

PORPHYRINES SYNTHÉTIQUES PORTEUSES DE CHÂÎNES LATÉRALES PEPTIDIQUES—III¹

COUPLAGE DE DIPEPTIDES SUR L'ACIDE ZINC(MÉSOTÉTRAPHÉNYLPORPHYRYNYL)-3 PROPÉNOIQUE *CIS* OU *TRANS*; PRÉPARATION DE DÉRIVÉS PENTACOORDINÉS

C. SELVE*, F. NIEDERCORN, M. NACRO, B. CASTRO
Laboratoire de Chimie Organique II, Associé au CNRS (ERA 558)

et

M. GABRIEL
Laboratoire de Spectroscopie et Structure Moléculaire, ISIN Université de Nancy I, Case Officielle 140, 54037
Nancy cedex France

(Received in France 11 July 1980)

Résumé—L'optimisation de la synthèse de zinc-mésotétraphénylporphyrinyl propène-3 amide *cis endo* comportant comme amide un dipeptide C protégé est présentée. Le choix du zinc se fonde sur la possibilité d'obtention de dérivés pentacoordinés. Nous décrivons la synthèse et quelques particularités spectrales d'un dérivé comprenant une liaison zinc-soufre, stabilisée par des facteurs conformationnels. L'atome de soufre appartient à un résidu cystéine.

Abstract—An optimized synthesis of *cis endo* 3-propenamide-zinc mesotetraphenylprophyrin bearing a C protected dipeptide is described. The choice of zinc is based on its ability to participate in pentacoordinated derivative formation. Some spectral properties of such a derivative bearing a conformational stabilised zinc-sulfur bond (the sulfur atom belongs to a cysteine residue) are described.

Les réactions d'hydroxylation catalysées par les monooxygénases à cytochrome P 450 jouent un rôle très important en biologie.² La molécule centrale de ces cytochromes est un noyau porphyrine métallé par un atome de fer; le fer porte un ligand soufre.³⁻⁵ L'atome de soufre est vraisemblablement celui d'une cystéine. Si des molécules, constituant des modèles simplifiés des hémoprotéines dans leurs réactions de transport d'oxygène, ont été proposées,^{6,7} des modèles permettant de réaliser la réaction d'hydroxylation selon le cycle des cytochromes P 450 n'ont pas encore été préparés. L'approche de tels modèles fait l'objet de nombreux travaux.^{3,4,8,9}

Synthèse des dérivés

Notre démarche vers la réalisation d'un tel modèle se fonde sur la préparation d'une porphyrine portant une chaîne peptidique. Nous décrivons ici la préparation et quelques propriétés structurales de molécules obtenues en liant la zinc-mésotétraphénylporphyrine (ZnTPP) à un dipeptide par l'intermédiaire d'un acide éthylénique *cis* ou *trans* porté par l'hétérocycle.¹ Les dérivés métallés par le zinc peuvent donner des complexes pentacoordinés;¹⁰ c'est l'accès à ces complexes qui est recherché. Nous avons préparé les molécules *cis* ou *trans* ZnTPP 3-propénamide avec des dipeptides A₁-A₂OR où A₂ est la cystéine. Les couplages sont réalisés à l'aide du réactif BOP.¹¹ Nous avons signalé la formation, à partir de l'acide *cis* de deux composés atropoisomères.¹ Les dérivés *cis-endo* sont les plus intéressants pour l'accès à des complexes pentacoordinés. Leur préparation avec une chaîne dipeptidique peut se faire suivant quatre variantes selon que le métal est introduit dès le départ ou en fin de synthèse, et que le peptide est attaché tout fait

ou construit sur la porphyrine (Schéma 1). La voie III a été retenue pour l'accès à la plupart des autres composés décrits dans ce mémoire.

Nous avons également préparé les dérivés *trans*. Ceci permet de fructueuses comparaisons en spectroscopie.

Mesures spectroscopiques

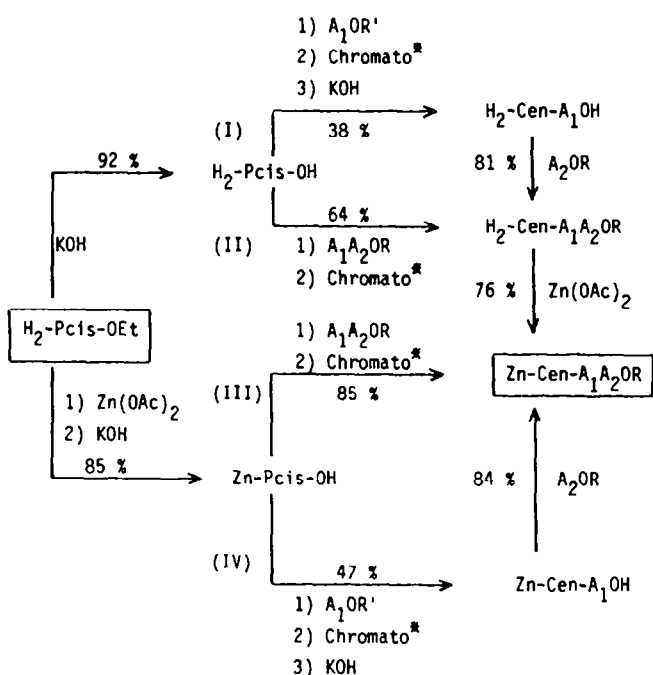
Les spectres de dichroïsme circulaire naturel pour les produits *cis endo* et *trans* ont été enregistrés. L'effet important se situe essentiellement au voisinage des bandes de Soret.¹ Cependant, dans la zone Q (selon la notation de Platt¹²), si aucun effet ne peut être détecté pour la plupart des produits, Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt donne un signal détectable. Quelques spectres de DC sont donnés (Schémas 2-4).

En RMN ¹H nous avons regroupé dans le Tableau 1, la différence des déplacements chimiques des protons des chaînes peptidiques entre les dérivés *cis* et *trans*.

Les spectres de RMN ¹H ont été également enregistrés à température variable (-60° à +60°, solution dans le chloroforme deutérié). Les déplacements chimiques du noyau porphyrine ne sont pas affectés, par contre des variations assez importantes sont observées pour les chaînes latérales.

Le Schéma 5 regroupe les graphiques représentant les variations $\Delta\delta = f(\theta)$ pour chaque groupe de protons. Ces variations présentent une linéarité remarquable. Nous indiquons les pentes α et les coefficients de corrélation r obtenus par la méthode des moindres carrés (calculs effectués sur calculatrice programmable).

