est principalement utilisée pour étudier l'environnement immédiat des fluorophores au sein de la molécule, et cela, en mesurant les temps de vie de fluorescence, les rendements quantiques de fluorescence et les maxima d'émission. Cette technique nous renseigne aussi sur la distance intramoléculaire entre deux fluorophores, ainsi que leurs caractéristiques rotationnelles, et ce par la mesure de l'énergie de transfert de résonance et la mesure de la fluorescence anisotropique respectivement.

### **I.1.5 Dichroïsme circulaire DC**

La spectroscopie du dichroïsme circulaire est une autre technique pour étudier les conformations des macromolécules biologiques [15], elle est utilisée pour étudier les interactions des protéines en solution, les modifications conformationnelles au cours de ces interactions, ainsi que pour déterminer les structures secondaires et le mode de repliement des protéines [16,17].

Toutes les méthodes présentées ci-dessus sont complémentaires, et sont très utiles pour paramétriser les fonctions énergétiques des méthodes empiriques [15,18].

## **I.2 Méthodes théoriques**

Il existe trois types de méthodes théoriques couramment utilisées pour l'étude des propriétés conformationnelles des molécules : Les méthodes *ab initio*, les méthodes semi-empiriques et les méthodes empiriques.

Ces méthodes peuvent fournir des détails qui ne sont pas accessibles par les méthodes expérimentales citées ci-dessus. Toutefois, le choix de la méthode à utiliser est lié principalement à l'objectif du calcul et aux types de molécules à étudier. On est alors amené à ajuster certains paramètres afin de les adapter à une étude particulière.

### **I.2.1 Méthodes *ab initio***

Les méthodes *ab initio* sont purement théoriques et n'utilisent pas de données expérimentales, elles cherchent à résoudre l'équation de Schrödinger indépendante du temps :

$$H\psi = E\psi. \quad (1)$$

Une telle équation ne peut être résolue exactement que pour les systèmes simples (atome d'hydrogène, atome d'hélium et molécule d'hydrogène), pour les cas complexes on doit faire appel à un certain nombre d'outils et d'approximations : Born-Oppenheimer, en supposant que les mouvements de la partie nucléaire peuvent être séparés de ceux de la partie électronique dans la fonction d'onde, et LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals) en supposant que les orbitales moléculaires  $\psi_i$  sont exprimées comme une combinaison linéaire des orbitales atomiques  $\Phi_i$  :

$$\psi_i = \sum_{ij} C_{ij} \Phi_{ij} \quad (2)$$

L'objectif principal de ces méthodes est le calcul de l'énergie, des charges atomiques, des potentiels électroniques... Les informations obtenues sont très fiables, et présentent un niveau de précision important. Cependant, les calculs ab initio nécessitent l'utilisation de programmes informatiques performants, d'où des coûts et des temps de calcul souvent très élevés qui ne cessent d'augmenter en fonction de la taille de la molécule étudiée. L'usage de ces méthodes est alors limité aux petites molécules. Elles peuvent servir cependant à déterminer les paramètres des champs de forces de la mécanique moléculaire pour les plus grosses molécules.

Plusieurs programmes sont disponibles pour effectuer les calculs ab initio, on cite à titre d'exemples ; ACES II, GAMESS, Gaussian et MolPro [19].

### **I.2.2 Méthodes semi-empiriques**

Pour résoudre l'équation de Schrödinger (1), les méthodes semi-empiriques introduisent des paramètres prédéterminés, et ajustés de manière à reproduire les mêmes effets, dérivés des calculs ab initio et des données expérimentales, ce qui permet de négliger ou d'approximer un certain nombre d'intégrales. En tant que telles, elles réduisent les coûts élevés du temps de calcul, en particulier lorsqu'on considère des systèmes polyélectroniques. Toutefois, l'utilisation de ces méthodes est limitée aux systèmes moléculaires relativement petits (100 atomes) [19].

Les calculs semi-empiriques peuvent être exécutés sur des ordinateurs en utilisant les méthodes CNDO, INDO, MNDO, AM1, PM3 [19].

### **I.2.3 Méthodes empiriques**

Les méthodes empiriques basées sur des lois de la mécanique classique utilisent comme outils des fonctions d'énergie potentielle appelées champs de force, développées à partir des calculs ab initio et de données expérimentales. Ces fonctions sont capables de reproduire correctement les caractéristiques géométriques et le comportement conformationnel des molécules.

Les méthodes empiriques sont optimales en temps de calcul, et présentent une approche alternative et utile lorsqu'il s'agit de traiter les macromolécules en un temps de calcul court. Elles permettent de calculer l'énergie conformationnelle et de déterminer les propriétés structurales et thermodynamiques des molécules étudiées.

Il existe actuellement plusieurs programmes empiriques utilisant divers champs de forces, les plus connus sont :

- AMBER, développé par le groupe Kollman [20,21].
- CHARMM utilisant le champ de force de Karplus [22–24].
- La série de programmes MM (MM2, MM3, MM4) dont la source est le champ de force de Allinger [25–27].
- Merck [28–32].
- ECEPP utilisant le champ de force de Scheraga permettant d'étudier exclusivement les molécules peptidiques [33–35]. (L'annexe B présente plus de détails sur ECEPP/2).

On distingue deux types de champs de forces ; les champs de force à géométrie flexible, et les champs de force à géométrie rigide.

Dans le 1<sup>er</sup> type, toutes les sortes d'interactions sont prises en compte et l'énergie conformationnelle totale se présente sous la forme de la somme des énergies potentielles de ces interactions spécifiques (élongation, déformation angulaire, torsion, Van der Waals et électrostatique) :

$$\sum E_{tot} = \sum E_{élo} + \sum E_{d.a} + \sum E_{tor} + \sum E_{vdw} + \sum E_{éle} \quad (3)$$

$\sum E_{élo}$  : le terme d'énergie potentielle d'élongation.

$\sum E_{d.a}$  : le terme d'énergie potentielle de déformation angulaire.

$\sum E_{tor}$  : le terme d'énergie potentielle de torsion (ou dièdres).

$\sum E_{vdw}$  : le terme d'interactions de Van der Waals (Lennard-Jones).

$\sum E_{éle}$  : le terme d'énergie électrostatique (ou de Coulomb).

Les champs de force à géométrie rigide quant à eux attribuent des valeurs fixes prédéterminées expérimentalement aux longueurs de liaison et aux angles de valence. Ceci permet de négliger les termes d'élongation et de déformation angulaire et de diminuer ainsi le nombre de variables.

Pour exprimer l'énergie conformationnelle totale de la molécule, cette catégorie de champs de force se limite aux trois termes ; l'énergie de torsion, l'énergie de Van der Waals et l'énergie électrostatique:

$$\sum E_{tot} = \sum E_{tor} + \sum E_{vdw} + \sum E_{éle} \quad (4)$$

Notons que le terme exprimant l'énergie des liaisons hydrogène dans les deux types de champs de force est souvent inclus dans le terme d'énergie de Van der Waals.

Le programme PEPSEA utilisé dans la présente étude utilise le champ de force à géométrie rigide ECEPP/2 (Empirical Conformational Energy Program for Peptides). Le nombre de degrés de liberté est réduit, ce qui permet l'étude des systèmes moléculaires dans l'espace des angles dièdres.

Plusieurs auteurs [35–39] ont étudié les effets de la flexibilité structurelle sur les surfaces de l'énergie potentielle pour les deux types de champs de force. De ces études, il s'est avéré que lorsqu'il s'agit de grandes molécules, les différences entre les deux types de champs de force sont négligeables. Bordner et al. [36] ont confirmé que la géométrie rigide n'affecte pas les positions générales des minima énergétiques, Piela et al. [38,39] ont démontré de leur part que les changements de la géométrie moléculaire sont contrôlés par les variables de torsion, alors que celles d'élongation et de déformation angulaire n'ont pas une grande influence sur la valeur de l'énergie, ils ont ajouté que les géométries d'équilibre obtenues dans les deux catégories de champs de force ne diffèrent pas beaucoup.

### **I.3 Le problème de minima multiples et les méthodes d'exploration des hypersurfaces conformationnelles**

#### **I.3.1 Le problème de minima multiples**

Le besoin de simuler par ordinateur les comportements conformationnels des molécules a permis aux méthodes de la mécanique moléculaire de voir le jour. Leur utilisation a connu un grand développement et sont devenues les méthodes de choix pour étudier les systèmes biomoléculaires [40].

Le but ultime de ces méthodes consiste à trouver les conformations de plus basses énergies, pour cela, un calcul d'énergie suivi d'une minimisation sont alors effectués sur des structures de départ approximatives, pour converger vers les minima les plus proches (minima locaux). Il n'existe malheureusement aucune procédure de minimisation qui permet de trouver le minimum global (la conformation la plus stable). En plus, le nombre de minima locaux augmente d'une façon exponentielle avec la taille du système [41]. Ce qui génère le problème de minima multiples qui limite l'efficacité de ces méthodes à déterminer les relations structure-activité.

La figure 1 présente une illustration d'une courbe de l'énergie potentielle en fonction d'un degré de liberté (un angle dièdre), le minimum global et les minimums locaux sont montrés.

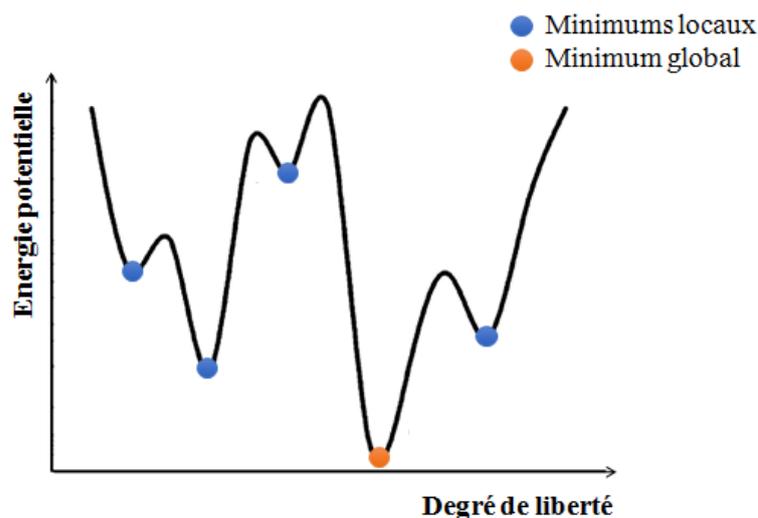


Figure 1 : Illustration d'une courbe d'énergie potentielle en fonction d'un degré de liberté.

Pour résoudre ce problème de minima multiples et mieux explorer les espaces conformationnels des biomolécules, plusieurs méthodes ont été développées.

### I.3.2 Les méthodes d'exploration des hypersurfaces conformationnelles

Il existe trois grandes catégories des méthodes d'exploration des hypersurfaces conformationnelles : les méthodes de recherche systématiques, la méthode dynamique et les méthodes Monte Carlo.

#### I.3.2.1 Les méthodes de recherche systématique

##### I.3.2.1.1 La méthode de balayage systématique (Grid Scan)

Dans un champ de force à géométrie rigide, la démarche de la méthode de balayage consiste à faire varier d'une façon systématique chacun des angles dièdres de la molécule d'un certain incrément. Elle permet de localiser les minima d'une structure sans faire appel aux procédures de minimisation nécessitant le calcul de la dérivée de la fonction énergétique. Pour cette raison, on lui donne le nom de la méthode de minimisation d'ordre zéro.

Des études ont été effectuées pour déterminer les incréments qui doivent être choisis, les travaux de Lipton et Still [42] sur les composés organiques ont montré que l'incrément  $60^\circ$  peut générer toutes les possibilités conformationnelles, ils ont aussi proposé l'incrément  $120^\circ$  pour le type  $(R_1-C_{sp^3}-C_{sp^3}-R_2)$  et  $60^\circ$  pour  $(R_1-C_{sp^3}-C_{sp^2}-R_2)$  et  $(R_1-C_{sp^3}-\text{hétéroatome}-R_2)$ .

Pour les molécules peptidiques, et en se référant à des bases de données de protéines, Ponder et Richards [43] ont proposé des valeurs fixes pour les angles dièdres des chaînes latérales des acides aminés ( $\chi_1, \chi_2, \dots$ ). Cependant, pour les angles de chaîne principale Phi ( $\varphi$ ) et Psi ( $\psi$ ) une variation systématique s'est avérée nécessaire.

Plus l'incrément est petit, plus l'espace conformationnel est mieux exploré et toutes les possibilités conformationnelles sont générées. L'inconvénient majeur des méthodes systématiques réside dans le fait qu'elles nécessitent des stratégies avec lesquelles le grand nombre de conformères sera trié et les minima locaux localisés, pour arriver à des résultats fiables et concluants. Effectivement, le nombre de combinaisons ne cesse d'augmenter avec le nombre de degrés de liberté : Pour un système moléculaire à 3 degrés de liberté et en choisissant l'incrément  $60^\circ$ , la procédure de recherche générera 216 ( $6^3$ ) conformations. Pour 6 degrés de liberté, ce nombre augmente à 46656 conformations, et pour 9, il dépassera 10 millions de conformations. Pratiquement, les systèmes moléculaires qui peuvent être analysés par la méthode de balayage sont ceux dont les conformères dépendent d'un maximum de 15 angles dièdres [44].

Étant donné la minutie avec laquelle cette méthode explore les hypersurfaces conformationnelles, et dans le but de l'adapter pour permettre l'étude de systèmes moléculaires importants, plusieurs améliorations ont été proposées : White et Kitson [45] ont suggéré de ne pas lancer la recherche sur toute la grille de valeurs des angles dièdres, mais, de cibler une zone précise de la surface conformationnelle (les zones préférentielles des cartes de Ramachandran). D'autres chercheurs [46] ont préféré de faire la recherche tout en fixant l'énergie, les liaisons, ou les angles dièdres dans un intervalle bien déterminé, pour cela, un algorithme doit être utilisé pour trouver les coordonnées atomiques qui satisfont les limites de cet intervalle.

#### I.3.2.1.2 Le protocole d'enchaînement (Build-up)

La méthode d'enchaînement est une autre méthode proposée pour explorer les hypersurfaces conformationnelles et chercher les minima de la fonction énergie potentielle des macromolécules. Contrairement à la méthode précédente, elle peut traiter les biomolécules possédant plusieurs degrés de liberté en un nombre fini d'étapes, elle s'appuie sur le fait que les structures moléculaires relèvent surtout des interactions à courte distance [47].

L'approche consiste à diviser la molécule peptidique en fragments, puis effectuer une minimisation individuelle pour trouver les conformations stables de chaque résidu à la fois.

Ensuite, on combine les minima des deux premiers résidus et on effectue une minimisation pour trouver les structures stables de la molécule dipeptidique. Après, ces derniers sont combinés aux minima du 3<sup>ème</sup> résidu et minimisés à nouveau pour trouver les minima qui seront combinés à ceux du 4<sup>ème</sup> résidu, et ainsi de suite jusqu'à ce que toute la molécule sera construite.

La méthode « Build-up » est facile à mettre en œuvre, cependant, on lui reproche le fait de rejeter des conformères considérés instables au cours du processus d'enchaînement, alors qu'ils auraient pu former des conformations stabilisées par des interactions à longues distances (tournant  $\beta$ , hélice  $\alpha$ ...). En conséquence, avec cette méthode l'espace conformationnel n'est pas exploré au complet.

### I.3.2.2 La méthode dynamique

Puisque les systèmes moléculaires sont toujours en mouvement, la méthode dynamique est très utile, car elle permet d'observer comment les positions des atomes évoluent au cours du temps, et cela en simulant leur trajectoire [48]. La molécule est assimilée à une masse en mouvement, où chaque atome interagit avec les atomes voisins en respectant une fonction d'énergie potentielle, l'approche consiste à résoudre les équations du mouvement de Newton pour le groupe d'atomes du système [49].

Pour faire une étude dynamique d'un système moléculaire, on doit :

- Choisir une structure de départ, ce qui revient à définir l'ensemble de valeurs initiales des coordonnées de chaque atome du système. Souvent, c'est une structure de la PDB (The Protein Data Bank) déduite de la cristallographie aux rayons X ou de la spectroscopie RMN, ou bien une structure minimisée déduite de l'analyse conformationnelle.
- Donner aux différents atomes de la molécule une vitesse initiale, et ce en fixant la température de la simulation. Ces vitesses doivent vérifier à chaque instant la relation :

$$3Nk_B T = \sum_{i=1}^N m_i \langle v_i \rangle^2 \quad (5)$$

N : Nombre d'atomes.

$k_B$  : Constante de Boltzmann.

T : Température instantanée en Kelvin.

$m_i$  : Masse de l'atome i.

$\langle v_i \rangle^2$  : Vitesse moyenne de l'atome i.

- Choisir une fonction potentielle  $V(r_1, \dots, r_n)$  qui permet d'évaluer la variation de l'énergie potentielle en fonction des coordonnées atomiques. Cette fonction d'énergie est généralement définie d'après un champ de force de la mécanique moléculaire [50], elle permet le calcul de la composante de la force exercée sur chaque atome, et accéder par la suite à son accélération.

$$\vec{F}_i = -\frac{\partial V}{\partial \vec{r}} \quad (6)$$

Où  $\vec{F}_i$  représente la force exercée sur l'atome  $i$ , et  $V$  est l'énergie potentielle du système.

$\vec{F}_i$  est proportionnelle à l'accélération  $\vec{a}_i$  (la deuxième loi de Newton), qui est à son tour proportionnelle à la vitesse de l'atome  $\vec{v}_i$  et à sa position  $\vec{r}_i$ .

$$\vec{F}_i = m_i \cdot \vec{a}_i = m_i \frac{\partial \vec{v}_i}{\partial t} = m_i \frac{\partial^2 \vec{r}_i}{\partial t^2} \quad (7)$$

En associant les deux équations (6) et (7) on obtient :

$$\vec{F}_i = -\frac{\partial V}{\partial \vec{r}} = m_i \cdot \vec{a}_i = m_i \frac{\partial \vec{v}_i}{\partial t} = m_i \frac{\partial^2 \vec{r}_i}{\partial t^2} \quad (8)$$

En supposant que les atomes aient un mouvement uniformément varié, donc l'accélération est constante:

$$\frac{\vec{F}}{m} = a_0 = \frac{\partial \vec{v}}{\partial t} = \frac{\partial^2 \vec{r}}{\partial t^2} = Cte \quad (9)$$

Les intégrations de ces équations décrivent les vitesses et les positions des particules en fonction du temps.

L'expression de la vitesse en fonction du temps est :

$$\vec{v}(t) = a_0 t + \vec{v}_0 \quad (10)$$

( $\vec{v}_0$  est la vitesse initiale de l'atome)

L'expression de la position en fonction du temps est :

$$\vec{r}(t) = \frac{1}{2} a_0 t^2 + v_0 t + \vec{r}_0 \quad (11)$$

( $\vec{r}_0$  est la position initiale de l'atome)

Les intégrations des équations classiques de mouvement sont effectuées étape par étape sur des intervalles de temps  $\Delta t$  :

L'idée générale est que le temps peut être subdivisé en une série d'intervalles séparés par un pas  $\Delta t$ , ensuite la position  $r(t)$  et la vitesse  $v(t)$  de chaque atome sont calculées aux temps  $t$ , puis elles sont utilisées pour trouver les nouvelles coordonnées et vitesses après chaque pas de temps  $\Delta t$ .

De cette façon, on peut suivre le mouvement des atomes en fonction du temps. À la fin de la 1<sup>ère</sup> période, il suffit de substituer  $t$  par  $(\Delta t)$  dans les équations de la vitesse et de la position précédentes (10) et (11):

$$\vec{v}_1(\Delta t) = a_0 \Delta t + \vec{v}_0 \quad (12)$$

$$\vec{r}_1(\Delta t) = \frac{1}{2} a_0 \Delta t^2 + v_0 \Delta t + \vec{r}_0 \quad (13)$$

Par récurrence, les équations correspondantes à la n<sup>ème</sup> période sont :

$$\vec{v}_n(\Delta t) = a_{n-1} \Delta t + \vec{v}_{n-1} \quad (14)$$

$$\vec{r}_n(\Delta t) = \frac{1}{2} a_{n-1} \Delta t^2 + v_{n-1} \Delta t + \vec{r}_{n-1} \quad (15)$$

L'accélération  $a_{n-1}$  est déterminée à partir de la relation :

$$m_i \cdot \vec{a}_{n-1} = - \frac{\partial V}{\partial r_{n-1}} \quad (16)$$

Alors que  $\vec{v}_{n-1}$  et  $\vec{r}_{n-1}$  sont les résultats des équations de la (n-1)<sup>ème</sup> période.

Selon cette méthode itérative, la position des atomes peut être calculée à chaque période jusqu'à la fin du temps prévu pour la simulation dynamique, généralement entre 10 et 200 picosecondes. Ensuite, on trace soit la trajectoire d'un atome, soit la variation d'un angle dièdre en fonction du temps.

L'intervalle de temps typique  $\Delta t$  ne doit pas dépasser quelques femtosecondes ( $10^{-15}$  s). Cette valeur doit être d'une part assez petite pour que la force  $\vec{F}$  exercée sur l'atome reste figée durant la période de simulation (car elle peut changer continuellement avec le mouvement des particules), d'autre part elle doit être inférieure à la fréquence de vibration la plus grande dans le système (le mouvement le plus rapide) [51].

Plusieurs algorithmes ont été conçus pour intégrer les équations du mouvement. Les plus connus sont : Verlet [52,53], Leap-frog [54,55] et Beemann [53,56]. Leur performance est évaluée par leur capacité à répondre au principe de conservation de l'énergie (l'énergie mécanique est conservée :  $E_m = E_c + E_p = Cte$ ).

La dynamique moléculaire est un outil précieux dans le domaine de l'exploration des hypersurfaces conformationnelles, elle nous permet de produire des simulations sur des systèmes de différentes tailles (qui peuvent atteindre celle des macromolécules biologiques). Ceci permet de comprendre le mode de repliement des protéines [57]. Toutefois, l'utilisation de la méthode pour étudier les biomolécules et déterminer leurs préférences conformationnelles nécessite la simulation de longues trajectoires. Même avec des ordinateurs performants, ça demande un temps énorme de calcul [51].

Une autre limite de la technique dynamique c'est qu'elle n'explore qu'une partie de l'hypersurface, au voisinage de la conformation initiale. En effet, toutes les transitions et toutes les fluctuations qui peuvent avoir lieu sont limitées aux états accessibles à la température fixée pour la simulation. Elles sont dues essentiellement à la conversion spontanée de l'énergie potentielle en énergie cinétique et inversement, car une augmentation de température implique une énergie cinétique des atomes élevée qui permet de franchir des barrières énergétiques importantes [51].

Des stratégies ont été proposées pour surmonter ces problèmes. Suite à une étude sur la meilleure façon d'explorer dynamiquement les hypersurfaces conformationnelles, Brooks [22] a suggéré la génération d'un nombre assez important de conformères de départ et de minimiser leur énergie conformationnelle. Les structures résultantes sont ensuite utilisées comme points de départ des simulations dynamiques de 1 ns à 600 K. À la fin de cette étape, un refroidissement ou une minimisation est nécessaire pour les faire converger vers des minima.

### **I.3.2.3 Les méthodes Monte Carlo**

L'énergie d'une conformation est calculée en utilisant un champ de force bien déterminé. La minimisation de cette énergie nous permet de déduire les propriétés conformationnelles, tandis que les propriétés thermodynamiques sont décrites par le biais de la mécanique stochastique (la probabilité d'existence d'une conformation particulière).

Alors que la méthode de dynamique moléculaire suit l'évolution du système de manière déterministe, où l'état futur du système est prédit à partir de son état actuel, la méthode Monte Carlo est une méthode dite stochastique où les structures sont générées d'une façon aléatoire idéale pour étudier les systèmes fluctuants, l'ensemble de conformations générées doit être raisonnable et suffisant (quelques millions) [58].

Le calcul de la valeur moyenne d'une propriété  $X$  se fait en utilisant l'équation :

$$\langle X \rangle = \frac{\sum_i X_i \exp \frac{-E_i}{k_B T}}{\sum_i \exp \frac{-E_i}{k_B T}} \quad (17)$$

$X_i$  désigne une propriété d'une certaine conformation  $i$ , qui peut être par exemple la distance entre les deux extrémités, ou bien l'énergie d'hydratation dans une solution... de la conformation  $i$ .  $E_i$  est la valeur de l'énergie de la conformation  $i$ .  $k_B$  est la constante de Boltzmann et  $T$  est la température du système.

Une génération aléatoire de conformations permet d'obtenir des structures trop énergétiques qui ne doivent pas contribuer significativement dans la mesure de la propriété  $X$ . D'un point de vue mathématique, le facteur de Boltzmann «  $\exp \frac{-E_i}{k_B T}$  » permet ceci. En effet, à une température bien déterminée si la valeur de l'énergie  $E_i$  est élevée, le terme «  $\exp \frac{-E_i}{k_B T}$  » va tendre vers zéro, ce qui diminue la contribution de cette conformation dans la mesure de la propriété  $X$ .

Historiquement, la méthode Monte Carlo fut développée à la fin de la Seconde Guerre mondiale par Métropolis et Ulam [59], leur but était l'étude de la diffusion des neutrons dans un matériau fissile. L'introduction pour la première fois du facteur de Boltzmann a été réalisée en 1953 par Métropolis et al. [60], et ce, pour réaliser des simulations sur des états énergétiques dispersés d'un système liquide. Suite à cette étude, il s'est avéré que le facteur de Boltzmann leur a permis de rejeter des conformations défavorables et de ne considérer que les états énergétiques accessibles par le système [61].

#### I.3.2.3.1 La méthode Monte Carlo Métropolis

Cette méthode ne diffère de la méthode Monte Carlo classique que par la façon d'échantillonner, elle permet de déterminer la distribution des états énergétiques des systèmes étudiés à l'équilibre et à une température donnée.

Le principe de la méthode est la sélection aléatoire d'une série d'angles dièdres pour une conformation initiale donnée  $i$ , dont on calcule son énergie  $E_i$ . Puis on fait varier la valeur d'un seul angle dièdre choisi aléatoirement et on recalcule l'énergie de la nouvelle conformation  $E_j$ . Cette dernière sera acceptée si son énergie est plus petite que la précédente ( $\Delta E = E_j - E_i < 0$ ), le processus itératif est alors poursuivi en prenant la nouvelle conformation comme structure de départ et en choisissant au hasard, pour la variation, un autre angle. Dans le cas où  $\Delta E > 0$ , le facteur de Boltzmann «  $P = \exp\frac{-\Delta E}{RT}$  » est calculé, puis comparé à un nombre aléatoire  $H$  compris entre zéro et un, si le facteur de Boltzmann est supérieur ( $P > H$ ), la nouvelle conformation est acceptée pour être utilisée, sinon, c'est la conformation précédente qui sera maintenue.

Le facteur  $P$  est la probabilité de la transition d'un état conformationnel  $i$  à un autre  $j$  de plus grande énergie, il dépend uniquement de la température du système  $T$ , et de la différence d'énergie entre les deux états  $\Delta E = E_j - E_i$ .

Les applications les plus fréquentes de la méthode Monte Carlo Métropolis ont été effectuées pour étudier les systèmes liquides [62]. Néanmoins, ses applications sur les biomolécules ont révélé que la méthode doit être combinée à la méthode dynamique [63,64].

Les inconvénients majeurs de la méthode Monte Carlo Métropolis dans l'étude des macromolécules résident d'une part dans son inefficacité à traiter les systèmes flexibles, contenant un grand nombre de degrés de liberté, et d'autre part dans le faible pourcentage de transition (d'acceptation), à cause des fortes barrières énergétiques à franchir [65].

### I.3.2.3.2 Le recuit simulé

La méthode du recuit simulé exploite intelligemment le facteur température artificielle, utilisé par la méthode Monte Carlo Métropolis. Elle est le fruit des travaux de Kirkpatrick et al. [66] publiés dans la revue Science. Dans cette méthode, on commence par la génération d'une conformation arbitraire, et on fixe une température élevée permettant de surmonter les barrières énergétiques importantes et d'explorer un espace conformationnel plus large. Une température finale est aussi fixée, ainsi que le nombre de transitions permises à chaque température. Lorsque ce nombre est atteint, on juge qu'on est à l'équilibre thermique, on baisse alors la température progressivement pour explorer les conformations d'énergies décroissantes. Ce processus est répété tant que la température finale n'est pas atteinte.

Une transition d'une conformation  $i$  à une conformation  $j$  n'est acceptée que si :

- $E_j < E_i$
- Ou  $E_j > E_i$  mais, un nombre aléatoire  $H$  choisi au hasard et compris entre zéro et un, est inférieur au facteur de Boltzmann (critère de Métropolis).

En résumé, avant de commencer la simulation, certains paramètres de base doivent être fixés par l'utilisateur :

- Une température initiale  $T_0$  et une température finale  $T_f$ . La température  $T_0$  doit être bien choisie afin de permettre un nombre important de transitions, sans une demande excessive du temps de calcul.
- Un nombre de degrés de liberté, qui permet de passer d'une conformation à une autre. La probabilité d'accepter une transition baisse avec ce nombre, et une transition refusée implique un temps perdu.
- Un schéma de refroidissement doit être bien choisi, parce qu'une baisse rapide de la température entraîne une exploration restreinte de l'hypersurface conformationnelle.
- Un nombre de tentatives de transitions entre les états énergétiques, pour chaque palier de température, ce nombre est choisi pour qu'il soit proportionnel au nombre de degrés de liberté du système moléculaire étudié.

La figure 2 montre un organigramme expliquant les étapes d'une simulation de recuit simulé :

Les résultats de plusieurs travaux [67–69] ont montré la rapidité et la grande efficacité de la méthode à traiter les systèmes flexibles.

Agostini et al. [70] ont appliqué la méthode de recuit simulé pour explorer l'espace conformationnel de la 18-alanine, ils ont trouvé que le minimum global correspond à une structure en hélice  $\alpha$ , ils ont déterminé en plus, les étapes de pliage entre la structure de départ et cette forme hélice. Ces étapes sont présentées à la figure 3.

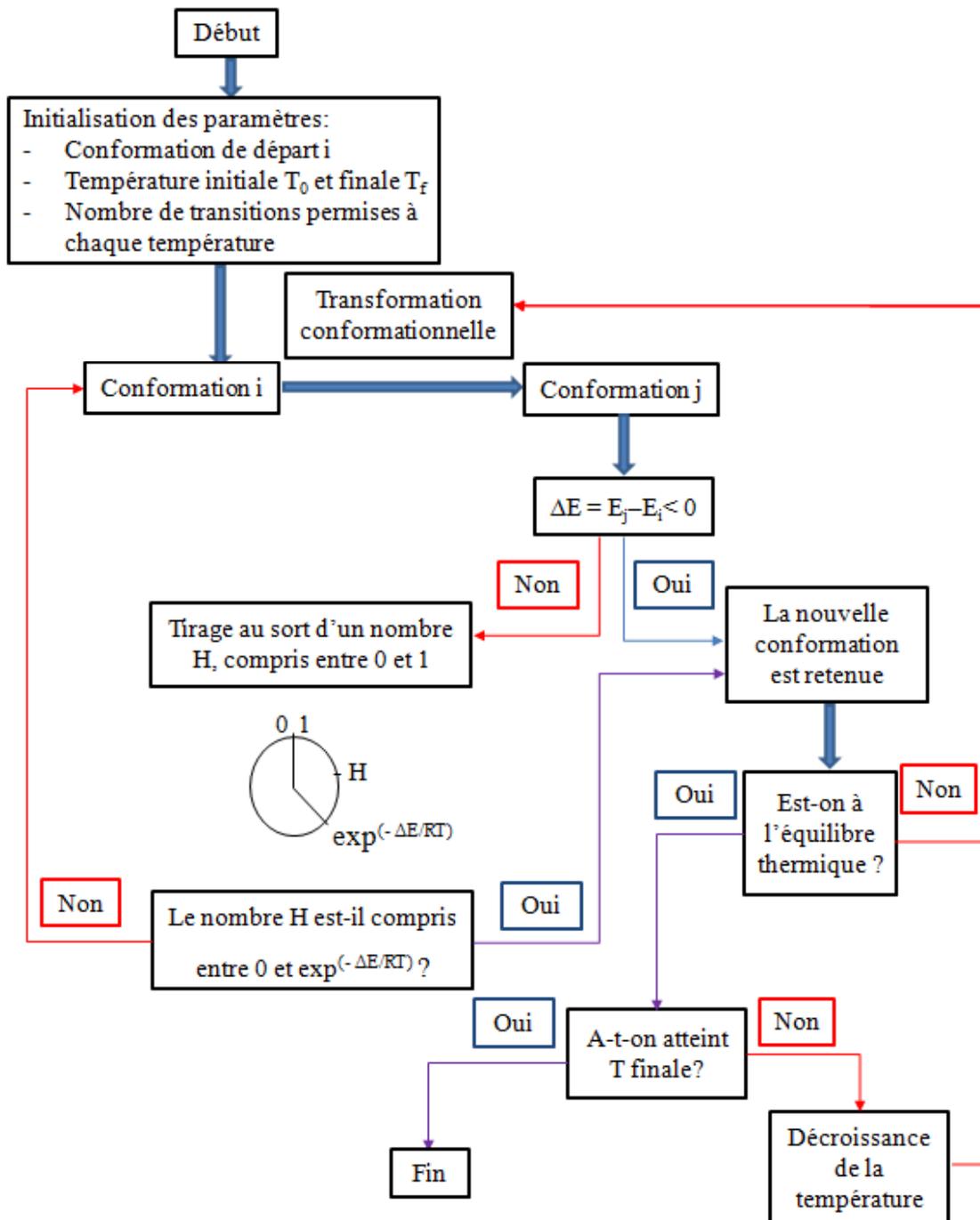


Figure 2 : Organigramme expliquant les étapes d'une simulation de recuit simulé [71].



Figure 3 : Séquence d'étapes majeures du pliage de la 18-alanine [70].

### I.3.2.3.3 La méthode Monte Carlo Métropolis avec minimisation

La méthode Monte Carlo Métropolis avec minimisation est basée sur la mécanique classique et la mécanique statistique, elle a été développée en 1987 par Li et Scheraga [72], leur but était de surmonter le problème des minima multiples et localiser le minimum global pour le pentapeptide Met-enképhaline. En combinant à la fois le pouvoir conventionnel de la minimisation (pour détecter les minima du système moléculaire), et la méthode Monte Carlo Métropolis (pour passer d'un minimum à un autre), les deux auteurs ont pu localiser le minimum énergétique global de la molécule. Avec cette méthode, ils supposent que dans la nature le réarrangement d'une molécule suit un processus de Markov conduisant à un seul état final, qui correspond à la structure native de la molécule.

Le principe de cette méthode est quasiment le même que celui de Monte Carlo Métropolis, la seule différence consiste à effectuer une minimisation chaque fois que la nouvelle conformation est acceptée (selon les deux critères :  $\Delta E < 0$ , et  $\Delta E > 0$  avec  $H < P$ ), pour détecter un minimum. Ce processus permet à la molécule de réaliser des fluctuations pour passer d'un minimum à un autre. Dans le cas où  $\Delta E > 0$  et  $H < P$ , c'est comme si on fournit à la molécule une énergie d'activation afin d'effectuer une transition vers un état énergétique plus haut, et après minimisation converger vers un minimum plus bas.

L'introduction de la minimisation sur la méthode Monte Carlo Métropolis n'a pas résolu le problème de faible pourcentage d'acceptation, qui limite l'exploration de l'espace conformationnel à une partie locale au voisinage des structures de départ. Cette incapacité à explorer la totalité de l'hypersurface conformationnelle est due principalement à la température qui reste fixée au cours de la simulation, et aussi aux barrières énergétiques élevées.

Scheraga et Li [72] ont étudié le pourcentage d'acceptation en fonction des degrés de liberté (angles dièdres) changés après chaque itération. Cette étude a révélé que la variation d'un seul degré de liberté conduit à un pourcentage d'acceptation de 45 %, alors que ce pourcentage diminue à environ 20 % en variant deux angles dièdres de la molécule. Une telle diminution est une preuve que la méthode n'explore qu'une partie locale de l'hypersurface conformationnelle.

#### **I.3.2.4 La méthode PEPSEA (Peptide Search)**

Chacune des méthodes citées précédemment a ses propres limites et défauts : les méthodes de recherche systématique se limitent aux systèmes moléculaires ayant 10 à 15 degrés de liberté maximum. La méthode dynamique ne peut pas effectuer des simulations de longues trajectoires, car ça demande un temps énorme de calcul. Les méthodes Monte Carlo quant à elles sont soit difficiles à mettre en œuvre, soit focalisent l'exploration sur des régions voisines de la conformation de départ.

Ces limitations ont amené l'équipe du laboratoire de la chimie structurale de l'université Sherbrooke [73] à développer la méthode PEPSEA, qui, au lieu de s'intéresser à la recherche du minimum global d'une molécule, elle se fixe sur l'étude et l'examen des différentes distributions conformationnelles préférées par celle-ci, pour en déduire les propriétés conformationnelles et thermodynamiques.

Le but de la méthode PEPSEA est d'explorer le plus complètement possible l'espace conformationnel des systèmes moléculaires. Son principe consiste à générer aléatoirement des conformères, dont on calcul l'énergie conformationnelle en utilisant le champ de force ECEPP/2. Ensuite, cette énergie va subir une minimisation en utilisant l'algorithme du gradient conjugué [74]. Sur la population ainsi obtenue, une méthode basée sur les lois de la mécanique statistique est appliquée pour permettre l'accès aux propriétés thermodynamiques de la molécule.

Étant donné la mise en œuvre facile de cette méthode et son exploration globale des hypersurfaces conformationnelles, nous l'avons choisie pour effectuer des études comparatives entre des peptides parents endogènes et leurs analogues thionylés.

## Chapitre. 2 :

# Description de la méthode d'exploration des hypersurfaces conformationnelles PEPSEA

### Introduction

La méthode d'exploration des hypersurfaces conformationnelles PEPSEA utilisée dans cette thèse, a été développée par Michel et al. [73] au laboratoire de chimie structurale de l'université de Sherbrooke. Son principe est basé sur le fait que les propriétés structurales, statistiques et thermodynamiques d'un système ne peuvent être déduites qu'à partir d'une population représentant son espace conformationnel. Son objectif essentiel est la génération des différentes distributions conformationnelles sur lesquels des études statistiques pourront être appliquées.

En effet, cette méthode consiste dans un premier temps à générer un nombre important et suffisant de conformations (qui dépend du nombre de degrés de liberté) du système à étudier. Ensuite, des minimisations de leurs énergies conformationnelles sont effectuées afin de réaliser un bon échantillonnage de l'hypersurface conformationnelle. Après, des méthodes d'analyse de mécanique statistique sont appliquées sur la population résultante pour recueillir les informations structurales et thermodynamiques.

Depuis le développement de la méthode en 1990, elle a montré sa grande efficacité dans l'analyse conformationnelle et la recherche de la relation structure-activité de plusieurs molécules peptidiques [75–85].

## II.1 Les principes de la méthode PEPSEA

L'analyse conformationnelle d'une molécule peptidique par la méthode PEPSEA est effectuée en cinq étapes consécutives :

Dans la 1<sup>ère</sup> étape, on génère aléatoirement une population de conformations, et cela, en faisant attribuer aux différents angles dièdres de la molécule, susceptibles de varier, des valeurs comprises entre  $-180^\circ$  et  $+180^\circ$ . Le nombre de conformères de départ générés dépend essentiellement du nombre d'acides aminés de la molécule et de sa flexibilité.

La 2<sup>ème</sup> étape consiste à calculer l'énergie conformationnelle de ces conformères de départ. Le champ de force à géométrie rigide ECEPP/2 est utilisé à cette fin.

En 3<sup>ème</sup> étape, ces énergies sont minimisées en utilisant l'algorithme du gradient conjugué [74]. Cet algorithme permet de trouver la série d'angles dièdres qui vont annuler les composantes du vecteur dérivée première de l'énergie conformationnelle, et cela, par rapport aux angles spécifiés par l'utilisateur. Le nombre d'itérations n'est pas fixe, et le processus de minimisation s'arrête lorsque la valeur du module de la dérivée première de l'énergie conformationnelle devient inférieure à la valeur  $10^{-4}$ .

