

THESE

50376 1975

184

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTORAT ES SCIENCES

par

Pierre LE BARNY

Ingénieur E.N.S. de Chimie de LILLE

SYNTHESE ET ETUDE D'OLIGOPEPTIDES DERIVES DE L'ACIDE ASPARTIQUE ET DE L'ACIDE GLUTAMIQUE PORTANT LE CHROMOPHORE MITROBENZYLE DANS LA CHAINE LATERALE.



Soutenue le 25 Octobre 1975, devant la COMMISSION D'EXAMEN

Membres du Jury :

Président : M. C. LOUCHEUX Rapporteur : MmeM.H.LOUCHEUX M. H. SLIWA Examinateurs : M. J. THIERY M. J.A. NOUAL VERSITE DES SCIENCES TECHNIQUES DE LILLE

01.10.1975

DOYENS HONORAIRES de l'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R. DEFRETIN, H. LEFEBVRE, M. PARREAU.

PROFESSEURS HONORAIRES des Anciennes Facultés de Droit

et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

M. ARNOULT, Mme BEAUJEU, MM. BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, CORSIN, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P. GERMAIN, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOUGANOFF, LAMOTTE, LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, MM. LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, NORMANT, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUBINE, ROUELLE, SAVART, WATERLOT, WIEMAN, ZAMANSKI.

PRESIDENTS HONORAIRES DE L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

MM. R. DEFRETIN, M. PARREAU.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

4. J. LOMBARD.

PROFESSEURS TITULAIRES

Astronomie

1	BACCHUS Pierre
1.	BEAUEILS Jean-Pierre
1.	BECART Maurice
1.	BILLARD Jean
1.	BIAYS Pierre
1	BONNEMAN Pierre
1	BONNOT Ernest
1	BONTE Antoine
1	BOUGHON Pionne
1	BOURIONET Robert
1.	CELET Daul
1.	CONSTANT Eugène
1.	DECUVDER Managal
4	DELATTRE Chamles
1.	DELLATIRE Charles
1.	DEDCOURT MICHEI
1.	DERCOURT Michel
1.	DURCHUN Maurice
1.	FAURE Robert
1.	FOURET René
1.	GABILLARD Robert
1.	GLACET Charles
1.	GONTIER Gérard
1.	GRUSON Laurent
1.	GUILLAUME Jean
1.	HEUBEL Joseph
1.	LABLACHE-COMBIER Alain
1.	LANSRAUX Guy
1.	LAVEINE Jean-Pierre
1	LEBRUN André
1.	LEHMANN Daniel

Chimie Physique Physique Atomique et Moléculaire Physique du Solide Géographie Chimie Appliquée Biologie Végétale Géologie Appliquée Algèbre Biologie Végétale Géologie Générale Electronique Géométrie Géologie Générale Chimie Physique Géologie Générale Biologie Expérimentale Mécanique Physique du Solide Electronique Chimie Organique Mécanique Algèbre Microbiologie Chimie Minérale Chimie Organique Physique Atomique et Moléculaire Paléontologie Electronique Géométrie

.../...

Mme LENOBLE Jacqueline LINDER Robert М. LOMBARD Jacques Μ. LOUCHEUX Claude M LUCQUIN Michel Μ. MAILLET Pierre Μ. MONTARIOL Frédéric Μ. MONTREUIL Jean М PARREAU Michel M POUZET Pierre Μ. PROUVOST Jean Μ. Μ. SALMER Georges SCHILTZ René Μ. SCHWARTZ Marie-Hélène Mme Μ. SEGUIER Guy **TILLIEU** Jacques Μ. TRIDOT Gabriel Μ. **VIDAL** Pierre Μ. Μ. VIVIER Emile WERTHEIMER Raymond Μ. ZEYTOUNIAN Radyadour Μ.

