

2,5-Dioxopipérazines β -monofluorées. III*. Influence du fluor sur la conformation en solution

N. Patino, R. Condom**, I. Ayi et R. Guedj

Laboratoire de Chimie Bio-Organique, Université de Nice Sophia-Antipolis, Faculté des Sciences, B.P. 71, 06108-Nice-Cédex 2 (France)

A. Aumelas

Centre CNRS-INSERM de Pharmacologie et d'Endocrinologie, rue de la Cardonille, 34094-Montpellier (France)

(Reçu le 5 octobre 1991; accepté le 6 avril 1992)

Abstract

We have previously established a series of equations which may be applied to 2,5-dioxopiperazines (DOP) with either unfluorinated side-chains (c[Xaa–Yaa]) or a fluorine atom on the β position on one of the lateral chains (c[X(F)aa–Yaa]) [1]. From these equations and ^1H and ^{19}F NMR spectra, it is possible, on the one hand, to determine the conformation of the DOP ring, and, on the other hand, to calculate the populations of rotamers of the fluorinated or non-fluorinated lateral chains. Comparison shows that if the conformations of the DOP rings are identical (other than one case), the conformation of the lateral chains is strongly modified by the presence of the fluorine atom which always lies above the DOP ring.

Résumé

Nous avons établi précédemment une série d'équations qui, par application à des 2,5-dioxopipérazines (DOP), c[Xaa–Yaa], dont les chaînes latérales sont non fluorées ou qui possèdent un atome de fluor en position β sur l'une des chaînes latérales c[X(F)aa–Yaa], nous permettent à partir de mesures en RMN ^1H et ^{19}F de déterminer la conformation du cycle DOP dans chacun des cas envisagés et de calculer les populations de rotamères des chaînes latérales que celles-ci soit fluorées ou non. La comparaison montre que si les conformations des cycles DOP sont identiques (sauf dans un cas), la conformation des chaînes latérales est profondément modifiée par la présence de l'atome de fluor. Celui-ci se situe toujours au-dessus du cycle DOP.

Conformation en solution des 2,5-dioxopipérazines non fluorées

Nous avons rassemblé dans les Tableaux 1–6 les mesures de RMN que nous avons réalisées ou qui sont tirées de la littérature, ainsi que les résultats des calculs, effectués à partir des équations décrites précédemment [1]. Les

*Parties I et II, réf. 1.

**Auteur auquel la correspondance doit être adressée.

TABLEAU 1

Déplacements chimiques des protons amide des 2,5-dioxopipérazines (DOP)

DOP	Déplacements chimiques (ppm)		Références
	1er résidu	2ème résidu	
<i>Configuration LL</i>			
c[Phe-Gly]	8,14	7,88	3, 8-10
c[Phe-Ala]	8,06	7,98	1
c[Tyr-Leu]	8,0	7,98	3, 9
c[Phe-Phe]	7,88	7,88	1
c[Ala-Ala]	8,03	8,03	3, 9
c[Gly-Leu]	7,88	8,36	3, 9
<i>Configuration DL</i>			
c[D-Phe-Ala]	8,03	7,98	1
c[D-Phe-Phe]	8,01	8,01	1
<i>Cas particulier</i>			
c[Gly-Gly]	7,93	7,93	3, 9

TABLEAU 2

Caractéristiques en RMN des protons H_L et H_D des DOP c[Xaa-Gly] [3, 4]

DOP c[Xaa-Gly]	Déplacement chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)					
	1er résidu		2ème résidu			
	δH_{L1}	$^3J(\text{HN}, H_{L1})$	δH_{L2}	$^3J(\text{HN}, H_{L1})$	$\delta_{\text{HD}2}$	$3J(\text{HN}, H_{\text{D}2})$
c[Gly-Gly]	3,70 (H _{L1})	2,2	3,70	2,2	3,70	2,2
	3,70 (H _{D1})	2,2				
c[Ala-Gly]	3,84	2,0	3,73	2,2	3,73	2,2
c[Leu-Gly]	3,65	3,0	3,60	3,2	3,82	1,0
c[Val-Gly]	3,52	3,0	3,61	2,9	3,80	1,0
c[Pro-Gly]	4,18	-	4,07	0,2	3,60	4,4

mesures de RMN ont été faites dans les mêmes conditions, en solution dans le diméthylsulfoxyde hexadeutérié avec comme référence le tétraméthylsilane. Il en est de même pour les enregistrements tirés de la littérature.

Les 2,5-dioxopipérazines aromatiques de configuration LL

Conformation du cycle

Le Tableau 3 indique pour c[Phe-Gly] que les constantes de couplage $^3J(\text{HN}, H_{L1})$ et $^3J(\text{HN}, H_{L2})$ sont égales à 2,8 Hz c'est à dire supérieures à 2,2 Hz. En utilisant les relations de Bystrov [7] et de Davies et Khaled [2] l'angle de pliure β est de l'ordre de -10° à -15° . Dans ce cas, les chaînes latérales sont en position semi-axiale et le cycle DOP possède une conformation bateau ($\beta < 0$). Le Tableau 3 montre aussi que lorsque R² devient plus

TABLEAU 3
Caractéristiques en RMN des protons H_L et H_D portés par les carbones C_α des 2,5-dioxopipérazines (DOP)

DOP	Déplacements chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)								Références
	1er résidu				2ème résidu				
	δH _{L1}	³ J(HN, H _{L1})	δH _{D1}	³ J(HN, H _{D1})	δH _{L2}	³ J(HN, H _{L2})	δH _{D2}	³ J(HN, H _{D2})	
<i>Configuration LL</i>									
c[Phe-Gly]	4,08	2,8	-	-	3,36	2,8	2,8	0,7	3, 9, 10
c[Phe-Ala]	4,17	1,8	-	-	3,62	1,7	-	-	1
c[Phe-Phe]	3,97	1,8	-	-	3,97	1,8	-	-	1
c[Phe-Pro]	4,27	<0,5	-	-	4,07	-	-	-	10, 2
c[Ala-Ala]	3,90	>2,2	-	-	3,90	>2,2	-	-	3, 9
<i>Configuration DL</i>									
c[D-Phe-Ala]	-	-	4,08	2,6	2,90	<0,5	-	-	1
c[D-Phe-Phe]	-	-	3,40	<0,5	3,40	<0,5	-	-	1
c[D-Phe-Pro]	-	-	4,22	3,9	2,90	-	-	-	10, 2