À la 4<sup>ème</sup> étape, on classe les conformères par ordre croissant de l'énergie conformationnelle, les plus stables sont sélectionnés, puis on construit pour chacun d'eux la matrice des dérivées secondes ( $F_i$ ), le déterminant de cette dernière nous permet d'accéder à l'énergie libre ( $G_i$ ) de chacun des conformères [86].

La 5<sup>ème</sup> étape consiste à calculer les énergies relatives de chaque conformère par rapport au minimum global (conformère ayant la plus petite valeur de l'énergie conformationnelle). L'analyse conformationnelle de cette population est ensuite effectuée en tenant compte du facteur entropique.

## II.2 La structure du programme PEPSEA

La structure du programme PEPSEA est représentée dans la figure 4, il exécute plusieurs tâches en introduisant l'un des codes numériques 1, 2, 3 ou 4 :

- Par l'utilisation du code 1, le programme calcule l'énergie conformationnelle d'une ou de plusieurs conformations spécifiées par l'utilisateur.

- Avec le code 2, une génération aléatoire de plusieurs conformations est effectuée en utilisant la routine « RANDOM », ces conformations sont par la suite minimisées par la routine « MINIMIZE ».
- L'introduction du code 3 permet de minimiser des conformations spécifiées par l'utilisateur.
- Le code 4 permet de faire la même tâche que celle lorsqu'on introduit le code 3, sauf que cette fois, les composantes de la matrice Hessienne au voisinage des minima sont calculées. Le déterminant de cette matrice servira au calcul des paramètres thermodynamiques des conformères.

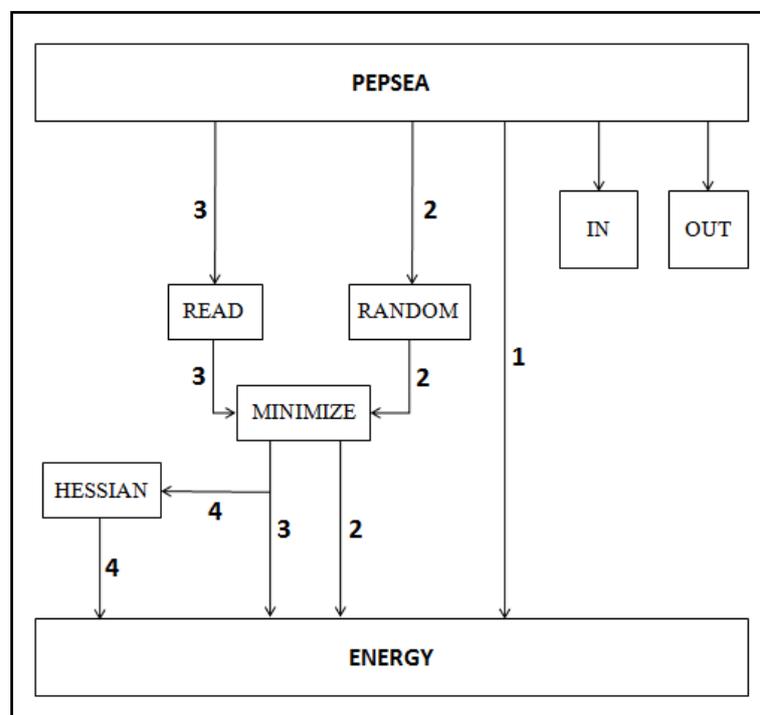


Figure 4 : Structure du programme PEPSEA [71].

Le programme PEPSEA est écrit en FORTRAN 77 et tourne sur un ordinateur HP pro-Intel (R) Core(TM) i3-3240 CPU @ 3.40 GHz à la faculté des sciences et techniques de Fès.

### II.3 Le champ de force ECEPP/2

Le champ de force utilisé par le programme PEPSEA est appelé ECEPP/2, il a été développé par Momany et al. [33] spécifiquement pour la modélisation des peptides dans le cadre de la mécanique moléculaire. La famille de champs de force ECEPP a été continuellement affinée

jusqu'à l'année 2009, il est bien adapté pour l'étude de la structure tridimensionnelle et du repliement des protéines [35,87–89].

Afin de calculer et minimiser l'énergie conformationnelle d'une molécule peptidique, le champ de force ECEPP/2 adopte une géométrie rigide, les longueurs et les angles de liaison sont ainsi fixés à des valeurs prédéterminées à partir des études cristallines pour chaque résidu, et l'énergie totale de la molécule est représentée par la somme des quatre contributions suivantes :

$$E_{tot} = E_{vdw} + E_{\acute{e}le} + E_{hb} + E_{tor} \quad (18)$$

- $E_{vdw}$  est l'énergie de Van der Waals : c'est l'énergie entre atomes non liés, elle est estimée par le potentiel '6-12' de Lennard-Jones où le potentiel '6' représente le terme attractif, et le potentiel '12' est le terme répulsif.
- $E_{\acute{e}le}$  représente l'énergie d'interaction électrostatique, calculée selon la formule classique de l'interaction coulombienne entre deux charges séparées par une distance.
- $E_{hb}$  symbolise le potentiel des liaisons hydrogène qui jouent un rôle très important dans les structures des peptides. Elles entraînent la formation de plusieurs structures caractéristiques de très grande stabilité comme les hélices  $\alpha$ , tournants  $\beta$ , tournants  $\gamma$ ... (Annexe A). Dans le champ de force ECEPP/2, les interactions entre les hydrogènes H-O et H-N d'une part, et les accepteurs N et O d'autre part, sont représentées par une fonction '10-12'. Il est à noter que ce terme ne représente pas à lui seul l'énergie de formation d'une liaison hydrogène, mais il est seulement l'une de ses composantes. Les autres composantes sont incluses dans les potentiels électrostatiques et les termes de Van der Waals.
- $E_{tor}$  exprime l'énergie de torsion calculée à partir d'une fonction sinusoïdale. Cette contribution dépend de la hauteur de la barrière énergétique, de sa symétrie et de la valeur des angles de torsion.

L'annexe B présente les expressions détaillées de ces contributions énergétiques.

## II.4 La minimisation

Les méthodes de minimisation sont souvent efficaces et constituent un recours ultime pour résoudre les problèmes scientifiques. Elles s'inscrivent dans la voie numérique qui est utilisée depuis plus de trois décennies afin de résoudre des problèmes analytiquement compliqués [90].

En pratique, ces problèmes se présentent sous une seule forme : on dispose d'une série de variables indépendantes  $X_i = (x_1, x_2, \dots, x_n)$  et d'une fonction quelconque  $V$ . L'objectif de ces méthodes est de trouver la nouvelle série de variables  $X^*$  pour laquelle  $V(X^*) = \text{MIN}(V(X))$ . Dans le cas de PEPSEA, les angles de torsion qui définissent la structure de la molécule sont les variables indépendantes  $X_i$ , tandis que le potentiel du champ de force ECEPP/2 est la fonction  $V(X)$ .

Les algorithmes de minimisation qui assurent la résolution des problèmes d'optimisation non linéaire sont déjà développés, ils sont d'ordre : zéro, un ou deux, selon l'ordre de la dérivée auquel ils font appel. Dans le cas de PEPSEA, c'est l'algorithme du gradient conjugué qui est utilisé vu son efficacité à résoudre le problème de l'exploration stochastique des hypersurfaces conformationnelles des macromolécules [71].

## **II.5 Les méthodes d'analyse conformationnelle**

La description des propriétés conformationnelles d'une molécule est le but ultime de chaque calcul et chaque minimisation de l'énergie conformationnelle. Cette tâche aurait été facile si les molécules peptidiques adoptaient une seule structure prédominante, et si cette structure était facilement accessible. En effet, les propriétés conformationnelles doivent être déduites en considérant un ensemble de conformères ayant des énergies conformationnelles faibles, et non à partir d'une seule conformation. Nous présentons dans cette section les méthodes utilisées par PEPSEA pour faire l'analyse conformationnelle des molécules peptidiques.

### **II.5.1 Le programme de traitement**

Après la génération et la minimisation des différents conformères de chaque molécule, ils sont traités par un programme fortran qui permet de les regrouper dans des ensembles et des distributions pour faciliter la compréhension et l'explication de leur comportement conformationnel. Ce programme commence par classer tous les conformères par ordre croissant d'énergie, ce qui permet de sélectionner les plus stables. Puis, il trie ceux convergeant vers le même minimum pour tenir compte de son importance. Enfin, à partir de la matrice constituée des dérivées secondes (Hessienne), il permet le calcul de leurs propriétés thermodynamiques. Cette dernière tâche favorise la différenciation entre la stabilité d'un conformère d'un point de vue conformationnel et thermodynamique.

### II.5.2 Les histogrammes énergétiques

Ce sont des représentations graphiques qui donnent la distribution des conformères par rapport à l'énergie conformationnelle, ces histogrammes permettent de vérifier si les angles de torsion qui varient au cours de la minimisation (degré de liberté de la molécule) ont été bien choisis, et par conséquent si le processus de minimisation s'est bien déroulé. En effet, fixer un ou plusieurs angles qui doivent être variés, au cours de la minimisation, se traduit automatiquement par l'apparition de plusieurs distributions. La figure 5.a présente un histogramme montrant plusieurs distributions, résultat d'une mauvaise minimisation, tandis que la figure 5.b présente un exemple d'histogramme montrant une bonne minimisation (une seule distribution sous forme de cloche).

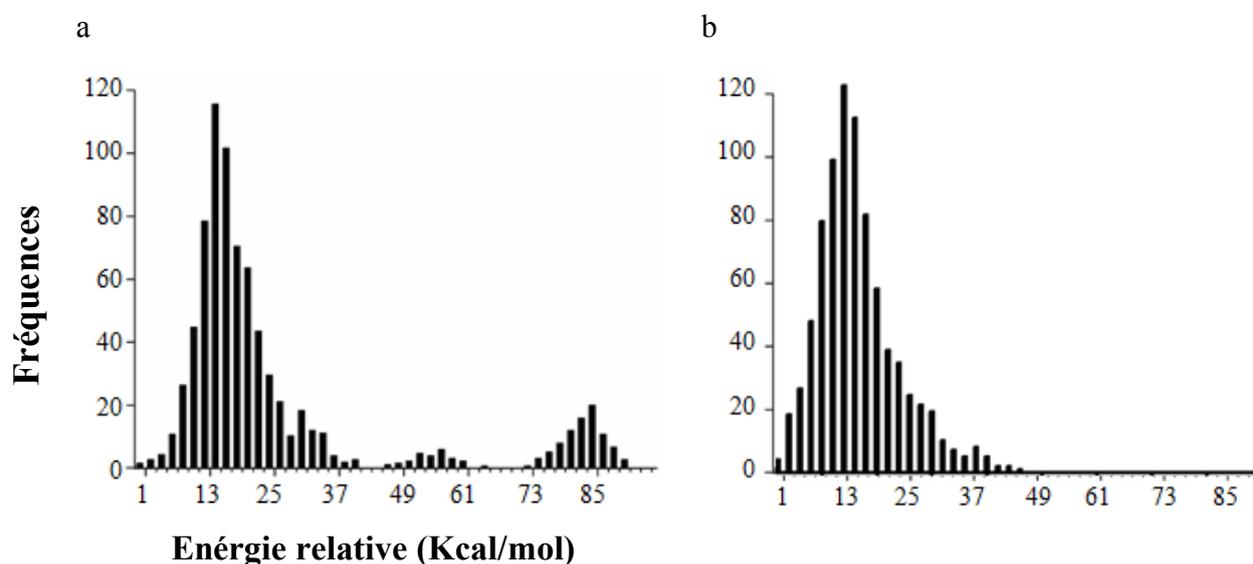


Figure 5 : Exemple d'histogrammes représentant a) Une mauvaise minimisation. b) Une bonne minimisation [71].

### II.5.3 Les cartes de Ramachandran

Les cartes de Ramachandran sont des tracés des angles dièdres ( $\phi$ ,  $\psi$ ) préférés par les résidus d'une molécule peptidique. Elles ont été développées en 1963 par Ramachandran et al. [91] pour visualiser les régions accessibles de l'espace conformationnel pour chaque résidu. Ces cartes sont largement utilisées pour étudier la conformation des protéines. Elles nous renseignent sur l'efficacité des algorithmes de minimisations et les comportements structuraux d'un résidu dans une molécule peptidique. L'annexe A présente plus en détail ces cartes.

### II.5.4 Calcul des paramètres thermodynamiques

La comparaison de différentes conformations d'équilibre pour un peptide, afin de sélectionner celles les plus stables thermodynamiquement, se fait en comparant leurs énergies libres. Le calcul de ces énergies aurait été moins complexe si on avait utilisé un champ de force à géométrie flexible. Toutefois, et grâce aux travaux de Zimmerman et al. [86] l'accès à cette information, forte précieuse, est réalisable même en utilisant le champ de force à géométrie rigide. Ces auteurs ont développé une méthode permettant le calcul de l'énergie libre d'une conformation à partir de l'allure de la fonction potentielle au voisinage des minima (la dérivée seconde).

Cette méthode se base sur le fait que les paramètres thermodynamiques (énergie libre et entropie) sont déterminés à partir du poids statistique du minimum  $\omega_i$  défini selon la relation :

$$\omega_i = \left[ (2\pi RT)^{\frac{m}{2}} (\det F_i)^{-\frac{1}{2}} \exp \frac{-\Delta E_i}{RT} \right] / Z \quad (19)$$

$\omega_i$  : Le poids statistique de l' $i^{\text{ème}}$  minimum.

R : La constante des gaz parfaits.

T : La température en kelvin.

m : Le nombre de degrés de liberté de la molécule.

$\Delta E_i$  : L'énergie conformationnelle relative à l' $i^{\text{ème}}$  minimum par rapport au minimum global.

Det ( $F_i$ ) : Le déterminant de la matrice des dérivées secondes à l' $i^{\text{ème}}$  minimum.

Z : La fonction de partition définie par la relation :

$$Z = 2\pi RT^{\frac{m}{2}} \sum_{i=1}^N (\det F_i)^{-\frac{1}{2}} \exp \frac{-\Delta E_i}{RT} \quad (20)$$

N : Le nombre de minima de la molécule.

L'énergie libre de l' $i^{\text{ème}}$  minimum est calculée selon la relation :

$$G_i = -RT \ln(\omega_i) \quad (21)$$

$\Delta G_i$  est l'énergie libre relative :

$$\Delta G_i = G_i - G_0 \quad (22)$$

$G_0$  est l'énergie libre qui correspond à la conformation la plus stable d'un point de vue énergie conformationnelle ( $\Delta E_i = 0$ ).

Les calculs sont effectués dans les conditions : volume et pression constants, on peut écrire alors

$$\Delta H = \Delta E \text{ et } \Delta G = \Delta E - T\Delta S$$

L'entropie relative de l' $i^{\text{ème}}$  minimum est calculée selon la relation :

$$\Delta S_i = \frac{\Delta E_i - \Delta G_i}{T} \quad (23)$$

Vu le caractère très complexe de la fonction énergétique, la valeur du  $(\det F_i)$  (déterminant de la matrice Hessienne) dépend majoritairement de la valeur de  $\epsilon$  (l'infiniment petit utilisé pour calculer les composantes de cette matrice). Cette valeur doit être assez petite afin de respecter la théorie mathématique et assez grande pour qu'elle puisse entraîner une variation significative de l'énergie. Pour choisir la bonne valeur, on doit effectuer le calcul du déterminant de la matrice des dérivées seconde pour plusieurs valeurs de  $\epsilon$ . Le tracé de  $\text{Log}(\det F_i)$  en fonction de  $\epsilon$  (figure 6) nous donne la zone de stabilité de ce déterminant et nous permet de choisir la valeur adéquate de  $\epsilon$  qui sera utilisée pour calculer les paramètres thermodynamiques.

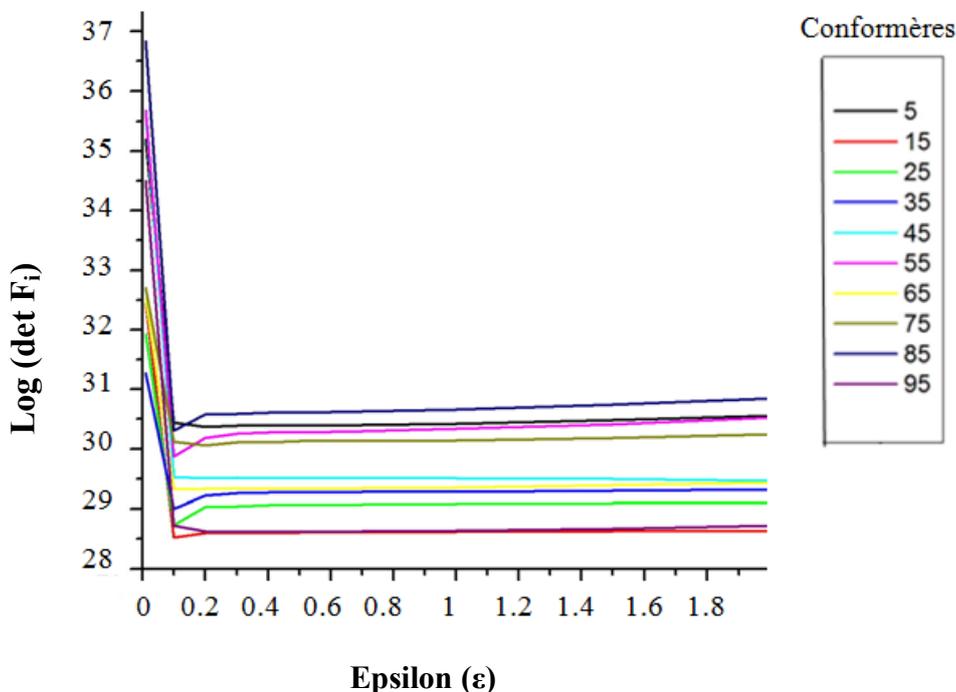


Figure 6 : Courbe montrant la zone de stabilité de  $\text{Log}(\det(F_i)) = f(\epsilon)$ .

### II.5.5 Liaisons hydrogène

Les liaisons hydrogène fournissent la plupart des interactions directionnelles qui étayent la structure des protéines, elles jouent un rôle critique dans divers phénomènes biologiques. Dans notre étude, nous avons utilisé les deux contraintes géométriques suivantes (figure 7) pour détecter l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire [92] :

- La distance entre le proton amide et l'oxygène carbonyle doit être comprise entre 1.8 Å et 2.8 Å.
- L'angle de valence entre l'azote, le proton amide et l'oxygène carbonylé doit être supérieur à 120 °.

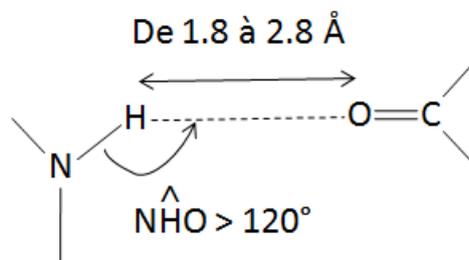


Figure 7 : Présentation des deux contraintes géométriques indiquant la présence de liaisons hydrogène.

## Chapitre. 3 :

# Effet de la thionation sur l'espace conformationnel de la glycine et la leucine

### Introduction

Les peptides bioactifs naturels présentent des propriétés thérapeutiques importantes et variées, cependant leur durée de vie est souvent limitée par l'hydrolyse enzymatique [8]. Face à ce problème, des modifications structurelles sont apportées à la séquence peptidique naturelle. L'une des principales modifications utilisées est la substitution d'une ou plusieurs liaisons amide conventionnelles C=O par une ou des liaisons thioamide C=S. Cette stratégie a reçu une attention considérable ces dernières décennies, et s'est avérée efficace dans la conception de nouvelles molécules stables, actives et résistantes à l'hydrolyse, parfois plus que les molécules mères [93–95].

Les résidus d'acides aminés thiosubstitués devraient restreindre l'espace conformationnel de leur analogue natif. En effet, l'allongement de la liaison C=S par rapport à la liaison C=O et l'augmentation de la taille du soufre comparativement à celle de l'oxygène devraient apporter des changements substantiels dans la structure. Plusieurs auteurs [94,96–98] ont étudié les comportements conformationnels des peptides contenant des acides aminés thiosubstitués.

Torsello et al. [99] ont mentionné que la substitution de l'atome d'oxygène par l'atome de soufre peut affecter à la fois l'activité et la structure tridimensionnelle. Tandis que Dezoti et al. [100] ont signalé que cette modification ne présente qu'une différenciation chimique minimale par rapport aux amides classiques, elle peut néanmoins entraîner des variations importantes au niveau des préférences structurelles de la molécule, ils ont rapporté en plus que la conformation étendue a été rarement identifiée expérimentalement pour les résidus thiopeptidiques.

Une étude par cristallographie RX et modélisation moléculaire a été effectuée par Michel et ses collègues [96] sur les préférences conformationnelles des modèles Ace- (ou Boc)-Xxx-NHMe (Xxx=Ala et Gly) et leurs analogues mono et di-thionylés. Ils ont constaté que les structures adoptées par les analogues thiopeptidiques ne diffèrent pas significativement de celles des dérivés oxo, y compris les positions des minimums globaux dans les cartes énergétiques qui correspondent à la conformation en tournant gamma  $\gamma$  ( $\varphi = -75$ ,  $\psi = 75$ ) (Annexe A). Toutefois, certains changements conformationnels sont observés.

Des études spectroscopiques par RMN et par Dichroïsme Circulaire menées par Miwa et al. [98] ont indiqué que les thiopeptides adoptent des conformations similaires à celle de leurs analogues natifs même à température élevée.

D'autres analyses conformationnelles expérimentales et théoriques ont été effectuées sur les dérivés thionylés de la glycine ; Artis et Lipton [101] ont étudié la surface d'énergie potentielle de ses dérivés monothionylés, ils ont constaté que lorsque la thiosubstitution est effectuée au niveau de l'extrémité C-terminal, la molécule adopte des conformations proches de celles de l'analogue natif, alors que le dérivé thionylé à l'extrémité N-terminal présente un comportement conformationnel différent. Tran et al. [97] ont ajouté que la thionation en C-terminal préfère la conformation en tournant  $\gamma$   $C^7$ , tandis que la thiosubstitution N-terminale favorise la conformation étendue (Annexe A). Balaji et al. [102] ont signalé que la disubstitution thioamide entraîne une restriction considérable de la liberté conformationnelle de l'alanine, alors que l'effet est minimal dans le cas de la glycine. Des résultats similaires ont été démontrés par l'équipe de Formaggio [103], ils ont étudié les préférences conformationnelles d'une série d'homopeptides entièrement thionylés à base de la glycine, et ont pu confirmer que les résidus thionylés peuvent facilement adopter les principaux types de structures accessibles aux analogues natifs.

De notre part, afin de montrer les effets de la thionation sur la structure des peptides, nous présentons dans ce chapitre les analyses conformationnelles comparatives de la N-acetyl-N'-méthyle-glycyl-amide et la N-acetyl-N'-méthyle-leucyl-amide, avec leurs analogues thio substitués respectifs : N-acetyl-N'-méthyle-thio-glycyl-amide, et N-acetyl-N'-méthyle-thio-leucyl-amide. Les structures de ces molécules sont présentées dans la figure 8, elles sont nommées dans ce chapitre Gly, Leu, ThioGly et ThioLeu.

Les groupements terminaux (acetyl et N-méthyle amide) ont été choisis de telle sorte que l'acide aminé central soit encadré par deux liaisons peptidiques, ce qui imite sa situation dans une protéine.

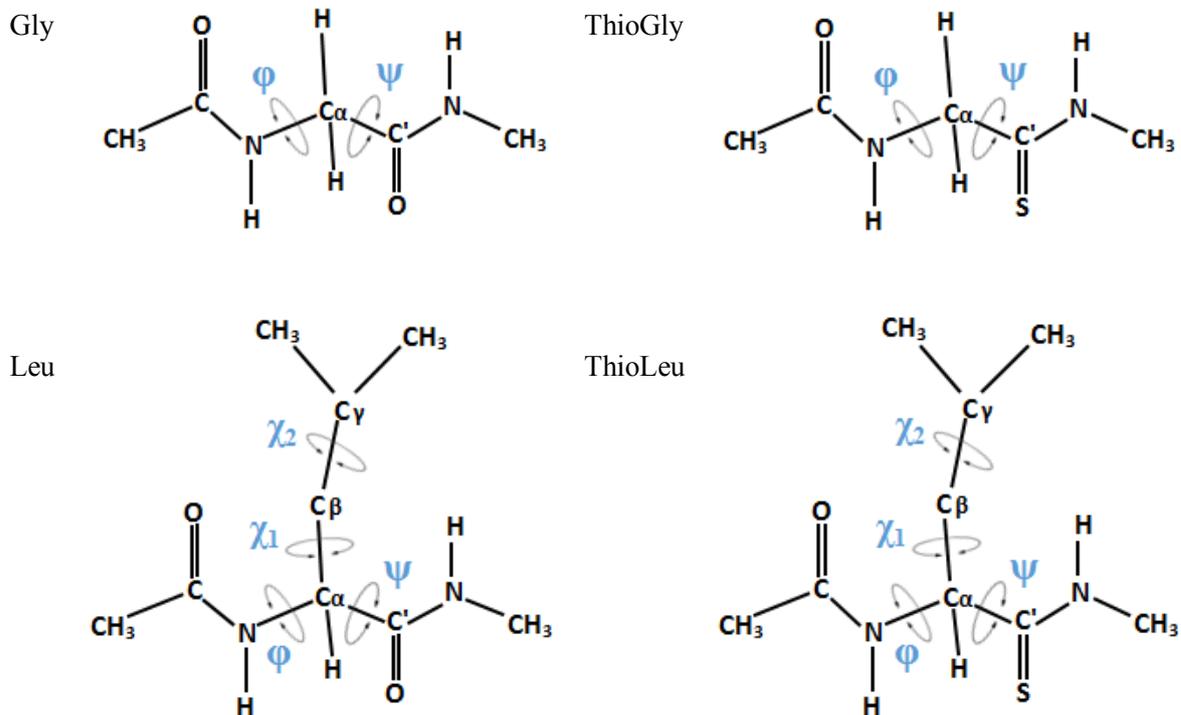


Figure 8 : Structures des résidus natifs et thionylés. Les angles dièdres variables sont indiqués.

### III.1 Intégration des résidus ThioGly et ThioLeu dans le champ de force ECEPP/2

Les paramètres propres des acides aminés naturels les plus fréquents sont déjà présents dans le champ de force ECEPP/2, alors que ceux des résidus ThioGly et ThioLeu ne le sont pas, il fallait donc les introduire. Les paramètres que nous avons utilisés pour tenir compte de la substitution de l'oxygène par le soufre sont présentés dans le tableau 1 [96].

Ces paramètres sont de deux types : géométriques (angles de liaison et longueurs de liaison) et énergétiques. Les premiers sont nécessaires pour la construction géométrique du peptide, alors que les seconds servent au calcul de l'énergie conformationnelle.

Tableau 1 : Paramètres de la liaison thiopeptidique utilisés dans le programme PEPSEA [96].

<b>Distances de liaisons<sup>a</sup></b> (Å)	C'=S	1.66
	C <sup>α</sup> -C'	1.53
	N-C <sup>α</sup>	1.45
	C'-N	1.32
	N-H	1.00
<b>Angles de torsion<sup>a</sup></b> (°)	C <sup>α</sup> -C'-N	115
	C <sup>α</sup> -C'-S	120.5
	S-C'-N	124.5
	C'-N-C <sup>α</sup>	121
	C'-N-H	124
<b>Charges atomiques partielles<sup>c</sup></b> (unité électrostatique de charge)	C <sup>α</sup>	0.076
	C'	0.523
	S	-0.441
	N	-0.426
	H	0.211
<b>Rayon de Van der Waals du soufre<sup>c</sup> (Å)</b>		1.89
<b>Polarisabilité du soufre<sup>c</sup> (Å<sup>3</sup>)</b>		0.34

a. Les longueurs et les angles de liaisons ont été déterminés par cristallographie.

b. Les charges atomiques partielles ont été calculées par la méthode CNDO/2 utilisant le programme PCIL03 [104].

c. Les valeurs du rayon de Van der Waals et de la polarisabilité de l'atome de soufre ont été proposées par Scheraga et al. [105].

### III.2 Analyse conformationnelle

Les analyses empiriques et les calculs de mécanique quantique, dédiés à la détermination de la structure des protéines, ont montré que la géométrie de la chaîne principale d'une protéine dépend majoritairement des angles dièdres Phi ( $\varphi$ ) et Psi ( $\psi$ ) de chaque acide aminé qui la compose [106]. L'annexe A présente les différentes structures secondaires des protéines (Hélice  $\alpha$ , feuillets  $\beta$ , tournants  $\beta$  et  $\gamma$ ) indiquant pour chacune d'elles les valeurs ( $\varphi$ ,  $\psi$ ) correspondantes.

Afin d'étudier l'espace conformationnel des quatre dipeptides (figure 8), et pour que la comparaison soit justifiée, nous avons généré les mêmes conformations de départ pour le couple (Gly, ThioGly) et pour le couple (Leu, ThioLeu). Durant ces générations les angles dièdres des groupements terminaux et de la liaison peptidique  $\omega$  ont été fixés à  $180^\circ$  (à cause de leur caractère de double liaison), alors que les angles  $\varphi$  et  $\psi$  ont suivi des rotations allant de  $-180^\circ$  à  $+180^\circ$  par incrément de  $10^\circ$  (soit 1296 conformères générés pour chacune des molécules Gly et ThioGly). Pour Leu et ThioLeu, la même stratégie a été suivie pour  $\varphi$  et  $\psi$  alors que pour les deux premiers angles de la chaîne latérale  $\chi_1$  et  $\chi_2$ , une permutation des valeurs ( $+60^\circ$ ,  $-60^\circ$  et  $180^\circ$ ) a été adoptée [107]. Comme ça, pour chaque couple ( $\varphi$ ,  $\psi$ ), 9 possibilités ont été considérées ; ( $\chi_1 = 60^\circ$ ,  $\chi_2 = 60^\circ$ ), ( $\chi_1 = 60^\circ$ ,  $\chi_2 = -60^\circ$ ), ( $\chi_1 = -60^\circ$ ,  $\chi_2 = 60^\circ$ ), ( $\chi_1 = -60^\circ$ ,  $\chi_2 = -60^\circ$ ), ( $\chi_1 = 60^\circ$ ,  $\chi_2 = 180^\circ$ ), ( $\chi_1 = -60^\circ$ ,  $\chi_2 = 180^\circ$ ), ( $\chi_1 = 180^\circ$ ,  $\chi_2 = 60^\circ$ ), ( $\chi_1 = 180^\circ$ ,  $\chi_2 = -60^\circ$ ), ( $\chi_1 = 180^\circ$ ,  $\chi_2 = 180^\circ$ ), (soit 11664 conformères générés pour chacune des molécules Leu et ThioLeu).

Après cette génération, une minimisation de l'énergie conformationnelle utilisant le programme PEPSEA a été effectuée sur chaque conformère, pour le faire converger vers le minimum local le plus proche.

### III.3 Résultats et discussion

Après la minimisation, nous avons remarqué que pour Gly et ThioGly, presque tous les conformères de départ générés ont convergé vers des structures ayant des énergies relatives ( $\Delta E$ ) inférieures à 3 kcal/mol alors que pour Leu et ThioLeu, seulement la moitié des conformères générés présentent cette propriété. Ces minima (inférieurs à 3 kcal/mol) ont été utilisés pour examiner le comportement conformationnel des quatre molécules étudiées.

La figure 9 montre les positions des conformères dans le plan ( $\varphi$ ,  $\psi$ ) avant la minimisation, tandis que la figure 10 présente les positions de ces conformères après minimisation pour (Gly, ThioGly) et la figure 17 celles de (Leu, ThioLeu). À partir de ces figures, on peut remarquer que pour les quatre molécules les structures minimisées se trouvent dans les zones précises de la carte de Ramachandran (Annexe A). Cette convergence montre bien l'efficacité et le bon déroulement de la minimisation.

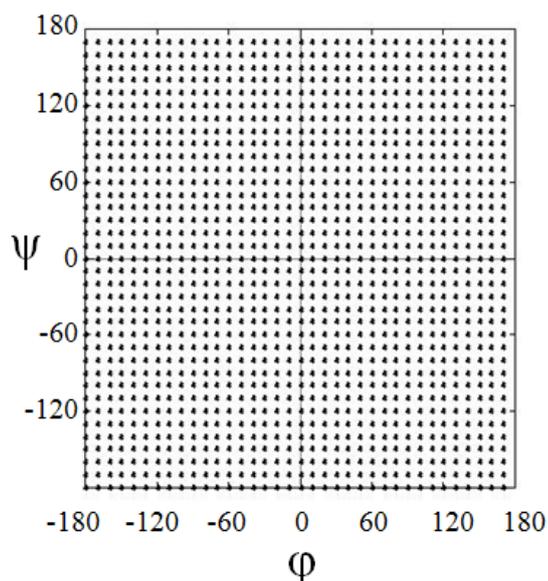


Figure 9 : Positions des conformères dans le plan ( $\phi$ ,  $\psi$ ) avant la minimisation.

### III.3.1 Analyse conformationnelle comparative de Gly et ThioGly

L'analyse conformationnelle de la glycine a montré que la majorité des conformères générés ont convergé vers 11 zones conformationnelles qui peuvent être ramenées à 6 si on considère le caractère symétrique du résidu Gly (absence de la chaîne latérale). Pour la thio-glycine, la convergence était uniquement vers 8 zones (ramenées à 4 pour la même raison de symétrie). La figure 10 montre les zones de convergence préférentielles pour les deux molécules.

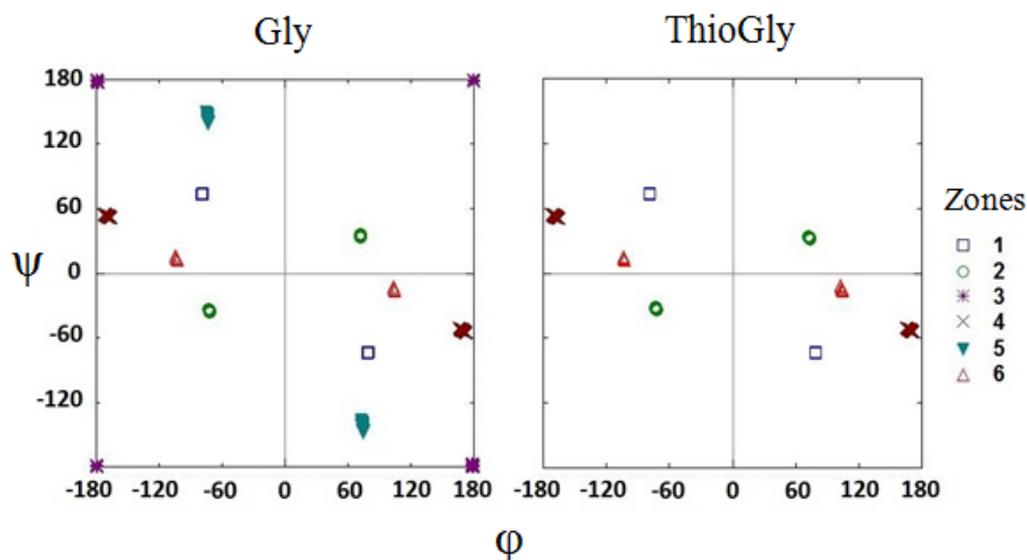


Figure 10 : Zones de convergence préférentielles pour Gly et ThioGly.

Le tableau 2 présente ces zones conformationnelles préférentielles par les deux molécules, le pourcentage de population % de chaque zone ainsi que l'énergie correspondante.

Tableau 2 : Zones conformationnelles ( $\phi, \psi$ ) préférentielles pour Gly et ThioGly. Pourcentages de population % et énergies conformationnelles E correspondants à chaque zone.

Zones préférentielles	$(\phi, \psi)^\circ$	Gly		ThioGly	
		%	E (kcal/mol)	%	E (kcal/mol)
1	$\pm (-78, 74)$	33.1	-5.67	45.25	-4.96
2	$\pm (-71, -35)$	30.35	-4.46	31.55	-3.73
3	$(\pm 179, \pm 179)$	12.18	-4.38		
4	$\pm (-170, 53)$	15.38	-4.09	22.3	-3.48
5	$\pm (-73, 140)$	8.1	-3.99		
6	$\pm (-104, 15)$	0.88	-3.47	0.88	-2.85

La première zone  $\pm (-78, 74)$  présente les conformères adoptant la structure en tournant  $\gamma$ , stabilisés par la liaison hydrogène entre C=O acétyle et N-H terminal et formant un pseudo cycle à 7 membres (Annexe A). La figure 11 présente la vue stéréoscopique de cette structure. C'est la zone la plus peuplée étant donné qu'elle rassemble 33.1 % des conformères pour Gly, et 45.25 % pour ThioGly. Les conformères de cette zone correspondent aux minimums globaux pour les deux molécules ( $E_0$  (Gly) = -5.67 kcal/mol et  $E_0$  (ThioGly) = -4.96 kcal/mol). Notons que des études quantiques et de modélisation moléculaire sur la glycine [96,108,109] ont montré aussi que cette conformation correspond au minimum global.

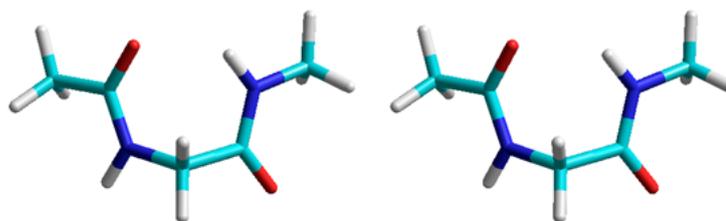


Figure 11 : Vue stéréoscopique de la structure présentant la 1<sup>ère</sup> zone préférentielle pour Gly.

La 2<sup>ème</sup> zone  $\pm (-71, -35)$  regroupe des conformères adoptant une structure où les deux dipôles NH terminal et CO acétyle sont antiparallèles. Elle rassemble 30.35 % des conformères de Gly et 31.55 % pour ThioGly, avec des énergies respectives de -4.46 kcal/mol et -3.73 kcal/mol. Il faut signaler ici que les conformères de cette zone sont des précurseurs de la formation des hélices  $\alpha$  [110], (Annexe A). La figure 12 présente la vue stéréoscopique de cette structure.

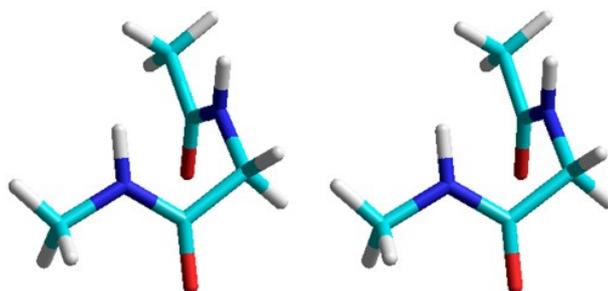


Figure 12 : Vue stéréoscopique de la structure présentant la 2<sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.

Les conformères adoptant une structure étendue sont ceux de la 3<sup>ème</sup> zone ( $\pm 179, \pm 179$ ) où les deux dipôles (NH terminal et CO acétylé) sont parallèles. 12.18 % des conformères générés pour Gly ont convergé vers ce minimum ayant comme énergie -4.38 kcal/mol. Cependant, pour l'analogue thionylé cette structure est complètement interdite. Notons que les conformères de cette zone sont des précurseurs de la structure en feuillet beta parallèle et antiparallèle observée dans les protéines (Annexe A). La figure 13 présente la vue stéréoscopique de cette structure.

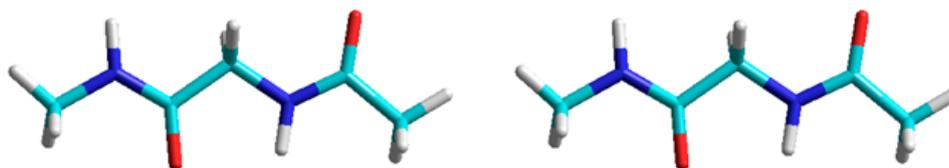


Figure 13 : Vue stéréoscopique de la structure présentant la 3<sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.

La 4<sup>ème</sup> zone rassemble les conformères ayant convergé vers  $\pm (-170, 53)$ , soit 15.38 % et 22.3 % des conformères générés respectivement pour Gly et ThioGly, avec des énergies respectives de -4.09 kcal/mol et -3.48 kcal/mol. La figure 14 présente la vue stéréoscopique de cette structure semi-étendue.