Les spectres d'absorption électronique ont été enregistrés. A côté des dérivés *cis* et *trans* préparés, nous avons également enregistré les spectres d'absorption de



*Séparation des atropoisomères endo/exo

Rendements par rapport à l'ester de départ : voie I = 21 % ; voie II = 45 % ;
voie III = 72 % ; voie IV = 33 % avec $A_1OR' = H_2NCH_2COOMe$ et $A_2OR = H_2N-CH(COOEt)-CH_2-SPh_3$

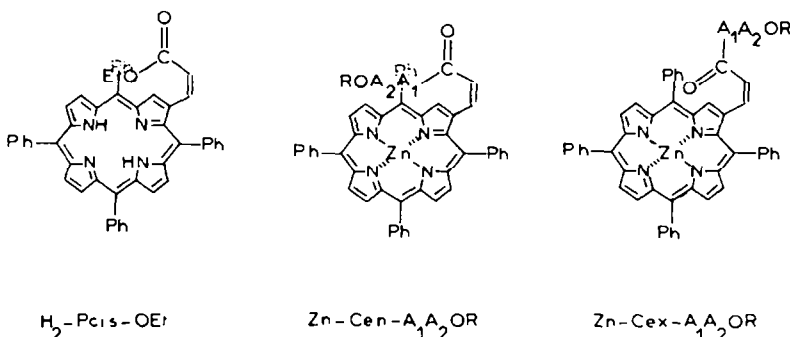


Schéma 1. Voies de synthèse.

ZnTPP, des esters Zn-Pcis-OEt et Zn-Ptrans-OEt dans le toluène en présence de quantités croissantes de propyléthylthioéther (Pr-S-Et) ou d'acétate d'éthyle (AcOEt). Les valeurs des maxima d'absorption sont réunies Tableau 2 et pour la zone Q quelques courbes d'absorption sont données Schémas 6-8.

Discussion des résultats

(a) La synthèse du composé endo, Zn-Cen-Gly-(STr)Cys-OEt a été effectuée par toutes les voies possibles. Il est clair que si le rendement seul est important, le meilleur procédé consiste à condenser le peptide sur l'acide métallé (voie III). Cependant la voie II sera intéressante, en particulier pour les problèmes techniques de manipulation à l'air (avec des porphyrines à Fe ou Co

par exemple); de plus cette voie permet avec une même molécule base libre de procéder à des métallations avec des métaux différents ce qui élargit le champ possible des investigations. Il est à remarquer que les réactions de saponification sont les causes essentielles de la chute des rendements. La prédominance de l'isomère endo sur l'exo, déjà soulignée dans le mémoire précédent, a été régulièrement confirmée.

(b) Longueur de la chaîne et choix du zinc. L'examen des modèles de Dreiding indique que la longueur de chaîne nécessaire pour que l'interaction soufre-métal soit possible, est au moins de deux amino-acides.

Nos investigations se sont donc essentiellement portées sur la préparation et l'étude d'un dérivé où la chaîne est

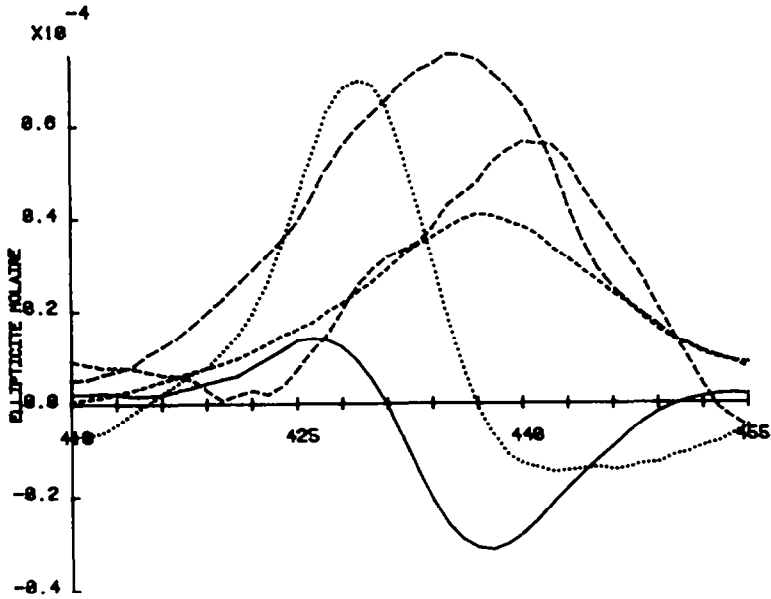


Schéma 2. DC Naturel dans la bande de Soret. Zn-Cen-Ala-(S_{Tr})-Cys-OEt (—), Zn-Cex-Ala-(S_{Tr})-Cys-OEt (-----), Zn-T-Ala-(S_{Tr})-Cys-OEt (— · —), Zn-Cen-Gly-(S_{Tr})-Cys-OEt (....), Zn-T-Gly-(S_{Tr})-Cys-OEt (— —).

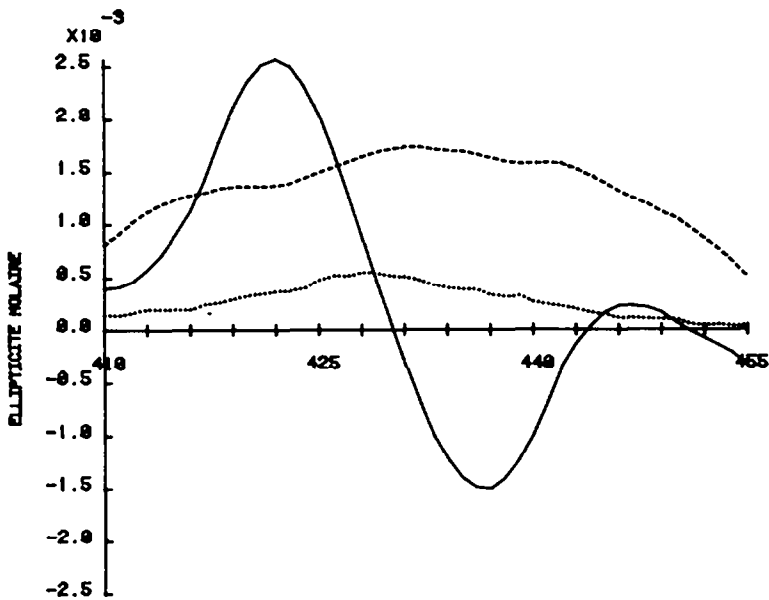


Schéma 3. DC Naturel dans la bande de Soret. Zn-Cen-Gly-(S_{Me})-Cys-OEt (—), Zn-Cen-Gly-NVal-OEt (....), Zn-T-Gly-(S_{Me})-Cys-OEt (— · —).

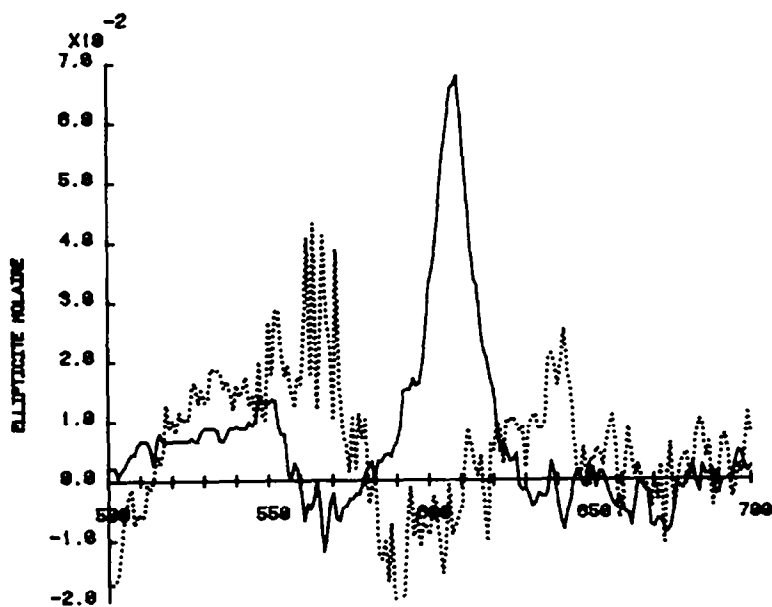


Schéma 4. DC Naturel dans la bande visible. Zn-Cen-Gly-(SMe)-Cys-OEt (—), Zn-Cen-Gly-(STr)-Cys-OEt (...).