TABLEAU 4

Caractéristiques en RMN des protons H_β portés par les carbones C_β des 2,5-dioxopipérazines (DOP)

DOP	Déplacements chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)						Références		
	1er résidu			2ème résidu					
	δH_β	$^3J(H_\beta, H_{L1})$	$\delta H_{\beta'}$	$^3J(H_\beta, H_{L1})$	δH_β	$^3J(H_\beta, H_{L2})$	$\delta H_{\beta'}$	$^3J(H_\beta, H_{L2})$	
<i>Configuration LL</i>									
c[Phe-Gly]	2,92	5,2	3,11	4,3	-	-	-	-	3, 9, 10
c[Phe-Ala]	2,86	4,9	3,12	3,9	0,49	-	-	-	1
c[Tyr-Leu]	2,73	4,8	3,04	3,7	0,2	9,0	0,8	4,5	3, 9
c[Phe-Phe]	2,25	6,2	2,58	4,8	2,25	6,2	2,58	4,8	1
c[Ala-Ala]	2,15	7,0	-	-	1,25	7,0	-	-	3, 9
c[Gly-Leu]	-	-	-	-	1,52	4,9	1,52	4,9	3, 9
<i>Configuration DL</i>									
c[D-Phe-Ala]	2,89	4,9	3,10	4,6	1,08	6,09	-	-	1
c[D-Phe-Pro]	3,02	5,5	3,17	4,5	-	-	-	-	10, 2
c[D-Phe-Phe]	2,73	4,9	3,00	3,8	2,73	4,9	3,00	3,8	1

encombrant ($R^2 = C_6H_5, CH_3$) les chaînes latérales ont tendance à s'écartier de la position semi-axiale vers une position semi-équatoriale. Le cycle DOP est presque plan, avec $\beta > 0$, les constantes de couplage ${}^3J(HN, H_{L1})$ et ${}^3J(HN, H_{L2})$ étant de 1,8 Hz. Pour ce qui concerne c[Phe-Pro], la contrainte conformationnelle due au cycle particulier de la proline accentue profondément la pliure. La constante de couplage ${}^3J(HN, H_{L1})$ inférieure à 0,5 Hz indique que β est supérieur à 20° . A l'état solide, Davies et Khaled [2] ont mesuré un angle de $+39^\circ$.

Orientation des chaînes latérales

Le Tableau 5 donne le résultat des calculs de populations des rotamères pour les chaînes latérales des résidus aromatiques et des résidus des seconds aminoacides par application des équations établies précédemment [1]. Le cycle phényle pour c[Phe-Gly], c[Phe-Ala] et c[Tyr-Leu] se situe majoritairement au-dessus du cycle DOP. En effet, le rotamère **3** est majoritaire avec un pourcentage supérieur à 77%. Ceci est confirmé par le fait que les protons H_β du résidu R^2 (et à un moindre degré, le proton amide du second résidu) subissent un effet anisotropique [3, 4]. Par exemple, le groupement méthyle de l'alanine du second résidu passe de $\delta = 1,08$ ppm pour c[D-Phe-Ala] à $\delta = 0,49$ ppm pour c[Phe-Ala] (Tableau 4). De plus le proton de la fonction amide du deuxième résidu dans c[Phe-Gly], c[Phe-Ala] et c[Tyr-Leu] (Tableau 1) résonne à un champ légèrement plus fort que celui du premier résidu; la différence tend à s'estomper avec l'encombrement stérique. De la même manière, le proton H_{D2} porté par le C_α du résidu Gly est plus blindé dans c[Phe-Gly] que dans c[Gly-Gly] (Tableau 3), 2,80 ppm au lieu de 3,70 ppm. Les chaînes latérales du résidu non aromatique, lorsqu'il y a encombrement stérique, tendent à se placer dans la situation du rotamère **1** (ou **2**) (Tableau 5). Si l'on prend le cas de c[Tyr-Leu], le rotamère **1** (ou **2**) pour lequel la chaîne latérale n'est pas au-dessus du plan du cycle est majoritaire (53%). Cependant, le rotamère **3** n'est pas négligeable (38%). Lin et Webb [5] ont rapporté que, dans le cas de c[Phe-Ser], le groupement hydroxyle de la sérine se trouve au-dessus du cycle DOP peut-être grâce à l'intervention d'interactions électrostatiques stabilisatrices.

Le cas de composé c[Phe-Phe] est particulier. Le spectre de RMN de c[Phe-Phe] montre que les noyaux phényle des deux acides aminés ont le même comportement, donc des environnements identiques. Les protons H_β portés par les résidus des deux aminoacides résonnent à champ plus fort (2,25 ppm) que ceux des molécules de type c[Phe-Yaa] où Yaa n'est pas aromatique (Tableau 4). C'est le cas pour c[Phe-Ala], avec $H_\beta = 2,86$ ppm et $H_{\beta'} = 3,12$ ppm, ou pour c[Tyr-Leu] avec $H_\beta = 2,73$ ppm et $H_{\beta'} = 3,04$ ppm. Enfin les calculs de populations de rotamères (Tableau 5) indiquent que pour les deux résidus le rotamère **3** est le plus abondant (62,5%). Ainsi, malgré l'encombrement stérique, les deux noyaux phényle sont majoritairement au-dessus du plan du cycle DOP, bien que ces rotamères soient légèrement défavorisés par rapport aux molécules de type c[Phe-Yaa] dans lesquelles Yaa n'est pas aromatique. L'influence des noyaux phényle est sensible au

TABLEAU 5
Pourcentages des populations des trois rotamères des 2,5-dioxopipérazines