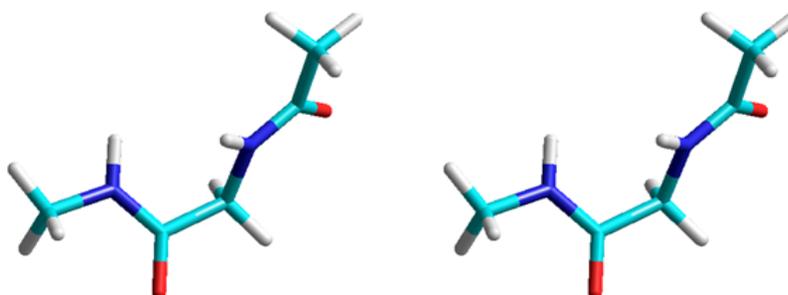


Figure 14 : Vue stéréoscopique de la structure présentant la 4<sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.

La 5<sup>ème</sup> zone  $\pm (-73, 140)$  est préférée par 8.1 % des conformères générés pour Gly mais interdite pour ThioGly. Les valeurs ( $\phi, \psi$ ) de ces conformères leur confèrent la possibilité de participer à

la formation d'une structure en tournant  $\beta$  de type II, en tant que résidu  $i+1$  (Annexe A). La figure 15 présente la vue stéréoscopique de cette structure.

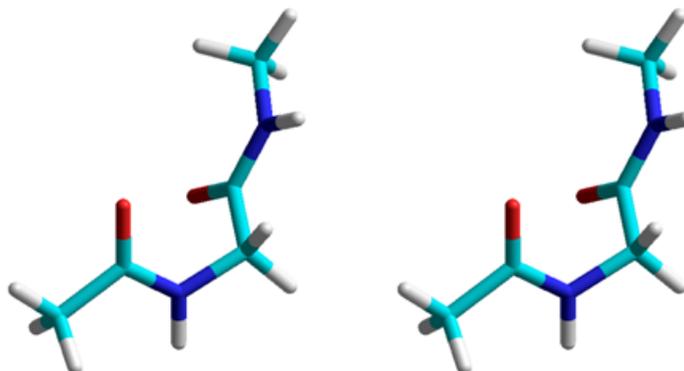


Figure 15 : Vue stéréoscopique de la structure présentant la 5<sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.

Les conformères de la 6<sup>ème</sup> zone  $\pm (-104, 15)$  ayant comme énergies -3.47 kcal/mol pour Gly, et -2.85 kcal/mol pour ThioGly sont préférés par les deux molécules avec un même mais faible pourcentage de 0.88 %. Comme les conformères de la 5<sup>ème</sup> zone, ils ont tendance à former la structure en tournant  $\beta$  de type I cette fois-ci et en tant que résidu  $i+2$  (Annexe A). La figure 16 présente la vue stéréoscopique de cette structure.

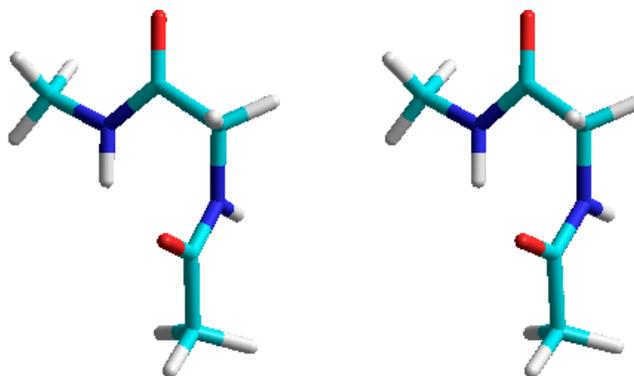


Figure 16 : Vue stéréoscopique de la structure présentant la 6<sup>ème</sup> zone préférentielle pour Gly.

### III.3.2 Analyse conformationnelle comparative de Leu et ThioLeu

Les 11664 conformères générés pour chacune des molécules Leu et ThioLeu ont convergé vers 8 zones préférentielles pour Leu dont seulement 6 sont autorisées pour son analogue thionylé. La figure 17 montre les zones de convergence préférentielles pour les deux molécules.

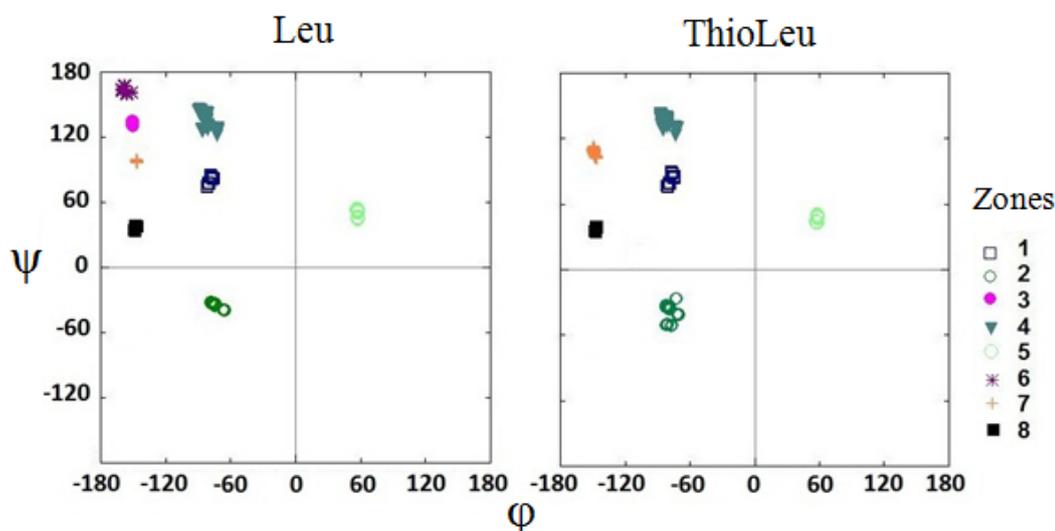


Figure 17 : Zones de convergence préférentielles pour Leu et ThioLeu.

Le tableau 3 présente les  $(\phi, \psi)$  de ces différentes zones, les structures secondaires susceptibles d'être formées, les pourcentages de population, ainsi que les énergies correspondante aux minimums globaux de la zone.

Tableau 3 : Zones conformationnelles  $(\phi, \psi)$  préférentielles pour Leu et ThioLeu. Structures secondaires, pourcentages de population %, et énergies conformationnelles E correspondants à chaque zone.

Zones préférentielles	$(\phi, \psi)^\circ$	Structures secondaires	Leu		ThioLeu	
			%	E (kcal/mol)	%	E (kcal/mol)
1	(-81, 79)	Tournant $\gamma$	24.22	-5.7	28.81	-4.44
2	(-77, -37)	Hélice $\alpha_D$	22.51	-5.3	33.24	-3.94
3	(-151, 134)	Étendue	8.08	-4.8		
4	(-84, 142)	$\beta$ type II	10.42	-4.5	9.48	-3.26
5	(57, 49)	Hélice $\alpha_L$	11.6	-4	11.4	-2.62
6	(-158, 165)	Étendue	12.31	-3.7		
7	(-148, 99)	S. Étendue	3.29	-2.9	9.39	-3.23
8	(-149, 37)	$\beta$ type I	7.55	-2.8	7.66	-1.38

De ce tableau, on peut remarquer qu'encore une fois et comme dans le cas de (Gly, ThioGly), les conformères adoptant une structure en tournant gamma correspondent aux deux minimums globaux pour Leu et pour ThioLeu ( $E_0$  (Leu) = -5.7 kcal/mol et  $E_0$  (ThioLeu) = -4.44 kcal/mol).

On peut remarquer aussi que les structures étendues correspondantes aux zones 3 et 5 sont interdites pour la thio-leucine. Notons ici que ce résultat est en accord parfait avec ceux de Michel et al. [96] et De Zotti et al. [100] suite à des études effectuées sur des thiopeptides.

La figure 18 présente les structures des différentes zones préférentielles pour Leu et Thio-Leu.

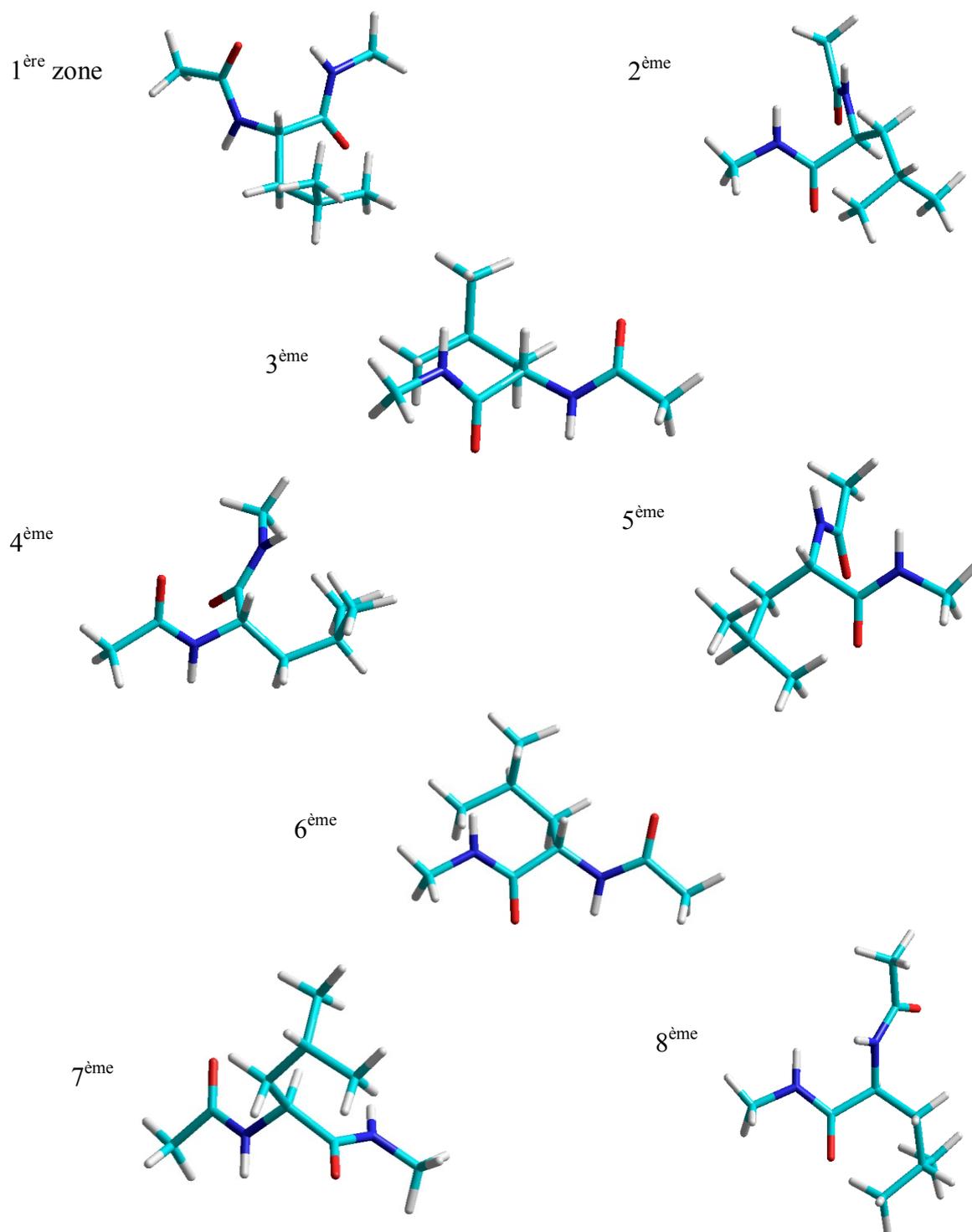


Figure 18 : Structures des différentes zones préférentielles pour Leu et Thio-Leu.

## Conclusion

Les analyses conformationnelles comparatives des couples (Gly, ThioGly) et (Leu, ThioLeu) présentées dans ce chapitre révèlent que suite à la thionation :

- La structure en tournant  $\gamma$  reste la plus préférée et correspond aux minimums globaux pour les quatre molécules.
- La structure étendue devient interdite aux deux analogues thionylés.
- Les deux dérivés thionylés préfèrent adopter les structures en tournant  $\gamma$  et hélice  $\alpha$  droite plus que leurs analogues natifs.
- Les préférences aux structures en tournant  $\beta$  et Hélice  $\alpha$  gauche ne sont pas affectées par la thionation.

## Chapitre. 4 :

# Analyse conformationnelle comparative du peptide chimiotactique fMLP-OMe et son analogue thioamide fML<sup>S</sup>P-OMe

### Introduction

Le peptide chimiotactique fMLP (formyl-Met-Leu-Phe) a reçu beaucoup d'intérêts ces dernières décennies, vu le rôle qu'il joue dans notre corps, particulièrement dans le système immunitaire [111]. Il induit la libération des leucocytes polymorphonucléaires PMN, du Superoxyde  $O_2^-$ , de l'enzyme lysozyme du neutrophile et du calcium transitoire intracellulaire  $[Ca^{2+}]$  [111–114]. Il est réputé être un agent très actif [115]. La relation structure-activité a été établie ainsi que la spécificité aux récepteurs situés sur la surface des cellules neutrophiles [116–118].

Dans le cadre du peptidomimétisme, plusieurs modifications ont été introduites sur la molécule mère. L'influence des groupes terminaux a été étudiée et il a été démontré que l'estérification de C-carboxylique terminale n'affecte pas l'activité biologique de la molécule [119]. D'un autre côté, la substitution du groupement formyle à N-terminal par le groupement ter-butylcarbonyle (Boc) entraîne une perte totale de l'activité [120]. En 1985, Sauvé et al. [121] ont essayé d'introduire des changements sur le squelette peptidique en remplaçant les liaisons amide par des liaisons thioamide plus résistants à l'hydrolyse enzymatique. Les analogues synthétisés ont été testés et les activités biologiques ont été mesurées utilisant leur capacité à libérer l'enzyme lysozyme des cellules neutrophiles [122]. Le remplacement du groupement amide de la méthionine par la liaison thioamide a conduit à une très grande perte de l'activité [122]. Une

étude conformationnelle comparative entre les deux molécules fMLP-OMe et formyl-Met(CSNH)-Leu-Phe-OMe (fM<sup>S</sup>LP-OMe) a montré que le peptide chimiotactique actif doit avoir le CO du groupement formyle libre de toute interaction intramoléculaire afin qu'il soit disponible pour former le complexe avec le récepteur [75]. D'autre part, la substitution du résidu central avec des résidus  $\alpha, \alpha$  disubstitués tels que l'acide 1-Aminocyclohexane-1-carboxylique (Acc<sub>6</sub>) et l'acide 1-Aminocyclopentane-1-carboxylique (Acc<sub>5</sub>) entraîne une augmentation de l'activité [123]. Des études conformationnelles comparatives entre le peptide parent et ces derniers [80,81] ont révélé que la conformation native des peptides chimiotactiques fMLP est une structure en tournant  $\beta$ , malgré la non-disponibilité du CO(formyle).

Dans le but de poursuivre les investigations sur les exigences structurales des récepteurs de fMLP [75,80,81]. Ce chapitre présente une étude conformationnelle comparative du peptide parent actif (formyl-Met-Leu-Phe-OMe), et son analogue thionylé (formyl-Met-Leu(CSNH)-Phe-OMe), dépourvu de toute activité [122]. L'objectif principal est d'expliquer la différence d'activité entre les deux peptides dont les structures sont présentées à la figure 19. Aussi avons-nous voulu proposer la conformation native des analogues de fMLP, et déterminer les exigences structurales pour une reconnaissance moléculaire constructive.

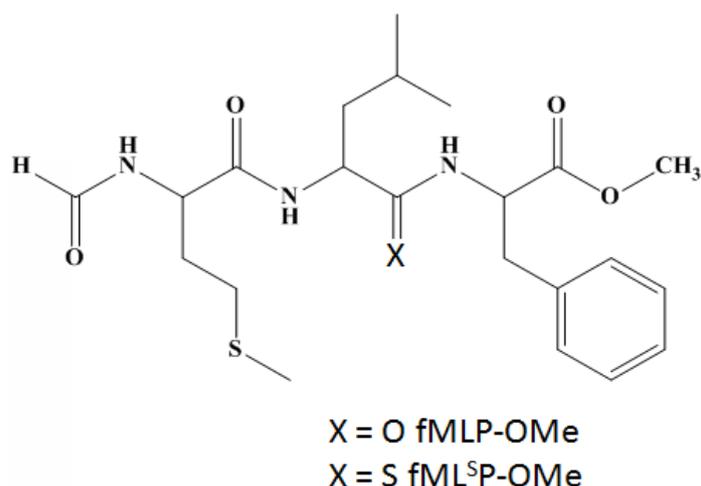


Figure 19 : Structure de fMLP-OMe et fML<sup>S</sup>P-OMe.

## IV.1 Calcul conformationnel

La méthode d'exploration des hypersurfaces conformationnelles PEPSEA a été appliquée aux deux molécules fMLP-OMe et fML<sup>S</sup>P-OMe en générant aléatoirement pour chacune d'elles 20.000 structures de départ. Les structures ainsi générées ont subi une minimisation d'énergie jusqu'aux minima locaux les plus proches. Durant cette minimisation, tous les angles dièdres étaient autorisés à varier, à l'exception de ceux des liaisons amide  $\omega$  (Met),  $\omega$  (Leu) et  $\omega$  (Phe), qui ont été fixés à 180 ° à cause de leur caractère de double liaison.

Nous avons soigneusement veillé à ce que les 20.000 conformations de départ générées et soumises à la minimisation soient les mêmes pour les deux molécules.

Pour chaque tripeptide, les 100 conformères les plus stables issus de la 1<sup>ère</sup> minimisation ont subi une seconde minimisation en permettant cette fois à tous les angles dièdres la possibilité de varier, même les  $\omega$ . Pour chacun de ces 100 minima, la matrice Hessienne a été calculée et l'énergie libre a été évaluée à 300 K [86].

## IV.2 Résultats et discussion

### IV.2.1 Présentation des conformères générés

L'efficacité de la minimisation a été évaluée en étudiant les distributions énergétiques des 20.000 conformères minimisés pour les deux molécules fMLP-OMe et fML<sup>S</sup>P-OMe. La figure 20 présente les histogrammes énergétiques. En abscisse, on trouve l'énergie conformationnelle relative des conformères, alors qu'en ordonnée, on trouve le nombre de conformères ayant convergé vers le même intervalle  $\Delta E$ . Chaque rectangle représente le nombre de conformères dans un intervalle de 1 kcal/mol.

D'après ces deux graphiques, on peut constater que pour les deux molécules, les histogrammes ont une seule distribution gaussienne ayant la forme d'une cloche. Ceci est une confirmation que le processus de minimisation s'est bien déroulé et que les angles autorisés à varier ont été bien choisis. Sinon, on aurait trouvé des histogrammes à plusieurs distributions comme celui présenté à la figure 5.a (Chapitre 2).

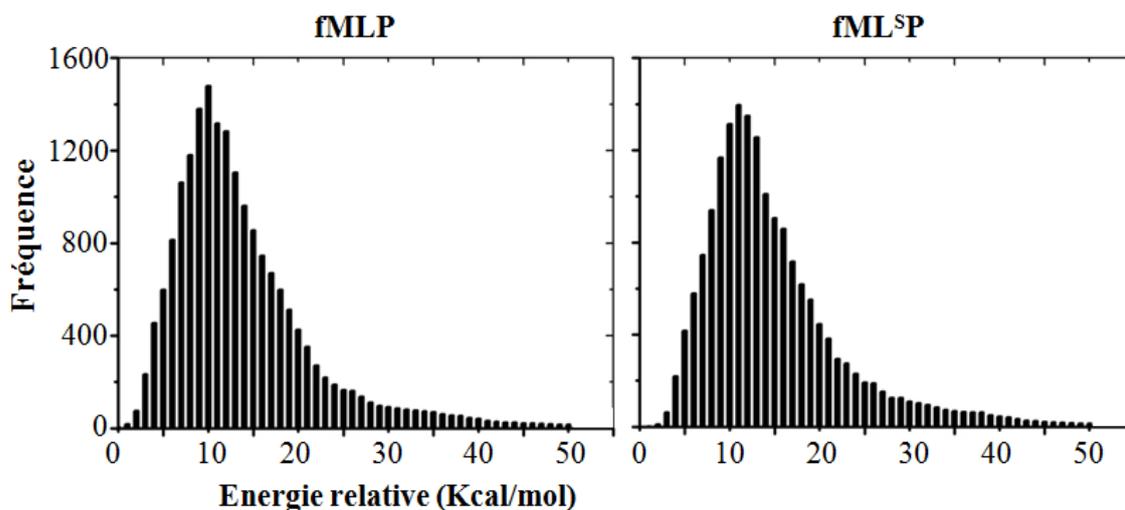


Figure 20 : Histogrammes énergétiques des conformères minimisés pour fMLP-OMe et fML<sup>S</sup>P-OMe.

#### IV.2.2 Présentation des conformères les plus stables

Pour étudier les préférences structurales des deux molécules peptidiques étudiées, nous avons considéré les 50 conformères les plus stables issus de la seconde minimisation pour chacune d'elles. Les tableaux 4 et 5 présentent les caractéristiques conformationnelles de ces conformères (en indiquant la présence ou non de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les différents donneurs et accepteurs). Ils sont numérotés selon l'ordre croissant des énergies libres. Les énergies conformationnelles relatives ( $\Delta E$ ) sont données par rapport aux deux minimums globaux : le conformère 7 ( $E_0 = -5,65$  kcal/mol) pour fMLP-OMe et le conformère 3 ( $E_0 = -4,65$  kcal/mol) pour fML<sup>S</sup>P-OMe. Les valeurs de l'énergie libre relative ( $\Delta G$ ) ont été calculées par rapport aux mêmes conformères correspondants aux minimums globaux et à  $T = 300$  K. Les contributions entropiques ( $-T\Delta S_i$ ) ainsi que les poids statistiques ( $W_i$ ) sont aussi présentés. Les conformères sont regroupés en des classes ayant les mêmes caractéristiques structurales (tournant  $\beta$ , tournants  $\gamma$  et double tournant  $\gamma$ ).

Les angles dièdres des cinquante conformères du peptide parent et de son analogue thioamide sont présentées dans l'annexe C.

**Chapitre 4** : Analyse conformationnelle comparative du peptide chimiotactique fMLP-OMe et son analogue thioamide fML<sup>S</sup>P-OMe

Tableau 4 : Caractéristiques conformationnelles de fMLP-OMe<sup>a</sup>.

	Conf	$\Delta G_i^b$	$\Delta E_i^c$	$-T\Delta S_i^d$	$W_i^e$	For	Met	Leu	Phe
<b>1<sup>ère</sup> classe</b>	2	-0,77	1,76	-2.54	0.1035	CO			NH
	3	-0,39	0,59	-0.98	0.0543				
	4	-0,15	1,56	-1.71	0.0363	CO			NH
	5	-0,02	1,63	-1.66	0.0294				
	6	-0,01	2,42	-2.44	0.0289				
	11	0,15	2,63	-2.49	0.0221				
	12	0,17	1,71	-1.54	0.0211				
	13	0,18	2,61	-2.43	0.0210				
	15	0,30	2,13	-1.83	0.0172				
	18	0,41	1,53	-1.12	0.0142				
	23	0,53	2,14	-1.61	0.0116				
	28	0,74	1,15	-0.41	0.0081	CO			NH
	29	0,77	1,91	-1.14	0.0078				
	36	0,93	2,66	-1.73	0.0059				
	37	0,95	2,15	-1.20	0.0057				
42	1,03	2,67	-1.64	0.0050	CO			NH	
43	1,06	2,11	-1.05	0.0048	CO			NH	
<b>2<sup>ème</sup> classe</b>	1	-0,81	1,43	-2.24	0.1103		CO		NH
	16	0,34	2,34	-2.00	0.0159		CO		NH
	19	0,45	2,68	-2.23	0.0133		CO		NH
	20	0,46	1,73	-1.27	0.0131		CO		NH
	21	0,48	1,54	-1.06	0.0126				
	33	0,87	1,97	-1.09	0.0065		CO		NH
	38	0,95	2,78	-1.83	0.0057				
	41	1,01	1,41	-0.39	0.0052		CO		NH
	44	1,06	2,79	-1.73	0.0048		CO		NH
	46	1,11	2,49	-1.38	0.0044		CO		NH
	48	1,18	2,59	-1.42	0.0039		CO		NH
49	1,29	2,34	-1.05	0.0033		CO		NH	
<b>3<sup>ème</sup> classe</b>	8	0,11	2,43	-2.32	0.0236	CO		NH	
	10	0,14	2,08	-1.94	0.0224	CO		NH	
	17	0,36	1,37	-1.01	0.0154	CO		NH	
	26	0,63	1,96	-1.34	0.0099	CO		NH	
	31	0,82	2,46	-1.64	0.0072	CO		NH	
	34	0,89	1,68	-0.80	0.0064	CO		NH	
	45	1,10	2,57	-1.47	0.0045	CO		NH	
<b>4<sup>ème</sup></b>	7	0,00	0,00	0.00	0.0283	CO	CO	NH	NH
	27	0,72	1,51	-0.80	0.0085	CO	CO	NH	NH
	32	0,86	2,07	-1.21	0.0067	CO	CO	NH	NH
<b>Conformères restant</b>	9	0,14	2,06	-1.92	0.0224				
	14	0,29	2,01	-1.72	0.0173				
	22	0,52	2,56	-2.04	0.0119				
	24	0,54	2,72	-2.18	0.0114				
	25	0,62	2,71	-2.09	0.0101				
	30	0,81	2,32	-1.51	0.0072				
	35	0,90	2,56	-1.66	0.0062				
	39	0,96	1,87	-0.91	0.0057				
	40	1,00	2,08	-1.07	0.0052				
	47	1,15	2,23	-1.08	0.0041				
	50	1,31	2,44	-1.13	0.0031				

d. Les 50 premières conformations d'énergies libres minimales sont énumérées.

e. Énergie libre relative :  $\Delta G_i = G_i - G_0$ .  $G_0$  est l'énergie libre de la conformation ayant  $E_i = E_0$ .

f. Énergie conformationnelle relative :  $\Delta E_i = E_i - E_0$ .  $E_0$  (fMLP) = - 5,65 kcal/mol.

g. Contribution entropique :  $-T\Delta S = \Delta G - \Delta E$ , à T=300K.

a. Poids statistique des conformères :  $W_i$ .

**Chapitre 4** : Analyse conformationnelle comparative du peptide chimiotactique fMLP-OMe et son analogue thioamide fML<sup>SP</sup>-OMe

Tableau 5 : Caractéristiques conformationnelles de fML<sup>SP</sup>-OMe<sup>a</sup>.

	Conf	$\Delta G_i^b$	$\Delta E_i^c$	$-T\Delta S_i^d$	$W_i^e$	For	Met	ThioLeu	Phe
<b>1<sup>ère</sup> classe</b>	2	-0.43	1.78	-2.21	0.0817	CO			NH
	4	-0.01	1.78	-1.79	0.0400	CO			NH
	5	0.10	2.61	-2.51	0.0336				
	6	0.19	1.96	-1.77	0.0290				
	8	0.22	1.81	-1.59	0.0276				
	12	0.50	2.46	-1.96	0.0170				
	16	0.83	1.98	-1.15	0.0098				
	18	0.90	1.38	-0.48	0.0088	CO			NH
	19	0.90	2.06	-1.16	0.0088				
	20	0.90	2.13	-1.23	0.0088	CO			NH
	21	0.95	2.23	-1.28	0.0081	CO			NH
	23	1.07	1.34	-0.27	0.0066				
	24	1.09	2.30	-1.21	0.0064				
	25	1.12	2.81	-1.7	0.0061	CO			NH
	26	1.12	3.00	-1.88	0.0060	CO			NH
	31	1.44	2.01	-0.57	0.0036	CO			NH
	41	1.81	2.20	-0.39	0.0019	CO			NH
	47	2.08	3.15	-1.07	0.0012				
	49	2.16	3.10	-0.94	0.0011				
<b>2<sup>ème</sup></b>	1	-0.87	1.42	-2.3	0.1719		CO		NH
	13	0.83	1.98	-1.15	0.0098		CO		NH
<b>3<sup>ème</sup> classe</b>	9	0.24	3.04	-2.8	0.0265	CO		NH	
	10	0.26	2.67	-2.41	0.0258	CO		NH	
	14	0.69	1.03	-0.34	0.0124	CO		NH	
	17	0.88	2.63	-1.74	0.0090	CO		NH	
	22	1.02	3.65	-2.63	0.0071	CO		NH	
	27	1.20	3.24	-2.04	0.0053	CO		NH	
	28	1.29	2.92	-1.63	0.0045	CO		NH	
	30	1.34	3.30	-1.97	0.0042	CO		NH	
	32	1.48	3.63	-2.15	0.0033	CO		NH	
	33	1.53	3.00	-1.47	0.0031	CO		NH	
	36	1.61	2.09	-0.48	0.0026	CO		NH	
	38	1.69	3.47	-1.77	0.0023	CO		NH	
	42	1.85	2.78	-0.93	0.0018	CO		NH	
	43	1.86	3.79	-1.93	0.0017	CO		NH	
	44	2.00	3.87	-1.87	0.0014	CO		NH	
	48	2.13	2.55	-0.42	0.0011	CO		NH	
	50	2.29	2.84	-0.55	0.0008	CO		NH	
<b>4<sup>ème</sup></b>	3	0.00	0.00	0.00	0.0403	CO	CO	NH	NH
	37	1.69	2.68	-0.99	0.0023	CO	CO	NH	NH
	39	1.74	2.91	-1.17	0.0021	CO	CO	NH	NH
	45	2.03	1.50	0.53	0.0013	CO	CO	NH	NH
<b>Conformères restant</b>	7	0.20	2.58	-2.39	0.0285				
	11	0.39	2.33	-1.95	0.0206				
	15	0.74	3.03	-2.3	0.0115				
	29	1.29	3.21	-1.91	0.0045				
	34	1.53	3.26	-1.73	0.0031				
	35	1.54	2.92	-1.39	0.0030				
	40	1.79	3.38	-1.6	0.0020				
46	2.03	4.20	-2.17	0.0013					

- a. Les 50 premières conformations d'énergies libres minimales sont énumérées.  
b. Énergie libre relative :  $\Delta G_i = G_i - G_0$ .  $G_0$  est l'énergie libre de la conformation ayant  $E_i = E_0$ .  
c. Énergie conformationnelle relative :  $\Delta E_i = E_i - E_0$ .  $E_0$  (fML<sup>SP</sup>) = -4,65 kcal/mol.  
d. Contribution entropique :  $-T\Delta S = \Delta G - \Delta E$ , à T=300K.  
e. Poids statistique des conformères :  $W_i$ .

### IV.2.3 Analyse conformationnelle

L'analyse conformationnelle des cinquante conformères les plus stables du peptide parent fMLP-OMe (tableau 4) montre qu'il peut adopter des structures conformationnelles variées, dont la majorité peut être répartie en quatre classes. La figure 21 présente les liaisons hydrogène stabilisant les conformères des différentes classes.

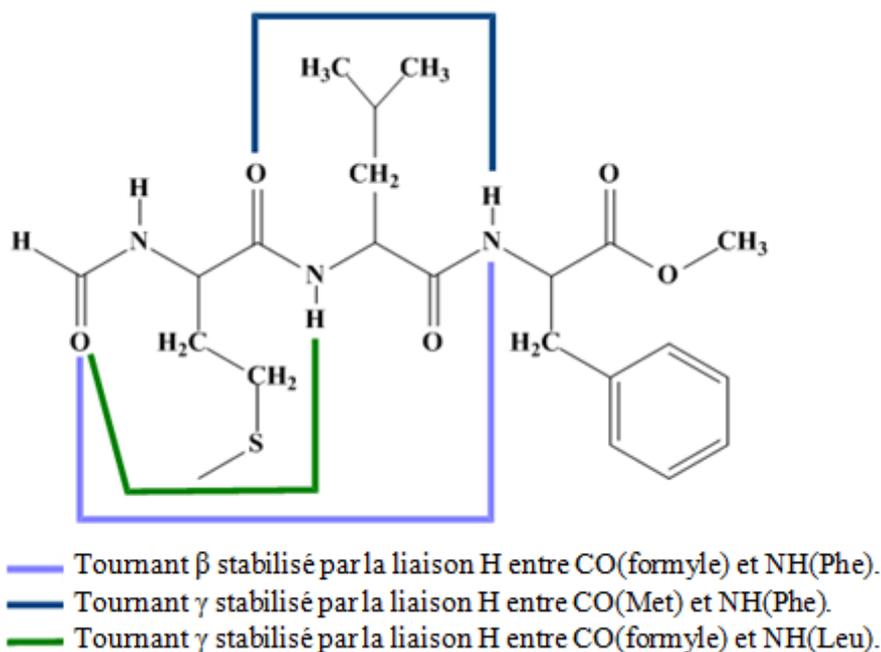


Figure 21 : Liaisons hydrogène stabilisant les conformères des différentes classes obtenues pour fMLP-OMe.

La première classe est représentée par dix-sept conformères qui adoptent une structure en tournants  $\beta$  centrée sur la méthionine et la leucine. Cinq d'entre eux sont stabilisés par une liaison hydrogène entre CO(formyle) et NH(Phe) : conformères (2, 4, 28, 42, et 43), et douze adoptent cette structure en tournants  $\beta$ , mais sans que la liaison hydrogène ne soit établie : conformères (3, 5, 6, 11, 12, 13, 15, 18, 23, 29, 36 et 37). La figure 22.a donne la vue stéréoscopique de la superposition des conformères appartenant à cette classe, de laquelle on peut voir qu'ils sont similaires, surtout au niveau de la chaîne principale. Les chaînes latérales de la méthionine et la leucine sont orientées de deux façons différentes, tandis que celle du résidu phénylalanine peut tourner plus librement.

Il est intéressant de noter que plusieurs auteurs [80,81,124–129] ont suggéré cette structure pour divers analogues de fMLP-OMe, et ce, en utilisant les méthodes spectroscopiques RX, RMN et IR ainsi que la modélisation moléculaire.

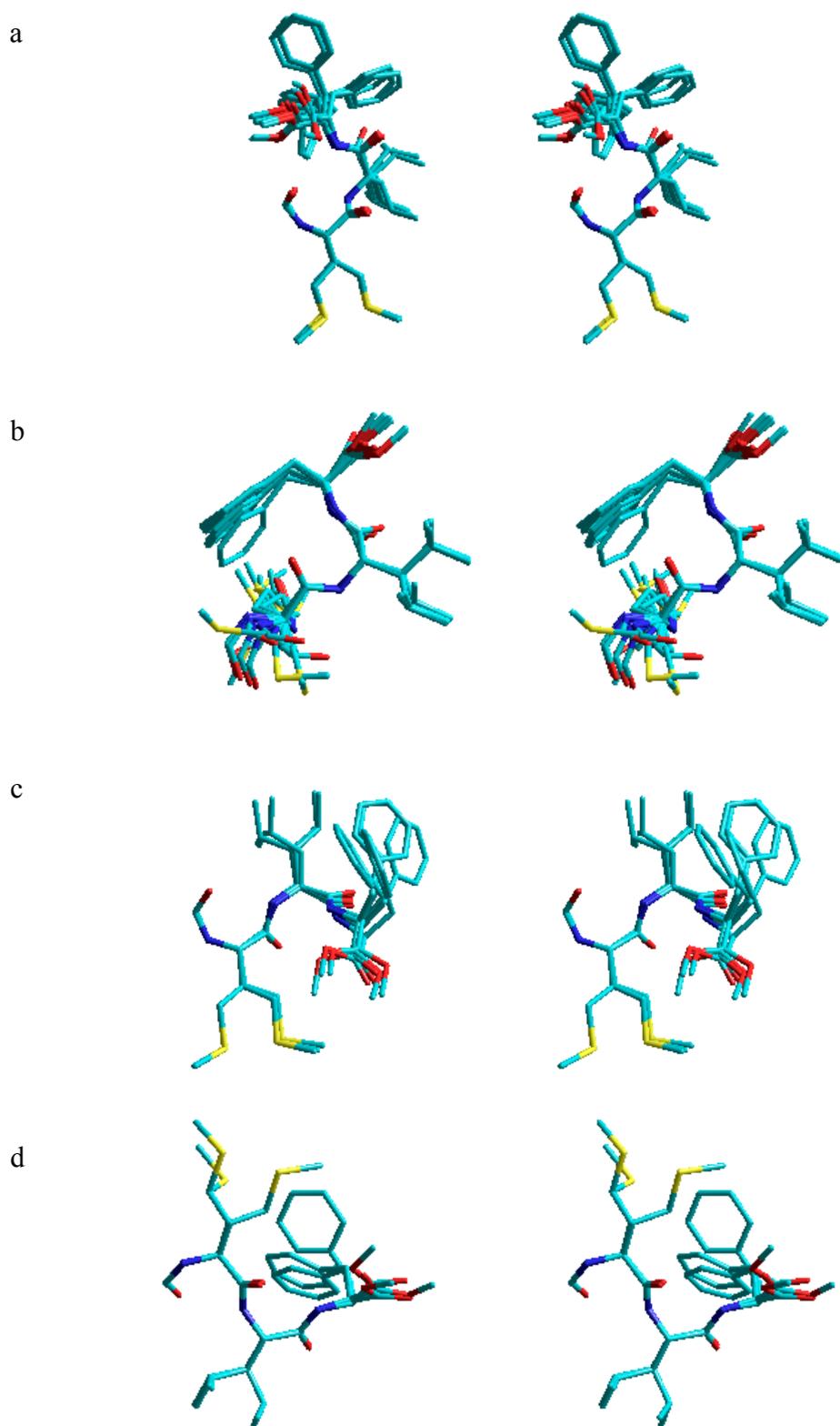


Figure 22 : Vues stéréoscopiques des superpositions des conformères de différentes classes obtenues pour fMLP-OMe. a) Tournant  $\beta$ , b) Tournant  $\gamma$  centré sur Leu, c) Tournant  $\gamma$  centré sur Met, d) Double tournant  $\gamma$ .

La figure 23 montre la vue stéréoscopique de la superposition de notre structure en tournant  $\beta$  (conformère 2, tableau 4) avec celles proposées par la littérature pour l'analogue Boc-Met-Aib-Phe-OMe [125], l'analogue formyl-Met- $\Delta^Z$ Leu-Phe-OMe [128] et l'analogue formyl-Met-Acc<sub>8</sub>-Phe-OMe [126]. Cette superposition montre qu'il y a une grande ressemblance au niveau de la chaîne principale et que les seules différences avec notre structure résident dans l'orientation des chaînes latérales des résidus Met et Phe.

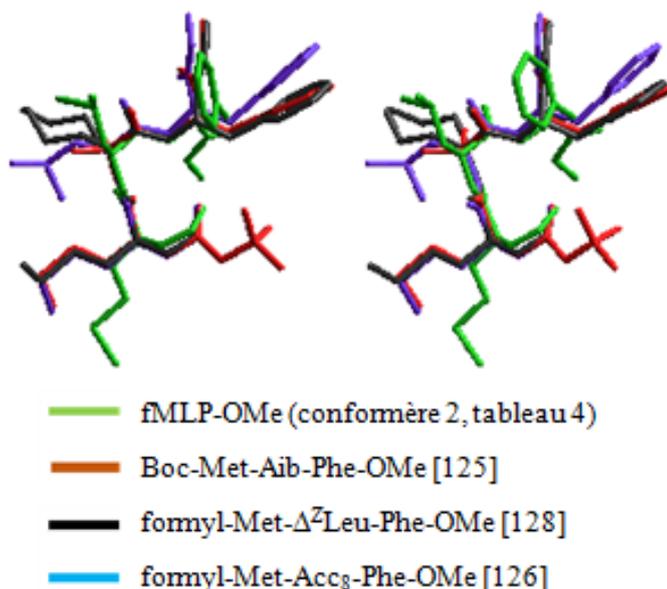


Figure 23 : Vue stéréoscopique de la superposition du conformère 2, tableau 4, avec ceux de la littérature adoptant une structure en tournant  $\beta$ .