Tableau I.

Produits	^a $\Delta\delta = \delta_{trans} - \delta_{cis}$
$\text{Zn-P-O-CH}_2\text{-CH}_3$ <p style="text-align: center;">a b</p>	a : 0,39 ; b : 0,01
$\text{Zn-P-NHCH}_2\text{-CONHCH} \begin{array}{l} \text{e} \quad \text{f} \\ \text{CO}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2\text{-S-C}_3 \\ \\ \text{c} \quad \text{d} \end{array}$	a : 0,03 ; b : 0,24 ; c : 1,21 d (4,32 ; e : 0,8 ; f : 0,45 0,12
$\text{Zn-Cen-NHCH} \begin{array}{l} \text{b} \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{a} \end{array} \text{-CONH-CH} \begin{array}{l} \text{c} \quad \text{f} \quad \text{g} \\ \text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2\text{-S-C}_3 \\ \\ \text{d} \quad \text{e} \end{array}$	a : 0,43 ; b : 0,35 ; c : 0,73 d : 1,35 ; e (5 ; f : 0,68 ; g : 0,55 0,2
$\text{Zn-Cox-NHCH} \begin{array}{l} \text{b} \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{a} \end{array} \text{-CONHCH-CO}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3$ <p style="text-align: center;">f g</p> <p style="text-align: center;"> </p> <p style="text-align: center;">CH₂-S-C₃</p> <p style="text-align: center;"> </p> <p style="text-align: center;">d e</p>	b : -0,5 ; d : 0,45 ; e : 0 f : 0,25 ; g : 0,42
$\text{Zn-Cen-NHCH}_2\text{-CONHCH} \begin{array}{l} \text{b} \quad \text{e} \quad \text{f} \\ \text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2\text{S-CH}_3 \\ \\ \text{c} \quad \text{d} \end{array}$	a : 0,01 ; b : 0,01 ; c : 2,3 d : 2,2 ; e : 0,01 ; f : 0,51
$\text{Zn-Cen-NHCH}_2\text{-CONHCH} \begin{array}{l} \text{b} \quad \text{e} \quad \text{f} \\ \text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3 \\ \quad \quad \\ \text{c} \quad \text{c} \quad \text{c} \end{array}$	a : 0,99 ; b : 0,1 ; c : 0,13 e : 0,99 ; f : 0,53

^a $\Delta\delta$ en ppm

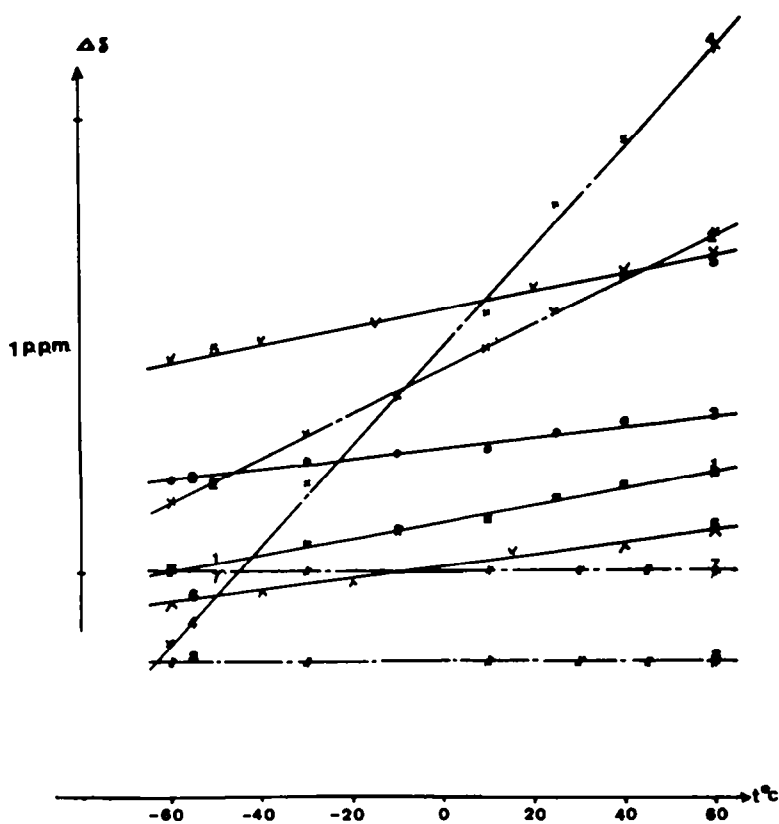


Schéma 5. Courbes $\Delta\delta = f(t^\circ)$. α = pente des différentes droites et r coefficient de corrélation (méthode des moindres carrés). Zn-Cen-Gly-(STr)-Cys-OEt, No. 1: $\text{CH}_3(\alpha \cdot 10^3 = 1.8, r = 0.991)$; No. 2: $\text{CH}_2(\text{Et})(\alpha \cdot 10^{-3} = 5, r = 0.996)$; No. 3: $\text{CH}_2\text{-S}(\alpha \cdot 10^3 = 1.2, r = 0.95)$; No. 4: $\text{Tr}(\alpha \cdot 10^3 = 11, r = 0.991)$. Zn-T-Gly-(STr)-Cys-OEt, No. 5: $\text{CH}_3(\alpha \cdot 10^3 = 2, r = 0.999)$; $\text{CH}_2(\text{Et})(\alpha \cdot 10^3 = 2.7, r = 0.99)$; $\text{Tr}(\alpha \cdot 10^3 = 0.7, r = 0.99)$. Zn-Cen-Gly-NVal-OEt, No. 6: $\text{CH}_3(\text{Et})(\alpha \cdot 10^3 = 1.3, r = 0.998)$; $\text{CH}_2(\text{Et})(\alpha \cdot 10^3 = 3, r = 0.998)$. Zn-Cen-Gly-(SMe)-Cys-OEt, No. 7: $\text{CH}_2\text{-S}(\alpha = 10^{-6})$; No. 8: $\text{CH}_2\text{-S}(\alpha = 10^{-6})$.

