

Conformations Moléculaires à l'Etat Solide des Deux Diastéréoisomères de la *N*-Isobutyrylprolylalanine-isopropylamide. Comparaison avec les Conformations Adoptées en Solution

PAR A. AUBRY ET J. PROTAS

*Laboratoire de Minéralogie–Cristallographie, Equipe de Recherche associée au CNRS n° 162, Université de
Nancy I, Faculté des Sciences, Centre de 2ème Cycle, Case Officielle n° 140, 54037 Nancy Cédex, France*

ET G. BOUSSARD ET M. MARRAUD

*Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire, Equipe de Recherche associée au CNRS n° 23, ENSIC,
1 rue Grandville, 54000 Nancy, France*

(Reçu le 12 janvier 1977, accepté le 25 janvier 1977)

The crystal and molecular structures of the two LL and LD diastereoisomers of *N*-isobutyrylprolylalanine-isopropylamide have been solved. Both derivatives crystallize in the monoclinic system, space group $P2_1$, with the respective unit-cell constants: $a = 9.95$ (2), $b = 9.74$ (2), $c = 9.68$ (2) Å, $\beta = 109.40^\circ$ and $a = 10.46$ (2), $b = 9.11$ (2), $c = 9.70$ (2) Å, $\beta = 108.20^\circ$. Molecules are folded by a 4 → 1 hydrogen bond and accommodate β (II) conformations. For the three conformers which have been recognized in dilute CCl_4 solutions, the folded structure is retained in the solid state. In the case of the LL derivative, the β (I) folded conformation in solution becomes the β (II) type in the crystal because of intermolecular hydrogen bonding.

L'étude radiocristallographique des protéines a montré que le repliement des enchaînements peptidiques était généralement assuré par une courte séquence de trois unités peptidiques (Lewis, Momany & Scheraga, 1973; Crawford, Lipscomb & Schellman, 1973). Les paramètres géométriques de cette disposition particulière, connue dans la littérature sous la dénomination de 'β-turn, β-bend, U-turn, U-bend, β-folding, hairpin-bend', ont été calculés à partir des clichés de diffraction des rayons X par des fibres orientées de soie *chrysope* (Geddes, Parker, Atkins & Beighton, 1968).

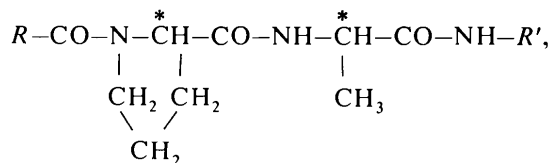
Précédemment reconnue dans la structure cristalline de la cyclohexaglycine (Karle & Karle, 1963) elle fut ensuite observée dans les structures cristallines d'un grand nombre de peptides cycliques (Zalkin, Forrester & Templeton, 1966; Karle, Gibson & Karle, 1970; Karle, Karle, Wieland, Burgmeister, Faulstich & Witkop, 1973; Karle, 1974a,b; Norrestam, Stensland & Branden, 1975; Petcher, Weber & Ruegger, 1976) et linéaires (Ueki, Ashida, Kakudo, Sasada & Katsube, 1969; Ueki, Bando, Ashida & Kakudo, 1971; Reed & Johnson, 1973; Rudko & Low, 1975) ainsi que de protéines (Lewis *et al.*, 1973; Crawford *et al.*, 1973).

Simultanément, des analyses théoriques ont été entreprises afin de reconnaître les conformations les plus stables des séquences tripeptidiques (Venkatachalam, 1968; Lipkind, Arkhipova & Popov, 1970; Kotelchuck, Scheraga & Walter, 1972; Nemethy

& Printz, 1972; Chandrasekaran, Lakshminarayanan, Pandya & Ramachandran, 1973; Maigret & Pullman, 1974; Nishikawa, Momany & Scheraga, 1974; Ralston & De Coen, 1974). Ces études concluent principalement à l'existence de deux conformations repliées β (I) et β (II) dont les stabilités dépendent de la configuration des résidus peptidiques et qui se distinguent principalement par l'orientation de la liaison amide médiane par rapport au reste de la molécule. De plus, la disposition repliée du squelette peptidique se prête à la formation d'une liaison hydrogène du type 4 → 1 unissant le groupe N—H du résidu indexé ($i + 3$) au groupe C=O du résidu indexé i (IUPAC–IUB Commission on Biochemical Nomenclature, 1970).

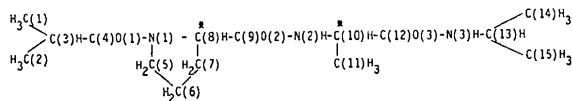
Les conformations adoptées en solution dans le tétrachlorure de carbone par plusieurs tripeptides diastéréoisomères ont été décrites dans une précédente communication (Boussard, Marraud & Néel, 1974).

Les dérivés étudiés répondent à la formule générale:



où $R = \text{Me, iPr, tBu}$, $R' = \text{Me, iPr}$.

Les structures cristallines de deux dérivés comportant des extrémités *R* et *R'* constituées par des groupes isopropyliques ont été étudiées par diffraction des rayons X:



Ces deux composés dérivant de la L-proline d'une part et de la L- ou D-alanine d'autre part seront abrégés dans la suite par les symboles LPLA et LPDA respectivement.

Détermination des structures

Les échantillons cristallins de LPLA et LPDA ont été préparés par évaporation lente de solutions dans l'acétate d'éthyle.

Les constantes physiques, le nombre de réflexions enregistrées et les indices résiduels obtenus sont rassemblés dans le Tableau 1.

Les intensités diffractées ont été enregistrées sur un diffractomètre automatique Nonius CAD-3 en utilisant le rayonnement $K\alpha$ du cuivre. Chaque réflexion a été corrigée des phénomènes de Lorentz et de polarisation. L'absorption a été négligée.