Physique Atomique et Moléculaire Biologie et Physiologie Végétales Sociologie Chimie Physique Chimie Physique Sciences Economiques Chimie Appliquée Biochimie Analyse Analyse Numérique Minéralogie Electronique Physique Atomique et Moléculaire Géométrie Electrotechnique Physique Théorique Chimie Appliquée Automatique Biologie Cellulaire Physique Atomique et Moléculaire Mécanique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

BELLET Jean Μ. BODARD Marcel Μ. **BOILLET Pierre** Μ. Μ. BOILLY Bénoni BRIDOUX Michel Μ. CAPURON Alfred Μ. CORTOIS Jean Μ. DEBOURSE Jean-Pierre Μ. Μ. DEPREZ Gilbert **DEVRAINNE** Pierre Μ. GOUDMAND Pierre Μ. GUILBAULT Pierre Μ. LACOSTE Louis Μ. LEHMANN Josiane Mme LENTACKER Firmin Μ. LOUAGE Francis Μ. Mle MARQUET Simone MIGEON Michel Μ. MONTEL Marc Μ. PANET Marius Μ. RACZY Ladislas Μ. ROUSSEAU Jean-Paul Μ. SLIWA Henri Μ.

Physique Atomique et Moléculaire Biologie Végétale Physique Atomique et Moléculaire Biologie Animale Chimie Physique Biologie Animale Physique Nucléaire et Corpusculaire Gestion des entreprises Physique Théorique Chimie Minérale Chimie Physique Physiologie Animale Biologie Végétale Analyse Géographie Electronique Probabilités Chimie Physique Physique du Solide Electrotechnique Electronique Physiologie Animale Chimie Organique

MAITRES DE CONFERENCES (et chargés d'Enseignement)

- M. ADAM Michel
- M. ANTOINE Philippe
- M. BART André
- M. BEGUIN Paul
- M. BKOUCHE Rudolphe
- M. BONNELLE Jean-Pierre
- M. BONNEMAIN Jean-Louis
- M. BOSCQ Denis
- M. BREZINSKI Claude
- A DOLIVELLE Discuss
- M. BRUYELLE Pierre

Sciences Economiques Analyse Biologie Animale Mécanique Algèbre Chimie Biologie Végétale Probabilités Analyse Numérique Géographie - 3 -

CARREZ Christian Μ. CORDONNIER Vincent Μ. COOUERY Jean-Marie Μ. COULON Jean Μ. Mle DACHARRY Monique **DEBENEST** Jean Μ. DEBRABANT Pierre Μ. DE PARIS Jean-Claude Μ. DHAINAUT André Μ. DELAUNAY Jean-Claude Μ. DERIEUX Jean-Claude 1. DOUKHAN Jean-Claude M DUBOIS Henri М. Μ. DUEE Gérard DYMENT Arthur Μ. ESCAIG Bertrand Μ. Mme EVRARD Micheline FONTAINE Jacques-Marie Μ. FOURNET Bernard Μ. Μ. FROELICH Daniel GAMBLIN André Μ. GOBLOT Rémi Μ. GOSSELIN Gabriel Μ. **GRANELLE** Jean-Jacques Μ. GUILLAUME Henri Μ. **HECTOR** Joseph Μ. М. **HERMAN Maurice** JOURNEL Gérard Μ. Mle KOSMAN Yvette Μ. **KREMBEL** Jean LAURENT François Μ. Mle LEGRAND Denise Mle LEGRAND Solange LEROY Jean-Marie Μ. LEROY Yves Μ. LHENAFF René Μ. М. LOCQUENEUX Robert LOUCHET Pierre Μ. Μ. MACKE Bruno Μ. MAHIEU Jean-Marie N'GUYEN VAN CHI Régine Mme MAIZIERES Christian Μ. MALAUSSENA Jean-Louis Μ. Μ. **MESSELYN** Jean Μ. MONTUELLE Bernard Μ. NICOLE Jacques PAQUET Jacques Μ. Μ. PARSY Fernand PECQUE Marcel Μ. PERROT Pierre Μ. М. PERTUZON Emile **PONSOLLE Louis** Μ. Μ. **POVY Lucien** M RICHARD Alain Μ. **ROGALSKI Marc** ROY Jean-Claude Μ. Μ. SIMON Michel Μ. SOMME Jean Mle SPIK Geneviève STANKIEWICZ François Μ. Μ. STEEN Jean-Pierre