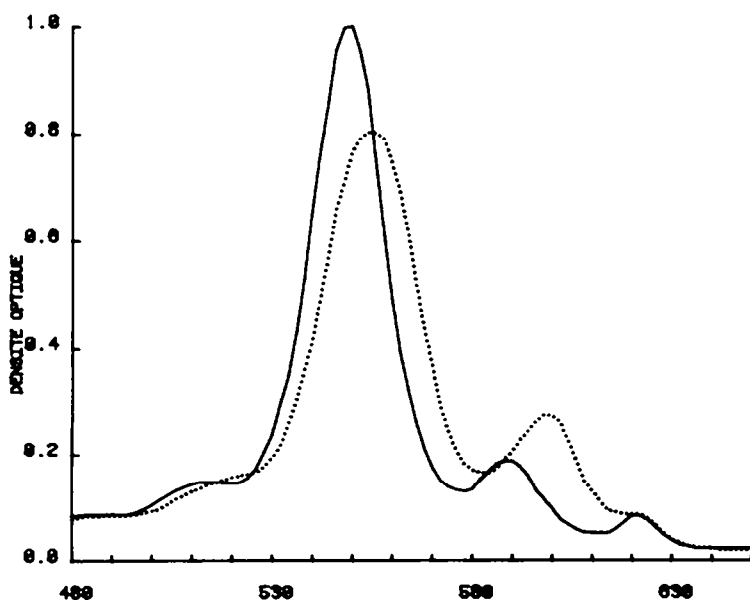
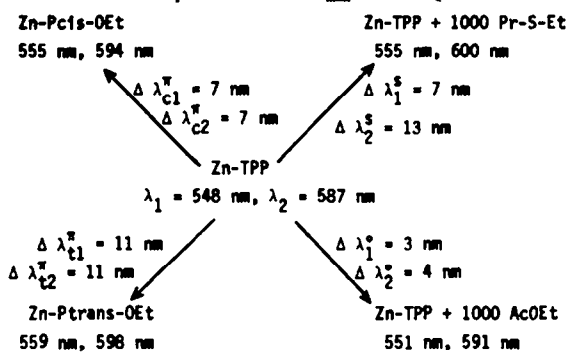


Schéma 6. Spectre visible. Effet bathochrome dû au ligand soufré Zn-TPP (—), Pr-S-Et + Zn-TPP (1000/1) (...).

Tableau 2. Spectres visibles. λ_{max} en zone Q¹²

Spectres calculés	$\lambda + \Delta \lambda_c^{\pi}$ (a)	$\lambda + \Delta \lambda_c^{\pi} + \Delta \lambda^s$ (a)	$\lambda + \Delta \lambda_c^{\pi} + \Delta \lambda^{\circ}$ (a)
Dérivés cis (b)	555, 594	562, 607	558, 598
Zn-Pcis-CO ₂ Et	555, 594	-	-
Zn-Pcis-CO ₂ Et + 1000 Pr-S-Et	-	559, 602	-
Zn-Pcis-CO ₂ Et + 1000 AcOEt	-	-	556, 596
Zn-Cen-Ala-(STr)-Cys-OEt	556, 597	-	-
Zn-Cex-Ala-(STr)-Cys-OEt	554, 596	-	-
Zn-Cen-Gly-(STr)-Cys-OEt	556, 597	-	-
Zn-Cen-Gly-(SMe)-Cys-OEt	-	562, 603	-
Zn-Cen-Gly-NVal-OEt	-	-	557, 596
Spectres calculés	$\lambda + \Delta \lambda_t^{\pi}$ (a)	$\lambda + \Delta \lambda_t^{\pi} + \Delta \lambda^s$ (a)	$\lambda + \Delta \lambda_t^{\pi} + \Delta \lambda^{\circ}$ (a)
Dérivés trans (b)	559, 598	566, 611	562, 602
Zn-Ptrans-CO ₂ Et	559, 598	-	-
Zn-Ptrans-CO ₂ Et + 1000 Pr-S-Et	-	566, 609	-
Zn-Ptrans-CO ₂ Et + 1000 AcOEt	-	-	560, 599
Zn-T-Ala-(STr)-Cys-OEt	558, 597	-	-
Zn-T-Gly-(STr)-Cys-OEt	559, 597	-	-
Zn-T-Gly-(SMe)-Cys-OEt	560, 598	-	-
Zn-T-Gly-NVal-OEt	559, 597	-	-

(a) λ correspondant aux valeurs observées pour les maxima considérés pour Zn-TPP (548 nm et 587 nm)

(b) L'erreur sur λ_1 est estimée à $\pm 0,5 \text{ nm}$; sur λ_2 $\pm 3 \text{ nm}$

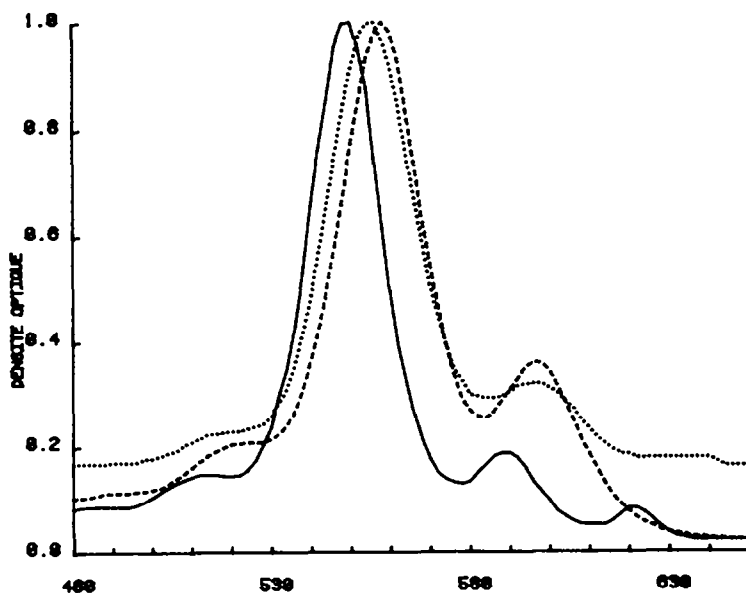


Schéma 7. Spectre visible. Effet bathochrome dû aux électrons π de la chaîne latérale. Zn-TPP (—), Zn-Pcis-OEt (...), Zn-Ptrans-OEt (—).

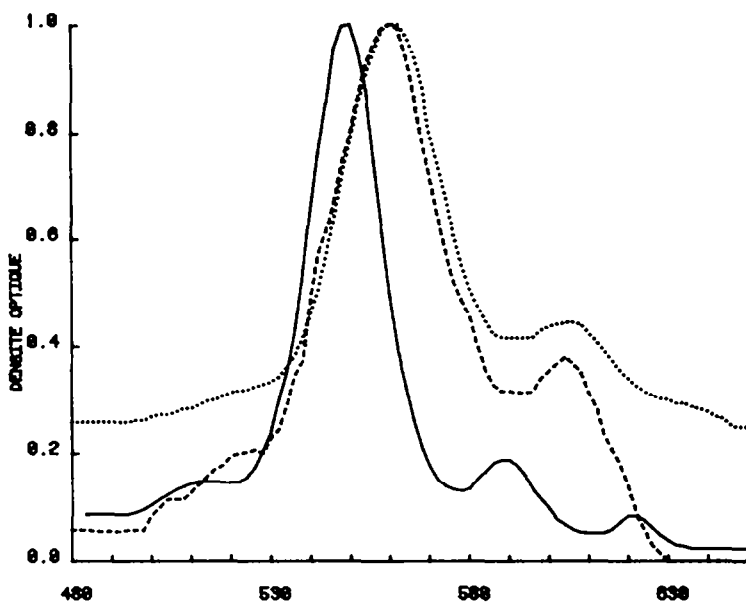


Schéma 8. Spectre visible. Effet bathochrome dû au ligand soufré et aux électrons π de la chaîne latérale. Zn-TTP (—), Pr-S-Et + Zn-Pcis-OEt (1000/1) (...), Zn-Cen-Gly-(SMe)-Cys-OEt (---).