La structure cristalline de LPLA a été déterminée à l'aide d'un programme automatique de recherche des

Tableau 1. *Données cristallographiques*

	LPLA	LPDA
Système cristallin	Monoclinique	Monoclinique
Paramètres	$a = 9,95 \pm 0,02 \text{ \AA}$ $b = 9,74 \pm 0,02$ $c = 9,68 \pm 0,02$ $\beta = 109,40^\circ \pm 0,10$	$a = 10,46 \pm 0,02 \text{ \AA}$ $b = 9,11 \pm 0,02$ $c = 9,70 \pm 0,02$ $\beta = 108,20^\circ \pm 0,10$
Groupe spatial	$P2_1$	$P2_1$
Volume	885 \AA^3	878 \AA^3
Densité calculée	1,15 g cm^{-3}	1,16 g cm^{-3}
Nombre de molécules par maille	2	2
Réflexions enregistrées	1398	1280
Réflexions conservées	1075	950
$ \sigma(I)/I < 0,20$		
Facteur <i>R</i>	0,079	0,084

phases (*MULTAN*: Germain, Main & Woolfson, 1970). Celle du dérivé LPDA a été obtenue par isotypie en échangeant les axes *a* et *c*. Dans ce dernier cas, des sections de la différence de la densité électronique réalisées en fin d'affinement ont fait apparaître un désordre notable au niveau des deux groupements isopropyliques conduisant à dédoubler les positions de chacun de ces atomes. L'affinement des coefficients d'occupation des sites du groupement isopropyle dédoublé, porteur du carbone C(13), montre qu'il occupe statistiquement deux positions bien définies avec la même probabilité, les deux groupements isopropyliques faisant entre eux un angle d'environ 35° . Le désordre au niveau de l'autre groupement isopropylique est plus important et l'affinement des facteurs de multi-

Tableau 2. *Coordonnées atomiques fractionnaires et écarts-type ($\times 10^4$)*

	LPLA			LPDA		
	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
C(1A)	14396 (16)	2769 (34)	1466 (18)	1581 (26)	5128 (47)	14468 (18)
C(1B)				355 (35)	7768 (36)	13248 (26)
C(2A)	13787 (17)	5085 (28)	281 (18)	1458 (29)	7638 (27)	14191 (26)
C(2B)				-31 (29)	5250 (61)	13348 (28)
C(3)	13204 (10)	3641 (20)	468 (11)	694 (14)	6333 (22)	13127 (12)
C(4)	12016 (10)	3960 (15)	1196 (8)	1380 (9)	6195 (12)	11969 (11)
C(5)	10095 (11)	3547 (15)	-1236 (10)	-812 (10)	6807 (13)	10042 (15)
C(6)	8567 (15)	3676 (43)	-1586 (13)	-1228 (13)	6412 (26)	8481 (14)
C(7)	8168 (15)	3878 (24)	-356 (12)	46 (11)	6573 (19)	8000 (12)
C(8)	9519 (9)	4050 (14)	961 (8)	1200 (8)	6271 (10)	9415 (10)
C(9)	9619 (9)	3089 (11)	2204 (10)	2294 (8)	7360 (9)	9563 (9)
C(10)	9458 (10)	2879 (13)	4664 (10)	4587 (9)	7786 (12)	9407 (9)
C(11)	8310 (12)	1727 (20)	4371 (12)	5357 (11)	7225 (20)	8413 (10)
C(12)	10911 (10)	2299 (12)	5512 (9)	5499 (9)	7920 (13)	10893 (9)
C(13)	13489 (11)	2337 (19)	6018 (11)	6202 (12)	7248 (20)	13518 (10)
C(14A)	13981 (24)	1223 (31)	5184 (18)	5364 (31)	8345 (50)	14260 (23)
C(14B)				5292 (41)	7378 (60)	14518 (23)
C(15A)	14402 (16)	3739 (29)	6383 (22)	6310 (46)	5628 (54)	14298 (39)
C(15B)				7111 (38)	5828 (63)	13860 (33)
O(1)	12342 (6)	4217 (11)	2515 (5)	2615 (7)	5851 (12)	12249 (8)
O(2)	9862 (8)	1824 (0)	2069 (7)	2196 (6)	8659 (10)	9874 (8)
O(3)	11053 (8)	1452 (9)	6519 (6)	6537 (7)	8703 (10)	11129 (9)
N(1)	10665 (8)	3825 (9)	329 (7)	622 (7)	6427 (8)	10588 (9)
N(2)	9409 (7)	3630 (9)	3366 (7)	3422 (6)	6866 (8)	9306 (8)
N(3)	12022 (8)	2824 (10)	5215 (7)	5258 (8)	7173 (0)	11965 (7)

plicité des sites conduit à la répartition suivante: $C(1A) = 0,75$, $C(1B) = 0,33$, $C(2A) = 0,50$, $C(2B) = 0,42$.

Le Tableau 2 donne pour les deux structures étudiées, les coordonnées fractionnaires de chaque atome avec leurs écarts-type. Les positions des atomes d'hydrogène n'ont pu être déterminées.*

Description des structures

Conformation moléculaire

Une vue stéréoscopique (Johnson, 1965) des molécules est représentée sur la Fig. 1. Les Tableaux 3

* Les listes des facteurs de structure et des facteurs d'agitation thermique anisotrope ont été déposées au dépôt d'archives de la British Library Lending Division (Supplementary Publication No. SUP 32470: 20 pp.). On peut en obtenir des copies en s'adressant à: The Executive Secretary, International Union of Crystallography, 13 White Friars, Chester CH1 1NZ, Angleterre.

et 4 donnent respectivement les distances interatomiques et les angles valentiels ainsi que les écarts-type.