DOP	2ème résidu					
	1er résidu					
<i>Rotamères</i>	1	2	3	1	2	3
<i>Configuration LL</i>						
c[Phe-Gly]	16,0(7,0)	7,0(16,0)	77,0	-	33,3	-
c[Phe-Ala]	13,0(3,4)	3,4(13,0)	83,6	33,3	9,0(53,0)	33,3
c[Tyr-Leu]	12,0(2,0)	2,0(12,0)	86,0	53,0(9,0)	13,0	74,0
c[Gly-Leu]	-	-	-	13,0	12,0(25,5)	62,5
c[Phe-Phe]	22,5(12,0)	12,0(35,5)	62,5	25,5(12,0)		
<i>Rotamères</i>	1	2	3	1	2	3
<i>Configuration DL</i>						
c[D-Phe-Ala]	13,0(10,0)	10,0(13,0)	77,0	33,3	33,3	33,3
c[D-Phe-Pro]	19,0	9,0	72,0	-	-	-
c[D-Phe-Phe]	13,0(2,4)	2,4(13,0)	84,6	13,0(2,4)	2,4(13,0)	84,6

niveau des déplacements chimiques des protons amide (Tableau 1) qui sont identiques (7,88 ppm), mais blindés par rapport au proton amide du résidu 1 des molécules c[Phe-Yaa] (dans lesquelles Yaa n'est pas aromatique) qui résonnent entre 8,0 et 8,14 ppm.

Nous arrivons donc à une conclusion analogue à celle de Radding *et al.* [6] pour ce qui concerne la conformation des chaînes latérales du composé c[Phe-Phe], à savoir que les noyaux phényle se situent au-dessus du cycle DOP mais qu'ils sont légèrement décalés vers les groupements amide.

Les 2,5-dioxopipérazines aromatiques de configuration DL

Envisageons tout d'abord le cas des cyclodipeptides possédant un seul résidu phényle. Le Tableau 3 indique que pour c[D-Phe-Ala] la constante de couplage ${}^3J(\text{NH}, \text{H}_{\text{D1}})$ est supérieure à 2,2 Hz (2,6 Hz) et que ${}^3J(\text{NH}, \text{H}_{\text{L2}})$ est inférieur à cette valeur (<0,5 Hz). Le cycle DOP possède une conformation bateau avec un degré de pliure β de l'ordre de $+10^\circ$ [2, 7]. Pour ce qui concerne c[D-Phe-Pro], la proline impose, par ses particularités structurales, une conformation bateau plus accentuée et le degré de pliure β est supérieur à 30° . Par conséquent, le cycle DOP possède une conformation bateau pour ce type de cyclopeptides non symétriques de configuration DL; la chaîne latérale du résidu aromatique est en position semi-axiale, celle du second résidu se situe en position semi-équatoriale. Les calculs de populations (Tableau 6) montrent pour c[D-Phe-Ala] et c[D-Phe-Pro] que le noyau phényle se situe principalement au-dessous du cycle DOP (respectivement 77% et 72%). Une confirmation de ce calcul est apportée dans le premier cas par le fait que le proton H_{L2} résonne à champ plus fort pour c[D-Phe-Ala] (2,9 ppm) que pour c[Ala-Ala] (3,9 ppm) (Tableau 3). Dans le cas particulier de c[D-Phe-Phe], nous retrouvons des résultats déjà enregistrés pour des cyclodipeptides symétriques de configuration DL, par exemple c[D-Ala-Ala] et c[D-Val-Val] [6]. Les valeurs des constantes de couplage ${}^3J(\text{NH}, \text{H}_{\text{D1}})$ et ${}^3J(\text{NH}, \text{H}_{\text{L2}})$ étant inférieures à 0,5 Hz (Tableau 1) le cycle DOP est en conformation chaise et les chaînes latérales se situent en position semi-équatoriale. Le spectre de RMN du proton est totalement identique pour les deux résidus et les calculs de populations (Tableau 5) montrent que les rotamères 3, pour lesquels les noyaux phényle se situent au-dessus et au-dessous du cycle DOP sont très majoritaires (84,6%) par rapport aux rotamères 1 et 2. De ce fait, les protons H_{D1} et H_{L2} sont blindés (3,40 ppm) par rapport

TABLEAU 6

Caractéristiques en RMN des protons H_β des DOP c[Xaa-Gly] [3, 4]

DOP c[Xaa-Gly]	Déplacements chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)			
	δH_β	${}^3J(\text{H}_\beta, \text{H}_{\text{L1}})$	$\delta\text{H}_{\beta'}$	${}^3J(\text{H}_{\beta'}, \text{H}_{\text{L1}})$
c[Leu-Gly]	1,52	4,9	1,52	4,9
c[Val-Gly]	2,10	4,0	-	-

aux mêmes protons de cyclopeptides non aromatiques (par exemple $H_{L2} = 3,90$ ppm pour c[Ala-Ala]).

Les 2,5-dioxopipérazines à chaînes latérales linéaires

A notre connaissance, les seuls dipeptides cycliques possédant des acides aminés à chaînes carbonées linéaires qui ont été étudiés en solution contiennent un résidu Gly [2-4, 8, 9]. Cet acide aminé étant achiral, les cyclodipeptides c[Xaa-Gly] et c[D-Xaa-Gly] sont énantiomères, ils possèdent donc le même spectre de RMN.

Le Tableau 2 regroupe les caractéristiques spectrales des protons H_{L1} , H_{L2} et H_{D2} de cinq cyclodipeptides. Pour c[Gly-Gly], les constantes de couplage, ${}^3J(\text{NH}, H_{L1})$ et ${}^3J(\text{NH}, H_{D2})$ identiques et égales à 2,2 Hz, indiquent que le cycle DOP est plan. Pour c[Ala-Gly], une seule différence est observée par rapport au cas précédent. La constante ${}^3J(\text{NH}, H_{L1})$ est égale à 2,0 Hz, par conséquent le cycle DOP est proche de la planéité, légèrement déformé du côté du résidu alanine ($\beta > 0$), tendant à amener la chaîne latérale de cet acide aminé vers une position semi-équatoriale.