un dipeptide du type Gly-Cys. Plusieurs facteurs ont amené le choix du zinc comme métal:

—Etude en RMN facilitée

—Existence de composés pentacoordinés seuls (pas de dérivés hexacoordinés dans les conditions standard)¹⁰

—Métallation, démétallation et transmétallation dans des conditions compatibles avec la présence de la chaîne peptidique⁸

—Pas de transfert de charge dans la région visible¹³

—De plus, les produits devraient être manipulables à l'air. En fait, si la plupart des produits sont stables, dès que la liaison zinc-soufre est possible [cas du produit Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt], l'oxydation intervient et en quelques heures le produit se dégrade. Cette oxydation est nettement plus lente avec le dérivé Zn-Cen-Gly-(S^{Tr})Cys-OEt, elle intervient en quelques semaines. Les produits du type Zn-Cen-Gly-NVal-OEt et les dérivés trans sont nettement plus stables.

(c) *Discussions des résultats spectroscopiques.* En dichroïsme circulaire naturel, il est particulièrement remarquable que seuls les produits *cis-endo* portant une cystéine donnent une courbe en "S" dans la zone de Soret. Les produits *trans* et les produits *cis* exo correspondants donnent une courbe à un seul maximum (Schémas 2, 3). Il en est de même pour le produit endo où la cystéine est remplacée par une Norvaline. Il est vraisemblable que l'interaction entre le soufre et le zinc (importante dans les produits *cis-endo*) contribue à l'obtention d'une courbe en "S".

Les effets enregistrés en zone Q sont détectables pour Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt. Le dérivé tritylé correspondant donne un signal très faible (Schéma 4); le dérivé où la cystéine est remplacée par la Norvaline ne donne aucun signal détectable dans cette zone. Nous attribuons ces faits à une interaction zinc-soufre qui serait peu importante dans le dérivé S-tritylé mais très importante dans le dérivé S-méthylé. Cette interaction faible pour le dérivé S-tritylé est due certainement à l'effet stérique du groupe tritylé. Cet effet d'encombre-

ment ne joue plus dans le dérivé où le soufre porte un méthyle: l'interaction Zn-S est alors importante.

En RMN ¹H à température ambiante le produit Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt présente un signal pour le méthyle subissant un blindage de 2,5 ppm; par contre, le déplacement chimique du méthyle de la chaîne latérale de la Norvaline (chaîne isostère de celle de cystéine, mais sans hétéroatome) est pratiquement à la grandeur correspondante, mesurée dans le peptide libre, dans Zn-Trans-Gly-NVal-OEt et dans Zn-Cen-Gly-NVal-OEt. Le blindage observé pour les protons de H₃C-S du produit Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt doit s'interpréter par l'effet du courant de cycle.¹⁴ Nous pensons qu'une liaison zinc-soufre est à l'origine de ce blindage relativement important. La longueur de cette liaison zinc-soufre et également la position du zinc (excentré ou non¹⁷) seront déterminées par spectroscopie E.X.A.F.S.¹⁸

Pour les produits Zn-Cen-Gly-(S^{Tr})Cys-OEt et Zn-Cen-Ala-(S^{Tr})Cys-OEt, le groupe protecteur de soufre est stériquement gênant et doit empêcher la possibilité d'une liaison Zn-S. L'examen d'un modèle Dreiding indique que si un ligandage se fait, alors les interactions stériques entre les phényles du groupe tritylé et l'hétérocycle sont extrêmement importantes. Il est vraisemblable que le ligandage ne se fait que faiblement dans ces produits mais la configuration endo amène le groupe tritylé à proximité de l'hétérocycle et en RMN ce groupe voit une partie de ses protons blindés d'une manière importante.

Dans le cas de Zn-Cen-Gly-NorVal-OEt, c'est le groupe Et qui est blindé d'une manière sensible par rapport au même groupe dans le produit trans mais aussi par rapport aux mêmes types de protons du produit Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt.

Nous avons indiqué que les déplacements chimiques de la chaîne latérale de la norvaline sont pratiquement inchangés en passant du produit *trans* au produit *cis*. Le fait que le groupe éthyle soit blindé indique qu'il est à faible distance de l'hétérocycle. Il est possible que nous ayons un

ligandage partiel entre un oxygène du groupe ester et le zinc.

L'utilisation d'un dipeptide pour amener l'atome de soufre en position de ligand apparaît comme une solution intéressante si l'on examine les effets de la température en RMN ^1H . Les valeurs des pentes α des différentes droites $\Delta\delta = f(t^\circ)$ font apparaître trois groupes de protons (Schéma 5).

1. L'effet du courant de cycle est faible (blindage faible) et les variations de température affectent peu le déplacement chimique de ces protons ($\alpha 10^{-3}$).

2. L'effet du courant de cycle est fort (blindages moyens ou importants) et les variations de température affectent fortement le déplacement chimique de ces protons ($\alpha 10^{-2}$).

3. L'effet du courant de cycle est fort (blindages importants) et les variations de température n'affectent pas sensiblement le déplacement chimique ($\alpha 10^{-6}$).

Les protons des groupes 2 et 3 semblables du point de vue du blindage provoqué par le courant de cycle (effet important), ont un comportement opposé au cours des variations de température. Ceci vient corroborer l'existence d'une liaison zinc-soufre dans le composé Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt. De plus cette liaison apparaît comme relativement forte puisque apparemment identique à -60° et $+60^\circ$.

La spectroscopie visible vient également renforcer l'hypothèse de l'existence de cette liaison Zn-S dans le composé Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt. Nous nous sommes attachés à chiffrer les diverses composantes de l'effet bathochrome observé par rapport à Zn-TPP (Tableau 2).

Effet bathochrome attendu quand le zinc est pentacoordiné¹⁶. Nous avons mimé cet effet bathochrome par un ligand thioéther sur Zn-TPP. Si les maxima de Soret sont peu affectés, les maxima à 548 nm et 587 nm¹⁰ le sont de façon plus importante. L'addition de thioéther (1000/1) à la solution de Zn-TPP (dans le toluène) provoque un déplacement de l'absorption à 555 nm, 600 nm respectivement.

Effet dû à la perturbation des électrons π du cycle, par la double liaison latérale. Si la conjugaison entre les électrons π du cycle et les électrons π de la chaîne latérale est possible (même partiellement), l'absorption en visible sera déplacée. Les esters ont leurs maxima d'absorption en zone Q respectivement à 555 nm, 594 nm pour le dérivé Zn-P_{cis}-OEt et 559 nm, 598 nm pour le dérivé Zn-P_{trans}-OEt.