La seconde classe comprend douze conformères adoptant une structure en tournant  $\gamma$  centrée sur le résidu Leu, dont dix sont stabilisés par une liaison hydrogène intramoléculaire impliquant CO(Met) et NH(Phe) (conformères 1, 16, 19, 20, 33, 41, 44, 46, 48 et 49). Notons ici que le conformère le plus stable d'un point de vue énergie libre appartient à cette classe. La figure 22.b présente la vue stéréoscopique de la superposition des conformères de cette classe et montre que la principale variabilité réside dans la chaîne latérale de la méthionine.

En utilisant la spectroscopie RMN, cette structure a été déjà trouvée pour les analogues formyl-Met-Aib-Phe-OH [130] et formyl-Met-Pro-Phe-OMe [131]. Selon des études par spectroscopie IR et Dichroïsme Circulaire [132], la structure a été aussi proposée pour formyl-Met-Leu-Cha-OMe et fMLP-OMe. La superposition de la structure minimisée de cette dernière en utilisant la procédure Monte Carlo Métropolis [133] avec notre structure en tournant  $\gamma$  centrée sur Leu (conformère 1, tableau 4) est présentée en vue stéréoscopique à la figure 24. De cette superposition, on peut remarquer la grande ressemblance entre les deux structures.

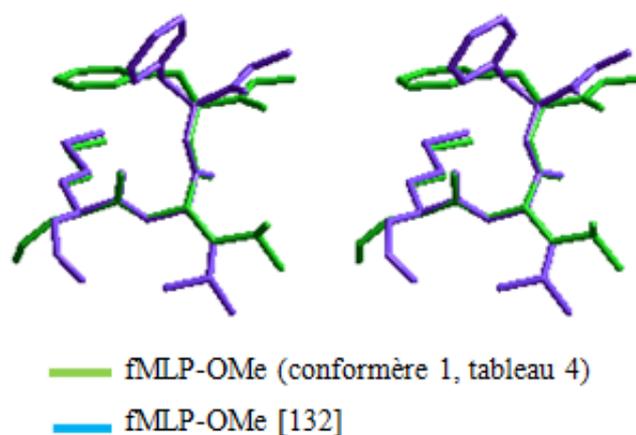


Figure 24 : Vue stéréoscopique de la superposition du conformère 1, tableau 4, adoptant une structure en tournant  $\gamma$  centrée sur Leu avec celui de la référence [132].

La troisième classe est celle des conformères caractérisés par la présence d'une autre structure en tournant  $\gamma$  centrée cette fois sur le résidu Met, et représentée par sept conformères (8, 10, 17, 26, 31, 34 et 45). Cette structure est stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire impliquant CO(formyle) et NH(Leu). La vue stéréoscopique de la superposition des conformères appartenant à cette classe est présentée à la figure 22.c.

La quatrième classe rassemble les structures en double tournant  $\gamma$  (un tournant  $\gamma$  centré sur Met et un autre centré sur Leu en même temps) et comprend trois conformères (7, 27, et 32). La vue stéréoscopique de la superposition des trois conformères de cette classe est présentée à la figure 22.d. Selon une étude par modélisation moléculaire, Michel et al. [75] ont proposé cette structure comme étant précurseur rigidifié de la conformation étendue, après la rupture des liaisons hydrogène suite à des interactions externes.

Les onze conformères restants et n'appartenant à aucune des classes présentées ci-dessus, sont principalement stabilisés par des interactions hydrophobes et caractérisés par des termes entropiques favorables conduisant à des valeurs faibles en énergie libre. Cette dernière observation est illustrée par l'exemple du conformer 9 (tableau 4).

Pour l'analogue thioamide fML<sup>S</sup>P-OMe, le tableau 5 montre que les structures préférées sont distribuées sur les mêmes classes trouvées pour fMLP-OMe : 19 conformères appartiennent à la première classe (tournant  $\beta$ ), 2 à la seconde (tournant  $\gamma$  centré sur Leu), 17 à la troisième (tournant  $\gamma$  centré sur Met), et 4 conformères à la quatrième classe (double tournant  $\gamma$ ).

Les vues stéréoscopiques des superpositions des structures de ces classes sont présentées à la figure 25.

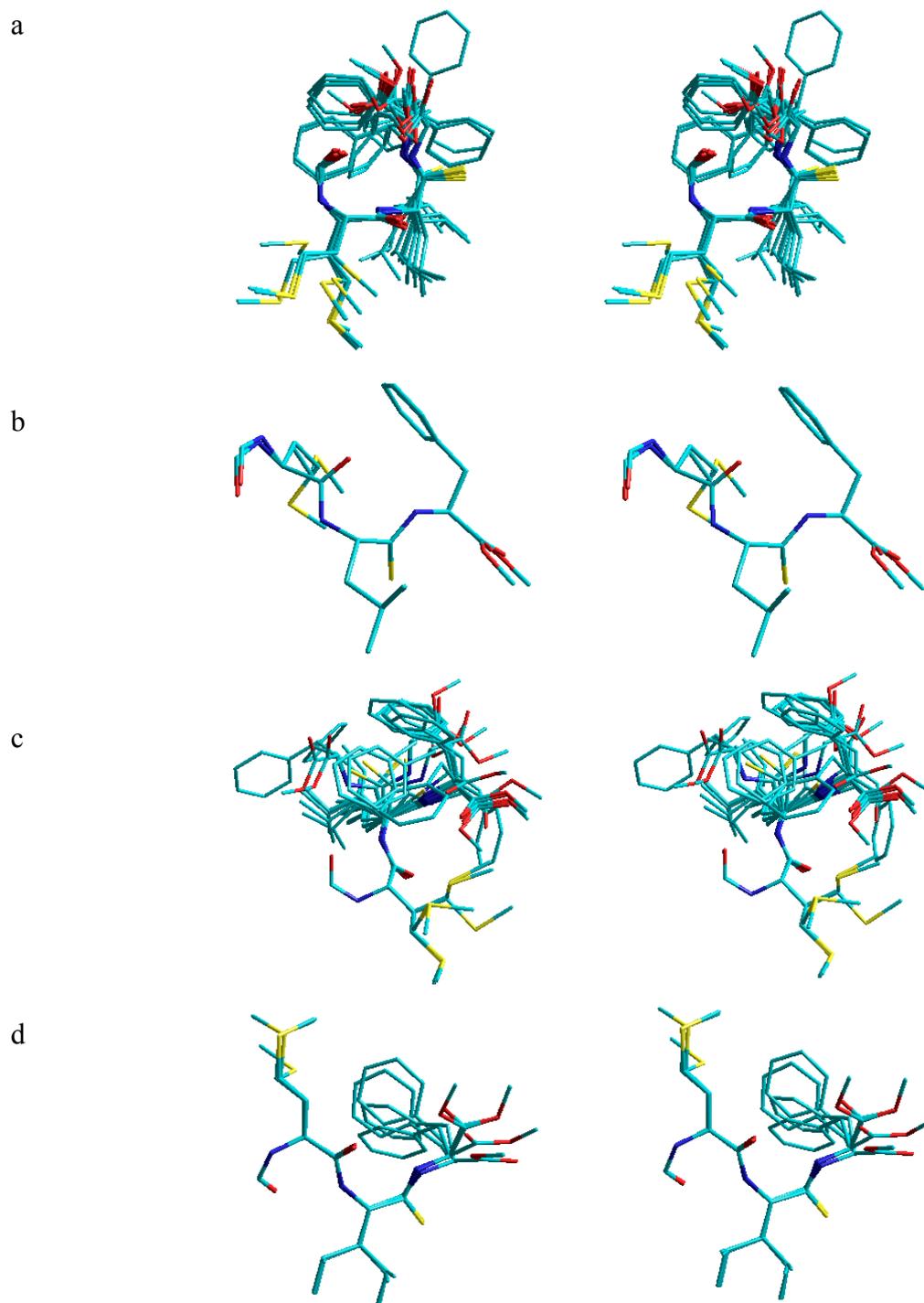


Figure 25 : Vues stéréoscopiques des superpositions des conformères de différentes classes obtenues pour fML<sup>S</sup>P-OMe. a) Tournant  $\beta$ , b) Tournant  $\gamma$  centré sur Leu, c) Tournant  $\gamma$  centré sur Met, d) Double tournant  $\gamma$ .

#### IV.2.4 Discussion

La principale différence structurelle qui peut expliquer la chute dramatique de l'activité de fML<sup>S</sup>P-OMe, par rapport à celle du peptide parent fMLP-OMe, peut être déduite directement de la comparaison des tableaux 4 et 5. Et ce, en considérant le nombre de fois où les deux pharmacophores CO(formyle) et NH(Leu) sont impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires dans les deux cas. Pour fML<sup>S</sup>P-OMe inactif, le groupe CO(formyle) agit comme accepteur 30 fois : Tournant  $\beta$  (C<sup>10</sup>) 9 fois et tournant  $\gamma$  (C<sup>7</sup>) 21 fois. Contrairement au peptide parent fMLP-OMe actif, la situation est très différente car ce groupe n'est impliqué que 15 fois dans les liaisons hydrogène intramoléculaires : Tournant  $\beta$  (C<sup>10</sup>) 5 fois et tournant  $\gamma$  (C<sup>7</sup>) 10 fois. De même, le groupe NH(Leu) est impliqué dans les liaisons hydrogène 21 fois pour fML<sup>S</sup>P-OMe et seulement 10 fois pour fMLP-OMe. Ce résultat est en accord parfait avec la littérature [75,128,134–141] qui souligne sur l'importance de la disponibilité de ces deux groupes dans la formation du complexe substrat-récepteur.

La structure native des analogues de fMLP peut être déduite en comparant les préférences conformationnelles des deux tripeptides pour les conformères que nous avons présentés dans les tableaux 4 et 5.

Le fait que nous avons trouvé presque le même nombre de conformères adoptant la structure en tournant  $\beta$  (1<sup>ère</sup> classe, figure 22.a) pour le peptide actif fMLP-OMe (17 fois), et pour son analogue inactif fML<sup>S</sup>P-OMe (19 fois), rejette la proposition que cette structure puisse être la conformation active des peptides chimiotactiques. En effet, si cette structure était active, l'analogue thioamide l'aurait aussi.

La structure en double tournant  $\gamma$  (4<sup>ème</sup> classe, figure 22.d) sera également rejetée pour la même raison. Le peptide actif fMLP-OMe adopte cette structure 3 fois et fML<sup>S</sup>P-OMe, dépourvu de toute activité, l'adopte 4 fois.

La structure en tournant  $\gamma$  centrée sur le résidu Met (3<sup>ème</sup> classe, figure 22.c) est plus préférée par l'analogue thioamide inactif (17 fois, tableau 5) comparé au peptide parent (7 fois, tableau 4). En conséquence, ses chances d'être la structure native deviennent faibles. Notons ici que dans cette structure les deux groupes CO(formyle) et NH(Leu) sont impliqués dans une liaison hydrogène intramoléculaire, ce qui diminue leur disponibilité de participer dans le processus de la reconnaissance moléculaire, et justifie l'inactivité de l'analogue thionylé. Il est très important de rappeler que la large préférence de fML<sup>S</sup>P-OMe à adopter cette structure plus que fMLP-OMe

n'est pas un coup de chance, puisque les conformations de départ générées pour les deux molécules étaient identiques.

La structure en tournant  $\gamma$  centrée sur la leucine (2<sup>ème</sup> classe, figure 22.b) semble être la structure native des analogues de fMLP-OMe. Premièrement, parce qu'elle est plus préférée par le peptide parent actif fMLP-OMe (12 fois) que par son analogue inactif fML<sup>SP</sup>-OMe (2 fois). Deuxièmement, elle confirme l'importance des deux groupes CO(formyle) et NH(Leu) signalée précédemment. En effet, dans cette structure, les deux groupes ne sont impliqués dans aucune liaison hydrogène intramoléculaire, ceci nous permet de les suggérer comme pharmacophores responsables de la formation du complexe substrat-récepteur.

Puisque plusieurs structures (tournant  $\beta$ , tournant  $\gamma$ , étendue...) ont été proposées pour les analogues actifs de fMLP [80,81,126,142,143], et étant donné la grande importance des deux pharmacophores CO(formyle) et NH(position 2) démontrée dans cette étude, nous pouvons suggérer que dans le processus de la reconnaissance moléculaire, c'est le modèle « Induced fit » de Koshland [5] qui s'applique. Selon ce modèle, il n'est pas nécessaire pour la molécule d'adopter une structure secondaire spécifique (tournant  $\beta$ , tournant  $\gamma$ , étendue...), car n'importe quel conformère avec des limites raisonnables, peut être extrait de la solution pour se lier au récepteur. Pour les analogues actifs de fMLP, nous suggérons que le substrat s'attache au récepteur dans une première étape en proposant le CO du groupement formyle (condition nécessaire, mais non suffisante), et après plusieurs changements conformationnels du récepteur et du substrat, ce dernier propose le groupe NH (du résidu central) pour une interaction déterminante et constructive avec le récepteur. La figure 26 montre un schéma représentatif de ce modèle.

L'absence de données structurales émanant des études de l'interaction de fMLP avec ses récepteurs rend nécessaire une étude de docking pour valider d'une part le modèle que nous avons proposé et confirmer d'autre part l'importance des deux groupes CO(formyle) et NH(Leu) dans le processus de la reconnaissance moléculaire.

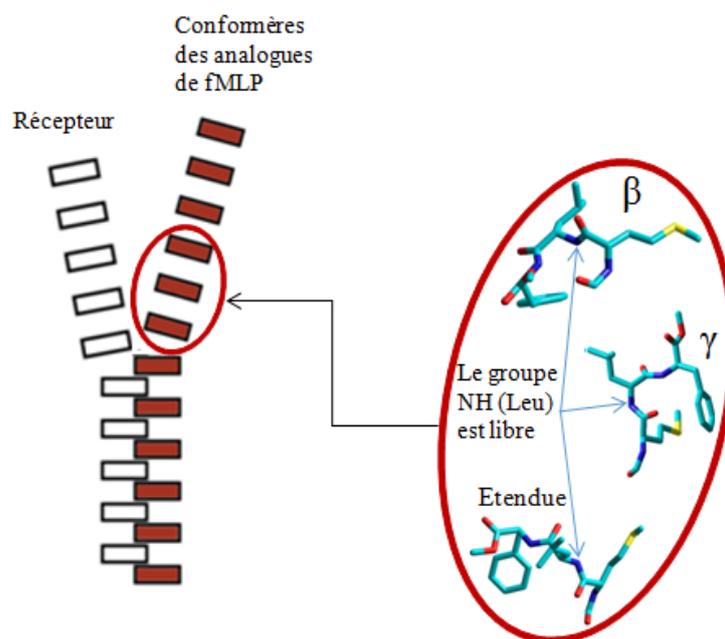


Figure 26 : Schéma représentatif du modèle de la fermeture éclair « Induced fit ».

## Conclusion

L'étude conformationnelle comparative du peptide chimiotactique fMLP-OMe et de son analogue fML<sup>S</sup>P-OMe nous a permis de déduire les préférences conformationnelles des peptides chimiotactiques et les exigences structurales des récepteurs de fMLP :

- La structure en tournant  $\gamma$  centrée sur le résidu central semble être la structure native des peptides chimiotactiques.
- Les deux groupes CO(formyle) et NH (Leu) ne doivent pas être impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires pour qu'ils soient disponibles pour une interaction constructive avec le récepteur.
- L'analogue inactif fML<sup>S</sup>P-OMe préfère une structure en tournant  $\gamma$  centrée sur le résidu Met.

Nos résultats et l'examen attentif de la littérature nous ont permis de suggérer le modèle de la fermeture éclair « Induced-fit » dans le processus de la reconnaissance moléculaire, et que l'activité des analogues de fMLP n'est pas liée à l'adoption d'une structure secondaire spécifique (tournant  $\beta$ , tournant  $\gamma$  ou étendue...), mais plutôt à la liberté et la disponibilité des groupes pharmacophores (CO(formyle) et NH(position 2)) pour former le complexe substrat-récepteur.

## Chapitre. 5 :

### Analyse conformationnelle comparative du peptide opiacé Leu-enképhaline et ses deux analogues thioamides (Thio-Gly2)-Leu-enképhaline et (Thio-Gly3)- Leu-enképhaline

#### Introduction

L'enképhaline est un pentapeptide endogène qui se lie aux récepteurs opiacés dans le système nerveux central, la moelle épinière et l'intestin. Il a une action semblable à la morphine inhibant la sensibilité de la douleur [144,145], la molécule a été découverte en 1973 par Pert et al. [146] puis elle a été identifiée deux ans plus tard par Hughes et al. [147] sous ses deux formes Leu-enképhaline (Tyr1-Gly2-Gly3-Phe4-Leu5) et Met-enképhaline (Tyr1-Gly2-Gly3-Phe4-Met5). La figure 27 présente leurs structures.

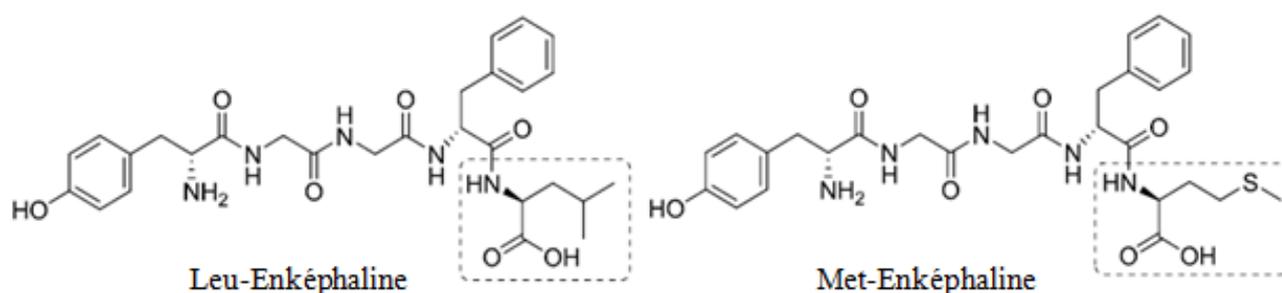


Figure 27 : Structures des deux formes de l'enképhaline.

En plus de son rôle analgésique, l'enképhaline est connue pour être impliquée dans un grand nombre de processus physiologiques et émotionnels [144,148–150]. Mais ce pentapeptide à une courte durée de vie, il subit rapidement l'hydrolyse enzymatique [145]. Afin d'éviter sa biodégradation et de prolonger sa durée d'action, des chercheurs [151,152] ont choisi de produire les inhibiteurs des enzymes dégradant l'enképhaline, alors que d'autres [153,154] ont essayé

d'introduire des modifications sur la molécule mère pour la rendre résistante à l'hydrolyse enzymatique.

En adoptant cette dernière approche, Clausen et al. [155] et Lajoie et al. [156] ont synthétisé des analogues thioamides de Leu-Enképhaline, où les liaisons amide ont été substituées par des liaisons thioamide. L'activité de ces analogues ainsi que celle du peptide parent ont été mesurées [156], et cela en utilisant des préparations d'iléon de cobaye « guinea pig ileum » (GPI) et du canal déférent de la souris « Mouse Vas Deferens » (MVD). Les effets analgésiques après administration intracérébroventriculaire ainsi que la capacité à déplacer le [<sup>3</sup>H]-D-Ala2-D-Leu5-Enképhaline (DADLE) et le [<sup>3</sup>H]-Dihydromorphine à partir des homogénats de cerveau du rat ont été évalués pour chaque analogue. Les résultats de ces tests ont montré que selon la position de la fonction thioamide dans la chaîne principale de la molécule, l'activité peut augmenter ou diminuer : Augmente de 2 à 9 fois pour l'analogue (Thio-Gly2)-Leu-Enképhaline par rapport au peptide parent, mais diminue jusqu'à 6 fois pour l'analogue (Thio-Gly3)-Leu-Enképhaline. Le tableau 6 présente ces résultats.

Tableau 6 : Puissances inhibitrices relatives de Leu-Enképhaline et ses deux analogues thionylés sur les contractions induites électriquement de (GPI) et du (MVD), et sur la liaison avec le [<sup>3</sup>H]-DADLE et le [<sup>3</sup>H]-Dihydromorphine à partir des homogénats de cerveau du rat.

Composés opiacés	ID <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	Puissance relative <sup>b</sup> (%)	ID <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	Puissance relative <sup>b</sup> (%)
	GPI		MVD	
<b>Leu-Enk</b>	420 ± 130	100	10 ± 2	100
<b>(Thio-Gly2)-Leu-Enk</b>	160 ± 25	262	1.1 ± 0.9	909
<b>(Thio-Gly3)-Leu-Enk</b>	375 ± 70	112	65 ± 15	15
	<b>[<sup>3</sup>H]-DADLE</b>		<b>[<sup>3</sup>H]-Dihydromorphine</b>	
<b>Leu-Enk</b>	45 ± 3	100	25 ± 2	100
<b>(Thio-Gly2)-Leu-Enk</b>	9,5 ± 1	473	11 ± 1	227
<b>(Thio-Gly3)-Leu-Enk</b>	95 ± 5	47	50 ± 3	50

<sup>a</sup> Concentration qui donne un demi-effet maximal.

<sup>b</sup> Par rapport à Leu-Enk.

Dans le but d'expliquer la différence d'activité entre le peptide parent Leu-Enk et ses deux analogues (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk, dont les structures sont présentées à la

figure 28, nous avons décidé de traiter le problème d'un point de vue structural en utilisant la méthode PEPSEA. Aussi, avons-nous voulu proposer la conformation native des peptides opiacés analogues de Leu-Enképhaline.

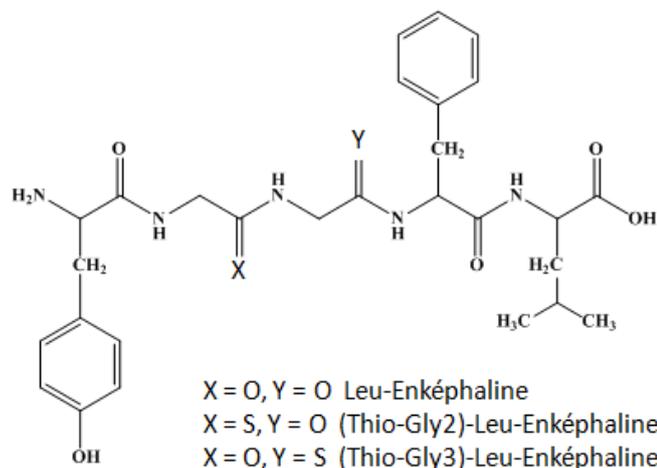


Figure 28 : Structure de Leu-Enk, (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk.

## V.1 Calcul conformationnel

Le programme PEPSEA, décrit dans le 2<sup>ème</sup> chapitre, a permis la recherche conformationnelle et la localisation des conformères les plus stables des trois pentapeptides considérés Leu-Enk, (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk. Pour chacun d'eux, 50.000 conformations de départ ont été générées aléatoirement. Ensuite, chaque structure de départ a subi une minimisation pour converger vers le minimum local le plus proche. Durant cette minimisation, tous les angles dièdres ont été autorisés à varier sauf ceux des liaisons amide  $\omega$  (Tyr1),  $\omega$ (Gly2),  $\omega$ (Gly3),  $\omega$ (Phe4) et  $\omega$ (Leu5) qui ont été fixées à 180 °.

Pour chaque peptide, les 100 premières conformations dont les énergies conformationnelles sont les plus faibles ont été soumises à une seconde minimisation de l'énergie, permettant cette fois à tous les angles dièdres de varier. Pour chacun de ces 100 minima, la matrice Hessienne a été calculée et l'énergie libre a été évaluée à 300 K [86]. Les conformations résultantes ont été classées par ordre croissant de leur énergie libre.

Pour que la comparaison soit justifiée, nous avons veillé à ce que les 50.000 conformations de départ générées pour les trois molécules soient identiques.

Les angles de torsion des quarante conformères du peptide parent et ses deux analogues thioamides sont présentés dans l'annexe C.

## V.2 Résultats et discussion

### V.2.1 Présentation des conformères générés

Pour l'évaluation de l'efficacité de la minimisation, nous avons étudié les distributions énergétiques des 50.000 conformères minimisés pour les trois molécules : Leu-Enk, (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk. La figure 29 présente ces distributions.

D'après ces graphes, on peut constater que les conformères générés et soumis à la minimisation sont regroupés en une seule distribution ayant une forme gaussienne, et cela pour les trois molécules étudiées. Cette observation confirme l'efficacité du processus de minimisation et que les angles dièdres variables ont été bien choisis.

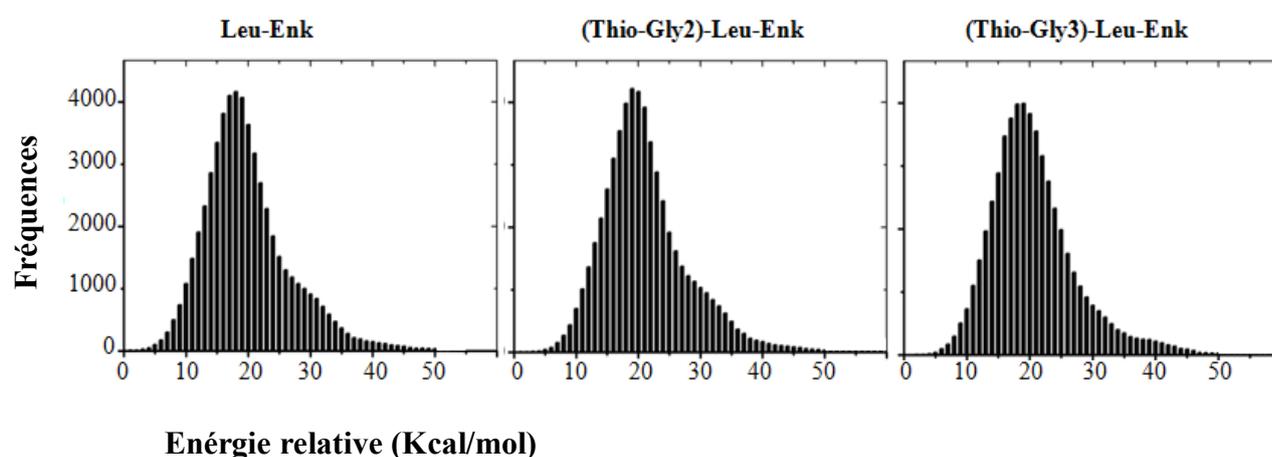


Figure 29 : Distributions énergétiques des conformères minimisés pour Leu-Enk, (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk.

### V.2.2 Présentation des conformères les plus stables

Les tableaux (7, 8 et 9) présentent les caractéristiques conformationnelles des quarante conformères les plus stables obtenus après la deuxième minimisation pour chacun des trois pentapeptides (en indiquant la présence ou non de liaisons hydrogène intramoléculaires). Les conformères sont numérotés par ordre croissant des énergies libres et sont regroupés en classes ayant les mêmes caractéristiques structurales. Les énergies conformationnelles relatives ( $\Delta E$ ) sont données par rapport aux minimums globaux : conformère 5 ( $E_0 = -11,82$  kcal/mol) pour Leu-Enk, conformère 1 ( $E_0 = -10,57$  kcal/mol) pour (Thio-Gly2)-Leu-Enk et conformère 3 ( $E_0 = -10,017$  kcal/mol) pour (Thio-Gly3)-Leu-Enk. Les valeurs de l'énergie libre relative ( $\Delta G$ ) ont été calculées par rapport aux mêmes conformères à  $T = 300$  K. Les nombres d'occurrences (Occ) représentant le nombre de fois qu'un conformère est trouvé sont aussi présentés.

**Chapitre 5** : Analyse conformationnelle comparative du peptide opiacé Leu-enképhaline et ses deux analogues thioamides (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk

Tableau 7 : Caractéristiques conformationnelles de Leu-Enképhaline <sup>a</sup>.

	Conf	$\Delta E_i^b$	$\Delta G_i^c$	Occ	Tyr1			Gly2		Gly3		Phe4		Leu5		OH
					NH	CO	lat	NH	CO	NH	CO	NH	CO	NH	CO	
1 <sup>ère</sup> classe	1	0,87	-1,07	1			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	3	1,26	-0,77	4			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	4	1,27	-0,64	3			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	5	0	0	1			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	6	0,56	0	1			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	8	1,71	0,22	2			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	9	1,9	0,25	3			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	11	0,91	0,47	3			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	12	0,64	0,51	1		CO	OH	NH	CO	NH			CO	NH	CO	
	13	0,78	0,61	2			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	15	2,01	0,71	2			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	19	2,17	0,81	1			OH		CO		CO			NH		
	22	2,22	1,16	2			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	23	2,43	1,17	1			OH		CO		CO			NH		
	25	3,4	1,26	1			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	30	1,51	1,47	1			OH	NH	CO		CO			NH	CO	
	31	2,99	1,49	1			OH		CO		CO			NH		
	32	1,3	1,5	1			OH	NH	CO				CO	NH	CO	
35	3,04	1,66	1			OH		CO		CO			NH			
38	2,73	1,75	2			OH	NH	CO		CO			NH	CO		
2 <sup>ème</sup> classe	10	3,81	0,38	1			OH		CO		CO	NH				
	14	1,42	0,66	1			OH	NH	CO		CO	NH			CO	
	17	2,46	0,76	2			OH		CO			NH	CO			
	21	2,75	1,07	1			OH		CO			NH	CO			
	24	3,28	1,18	1			OH	NH	CO		CO	NH			CO	
	28	3,88	1,38	1			OH		CO			NH			CO	
	29	3,28	1,45	2			OH		CO		CO	NH				
	34	3,47	1,63	1			OH		CO			NH	CO			
37	3,77	1,74	1			OH	NH	CO		CO	NH	CO				
3 <sup>ème</sup> classe	2	0,74	-0,85	1		CO	OH						CO			OH
	7	1,01	0,13	1		CO	OH						CO			OH
	16	2,45	0,74	1		CO	OH				CO					OH
	18	0,22	0,81	1		CO	OH				CO					OH
	20	1,62	0,86	1		CO	OH						CO			OH
	33	2,72	1,58	1		CO	OH						CO			OH
	40	3,01	1,76	1		CO	OH				CO					OH
4 <sup>ème</sup>	27	3,93	1,35	1		CO	OH					NH	CO			
	36	3,86	1,67	1		CO	OH					NH			CO	
	39	1,46	1,76	1	NH	CO	OH					NH	CO		CO	
26	3,31	1,27	1		CO	OH				NH			CO			

a. Les 40 premières conformations de plus basse énergie.

b.  $\Delta E_i = E - E_0$ .  $E_0$  (Leu-Enk) = -11,82 kcal/mol.

c.  $\Delta G_i = G - G_0$ .  $G_0$  est l'énergie libre de la conformation ayant  $E_i = E_0$ .

	Tournant $\beta$ centré sur Gly3-Phe4		Tournant $\gamma$ centré sur Gly3
	Pseudo cycle C <sup>16</sup>		Tournant $\beta$ centré sur Gly2-Gly3

**Chapitre 5** : Analyse conformationnelle comparative du peptide opiacé Leu-enképhaline et ses deux analogues thioamides (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk

Tableau 8 : Caractéristiques conformationnelles de (Thio-Gly2)-Leu-Enképhaline <sup>a</sup>.

	Conf	$\Delta E_i^b$	$\Delta G_i^c$	Occ	Tyr1		T-Gly2		Gly3		Phe4		Leu5		OH
					NH	CO	lat	NH	CS	NH	CO	NH	CO	NH	
1 <sup>ère</sup> classe	14	2.95	3.03	1			OH	NH		CO				CO	
	20	3.64	3.16	1			OH	NH		CO				CO	
	22	2.64	3.22	1			OH	NH		CO				CO	
	26	2.67	3.34	1			OH	NH		CO				CO	
	30	3,18	3,51	1			OH	NH		CO				CO	
	31	3.87	3.61	3			OH	NH		CO				CO	
	33	4,12	3,72	1			OH	NH		CO				CO	
	35	2,99	3,83	1			OH	NH		CO				CO	
	36	3,61	3,90	1			OH	NH		CO				CO	
3 <sup>ème</sup> classe	1	0	0.00	2		CO	OH					CO			OH
	2	1.3	1.60	1		CO	OH					CO			OH
	3	1.84	2.06	1		CO	OH					CO			OH
	4	0.62	2.07	2		CO	OH					CO			OH
	5	1.22	2.25	1		CO	OH			CO					OH
	8	1.75	2.77	1		CO	OH					CO			OH
	9	0.79	2.81	1		CO	OH			CO					OH
	10	1.08	2.81	2		CO	OH		NH			CO	CO		OH
	11	2.18	2.91	1		CO	OH					CO			OH
	13	2.24	3.01	1		CO	OH					CO			OH
	16	1.31	3.10	1		CO	OH			CO					OH
	17	1.21	3.11	1		CO	OH			CO					OH
	25	1.79	3.26	1		CO	OH			CO					OH
	28	2.57	3.43	1		CO	OH			CO					OH
	29	2.53	3.47	1		CO	OH			CO					OH
	32	4,74	3,65	1		CO	OH								OH
	34	2,26	3,83	1		CO	OH			CO					OH
	37	1,04	3,95	1		CO	OH			CO					OH
38	1,4	3,96	3		CO	OH			CO					OH	
4 <sup>ème</sup>	12	2.64	2.97	1		CO	OH				NH			CO	
	15	3.56	3.08	1		CO	OH				NH	CO		CO	
	21	0.87	3.18	2	NH	CO	OH				NH	CO		CO	
	27	3.71	3.35	1		CO	OH				NH			CO	
	40	4,83	4,13	1		CO	OH				NH	CO			
	7	0.03	2.72	1		CO	OH			NH			CO		
	18	3.16	3.11	1		CO	OH			NH			CO		
	23	3.37	3.24	1		CO	OH			NH			CO		
	24	3.99	3.25	1		CO	OH			NH			CO		
	6	4.33	2.49	1			OH					CO			
	19	4.32	3.11	1			OH					CO			
	39	4,2	4,08	2			OH					CO			

a. Les 40 premières conformations de plus basse énergie.

b.  $\Delta E_i = E_i - E_0$ .  $E_0$  ((Thio-Gly2)-Leu-Enk) = -10,57 kcal/mol.

c.  $\Delta G_i = G_i - G_0$ .  $G_0$  est l'énergie libre de la conformation ayant  $E_i = E_0$ .

	Tournant $\beta$ centré sur Gly3-Phe4		Tournant $\gamma$ centré sur Gly3
	Pseudo cycle C <sup>16</sup>		Tournant $\beta$ centré sur Gly2-Gly3

**Chapitre 5** : Analyse conformationnelle comparative du peptide opiacé Leu-enképhaline et ses deux analogues thioamides (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk

Tableau 9 : Caractéristiques conformationnelles de (Thio-Gly3)-Leu-Enképhaline <sup>a</sup>.

	Conf	$\Delta E_i^b$	$\Delta G_i^c$	Occ	Tyr1		Gly2		T-Gly3		Phe4		Leu5		OH
					NH	CO	lat	NH	CO	NH	CS	NH	CO	NH	
<b>1<sup>ère</sup></b>	<b>27</b>	<b>1.01</b>	<b>2.47</b>	<b>1</b>		OH	NH	CO				CO	NH	CO	
<b>2<sup>ème</sup> classe</b>	5	1.63	1.23	2		OH		CO				NH	CO		
	10	2.30	1.57	3		OH		CO				NH	CO		
	12	2.86	1.62	3		OH		CO				NH	CO		
	13	4.22	1.74	1		OH		CO				NH	CO		
	15	1.96	1.77	1		OH		CO				NH	CO		
	16	2.38	1.79	1		OH		CO				NH	CO		
	20	3.28	2.07	1		OH		CO				NH		CO	
	30	2.92	2.56	1		OH		CO				NH	CO		
<b>3<sup>ème</sup> classe</b>	1	0.30	-0.33	1			CO	OH					CO		OH
	2	0.75	-0.25	1			CO	OH					CO		OH
	3	0	0	1			CO	OH					CO		OH
	11	1.44	1.58	1			CO	OH					CO		OH
	29	2.24	2.50	1			CO	OH					CO		OH
	34	2,43	2,74	1			CO	OH					CO		OH
	36	1,06	2,85	1			CO	OH					CO		OH
<b>4<sup>ème</sup></b>	4	2.80	1.07	1			CO	OH				NH	CO		
	8	3.51	1.52	1			CO	OH				NH	CO		
	9	1.87	1.56	1			CO	OH				NH		CO	
	19	0.09	2.05	1	NH	CO	OH					NH	CO		CO
	25	3.89	2.34	1	NH	CO						NH	CO		
	28	1.17	2.48	1	NH	CO	OH					NH	CO		CO
	31	0,93	2,57	2	NH	CO	OH					NH	CO		CO
	39	4,18	2,92	2	NH	CO						NH	CO		
	40	4,21	2,95	1		CO	OH					NH	CO		
		6	2.15	1.23	1		CO	OH			NH			CO	
	7	2.54	1.27	2		CO	OH			NH			CO		
	14	4.36	1.75	1		CO	OH			NH			CO		
	17	3.14	1.84	2		CO	OH			NH				CO	
	18	4.49	1.87	1		CO	OH			NH			CO		
	24	4.11	2.31	1		CO	OH			NH			CO		
	26	4.40	2.40	1		CO	OH			NH			CO		
	33	4,15	2,72	1		CO	OH			NH			CO		
	38	3,85	2,9	1		CO	OH			NH			CO		
	21	3.80	2.08	1			OH						CO		
	22	3.88	2.27	1			OH							CO	
	23	3.82	2.29	1			OH						CO		
	32	3,79	2,69	1			OH						CO		
	35	3,25	2,83	1			OH							CO	
	37	3,23	2,86	1			OH						CO		

a. Les 40 premières conformations de plus basse énergie.

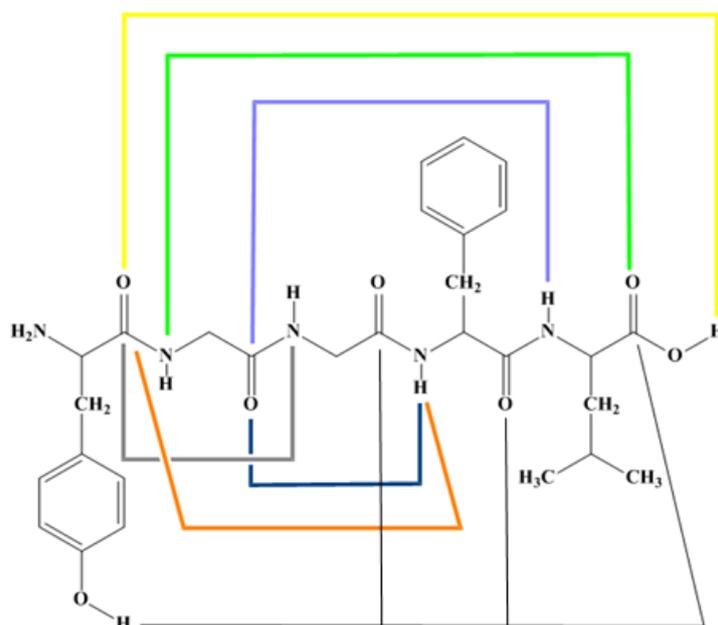
b.  $\Delta E_i = E_i - E_0$ .  $E_0$  ((Thio-Gly3)-Leu-Enk) = -10,02 kcal/mol.

c.  $\Delta G_i = G_i - G_0$ .  $G_0$  est l'énergie libre de la conformation ayant  $E_i = E_0$ .

	Tournant $\beta$ centré sur Gly3-Phe4		Tournant $\gamma$ centré sur Gly3
	Pseudo cycle C <sup>16</sup>		Tournant $\beta$ centré sur Gly2-Gly3

### V.2.3 Analyse conformationnelle

L'analyse conformationnelle des 40 conformères les plus stables du peptide parent Leu-Enképhaline (tableau 7) montre qu'il peut adopter des structures variées, qui peuvent être réparties en quatre classes. La figure 30 présente les liaisons hydrogène qui stabilisent les conformères des quatre classes.