Si les distances interatomiques et angles valentiels du dérivé LPDA n'appellent pas de remarque particulière, il n'en est pas de même pour le dérivé LPLA. En effet, le repliement de la molécule provoque un encombrement stérique important entre les atomes O(2) et C(11) [$O(2)-C(11) = 3,11 \text{ \AA}$, $\sigma = 0,01 \text{ \AA}$] qui se traduit par une augmentation des valeurs des angles valentiels autour des atomes C(9), N(2) et C(10) (Tableau 5).

Les squelettes peptidiques des dérivés LPLA et LPDA sont contenus dans trois plans et les écarts aux plans moyens, déterminés par une méthode de moindres carrés n'excèdent pas $0,03 \text{ \AA}$ (Tableaux 5 et 6). Les angles utilisés conventionnellement (IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, 1970) pour décrire la conformation de la molécule sont mentionnés dans le Tableau 7.

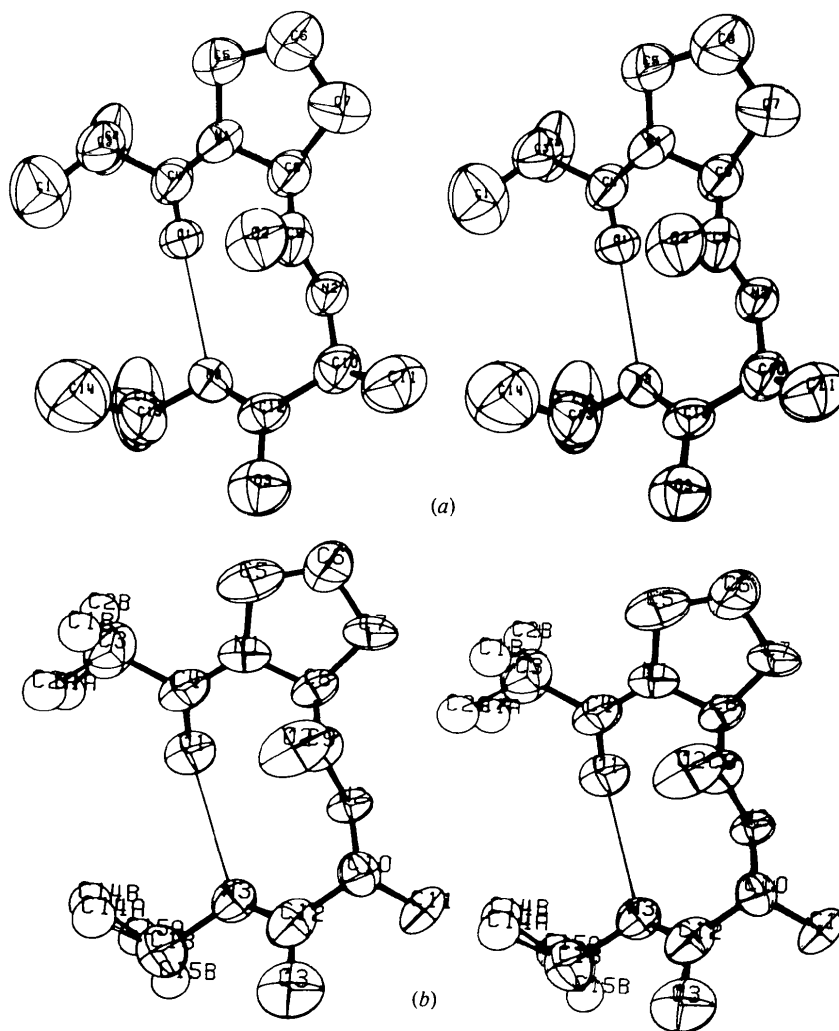


Fig. 1. Vues stéréoscopiques des molécules de (a) LPLA et (b) LPDA.

Tableau 3. Distances interatomiques (Å) et écarts-type

	LPLA	LPDA
C(1A)–C(3)	1,52 (3)	1,73 (3)
C(1B)–C(3)		1,37 (4)
C(2A)–C(3)	1,56 (3)	1,61 (3)
C(2B)–C(3)		1,30 (5)
C(3)–C(4)	1,60 (2)	1,51 (2)
C(4)–O(1)	1,23 (1)	1,27 (1)
C(4)–N(1)	1,33 (1)	1,34 (1)
N(1)–C(5)	1,46 (1)	1,47 (1)
C(5)–C(6)	1,45 (2)	1,48 (2)
C(6)–C(7)	1,39 (2)	1,55 (2)
C(7)–C(8)	1,52 (1)	1,54 (1)
N(1)–C(8)	1,48 (1)	1,45 (1)
C(8)–C(9)	1,50 (1)	1,49 (1)
C(9)–O(2)	1,27 (1)	1,23 (1)
C(9)–N(2)	1,32 (1)	1,36 (1)
N(2)–C(10)	1,44 (1)	1,46 (1)
C(10)–C(11)	1,56 (2)	1,52 (2)
C(10)–C(12)	1,51 (1)	1,46 (1)
C(12)–O(3)	1,25 (1)	1,26 (1)
C(12)–N(3)	1,33 (1)	1,33 (1)
N(3)–C(13)	1,49 (1)	1,52 (1)
C(14A)–C(13)	1,53 (3)	1,64 (4)
C(14B)–C(13)		1,56 (4)
C(15A)–C(13)	1,61 (3)	1,65 (5)
C(15B)–C(13)		1,58 (5)