Effet du ligand et de la conjugaison. Si on additionne des quantités croissantes de thioéther aux solutions dans le toluène des esters *cis* ou *trans*, il apparaît respectivement (pour le rapport thioéther/prophyrine, 1000/1), une absorption à 559 nm, 602 nm pour le dérivé *cis* et 566 nm, 609 nm pour le dérivé *trans*.

Cas des dérivés Zn-P-Gly-Cys-OEt. Par addition des contributions aux déplacements d'absorption dus, soit aux effets du ligand souffré, soit aux effets des électrons π de la chaîne, nous pouvons calculer les λ maxima d'absorption possible pour chacun de nos dérivés (Tableau 2). La comparaison avec les spectres expérimentaux fait apparaître un accord satisfaisant entre le spectre expérimental et le spectre calculé en tenant compte des deux perturbations (électrons π et ligand) pour le dérivé Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt.

Pour les autres composés l'accord est convenable

entre le spectre expérimental et le spectre calculé en tenant compte de l'effet des électrons π uniquement, cependant le dérivé Zn-Cen-Gly-NorVal-OEt présente des maxima un peu élevés si seul l'effet des électrons joue. Nous avons enregistré les spectres de Zn-TPP, des esters Zn-P_{cis}-OEt et Zn-P_{trans}-OEt en présence de quantité croissante d'acétate d'éthyle (une liaison zinc-carboxyle est possible). Nous observons effectivement un effet bathochrome en zone Q ($\lambda_1 = 551$ nm, $\lambda_2 = 591$ nm), cet effet est également observé avec les esters *cis* et *trans*. Le spectre expérimental de Zn-Cen-Gly-NorVal-OEt est alors en accord avec le calcul si nous supposons une liaison zinc-carboxyle.

En conclusion, l'examen des différentes spectroscopies amène à penser que le dérivé Zn-Cen-Gly-(SMe)Cys-OEt possède un atome de zinc lié à l'atome de soufre latéral de la cystéine. Notre chaîne latérale avec la double liaison, le choix de l'atropoisomère *endo*, la liaison peptidique, introduisent un blocage conformationnel qui contribue puissamment à maintenir une liaison dont l'enthalpie est plutôt faible.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les solvants utilisés sont acquis à la meilleure qualité commerciale. Les chromatographies sur couche mince sont faites sur plaque de silice Merck 60; les chromatographies préparatives sont effectuées sur colonne de silice 70-230 mesh. Les spectres de RMN ^1H sont enregistrés sur Perkin-Elmer R 12 B ou sur Cameca 250 MHz au Centre Régional de Mesures Physiques de Nancy; le tétraméthylsilane est utilisé comme référence interne; les déplacements chimiques sont indiqués en δ (ppm). Les spectres visibles sont enregistrés sur Duospac 203 Jobin-Yvon, les produits sont en solution dans le toluène; les valeurs de ϵ (entre parenthèses) sont le résultat de 4 à 6 mesures réalisées avec des solutions préparées indépendamment et conduisant à des résultats identiques. Nous ne donnons pas de valeurs de ϵ quand les mesures donnent des résultats disparates. Les spectres de dichroïsme circulaire naturel sont enregistrés sur Dichrographe III Jobin-Yvon relié à un ordinateur Tektronix 4051 [32 K] du Centre Régional de Dichroïsme Circulaire. Certaines analyses centésimales ont été effectuées. Les résultats obtenus ne correspondent pas exactement aux valeurs calculées.¹

Préparation des peptides. Les peptides et porphyrines utilisés et non décrits dans cette partie expérimentale le sont dans le mémoire précédent.¹

Tosylate de L-norvalinate d'éthyle (TsO-L-NVal-OEt). La norvaline (586 mg, 5 mmoles) est dissoute dans 200 ml de benzène. On y ajoute de l'éthanol (20 mmoles, 800 mg) et de l'acide paratoluène sulfonique (TsOH) (5,5 mmoles, 1,045 g). Le mélange est porté à reflux azéotropique pendant 10h. Après refroidissement on évapore sous pression réduite, lave trois fois à l'éther, puis on sèche au dessiccateur. Produit obtenu: 1,48 g, 94%. RMN (CDCl_3): $\delta = 0.81$, m, $\text{CH}_3(\text{NVal})$; $\delta = 1.17$, t, J = 7.3 Hz, $\text{CH}_3(\text{Et})$; $\delta = 1.71$, m, $(\text{CH}_2)_2$; $\delta = 2.33$, s, $\text{CH}_3(\text{Ts})$; $\delta = 4.22$, q, J = 7.3 Hz, $\text{CH}_2(\text{Et})$; $\delta = 4.22$, m, CH; $\delta = 7.5$, m, Ph (Ts); $\delta = 8.21$, m, NH_2 .

Terbutyloxycarbonyl-glycyl-L-norvalinate d'éthyle (Boc-Gly-L-NVal-OEt). A une solution de Boc-Gly (875 mg, 5 mmoles), de TsO-NVal-OEt (1,585 g, 5 mmoles), de triéthylamine (1,01 g) dans 20 ml de chlorure de méthylène, le BOP (5 mmoles, 2,21 g) est ajouté dans 10 ml de chlorure de méthylène. Après agitation à température ambiante pendant 3 h, le dipeptide est extrait par 300 ml d'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée trois fois par 100 ml d'acide chlorhydrique 2N, trois fois par 100 ml d'une solution saturée en NaHCO_3 , une fois par une solution de NaCl saturée. Après séchage sur sulfate de magnésium, l'acétate d'éthyle est évaporée sous pression réduite. Le produit obtenu ne présente qu'un seul spot en ccm (acétate d'éthyle) $R_f = 0.8$. Obtenu: 1,434 g,

95%. RMN (CDCl₃): $\delta = 0.91$, m, CH₃(NVal); $\delta = 1.27$, t, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 1.45$, s, tBu; $\delta = 1.72$, m, (CH₂)₂; $\delta = 3.82$, d, J = 6 Hz, CH₂(Gly); $\delta = 4.2$, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 4.6$, m, 2CH; $\delta = 5.7$, m, NH(Gly); $\delta = 7.08$, m, NH(NVal). Calc. pour C₁₄H₂₆N₂O₅: C, 55.25; H, 9.22; N, 9.21. Tr.: C, 55.49; H, 8.81; N, 9.13.

Description des porphyrines

Trans-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénoate d'éthyle (Zn-Ptrans-OEt). Le trans mésotétraphénylporphyrine-3 propénoate d'éthyle (100 mg, 0.14 mole) est dissous dans 50 ml de chlorure de méthylène. Une solution saturée d'acétate de zinc dans un mélange méthanol/chlorure de méthylène 10/10, est ajoutée et le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 1 h. La porphyrine est extraite par 200 ml de chlorure de méthylène. La phase organique est lavée une fois par une solution saturée en NaHCO₃ et trois fois par l'eau. Après séchage sur sulfate de magnésium, le chlorure de méthylène est évaporé sous pression réduite.

Le produit obtenu (103 mg, 95%) ne présente qu'un seul spot en ccm (acétate d'éthyle/toluène, 1/9) $R_f = 0.57$. RMN (CDCl₃): $\delta = 1.21$, t, J = 6.7 Hz, CH₃; $\delta = 3.91$, q, J = 6.7 Hz, CH₂; $\delta = 6.21$, d, J = 16 Hz, H_β; $\delta = 7.3$, d, J = 16 Hz, H_α. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 435$ nm (188000); 559 nm (12000); 598 nm (5000).

