

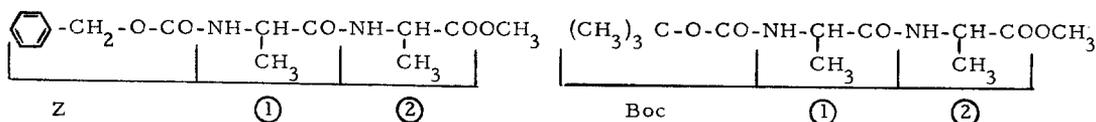
ETUDE PAR RMN DE DIPEPTIDES DE L'ALANINE EN SOLUTION ORGANIQUE

J. L. Dimicoli et M. Ptak

Centre de Biophysique Moléculaire, C. N. R. S.
45 - Orléans 02 (France)

(Received in France 23 March 1970; received in UK for publication 16 April 1970)

Par une étude à 90 MHz de la résonance protonique de L-dipeptides protégés aux deux extrémités, nous avons obtenu des résultats qui complètent et modifient ceux récemment publiés par V. F. BYSTROV et ses coll.¹. Ces dipeptides sont :



Ils sont solubles dans CDCl_3 . Le Boc-L-Ala-L-Ala-O-Me est très soluble dans CCl_4

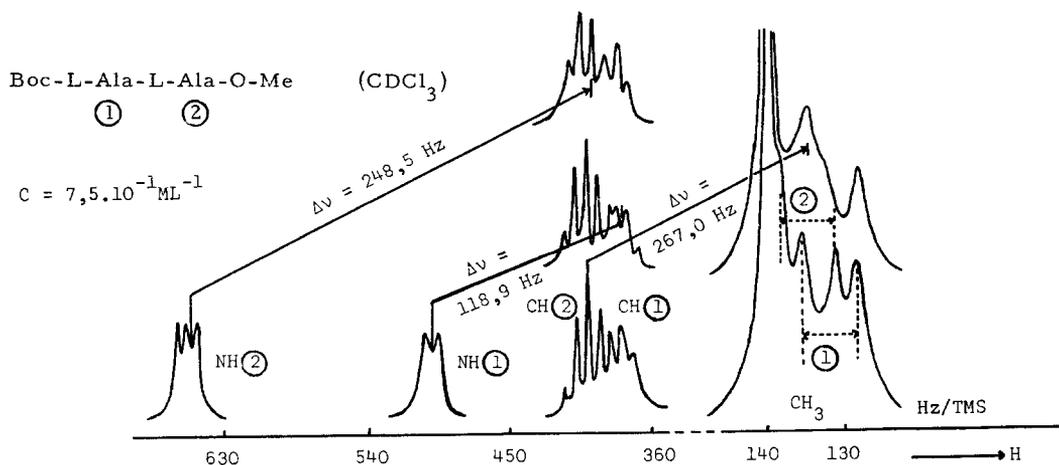


Fig. 1 Spectres de double résonance obtenus a) par irradiation des NH et observation des -CH b) par irradiation des -CH et observation des -CH₃ (les -NH se modifiant comme prévu).

Aux concentrations utilisées ces peptides sont fortement associés. Il peut aussi se former des liaisons hydrogène intra-moléculaires¹.

Position des raies -CH. Par découplage de spins, on fixe sans ambiguïté la position des raies

Boc-L-Ala-L-Ala-O-Me (CDCl₃)

C = 7,5.10⁻¹ML⁻¹

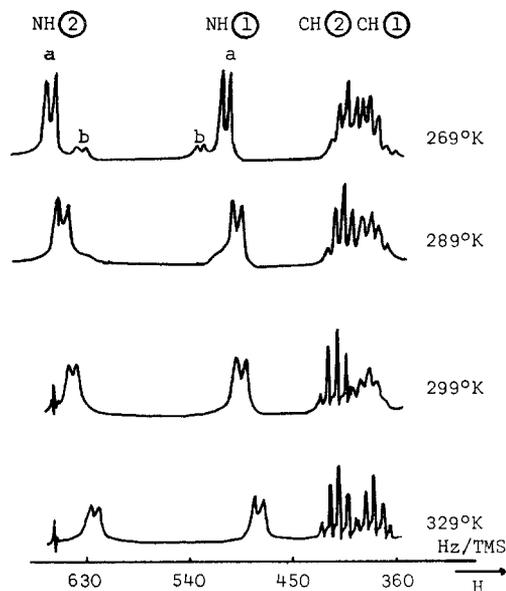


Fig. 2. Dédoublment des pics -NH et variation de largeur du CH(1) en fonction de la température.