- Tournant  $\beta$  centré sur Gly3-Phe4, stabilisé par la liaison H entre CO(Gly2) et NH(Leu5).
- Liaison hydrogène entre CO(Leu5) et NH(Gly2).
- Tournant  $\gamma$  centré sur Gly3 stabilisé par la liaison H entre CO(Gly2) et NH(Phe4).
- Liaison hydrogène entre CO(Tyr1) et OH(terminal).
- Tournant  $\beta$  centré sur Gly2-Gly3, stabilisé par la liaison H entre CO(Tyr1) et NH(Phe4).
- Tournant  $\gamma$  centré sur Gly2 stabilisé par la liaison H entre CO(Tyr1) et NH(Gly3).
- Liaison hydrogène entre OH (du groupe latéral de Tyr1) et CO des résidus Gly3, Phe4 et Leu5.

Figure 30 : Liaisons hydrogène stabilisant les conformères des différentes classes obtenues pour Leu-Enk.

La première classe est celle des conformères caractérisés par la présence de la structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4, elle est représentée par vingt conformères (1,3-6, 8, 9, 11-13, 15, 19, 22, 23, 25, 30-32, 35 et 38). Cette structure est stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire impliquant le groupe CO(Gly2) et le groupe NH(Leu5). Par des études RMN, spectrométrie de masse et spectroscopie infrarouge (IR), [157–162] cette structure a été proposée pour Leu-Enképhaline et Met-Enképhaline. En étudiant Leu-Enképhaline par diffraction RX,

plusieurs chercheurs [163–165] ont trouvé cette même structure, mais fusionnée à une autre structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly2-Gly3, qu'on va proposer dans la quatrième classe. Utilisant des méthodes théoriques, la structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4 a été proposée pour Leu et Met-Enképhaline ainsi que pour certains de leurs analogues [166–172]. La figure 31.a donne la vue stéréoscopique de la superposition des vingt conformères appartenant à cette classe. La majorité de ces conformères (15/20) sont stabilisés par une autre liaison hydrogène entre NH(Gly2) et CO(Leu5). Il est très intéressant de noter que cette classe contient 50 % des 40 conformères les plus stables étudiés et inclue le conformère ayant l'énergie libre la plus faible ainsi que le conformère le plus stable d'un point de vue énergie conformationnelle  $E_0$  (conformère 5). La structure de ce dernier est exactement la même trouvée par Meirovitch et al. [78] en utilisant la méthode PEPSEA combinée à la procédure SADA proposée par Meirovitch et Scheraga [173].

La seconde classe comprend neuf conformères (10, 14, 17, 21, 24, 28, 29, 34 et 37), elle est caractérisée par une structure en tournant  $\gamma$  centrée sur Gly3, stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire, impliquant CO(Gly2) et NH(Phe4). Les conformères de cette classe sont subdivisés en deux sous-classes. La première dans laquelle les conformères (10, 14, 24, 29 et 37) adoptent un tournant  $\gamma_D$  au niveau de Gly3 avec  $(\varphi, \psi) \approx (75, -75)$ . Michel et al. [73] ont déjà trouvé que Met-Enképhaline peut adopter cette structure. La seconde sous-classe rassemble les conformères (17, 21, 28 et 34) adoptant un tournant  $\gamma_L$  avec  $(\varphi, \psi) \approx (-75, 75)$ . Les deux figures 31.b<sub>1</sub> et b<sub>2</sub> montrent les vues stéréoscopiques des conformères de ces deux sous-classes.

La troisième classe est représentée par sept conformères (2, 7, 16, 18, 20, 33 et 40) et caractérisée par des structures repliées suite à la formation d'une liaison hydrogène entre CO(Tyr1) et OH(C-terminal), conduisant à la formation d'un pseudo cycle à 16 membres C<sup>16</sup>. La vue stéréoscopique de la superposition de ces sept conformères est présentée à la figure 31.c.

La quatrième classe est représentée seulement par 3 conformères (27, 36 et 39), adoptant une autre structure en tournant  $\beta$  centrée cette fois sur Gly2-Gly3, et stabilisée par une liaison hydrogène entre CO(Tyr1) et NH(Phe4). Utilisant la diffraction RX et la spectroscopie RMN, cette structure a été déjà proposée par Smith et al. [174] pour Leu-Enképhaline, par Blomberg et al. [175] pour Met et Leu-Enképhaline et par Ishida et al [176] . pour l'analogue [(4'-bromo)Phe4]-Leu-Enképhaline. La vue stéréoscopique des conformères appartenant à cette classe est présentée à la figure 31.d.

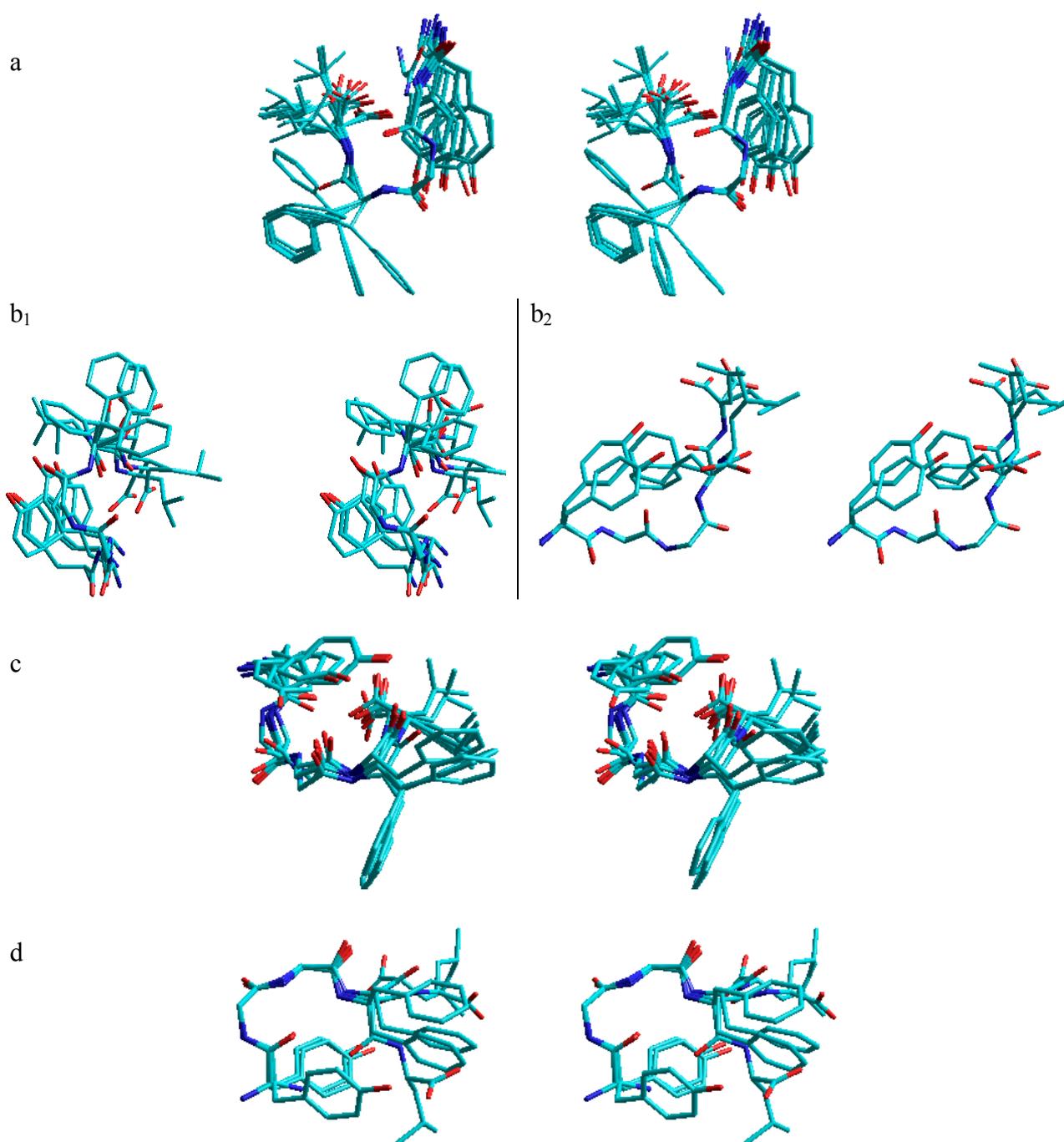


Figure 31 : Vues stéréoscopiques des superpositions des conformères de différentes classes obtenues pour Leu-Enk. a) Tournant  $\beta$  centré sur Gly3-Phe4, b) Tournant  $\gamma$  centré sur Gly3 ( $1\ \gamma_D$  et  $2\ \gamma_L$ ), c) Structure conduisant au pseudo cycle  $C^{16}$  et d) Tournant  $\beta$  centré sur Gly2-Gly3.

#### V.2.4 Discussion

La différence d'activité entre le peptide parent Leu-Enképhaline et ses deux analogues thioamides (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk peut être expliquée en comparant les préférences conformationnelles de ces deux derniers avec celles de Leu-Enk que nous avons présentées ci-haut.

L'augmentation du nombre de conformères adoptant la structure C<sup>16</sup> (3<sup>ème</sup> classe) pour la molécule la plus active (Thio-Gly2)-Leu-Enk (19 fois, tableau 8) comparé au peptide parent (7 fois, tableau 7) accroît les chances de cette structure d'être la structure native des peptides opiacés. Cependant, ayant exactement le même nombre pour la molécule la moins active (Thio-Gly3)-Leu-Enk (7 fois, tableau 9) entraîne le rejet de cette suggestion.

La structure de la seconde classe proposée pour Leu-Enk, tournant  $\gamma$  centré sur Gly3, sera également rejetée, car elle est complètement absente des préférences structurales du pentapeptide le plus actif (Thio-Gly2)-Leu-Enk (tableau 8).

La structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly2-Gly3 (classe 4) sera aussi rejetée puisque le nombre de fois qu'elle a été trouvée pour le peptide inactif (Thio-Gly3)-Leu-Enk (9 fois, tableau 9) est plus grand comparé au peptide parent actif Leu-Enk (3 fois, tableau 7).

La structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4 (1<sup>ère</sup> classe) semble être la structure native des peptides opiacés analogues de Leu-Enképhaline. Premièrement parce qu'elle est adoptée 20 fois par la molécule mère (tableau 7) et parce qu'elle est similaire à sept conformères de la molécule la plus active (Thio-Gly2)-Leu-Enk (conformères 14, 20, 22, 26, 30, 31 et 36) (tableau 8), mais adoptée uniquement une seule fois par l'analogue inactif (Thio-Gly3) Leu-Enk (tableau 9).

La figure 32 montre la vue stéréoscopique de la superposition des sept conformères de (Thio-Gly2)-Leu-Enk adoptant cette structure avec le conformère le plus stable de Leu-Enk présenté en ligne épaisses (conformère 5, tableau 7).

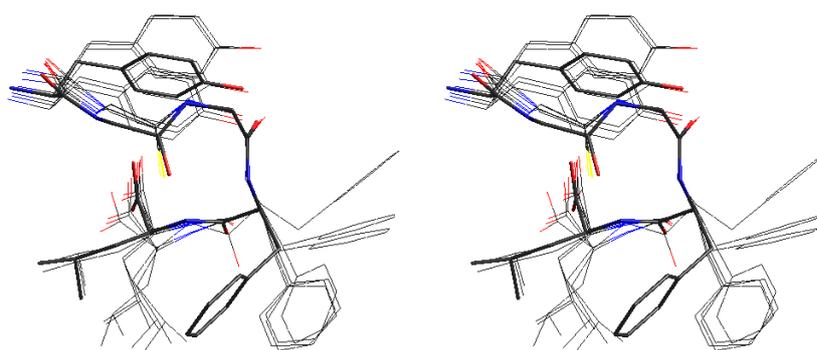


Figure 31 : Vue stéréoscopique de la superposition des conformères de (Thio-Gly2)-Leu-Enk avec le conformère le plus stable de Leu-Enk adoptant la structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4 (en noire).

Cette figure montre clairement que le peptide le plus actif (Thio-Gly2)-Leu-Enk peut adopter cette structure native (tournant  $\beta$  centré sur Gly3-Phe4), sans que la liaison hydrogène ne soit établie.

Compte tenu des résultats trouvés ci-haut et en considérant que la reconnaissance moléculaire est le seul paramètre qui peut affecter l'activité biologique des peptides, le peptide parent Leu-Enképhaline doit être le plus actif. Cependant, la forte augmentation de l'activité de l'analogue (Thio-Gly2)-Leu-Enk ne peut être expliquée que par sa longue durée de vie due à sa résistance à l'hydrolyse enzymatique suite à la substitution de la liaison amide en position 2 par la liaison thioamide.

La baisse activité de l'analogue (Thio-Gly3)-Leu-Enk, malgré sa résistance à l'hydrolyse, peut être expliquée par sa faible tendance à adopter la conformation native (tournant  $\beta$  centré sur Gly3-Phe4). En effet un seul conformère sur les quarante adopte cette structure (conformère 27, tableau 9). Cette molécule préfère plutôt adopter une autre structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly2-Gly3 (conformères : 4, 8, 9, 19, 25, 28, 31, 39, et 40).

La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par d'autres chercheurs nous a permis de confirmer des informations supplémentaires concernant les exigences structurales des récepteurs opiacés. Effectivement, des études par RMN, fluorescence UV et modélisation moléculaire [166,177–182] ont montré l'importance des groupes pharmacophores Tyr1 et Phe4, la distance entre eux ainsi que leur orientation sur l'affinité des Enképhalines envers les récepteurs opiacés.

L'analyse de nos résultats révèle que 17 des 40 conformères les plus stables de Leu-Enk présentés au tableau 7 appartiennent à la zone A de Nielson [180], et 9 d'entre eux adoptent une structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4. Cette zone rassemble des conformères qui doivent obéir à deux critères géométriques pour une reconnaissance moléculaire constructive : la distance entre les groupes aromatiques Tyr1 et Phe4 doit être comprise entre 8,25 et 12,00 Å, et la distance 'End To End' entre N-terminal et C-terminal doit être dans l'intervalle de 5 à 6 Å. Il est intéressant de noter que parmi les 7 conformères adoptant la structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4 de l'analogue le plus actif (Thio-Gly2)-Leu-Enk, 5 appartiennent à cette zone A de Nielsen.

Des études par modélisation moléculaire [178–180,183] ont rapporté l'importance du groupe terminal NH(Tyr1) dans la formation du complexe peptide-récepteur. Après la détermination des structures des récepteurs opiacés en 2012 [184–188], une étude de docking de Leu-Enképhaline sur les récepteurs mu ' $\mu$ ' et delta ' $\delta$ ' effectuée par Wieberneit et al. [189] a confirmé cette proposition. Nos résultats présentés dans les tableaux 7 et 8 montrent également la très grande importance de ce groupe terminal. En effet, pour chacune des deux molécules actives Leu-Enk et

(Thio-Gly2)-Leu-Enk, le groupe NH de la Tyrosine est toujours libre et disponible pour une interaction constructive avec les récepteurs (39 fois sur 40).

## Conclusion

Trois aspects fondamentaux sur la relation structure-activité des peptides opiacés peuvent être déduits de cette étude conformationnelle :

- La conformation active des peptides opiacés analogues de Leu-Enképhaline est la structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4.
- L'analogue le plus actif (Thio-Gly2)-Leu-Enk a une tendance plus faible à former cette structure, mais sa résistance à l'hydrolyse enzymatique prolonge sa durée de vie, ce qui augmente son activité jusqu'à 9 fois par rapport à celle du peptide parent.
- Pour l'analogue inactif (Thio-Gly3)-Leu-Enk, malgré la résistance à l'hydrolyse enzymatique qui devrait se produire, sa tendance à adopter la structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4 reste trop faible et préfère une autre structure (tournant  $\beta$  centré sur Gly2-Gly3), ce qui explique la diminution de son activité jusqu'à 15 fois pour certains tests pharmacologiques.

Cette étude a également confirmé l'importance de la distance entre les résidus Tyr1 et Phe4, et celle du groupe terminal NH(Tyr1) qui doit être exempt de toute liaison hydrogène intramoléculaire pour être disponible dans le processus de la reconnaissance moléculaire.

### Conclusion générale

Nous avons présenté dans cette thèse l'application de la méthode d'exploration des hypersurfaces conformationnelles PEPSEA pour effectuer des analyses conformationnelles comparatives entre des peptides natifs et leurs analogues thionylés, présentant des activités biologiques variées. Le but est de montrer les effets de la thionation sur le comportement structural de ces peptides natifs, tenter de trouver une explication de la différence d'activité par rapport à leurs analogues thionylés et déduire en conséquence des conclusions concernant la relation structure-activité des molécules peptidiques étudiées.

En premier lieu, nous avons intégré les paramètres géométriques et énergétiques (nécessaires à la construction des structures et au calcul de l'énergie conformationnelle) des dérivés thionylés, à savoir la thio-glycine et la thio-leucine dans le champ de force ECEPP/2. Ensuite, l'analyse conformationnelle comparative entre ces deux modèles dipeptidiques et leurs analogues natifs a pu montrer que la thiosubstitution de l'atome d'oxygène entraîne une réduction de l'espace conformationnel de la glycine et la leucine. Les dérivés thionylés se montrent incapables d'adopter la conformation étendue, et adoptent de préférence les structures en hélice  $\alpha$  et en tournant  $\gamma$  plus que leurs analogues natifs. Cependant, la position du minimum global est conservée pour les deux molécules, il correspond à une structure en tournant  $\gamma$  C<sup>7</sup>.

Après, nous avons abordé l'analyse conformationnelle comparative entre le peptide chimiotactique actif fMLP-OMe et son analogue dépourvu de toute activité biologique fML<sup>S</sup>P-OMe. La comparaison des préférences conformationnelles de chacun d'eux nous a permis de déduire que la conformation native des peptides chimiotactiques analogues de fMLP est la structure en tournant  $\gamma$  centrée sur la leucine. Cette étude a pu aussi confirmer la grande importance des deux groupes pharmacophores CO(formyle) et NH(Leucine). Ces derniers doivent être libres de toute liaison hydrogène intramoléculaire, et disponibles pour interagir constructivement avec le récepteur. Ces résultats et l'examen attentif de la littérature nous ont permis de suggérer que le processus de reconnaissance moléculaire pour fMLP et ses analogues avec leurs récepteurs se déroule selon le modèle « Induced-fit ». Il semble que le substrat s'attache au récepteur en proposant d'abord le CO du groupement formyle, la réaction qui déclenche plusieurs changements conformationnels du récepteur et du substrat, puis, ce dernier propose le groupe NH du résidu central pour l'interaction avec le récepteur. L'activité des fMLP n'est donc pas liée à l'adoption d'une structure secondaire spécifique (tournant  $\beta$ , tournant  $\gamma$ , étendue...), mais plutôt à la liberté et la disponibilité de ces deux groupes pharmacophores pour

## Conclusion générale

---

former le complexe substrat-récepteur. En effet, adoptant ce modèle, toute conformation dans des limites raisonnables, peut être extraite de la solution pour se lier au récepteur comme une fermeture éclair.

Ensuite, nous avons effectué une deuxième étude de la relation structure-activité concernant le peptide opiacé Leu-Enképhaline et ces deux analogues thionylés (Thio-Gly2)-Leu-Enképhaline, plus actif que la molécule mère, et (Thio-Gly3)-Leu-Enképhaline moins actif. L'analyse des résultats obtenus a révélé que la structure native des peptides opiacés analogues de Leu-Enk est la structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly3-Phe4. Cette conformation est très préférée par la molécule mère, moins préférée par l'analogue (Thio-Gly2)-Leu-Enk et trop faiblement adoptée par (Thio-Gly3)-Leu-Enk. La forte augmentation de l'activité de (Thio-Gly2)-Leu-Enk, malgré sa tendance plus faible à former cette structure, ne peut être expliquée que par sa résistance à l'hydrolyse enzymatique, suite à la substitution de l'atome d'oxygène par l'atome du soufre, ce qui prolonge la durée de vie de la molécule. L'incapacité de (Thio-Gly3)-Leu-Enk à adopter cette structure et sa préférence pour une autre structure en tournant  $\beta$  centrée sur Gly2-Gly3 expliquent la diminution de son activité.

La méthode PEPSEA a montré qu'elle est capable de générer la quasi-totalité des structures théoriques et expérimentales proposées par la littérature. Ces structures peuvent être utilisées comme points de départ pour des simulations dynamiques en présence du solvant ou par des études de docking pour confirmer les mécanismes d'interaction avec leurs récepteurs.

Les résultats présentés dans cette thèse prouvent que les programmes informatiques développés pour étudier les molécules et les biomolécules, PEPSEA ici, peuvent être un outil précieux pour prédire les structures susceptibles de répondre aux exigences structurelles des récepteurs, et par la suite, orienter les recherches de synthèse vers des composés plus sélectifs, sans avoir à dépenser les coûts de synthèse et de tests biologiques. Auparavant, des milliers et des milliers de molécules sont synthétisées pour n'en commercialiser qu'une seule.

## Annexe A : Structures secondaires des protéines. Carte de Ramachandran

### **Les structures secondaires des protéines**

Les structures secondaires des protéines se réfèrent aux arrangements réguliers et répétitifs de la séquence d'acides aminés, pour former des motifs structuraux spécifiques et bien définis, stabilisés par des liaisons hydrogène entre les deux groupements CO carbonyle et NH amide du squelette peptidique. Les structures secondaires les plus courantes des protéines naturelles sont les hélices  $\alpha$ , les feuilletts  $\beta$  et les tournants.

#### **- Les hélices $\alpha$**

L'hélice  $\alpha$  est sans doute la conformation régulière la plus répandue dans les protéines repliées [190]. Pour former une hélice  $\alpha$  le squelette peptidique est étroitement enroulé autour de l'axe de la molécule. Cette structure est stabilisée par des liaisons hydrogène parallèles à l'axe de l'hélice, liant chaque oxygène carbonyle C=O (d'un résidu  $i$ ) à l'hydrogène amide H-N (du résidu  $i+4$ ), et formant un pseudo-cycle de 13 atomes. Une hélice  $\alpha$  compte 3,6 résidus par tour, les chaînes latérales des acides aminés pointent vers l'extérieur de l'hélice. La figure 1 présente une structure typique accompagnée d'un dessin schématique d'une hélice  $\alpha$  (droite et gauche), elle présente aussi une représentation étalée où les résidus impliqués sont indiqués. Les liaisons hydrogène sont montrées en tirés.

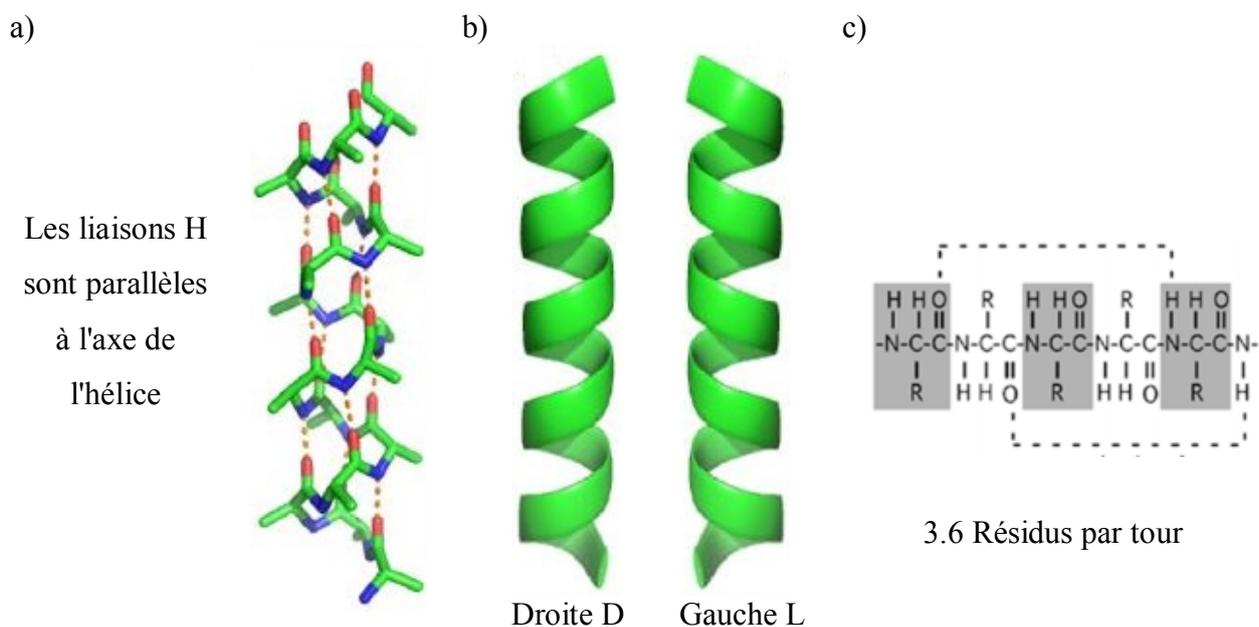


Figure 1 : a) Structure typique d'une hélice  $\alpha$ , b) Dessin schématique des deux types (D et L), c) Représentation d'une hélice  $\alpha$  étalée.

Les acides aminés qui préfèrent adopter la conformation en hélice  $\alpha$  dans les protéines sont la méthionine, l'alanine, la leucine, la glutamine et la lysine, leurs petites chaînes latérales minimisent les interactions stériques dans la formation de l'hélice [191,192].

Il existe d'autres types d'hélices, mais ne sont observées que de manières très rares dans les protéines naturelles, nous citons :

- Les hélices 3<sub>10</sub> qui sont constituées de 3 résidus par tour, et stabilisées par des liaisons hydrogène impliquant le C=O du résidu  $i$  et le N-H du résidu  $i+3$ , et formant un pseudo-cycle de 10 atomes, plus serré que l'hélice  $\alpha$ .
- Les hélices  $\pi$  en revanche, sont plus larges où cinq résidus forment un tour d'hélice.

#### - Les feuillets $\beta$ ( $\beta$ Sheet)

Les feuillets  $\beta$  sont la deuxième structure secondaire la plus fréquente chez les protéines naturelles, elles sont constituées de plusieurs brins de chaînes peptidiques étendues ( $\beta$  Strand), allongés de façon parallèle pour former une feuille plissée. Les brins adjacents sont liés par des liaisons hydrogène entre les oxygènes carbonyles et les hydrogènes amide. Comme dans le cas de la structure hélice  $\alpha$ , toutes les liaisons hydrogène possibles du squelette sont formées, et sont presque perpendiculaires aux brins peptidiques, alors que les chaînes latérales alternent entre les deux faces du brin. La conformation en feuillets  $\beta$  est préférée par les résidus ayant de grandes

chaînes latérales : aromatiques (tyrosine, phénylalanine et tryptophane), ou ayant le  $C_{\beta}$  ramifié (valine, isoleucine) [192].

Les feuillets  $\beta$  sont de deux types : parallèles, quand les brins adjacents s'étendent dans la même direction, ou antiparallèles, quand ils s'étendent dans des directions opposées. Les brins sont souvent représentés par des flèches qui pointent vers la partie C-terminale. Figure 2.

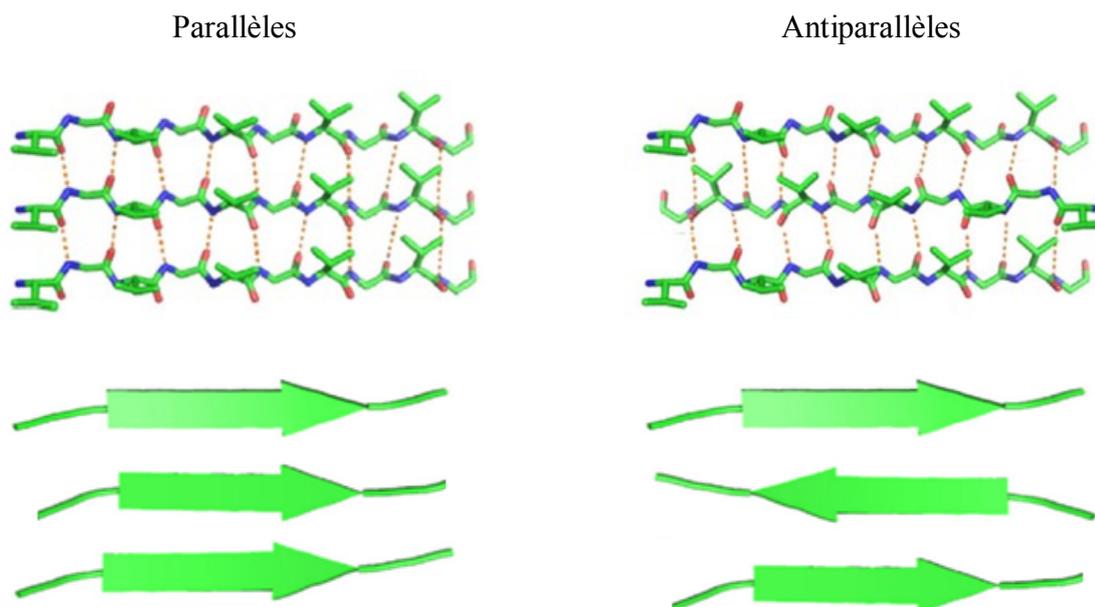


Figure 2 : Structures typiques accompagnées d'un dessin schématique des deux formes de feuillets  $\beta$  ; parallèles et antiparallèles.

La figure 3 quant à elle présente les deux principaux types de connexion possibles entre deux brins  $\beta$  : une connexion en épingle à cheveux reliant deux brins antiparallèles de la même extrémité de la feuille, et une connexion croisée ; dans laquelle la chaîne fait une boucle pour réintroduire l'extrémité opposée de la feuille et relier deux brins parallèles.



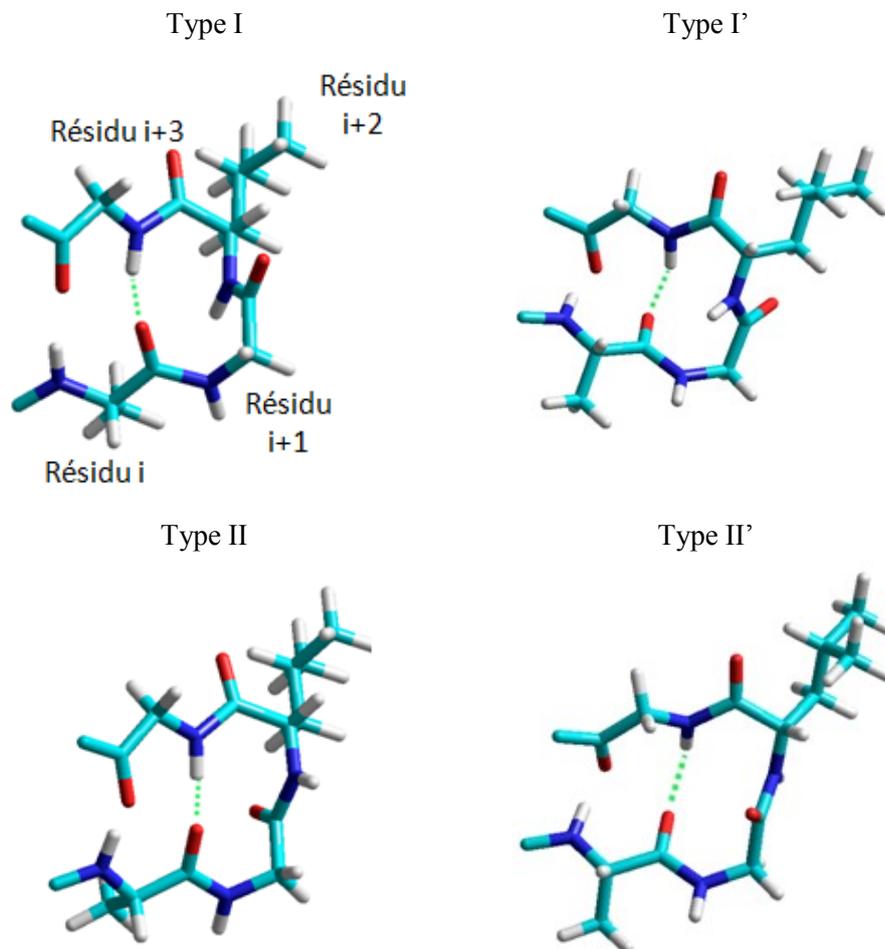
Figure 3 : Les deux principaux types de connexion entre les brins  $\beta$ .

- **Les tournants (Turns)**

Dans une protéine, le tournant (aussi appelés coude ou virage) est le motif structurel où la chaîne principale se replie sur elle-même, et change brutalement de direction afin de limiter la taille de la molécule et la maintenir dans un état compact [193]. Ce type de structures secondaires, non répétitif, est stabilisé par une liaison hydrogène impliquant au maximum quatre résidus successifs. Il existe différents types de tournants dans les protéines, et cela en fonction du nombre d'atomes qui forment le tour, les plus fréquents sont le tournant  $\beta$  et le tournant  $\gamma$ , qui se trouvent principalement impliqués dans la formation des hélices et aussi dans le motif « épingles à cheveux  $\beta$  » en reliant deux brins adjacents antiparallèles [194,195].

- Le tournant  $\beta$  est constitué de 4 résidus, il peut être défini par l'existence d'une liaison hydrogène entre les groupes CO d'un résidu (i) et NH du résidu (i+3), formant un pseudo-cycle de 10 atomes. La glycine et la proline sont fréquemment présentes dans les tournants  $\beta$  [192]. Il existe plusieurs modèles de tournants  $\beta$ , la figure 4.a illustre les modèles les plus connus I, I', II et II'. Notons que les types I' et II' sont respectivement les images dans un miroir des types I et II.
- Le tournant  $\gamma$  quand a lui n'implique que trois résidus, il est sous forme d'un pseudo-cycle de 7 membres, stabilisé par une liaison hydrogène liant CO carbonyle d'un résidu (i) et NH amide du résidu (i+2). À côté de la glycine, la lysine et la serine préfèrent adopter ce type de tournant [192]. Il existe deux formes du tournant  $\gamma$  montrées dans la figure 4.b. Classique  $\gamma_D$  et inverse  $\gamma_L$ .

**a) Tournant  $\beta$**



**b) Tournant  $\gamma$**

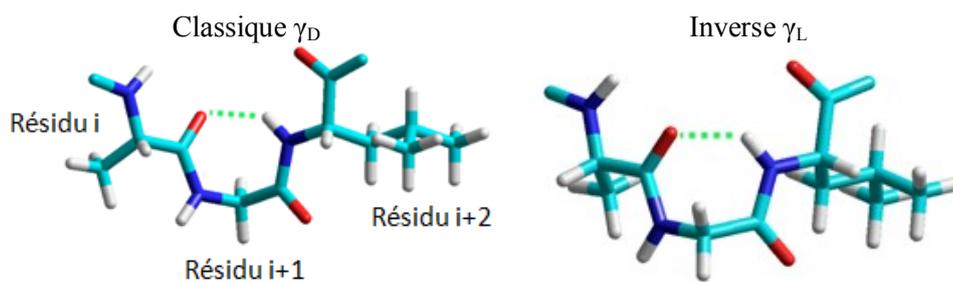


Figure 4 : Les tournants les plus courants dans les protéines naturelles : a) Tournant  $\beta$ , b) Tournant  $\gamma$ . Les résidus impliqués sont indiqués, les liaisons hydrogène stabilisant la structure sont représentées par des tirés verts.

## Les cartes de Ramachandran

Bien que les angles dièdres Phi ( $\phi$ ) et Psi ( $\psi$ ) des acides aminés soient plus libres en termes de rotation dans une protéine, le gêne stérique imposé par les chaînes latérales rend certaines combinaisons ( $\phi$ ,  $\psi$ ) défavorables. Ramachandran et al. [91] ont étudié les distributions ( $\phi$ ,  $\psi$ ) des résidus d'acides aminés dans un peptide, avec  $-180^\circ < \phi < 180^\circ$  et  $-180^\circ < \psi < 180^\circ$ , les atomes ont été considérés comme des sphères dures dont les dimensions correspondent à leurs rayons de Van der Waals. Ils ont déterminé les zones ( $\phi$ ,  $\psi$ ) accessibles correspondant aux différentes conformations qui n'ont pas d'obstacles stériques (dites autorisées), et les zones inaccessibles représentant les conformations stériquement défavorables (dites interdites), et cela pour chaque résidu.

La figure 5, tirée de la référence [196], présente les cartes de Ramachandran de la glycine, la leucine et la proline à titre d'exemples, les régions autorisées sont ombrées. Le fait que la glycine ne possède pas de chaîne latérale lui procure une liberté rotationnelle plus que les autres aminoacides, la zone autorisée pour ce résidu dans la carte s'étend sur les quatre quadrants. La proline par contre dispose d'une chaîne latérale plus volumineuse, elle a donc moins de combinaisons ( $\phi$ ,  $\psi$ ) possibles, d'où une plus petite zone autorisée sur la carte. La carte de la leucine présente une zone autorisée plus importante que celle de la proline, et moins que la glycine.

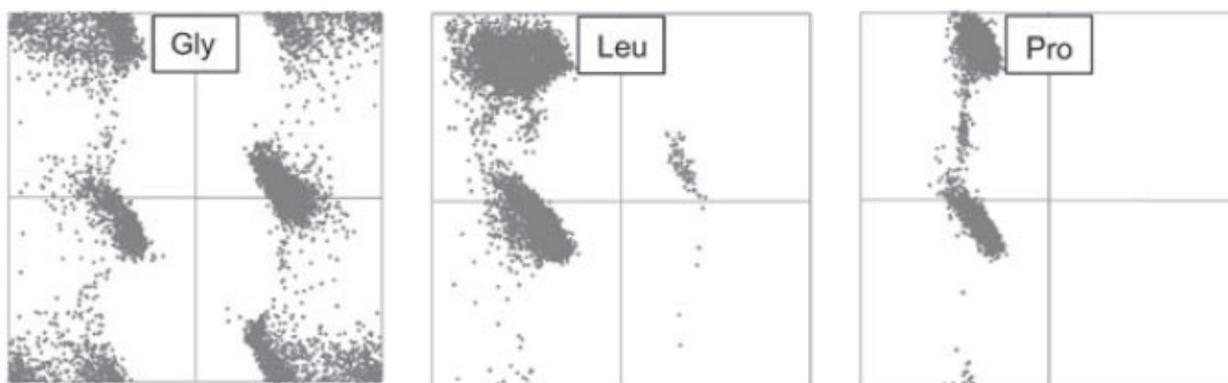


Figure 5 : Cartes de Ramachandran pour la glycine, la leucine et la proline.

Les structures secondaires des protéines sont caractérisées par certaines valeurs des angles dièdres ( $\phi$ ,  $\psi$ ) du squelette peptidique. La figure 6 présente leurs positions sur la carte de Ramachandran, les zones ombrées correspondent aux conformations stériquement favorables des divers acides aminés non-glycine et non-proline [197].

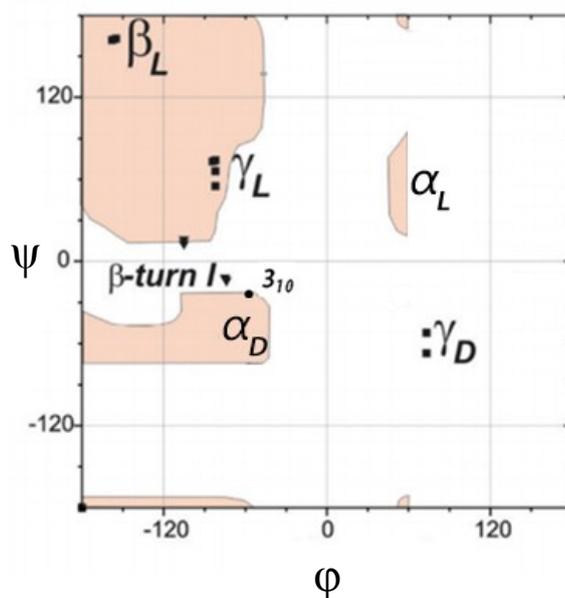


Figure 6 : Carte de Ramachandran indiquant les positions des structures secondaires ; hélice  $\alpha$  (droite  $\alpha_D$  et gauche  $\alpha_L$ ), hélice 310, feuillet  $\beta$  ( $\beta_L$ ), tourneant  $\beta$  et tourneant  $\gamma$  (classique  $\gamma_D$  et inverse  $\gamma_L$ ).

Les résidus d'acides aminés qui adoptent la structure hélice  $\alpha$  possèdent des valeurs  $\phi$  et  $\psi$  négatives au voisinage de  $(-60^\circ, -50^\circ)$  dans le quadrant inférieur gauche de la carte.