Tableau 4. Angles valentiels (°) et écarts-type

	LPLA	LPDA
C(1A)–C(3)–C(2A)	109,7 (1,4)	86,9 (1,6)
C(1B)–C(3)–C(2B)		121,9 (2,4)
C(1A)–C(3)–C(4)	111,4 (1,2)	103,7 (1,3)
C(1B)–C(3)–C(4)		109,8 (1,7)
C(2A)–C(3)–C(4)	103,6 (1,2)	106,3 (1,4)
C(2B)–C(3)–C(4)		119,6 (2,0)
C(3)–C(4)–O(1)	121,2 (1,0)	123,1 (1,0)
C(3)–C(4)–N(1)	116,3 (9)	117,2 (1,0)
O(1)–C(4)–N(1)	122,3 (1,0)	119,7 (9)
C(4)–N(1)–C(5)	129,5 (9)	128,0 (9)
C(4)–N(1)–C(8)	118,7 (8)	120,3 (8)
C(5)–N(1)–C(8)	111,7 (8)	111,7 (8)
N(1)–C(5)–C(6)	104,1 (1,2)	104,6 (1,0)
C(5)–C(6)–C(7)	112,9 (1,8)	106,2 (1,2)
C(6)–C(7)–C(8)	108,0 (1,5)	102,9 (1,0)
C(7)–C(8)–N(1)	103,0 (9)	106,1 (8)
C(7)–C(8)–C(9)	114,0 (1,0)	109,3 (8)
N(1)–C(8)–C(9)	112,6 (8)	110,8 (7)
C(8)–C(9)–O(2)	119,1 (8)	122,9 (8)
C(8)–C(9)–N(2)	116,6 (8)	116,6 (7)
O(2)–C(9)–N(2)	124,3 (9)	120,5 (8)
C(9)–N(2)–C(10)	124,9 (8)	123,6 (7)
N(2)–C(10)–C(11)	113,4 (9)	111,2 (8)
N(2)–C(10)–C(12)	114,4 (9)	112,9 (8)
C(11)–C(10)–C(12)	109,9 (9)	109,9 (9)
C(10)–C(12)–O(3)	120,7 (9)	119,1 (9)
C(10)–C(12)–N(3)	116,7 (9)	120,1 (8)
O(3)–C(12)–N(3)	122,3 (9)	120,7 (9)
C(12)–N(3)–C(13)	120,4 (9)	121,8 (8)
N(3)–C(13)–C(14A)	112,5 (1,3)	101,0 (1,4)
N(3)–C(13)–C(14B)		106,6 (1,7)
N(3)–C(13)–C(15A)	103,2 (1,1)	110,2 (1,8)
N(3)–C(13)–C(15B)		109,5 (1,8)
C(14A)–C(13)–C(15A)	117,5 (1,4)	108,3 (2,1)
C(14B)–C(13)–C(15B)		112,1 (2,3)

Tableau 5. Plans moyens de la molécule LPLA

Les atomes n'entrant pas dans le calcul des plans moyens sont marqués d'une astérisque.

Plan I défini par les atomes C(3), C(4), O(1) et N(1)
 $0,140X + 1,632Y - 0,380Z = 7,450$

Ecart des atomes au plan moyen (Å)

C(3) –0,007; C(4) 0,028; O(1) –0,010; N(1) –0,010; C(5)* 0,045; C(6)* 0,121; C(7)* –0,007; C(8)* –0,040

Plan II défini par les atomes C(8), C(9), N(2) et C(10)

$$1,591X + 0,342Y + 0,705Z = 16,541$$

Ecart des atomes au plan moyen (Å)

C(8) –0,0012; C(9) 0,0000; N(2) 0,0009; C(10) 0,0003; O(2)* –0,0307

Plan III défini par les atomes C(10), C(12), N(3) et C(13)

$$-0,253X + 1,263Y + 1,264Z = 6,906$$

Ecart des atomes au plan moyen (Å)

C(10) 0,010; C(12) –0,007; N(3) –0,008; C(13) 0,005; O(3)* 0,084

Angles dièdres entre (I) et (II) 81°

(I) et (III) 57

(II) et (III) 74

Tableau 6. Plans moyens de la molécule LPDA

Les atomes n'entrant pas dans le calcul des plans moyens sont marqués d'une astérisque.

Plan I défini par les atomes C(3), C(4), O(1) et N(1)

$$0,358X + 1,568Y + 0,164Z = 9,869$$

Ecart des atomes au plan moyen (Å)

C(3) 0,000; C(4) 0,006; O(1) –0,004; N(1) –0,001; C(5)* –0,013; C(6)* –0,500; C(7)* –0,075; C(8)* –0,036

Plan II défini par les atomes C(8), C(9), N(2) et C(10)

$$0,173X - 0,433Y + 1,743Z = 12,367$$

Ecart des atomes au plan moyen (Å)

C(8) 0,001; C(9) –0,001; N(2) –0,001; C(10) 0,001; O(2)* –0,027

Plan III défini par les atomes C(10), C(12), N(3) et C(13)

$$-1,034X + 1,230Y + 0,291Z = 9,746$$

Ecart des atomes au plan moyen (Å)

C(10) –0,012; C(12) 0,010; N(3) 0,01; C(13) –0,008; O(3)* –0,025

Angles dièdres entre (I) et (II) 84°

(I) et (III) 51

(II) et (III) 86

Les deux composés ont des structures cristallines très voisines et les conformations moléculaires se présentent sous la forme repliée de type β (II) (Chandrasekaran *et al.*, 1973).