Informatique Informatique Psycho-Physiologie Electrotechnique Géographie Sciences Economiques Géologie Appliquée Mathématiques Biologie Animale Sciences Economiques Microbiologie Physique du Solide Physique Géologie Appliquée Mécanique Physique du Solide Chimie Appliquée Electronique Biochimie Chimie Physique Géographie Algèbre Sociologie Sciences Economiques Sciences Economiques Géométrie Physique Spatiale Physique Atomique et Moléculaire Géométrie Biochimie Automatique Algèbre Algèbre Chimie Appliquée Electronique Géographie Physique Théorique Sciences de l'Education Physique Physique Atomique et Moléculaire Géographie Automatique Sciences Economiques Physique Atomique et Moléculaire Biologie Appliquée Chimie Appliquée Géologie Générale Mécanique Chimie Physique Chimie Appliquée Physiologie Animale Chimie Physique Automatique Biologie Analyse Psycho-Physiologie Sociologie Géographie Biochimie Sciences Economiques Informatique

Μ. THERY Pierre TOULOTTE Jean-Marc TREANTON Jean-René М. Μ. VANDORPE Bernard Μ. М. VILLETTE Michel Μ. WALLART Francis WERNIER Georges WATERLOT Michel Μ. Μ. Mme ZINN-JUSTIN Nicole

- 14

Electronique Automatique Sociologie Chimie Minérale Mécanique Chimie Informatique Géologie Générale Algèbre A la mémoire de mon Père

.

A ma Mère

en hommage affectueux et reconnaissant pour son dévouement

A tous ceux qui me sont chers

A Thérèse, ma femme

en témoignage de ma profonde affection, et en remerciement de ses sacrifices consentis.

A Hélène

A Madame LOUCHEUX, Maître de Recherches au C.N.R.S., qui m'a proposé le sujet de ce travail et qui en a suivi le développement avec le plus grand intérêt.

Je lui dois ma formation de chercheur, qu'elle veuille trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude. Monsieur C. LOUCHEUX, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de Lille, a bien voulu m'accueillir dans son Laboratoire, et tout au long de mes travaux, m'a toujours témoigné un intérêt bienveillant.

Il m'a fait l'honneur de présider le Jury de cette thèse, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde et respectueuse gratitude.

Monsieur J. THIERY, Chef de service au C.E.N.de Saclay a constamment dirigé le travail effectué au département de biologie, il s'est personnellement occupé des calculs quantiques CNDO/2 ; ses conseils et ses suggestions ont été un apport des plus profitables.

Je tiens à lui exprimer ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

Monsieur H. SLIWA, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de Lille a bien voulu me faire l'honneur d'examiner ce mémoire, qu'il veuille accepter mes remerciements respectueux et sincères.

Monsieur J.A. NOUAL, Président Directeur Général des Aciéries de Paris et d'Outreau m'a confié un poste d'ingénieur dans ses usines, et malgré ses nombreuses occupations, a accepté de participer au Jury de cette thèse. Je tiens à lui exprimer ici ma déférente gratitude. Je voudrais remercier les chercheurs des départements de chimiephysique et de biologie du C.E.N. de Saclay pour l'accueil qu'ils m'ont réservé ; et tout particulièrement Monsieur A. FORCHIONI qui a réalisé les spectres RMN 250 MHz, et qui a mené à bien l'analyse conformationnelle en étroite collaboration avec Madame E. ABILLON.