Par contre la conformation feuillet  $\beta$  nécessite des valeurs  $\phi$  inférieures à  $-150^\circ$  et  $\psi$  supérieures à  $150^\circ$ . Dans la carte, elle se situe dans le quadrant supérieur gauche. Une chaîne peptidique entièrement étendue ( $\phi \approx \pm 180^\circ$ ,  $\psi \approx \pm 180^\circ$ ) correspond aussi à ce type de structure.

La région de la carte adaptée pour les structures en tourneant  $\beta$  se situe au-dessus des hélices  $\alpha$ , avec des valeurs  $\phi$  négatives et  $\psi$  proches de zéro pour les résidus  $i+1$  et  $i+2$ .

Le tourneant  $\gamma_L$  quand a lui se trouve au milieu du quadrant des feuillet  $\beta$ , dans la région entièrement autorisée pour tout résidu, les deux formes du tourneant  $\gamma$  (classique  $\gamma_D$  et inverse  $\gamma_L$ ) sont symétriques par rapport au centre de la carte.

Le tableau suivant présente les valeurs moyennes typiques des angles dièdres ( $\phi$ ,  $\psi$ ) pour les différentes structures secondaires, les valeurs réelles diffèrent quelque peu de ces valeurs idéales [198][199] :

**Annexe A** : Structures secondaires des protéines. Carte de Ramachandran

Valeurs moyennes des angles dièdres ( $\varphi$ ,  $\psi$ ) pour les différentes structures secondaires.

Conformation	Angles dièdres (°)			
	$\varphi$	$\psi$		
Hélice $\alpha_D$	-57	-47		
Hélice $\alpha_L$	57	-47		
Hélice 310	-75	-05		
Hélice $\pi$	-57	-70		
Feuillets $\beta$ parallèles	-119	113		
Feuillets $\beta$ antiparallèles	-139	135		
Tournant $\gamma$	Résidu i+1			
Classique	75	-65		
Inverse	-75	65		
Tournant $\beta$	Résidu i+1		Résidu i+2	
Type I	-60	-30	-90	0
Type II	-60	120	80	0

## Annexe B : Champ de force ECEPP/2

### L'expression analytique de l'énergie totale

Le champ de force utilisé dans cette étude par le programme PEPSEA est ECEPP/2 « Empirical Calculation Energy Program for Peptides », [33] il a été développé spécifiquement pour le calcul et la minimisation de l'énergie conformationnelle des peptides dans le cadre de la mécanique moléculaire, il est bien adapté pour étudier la structure tridimensionnelle des protéines [35,87–89], et il a montré son efficacité dans les études conformationnelles théoriques de plusieurs molécules peptidiques et leur relation structure-activité. [75–85].

ECEPP/2 adopte le modèle à géométrie rigide, et cela en fixant les longueurs et les angles de liaison à des valeurs prédéterminées à partir des études cristallines pour chaque résidu, l'énergie totale de la molécule est alors calculée dans l'espace des angles dièdres seulement, elle est représentée par la somme des quatre contributions énergétiques ;  $\Sigma E_{vdw}$ ,  $\Sigma E_{\acute{e}le}$ ,  $\Sigma E_{hb}$  et  $\Sigma E_{tor}$  sous la forme :

$$\Sigma E_{tot} = \Sigma E_{vdw} + \Sigma E_{\acute{e}le} + \Sigma E_{hb} + \Sigma E_{tor}$$

$\Sigma E_{vdw}$  l'énergie de Van Der Waals.

$\Sigma E_{\acute{e}le}$  l'énergie électrostatique.

$\Sigma E_{hb}$  l'énergie de liaison hydrogène.

$\Sigma E_{tor}$  l'énergie de torsion.

Les expressions de chaque énergie sont présentées ci-après selon la référence [71].

### L'énergie de Van Der Waals

Elle représente à côté de l'énergie électrostatique et celle de liaisons hydrogène, les interactions entre les atomes non liées, sa valeur est estimée à partir de la relation :

$$E_{vdw} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^{N'} F \frac{A^{kl}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C^{kl}}{r_{ij}^6}$$

$F=0.5$  pour les interactions 1-4, et  $F=1$  pour les autres types d'interactions.

$A^{kl}$  et  $C^{kl}$  Sont respectivement les coefficients du terme répulsif et attractif.

Les indices  $k$  et  $l$  réfèrent aux types d'atomes interagissant.

$r_{ij}$  est la distance séparant les atomes  $i$  et  $j$ .

Les deux constantes  $A^{kl}$  et  $C^{kl}$  dépendent uniquement de la distance d'équilibre  $r_g$  (entre les deux atomes  $k$  et  $l$ ) et de l'énergie correspondante  $E_g$ .

$$A^{kl} = -E_g^{kl} (r_g^{kl})^{12} \quad \text{et} \quad C^{kl} = 2 E_g^{kl} (r_g^{kl})^6$$

Elles sont reliées entre elles par la relation :

$$A^{kl} = 0.5 C^{kl} (r_g^{kl})^6$$

La constante  $C^{kl}$  est déterminée à partir du formalisme de London :

$$C^{kl} = 1.5 \frac{e h}{m_e^{1/2}} \frac{\alpha_k \alpha_l}{\left(\frac{\alpha_k}{N_k}\right)^{1/2} + \left(\frac{\alpha_l}{N_l}\right)^{1/2}}$$

$\alpha_k$  et  $\alpha_l$  présentent les polarisabilités.

$N_k$  et  $N_l$  sont respectivement les nombres effectifs d'électrons pour les atomes  $k$  et  $l$ .

$h$  est la constante de Planck.

$e$  présente la charge d'un électron.

$m_e$  présente sa masse.

### L'énergie électrostatique

Les interactions électrostatiques ou coulombiennes sont représentées par la relation :

$$E_{ele} = 332 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^{N'} \frac{q_i q_j}{D r_{ij}}$$

Les charges atomiques partielles des atomes  $i$  et  $j$  sont  $q_i$  et  $q_j$ , elles sont exprimées en unité de charge électronique. Le facteur de conversion 332 permet d'avoir l'expression de l'énergie en kcal/mol.  $D$  est la constante diélectrique ( $D = 2$ ), la valeur effective 2 a été obtenue à partir des calculs CNDO/2 effectués sur des dimères liés par des liaisons hydrogène. Elle est de plus en accord avec les constantes diélectriques des molécules polypeptidiques, dans les milieux polaires [33].

### **L'énergie de liaisons hydrogène**

Le terme d'interactions des liaisons hydrogène est calculé uniquement pour les paires d'atomes susceptibles de former une liaison hydrogène (un hydrogène déficient en électrons et un hétéroatome de forte densité électronique). Il est représenté par la relation :

$$E_{hb} = \frac{A'}{r_{ij}^{12}} - \frac{B}{r_{ij}^{10}}$$

$A'$  et  $B$  sont deux paramètres spécifiques aux interactions menant à la formation de la liaison hydrogène. Ils sont évalués selon les relations :

$$A' = 5 E_{min} R_{min}^{12} \text{ et } B = 6 E_{min} R_{min}^{10}$$

Avec

$$E_{min} = 4.19 E_g \text{ et } R_{min} = 0.775 r_g$$

### **L'énergie de torsion**

L'énergie de torsion est l'énergie nécessaire pour tourner autour d'une liaison, en général une liaison simple (les doubles et triples liaisons sont trop rigides pour effectuer la rotation).

L'expression de l'énergie de torsion dans le champ de force ECEPP/2 est :

$$E_{tor} = \frac{E_0}{2} (1 \pm \cos n\theta)$$

$E_0$  est la différence entre la barrière de rotation calculée et celle expérimentale, elle est exprimée en kcal/mol.

$\theta$  est l'angle dièdre de la liaison.

$n$  est la symétrie de la barrière.

Le signe  $\pm$  est choisi pour que  $E_{tor} = E_0$  à une valeur de  $\theta$ , quand la barrière est maximale.

Annexe C :  
Angles dièdres des différents conformères étudiés

Les tableaux 1 et 2 présentent respectivement les angles dièdres des cinquante conformères du tripeptide parent fMLP-OMe et de son analogue thioamide fML<sup>S</sup>P-OMe. Ceux des quarante conformères de chaque pentapeptide Leu-Enk, (Thio-Gly2)-Leu-Enk et (Thio-Gly3)-Leu-Enk sont présentés respectivement dans les tableaux 3, 4 et 5. Les valeurs des énergies conformationnelles sont aussi présentées en kcal/mol.

**Annexe C** : Angles dièdres des différents conformères étudiés

Tableau 1 : Liste des angles de torsion pour fMLP-OMe.

Conf	for				Met				Leu				Phe				OMe					
	E <sub>i</sub>	θ	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	θ
1	-4,22	179,6	-157,0	131,5	177,1	179,6	171,6	173,3	-60,9	-79,3	88,5	177,5	-179,4	62,8	171,3	-61,0	-71,3	145,6	-176,5	-63,2	-72,1	178,9
2	-3,89	-176,6	-71,6	-22,0	175,0	-68,7	-179,3	-179,9	60,1	-63,1	-36,5	-177,4	176,9	62,2	52,5	58,2	-104,9	17,1	-172,1	-52,5	-77,0	177,2
3	-5,06	-179,2	-76,9	-44,8	-177,3	-67,4	-179,4	-179,9	60,1	-124,8	29,8	-179,3	-58,1	165,6	-60,2	-53,7	-161,4	-13,1	178,8	52,2	85,1	-178,9
4	-4,09	-177,1	-67,3	-33,0	179,5	-70,1	-179,8	-179,7	-59,8	-108,9	32,4	-176,6	-52,9	172,0	-59,0	-171,6	-148,0	-0,3	-172,8	-57,9	-78,9	177,5
5	-4,02	-179,4	-67,6	-44,0	-179,4	-174,2	175,6	179,1	60,0	-84,0	-33,9	179,7	-55,5	175,1	-58,5	-49,7	-145,6	128,7	-173,1	-58,8	-76,7	177,5
6	-3,23	-179,6	-69,4	-41,6	177,5	-172,6	175,2	179,8	179,9	-72,5	-41,0	178,4	178,4	63,5	52,6	59,4	-156,4	139,6	-175,0	178,5	-100,3	178,3
7	-5,65	-178,8	-81,3	77,4	-176,0	-67,8	-177,0	178,5	59,8	-86,6	65,7	174,7	-56,6	174,0	-178,6	70,4	-163,1	-14,5	-177,9	53,8	-97,5	179,3
8	-3,22	-178,7	-78,7	78,7	176,2	-67,5	-177,6	179,6	60,0	-77,5	-23,3	178,5	-58,5	172,2	61,1	-49,5	-143,2	-11,7	175,6	-56,8	101,0	-178,6
9	-3,59	-179,7	-69,6	133,1	179,6	-169,5	-178,4	175,7	179,6	-96,4	125,2	178,0	-53,0	175,5	61,5	-50,6	-159,0	-16,0	-175,5	57,1	87,7	178,4
10	-3,57	-178,6	-77,8	82,8	177,1	-67,1	-178,3	-179,9	60,1	-72,0	94,4	178,0	178,5	61,4	51,6	178,9	-73,8	-24,2	172,3	-59,1	112,3	-177,2
11	-3,02	-179,2	-73,5	-38,2	176,5	-68,5	-179,3	-179,9	-179,9	-72,7	-41,0	178,3	178,3	63,4	52,6	179,3	-156,6	139,3	-175,0	178,4	79,7	178,1
12	-3,94	-179,2	-67,2	-42,4	-179,8	-174,0	175,2	179,1	59,9	-81,7	-36,6	175,7	-56,4	174,6	61,6	-49,4	-158,7	151,8	-173,3	52,5	86,2	177,6
13	-3,04	-179,1	-68,1	-43,2	-179,5	-174,0	175,5	179,0	-180,0	-83,0	-31,7	177,5	-54,9	175,6	-178,4	-49,8	-155,9	136,2	-174,9	178,3	-100,5	178,2
14	-3,64	-179,6	-72,0	133,7	177,8	-170,3	-179,3	175,7	179,7	-89,5	121,1	174,4	178,9	63,8	-67,6	-60,6	-156,6	-15,6	-176,5	57,5	-93,2	178,9
15	-3,52	-179,0	-73,0	-38,4	178,8	-68,5	-179,4	-179,9	-179,9	-82,9	-36,2	179,6	-56,4	173,8	-178,7	-169,8	-145,8	130,1	-173,4	-58,9	-76,7	177,6
16	-3,31	-180,0	-69,0	116,0	180,0	178,0	62,0	-172,0	-178,0	-80,0	92,0	180,0	179,0	61,0	-68,0	-61,0	-73,0	-25,0	180,0	-62,0	107,0	-180,0
17	-4,28	-179,8	-75,2	95,5	172,7	-173,1	178,9	175,9	-58,6	-76,4	-35,8	176,3	-59,1	171,7	61,2	-169,6	-160,4	-17,1	-172,3	53,5	-94,2	177,0
18	-4,12	-179,8	-71,0	-43,7	-179,5	-172,9	175,4	179,7	-179,9	-79,6	-38,5	175,7	-176,7	65,4	171,5	58,4	-140,5	129,5	-177,7	-63,6	-63,6	179,4
19	-2,97	-179,3	-80,1	160,0	177,6	-65,8	-179,3	-179,7	-59,9	-75,6	84,9	178,9	-178,0	63,9	51,3	-60,7	-76,5	145,3	-176,5	-59,2	-66,8	178,7
20	-3,92	180,0	-75,0	132,0	180,0	-66,0	-174,0	-80,0	-175,0	-104,0	38,0	180,0	-51,0	174,0	-58,0	68,0	-162,0	-18,0	180,0	52,0	86,0	180,0
21	-4,11	-180,0	-160,0	168,0	180,0	59,0	179,0	-179,0	177,0	-69,0	99,0	180,0	177,0	61,0	51,0	178,0	-78,0	-22,0	180,0	-56,0	-68,0	-180,0
22	-3,09	-179,7	-70,0	-39,3	179,9	-172,8	175,0	179,5	60,1	-149,5	129,6	-177,8	-179,8	67,5	-66,2	180,0	-160,0	-15,6	-176,0	56,8	89,9	178,8
23	-3,51	-178,9	-73,0	-36,4	178,1	-68,5	-179,4	-179,9	179,9	-80,8	-38,0	175,8	-57,5	172,9	-178,6	-49,7	-158,8	151,3	-173,1	52,7	86,4	177,5
24	-2,93	-179,3	-73,7	131,0	-178,1	-68,7	-179,1	-179,8	-59,9	-92,2	152,7	-179,6	-53,1	175,8	-58,5	69,7	-145,8	156,9	180,0	-61,2	-75,4	180,0
25	-2,94	-179,3	-73,3	131,9	-178,0	-68,9	-179,2	-179,7	60,1	-92,5	153,0	-179,7	-53,1	175,7	-58,5	69,8	-146,4	-21,6	180,0	-61,3	104,5	-180,0

**Annexe C** : Angles dièdres des différents conformères étudiés

Liste des angles de torsion pour fMLP-OMe. (Suite de la page précédente)

Conf	E <sub>i</sub>	for				Met				Leu				Phe				OMe				
		θ	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	θ
26	-3,69	-179,4	-77,7	83,2	177,6	-169,2	179,1	-178,7	61,4	-80,1	-28,6	-178,4	-58,7	172,2	-58,7	-49,5	-145,2	166,6	176,7	-57,5	-75,8	-178,6
27	-4,14	-178,4	-80,3	74,8	-179,1	-68,1	-73,0	178,5	-60,2	-83,7	72,1	-178,6	-56,8	173,6	-178,6	-169,6	-145,0	-24,1	179,8	-56,0	-73,9	-180,0
28	-4,50	-177,7	-60,7	-41,3	179,9	-174,7	172,9	81,3	-63,3	-109,8	37,5	-177,1	-53,9	170,9	-59,2	68,2	-148,3	-0,6	-173,3	-58,5	101,5	177,6
29	-3,74	-178,8	-67,7	-38,2	-176,6	-173,4	174,8	179,4	-60,1	-80,1	-40,2	177,7	-56,8	174,3	61,6	70,6	-161,0	-21,2	-178,5	53,0	84,8	178,9
30	-3,33	180,0	-160,0	-54,0	180,0	-176,0	176,0	177,0	-60,0	-93,0	133,0	-180,0	-54,0	172,0	-58,0	-171,0	-145,0	157,0	180,0	-58,0	-75,0	180,0
31	-3,19	-178,2	-78,7	77,4	176,8	-67,1	-178,7	179,9	60,0	-69,3	-33,8	176,6	179,7	64,1	-67,7	-60,9	-153,0	165,1	179,2	56,8	-93,0	-179,8
32	-3,58	-179,1	-77,1	79,3	178,7	-169,6	-179,9	177,0	-60,4	-85,2	67,9	-178,1	-170,8	72,4	54,4	-179,5	-150,8	149,4	-179,9	-62,3	-79,3	180,0
33	-3,68	-179,5	-161,9	-55,2	-178,2	-177,2	175,9	177,9	-60,3	-84,7	72,8	-176,9	-56,5	172,9	-178,9	-170,5	-80,6	-29,9	177,9	-55,3	116,8	-179,4
34	-3,97	-179,2	-75,9	83,8	173,7	-170,3	-179,4	176,9	62,3	-73,1	-38,0	173,8	-176,0	67,4	52,3	179,2	-142,7	-33,0	-168,9	-64,0	114,0	176,4
35	-3,09	179,5	-156,2	139,1	178,2	-169,9	179,0	175,8	59,8	-95,7	123,4	177,7	-54,2	174,2	-178,7	-50,4	-158,7	-16,4	-175,6	57,0	-92,3	178,5
36	-2,99	-178,9	-76,2	-30,4	-177,4	-67,5	-179,2	-179,9	60,1	-82,8	-40,8	-177,8	-56,2	174,0	-58,8	-49,8	-147,3	-36,1	-178,6	-59,7	-74,8	-180,0
37	-3,50	-178,6	-75,5	-28,9	-178,5	-67,6	-179,2	-179,8	60,1	-80,1	-41,1	177,9	-57,5	172,9	61,3	-169,8	-160,8	-20,9	-179,8	52,9	84,6	179,6
38	-2,87	180,0	-71,0	139,0	180,0	-171,0	174,0	84,0	-62,0	-69,0	99,0	180,0	177,0	61,0	171,0	178,0	-79,0	-20,0	180,0	-54,0	-66,0	180,0
39	-3,78	179,5	-156,3	133,1	-175,9	-170,4	173,8	175,7	57,6	-71,6	-52,2	-177,5	175,7	60,4	-67,9	57,1	-93,5	26,5	173,3	-54,6	-71,1	-178,7
40	-3,57	-179,8	-69,5	126,6	-177,6	-175,0	66,3	-175,4	60,5	-91,1	157,3	-179,9	-53,2	175,9	61,7	-50,3	-144,1	-23,9	179,8	-61,0	-76,4	-179,9
41	-4,24	179,6	-154,4	93,1	179,9	-174,8	168,5	178,4	175,4	-109,2	44,5	-179,9	-53,7	172,1	-179,0	68,8	-160,1	167,1	177,8	52,7	-95,1	-179,2
42	-2,98	-176,6	-66,4	-32,0	179,7	-70,4	-179,8	-179,8	180,0	-110,0	33,9	-177,5	-53,1	171,7	60,9	68,3	-147,3	170,3	179,6	-59,3	-78,9	-179,9
43	-3,54	-176,0	-88,1	-9,9	-174,3	-65,2	-72,0	178,8	180,0	-100,3	11,5	179,1	-51,9	174,6	-178,6	-171,1	-158,8	-3,5	-173,9	53,7	-92,9	178,1
44	-2,86	-178,8	-66,3	-33,5	179,3	-170,9	67,6	-176,5	-179,6	-80,1	75,5	-179,2	-57,2	173,9	-178,7	-169,4	-70,0	140,4	-176,1	-61,9	-71,2	178,8
45	-3,08	-178,3	-79,7	76,6	179,3	-66,6	-178,1	179,7	59,8	-90,0	155,0	179,9	-54,6	174,6	61,4	-170,1	-145,5	-22,3	179,8	-59,9	106,1	-180,0
46	-3,16	179,5	-156,6	144,7	174,8	-171,0	172,5	81,9	55,9	-70,1	95,8	-179,1	178,2	61,2	51,6	-61,1	-77,4	-23,2	174,0	-56,3	-67,2	-177,9
47	-3,42	-179,8	-71,0	121,6	-179,4	-171,4	179,0	86,7	-59,8	-81,1	-42,4	177,1	-56,3	174,6	-178,4	70,5	-159,8	-18,0	-175,2	53,3	-94,8	179,2
48	-3,06	180,0	-160,0	172,0	180,0	60,0	178,0	-177,0	-62,0	-72,0	88,0	-180,0	-60,0	169,0	-59,0	70,0	-67,0	141,0	-180,0	-59,0	-70,0	-180,0
49	-3,31	-179,0	-63,0	-39,0	-177,5	-174,0	175,4	82,4	-62,3	-83,8	74,9	179,5	-55,5	175,4	61,6	-49,8	-67,8	139,3	-175,9	-64,2	106,8	178,7
50	-3,21	-179,8	-160,5	161,2	178,8	62,7	-173,0	-176,4	-59,4	-81,8	-41,7	-178,5	-57,3	172,9	-58,9	-49,8	-147,6	158,8	172,2	-59,8	104,3	-177,3

**Annexe C** : Angles dièdres des différents conformères étudiés

Tableau 2 : Liste des angles de torsion pour fML<sup>S</sup>P-OMe.

Conf	E <sub>i</sub>	for		Met		ThioLeu						Phe				OMe						
		θ	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	θ
1	-3,23	-179,8	-70,2	121,8	178,8	-178,0	170,7	173,8	59,4	-77,5	90,5	176,4	179,8	62,7	51,6	179,2	-71,7	148,2	-175,7	-63,7	-73,7	178,4
2	-2,87	-176,4	-71,4	-21,1	175,3	-68,7	-179,4	-179,9	60,1	-63,6	-34,6	-177,9	177,8	63,0	52,6	58,2	-107,5	16,8	-173,1	-52,7	-78,1	177,7
3	-4,65	-178,7	-81,4	77,2	-175,8	-67,7	-177,0	178,5	59,7	-87,0	64,9	175,0	-56,4	173,9	-178,7	-49,7	-162,0	-14,8	-177,7	55,0	82,7	179,2
4	-2,87	-176,8	-67,2	-33,1	-179,9	-70,2	-179,7	-179,9	-60,0	-108,9	30,9	-176,7	-52,8	172,2	-59,0	-171,7	-145,3	-2,8	-173,6	-58,5	-80,0	177,6
5	-2,04	-179,6	-68,9	-41,8	177,8	-172,8	175,2	179,7	180,0	-73,0	-41,1	178,7	179,0	64,7	52,8	59,5	-155,3	139,2	-174,9	178,4	-100,2	178,1
6	-2,69	-179,4	-67,1	-44,1	-179,4	-174,3	175,5	178,9	-60,1	-84,3	-35,5	-180,0	-55,5	175,1	61,5	70,2	-141,7	127,4	-173,6	-57,9	102,5	177,8
7	-2,07	-180,0	-70,0	133,0	-180,0	-171,0	177,0	176,0	179,0	-103,0	132,0	-180,0	-52,0	174,0	61,0	-50,0	-160,0	-16,0	-180,0	57,0	88,0	-180,0
8	-2,84	-179,2	-67,0	-42,5	-179,8	-174,1	175,2	179,2	59,9	-81,9	-37,1	175,8	-56,4	174,4	61,6	-49,5	-157,1	151,2	-173,3	53,5	86,6	177,6
9	-1,61	-178,3	-79,4	75,7	178,1	-66,9	-178,6	-180,0	60,0	-79,3	-27,0	-179,9	-58,2	172,5	-58,8	70,5	-139,2	158,5	-178,8	-56,3	-78,6	179,6
10	-1,98	-178,6	-78,9	78,0	176,5	-67,4	-177,6	179,5	60,0	-77,1	-24,4	178,9	-58,7	172,1	61,2	-49,5	-138,8	-13,6	175,5	-56,3	100,0	-178,5
11	-2,32	-179,7	-71,5	133,1	179,2	-170,1	-179,0	175,9	59,6	-90,6	115,7	174,5	178,5	62,7	172,0	59,0	-153,8	-16,4	-175,9	60,0	-91,8	178,5
12	-2,19	-179,0	-72,6	-38,8	178,8	-68,7	-179,4	-179,9	-179,9	-83,2	-37,2	-179,8	-56,5	173,6	-178,7	-169,7	-141,9	127,7	-174,0	-57,9	-77,5	177,9
13	-2,13	-179,8	-70,5	113,2	177,4	-179,5	63,3	-174,4	-179,2	-77,2	91,4	176,2	179,0	62,0	-68,4	-61,0	-72,0	-23,6	172,7	-62,9	107,3	-177,4
14	-3,62	-178,7	-76,4	80,4	175,0	-70,7	-74,6	176,9	179,8	-105,1	35,0	-178,0	-52,9	172,8	-58,9	-171,3	-160,2	-16,6	-176,5	53,0	-94,6	178,7
15	-1,62	-179,7	-71,1	-39,5	-179,4	-172,8	175,1	179,6	60,1	-148,9	123,0	-178,1	178,8	65,3	-66,9	179,6	-157,1	-16,4	-175,4	59,4	91,5	178,5
16	-2,67	-179,8	-70,5	-43,7	-179,3	-172,9	175,4	179,7	60,0	-80,4	-40,0	176,4	-178,2	63,7	51,2	177,4	-135,3	126,4	-178,4	-62,8	-63,8	179,6
17	-2,02	-178,2	-78,7	77,2	176,9	-67,1	-178,6	180,0	60,1	-69,3	-34,3	176,8	179,6	65,0	-67,2	-60,6	-151,3	165,2	179,2	56,6	-93,1	-179,7
18	-3,27	-177,3	-61,0	-41,1	-179,7	-174,7	172,8	81,3	-63,3	-110,3	35,8	-177,1	-54,1	170,9	-59,1	68,2	-145,5	-2,8	-174,2	-59,0	-79,5	177,8
19	-2,59	-178,8	-67,6	-38,1	-176,6	-173,3	174,9	179,3	-60,1	-80,2	-40,7	177,9	-56,9	174,2	61,6	70,7	-159,7	-21,7	-178,4	54,1	85,1	178,9
20	-2,52	-176,0	-88,1	-8,8	-174,8	-65,2	-72,0	178,8	179,8	-98,0	8,1	179,5	-52,1	174,7	-178,7	-171,0	-155,9	-3,8	-173,9	54,1	-92,6	178,2
21	-2,42	-176,1	-85,2	-7,7	-178,5	-65,3	-178,6	-179,8	60,0	-85,0	-7,2	-178,9	-79,1	65,3	50,2	59,4	-144,3	3,0	-172,2	53,9	88,8	177,5
22	-1,00	-178,6	-78,4	78,2	176,0	-68,8	-73,4	179,1	179,9	-78,5	-25,8	179,3	-58,2	172,5	61,2	-49,5	-139,1	158,5	-178,7	-56,2	100,7	179,6
23	-3,31	-179,3	-76,0	-46,8	-176,2	-170,7	70,8	-178,4	-179,9	-120,8	28,8	-179,3	-56,4	168,3	-179,6	-172,5	-160,9	-7,1	176,9	53,2	85,8	-177,4
24	-2,35	-178,6	-75,5	-28,8	-178,4	-67,7	-179,2	-179,9	60,0	-80,2	-41,4	178,0	-57,6	172,8	61,4	-169,6	-159,5	-21,7	-179,4	54,2	85,2	179,5
25	-1,84	-176,2	-66,5	-31,6	-179,9	-70,3	-179,8	-179,8	180,0	-110,2	31,9	-177,5	-53,1	171,6	60,9	68,2	-144,6	168,6	179,7	-59,9	-80,3	-179,9

**Annexe C** : Angles dièdres des différents conformères étudiés

Liste des angles de torsion pour fML<sup>S</sup>P-OMe : (Suite de la page précédente)

Conf	E <sub>i</sub>	for				Met				ThioLeu						Phe				OMe		
		θ	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	θ
26	-1,65	-177,9	-66,8	-33,1	178,6	-169,2	69,1	-178,4	60,2	-62,8	-36,7	-177,6	177,6	63,8	173,0	-61,3	-103,6	26,4	-171,1	-52,6	-77,0	176,8
27	-1,41	-178,2	-79,0	76,3	178,2	-66,9	-178,7	-179,8	-179,9	-148,5	93,5	-178,8	178,6	62,5	52,0	-60,9	-139,3	155,1	-179,4	-57,0	105,5	179,8
28	-1,73	-178,5	-79,2	77,5	178,9	-66,8	-178,1	179,9	60,0	-89,8	153,6	-179,8	-54,9	174,6	61,4	-170,0	-142,1	-23,2	179,7	-60,4	104,3	-179,9
29	-1,44	-179,7	-70,9	121,8	-177,9	-174,0	67,6	-178,4	-59,7	-81,8	137,2	176,0	-177,4	68,7	-66,0	60,1	-127,0	156,5	-179,3	-59,9	106,8	179,8
30	-1,35	-178,3	-78,9	76,3	178,3	-67,0	-178,7	179,8	179,8	-148,0	93,5	-178,9	178,5	62,5	52,0	179,0	-140,0	-23,5	179,0	-57,0	-74,6	-179,6
31	-2,64	-176,2	-78,1	-12,7	177,1	-66,9	-178,8	-179,9	-180,0	-67,0	-26,1	-177,6	179,7	64,2	-67,5	179,4	-129,3	8,7	-171,7	55,0	87,9	177,1
32	-1,02	-179,2	-76,4	86,9	175,3	-170,4	70,5	-173,7	-179,1	-144,4	85,3	-178,3	-178,5	64,7	51,9	59,4	-140,1	-24,6	179,3	-55,7	106,4	-179,8
33	-1,65	-178,0	-79,3	73,9	179,4	-66,4	-178,7	-179,9	-59,9	-157,1	-54,7	173,1	177,3	62,9	52,5	58,4	-121,4	-31,7	174,6	-57,3	-61,3	-178,2
34	-1,39	-178,9	-79,8	150,6	-175,4	-64,6	-69,7	-179,1	-179,9	-106,1	25,0	179,9	-52,0	173,8	61,2	68,7	-159,5	161,4	178,6	55,9	-91,8	-179,5
35	-1,73	-179,7	-72,7	122,2	-177,0	-171,6	69,7	-174,8	-57,7	-71,9	-49,6	-178,5	176,9	59,7	171,6	56,2	-101,7	99,7	-173,6	-56,5	110,9	177,9
36	-2,56	-178,8	-77,3	77,7	178,4	-168,2	178,9	179,9	60,4	-77,2	-34,2	177,6	-179,4	61,0	-69,4	55,8	-133,0	166,2	176,0	-59,8	-64,5	-178,3
37	-1,97	-178,1	-79,9	73,0	-179,1	-67,9	-73,3	178,9	59,9	-81,6	76,2	179,7	-174,2	68,8	52,7	60,0	-142,9	155,8	-179,8	-59,4	105,1	179,9
38	-1,18	-178,1	-79,9	73,6	178,6	-67,1	-73,0	179,0	59,9	-80,4	-31,6	-179,5	-57,8	172,7	61,2	-49,6	-141,2	-24,5	-179,7	-56,8	-77,7	179,0
39	-1,74	-177,9	-80,6	70,6	-176,8	-66,9	-176,7	83,7	57,9	-82,5	87,1	176,0	-178,3	64,4	-68,4	179,3	-134,4	-24,7	179,7	-54,4	-66,5	-179,9
40	-1,27	-179,7	-69,9	131,3	-177,7	-170,3	69,8	-176,2	60,4	-95,2	119,5	176,8	-52,9	175,5	-58,5	-170,6	-155,8	-16,7	-175,5	58,3	-92,3	178,5
41	-2,45	-179,3	-73,3	-46,8	-178,2	-172,0	69,7	-178,2	60,2	-117,8	24,0	-177,9	-55,3	169,1	-59,6	-52,3	-159,5	153,2	-179,8	53,2	-92,7	179,9
42	-1,87	-178,1	-78,8	73,8	-179,6	-66,6	-178,7	-179,9	60,0	-158,5	-52,5	173,8	179,4	63,6	-68,0	-61,5	-143,9	-20,0	178,9	65,3	90,9	-179,5
43	-0,86	-178,2	-78,7	77,5	177,6	-67,9	-72,4	178,6	59,9	-147,6	91,6	-178,2	179,1	62,9	171,8	59,1	-138,2	154,5	-179,4	-56,2	-72,4	179,8
44	-0,78	-178,4	-78,7	77,6	177,6	-67,9	-72,4	178,7	59,9	-146,7	91,5	-178,3	179,1	62,8	171,8	179,1	-139,0	-23,8	179,0	-56,3	107,4	-179,6
45	-3,15	-178,4	-82,0	75,0	-174,6	-66,8	177,2	82,7	58,3	-89,3	61,7	176,6	-55,7	174,5	-58,6	-49,8	-164,4	164,0	178,1	49,4	-99,0	-179,3
46	-0,45	-179,6	-71,3	-40,9	-179,6	-171,3	69,3	-178,7	-59,9	-148,9	122,7	-178,1	178,7	65,2	-67,1	179,5	-156,9	-16,6	-175,1	59,5	91,7	178,3
47	-1,50	-179,5	-75,3	-40,8	179,8	-68,5	-73,3	179,1	179,9	-79,9	-39,9	176,3	-178,2	63,8	171,3	-62,6	-135,4	126,7	-178,3	-62,7	116,2	179,8
48	-2,10	-178,6	-77,2	81,6	175,7	-68,8	-70,9	-82,4	-56,2	-105,1	34,8	-178,1	-52,9	172,8	61,0	-171,4	-160,3	162,6	178,2	52,0	-94,8	-179,3
49	-1,55	-179,8	-71,0	-44,5	-179,4	-171,6	69,5	-178,7	-179,9	-79,8	-39,7	176,4	-178,3	63,6	51,2	177,3	-135,3	126,3	-178,6	-62,7	-63,8	179,8
50	-1,81	-179,2	-77,2	82,0	176,4	-169,9	71,1	178,5	-59,2	-82,3	-39,4	178,5	-58,1	172,2	-58,8	70,3	-159,0	169,6	173,0	53,1	84,3	-177,7

Tableau 3 : Liste des angles de torsion pour Leu-Enképhaline.

Conf	Tyr1						Gly2			Gly3			Phe4			Leu5									
	E <sub>i</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	φ	ψ	ω	φ	ψ	ω	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>
1	-10,95	-85,7	155,2	-177,4	-169,2	-93,1	41,7	-158,3	79,9	172,9	68,7	-94,1	178,1	-84,9	-27,7	-177,8	-180,0	-106,2	-81,5	136,5	-178,5	-57,7	168,6	60,4	67,6
2	-11,08	-172,5	-29,7	-179,8	175,5	63,3	-160,1	115,9	-76,9	179,1	-175,5	-83,4	175,9	-93,3	-42,9	177,9	-59,1	104,9	-101,6	-19,0	-178,5	-53,2	174,1	-178,8	-170,9
3	-10,56	-85,7	154,9	-177,3	-169,5	86,8	-141,5	-157,8	81,1	172,5	70,1	-91,4	178,8	-92,0	-22,4	-177,1	-57,3	-74,2	-84,2	130,5	-178,7	-54,1	174,5	-178,6	-170,4
4	-10,55	-86,2	155,0	-177,7	-169,0	88,0	-136,7	-159,2	79,8	174,1	68,4	-93,6	176,8	-84,0	-30,8	-179,9	-179,0	80,5	-71,8	127,4	-178,6	177,7	64,8	53,3	179,5
5	-11,82	-78,9	137,4	-168,8	-165,2	70,6	-160,4	-87,6	65,0	176,1	65,8	-92,7	177,2	-83,6	-33,6	-177,4	178,6	-103,0	-155,3	-76,2	-177,8	178,1	61,8	51,9	59,1
6	-11,26	-86,3	154,8	-177,5	-168,9	-92,4	41,5	-158,7	79,6	173,9	69,4	-91,5	177,6	-89,0	-25,2	-178,6	72,9	84,8	-77,3	127,3	-178,6	179,8	65,5	52,8	179,6
7	-10,81	-168,0	-46,1	176,6	176,2	54,8	-25,7	68,8	-108,6	-174,5	-85,9	-155,8	179,6	-59,2	-35,9	171,3	176,3	-113,7	-93,5	-44,4	172,5	-53,2	174,9	-58,7	-171,2
8	-10,11	-88,3	157,5	-176,9	-175,6	-100,5	28,4	-153,8	95,7	166,7	70,9	-95,9	178,0	-86,0	-34,0	-176,1	178,9	76,5	-158,4	-72,4	179,3	176,6	61,7	-67,6	59,1
9	-9,92	51,0	151,2	-178,4	178,3	-112,4	137,5	-156,8	69,4	175,6	68,8	-92,2	176,8	-84,9	-27,9	-178,0	-180,0	74,5	-80,8	141,3	-179,0	-57,8	168,6	-179,6	-52,4
10	-8,01	-86,3	151,1	180,0	173,8	-109,5	146,9	-163,9	79,2	-180,0	79,2	-72,3	180,0	-79,4	142,7	-180,0	178,0	-105,1	-91,9	-60,5	-180,0	-178,3	64,4	-68,5	179,3
11	-10,91	-87,0	152,2	-179,3	178,9	67,9	-42,7	-158,8	70,4	176,3	69,0	-90,7	176,9	-87,8	-25,7	-178,7	73,1	-95,1	-77,2	130,6	-178,7	-179,6	65,8	172,7	-60,4
12	-11,18	-83,2	144,0	-168,0	-165,8	73,5	-150,8	-90,5	60,6	178,5	68,1	-88,2	175,8	-97,5	-29,8	-170,8	-57,2	104,5	-92,5	150,5	179,3	-52,3	175,7	-58,5	-170,7
13	-11,04	-86,6	154,3	-178,7	-174,4	-96,6	25,1	-154,7	93,7	170,7	74,5	-80,9	177,4	-135,2	18,9	179,6	60,5	-83,2	-117,6	140,7	-179,4	-59,1	166,5	-179,7	69,0
14	-10,40	-86,9	155,9	-178,2	-174,6	80,2	-158,0	-154,8	90,0	169,5	79,6	-78,0	-171,0	-134,5	18,3	-173,7	58,1	93,2	-152,0	137,0	179,6	178,2	64,1	172,8	179,5
15	-9,81	50,9	151,4	-178,9	178,1	-110,4	135,9	-157,8	71,7	176,2	68,1	-92,5	176,2	-83,9	-30,9	-179,5	-179,0	80,4	-71,9	130,0	-178,8	178,2	64,9	173,2	59,5
16	-9,37	89,0	-31,0	-178,7	178,3	-118,7	21,5	114,3	-76,8	179,5	-174,4	-83,6	177,2	-94,0	-43,0	177,3	-59,0	-75,4	-102,0	-20,5	-178,4	-53,2	174,0	-178,9	69,0
17	-9,36	-82,1	142,6	-177,5	178,3	-118,7	21,5	114,3	-76,8	179,5	-174,4	-83,6	177,2	-94,0	-43,0	177,3	-59,0	-75,4	-102,0	-20,5	-178,4	-53,2	174,0	-178,9	69,0
18	-11,60	-172,7	-26,7	-177,2	70,3	98,9	-30,1	136,8	-163,9	176,9	-84,8	-79,6	173,9	-83,3	-33,7	-179,2	179,0	78,3	-152,9	142,2	-169,7	178,6	63,7	172,5	59,4
19	-9,65	-90,7	159,1	-176,3	-170,5	-102,0	29,2	-157,9	81,3	171,4	75,8	-80,1	-178,0	-91,4	-39,8	-174,0	178,1	72,5	-156,2	-31,5	-177,8	178,9	62,5	52,0	-60,8
20	-10,20	88,4	-24,3	-179,8	177,3	59,4	-157,0	108,2	-79,4	-179,1	-166,3	-94,5	176,5	-90,1	-41,0	175,3	178,7	58,7	-96,2	-16,9	-178,8	-52,7	175,5	-178,5	-171,0
21	-9,07	-81,9	143,0	-177,3	-179,5	68,7	-159,1	-81,8	158,2	-176,2	-78,8	78,5	173,0	-154,4	161,4	-178,4	62,1	88,3	-81,9	112,1	-177,9	-57,0	173,4	-58,7	70,3
22	-9,60	50,5	151,3	-179,1	177,6	70,1	-43,2	-158,4	72,6	176,5	68,8	-90,5	177,0	-89,5	-27,1	178,9	-58,1	106,3	-72,6	131,0	-178,8	178,2	65,0	53,2	179,5
23	-9,39	-88,8	154,9	179,7	176,8	66,1	-32,6	-169,6	80,4	-176,1	75,1	-72,4	169,8	-101,7	-48,5	-176,5	174,6	-111,8	-159,1	-32,6	179,5	179,0	62,3	-68,2	59,1
24	-8,54	-83,5	144,0	-178,1	176,9	-119,5	148,8	-147,9	59,4	173,8	81,0	-71,5	-177,0	-129,9	29,4	178,9	-54,6	99,7	-154,3	159,1	-179,9	63,2	96,2	-57,9	61,4
25	-8,42	-85,5	145,4	178,0	170,6	62,0	-24,2	-155,2	84,8	172,9	79,6	-75,3	-175,7	-142,6	24,4	-174,6	57,1	-84,4	-149,6	142,6	179,9	179,1	64,2	52,5	-60,6
26	-8,51	-171,3	-28,6	178,4	-174,8	-101,6	25,8	78,2	-88,8	-176,6	165,8	88,4	172,3	-150,2	164,1	-178,3	68,0	94,1	-71,7	103,7	-177,7	179,1	63,4	-67,8	59,3
27	-7,89	-166,8	-36,0	179,3	-175,0	88,7	-147,9	68,0	-90,7	178,0	-160,9	41,1	-179,8	-66,3	156,5	174,9	176,1	-100,5	-147,1	-36,2	179,6	178,9	63,3	-67,8	179,2
28	-7,94	-80,3	129,8	174,9	172,5	66,8	161,4	-81,5	156,4	-176,6	-79,0	69,7	178,5	-89,7	-34,0	179,2	-53,6	-59,4	-152,7	136,1	179,9	177,8	64,1	-67,1	59,4
29	-8,54	-84,3	151,7	179,2	-168,1	90,3	-147,2	-162,0	85,6	-176,7	79,9	-64,0	173,6	-136,7	159,5	175,4	179,8	77,2	-147,2	-36,0	179,4	-178,0	64,2	-68,6	-60,7
30	-10,31	-86,5	155,0	-177,7	-172,9	-98,0	24,3	-155,7	86,7	171,2	79,5	-77,1	-175,6	-140,8	29,7	178,0	-56,0	101,4	-159,1	175,4	-179,9	46,9	70,3	48,0	59,7
31	-8,83	-86,1	153,9	-177,4	-175,8	80,2	-151,1	-152,6	99,2	170,1	71,3	-93,9	174,2	-90,1	-38,6	-176,5	178,5	-105,9	-163,7	107,1	175,7	177,1	61,9	172,3	-60,9
32	-10,52	61,9	141,6	-167,9	-165,9	-106,1	29,2	-89,1	62,1	178,3	67,9	-88,5	176,2	-97,4	-29,5	-171,0	-57,3	104,4	-93,1	151,8	179,3	-52,3	175,7	61,5	-170,8
33	-9,10	86,2	-40,9	-180,0	-176,4	-114,1	22,7	117,5	-76,3	-179,9	-175,0	-74,5	177,7	-93,3	-40,5	179,5	-58,7	105,0	-127,1	-38,6	175,0	178,7	62,8	172,1	-60,9
34	-8,35	-172,4	-27,6	178,7	58,1	92,5	-16,1	160,4	156,9	-174,4	-86,9	68,3	174,7	-158,7	165,5	177,5	67,1	90,4	-153,2	-38,5	-179,8	179,7	63,7	171,9	59,3
35	-8,78	-87,2	154,7	-179,9	177,6	65,2	-33,2	-169,0	78,3	-176,0	75,2	-72,4	168,6	-101,3	-47,9	-176,4	175,7	-110,8	-159,4	145,7	-180,0	179,9	63,3	-67,8	59,3
36	-7,96	-167,2	-40,0	180,0	-176,9	79,7	165,2	70,3	-83,6	-180,0	-178,6	53,7	-180,0	-61,7	-38,0	-180,0	174,8	-103,6	-154,8	136,9	180,0	178,7	63,7	-67,8	58,6
37	-8,05	-87,7	152,2	178,7	177,8	66,2	-33,0	-163,9	73,3	-176,8	77,3	-69,4	174,6	-78,9	152,7	179,6	-178,1	70,6	-77,3	-72,6	180,0	-65,3	157,0	58,5	-60,1
38	-9,09	-86,0	155,4	-177,7	-168,6	86,6	-138,8	-159,2	79,5	173,9	69,6	-91,4	177,0	-90,3	-26,7	179,2	-58,0	106,3	-73,6	130,7	-178,7	-175,1	141,7	178,5	-179,7
39	-10,36	-87,6	143,1	-177,0	48,6	-91,0	28,1	62,8	-92,6	172,9	-151,1	34,0	-176,9	-158,6	158,5	175,0	178,3	72,0	-124,2	-65,0	179,6	179,5	64,8	52,5	-60,5
40	-8,81	-170,1	-43,1	-177,5	158,5	-120,3	35,5	111,3	-96,7	-177,1	175,9	-79,0	179,6	-72,9	-32,7	174,8	-61,1	-70,4	-128,9	-15,1	-174,8	-62,4	163,2	179,5	-174,5