Quand Xaa est Leu ou Val, les constantes de couplage ${}^3J(\text{NH}, H_{L1})$ et ${}^3J(\text{NH}, H_{L2})$ supérieures à 2,2 Hz indiquent que le cycle DOP est en conformation bateau [1] avec β négatif et de l'ordre de -10° . Pour c[Leu-Gly], les constantes de couplage ${}^3J(H_\beta, H_{L1})$ et ${}^3J(H_{\beta'}, H_{L1})$ sont équivalentes (4,9 Hz) (Tableau 6). Ces protons sont gauches par rapport à H_{L1} et le groupement isobutyle a tendance à se situer au-dessus du cycle DOP. C'est ce qui est confirmé par le calcul des populations (Tableau 6). Le rotamère **3**, qui correspond à cette situation est en effet largement majoritaire (74%). De même, pour c[Val-Gly], la constante de couplage ${}^3J(H_\beta, H_{L1})$, égale à 4,0 Hz, est proche de celle d'un couplage gauche (3,55 Hz).

Par conséquent, le rotamère le plus abondant correspond à la présence d'un groupement méthyle au-dessus du cycle DOP. La conformation du cycle DOP de c[Pro-Gly] diffère considérablement des précédentes. Les constantes de couplage ${}^3J(\text{NH}, H_{L2})$ (0,2 Hz) et ${}^3J(\text{NH}, H_{D2})$ (4,4 Hz) indiquent que le cycle est dans la conformation bateau, avec un degré de pliure β supérieur à $+30^\circ$. Par ailleurs, on observe pour c[Leu-Gly] et c[Val-Gly] un déblindage important du proton H_{D2} par rapport au proton H_{L2} (Tableau 2). C'est l'inverse pour c[Pro-Gly]. Ceci est à mettre en rapport avec la valeur négative de β pour les deux premiers cas et positive pour le dernier. L'anisotropie due au groupement carbonyle du deuxième résidu a tendance à blinder les protons en position semi-équatoriale de ce résidu (la distance entre le proton et le groupement carbonyle est de l'ordre de 2,5 Å).

En conclusion, quelque soit la conformation du cycle DOP et la configuration des résidus des acides aminés comportant un noyau phényle, celui-ci se place au-dessus du cycle DOP. Il en est de même pour les résidus volumineux, s'il n'y a pas d'encombrement stérique. La conformation du cycle DOP pour les 2,5-dioxopipérazines LL ou DL est bateau, à l'exception des cyclodipeptides symétriques de configuration DL qui adoptent une conformation chaise.

Conformation des 2,5-dioxopipérazines monofluorées en solution

Cas des cyclodipeptides possédant un résidu Phe(F)

Les dipeptides cycliques possédant un résidu Phe(F), c[Phe(F)-Yaa], que nous avons synthétisés [1] se présentent sous la forme d'un mélange d'isomères LL et DL puisque nous partons d'un mélange d'énantiomères de la phénylalanine β -monofluorée. Les diastéréoisomères sont séparables par HPLC. Les mesures de RMN du proton ont été réalisées sur des isomères purs dont on ne connaît pas la configuration absolue au niveau de l'acide aminé fluoré*. Dans le cas de c[D-Phe(F)-Gly] et c[L-Phe(F)-Gly], les spectres des deux isomères sont évidemment strictement identiques. En l'absence de mesures effectuées aux RX, nous ne pouvons pas attribuer la configuration LL ou DL à l'un ou l'autre des isomères. Nous discuterons donc des mesures RMN en envisageant successivement, pour les deux isomères appelés A et B, les configurations A=LL; B=DL, puis le cas inverse A=DL; B=LL. La dénomination LL est donnée à l'isomère contenant le résidu Phe(F) de configuration (2*R*, 3*R*), l'isomère DL correspond au cyclodipeptide possédant le résidu Phe(F) de configuration (2*S*, 3*S*). Lorsque la configuration de l'acide aminé monofluoré n'est pas connue, les protons H_{L1} et H_{D1} seront notés H _{α 1}. Nous examinerons tout d'abord la conformation du cycle DOP, puis la position des chaînes latérales par rapport à ce cycle, à l'aide des mesures effectuées par RMN et des équations précédemment établies [1].

Conformation du cycle DOP

Le Tableau 7 rassemble, en particulier, les valeurs des constantes de couplage $^3J(\text{NH}, \text{H}_{\alpha 1})$ et $^3J(\text{NH}, \text{H}_{L2})$ entre les protons amide et ceux portés par les carbones C _{α} , pour les isomères A et B. Dans tous les cas, pour l'isomère A, les constantes de couplage $^3J(\text{NH}, \text{H}_{\alpha 1})$ pour le résidu monofluoré et $^3J(\text{NH}, \text{H}_{L2})$ pour celui non fluoré, sont supérieures à 2,2 Hz (entre 2,6 et 3,5 Hz). Pour l'isomère B, la valeur de $^3J(\text{NH}, \text{H}_{\alpha 1})$ est supérieure à 2,2 Hz (entre 2,5 et 3,8 Hz), l'autre est inférieure à 2,2 Hz (de l'ordre de 0,5 Hz).

Le Tableau 8 recense les différentes conformations possibles du cycle DOP selon les configurations DL ou LL des deux acides aminés et indique à chaque conformation les valeurs des constantes $^3J(\text{NH}, \text{H}_{\alpha 1})$ et $^3J(\text{NH}, \text{H}_{L2})$ prévus.

Les mesures expérimentales nous placent dans deux situations possibles:

(i) Si l'isomère A est LL, seul le conformère **1** du Tableau 8 correspond aux valeurs des constantes de couplage vicinal mesurées, alors B est DL et correspond, pour la même raison au conformère **5**. Les valeurs des constantes de couplage nous permettent d'estimer le degré de pliure β de -20° à -10° pour les isomères LL (β est environ égal à -20° pour c[Phe(F)-Gly]); β est

*Une détermination de la stéréochimie est possible par diffraction des RX mais elle nécessite des cristaux d'une taille suffisante, ce qui s'est révélé impossible. Nous envisageons la séparation des acides aminés β -monofluorés par une voie enzymatique.