Le cycle pyrrolidine du résidu proline est plan dans LPLA à 0,12 Å près alors qu'il est nettement gauchi et du type C* *endo* dans LPDA (Balasubramanian, Lakshminarayanan, Sabesan, Tegoni, Venkatesan & Ramachandran, 1971; Ashida & Kakudo, 1974). Dans

Tableau 7. Angles conformationnels ($^{\circ}$)

	LPLA	LPDA		LPLA	LPDA
φ_2	-59	-62	φ_3	66	96
ψ_2	136	137	ψ_3	14	3
χ_1	-3.7	-17	χ_4	2,9	18
χ_2	5.9	28,2	θ_4	0,4	-0,04
χ_3	-5.6	-28,5			
			LPLA	LPDA	
ω_1	C(3)-C(4)-N(1)-C(8)		177	-178	
ω_2	O(1)-C(4)-N(1)-C(8)		3	1	
ω_3	C(3)-C(4)-N(1)-C(8)		-6	0	
ω_4	O(1)-C(4)-N(1)-C(5)		179	179	
ω_5	C(8)-C(9)-N(2)-C(10)		180	180	
ω_6	O(2)-C(9)-N(2)-C(10)		2	2	
ω_7	C(10)-C(12)-N(3)-C(13)		179	178	
ω_8	O(3)-C(12)-N(3)-C(13)		4	1	
	N(1)-C(4)-C(3)-C(1A)		141	150	
	N(1)-C(4)-C(3)-C(1B)			-68	
	N(1)-C(4)-C(3)-C(2A)		101	-120	
	N(1)-C(4)-C(3)-C(2B)			80	
	C(12)-N(3)-C(13)-C(14A)		84	103	
	C(12)-N(3)-C(13)-C(14B)			137	
	C(12)-N(3)-C(13)-C(15A)		-136	-143	
	C(12)-N(3)-C(13)-C(15B)			-101	

les deux cas, cependant, le carbone C^p [atome C(6) dans le présent travail] est de tous les atomes du cycle celui qui possède le facteur d'agitation thermique le plus élevé.

Liaisons hydrogène

La recherche des distances interatomiques courtes montre que le repliement des molécules est assuré par une liaison hydrogène unissant les atomes O(1) et N(3), dite de type 4 \rightarrow 1 (IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, 1970). Ces deux interactions ne sont pas très fortes car les distances N-O excèdent 3 Å [N(3) \cdots O(1) = 3,05 Å, σ = 0,01 Å (LPLA); 3,10 Å, σ = 0,01 Å (LPDA)] (Fig. 2).

Chaque molécule échange de plus deux liaisons hydrogène intermoléculaires symétriques N(2) \cdots O(3) [N(2) \cdots O(3) = 2,79 Å, σ = 0,01 Å (LPLA); 2,91 Å, σ = 0,01 Å (LPDA)] avec deux molécules voisines, formant des files parallèles à **b** (Fig. 3), la cohésion entre les files est assurée par des interactions de van der Waals. Les distances interatomiques intermoléculaires les plus courtes figurent dans le Tableau 8.

Comparaison entre structures cristallines et conformations en solution

En solution diluée dans le tétrachlorure de carbone, les spectres infrarouges des tripeptides dérivés de la L-proline et de l'alanine sont très différents selon que la

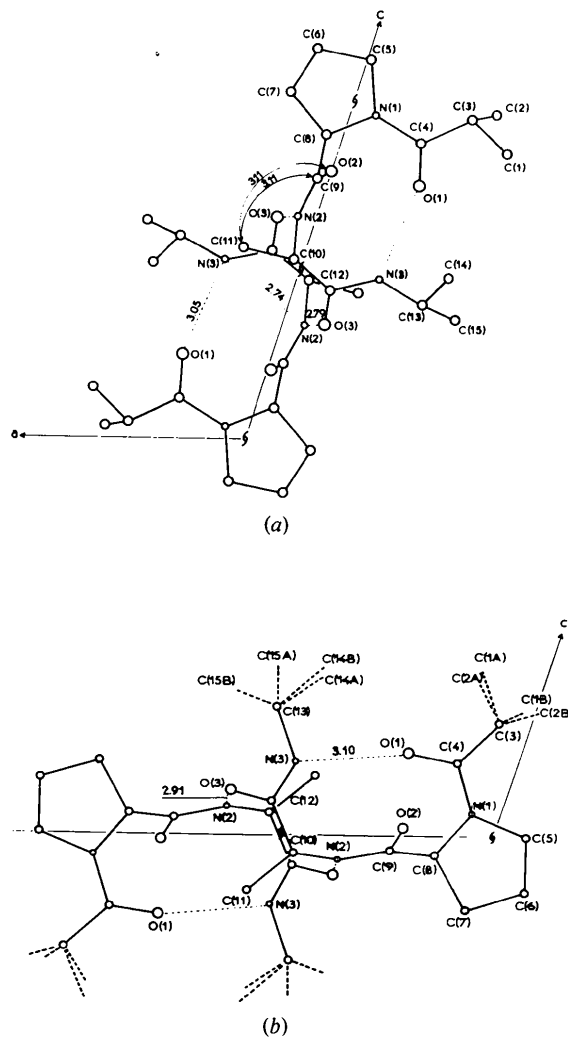
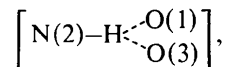


Fig. 2. Liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires dans les structures de (a) LPLA et (b) LPDA.

séquence configurationnelle est du type LL ou LD (Boussard *et al.*, 1974). En particulier, la complexité du massif d'absorption des vibrateurs N-H (3200-3500 cm^{-1}) de la séquence LL contraste avec la simplicité du même tracé relatif à la séquence LD (Fig. 4). Cela démontre la présence en quantités appréciables de plusieurs conformères dans le cas du composé LL.

Les massifs d'absorption ont été interprétés en tenant compte notamment de l'influence des groupements terminaux R et R' sur les fréquences de vibration des liaisons N-H et C=O (Fig. 4).