des protons fixés sur les C_α des résidus alanine : le CH(2) est à 4,5 ppm, le CH(1) est à 4,2 ppm (fig. 1). La position relative de ces raies n'est pas modifiée par les conditions de milieu. Ce résultat est donc contradictoire avec ceux publiés par BYSTROV qui, à 60 MHz, attribue la raie à bas champ au CH(1). Notre attribution des raies pour les -NH et les -CH₃ des deux résidus alanine sont par contre en accord avec celle de cet auteur.

Largeur des raies. La largeur de raie du -CH(1) est toujours supérieure à celle du -CH(2), elle augmente avec la concentration en peptides et lorsqu'on passe du-CDCl₃ au CCl₄. Par abaissement de la température (fig. 2), on constate une diminution puis pour T < 289°K une augmentation de la résolution. Pour les pics -NH on observe pour T < 289°K un dédoublement et une amélioration sensible de la résolution. Sur la fig. 2, l'existence de deux formes a, b pour T = 269°K est clairement mise en évidence.

Nous avons vérifié que des impuretés ne sont

pas à l'origine de l'apparition de ces raies supplémentaires.

Ces couplages vicinaux NH-CH non corrigés ont alors les valeurs suivantes :

① a	② a	① b	② b
7,8 Hz	7,8 Hz	6,4 Hz	7,6 Hz

Isomérisie cis-trans de la liaison -O-C-NH. Les résultats précédents sont compatibles avec l'existence d'une isomérisie cis-trans de la liaison entre le groupement protecteur (Z ou Boc) et le premier résidu alanine. Des travaux antérieurs portant sur les carbamates², les prolines substituées³ et les tétra-hydropyridazines⁴ ont montré l'existence d'une telle isomérisie pour la liaison uréthane. L'étude systématique des acides aminés : glycine, alanine, leucine N- substitués nous a permis de confirmer cette hypothèse.

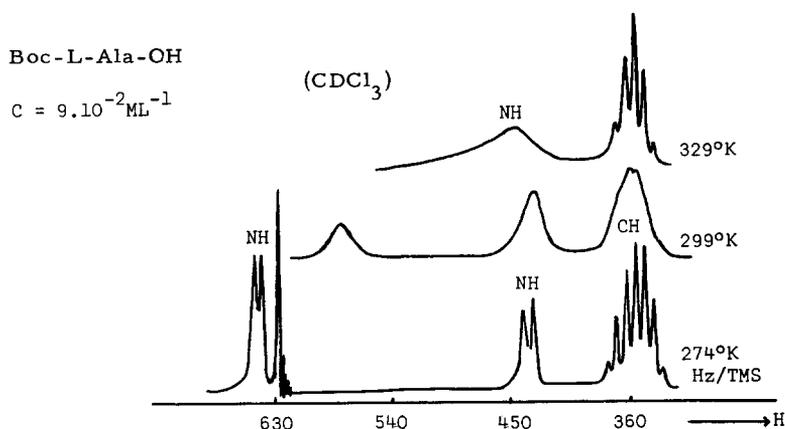


Fig. 3. Mise en évidence par effet de température de deux isomères pour la Boc-L-Alanine et de la variation de leur population.

Les acides aminés ayant un carboxyle libre montrent cette isomérisation de façon très nette (fig. 3). Les -CH des deux formes apparaissent dès la température ordinaire dans CCl_4 et à 10°C dans CDCl_3 . Les -NH correspondants sont séparés par 2 ppm environ. De tels déplacements impliquent l'effet d'associations de type déterminé pour les deux isomères. Le pic du $-\text{CH}_2$ du groupement protecteur Z, très sensible à l'effet d'isomérisation, se dédouble (fig. 4) par abaissement de température. Il y a donc là un moyen très sensible de suivre l'apparition des deux espèces et de déterminer dans des conditions données leur pourcentage respectif. Par abaissement de température on augmente la population relative de l'un des deux isomères.