Je suis reconnaissant de l'aide que m'a apportée Monsieur C. SCHNEIDER pour réaliser les spectres de dichroïsme circulaire magnétique.

Je remercie également Monsieur LEROY, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Strasbourg, qui a mis à ma disposition l'analyseur de courbes du PONT.

La synthèse des peptides n'aurait pu être rapidement menée à bien, sans l'apport dans ce domaine des travaux et des conseils amicaux de Mademoiselle N. HELBECQUE qui a été la première à préparer des oligopeptides au Laboratoire de Chimie macromoléculaire de Lille. Je tiens à l'assurer ici de mon amitié.

C'est pour moi un plaisir d'associer en une même pensée tous mes camarades de Laboratoire qui à titre divers, ont contribué à la réalisation de ce travail et ont toujours su créer une ambiance chaleureuse. En particulier, Monsieur J.P. AUBERT qui s'est toujours montré d'une très grande serviabilité, et m'a honoré de son amitié pendant son séjour au laboratoire, ainsi que Monsieur J. ESTEVEZ avec qui j'ai eu des discussions nombreuses et intéressantes.

Mademoiselle OLIVIER, Secrétaire du Laboratoire de chimie minérale appliquée a réalisé avec soin et minutie la dactylographie de ce mémoire ; Mesdames SAINLEGER et THOMAS en ont réalisé l'impression. Qu'elles en soient vivement remerciées.

GLOSSAIRE

SOLVANTS

Т.М.Р.	Triméthylphosphate
H.F.I.P.	Hexafluoroisopropanol
D.C.E.	1,2 dichloroéthane
A.T.F.	Acide trifluoracétique
A.D.C.	Acide dichloracétique

SYNTHESE PEPTIDIQUE

н — А — ОН он	Acide aspartique ou acide glutamique
oNB	orthonitrobenzyl
mNB	métanitrobenzyl
pNB	paranitrobenzyl
tBOC	tertiobutyloxycarbonyl
Me	méthyl
Ac	acyl
N(Et)3	triéthylamine
DCCI	dicyclohexyl carbodiimide
DCHA	dicyclohexyl amine
HC1,H-Asp-OMe I ONB	chlorhydrate d'aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl
Ac — Asp — OMe ONB	N acyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl
tBOC $\left(\begin{array}{c} Asp \\ ONB \end{array} \right)_2$	N tertiobutyloxycarbonyl aspartyl (βnitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl

ETUDE DU CHROMOPHORE NITROBENZYLE

- ε coefficient d'extinction molaire
- D force dipolaire
- $\left[\theta\right]_M$ ellipticité molaire magnétique
- $\Delta \boldsymbol{\epsilon}_{M} \quad \text{dichroïsme circulaire magnétique}$
- ν fréquence
- M_i force rotationnelle magnétique
- f force oscillatrice
- ONT orthonitrotoluène
- MNT métanitrotoluène

ETUDE DES PEPTIDES PAR DICHROÏSME CIRCULAIRE

 $\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix} \quad \text{ellipticité molaire naturelle} \\ \Delta \epsilon \quad \text{absorption différentielle dichroïque ou dichroïsme circulaire} \\ \mathbf{R}_{a} \quad \text{force rotationnelle associée à la transition électronique } \mathbf{0}_{\rightarrow} \text{ a} \\ \Delta_{i} \quad \text{demi largeur de bande, mesurée à } \frac{\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix}_{i}}{e}$

Ac
$$- \begin{pmatrix} Asp \\ ONB \end{pmatrix}_2^{-}$$
 OMe N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate
(β nitrobenzyl ester) de méthyl
HCl,H-Glu-OMe chlorhydrate de glutamate (γ nitrobenzyl ester)
de méthyl
Ac $- \begin{array}{c} Glu - OMe \\ ONB \end{array}$ N acyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl
tBOC $- \begin{array}{c} Glu \\ ONB \end{pmatrix}_2$ N tertiobutyloxycarbonyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester)
glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl
Ac $- \begin{array}{c} Glu \\ ONB \end{pmatrix}_2$ N tertiobutyloxycarbonyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester)
glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl
Ac $- \begin{array}{c} Glu \\ ONB \end{pmatrix}_2$ N acyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate
(γ nitrobenzyl ester) glutamate
(γ nitrobenzyl ester) de méthyl.