La conformation, notée C₂⁷C₃³, majoritaire dans les séquences LL, est stabilisée par une liaison hydrogène bifide 1 \leftarrow 3 \rightarrow 3



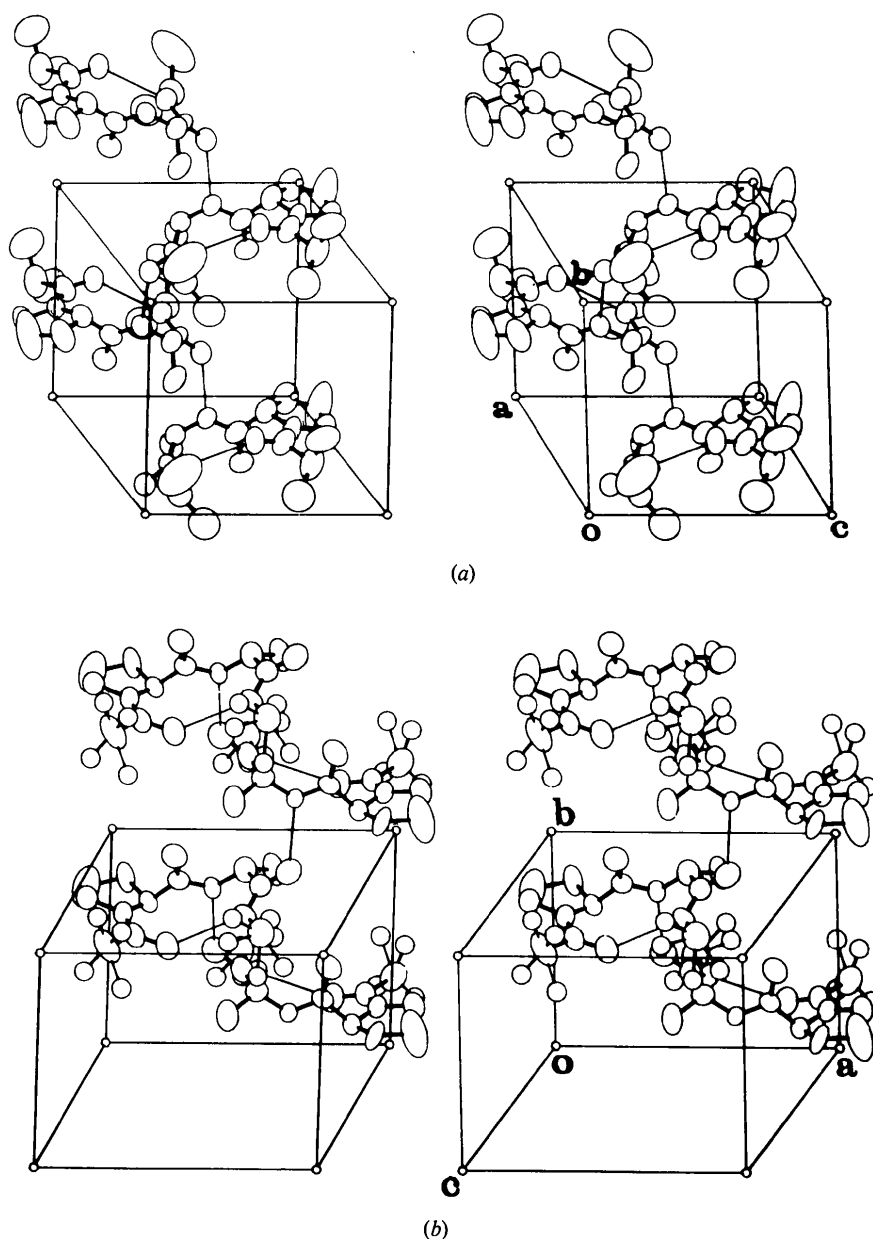


Fig. 3. Vues stéréoscopiques des enchaînements moléculaires de (a) LPLA et (b) LPDA.

dans laquelle la liaison N—H médiane, liée aux deux sites carbonyle extrêmes, participe à deux cycles de chélation accolés contenant sept et cinq atomes (Fig. 5). La disposition C^3 du résidu alanine, observée uniquement dans les séquences LL et présente en plus faible proportion, est définie par la liaison hydrogène $4 \rightarrow 2$ [N(3)—H...O(2)].

Enfin, la conformation C_{10} , stabilisée par la liaison hydrogène $4 \rightarrow 1$ [N(3)—H...O(1)], se réalise en moins grande proportion dans la séquence LL que dans la séquence LD.

La nature de la conformation repliée C_{10} a pu être précisée à partir de la fréquence du groupement N(2)—H médian libre. La valeur de 3435 cm^{-1} , indépendante de la nature de la séquence configurationnelle, indique que la liaison N(2)—H se projette à l'intérieur du dièdre d'arête N(2)—C(10) dont les faces s'appuient sur les liaisons C(10)—C(11) et C(10)—C(12). Cette disposition ne se trouve que dans la forme repliée C_{10}^I de la séquence LL et la forme repliée C_{10}^{II} de la séquence LD.

La conclusion précédente se trouve renforcée par la

Tableau 8. Distances intermoléculaires (Å) les plus courtes

Les notations sont celles utilisées dans le programme ORTEP (Johnson, 1965).