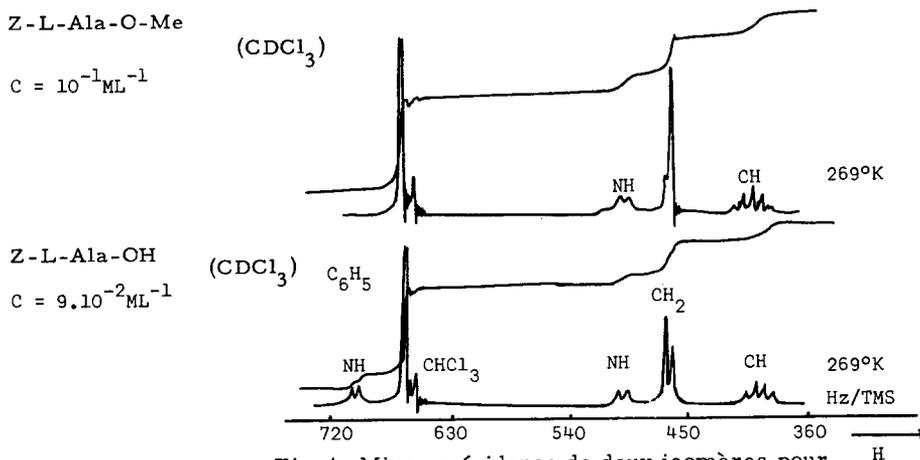
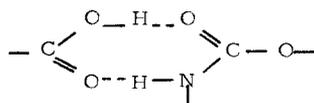


Fig. 4. Mise en évidence de deux isomères pour la Z-L-Alanine par effet de température.

L'isomérisie cis-trans existe également pour les acides aminés estérifiés (fig. 4). Par abaissement de la température, il y a dédoublement des raies -CH et -NH. L'écart entre les raies -NH est cependant beaucoup moins important que dans le cas précédent. La population de l'isomère apparaissant à basse température est également plus faible.

On voit donc que les phénomènes d'auto-association et la présence d'un groupement -COOH conduisent à une stabilisation de l'un des isomères. On peut faire l'hypothèse de la formation d'un complexe du type suivant :



Dans ces conditions, la raie -NH à bas champ serait donc attribuée à l'isomère cis stabilisé par complexation et visible par abaissement de température. Une étude détaillée de l'effet de la complexation par des molécules polaires sur la stabilité des isomères cis et trans est actuellement en cours.

Conclusion : La mise en évidence de ce phénomène d'isomérisie conformationnelle et le positionnement correct des raies -CH permet d'interpréter, pour le dipeptide, l'inéquivalence des raies -CH. Le couplage vicinal -NH-CH de l'alanine ① est beaucoup plus sensible que celui de l'alanine ② à l'isomérisie cis-trans de la liaison uréthane. La formation d'un cycle à 7 atomes ¹ et ⁵ par liaison hydrogène intramoléculaire est favorisée par la forme trans de cette liaison. L'étude détaillée et quantitative de cette isomérisie et des phénomènes d'auto-association devrait nous permettre de donner une vue nouvelle sur les conformations des dipeptides protégés en solution organique concentrée.

Remerciements Nous remercions M. Ch. SADRON, Directeur, pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, ainsi que MM. G. SPACH et A. DEROMMELAERE pour l'aide qu'ils nous ont apportée.

Bibliographie

1. V. F. Bystrov, S. L. Portnova, V. I. Tsetlin, V. T. Ivanov et Yu. A. Ovchinnikov, *Tetrahedron* 25, 493 (1969)
2. W. C. Meyer et J. T. K. Woo, *J. Phys. Chem.* 73, 3485 (1969)
3. R. Garner et W. B. Watkins, *Chem. Comm.* 386 (1969)
4. B. J. Price, R. V. Smallman et I. O. Sutherland, *Chem. Comm.* 319 (1966)
5. C. M. Thang, D. Canet, P. Granger, M. Marraud et J. Néel, *C.R. Acad. Sci. Série C*, 269, 580 (1969).