TABLEAU 7

Caractéristiques en RMN des protons H_{α} des deux résidus dans les DOP monofluorés

DOP c[Ph(F)-Yaa] Phe(F) D ou L	Déplacement chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)		DOP c[Phc(F)-Yaa] Phe(F) L ou D	Déplacements chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)	
	1er résidu	2ème résidu		1er résidu	2ème résidu
	$\delta H_{\alpha 1}$	${}^3J(HN, H_{1,2})$		$\delta H_{1,2}$	${}^3J(HN, H_{1,2})$
<i>Isomère A</i>					
c[Phc(F)-Phe]	4,15	3,1	4,08	2,8	3,82
c[Phc(F)-Leu]	4,20	3,2	3,71	2,8	4,19
c[Phc(F)-Ser]	4,16	3,0	3,79	2,6	4,17
c[Phc(F)-Ala] ^a	4,20	2,7	3,84	2,7	4,11
c[Phc(F)-Gly] ^a	4,09	3,4	3,76 ^b	<0,5	3,87
			3,57 ^b	3,5	
<i>Isomère B</i>					
c[Phc(F)-Phe]					2,5
c[Phc(F)-Leu]					3,1
c[Phc(F)-Ser]					2,8
c[Phc(F)-Ala]					3,8
					4,11
					3,87
					3,79
					3,68
					4,11
					3,87
					3,79
					3,68
					4,11
					3,87

^aIl existe une constante de couplage longue distance ${}^5J(H_{\alpha 1}, H_{1,2}) = 1,6$ Hz pour le proton le plus blindé (proton équatorial).^b3,76 ppm correspond au proton H_{D2} et 3,57 ppm au proton H_{L2} .

TABLEAU 8

Les différents conformères possibles pour c[DL-Phe(F)-Yaa] et les constantes de couplage vicinal (Hz) correspondantes

<i>Configuration</i> LL	$^3J(\text{HN}, \text{H}_{\alpha 1})$	Conformères	Conformères	$^3J(\text{HN}, \text{H}_{\alpha 1})$	$^3J(\text{HN}, \text{H}_{\beta 2})$	<i>Configuration</i> DL
	> 2,2			< 2,2	< 2,2	
	> 2,2			< 2,2	> 2,2	
	< 2,2			< 2,2	< 2,2	
	< 2,2			> 2,2	< 2,2	

environ égal à -10° pour $c[\text{Phe}(\text{F})\text{-Ala}]$ et de $+10^\circ$ à $+20^\circ$ pour les isomères DL (β est d'environ $+10^\circ$ pour $c[\text{D-Phe}(\text{F})\text{-Ala}]$; β est d'environ $+20^\circ$ pour $c[\text{D-Phe}(\text{F})\text{-L-Phe}]$).

(ii) Si l'isomère A est DL, le conformère **6** correspond aux valeurs des constantes de couplage mesurées et alors l'isomère B de configuration LL est le conformère **2**; c'est à dire que les deux conformères sont sous forme chaise et l'angle β est nul.

Orientation préférentielle des chaînes latérales

Le Tableau 9 rassemble les caractéristiques spectrales des protons H_β des résidus non fluorés et fluorés des deux aminoacides des cyclodipeptides. La détermination des conformations des chaînes latérales non fluorées est effectuée au moyen de l'équation de Cung [1] et celle des chaînes latérales fluorées a été déterminée à partir de la méthode développée précédemment [1]. Ces calculs utilisent les mesures de RMN des constantes de couplage vicinal données dans le Tableau 9. Les résultats des calculs, c'est à dire les populations des différents rotamères des deux chaînes latérales ont été rassemblés dans le Tableau 10.

Cas de $c[\text{D ou L-Phe}(\text{F})\text{-L-Phe}]$

Le Tableau 10 indique que pour l'isomère A, le rotamère **3** du deuxième résidu est privilégié (52,6%). Il correspond à une situation du noyau phényle du résidu non fluoré au-dessus du cycle DOP. Le fait que le déplacement chimique du proton H_β du résidu $\text{Ph}(\text{F})$ (5,07 ppm) subit un blindage important par rapport aux protons H_β des résidus $\text{Phe}(\text{F})$ de tous les autres dipeptides A (5,8–5,9 ppm) ou B (5,9 ppm) (Tableau 9) nous conduit à situer ce proton H_β de l'isomère A dans le cône d'anisotropie du noyau aromatique porté par le résidu non fluoré. Si, par hypothèse, A est l'isomère DL, le cycle DOP est sous forme chaise (conformère **6** du Tableau 8), le noyau phényle du résidu non fluoré ne peut induire aucun effet blindant sur le proton H_β du résidu $\text{Phe}(\text{F})$. De plus, le proton $H_{\alpha 1}$ porté par la chaîne latérale fluorée devrait résonner à champ plus fort que ceux des autres dipeptides cycliques (Tableau 7), ce qui n'est pas observé, puisque son déplacement chimique est de 4,15 ppm (pour la série: $4,09 \text{ ppm} < \delta H_{\alpha 1} < 4,20 \text{ ppm}$). Par conséquent, l'isomère A doit être de configuration LL (conformère **1** du Tableau 8), donc posséder une conformation bateau avec $\beta < 0$. Le Tableau 10 indique que pour le résidu fluoré, le rotamère **1** le plus abondant (52,8%), pour lequel l'atome de fluor se situe au-dessus du cycle DOP, est beaucoup moins présent que dans les cas où les chaînes latérales du second résidu ne sont pas chargées électroniquement (Leu, Ala, Gly). Il ne s'agit vraisemblablement pas d'un phénomène de nature stérique, puisque dans le cas de $c[\text{Phe-Phe}]$, les deux noyaux phényle se situent d'un même côté et au-dessus du plan du cycle DOP. Un phénomène de nature électronique peut donc être envisagé, mais seul un calcul de répartition des charges pourrait permettre une interprétation plus précise. Si le premier isomère A est de configuration LL, le second B est obligatoirement de configuration DL (conformère **5** du