LPLA

C(5)—O(2)	755 02	3,29
C(5)—O(3)	554 01	3,34
C(5)—C(12)	554 01	3,71
C(6)—O(2)	755 02	3,54
C(8)—O(3)	756 02	3,56
C(9)—O(3)	756 02	3,64
C(10)—O(3)	756 02	3,65
C(14)—C(15)	846 02	3,52
O(2)—N(1)	745 02	3,66

LPDA

C(1A)—C(14A)	648 02	3,45
C(1A)—C(13)	648 02	3,64
C(1B)—C(7)	557 02	3,65
C(2A)—C(15B)	658 02	3,53
C(2A)—C(15A)	658 02	3,59
C(5)—O(2)	547 02	3,22
C(5)—O(3)	455 01	3,69
C(6)—O(2)	547 02	3,30
C(6)—C(11)	455 01	3,63
C(7)—C(2B)	557 02	3,60
C(8)—O(3)	647 02	3,48
C(9)—O(3)	647 02	3,68
O(2)—C(2B)	557 02	3,55
C(14A)—C(15A)	658 02	3,30
C(14B)—C(15A)	658 02	3,76
C(15B)—C(2B)	655 01	3,22

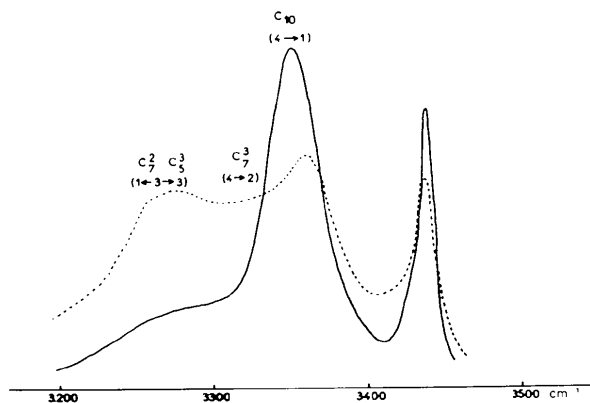


Fig. 4. Interprétation des massifs d'absorption infrarouge pour les molécules de LPLA (---) et LPDA (—).

mesure, en résonance magnétique protonique, de la constante J de couplage vicinal entre les protons H(N2) et H(C10) (Boussard, 1976). La valeur de 8,6 Hz relative à la séquence LD correspond à un angle dièdre H—N(2)—C(10)—H proche de 150° (Cung, Marraud & Néel, 1974), c'est à dire à un angle φ_3 voisin de 90° , caractéristique d'un repliement de type β (II). Une correspondance directe analogue ne peut pas être établie dans le cas de la séquence LL car la valeur mesurée $J = 7,6$ Hz n'est qu'une moyenne pondérée par les

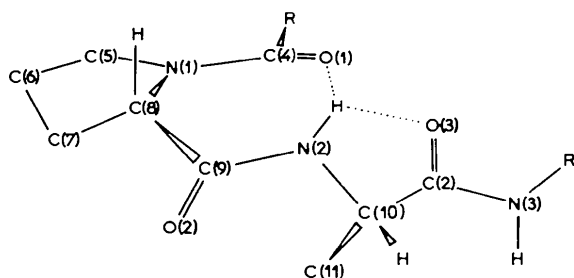
Fig. 5. Conformation $C_5^2 C_5^3$ de la molécule LPLA, stabilisée par la liaison hydrogène bifide $1 \leftarrow 3 \rightarrow 3$.

Tableau 9. Conformations repliées des séquences tripeptidiques en solution et à l'état cristallin

	Etat solide ^(a)	Solution dans CCl ₄ ^(b)
LPLA	C ₁₀ ¹¹	C ₅ ² C ₅ ³ > C ₁₀ ¹ > C ₇ ³
LPDA	C ₁₀ ¹¹	C ₁₀ ¹¹ >> C ₇ ² C ₅ ³

(a) Présente étude. (b) Boussard, Marraud & Néel (1974).

populations des trois conformères reconnus en solution dans lesquels le résidu alanine adopte les dispositions C_5 (conformère $C_5^2 C_5^3$), C_7 (conformère C_7^3) et repliée β (conformère C_{10}).

Des travaux antérieurs sur les dipeptides de l'alanine montrent que les deux dispositions C_5 et C_7 conduisent à une même valeur de J voisine de 7 Hz (Cung, Marraud, Néel & Aubry, 1976). Puisque la valeur moyenne expérimentale est de 7,6 Hz, on est conduit à attribuer à la constante de couplage relative à la forme repliée de la séquence LL une valeur un peu supérieure à 8 Hz. S'agissant ici d'un résidu de configuration L, cette valeur correspond à un angle azimutal φ_3 proche de -85° , caractéristique d'un repliement de type β (I).

L'ensemble de ces résultats est résumé dans le Tableau 9. On constate que la séquence tripeptidique LD adopte principalement la disposition repliée de type β (II) aussi bien en solution qu'à l'état solide. En revanche, la séquence LL montre une plus grande flexibilité puisque plusieurs conformères coexistent en solution et que la disposition repliée du type β (I) en solution se transforme en la forme β (II) à l'état solide. Il est probable que cette structure se trouve stabilisée à l'état solide par la formation de la liaison hydrogène intermoléculaire N(2)···O(3) qui ne serait pas compatible avec un repliement de type β (I).

Comparaison avec les résultats des analyses théoriques

Conformation moléculaire

Les analyses théoriques, dans lesquelles on considère les conformations compatibles avec l'établissement d'une liaison hydrogène $4 \rightarrow 1$, concluent à l'existence

de deux dispositions repliées $\beta(I)$ et $\beta(II)$ dont les stabilités relatives dépendent de la nature de la séquence configurationnelle (Venkatachalam, 1968; Nemethy & Printz, 1972; Chandrasekaran *et al.*, 1973; Maigret & Pullman, 1974).

La disposition repliée énergétiquement la plus favorable pour une séquence LD ou LG (G désignant la glycine, un acide aminé achiral) est la forme $\beta(II)$ que l'on observe effectivement dans quelques peptides cycliques (Zalkin *et al.*, 1966; Norrestam *et al.*, 1975) et les protéines (Lewis *et al.*, 1973; Crawford *et al.*, 1973).

En revanche, la disposition repliée $\beta(I)$ est la plus favorable pour une séquence LL; c'est effectivement celle qui est couramment observée tant dans les oligopeptides (Ueki *et al.*, 1969, 1971; Reed & Johnson, 1973; Karle, 1974a,b; Rudko & Low, 1975) que dans les protéines (Lewis *et al.*, 1973; Crawford *et al.*, 1973).