Le zinc a été introduit dans toutes les porphyrines selon ce mode opératoire.

Cis-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénoate d'éthyle (Zn-Pcis-OEt). Le cis mésotétraphénylporphyrine-3 propénoate d'éthyle (100 mg, 0.14 mmole) est traité comme ci-dessus.

Le produit obtenu (98 mg, 90%) ne présente qu'un seul spot en ccm (acétate d'éthyle/toluène, 1/9) $R_f = 0.63$. RMN (CDCl₃): $\delta = 0.82$, t, J = 6.7 Hz, CH₃; $\delta = 3.9$, q, J = 6.7 Hz, CH₂; $\delta = 5.54$, d, J = 12 Hz, H_β; $\delta = 6.92$, d, J = 12 Hz, H_α. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 428$ nm (157500); 555 nm (10800); 594 nm (2900).

Acide cis-zinc mésotétraphénylporphyrinyl-3 propénoïque (Zn-Pcis-OH). Le cis-zinc mésotétraphénylporphyrine-3 propénoate d'éthyle (100 mg, 0.13 mmole) est mis en solution dans 50 ml de tétrahydrofurane, une solution de 1 g de potasse dans 10 ml d'éthanol est additionnée. Après reflux pendant 4 h, 10 ml d'acide acétique pur sont ajoutés au mélange. Agiter 15 min. L'acide est obtenu par extraction au toluène. La phase organique est lavée trois fois à l'eau. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation sous pression réduite, on isole 90 mg d'acide (94%) ne présentant qu'un seul spot en ccm (acétate d'éthyle/toluène 3/7) $R_f = 0.30$.

Acide trans-zinc mésotétraphénylporphyrinyl-3 propénoïque (Zn-Ptrans-OH). Le trans-zinc mésotétraphénylporphyrine-3 propénoate d'éthyle (100 mg, 0.13 mmole) est traité comme ci-dessus. Le produit obtenu (88 mg, 91%) ne présente qu'un seul spot en ccm (acétate d'éthyle/toluène, 3/7) $R_f = 0.23$.

Réaction type de couplage avec un ester d'acide ou un dipeptide estérifié

Cis-endo-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycinate de méthyle (Zn-Cen-Gly-OMe). L'acide cis zinc-mésotétraphénylporphyrine-3 propénoïque (100 mg, 0.13 mmole) est dissous dans 10 ml de chlorure de méthylène, on y ajoute successivement le chlorhydrate du glycinate de méthyle (1.3 mmole, 164 mg) dans 10 ml de chlorure de méthylène, la triéthylamine (144 mg) et le BOP (200 mg) dans 10 ml de chlorure de méthylène. Après 3 h d'agitation à température ambiante et réduction du mélange sous pression réduite, le résidu est chromatographié sur colonne de silice (éluant: acétate d'éthyle/benzène, 3/7).

Le produit isolé Zn-Cen-Gly-OMe (93%) présente un spot en ccm (acétate d'éthyle/toluène, 3/7) $R_f = 0.4$. RMN (CDCl₃): $\delta = 2.94$, s, CH₃; $\delta = 3.11$, m, CH₂; $\delta = 4.8$, d, J = 12 Hz, H_β; $\delta = 5.93$, m, NH; $\delta = 6.74$, d, J = 12 Hz, H_α.

Cis-endo-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycyl-S-trityl-L-cystéinate d'éthyle (H₂-Cen-Gly-(STr)-L-Cys-OEt). Rendements: couplage H₂-Pcis-OH + Gly-(STr)-Cys-OEt:

64% (voie II) couplage H₂-Cen-Gly-OH + (STr)-Cys-OEt: 81% (voie I). CCM (acétate d'éthyle/toluène, 3/7) $R_f = 0.27$. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 424$ nm (168000); 519 nm (10300); 553 nm (4000); 597 nm (3200); 652 nm (2000). RMN (CDCl₃): $\delta = 1$, t, J = 7.3 Hz, CH₃(Et); $\delta = 2.4$, d, J = 5.3 Hz, CH₂-S; $\delta = 3.73$, d, J = 5.3 Hz, CH₂(Gly); $\delta = 3.92$, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 4.15$, m, CH; $\delta = 5.64$, d, J = 12 Hz, H_β; $\delta = 6.73$, d, J = 12 Hz, H_α; $\delta = 7.2$, m, trityle.

Cis-endo-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycyl-S-trityl-L-cystéinate d'éthyle (Zn-Cen-Gly-(STr)-L-Cys-OEt). Rendements: couplage Zn-Pcis-OH + Gly-(STr)-Cys-OEt: 85% (voie III) couplage Zn-Cen-Gly-OH + (STr)-Cys-OEt: 84% (voie IV) introduction du zinc dans H₂-Cen-Gly-(STr)-Cys-OEt: 76%. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 1/4) $R_f = 0.2$. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 428$ nm (160000); 556 nm (9300); 597 nm (3200). RMN (CDCl₃): $\delta = 0.68$, t, J = 6.7 Hz, CH₃(Et); $\delta = 0.88$, m, CH₂(Cys); $\delta = 3.23$, m, CH₂(Et); $\delta = 3.23$, m, CH₂(Gly); $\delta = 4.05$, m, CH; $\delta = 5.31$, d, J = 12 Hz, H_β; $\delta = 5.97$, m, 2 NH; $\delta = 2.9$, m, trityle; $\delta = 7.17$, m, trityle.

Trans-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycyl-S-trityl-L-cystéinate d'éthyle (Zn-T-Gly-(STr)-L-Cys-OEt). Rendements: couplage Zn-Ptrans-OH + Gly-(STr)-Cys-OEt: 80% introduction du zinc dans H₂-T-Gly-(STr)-Cys-OEt: 78%. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 1/4) $R_f = 0.18$. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 434$ nm; 559 nm; 597 nm. RMN (CDCl₃): $\delta = 1.13$, t, J = 6.7 Hz, CH₃(Et); $\delta = 2.09$, m, CH₂(Cys); $\delta = 3.2$, m, CH₂(Gly); $\delta = 4.03$, q, J = 6.7 Hz, CH₂(Et); $\delta = 4.29$, m, CH; $\delta = 5.63$, d, J = 16 Hz, H_β; $\delta = 5.65$, m, NH(Gly); $\delta = 6.66$, m, NH(Cys); $\delta = 7.22$, m, trityle.

Cis-endo-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycyl-S-méthyl-L-cystéinate d'éthyle (Zn-Cen-Gly-(SMe)-L-Cys-OEt). Rendement introduction du zinc dans H₂-Cen-Gly-(SMe)-Cys-OEt: 50%. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 6/4) $R_f = 0.1$. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 430$ nm; 562 nm; 603 nm. RMN (CDCl₃): $\delta = -0.2$ s, CH₃(Cys); $\delta = 0.3$, m, CH₂(Cys); $\delta = 0.73$, m, CH₂(Et); $\delta = 3.30$, d, J = 6 Hz, CH₂(Gly); $\delta = 4.1$, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 4.1$, m, CH; $\delta = 5.32$, d, J = 12 Hz, H_β; $\delta = 6.7$, d, J = 12 Hz, H_α.