TABLEAU 9

Caractéristiques en RMN des protons H_β des deux résidus des DOP monofluorés

DOP c[Phe(F)-Yaa] Phe(F) D ou L	Déplacements chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)					
	Résidu	Phe(F)	2ème résidu		3ème résidu	
	δH_β	${}^3J(H_\beta, H_{\alpha 1})$	${}^3J(F, H_{\alpha 1})$	δH_β	${}^3J(H_\beta, H_{\alpha 2})$	${}^3J(H_\beta, H_{\alpha 2})$
<i>Isomère A</i>						
c[Phe(F)-Phe]	5,07	4,4	23,8	2,98	5,3	6,7
c[Phe(F)-Leu]	5,86	2,5	27,8	1,49	4,8	9,3
c[Phe(F)-Ser]	5,88	4,7	23,9	3,63	3,8	4,3
c[Phe(F)-Ala]	5,88	2,4	28,8	1,24	7,1	-
c[Phe(F)-Gly]	5,92	2,7	29,3	-	-	-
<i>Isomère B</i>						
c[Phe(F)-Phe]	5,85	2,7	27,8	3,16	3,8	5,4
c[Phe(F)-Leu]	5,93	3,0	27,8	1,65	5,0	5,6
c[Phe(F)-Ser]	5,94	2,5	27,8	3,73	^a	^a
c[Phe(F)-Ala]	5,92	2,9	29,2	1,23	7,1	-

^aLa nature du spectre ne permet pas la détermination de ces constantes de couplage.

TABLEAU 10
 Pourcentages des populations des rotamères de c[D ou L-Phe(F)-Yaa]

DOP	2ème résidu						
Rotamères	Résidu Phe(F)	1 ^a	2 ^a	3 ^a	1	2	3
<i>Isomère A</i>							
c[Phe(F)-Phe]	52,8	25,4	21,8	21,8	30,4(17,0)	17,0(30,4)	52,6
c[Phe(F)-Leu]	64,8	7,2	28,0	28,0	56,0(12,0)	12,0(56,0)	32,0
c[Phe(F)-Ser]	53,0	29,0	18,0	18,0	5,3(10,6)	10,6(5,3)	84,1
c[Phe(F)-Ala]	67,7	7,0	25,3	25,3	-	-	-
c[Phe(F)-Gly]	69,2	11,0	19,7	19,7	-	-	-
<i>Isomère B</i>							
c[Phe(F)-Phe]	64,5	9,5	26,0	26,0	18,0(2,0)	2,0(18,0)	80,0
c[Phe(F)-Leu]	64,7	10,7	24,6	24,6	20,0(14,0)	14,0(20,0)	66,0
c[Phe(F)-Ser]	65,0	7,0	28,0	28,0	^b	^b	^b
c[Phe(F)-Ala]	69,0	13,4	17,6	17,6	-	-	-

^aOu l'image par rapport à un plan.

^bNon déterminable.

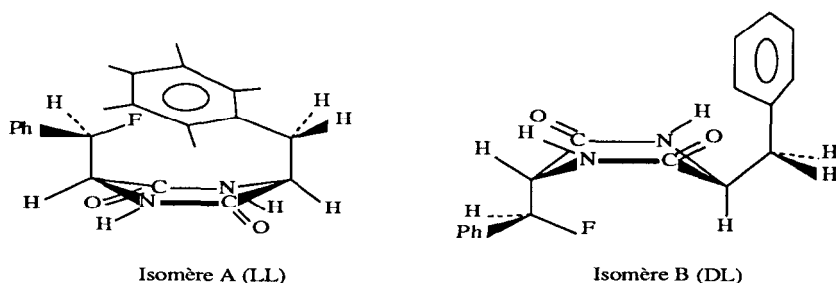


Fig. 1. Conformères majoritaires de $c[\text{Phe}(\text{F})\text{-Phe}]$ et $c[\text{D-Phe}(\text{F})\text{-Phe}]$.

Tableau 8). Le cycle DOP adopte une forme de bateau avec $\beta > 0$. La chaîne latérale du résidu L-Phe est en situation quasi-perpendiculaire au plan moyen du cycle DOP, le rotamère **3** (Tableau 10) est largement privilégié (80%). Ceci est confirmé par le fait que le proton $\text{H}_{\alpha 1}$, porté par le carbone C_{α} du résidu Phe(F), résonne à 3,82 ppm au lieu de 4,11–4,19 ppm (Tableau 7) pour les autres cyclodipeptides possédant un résidu Yaa non aromatique (la distance entre le noyau phényle et le proton $\text{H}_{\alpha 1}$ est de l'ordre de 6,2 Å). La Fig. 1 schématise les conformères prépondérants pour les deux isomères A et B.

Cas de $c[\text{D ou L-Phe}(\text{F})\text{-Leu}]$

La chaîne latérale du résidu non fluoré ne comportant pas de noyau aromatique, il n'y a pas de mesure possible d'une influence de cette chaîne latérale sur les protons $\text{H}_{\alpha 1}$ ou H_{β} du résidu Phe(F), comme dans le cas précédent. Lorsque la leucine se trouve dans un cyclodipeptide possédant un résidu aromatique, par exemple $c[\text{Tyr-Leu}]$, le noyau phényle se place au-dessus du cycle DOP stabilisé par une interaction électrostatique. La chaîne latérale de la leucine se trouve rejetée vers l'extérieur, en raison de l'encombrement stérique. Par contre, lorsque celui-ci est faible, ou nul comme dans le cas de $c[\text{Gly-Leu}]$, la chaîne latérale de la leucine vient se placer majoritairement au-dessus du cycle DOP. Si A est LL, les chaînes latérales des deux résidus se situent du même côté par rapport au plan moyen du conformère bateau. Si A est DL, les chaînes latérales se situent de part et d'autre en position axiale par rapport au plan moyen du cycle chaise. Les calculs de populations (Tableau 10) indiquent que le pourcentage de conformères pour lesquels la chaîne latérale du résidu Leu se trouve au-dessus du cycle DOP n'est que de 32%. Par ailleurs, l'atome de fluor, sur l'autre chaîne latérale, se trouve majoritairement (64.8%) au-dessus du plan de la molécule. Si l'on fait l'hypothèse qu'il y a encombrement de la face du DOP, cet isomère doit être de configuration LL. Dans ces conditions, l'isomère B est de configuration DL, c'est à dire que le cycle DOP est dans une conformation bateau ($\beta > 0$), avec la chaîne latérale du résidu Phe(F) en position axiale, celle du résidu Leu en position semi-équatoriale. Les résultats des calculs de conformations sont en accord avec cette hypothèse: en effet, il n'y a pas d'encombrement stérique et la chaîne latérale de la leucine se trouve bien