Bien que la disposition $\beta(II)$ d'une séquence LL ne soit créditée que d'une stabilité à peine inférieure à celle de la forme $\beta(I)$ (Chandrasekaran *et al.*, 1973; Maigret & Pullman, 1974), celle-ci n'apparaît que très rarement dans les structures cristallines des protéines (Lewis *et al.*, 1973; Crawford *et al.*, 1973) dans lesquelles le degré de résolution n'est pas suffisant pour que cette disposition soit connue avec précision.

Le tripeptide LPLA est à notre connaissance le premier oligopeptide dans lequel une séquence configurationnelle LL se replie selon le mode $\beta(II)$. Celui-ci occasionne un encombrement stérique important entre les atomes O(2) et C(11), ce qui entraîne une augmentation des angles valentiels de l'enchaînement O(2)—C(9)—N(2)—C(10)—C(11) (Tableau 4). Cet effet répulsif n'est cependant pas suffisant pour destabiliser la disposition repliée de la molécule.

Nous remercions Monsieur le Professeur G. Germain de l'Université de Louvain pour l'aide personnelle apportée à la résolution de la structure de LPLA.

Références

- ASHIDA, T. & KAKUDO, M. (1974). *Bull. Chem. Soc. Japan*, **47**, 1129–1133.
- BALASUBRAMANIAN, D., LAKSHMINARAYANAN, A. V., SABESAN, M. N., TEGONI, G., VENKATESAN, K. & RAMACHANDRAN, G. N. (1971). *Int. J. Protein Res.* **3**, 25–33.
- BOUSSARD, G. (1976). Thèse (CNRS no. AO 12248).
- BOUSSARD, G., MARRAUD, M. & NÉEL, J. (1974). *J. Chim. Phys.* **71**, 1081–1091.
- CHANDRASEKARAN, R., LAKSHMINARAYANAN, A. V., PANDYA, U. V. & RAMACHANDRAN, G. N. (1973). *Biochim. Biophys. Acta*, **303**, 14–27.
- CRAWFORD, J. L., LIPSCOMB, W. N. & SCHELLMAN, C. A. (1973). *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, **70**, 538–542.
- CUNG, M. T., MARRAUD, M. & NÉEL, J. (1974). *Macromolecules*, **7**, 606–613.
- CUNG, M. T., MARRAUD, M., NÉEL, J. & AUBRY, A. (1976). *J. Chim. Phys.* **73**, 213–225.
- GEDDES, A. J., PARKER, K. D., ATKINS, E. D. T. & BEIGHTON, E. D. (1968). *J. Mol. Biol.* **32**, 343–358.
- GERMAIN, G., MAIN, P. & WOOLFSON, M. M. (1970). *Acta Cryst.* **B26**, 274–285.
- IUPAC-IUB COMMISSION ON BIOCHEMICAL NOMENCLATURE (1970). *Biochemistry*, **9**, 3471–3479.
- JOHNSON, C. K. (1965). *ORTEP*. Report ORNL-3794. Oak Ridge National Laboratory, Tennessee.
- KARLE, I. L. (1974a). *J. Amer. Chem. Soc.* **96**, 4000–4006.
- KARLE, I. L. (1974b). *Biochemistry*, **13**, 2155–2162.
- KARLE, I. L., GIBSON, J. W. & KARLE, J. (1970). *J. Amer. Chem. Soc.* **92**, 3755–3760.
- KARLE, I. L. & KARLE, J. (1963). *Acta Cryst.* **16**, 969–975.
- KARLE, I. L., KARLE, J., WIELAND, T., BURGMEISTER, W., FAULSTICH, H. & WITKOP, B. (1973). *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, **70**, 1836–1840.
- KOTELCHUCK, D., SCHERAGA, H. A. & WALTER, R. (1972). *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, **69**, 3629–3633.
- LEWIS, P. N., MOMANY, F. A. & SCHERAGA, H. A. (1973). *Biochim. Biophys. Acta*, **303**, 211–219.
- LIPKIND, G. M., ARKHIPOVA, S. F. & POPOV, E. M. (1970). *Mol. Biol.* **4**, 509–516.
- MAIGRET, B. & PULLMAN, B. (1974). *Theoret. Chim. Acta*, **35**, 113–128.
- NEMETHY, G. & PRINTZ, M. P. (1972). *Macromolecules*, **5**, 755–758.
- NISHIKAWA, K., MOMANY, F. A. & SCHERAGA, H. A. (1974). *Macromolecules*, **7**, 797–806.
- NORRESTAM, R., STENSLAND, B. & BRANDEN, C. I. (1975). *J. Mol. Biol.* **99**, 501–506.
- PETCHER, T. J., WEBER, H. P. & RUEGGER, A. (1976). *Helv. Chim. Acta*, **59**, 1480–1488.
- RALSTON, E. & DE COEN, J. L. (1974). *J. Mol. Biol.* **83**, 393–420.
- REED, L. L. & JOHNSON, P. L. (1973). *J. Amer. Chem. Soc.* **95**, 7523–7524.
- RUDKO, A. D. & LOW, B. W. (1975). *Acta Cryst.* **B31**, 713–725.
- UEKI, T., ASHIDA, T., KAKUDO, M., SASADA, Y. & KATSUBE, Y. (1969). *Acta Cryst.* **B25**, 1840–1849.
- UEKI, T., BANDO, S., ASHIDA, T. & KAKUDO, M. (1971). *Acta Cryst.* **B27**, 2219–2231.
- VENKATACHALAM, C. M. (1968). *Biopolymers*, **6**, 1425–1436.
- ZALKIN, A., FORRESTER, J. D. & TEMPLETON, D. H. (1966). *J. Amer. Chem. Soc.* **88**, 1810–1814.