Tableau 4 : Liste des angles de torsion pour (T-Gly2)-Leu-Enképhaline

Conf	Tyr1			Thio-Gly2			Gly3			Phe4			Leu5												
	E <sub>i</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	φ	ψ	ω	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>			
1	-10,57	-170,0	-35,1	179,5	180,0	-113,9	21,0	115,6	-76,6	179,9	-176,0	-77,9	176,8	-90,7	-42,8	179,8	178,5	75,3	-121,2	-36,1	175,4	178,8	62,7	-68,0	179,1
2	-9,27	-171,9	-31,9	-179,3	173,5	-118,2	24,0	124,8	-64,7	-179,9	157,4	-40,1	-179,7	-139,3	-49,8	170,6	-63,7	99,2	-92,2	-24,4	-178,3	-53,8	174,6	61,4	69,5
3	-8,73	89,3	-28,3	-178,8	178,0	-119,3	21,5	111,7	-77,9	180,0	-171,6	-86,4	177,7	-93,3	-42,5	176,8	-59,1	-75,0	-101,2	-18,7	-179,3	-53,3	174,0	-178,8	69,1
4	-9,95	-168,3	-45,7	175,1	177,2	55,0	-25,3	68,6	-101,0	-174,3	-92,0	-156,9	178,9	-59,3	-35,8	170,7	175,9	-113,8	-94,0	-43,1	171,7	-53,1	175,2	-58,6	-170,9
5	-9,35	-170,4	-51,1	-179,2	161,4	57,3	-148,3	116,4	-91,2	-176,8	176,6	-69,3	-179,9	-78,3	-32,0	178,4	-59,9	108,8	-154,7	-29,7	175,7	178,6	62,5	52,0	59,1
6	-6,24	-85,2	151,2	179,5	177,9	69,4	-34,6	-167,2	66,9	-178,9	94,8	-76,5	176,3	-78,9	146,1	178,2	178,3	75,2	-91,8	118,0	-179,7	-178,2	64,5	51,4	-60,5
7	-10,54	-96,1	165,9	-175,4	74,0	101,2	-146,4	-76,8	85,9	174,7	-179,6	-142,3	169,0	-68,2	107,5	-167,7	174,5	71,2	59,8	31,8	177,4	-46,3	173,7	-59,0	66,4
8	-8,82	-38,4	-43,2	179,0	-175,9	66,8	-157,4	118,9	-79,1	-179,5	-170,3	-77,1	176,8	-89,4	-41,6	-179,6	178,6	75,2	-127,3	-37,3	175,4	178,6	62,6	52,1	-60,9
9	-9,78	178,8	-12,0	173,8	72,6	103,3	-20,5	131,2	-79,1	-179,0	165,9	-67,8	176,6	-81,2	-32,3	-175,9	178,9	-103,9	-154,1	-25,5	177,2	179,1	62,2	-68,3	59,1
10	-9,49	-168,5	-40,8	-176,2	176,5	65,8	-160,6	112,0	-141,5	179,9	-88,2	-112,2	172,1	-76,8	-22,2	172,6	72,4	-94,8	-129,1	139,1	-174,7	177,1	63,4	-67,0	59,4
11	-8,39	87,6	-38,9	179,8	-176,7	-114,9	22,5	116,1	-76,4	-179,8	-173,5	-77,2	177,8	-92,9	-40,2	179,1	-58,7	105,1	-124,6	-38,1	174,9	178,8	62,8	172,1	-61,0
12	-7,93	-170,0	-33,9	179,9	175,6	-108,5	163,7	-60,2	108,7	-171,8	149,1	-31,6	177,9	-146,8	154,3	179,2	60,8	-88,9	-85,9	-47,4	179,7	-178,6	67,1	53,1	-60,3
13	-8,33	-175,2	-26,4	-180,0	174,6	63,4	-156,3	113,7	-76,7	179,1	-175,9	-86,7	173,7	-91,1	-45,3	176,6	178,4	79,7	-89,8	-21,7	-176,5	71,6	98,1	-57,4	-58,8
14	-7,62	-85,0	153,3	-177,7	-167,7	89,4	-136,6	-164,6	77,1	173,8	84,9	-100,3	176,8	-83,7	-38,8	179,3	-179,8	-99,1	-69,8	132,9	-179,3	178,5	64,5	172,9	179,5
15	-7,01	-170,0	-46,1	-178,6	168,7	71,1	-34,9	69,0	-84,4	-179,8	-166,3	42,3	-176,8	-74,8	156,8	175,5	178,8	-100,3	-146,4	140,1	-180,0	179,2	64,2	52,4	-60,6
16	-9,26	-170,3	-40,0	179,0	163,8	72,0	-138,3	93,4	-91,5	-174,9	-172,6	-70,9	171,7	-83,5	100,0	-176,6	178,2	70,0	59,0	23,9	-177,4	-47,2	174,3	-58,5	-52,9
17	-9,36	-170,8	-48,2	-178,6	160,3	58,2	-145,1	115,5	-93,1	-177,4	173,7	-77,7	-178,2	-76,8	-19,9	174,3	75,4	-93,2	-152,5	-26,7	-178,6	179,3	62,3	171,8	179,0
18	-7,41	-170,2	-28,2	177,8	-174,3	77,8	-152,7	78,0	-82,0	-176,7	157,3	89,5	171,7	-149,1	159,9	-178,7	65,1	-88,8	-78,0	-66,4	179,8	178,5	63,1	52,3	179,2
19	-6,25	-86,5	152,2	-179,9	-179,9	-112,3	143,2	-167,3	62,5	-178,1	94,3	-75,9	174,8	-75,0	146,9	179,1	178,4	-107,0	-94,2	-64,4	-179,3	-178,6	64,3	-68,4	179,3
20	-6,93	-87,6	152,6	-178,7	178,8	69,1	-41,4	-166,2	67,7	174,0	87,2	-98,1	179,7	-85,9	-34,4	-178,9	-58,6	-72,7	-87,7	147,3	-179,0	-53,9	175,0	61,5	-50,3
21	-9,70	-87,5	143,0	-177,2	48,4	89,1	-151,7	63,0	-92,3	173,1	-151,1	33,7	-176,9	-159,1	157,7	175,1	177,7	-108,0	-123,3	-66,2	179,7	179,7	65,1	-67,6	179,8
22	-7,93	-84,6	153,9	-178,2	-170,8	-91,7	32,1	-165,2	88,6	172,8	89,6	-98,7	178,5	-96,5	-41,2	-177,1	178,3	-118,6	-85,5	156,9	179,2	-57,4	170,3	-59,3	68,3
23	-7,20	-172,9	-27,5	177,9	-175,1	78,2	-153,5	77,7	-81,8	-176,5	156,2	88,7	172,0	-148,1	161,2	-179,1	64,9	90,4	-92,4	-54,5	179,6	-54,4	174,5	-58,7	-50,4
24	-6,58	-116,3	177,2	-178,7	77,0	-75,2	23,4	-74,4	77,9	176,2	167,9	-178,8	-177,9	-65,7	137,3	-178,7	176,6	80,2	-89,5	119,7	-179,5	-52,4	177,5	-58,1	-169,5
25	-8,78	-170,0	-48,4	-178,5	159,1	57,7	-147,1	117,2	-93,0	-176,9	173,3	-74,9	-179,0	-72,4	-27,1	176,8	-61,3	-70,3	-157,4	0,3	-178,1	43,8	64,4	167,5	178,9
26	-7,90	-85,4	153,1	-179,2	-174,6	86,0	-155,1	-162,9	93,0	171,4	93,7	-92,2	-177,6	-130,7	26,2	-179,0	-55,4	101,4	-154,2	142,3	179,3	178,3	64,1	-67,2	179,4
27	-6,86	177,7	-14,4	177,8	-173,8	-99,3	153,9	-61,4	111,2	180,0	94,8	16,8	175,1	-143,7	133,4	-178,9	170,3	-102,6	-89,8	-46,7	-179,7	179,3	64,3	-67,6	59,1
28	-8,00	-170,6	-43,6	-178,0	158,7	-121,3	35,7	112,3	-94,6	-177,5	173,8	-78,4	179,7	-73,7	-33,0	174,8	-61,0	-70,6	-128,8	-15,8	-174,8	-62,6	163,2	179,5	-174,6
29	-8,04	-170,3	-50,4	-178,9	160,7	-122,0	33,0	117,3	-92,2	-176,7	174,5	-75,4	179,0	-66,7	-34,4	177,6	177,0	71,5	-157,2	-9,2	179,0	-128,0	168,9	-60,1	-176,0
30	-7,39	-84,6	153,8	-178,4	-171,4	87,7	-149,9	-164,9	90,1	173,2	90,2	-97,0	179,3	-98,7	-42,2	-174,6	-58,5	103,7	-90,4	157,5	179,3	-53,5	175,6	-178,4	-170,3
31	-6,70	52,0	150,0	-177,3	179,8	-111,2	136,0	-160,0	61,0	174,1	85,8	-97,6	176,0	-79,5	-39,3	178,6	179,7	-98,7	-72,6	131,9	-179,2	178,8	64,2	52,6	179,2
32	-5,83	-168,9	-34,1	-178,4	-178,4	-108,3	170,3	116,6	-74,2	177,2	170,5	-77,7	-178,9	-85,1	-23,0	179,6	-58,6	107,6	-150,2	-31,0	176,3	178,7	62,3	-68,2	179,0
33	-6,45	-78,2	124,3	-178,0	174,1	-117,3	147,2	-89,6	-48,4	-176,1	162,9	-66,6	175,2	-73,8	-29,6	-179,1	178,8	77,7	-150,2	153,4	177,6	-179,7	63,0	-68,4	-60,8
34	-8,31	179,2	-12,1	174,1	72,0	102,6	-20,3	132,1	-80,2	-179,2	167,5	-66,8	178,3	-84,9	-27,3	-177,0	-58,5	107,9	-158,5	-13,6	179,1	58,1	92,7	-59,4	-58,4
35	-7,58	-81,5	146,2	-172,7	-174,9	-106,3	28,2	-91,3	-59,0	-174,9	164,3	-71,6	173,3	-78,0	-21,4	176,2	-59,9	109,1	-152,3	-179,3	-179,9	43,9	64,2	167,4	58,9
36	-6,96	51,4	150,6	-177,8	178,5	-111,1	138,8	-162,1	64,4	173,2	86,7	-98,4	179,3	-81,7	-36,9	-179,8	178,8	67,5	-86,7	147,8	-179,2	-57,2	170,1	-179,5	-52,0
37	-9,53	172,1	-2,8	171,7	66,9	98,5	-30,4	128,4	-28,2	179,9	99,8	-70,0	-179,0	-73,6	-36,3	-175,6	177,8	-105,1	-154,7	-28,7	176,7	178,7	62,6	172,0	-60,8
38	-9,17	176,1	-9,1	174,5	74,6	-77,1	157,5	128,1	-83,3	-179,5	167,5	-72,3	179,2	-78,5	-26,4	178,3	-179,3	-118,0	-157,8	-1,7	-178,7	46,7	67,7	46,4	178,7
39	-6,37	-83,9	150,2	-179,5	-165,6	90,4	-141,9	-164,1	72,0	-173,8	95,4	-61,9	176,2	-143,2	160,3	174,6	-180,0	76,6	-147,3	-36,9	179,4	-178,4	63,7	-68,6	-60,7
40	-5,74	-167,0	-47,0	180,0	168,0	72,0	-34,0	70,0	-82,0	180,0	-170,0	46,0	180,0	-76,0	145,0	180,0	177,0	-106,0	-87,0	117,0	180,0	-80,0	63,0	-69,0	-60,0

Tableau 5 : Liste des angles de torsion pour (T-Gly3)-Leu-Enképhaline.

Conf	Tyr1			Gly2			Thio-Gly3			Phe4			Leu5												
	E <sub>i</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	φ	ψ	ω	φ	ψ	ω	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	φ	ψ	ω	χ <sub>1</sub>	χ <sub>2</sub>	χ <sub>3</sub>	χ <sub>4</sub>
1	-9,72	-171,3	-32,8	-178,8	174,6	-113,1	18,0	120,1	-78,2	178,9	179,7	-70,6	176,3	-101,0	-45,5	177,6	-59,6	-78,3	-103,0	-21,6	-179,1	-53,5	173,3	-178,8	-171,1
2	-9,27	-167,5	-37,8	-179,5	178,5	69,9	-160,9	119,9	-79,9	180,0	-177,8	-66,5	177,2	-99,9	-44,4	178,2	-59,0	102,5	-118,7	-36,7	176,3	179,0	62,8	172,0	59,1
3	-10,02	-166,5	-41,5	-179,6	179,7	-108,8	19,9	121,1	-80,1	-179,7	-179,7	-63,7	175,7	-95,4	-45,5	-178,9	177,0	73,1	-128,3	-38,0	173,7	178,4	62,7	52,1	179,2
4	-7,22	-169,4	-46,5	-178,1	168,3	72,2	-35,1	68,3	-85,4	-178,9	-164,8	43,5	-177,7	-76,6	157,1	174,7	178,7	-102,3	-143,0	135,4	-179,8	178,9	64,0	52,6	-60,6
5	-8,39	-84,2	143,2	-177,5	-179,7	68,4	-158,6	-81,6	157,5	-175,9	-78,9	77,3	173,3	-153,0	161,4	-178,2	62,5	88,2	-81,4	110,4	-177,8	-57,2	173,2	-58,7	70,3
6	-7,87	-173,6	-26,8	178,1	-175,7	78,7	-154,8	77,2	-83,4	-176,2	157,8	85,5	172,5	-145,3	165,5	177,5	65,5	89,0	-152,3	-38,7	-179,8	178,8	63,4	52,2	-60,8
7	-7,48	-170,8	-28,8	178,4	-175,1	-100,0	25,3	77,4	-89,1	-176,5	166,4	87,0	172,0	-147,2	164,7	-179,4	67,2	-87,4	-83,0	101,6	-178,5	-57,0	173,3	61,3	-49,7
8	-6,51	-167,5	-35,3	180,0	-173,7	86,8	-148,6	69,0	-88,3	180,0	-168,0	44,6	180,0	-68,9	145,9	180,0	175,2	74,9	-100,2	-58,0	-180,0	-53,8	174,2	61,3	69,2
9	-8,15	-171,8	-31,9	179,8	-179,7	-106,4	164,8	-60,7	101,9	-171,5	152,3	-33,4	177,8	-145,8	156,8	179,7	62,6	90,5	-94,7	-44,1	179,7	-54,9	174,6	-58,5	-50,1
10	-7,72	-88,8	161,8	-179,7	-179,7	66,6	-29,6	-153,8	-162,3	-173,3	-79,6	73,5	172,6	-159,3	163,6	-179,9	54,4	-97,9	-88,6	127,6	-179,5	-54,8	174,6	-178,6	69,7
11	-8,58	-168,0	-42,0	-175,9	171,7	72,2	-160,5	116,7	-158,1	-179,7	-83,5	-87,3	175,7	-90,3	-35,9	175,1	-58,8	-74,0	-121,0	132,7	-175,2	-59,5	166,1	-60,0	-52,9
12	-7,16	-172,2	-27,8	178,6	60,5	94,7	-14,6	158,2	156,3	-174,6	-87,9	68,3	174,9	-157,1	162,2	-179,0	67,6	91,8	-88,1	111,4	-179,2	-55,5	174,2	-58,6	-170,1
13	-5,80	-87,9	157,9	177,9	175,4	-103,5	27,0	-172,4	-151,4	175,1	85,7	-66,9	-177,2	-149,3	155,0	178,7	64,2	94,3	-153,7	137,1	179,9	178,6	64,4	-67,0	59,5
14	-5,66	-169,7	-37,2	-178,9	168,9	-120,0	153,2	73,6	-82,4	-176,5	162,2	67,9	-179,9	-126,6	155,1	179,9	-50,3	119,2	-153,8	-38,5	-179,8	178,5	63,4	-67,7	179,3
15	-8,06	-87,3	161,7	-179,7	-179,0	-113,4	150,0	-154,2	-161,3	-173,2	-79,9	73,1	172,6	-159,5	162,6	-179,2	53,5	-97,7	-73,4	114,9	-179,3	178,8	63,4	-67,7	59,2
16	-7,64	-172,5	-27,6	178,7	58,5	-87,0	163,7	160,1	156,7	-174,4	-87,0	67,7	175,0	-157,9	165,2	177,5	67,5	90,4	-153,2	-38,6	-179,8	179,7	63,7	51,9	59,3
17	-6,88	-166,4	-39,5	180,0	-177,5	77,6	164,4	70,9	-82,8	-180,0	178,6	56,1	-180,0	-64,4	-37,3	-180,0	175,3	-103,5	-154,8	138,0	180,0	178,3	64,3	-67,1	59,4
18	-5,53	-169,7	-37,3	180,0	170,1	59,4	-28,8	74,0	-81,3	180,0	161,3	69,5	180,0	-128,6	157,8	180,0	-49,4	-63,4	-153,4	138,5	180,0	179,0	64,3	172,5	59,4
19	-9,93	-87,6	142,6	-176,8	48,7	-90,3	27,9	63,9	-89,9	172,2	-153,7	33,8	-176,4	-159,3	156,6	174,5	176,7	73,0	-122,5	-65,8	179,6	-63,9	162,1	59,1	-176,5
20	-6,74	-81,1	132,9	180,0	170,7	66,0	164,4	-81,7	160,0	-180,0	-78,2	69,4	180,0	-94,1	-37,8	180,0	-58,3	-58,4	-154,6	136,6	180,0	177,5	64,2	-66,8	59,3
21	-6,22	-83,2	151,2	180,0	179,5	-96,0	173,9	-118,1	-85,8	180,0	-167,0	78,7	180,0	-150,2	161,8	180,0	65,6	-91,9	-152,1	138,1	180,0	178,9	64,1	172,4	179,3
22	-6,14	-86,2	154,4	180,0	-169,2	-94,0	171,9	131,7	-37,1	180,0	-77,4	-15,0	180,0	-145,0	155,8	180,0	60,8	92,4	-87,9	-46,8	180,0	-55,4	174,5	61,4	70,0
23	-6,20	-81,0	143,2	180,0	176,9	85,3	-5,3	-105,8	-89,3	180,0	-166,4	80,3	180,0	-149,5	157,3	-180,0	65,4	-89,3	-77,5	113,0	-180,0	178,9	63,5	172,3	179,4
24	-5,91	-170,6	-30,5	179,8	-177,1	-98,7	25,8	71,4	-80,7	-179,8	170,5	57,3	174,5	-76,8	147,9	-178,7	-56,9	128,3	-89,8	144,1	-179,4	-54,1	175,1	-178,5	-50,3
25	-6,13	-69,6	156,6	176,7	-179,3	-97,9	2,7	-71,5	77,7	-176,3	158,5	-38,6	178,9	-155,9	155,6	179,5	56,6	87,0	-155,0	-37,6	-179,8	180,0	63,9	52,0	-60,7
26	-5,62	-175,6	-24,5	-180,0	-178,8	78,7	-152,8	70,6	-81,1	180,0	168,4	54,6	180,0	-77,9	147,1	-180,0	-55,9	132,9	-89,3	144,6	-180,0	-54,2	175,0	-178,5	69,7
27	-9,01	61,8	140,5	-167,0	-166,2	-104,2	28,6	-89,1	62,6	176,5	69,6	-85,1	175,7	-101,3	-28,8	-170,4	-57,1	103,2	-94,2	151,1	179,4	-52,1	175,6	61,5	-170,9
28	-8,85	-87,6	139,0	-180,0	44,5	-89,5	28,2	62,3	-93,1	180,0	-148,3	29,7	-180,0	-161,4	160,3	180,0	-179,8	-107,0	-130,0	-68,2	180,0	179,5	64,1	52,2	-60,6
29	-7,78	83,6	-44,7	-179,1	-177,6	-109,9	21,1	122,2	-81,8	-179,5	-174,5	-64,8	177,0	-98,4	-43,4	179,0	-58,8	102,8	-126,0	-38,6	175,5	178,8	62,7	172,1	-60,9
30	-7,10	-82,0	143,0	-177,5	-179,8	68,5	-158,9	-81,5	157,3	-175,7	-78,9	77,8	173,0	-153,0	160,1	-178,5	62,0	-92,0	-82,3	-64,2	179,5	-80,0	65,1	-68,9	-60,6
31	-9,09	-89,8	134,3	178,5	57,2	95,4	-152,3	61,6	27,9	-178,8	65,7	32,5	-179,6	-153,3	154,9	175,6	175,6	-104,4	-121,9	-59,6	179,9	-60,5	166,7	60,2	67,7
32	-6,23	-82,8	157,3	-174,8	-170,8	-114,0	158,2	-164,9	52,0	174,8	68,4	35,5	178,0	-91,3	159,0	179,5	-52,1	-49,1	-152,9	-38,7	-179,6	178,2	63,4	52,4	59,3
33	-5,87	-107,3	173,6	-178,4	71,7	99,9	-151,9	-72,1	84,7	174,0	177,8	-106,4	178,1	-151,8	141,1	-178,1	173,8	74,8	-88,5	123,3	-179,2	-53,2	176,5	-178,3	70,8
34	-7,59	-40,1	-45,5	179,9	-177,5	68,2	-158,0	123,6	-76,5	179,9	-179,9	-64,0	177,3	-99,6	-43,6	179,4	-58,9	-77,8	-125,7	-37,3	175,7	178,9	62,7	52,0	179,1
35	-6,77	-84,3	153,5	-180,0	-176,4	69,0	-1,0	-170,5	47,3	180,0	68,6	37,9	180,0	-96,1	-5,1	-180,0	-53,8	-46,9	-154,6	139,6	-180,0	178,0	64,3	-67,1	179,4
36	-8,96	-167,3	-46,4	-175,1	174,5	69,1	-160,2	119,9	-155,6	179,5	-80,9	-89,6	175,0	-95,8	-20,5	175,3	72,3	-93,5	-135,9	133,1	-173,8	176,5	63,1	-67,0	59,3
37	-6,79	179,5	-15,3	177,1	64,3	97,9	8,6	161,4	-43,4	179,8	88,7	59,8	178,1	-151,1	161,4	178,6	62,7	-91,2	-152,1	135,7	179,9	178,5	64,1	-67,3	-60,6
38	-6,17	-172,9	-27,3	178,4	-175,7	-101,3	25,7	77,3	-84,9	-176,4	159,6	86,6	172,6	-146,2	164,7	179,4	65,6	-90,7	-157,6	-16,7	-179,8	59,0	93,3	-59,1	-58,5
39	-5,84	-89,0	176,3	-178,4	67,6	94,9	-2,9	-67,8	83,8	179,6	158,4	-44,2	175,3	-160,1	156,6	174,9	175,7	79,1	-148,9	139,6	-179,7	179,5	63,8	172,3	59,3
40	-5,81	-167,0	-35,9	180,0	-173,7	-92,3	32,4	67,1	-91,5	180,0	-160,1	41,5	180,0	-68,6	153,5	180,0	177,6	-106,5	-76,6	99,5	-180,0	-80,2	66,1	51,7	179,8

### Bibliographie

- [1] Z. Hirani, Hailey F. T. Emily, F. Babcock, A. T. Bockus, C. D. Varnado Jr, C. W. Bielawski and A. R. Urbach, "Molecular Recognition of Methionine-Terminated Peptides by Cucurbit[8]uril," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 140, no. 38, pp. 12263–12269, **(2018)**.
- [2] J. L. Velázquez-Libera, G. Rossino, C. Navarro-Retamal, S. Collina, and J. Caballero, "Docking, Interaction Fingerprint, and Three-Dimensional Quantitative Structure–Activity Relationship (3D-QSAR) of Sigma1 Receptor Ligands, Analogs of the Neuroprotective Agent RC-33," *Front. Chem.*, vol. 7, no. July, pp. 1–20, **(2019)**.
- [3] F. Marcelo, N. Supekar, F. Corzana, J. C. van der Horst, I. M. Vuist, D. Live, G. P. H. Boons, D. F. Smith and S. J. van Vliet, "Identification of a secondary binding site in human macrophage galactose-type lectin by microarray studies: Implications for the molecular recognition of its ligands," *J. Biol. Chem.*, vol. 294, no. 4, pp. 1300–1311, **(2019)**.
- [4] E. Fischer, "Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme," *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, vol. 27, no. 3, pp. 3479–3483, **(1894)**.
- [5] D. E. Koshland Jr., "Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 44, no. 2, pp. 98–104, **(1958)**.
- [6] A. Bierzyński, "Methods of peptide conformation studies," *Acta Biochim. Pol.*, vol. 48, no. 4, pp. 1091–1099, **(2001)**.
- [7] K. Vanommeslaeghe, O. Guvench, and A. D. MacKerell, "Molecular Mechanics," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 20, no. 20, pp. 3281–3292, **(2014)**.
- [8] N. Qvit, S. J. S. Rubin, T. J. Urban, D. Mochly-Rosen, and E. R. Gross, "Peptidomimetic therapeutics: scientific approaches and opportunities," *Drug Discov. Today*, vol. 22, no. 2, pp. 454–462, **(2017)**.
- [9] K. T. Powers, M. S. Gildenberg, and M. T. Washington, "Modeling Conformationally Flexible Proteins With X-ray Scattering and Molecular Simulations," *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, vol. 17, pp. 570–578, **(2019)**.
- [10] A. Srivastava, T. Nagai, A. Srivastava, O. Miyashita, and F. Tama, "Role of computational methods in going beyond x-ray crystallography to explore protein structure and dynamics," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 11, pp. 1–23, **(2018)**.
- [11] M. Kovermann, P. Rogne, and M. Wolf-Watz, "Protein dynamics and function from solution state NMR spectroscopy," *Quarterly reviews of biophysics*, vol. 49. pp. 1- 43, **(2016)**.
- [12] I. V. Sergeev, B. Itin, R. Rogawski, L. A. Day, and A. E. McDermott, "Efficient assignment and NMR analysis of an intact virus using sequential side-chain correlations and DNP sensitization," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 114, no. 20, pp. 5171–5176, **(2017)**.
- [13] Y. Liu, J. Saurí, E. Mevers, M. W. Peczuh, H. Hiemstra, J. Clardy, G. E. Martin and R. T. Williamson, "Unequivocal determination of complex molecular structures using anisotropic NMR measurements," *Science* 356, eaam5349, vol. 356, no. 6333, **(2017)**.
- [14] I. Hassan, L. Donati, T. Stensitzki, B. G. Keller, K. Heyne, and P. Imhof, "The vibrational

## Bibliographie

---

- spectrum of the hydrated alanine-leucine peptide in the amide region from IR experiments and first principles calculations,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 698, pp. 227–233, **(2018)**.
- [15] L. Whitmore and B. A. Wallace, “Protein secondary structure analyses from circular dichroism spectroscopy: Methods and reference databases,” *Biopolymers*, vol. 89, no. 5, pp. 392–400, **(2008)**.
- [16] A. Ianeselli, S. Oriolo, G. Spagnolli, P. Faccioli, L. Cupellini, S. Jurinovich and B. Mennucci, “Atomic Detail of Protein Folding Revealed by an Ab Initio Reappraisal of Circular Dichroism,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 140, no. 10, pp. 3674–3682, **(2018)**.
- [17] A. Micsonai, F. Wien, L. Kernya, Y. Lee, Y. Goto, M. Réfrégiers, and J. Kardos, “Accurate secondary structure prediction and fold recognition for circular dichroism spectroscopy,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 112, no. 24, pp. E3095–E3103, **(2015)**.
- [18] M. Bonomi, G. T. Heller, C. Camilloni, and M. Vendruscolo, “Principles of protein structural ensemble determination,” *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 42. Elsevier Ltd, pp. 106–116, **(2017)**.
- [19] J. A. McCleverty, and T. J. Meyer, “Comprehensive Coordination Chemistry-II. Fundamentals : Physical Methods, Theoretical Analysis and Case Studies, Software for Computational Chemistry,” *Elsevier Ltd*, Vol 2, pp. 687–689, **(2003)**.
- [20] S. J. Weiner, P. A. Kollman, U. C. Singh, D. A. Case, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta and P. Weiner, “A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 106, no. 3, pp. 765–784, **(1984)**.
- [21] D. A. Case, T. E. Cheatham, T. Darden, H. Gohlke, R. Luo, K. M. Merz, A. Onufriev, C. Simmerling, B. Wang and R. J. Woods, “The Amber biomolecular simulation programs”, *Journal of Computational Chemistry*, vol. 26, no. 16. pp. 1668–1688, **(2005)**.
- [22] B. Brooks, “proceedings from supercomputer research in chemistry and chemical engineering,” *Am. J. Soc.*, **(1987)**.
- [23] A. D. MacKerell, N. Banavali, and N. Foloppe, “Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids,” *Biopolymers*, vol. 56, no. 4, pp. 257–265, **(2000)**.
- [24] K. Vanommeslaeghe, E. Hatcher, C. Acharya, S. Kundu, S. Zhong, J. Shim, E. Darian, O. Guvench, P. Guvench, I. Vorobyov, and A. D. Mackerell, “CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields,” *J. Comput. Chem.*, vol. 31, no. 4, pp. 671–690, **(2010)**.
- [25] N. L. Allinger, F. Li, L. Yan, and J. C. Tai, “Molecular mechanics (MM3) calculations on conjugated hydrocarbons,” *J. Comput. Chem.*, vol. 11, no. 7, pp. 868–895, **(1990)**.
- [26] N. L. Allinger, K. Chen, and J. H. Lii, “An improved force field (MM4) for saturated hydrocarbons,” *J. Comput. Chem.*, vol. 17, no. 5–6, pp. 642–668, **(1996)**.
- [27] J. C. Tai and N. L. Allinger, “Effect of inclusion of electron correlation in MM3 studies of cyclic conjugated compounds,” *J. Comput. Chem.*, vol. 19, no. 5, pp. 475–487, **(1998)**.
- [28] T. A. Halgren, “Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94,” *J. Comput. Chem.*, vol. 17, no. 5–6, pp. 490–519, **(1996)**.

## Bibliographie

---

- [29] T. A. Halgren, “Merck molecular force field. II. MMFF94 van der Waals and electrostatic parameters for intermolecular interactions,” *J. Comput. Chem.*, vol. 17, no. 5–6, pp. 520–552, (1996).
- [30] T. A. Halgren, “Merck molecular force field. III. Molecular geometries and vibrational frequencies for MMFF94,” *J. Comput. Chem.*, vol. 17, no. 5–6, pp. 553–586, (1996).
- [31] T. A. Halgren and R. B. Nachbar, “Merck molecular force field. IV. Conformational energies and geometries for MMFF94,” *J. Comput. Chem.*, vol. 17, no. 5–6, pp. 587–615, (1996).
- [32] A. Cheng, S. A. Best, K. M. Merz, and C. H. Reynolds, “GB/SA water model for the Merck molecular force field (MMFF),” *J. Mol. Graph. Model.*, vol. 18, no. 3, pp. 273–282, (2000).
- [33] F. A. Momany, R. F. McGuire, A. W. Burgess, and H. A. Scheraga, “Energy parameters in polypeptides. VII. Geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interactions, hydrogen bond interactions, and intrinsic torsional potentials for the naturally occurring amino acids,” *J. Phys. Chem.*, vol. 79, no. 22, pp. 2361–2381, (1975).
- [34] G. Némethy, K. D. Gibson, K. A. Palmer, C. Yoon, G. Paterlini, A. Zagari, S. Rumsey and H. A. Scheraga, “Energy parameters in polypeptides. 10. Improved geometrical parameters and nonbonded interactions for use in the ECEPP/3 algorithm, with application to proline-containing peptides,” *J. Phys. Chem.*, vol. 96, no. 15, pp. 6472–6484, (1992).
- [35] Y. A. Arnautova, R. A. Abagyan, and M. Totrov, “Development of a new physics-based internal coordinate mechanics force field and its application to protein loop modeling,” *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 79, no. 2, pp. 477–498, Feb. (2011).
- [36] A. J. Bordner, “Force fields for homology modeling,” *Methods Mol. Biol.*, vol. 857, pp. 83–106, (2012).
- [37] N. Vaidehi and A. Jain, “Internal coordinate molecular dynamics: A foundation for multiscale dynamics,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 119, no. 4, pp. 1233–1242, (2015).
- [38] L. Piela, *Ideas of Quantum Chemistry*. Elsevier, (2007).
- [39] L. Piela, *Ideas of Quantum Chemistry: Second Edition*. Elsevier, (2013).
- [40] S. R. Shenoy and B. Jayaram, “Proteins: Sequence to Structure and Function – Current Status,” *Curr. Protein Pept. Sci.*, vol. 11, no. 7, pp. 498–514, (2011).
- [41] F. H. Stillinger, “Exponential multiplicity of inherent structures,” *Phys. Rev. E - Stat. Physics, Plasmas, Fluids, Relat. Interdiscip. Top.*, vol. 59, no. 1, pp. 48–51, (1999).
- [42] M. Lipton and W. C. Still, “The multiple minimum problem in molecular modeling. Tree searching internal coordinate conformational space,” *J. Comput. Chem.*, vol. 9, no. 4, pp. 343–355, (1988).
- [43] J. W. Ponder and F. M. Richards, “Tertiary templates for proteins. Use of packing criteria in the enumeration of allowed sequences for different structural classes,” *J. Mol. Biol.*, vol. 193, no. 4, pp. 775–791, (1987).
- [44] I. N. Levine, *Quantum Chemistry, Seventh Edition*. Advanced Chemistry Series, (2014).
- [45] D. N. J. White and D. H. Kitson, “Computational conformational analysis of

## Bibliographie

---

- cyclohexaglycyl,” *J. Mol. Graph.*, vol. 4, no. 2, pp. 112–116, (1986).
- [46] D. K. Agrafiotis, A. C. Gibbs, F. Zhu, S. Izrailev, and E. Martin, “Conformational sampling of bioactive molecules: A comparative study,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 47, no. 3, pp. 1067–1086, (2007).
- [47] A. T. Bruni, V. B. P. Leite, and M. M. C. Ferreira, “Conformational analysis: A new approach by means of chemometrics,” *J. Comput. Chem.*, vol. 23, no. 2, pp. 222–236, (2002).
- [48] R. Donev, “Advances in Protein Chemistry and Structural Biology,” *Protein Structure and Diseases*, Academic Press, vol. 83, (2016).
- [49] M. . Rosas-García and I. Saenz-Tavera, “Application of Molecular Dynamics Simulation to Small Systems,” *Molecular Dynamics - Theoretical Developments and Applications in Nanotechnology and Energy*, *InTech*, pp. 57–75, (2012).
- [50] L. Monticelli and D. P. Tieleman, “Force fields for classical molecular dynamics,” *Methods Mol. Biol.*, vol. 924, pp. 197–213, (2013).
- [51] A. Hospital, J. R. Goñi, M. Orozco, and J. L. Gelpi, “Molecular dynamics simulations: Advances and applications,” *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, *Dove Medical Press Ltd*, vol. 8, no. 1, pp. 37–47, (2015).
- [52] L. Verlet, “Computer ‘experiments’ on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules,” *Phys. Rev.*, vol. 159, no. 1, pp. 98–103, (1967).
- [53] S. A. Adcock and J. A. McCammon, “Molecular dynamics: Survey of methods for simulating the activity of proteins,” *Chemical Reviews*, vol. 106, no. 5, pp. 1589–1615, (2006).
- [54] W. F. Van Gunsteren and H. J. C. Berendsen, “A Leap-Frog Algorithm for Stochastic Dynamics,” *Mol. Simul.*, vol. 1, no. 3, pp. 173–185, (1988).
- [55] J. A. Snyman, “LFOPC leap-frog algorithm for constrained optimization,” *Comput. Math. with Appl.*, vol. 40, no. 8, pp. 1085–1096, (2000).
- [56] D. Beeman, “Some multistep methods for use in molecular dynamics calculations,” *J. Comput. Phys.*, vol. 20, no. 2, pp. 130–139, (1976).
- [57] M. P. Allen and D. J. Tildesley, *Computer simulation of liquids: Second edition*. Oxford University Press, (2017).
- [58] D. J. Earl and M. W. Deem, “Monte Carlo Simulations Molecular Modeling of Proteins,” in *Molecular Modeling of Proteins*, vol. 443, pp. 25–36, (2008).
- [59] N. Metropolis and S. Ulam, “Journal of the American The Monte Carlo Method,” *J. Am. Stat. Assoc.*, vol. 1459, no. February 2015, pp. 37–41, (1949).
- [60] N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, and E. Teller, “Equation of state calculations by fast computing machines,” *J. Chem. Phys.*, vol. 21, no. 6, pp. 1087–1092, (1953).
- [61] M. Hayoun, “La méthode de Monte Carlo Metropolis,” *Course*, pp. 1- 17, (2002).
- [62] J. Chen, C. L. Brooks, and J. Khandogin, “Recent advances in implicit solvent-based methods

## Bibliographie

---

- for biomolecular simulations,” *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 18, no. 2. pp. 140–148, (2008).
- [63] D. P. Landau and K. Binder, "A Guide to Monte Carlo Simulations in Statistical Physics." *Cambridge University Press*, Second Edition, (2014).
- [64] I. Staneva, Y. Huang, Z. Liu, and S. Wallin, “Binding of Two Intrinsically Disordered Peptides to a Multi-Specific Protein: A Combined Monte Carlo and Molecular Dynamics Study,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 8, no. 9, (2012).
- [65] R. G. Ghulghazaryan, S. Hayryan, and C. K. Hu, “Efficient combination of Wang-Landau and transition matrix Monte Carlo methods for protein simulations,” *J. Comput. Chem.*, vol. 28, no. 3, pp. 715–726, (2007).
- [66] S. Kirkpatrick, C. D. Gelatt, and M. P. Vecchi, “Optimization by simulated annealing,” *Science.*, vol. 220, no. 4598, pp. 671–680, (1983).
- [67] A. D. Stivala, P. J. Stuckey, and A. I. Wirth, “Fast and accurate protein substructure searching with simulated annealing and GPUs,” *BMC Bioinformatics*, vol. 11, (2010).
- [68] P. Faccioli, A. Lonardi, and H. Orland, “Dominant reaction pathways in protein folding: A direct validation against molecular dynamics simulations,” *J. Chem. Phys.*, vol. 133, no. 4, (2010).
- [69] A. Perdomo-Ortiz, N. Dickson, M. Drew-Brook, G. Rose, and A. Aspuru-Guzik, “Finding low-energy conformations of lattice protein models by quantum annealing,” *Sci. Rep.*, vol. 2, (2012).
- [70] F. P. Agostini, D. D. O. Soares-Pinto, M. A. Moret, C. Osthoff, and P. G. Pascutti, “Generalized simulated annealing applied to protein folding studies,” *J. Comput. Chem.*, vol. 27, no. 11, pp. 1142–1155, (2006).
- [71] C. Ameziane Hassani, “La génération et l’analyse des populations de structures peptidiques en vue d’étudier les hypersurfaces d’énergie conformationnelle en mécanique classique,” Thèse doctorat, Université de Sherbrooke, Québec. Canada., (1991).
- [72] Z. Li and H. A. Scheraga, “Monte Carlo-minimization approach to the multiple-minima problem in protein folding.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 84, no. 19, pp. 6611–6615, (1987).
- [73] A. G. Michel, C. Ameziane Hassani, and N. Bredin, “Low-energy conformational domains of polypeptides, characterized by a random-search and minimization procedure,” *Can. J. Chem.*, vol. 70, no. 2, pp. 596–603, (1992).
- [74] M. R. Hestenes and E. Stiefel, “Methods of conjugate gradients for solving linear systems,” *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, vol. 49, no. 6, p. 409, (1952).
- [75] A. G. Michel, G. Lajoie, and C. Ameziane Hassani, “Crystal and molecular structure of two geometrically restricted chemotactic tripeptides, analogues of formyl-methionine-leucine-phenylalanine,” *Int. J. Pept. Protein Res.*, vol. 36, no. 6, pp. 489–498, (1990).
- [76] A. G. Michel and C. Jeandenans, “Multiconformational investigations of polypeptidic structures, using clustering methods and principal components analysis,” *Comput. Chem.*, vol. 17, no. 1, pp. 49–59, (1993).