Trans-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycyl-S-méthyl-L-cystéinate d'éthyle (Zn-T-Gly-(SMe)-L-Cys-OEt). Rendement: introduction du zinc dans H₂-T-Gly-(SMe)-Cys-OEt: 70%. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 7/3) $R_f = 0.1$. Visible (toluène) $\lambda_{max} = 435$ nm; 560 nm; 598 nm. RMN (CDCl₃): $\delta = 1.24$, t, J = 7.3 Hz, CH₃(Et); $\delta = 2$, s, S-CH₃; $\delta = 2.6$, m, CH₂(Cys); $\delta = 3.31$, m, CH₂(Gly); $\delta = 4.11$, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 4.11$, m, CH; $\delta = 5.8$, d, J = 16 Hz, H_β.

Cis-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-L-alanyl-S-trityl-L-cystéinate d'éthyle (Zn-Pcis-L-Ala-(STr)-L-Cys-OEt). Rendement: couplage Zn-Pcis-OH + Ala-(STr)-Cys-OEt endo + exo: 85%.

Isomère endo. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 1/4) $R_f = 0.29$. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 428$ nm; 556 nm; 597 nm. RMN (CDCl₃): $\delta = 0.15$, d, J = 7 Hz, CH₃(Ala); $\delta = 0.65$, t, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 0.95$, d, J = 6 Hz, CH₂(Cys); $\delta = 2.87$, m, CH; $\delta = 3.97$, m, CH; $\delta = 3.4$, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 4.75$, d, J = 12 Hz, H_β; $\delta = 6.7$, d, J = 12 Hz, H_α; $\delta = 2.18$, m, 5 H, trityle; $\delta = 7.18$, m, 10 H, trityle.

Isomère exo. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 1/4) $R_f = 0.88$. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 428$ nm; 553 nm; 596 nm. RMN (CDCl₃): $\delta = 0.78$, t, J = 7.3 Hz, CH₃(Et); $\delta = 1$, d, J = 7 Hz, CH₃(Ala); $\delta = 1.85$, m, CH₂(Cys); $\delta = 3.84$, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); $\delta = 3.9$, m, 2CH; $\delta = 5.38$, d, J = 12 Hz, H_β; $\delta = 6.83$, d, J = 12 Hz, H_α; $\delta = 7.2$, m, trityle.

Trans-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-L-alanyl-S-trityl-L-cystéinate d'éthyle (Zn-T-L-Ala-(STr)-L-Cys-OEt). Rendement: Couplage Zn-Ptrans-OH + Ala-(STr)-Cys-OEt: 80%. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 1/4) $R_f = 0.36$. Visible (toluène): $\lambda_{max} = 434$ nm (192000); 558 nm (5400);

597 nm (6800); RMN (CDCl₃): δ = 0.5, d, J = 7 Hz, CH₃(Ala); δ = 1.2, t, J = 7.3 Hz, CH₃(Et); δ = 2.3, m, CH₂(Cys); δ = 3.3, m, CH; δ = 4.08, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); δ = 4.7, m, CH; δ = 5.77, d, J = 16 Hz, H_β; δ = 6.51, d, J = 16 Hz, H_α; δ = 7.2, m, trityle.

Cis-endo-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycyl-L-norvalinate d'éthyle (Zn-Cen-Gly-L-NVal-OEt). Rendement: couplage Zn-Pcis-OH + Gly-NVal-OEt: 88%. CCM (acétate d'éthyle/toluène, 5/5) R_f = 0.3. Visible (toluène): λ_{\max} = 428 nm (355000); 556 nm (18000); 596 nm (5500); RMN (CDCl₃): δ = 0.62, t, J = 7.3 Hz, CH₃(Et); δ = 0.95, m, (CH₂)₂CH₃; δ = 2.91, m, CH₂(Gly); δ = 3.03, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); δ = 4, m, CH; δ = 5.1, d, J = 12 Hz, H_β; δ = 5.75, m, 2 NH; δ = 6.9, d, J = 12 Hz, H_α.

Trans-zinc-mésotétraphénylporphyrine-3-propénamido-glycyl-L-norvalinate d'éthyle (Zn-T-Gly-L-NVal-OEt). Rendement: couplage Zn-Ptrans-OH + Gly-NVal-OEt: 85%. CCM (acétate d'éthyle/toluène 5/5) R_f = 0.28. Visible (toluène): λ_{\max} = 436 nm; 559 nm; 597 nm. RMN (CDCl₃): δ = 1.08, m, (CH₂)₂CH₃; δ = 1.15, t, J = 7.3 Hz, CH₃(Et); δ = 3.9, m, CH₂(Gly); δ = 4.02, q, J = 7.3 Hz, CH₂(Et); δ = 4.1, m, CH.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹C. Selve, F. Niedercorn, M. Gabriel, M. Nacro et B. Castro, Partie II, Mémoire précédent.
- ²V. Ullrich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **11**, 701 (1972).
- ³S. C. Tang, S. Koch, G. C. Papefthymiou, S. Foner, R. B. Frankel, J. A. Ibers et R. H. Holm, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 2414 (1976).
- ⁴J. P. Collman et T. N. Sorrel, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 913 (1975).
- ⁵J. H. Dawson, R. H. Holm, J. R. Trudell, G. Barth, R. E. Linder, E. Brunnenberg et C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 3708 (1978).
- ⁶J. P. Collman, *Acc. Chem. Res.* **10**, 265 (1977).
- ⁷J. W. Buchler, *Ang. Chem. Int. Ed.* **17**, 407 (1978).
- ⁸H. Ogoshi, H. Sugimoto et Z. Yoshida, *Tetrahedron Letters* **27**, 2289 (1975).
- ⁹C. K. Chang et D. Dolphin, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 5948 (1975).
- ¹⁰J. S. Valentine, Y. Tatsumo et M. Nappa, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 3522 (1977).
- ¹¹B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin et C. Selve, *Tetrahedron Letters* **1219** (1975); et *J. Chem. Res. (S)*, 182 (1977).
- ¹²J. R. Platt, *Radiation Biology* (Edité par A. Hollaender), Vol. III, Chap. 2. McGraw-Hill, New York (1956).
- ¹³G. Barth, R. E. Linder, E. Brunnenberg et C. Djerassi, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **206-222** (1973).
- ¹⁴M. Gouedard, F. Gaudemer, A. Gaudemer et C. Riche, *J. Chem. Res. (M)*, 511, 531, 548 (1978).
- ¹⁵L. D. Spaulding, L. C. Andrews et G. J. B. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 6918 (1977).
- ¹⁶J. R. Miller et G. D. Dorough, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 3977 (1952).
- ¹⁷D. Dolphin, *The Porphyrins*, Vol. III, pp. 504, 482. Academic Press, New York (1978).
- ¹⁸S. P. Cramer, J. H. Dawson, K. O. Hodgson et L. P. Hager, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 7282 (1978).