majoritairement au-dessus du cycle DOP (66%), ainsi que l'atome de fluor (64,7%), pour ce qui concerne le résidu Phe(F).

Cas de c[D ou L-Phe(F)-Ser]

La nature du spectre de RMN ne permet pas d'atteindre les constantes de couplage $^3J(H_\beta, H_{L2})$ et $^3J(H_{\beta'}, H_{L2'})$ correspondant à la chaîne latérale de l'isomère B du résidu L-Ser. Pour ce qui concerne l'isomère A, les rotamères **1**, **2** et **3** sont respectivement dans les proportions 0,53:0,29:0,18 pour la chaîne latérale de Phe(F) et 0,053:0,10:0,84 pour la chaîne latérale de la sérine (Tableau 10). Le groupement hydroxyle de la sérine se trouve donc essentiellement situé au-dessus du cycle DOP comme cela a déjà été observé en série non fluorée [5, 9, 11]. Pour ce qui concerne le résidu Phe(F), le conformère pour lequel le fluor se trouve au-dessus du cycle est majoritaire. Le second en importance correspond à une position du fluor situé du côté de la fonction amine (comme pour c[Phe(F)-Phe] et à l'inverse de c[Phe(F)-Leu]). Des encombrements stériques pourraient être évoqués entre l'atome de fluor et le groupement hydroxyle pour expliquer la conformation du résidu Phe(F). Les exemples en série non fluorée mettent en évidence une stabilisation du groupement hydroxyle par des interactions électrostatiques.

Cas de c[D ou L-Phe(F)-L-Ala]

Il existe, pour l'isomère A, un couplage longue distance $^5J(CH_\alpha, CH_\alpha)$ de 1,6 Hz. C'est un couplage qui a été observé pour le composé c[Phe-Ala]. Ce n'est que lorsque les protons H_α se trouvent en position équatoriale que l'on peut observer ce phénomène [2, 8]. Ceci conduit à envisager une conformation bateau et une configuration LL pour cet isomère. Ici encore, dans le conformère privilégié (Tableau 10) l'atome de fluor est en majorité au-dessus du plan DOP (67,7%). Pour le second isomère, de configuration DL, le conformère privilégié possède l'atome de fluor en majorité au-dessus du cycle DOP (69,0%).

Cas de c[D ou L-Phe(F)-Gly]

Il existe ici encore une constante de couplage longue distance $^5J(CH_\alpha, CH_\alpha)$ de 1,6 Hz. Ceci implique une conformation bateau et une position semi-équatoriale cis par rapport au plan moyen DOP pour les deux protons couplés. Le conformère le plus abondant correspond toujours à une position de l'atome de fluor au-dessus du cycle DOP (69,2%).

Cas des cyclodipeptides possédant un résidu Faba

Les trois cyclodipeptides qui comportent un résidu Faba [1] (acide (2*R*, 3*R*) 2-amino 3-fluoro-butanoïque) sont de configuration LL.

Le Tableau 13 donne le résultat des calculs de conformations des chaînes latérales effectués à partir des mesures de RMN rassemblées dans les Tableaux 11 et 12. On relève, que dans les trois cas, le fluor se situe majoritairement au-dessus du cycle DOP (69%). On retrouve donc une situation commune

TABLEAU 11

Caractéristiques en RMN des protons H_α des DOP c[Faba–Yaa]

DOP c[Faba–Yaa]	Déplacements chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)				
	Résidu Faba		2ème résidu		
	δH_{L1}	${}^3J(\text{HN}, H_{L1})$	δH_{L2}	${}^3J(\text{HN}, H_{L2})$	${}^3J(H_{L1}, H_{L2})$
c[Faba–Gly]	3,76	3,4	3,59	3,4	1,6
c[Faba–Leu]	3,81	2,4	3,71	2,6	–
c[Faba–Ala]	3,77	2,5	3,89	<0,5	–

TABLEAU 12

Caractéristiques en RMN des protons H_β des DOP c[Faba–Yaa]

DOP c[Faba–Yaa]	Déplacements chimiques (ppm) et constantes de couplage (Hz)						
	Résidu Faba			2ème résidu			
	δH_β	${}^3J(H_\beta, H_{L1})$	${}^3J(F, H_{L1})$	δH_β	${}^3J(H_\beta, H_{L2})$	$\delta H_{\beta'}$	${}^3J(H_{\beta'}, H_{L2})$
c[Faba–Gly]	5,01	2,0	32,1				
c[Faba–Leu]	4,98	2,0	32,2	1,55	5,1	1,49	6,3
c[Faba–Ala]	5,02	2,1	32,2	1,24	7,0	–	–

à tous les résidus fluorés. Le conformère pour lequel la chaîne de la leucine se place à l'extérieur par rapport au cycle DOP est majoritaire (40,6%), celui qui correspond à une situation au-dessus du plan du cycle n'est pas minoritaire d'une manière importante (39%).