## Bibliographie

- [77] F. Lemay, C. Ameziane Hassani, and A. G. Michel, "Structural requirements for molecular recognition by the neurokinin receptors," *Can. J. Chem.*, vol. 68, no. 7, pp. 1186–1191, (1990).
- [78] H. Meirovitch, E. Meirovitch, A. G. Michel, and M. Vásquez, "A simple and effective procedure for conformational search of macromolecules: Application to met- and leu-enkephalin," *J. Phys. Chem.*, vol. 98, no. 25, pp. 6241–6243, (1994).
- [79] A. Khiat, M. Lamoureux, and Y. Boulanger, "Structural differences between the free and bound states of the DNA- bisintercalating peptide YSPTSPSY," *J. Med. Chem.*, vol. 39, no. 13, pp. 2492–2498, (1996).
- [80] Y. Wazady, C. Ameziane Hassani, M. Lakhdar, and A. Ezzamarty, "Theoretical conformational analysis of chemotactic peptides formyl-Met-Leu-Phe-OMe and formyl-Met-Acc6-Phe-OMe," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–9, (2001).
- [81] Y. Wazady, C. Ameziane Hassani, M. Lakhdar, and A. Ezzamarty, "Comparative conformational study of chemotactic peptides formyl-Met-Leu-Phe-OMe and formyl-Met-Acc5-Phe-OMe," *Acta Chim. Slov.*, vol. 49, no. 1, pp. 55–65, (2002).
- [82] K. Vengadesan and N. Gautham, "A New Conformational Search Technique and Its Applications," *ChemInform*, vol. 37, no. 21, (2006).
- [83] L. Zhan, J. Z. Y. Chen, and W. K. Liu, "Conformational study of Met-enkephalin based on the ECEPP force fields," *Biophys. J.*, vol. 91, no. 7, pp. 2399–2404, (2006).
- [84] C. Ameziane Hassani, M. Houssat, and J. E. Hazm, "Theoretical conformational analysis of opiate peptides Leu-Enkephalin (H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH) and its two thioamide analogs (H-Tyr-Glyψ[CSNH]Gly-Phe-Leu-OH) and (H-Tyr-Gly-Glyψ[CSNH]Phe-Leu-OH)," *Struct. Chem.*, vol. 29, no. 2, pp. 481–489, (2018).
- [85] C. Ameziane Hassani, M. Houssat, J. E. Hazm, and A. Harrach, "Structural requirements for molecular recognition by FMLP analogs receptors: Comparative conformational analysis of (for-met-leu-phe-ome) and its thioamide analog (for-met-leuψ[CSNH]phe-ome)," *Acta Chim. Slov.*, vol. 65, no. 3, pp. 730–738, (2018).
- [86] S. S. Zimmerman, M. S. Pottle, G. Némethy, and H. A. Scheraga, "Conformational Analysis of the 20 Naturally Occurring Amino Acid Residues Using ECEPP," *Macromolecules*, vol. 10, no. 1, pp. 1–9, (1977).
- [87] Y. A. Arnautova, A. Jagielska, and H. A. Scheraga, "A new force field (ECEPP-05) for peptides, proteins, and organic molecules," *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 10, pp. 5025–5044, (2006).
- [88] S. R. McAllister and C. A. Floudas, "An improved hybrid global optimization method for protein tertiary structure prediction," *Comput. Optim. Appl.*, vol. 45, no. 2, pp. 377–413, (2010).
- [89] J. Leszczynski, A. Kaczmarek-Kedziera, T. Puzyn, M. G. Papadopoulos, H. Reis, and M. K. Shukla, *Handbook of Computational Chemistry*, Second Edition. (2017).
- [90] P. Neittaanmäki, S. Repin, and T. Tuovinen, "Mathematical modeling and optimization of complex structures", *Eds, Springer*, (2016).

## Bibliographie

---

- [91] G. N. Ramachandran, C. Ramakrishnan, and V. Sasisekharan, "Stereochemistry of polypeptide chain configurations," *J. Mol. Biol.*, vol. 7, no. 1, pp. 95–99, (1963).
- [92] R. E. Hubbard and M. Kamran Haider, "Hydrogen Bonds in Proteins: Role and Strength," *Encycl. Life Sci. John Wiley & Sons*, pp. 1-7, (2010).
- [93] Y. Jinhua, C. Wang, C. Yao, C. Chen, Y. Hu, G. He and Junfeng Zhao., "Site-Specific Incorporation of Multiple Thioamide Substitutions into a Peptide Backbone via Solid Phase Peptide Synthesis," *J. Org. Chem.*, (2019).
- [94] N. Mahanta, D. M. Szantai-Kis, E. J. Petersson, and D. A. Mitchell, "Biosynthesis and Chemical Applications of Thioamides," *ACS Chem. Biol.*, (2019).
- [95] X. Shen, M. Mustafa, Y. Chen, Y. Cao, and J. Gao, "Natural thiopeptides as a privileged scaffold for drug discovery and therapeutic development," *Med. Chem. Res.*, vol. 28, no. 8, pp. 1063–1098, (2019).
- [96] A. G. Michel, C. Ameziane Hassani, G. Boulay, and G. Lajoie, "Étude structurale de la liaison thioamide: Synthèse et conformation de dérivés de la thioalanine et de la thio glycine," *Can. J. Chem.*, vol. 67, no. 8, pp. 1312–1318, (1989).
- [97] T. T. Tran, H. Treutlein, and A. W. Burgess, "Conformational analysis of thiopeptides: ( $\phi, \psi$ ) maps of thio-substituted dipeptides," *J. Comput. Chem.*, vol. 22, no. 10, pp. 1026–1037, (2001).
- [98] J. H. Miwa, A. K. Patel, N. Vivatrat, S. M. Popek, and A. M. Meyer, "Compatibility of the thioamide functional group with  $\beta$ -sheet secondary structure: Incorporation of a thioamide linkage into a  $\beta$ -hairpin peptide," *Org. Lett.*, vol. 3, no. 21, pp. 3373–3375, (2001).
- [99] M. Torsello, L. Orian, M. De Zotti, R. Saini, F. Formaggio, and A. Polimeno, "Energetics of oxo- and thio-dipeptide formation via amino acid condensation: A systematic computational analysis," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 16, no. 33, pp. 17515–17522, (2014).
- [100] M. DeZotti, C. Peggion, B. Biondi, M. Crisma, F. Formaggio, and C. Toniolo, "Endothiopeptides: A conformational overview," *Biopolymers*, no. March, pp. 697–713, (2016).
- [101] D. R. Artis and M. A. Lipton, "Conformations of thioamide-containing dipeptides: A computational study," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 120, no. 47, pp. 12200–12206, (1998).
- [102] V. N. Balaji, S. Profeta, and S. W. Dietrich, "Mean geometry of the thiopeptide unit and conformational features of dithiopeptides and polythiopeptides," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 145, no. 2, pp. 834–841, (1987).
- [103] F. Formaggio, M. Crisma, C. Toniolo, and C. Peggion, "All-thioamidated homo- $\alpha$ -peptides: Synthesis and conformation," *European J. Org. Chem.*, no. 17, pp. 3455–3463, (2013).
- [104] R. Boca, "An extended PCILO method," *Theoret. Chim. Acta*, vol. 61, pp 179-192 , (1982).
- [105] G. Némethy, M. S. Pottle, and H. A. Scheraga, "Energy parameters in polypeptides. 9. Updating of geometrical parameters, nonbonded interactions, and hydrogen bond interactions for the naturally occurring amino acids," *J. Phys. Chem.*, vol. 87, no. 11, pp. 1883–1887, (1983).

## Bibliographie

---

- [106] D. S. Berkholz, M. V. Shapovalov, R. L. Dunbrack, and P. A. Karplus, “Conformation Dependence of Backbone Geometry in Proteins,” *Structure*, vol. 17, no. 10, pp. 1316–1325, (2009).
- [107] S. C. Lovell, J. M. Word, J. S. Richardson, and D. C. Richardson, “The penultimate rotamer library,” *Proteins Struct. Funct. Genet.*, vol. 40, no. 3, pp. 389–408, (2000).
- [108] L. Schafer, S. Q. Newton, M. Cao, A. Peeters, C. Van Alsenoy, K. Wolinski and F. A. Momany, “Evaluation of the Dipeptide Approximation in Peptide Modeling by ab Initio Geometry Optimizations of Oligopeptides,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 115, no. 1, pp. 272–280, (1993).
- [109] T. Head-Gordon, M. Head-Gordon, M. J. Frisch, C. L. Brooks, and J. A. Pople, “Theoretical Study of Blocked Glycine and Alanine Peptide Analogues,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 113, no. 16, pp. 5989–5997, (1991).
- [110] B. K. Ho, A. Thomas, and R. Brasseur, “Revisiting the Ramachandran plot: Hard-sphere repulsion, electrostatics, and H-bonding in the  $\alpha$ -helix,” *Protein Sci.*, vol. 12, no. 11, pp. 2508–2522, (2009).
- [111] K. H. Yang, H. Fang, J. S. Ye, J. Z. Gong, J. T. Wang, and W. F. Xu, “The main functions and structural modifications of tripeptide N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP) as a chemotactic factor,” *Pharmazie*, vol. 63, no. 11, pp. 779–783, (2008).
- [112] G. Cavicchioni, M. Turchetti, K. Varani, S. Falzarano, and S. Spisani, “Properties of a novel chemotactic esapeptide, an analogue of the prototypical N-formylmethionyl peptide,” *Bioorg. Chem.*, vol. 31, no. 4, pp. 322–330, (2003).
- [113] Y. F. Tsai, H. P. Yu, P. J. Chung, Y. L. Leu, L. M. Kuo, C. Y. Chen, and T. L. Hwang, “Osthon attenuates neutrophilic oxidative stress and hemorrhagic shock-induced lung injury via inhibition of phosphodiesterase 4,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 89, pp. 387–400, (2015).
- [114] R. Ding, G. Xu, Y. Feng, L. Zou, and W. Chao, “Lipopeptide PAM3CYS4 Synergizes N-Formyl-Met-Leu-Phe (fMLP)-Induced Calcium Transients in Mouse Neutrophils,” *Shock*, vol. 50, no. 4, pp. 493–499, (2018).
- [115] E. C. H. Yip, Y. H. Wong, and J. T. Y. Wong, “Bacterial formyl peptide mediated chemotaxis and extracellular acidification in shrimp haemocytes,” *Dev. Comp. Immunol.*, vol. 25, no. 4, pp. 269–277, (2001).
- [116] J. S. Mills, “Differential activation of polymorphisms of the formyl peptide receptor by formyl peptides,” *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, vol. 1772, no. 9, pp. 1085–1092, (2007).
- [117] R. D. Ye, F. Boulay, J. Wang, and C. Dahlgren, “Nomenclature for the Formyl Peptide Receptor (FPR) Family,” *Pharmacol. Rev.*, vol. 61, no. 2, pp. 119–161, (2009).
- [118] M. F. Salamah, D. Ravishankar, R. Vaiyapuri, L. A. Moraes, K. Patel, M. Perretti, J. M. Gibbins, and S. Vaiyapuri, “The formyl peptide fMLF primes platelet activation and augments thrombus formation,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 17, no. 7, pp. 1120–1133, (2019).
- [119] A. R. Dentino, P. A. Raj, and E. De Nardin, “Subtle differences between human and rabbit neutrophil receptors shown by the secretagogue activity of constrained formyl peptides,” *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 337, no. 2, pp. 267–274, (1997).

## Bibliographie

---

- [120] H. Q. He and R. D. Ye, "The formyl peptide receptors: Diversity of ligands and mechanism for recognition," *Molecules*, vol. 22, no. 3. (2017).
- [121] G. Sauve, V. S. Rao, G. Lajoie, and B. Belleau, "Backbone-modified oligopeptidic bioregulators. The synthesis and configuration of thioamide, amidoxime, cyanoamidine, and amidrazone analogs of the chemotactic peptide N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (f-Met-Leu-Phe-OR)," *Can. J. Chem.*, vol. 63, no. 11, pp. 3089–3101, (1985).
- [122] B. Belleau, G. Lajoie, G. Sauve, V. S. Rao, and A. di Paola, "Some remarkable effects of thiopeptide and derived linkages on lysozyme release from neutrophils by esters of the chemotactic peptide N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (f-Met-Leu-Phe-OR)," *Int. J. Immunopharmacol.*, vol. 11, no. 5, pp. 467–471, (1989).
- [123] M. Sukumar, P. A. Raj, P. Balaram, and E. L. Becker, "A highly active chemotactic peptide analog incorporating the unusual residue 1-aminocyclohexanecarboxylic acid at position 2," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 128, no. 1, pp. 339–344, (1985).
- [124] C. Toniolo, M. Crisma, G. Valle, G. M. Bonora, S. Polinelli, E. L. Becker, R. J. Freer, R. B. Rao, and P. Balaram, "Conformationally restricted formyl methionyl tripeptide chemoattractants: a three-dimensional structure-activity study of analogs incorporating a C alpha,alpha-dialkylated glycine at position 2," *Pept. Res.*, vol. 2, no. 4, pp. 275–81, (1989).
- [125] R. Bardi, A. M. Piazzesi, C. Toniolo, P. . Raj, S. Raghothama, and P. Balaram, "Solid state and solution conformation of Boc-L-Met-Aib-L-Phe-OMe," *Int. J. Pept. Protein Res.*, vol. 27, no. 3, pp. 229–238, (2009).
- [126] R. S. Rathore, "Conformational investigations on analogs of inflammation response inducing chemotactic tripeptide fMLP," *Biopolym. - Pept. Sci. Sect.*, vol. 80, no. 5, pp. 651–664, (2005).
- [127] S. Spisani, S. Traniello, G. Cavicchioni, F. Formaggio, M. Crisma, and C. Toniolo, "Probing structural requirements of fMLP receptor: On the size of the hydrophobic pocket corresponding to residue 2 of the tripeptide," *J. Pept. Sci.*, vol. 8, no. 2, pp. 56–65, (2002).
- [128] G. Pagani Zecchini, M. Piazzesi, I. Torrini, C. Lucente, E. Gavuzzo, F. Mazza, G. Pochetti, M. Paci, M. Sette, A. Di Nola, G. Veglia, S. Traniello, and S. Spisani, "Synthesis, conformation, and activity of HCO-Met-ΔZ Leu-Phe-Ome, an active analogue of chemotactic N- formyltripeptides," *Biopolymers*, vol. 33, no. 3, pp. 437–451, (1993).
- [129] E. Morera, G. Lucente, G. Ortar, M. Nalli, F. Mazza, E. Gavuzzo, and S. Spisani, "Exploring the interest of 1,2-Dithiolane ring system in peptide chemistry. Synthesis of a chemotactic tripeptide and x-ray crystal structure of a 4-amino-1,2-dithiolane-4-carboxylic acid derivative," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 10, no. 1, pp. 147–157, (2002).
- [130] P. A. Raj and P. Balaram, "Conformational effects on peptide aggregation in organic solvents: Spectroscopic studies of two chemotactic tripeptide analogs," *Biopolymers*, vol. 24, no. 7, pp. 1131–1146, (1985).
- [131] H. Dugas, M. Laroche, M. Ptak, and H. Labbe, "Synthesis, Biological-Activity, Conformational-Analysis By Nmr and Molecular Modeling of N-Formyl-L-Met-L-Pro-L-Phe-Ome, a Proline Analog of the Chemotactic Peptide N-Formyl-L-Met-L-Leu- L-Phe-Oh," *Int. J. Pept. Protein Res.*, vol. 41, no. 6, pp. 595–605, (1993).
- [132] G. Vertuani, S. Spisani, M. Boggian, S. Traniello, and A. Scatturin, "Conformational studies

## Bibliographie

---

- of synthetic tripeptide chemoattractants," *Int. J. Pept. Protein Res.*, vol. 29, no. 4, pp. 525–532, (1987).
- [133] E. Gavuzzo, G. Lucente, F. Mazza, G. Pagani Zecchini, M. P. Paradisi, and I. Torrini, "Synthesis and properties of chemotactic peptide analogs. I. Crystal structure and molecular conformation of HCO-Met-Leu-Ain-OMe," *Int. J. Pept. Protein Res.*, vol. 37, no. 6, pp. 268–216, (1991).
- [134] R. J. Freer, A R. Day, J. A. Radding, E. Schiffmann, S. Aswanikumar, H. J. Showell, and E. L. Becker, "Further Studies on the Structural Requirements for Synthetic Peptide Chemoattractants," *Biochemistry*, vol. 19, no. 11, pp. 2404–2410, (1980).
- [135] R. J. Freer, A R. Day, N. Muthukumaraswamy, D. Pinon, A. Wu, H. J. Showell, and E. L. Becker, "Formyl Peptide Chemoattractants: A Model of the Receptor on Rabbit Neutrophils," *Biochemistry*, vol. 21, no. 2, pp. 257–263, (1982).
- [136] G. Cavicchioni, A. Fraulini, M. Turchetti, K. Varani, S. Falzarano, B. Pavan, and S. Spisani, "Biological activity of for-Met-Leu-Phe-OMe analogs: Relevant substitutions specifically trigger killing mechanisms in human neutrophils," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 512, no. 1, pp. 1–8, (2005).
- [137] G. Cavicchioni, A. Fraulini, S. Falzarano, and S. Spisani, "Structure-activity relationship of for-l-Met l-Leu-l-Phe-OMe analogues in human neutrophils," *Bioorg. Chem.*, vol. 34, no. 5, pp. 298–318, (2006).
- [138] C. Giordano, G. Lucente, A. Masi, M. P. Paradisi, A. Sansone, and S. Spisani, "α-Peptide/β-sulfonamidopeptide hybrids: Analogs of the chemotactic agent for-Met-Leu-Phe-OMe," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 14, no. 8, pp. 2642–2652, (2006).
- [139] S. Spisani and G. Cavicchioni, "Differences arising in human neutrophil activation passing from N-formyl to N-acetyl-oligopeptides," *Bioorg. Chem.*, vol. 28, no. 4, pp. 252–259, (2000).
- [140] R. Selvatici, C. Brullo, O. Bruno, and S. Spisani, "Differential inhibition of signaling pathways by two new imidazo-pyrazoles molecules in fMLF-OMe- and IL8-stimulated human neutrophil," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 718, no. 1–3, pp. 428–434, (2013).
- [141] G. Cavicchioni, G. Vertuani, A. Scatturin, and S. Spisani, "The role of peptide bond in chemotactic for-met-leu-phe-ome focused by depsipeptide analogs," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 4, no. 13, pp. 1551–1554, (1994).
- [142] R. Witkowska, J. Zabrocki, S. Spisani, M. S. Falzarano, C. Toniolo, and F. Formaggio, "Synthetic formyl tripeptide chemoattractants: A Cα,α-dialkylated, amphiphilic glycyl residue at position 1," *J. Pept. Sci.*, vol. 9, no. 6, pp. 354–360, (2003).
- [143] I. Torrini, G. Pagani Zecchini, M. Paglialunga Paradisi, G. Lucente, E. Gavuzzo, F. Mazza, G. Pochetti, S. Spisani, and A. L. Giuliani, "Synthesis and properties of chemotactic peptide analogs," *Int. J. Pept. Protein Res.*, vol. 38, no. 6, pp. 495–504, (2009).
- [144] A. Takahashi, "Opioid Peptide Family". *Handbook of Hormones, Chap. 7*. Elsevier Inc., (2016).
- [145] D. Strowes, "Towards the synthesis of a protein β-turn mimetic based on the opioid pentapeptide leu-enkephalin," PhD thesis, School of Chemistry, College of Science and

## Bibliographie

---

- Engineering, University of Glasgow, (2012).
- [146] C. B. Pert and S. H. Snyder, "Opiate Receptor: Demonstration in Nervous Tissue," *Science* (80-. ), vol. 179, no. 4077, pp. 1011–1014, (1973).
- [147] J. Hughes, T. W. Smith, H. W. Kosterlitz, L. A. Fothergill, B. A. Morgan, and H. R. Morris, "Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity," *Nature*, vol. 258, no. 5536, pp. 577–579, (1975).
- [148] S. S. Shenoy and F. Lui, *Biochemistry, Endogenous Opioids*. (2018).
- [149] M. S. Henry, L. Gendron, M. E. Tremblay, and G. Drolet, "Enkephalins: Endogenous Analgesics with an Emerging Role in Stress Resilience," *Neural Plast.*, (2017).
- [150] B. Mongi-Bragato, M. P. Avalos, A. S. Guzmán, F. A. Bollati, and L. M. Cancela, "Enkephalin as a pivotal player in neuroadaptations related to psychostimulant addiction," *Front. Psychiatry*, vol. 9, no. MAY, pp. 1–11, (2018).
- [151] M. Miura, M. Yoshikawa, M. Watanabe, S. Takahashi, J. Ajimi, K. Ito, M. Ito, M. Kawaguchi, H. Kobayashi, and T. Suzuki, "Increase in antinociceptive effect of [Leu5]enkephalin after intrathecal administration of mixture of three peptidase inhibitors," *Tokai J. Exp. Clin. Med.*, vol. 38, no. 2, pp. 62–70, (2013).
- [152] Z. Rezaee, A. Arabanian, S. Balalaie, A. Ahmadiani, and S. Nasoohi, "Semicarbazide substitution enhances enkephalins resistance to Ace induced hydrolysis," *Int. J. Pept. Res. Ther.*, vol. 18, no. 4, pp. 305–309, (2012).
- [153] A. Proteau-Gagné, K. Rochon, M. Roy, P. J. Albert, B. Guérin, L. Gendron, Y. L. Dory, "Systematic replacement of amides by 1,4-disubstituted[1,2,3]triazoles in Leu-enkephalin and the impact on the delta opioid receptor activity," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 23, no. 19, pp. 5267–5269, (2013).
- [154] K. Rochon, A. Proteau-Gagné, P. Bourassa, J. F. Nadon, J. Côté, V. Bournival, F. Gobeil Jr, B. Guérin, Y. L. Dory, and L. Gendron, "Preparation and evaluation at the delta opioid receptor of a series of linear Leu-enkephalin analogues obtained by systematic replacement of the amides," *ACS Chem. Neurosci.*, vol. 4, no. 8, pp. 1204–1216, (2013).
- [155] K. Clausen, A. F. Spatola, C. Lemieux, P. W. Schiller, and S. O. Lawesson, "Evidence of a peptide backbone contribution toward selective receptor recognition for leucine enkephalin thioamide analogs," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 120, no. 1, pp. 305–310, (1984).
- [156] G. Lajoie, S. Lépine, S. Lemaire, F. Jolicoeur, C. Aubé, A. Turcotte, and B. Belleau, "Synthesis and biological activity of monothionated analogs of leucine-enkephalin," *Int. J. Pept. Protein Res.*, vol. 24, no. 4, pp. 316–327, (1984).
- [157] C. Garbay-Jaureguiberry, B. P. Roques, R. Oberlin, M. Anteunis, S. Combrisson, and J. Y. Lallemand, "1H and 13C NMR studies of conformational behaviour of Leu-enkephalin," *FEBS Lett.*, vol. 76, no. 1, pp. 93–98, (1977).
- [158] C. Garbay-Jaureguiberry, D. Marion, E. Fellion and B. Roques, "Refinement of conformational preferences of Leu enkephalin and Tyr-Gly-Gly-Phe by 15N n.m.r.," *int. J. Peptide Protein Res*, no. 20, pp. 443–450, (1982).
- [159] E. R. Stimson, Y. C. Meinwald, and H. A. Scheraga, "Solution Conformation of Enkephalin,

## Bibliographie

---

- A Nuclear Magnetic Resonance Study of  $^{13}\text{C}$ -Enriched Carbonyl Carbons in [Leu<sup>5</sup>]-enkephalin,” *American Chemical Society*, vol. 18, no. 9, pp. 1661–1671, (1979).
- [160] T. Kimura, “Human opioid peptide Met-enkephalin binds to anionic phosphatidylserine in high preference to zwitterionic phosphatidylcholine: Natural-abundance  $^{13}\text{C}$  NMR study on the binding state in large unilamellar vesicles,” *Biochemistry*, vol. 45, no. 51, pp. 15601–15609, (2006).
- [161] T. Takekiyo, M. Kato, and Y. Taniguchi, “FT-IR spectroscopic study on conformational equilibria of [Leu] 5-enkephalin in DMSO and 2H<sub>2</sub>O solutions,” *J. Mol. Liq.*, vol. 119, no. 1–3, pp. 147–152, (2005).
- [162] X. Cai and C. Dass, “Structural characterization of methionine and leucine enkephalins by hydrogen/deuterium exchange and electrospray ionization tandem mass spectrometry,” *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, vol. 19, no. 1, pp. 1–8, (2005).
- [163] G. Ruiz-Gómez, J. D. A. Tyndall, B. Pfeiffer, G. Abbenante, and D. P. Fairlie, “Update 1 of: Over one hundred peptide-activated G protein-coupled receptors recognize ligands with turn structure,” *Chem. Rev.*, vol. 110, no. 4, p. PR1-PR41, (2010).
- [164] J. R. Deschamps, J. L. Flippen-Anderson, and C. George, “X-ray studies on ligands,” *Biopolym. - Pept. Sci. Sect.*, vol. 66, no. 5, pp. 287–293, (2002).
- [165] A. Aubry, N. Birlirakis, M. Sakarellos-Daitsiotis, C. Sakarellos, and M. Marraud, “A crystal molecular conformation of leucine-enkephalin related to the morphine molecule,” *Biopolymers*, vol. 28, no. 1, pp. 27–40, (1989).
- [166] Y.-C. Wang, Y.-C. Wu, C.-C. Yeh, and C.-C. Hwang, “Structure-Activity Relationships of Leu-Enkephalin Analog with (4-Carboxamido)Phenylalanine Substituted for Tyrosine: A Molecular Dynamics Study,” *Biopolymers*, vol. 86, no. 3, pp. 231–239, (2007).
- [167] T. M. Watson and J. D. Hirst, “Theoretical studies of the amide I vibrational frequencies of [Leu]-enkephalin,” *Mol. Phys.*, vol. 103, no. 11–12, pp. 1531–1546, (2005).
- [168] S. Abdali, T. A. Niehaus, K. J. Jalkanen, X. Cao, L. A. Nafie, Th. Frauenheim, S. Suhaid and H. Bohra., “Vibrational absorption spectra, DFT and SCC-DFTB conformational study and analysis of [Leu]enkephalin,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 5, no. 6, pp. 1295–1300, (2003).
- [169] L. Ramya and N. Gautham, “Effects of hydration on the conformational energy landscape of the pentapeptide Met-enkephalin,” *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 5, no. 8, pp. 2180–2190, (2009).
- [170] L. Ramya and N. Gautham, “Conformational space exploration of met- and leu-enkephalin using the MOLS method, molecular dynamics, and monte carlo simulation-a comparative study,” *Biopolymers*, vol. 97, no. 3, pp. 165–176, (2012).
- [171] S. Begay, “Thermodynamics and Structure of Methionine Enkephalin using the Statistical Temperature Molecular Dynamics Algorithm,” PhD thesis, Graduate School of Arts and Sciences, Boston University, (2015).
- [172] Y. Zhang, “Improved pseudobonds for combined ab initio quantum mechanical/molecular mechanical methods,” *J. Chem. Phys.*, vol. 122, no. 2, (2005).
- [173] H. Meirovitch and H. A. Scheraga, “An Approach to the Multiple-Minimum Problem in

## Bibliographie

---

- Protein Folding, Involving a Long-Range Geometrical Restriction and Short-, Medium-, and Long-Range Interactions,” *Macromolecules*, vol. 14, no. 5, pp. 1250–1259, (1981).
- [174] G. D. Smith and J. F. Griffin, “Conformation of [Leu5]enkephalin from x-ray diffraction: Features important for recognition at opiate receptor,” *Science (80-. )*, vol. 199, no. 4334, pp. 1214–1216, (1978).
- [175] D. Blomberg, P. Kreye, C. Fowler, K. Brickmann, and J. Kihlberg, “Synthesis and biological evaluation of leucine enkephalin turn mimetics,” *Org. Biomol. Chem.*, vol. 4, no. 3, pp. 416–423, (2006).
- [176] T. Ishida, M. Kenmotsu, Y. Mino, M. Inoue, T. Fujiwara, K. Tomita, T. Kimura, , and S. Sakakibara, “X-ray diffraction studies of enkephalins Crystal structure of (4'-bromo)Phe4, Leu5 enkephalin Toshimasa,” *Biochemistry*, vol. 218, pp. 677–689, (1984).
- [177] J. Malicka, M. Groth, C. Czaplewski, W. Wicz, and A. Liwo, “Conformational studies of cyclic enkephalin analogues with L- or D-proline in position 3,” *Biopolymers*, vol. 63, no. 4, pp. 217–231, (2002).
- [178] J. Malicka, C. Czaplewski, M. Groth, W. Wicz, S. Oldziej, L. Lankiewicz, J. Ciarkowski, and A. Liwo, “Use of NMR and Fluorescence Spectroscopy as well as Theoretical Conformational Analysis in Conformation-activity Studies of Cyclic Enkephalin Analogues,” *Curr. Top. Med. Chem.*, vol. 4, no. 1, pp. 123–133, (2005).
- [179] M. D. Shenderovich, S. Liao, X. Qian, and V. J. Hruby, “A three-dimensional model of the  $\delta$ -opioid pharmacophore: Comparative molecular modeling of peptide and nonpeptide ligands,” *Biopolymers*, vol. 53, no. 7, pp. 565–580, (2000).
- [180] B. G. Nielsen, M. Jensen, and H. G. Bohr, “The Probability Distribution of Side-Chain Conformations in [Leu] and [Met]enkephalin Determines the Potency and Selectivity to  $\mu$  and  $\delta$  Opiate Receptors,” *Biopolym. - Pept. Sci. Sect.*, vol. 71, no. 5, pp. 577–592, (2003).
- [181] J. R. Unruh, K. Kuczera, and C. K. Johnson, “Conformational heterogeneity of a leucine enkephalin analogue in aqueous solution and sodium dodecyl sulfate micelles: Comparison of time-resolved FRET and molecular dynamics simulations,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 113, no. 43, pp. 14381–14392, (2009).
- [182] L. Su and R. I. Cukier, “Hamiltonian and distance replica exchange method studies of met-enkephalin,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 111, no. 42, pp. 12310–12321, (2007).
- [183] J.-F. Nadon, “Leu-Enképhaline & Peptidomimétisme : Une ouverture vers la synthèse d’analogues au profil pharmacocinétique amélioré,” Mémoire présenté au Département de chimie en vue de l’obtention du grade de maître sciences (M.Sc.), Faculté des sciences, Université de Sherbrooke, Québec. Canada, (2014).
- [184] A. Manglik, A. C. Kruse, T. S. Kobilka, F. S. Tian, J. M. Mathiesen, R. K. Sunahara, L. Pardo, W. I. Weis, B. K. Kobilka, and S. Granier, “Crystal structure of the  $\mu$ -opioid receptor bound to a morphinan antagonist,” *Nature*, vol. 485, no. 7398, pp. 321–326, (2012).
- [185] S. Granier, A. Manglik, A. C. Kruse, T. S. Kobilka, F. S. Tian, W. I. Weis, and B. K. Kobilka, “Structure of the  $\delta$ -opioid receptor bound to naltrindole,” *Nature*, vol. 485, no. 7398, pp. 400–404, (2012).

## Bibliographie

---

- [186] H. Wu, D. Wacker, M. Mileni, V. Katritch, G. W. Han, E. Vardy, W. Liu, A. A. Thompson, X. P. Huang, F. I. Carroll, S. W. Mascarella, R. B. Westkaemper, P. D. Mosier, B. L. Roth, V. Cherezov and R. C. Stevens, "Structure of the human  $\kappa$ -opioid receptor in complex with JDTic," *Nature*, vol. 485, no. 7398, pp. 327–332, (2012).
- [187] G. Fenalti, P. M. Giguere, V. Katritch, X. P. Huang, A. A. Thompson, V. Cherezov, B. L. Roth, and R. C. Stevens, "Molecular control of  $\delta$ -opioid receptor signalling," *Nature*, vol. 506, no. 7487, pp. 191–196, (2014).
- [188] G. Fenalti, N. A. Zatspein, C. Betti, P. Giguere, G. W. Han, A. Ishchenko, W. Liu, K. Guillemy, H. Zhang, D. James, D. Wang, U. Weierstall, J. C. H. Spence, S. Boutet, M. Messerschmidt, G. J. Williams, C. Gati, O. M. Yefanov, T. A. White, D. Oberthuer, M. Metz, C. H. Yoon, A. Barty, H. N. Chapman, S. Basu, J. Coe, C. E. Conrad, R. Fromme, P. Fromme, D. Tourwé, P. W. Schiller, B. L. Roth, S. Ballet, V. Katritch, R. C. Stevens, and V. Cherezov, "Structural basis for bifunctional peptide recognition at human  $\delta$ -opioid receptor," *Nat. Struct. Mol. Biol.*, vol. 22, no. 3, pp. 265–268, (2015).
- [189] F. Wieberneit, A. Korste, H. B. Albada, N. Metzler-Nolte, and R. Stoll, "Structural and biological implications of the binding of Leu-enkephalin and its metal derivatives to opioid receptors," *Dalt. Trans.*, vol. 42, no. 27, pp. 9799–9802, (2013).
- [190] T. E. Creighton, *Biophysical Chemistry of Nucleic Acids and Proteins*, *Helvetian Press*, (2010).
- [191] B. Akcesme and M. Can, "Secondary Structure and Neighbor Preferences of Amino Acids," *Southeast Eur. J. Soft Comput.*, vol. 4, no. 2, (2016).
- [192] S. Malkov, M. V. Zivkovic, M. V. Beljanski, and S. D. Zaric, "Correlations of Amino Acids with Secondary Structure Types: Connection with Amino Acid Structure," no. 34, (2005).
- [193] J. E. Murray, N. Laurieri, and R. Delgoda, "Proteins. Basic Animal Anatomy and Physiology," *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy*, Elsevier Inc. pp. 477–494, (2017).
- [194] J. Banerjee, E. Radvar, and H. S. Azevedo, *Self-assembling peptides and their application in tissue engineering and regenerative medicine*. Elsevier Ltd., (2018).
- [195] C. Balusek, H. Hwang, A. Hazel, K. Lundquist, A. Pavlova, and J. C. Gumbart, "Diverse protein-folding pathways and functions of  $\beta$ -hairpins and  $\beta$ -sheets," *Quant. Model. Microsc. to Macrosc. Biol. Macromol. Tissues*, pp. 1–20, (2018).
- [196] S. A. Hollingsworth and P. A. Karplus, "A fresh look at the Ramachandran plot and the occurrence of standard structures in proteins," *Biomol. Concepts*, vol. 1, no. 3–4, pp. 271–283, (2010).
- [197] W. Chin, F. Piuze, I. Dimicoli, and M. Mons, "Probing the competition between secondary structures and local preferences in gas phase isolated peptide backbones," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 8, no. 9, pp. 1033–1048, (2006).
- [198] S. Choudhuri, "Additional Bioinformatic Analyses Involving Protein Sequences," in *Bioinformatics for Beginners*, pp. 183–207, (2014).
- [199] R. P. Bywater and V. Veryazov, "The preferred conformation of dipeptides in the context of biosynthesis," *Naturwissenschaften*, vol. 100, no. 9, pp. 853–859, (2013).