La conformation du cycle DOP, pour les composés c[Faba–Gly] et c[Faba–Leu] est semblable: les constantes de couplage ${}^3J(\text{NH}, H_{L1})$ et ${}^3J(\text{NH}, H_{L2})$ (Tableau 11) sont, pour les deux résidus, supérieures à 2,2 Hz. Par conséquent, le cycle DOP de ces deux cyclodipeptides est bateau ($\beta < 0$) et le degré de pliure β peut être estimé à environ -10° pour c[Faba–Leu] et à -20° pour c[Faba–Gly]. Cette hypothèse sur la conformation en bateau de c[Faba–Gly] est confortée par l'existence d'une constante de couplage longue distance ${}^5J(\text{CH}_{L1}, \text{CH}_{L2})$ de 1,6 Hz.

Dans le cas de c[Faba–Ala], la constante de couplage ${}^3J(\text{NH}, H_{L1})$ est supérieure à 2,2 Hz pour le premier résidu et ${}^3J(\text{NH}, H_{L2})$ est inférieure à 0,5 Hz pour le second résidu. Ces résultats tendent à montrer que le cycle DOP possède une conformation chaise ce qui constitue le premier exemple de dipeptide cyclique de configuration LL dont le cycle est sous forme chaise en solution. Le Tableau 13 indique que le rotamère **1**, pour lequel l'atome de fluor est au-dessus du cycle DOP est très majoritaire (69,3%).

TABLEAU 13
 Pourcentages des populations des rotamères des DOP c[Faba-Yaa]

DOP	Résidu Faba	2ème résidu		
<i>Rotamères</i>				
	<p>1</p>	<p>2</p>	<p>3</p>	
	<p>1</p>	<p>2</p>	<p>3</p>	
c[Faba-Gly]	69,0	0,0	31,0	-
c[Faba-Ala]	69,0	0,0	31,0	-
c[Faba-Leu]	69,3	1,0	29,7	15,0(46,0)
				46,0(15,0)
				39,0

Conclusions

D'une manière générale les cyclodipeptides fluorés adoptent, pour le cycle DOP, le même type de conformation que les cyclodipeptides non fluorés à l'exception de c[Faba-Ala]. Pour la série c[DL-Phe(F)-Yaa] l'atome de fluor se place majoritairement au-dessus du cycle DOP ce qui implique que le noyau phényle se trouve rejeté à l'extérieur. Ceci est un comportement totalement différent de celui observé en série non fluorée dans laquelle le noyau phényle se situe toujours majoritairement au-dessus du cycle DOP. Dans ce cas une interaction dipôle-dipôle induit a été évoquée par Kopple *et al.* [4, 12] tandis que Ciarkowski *et al.* [13, 14] a montré par le calcul qu'il s'agit plus vraisemblablement d'une interaction quadrupôle-quadrupôle et de forces de dispersion.

Le fait que l'atome de fluor se place préférentiellement au-dessus du cycle DOP implique une stabilisation plus importante que celle du noyau phényle. Une liaison hydrogène pourrait être mise en cause dans cette stabilisation. La distance entre l'atome de fluor et l'hydrogène porté par l'azote de la fonction amide est d'environ 4 Å, donc compatible avec ce type de liaison. Mais une étude de RMN des signaux des protons des groupements amide en fonction de la température n'a pas mis en évidence de liaison hydrogène. Par ailleurs, dans sept cas sur les neuf examinés, les rotamères pour lesquels l'atome de fluor se situe du côté du NH sont défavorisés alors que la distance fluor-hydrogène du groupement amide est de l'ordre de 3,0 Å, donc encore plus favorable à une liaison hydrogène. Mais il est vrai que les rotamères dans lesquels l'atome de fluor est en *trans* par rapport au NH sont vraisemblablement stabilisés par le noyau phényle au-dessus du cycle DOP.

Ce phénomène est encore accentué avec les cyclodipeptides mettant en jeu le résidu Faba puisque la population du rotamère pour lequel le fluor se situe à proximité du NH est nulle pour les trois cas étudiés et il ne peut être évoqué ici une stabilisation analogue à celle du noyau phényle avec le cycle DOP.

Des calculs théoriques de répartition électronique pourraient apporter une réponse à la détermination de la nature des forces qui stabilisent les rotamères de telle sorte que le fluor se trouve systématiquement au-dessus du cycle DOP.

Remerciements

Nous remercions le Conseil Général des Alpes-Maritimes et le Conseil Régional de la Région Provence-Alpes-Côte d'Azur pour l'aide qu'ils nous ont apportée.

Références

- 1 N. Patino, R. Condom, A. Aumelas, I. Ayi et R. Guedj, *J. Fluorine Chem.*, 53 (1991) 93;
N. Patino, R. Condom, I. Ayi, R. Guedj et A. Aumelas, *J. Fluorine Chem.*, 59 (1992) 47.
- 2 D. B. Davies et M. A. Khaled, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1976) 187.
- 3 K. D. Kopple et D. H. Marr, *J. Am. Chem. Soc.*, 89 (1967) 6193.
- 4 K. D. Kopple et M. Ohnishi, *J. Am. Chem. Soc.*, 91 (1969) 962.
- 5 C. F. Lin et L. E. Webb, *J. Am. Chem. Soc.*, 95 (1973) 6803.
- 6 W. Radding, B. Donzel, N. Ueyama et M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.*, 102 (1980) 5999.
- 7 V. F. Bystrov, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 10 (1976) 41.
- 8 D. B. Davies et M. A. Khaled, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1976) 1238.
- 9 G. Gawne, G. W. Kenner, N. H. Rogers, R. C. Sheppard et K. Titlestad, *Peptides 1968*, North Holland, Amsterdam, 1968, p. 28.
- 10 G. G. Fawa, M. F. Bellichi, R. Marchelli et A. Dossena, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 37 (1981) 625.
- 11 M. Cotrait et M. Ptak, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 34 (1978) 528.
- 12 K. D. Kopple et H. G. Ghazarian, *J. Org. Chem.*, 33 (1968) 862.
- 13 H. Bielinski et J. Ciarkowski, *Bull. Acad. Sci. Chim.*, 34 (1986) 449.
- 14 A. Kolodziejczyk et J. Ciarkowski, *Biopolymers*, 25 (1986) 771.
- 15 J. Vicar, M. Budesinsky et K. Blaha, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 38 (1973) 1940.