ANALYSE CONFORMATIONNELLE

ETUDE DES PEPTIDES PAR RMN

T.M.S. tetraméthyl silane

D.S.S. 2,2 diméthylsilapentane 5 sulfonate de sodium

δ déplacement chimique en p.p.m.

J constante de couplage en Herz

θ angle du dièdre d'arête N - α C, dont les faces s'appuient sur les liaisons N-H et C - H $\alpha \alpha \alpha$

ω angle du dièdre d'arête C - C dont les faces s'appuient sur les liaisons C - H et C - H α α β β

INTRODUCTION

Ce travail, s'inscrit dans le cadre plus général des recherches entreprises par Madame LOUCHEUX au Laboratoire de Chimie Macromoléculaire de Lille, pour déterminer l'influence de la chaîne latérale sur la structure secondaire des polypeptides, molécules modèles des protéines.

A ce jour, les études ont porté plus précisément sur les esters nitrobenzyliques de l'acide poly L aspartique, et de l'acide poly L glutamique (1 à 7).

L'introduction d'un chromophore intrinséquement symétrique à l'extrémité d'une chaîne lutérale longue, présente un certain attrait ; en effet, l'étude de l'activité optique due au chromophore nitrobenzylique est susceptible de fournir des renseignements sur la conformation de la chaîne latérale.

En fait, le spectre dichroïque des chaînes latérales s'est révélé très complexe, mettant en doute l'existence d'une conformation privilégiée. Ce résultat remet en question les calculs d'énergie conformationnelle (8) de SCHERAGA et de ses collaborateurs sur les esters de l'acide polyaspartique qui mettent en évidence deux conformations privilégiées pour la chaîne latérale, lorsque le polypeptide est sous forme Hélice a .

L'étude de peptides modèles est donc à priori intéressante, car pour des petites molécules, l'interprétation des résultats théoriques et expérimentaux, est plus aisée. Nous avons donc synthétisé des monopeptides et des dipeptides dérivés des aspartates de nitrobenzyle et des glutamates de nitrobenzyle, répondant à la formule générale :

monopeptide Ac-A-OMe

N acyl L aspartate ou L glutamate (β ou)... trobenzyl ester) de méthyl.

dipeptide

N acyl L aspartyl ou L glutamyl (β ou γ nitrobenzyl ester) L aspartate ou L glutamate (β ou γ nitrobenzyl ester) de méthyl.

ainsi que des monopeptides dérivés du L aspartate de benzyle et du L glutamate de benzyle, afin d'établir des comparaisons avec les dérivés nitrés analogues. Ces peptides ont l'avantage de posséder une fonction amide par chaîne latérale, situation qui existe dans les polypeptides.

L'analyse conformationnelle, couplée avec l'étude de la résonance magnétique du proton doit nous renseigner sur l'existence d'interactions chaîne latérale - chaîne iatérale ou chaîne latérale - squelette peptidique ; et nous aider ainsi à interpréter les signaux dichroïques dus aux chaînes latérales. Etant donnée la complexité du chromophore nitrobenzyle, nous avons fait au préalable une étude complète de ses transitions électroniques, d'un point de vue expérimental, en utilisant les techniques de spectroscopie ultra-violette et de dichroïsme circulaire magnétique sur des molécules nitrées modèles et sur les peptides étudiés ; et d'un point de vue théorique, en calculant les transitions électroniques associées aux trois nitrotoluènes, par la méthode quantique CNDO/2.

Le plan de notre travail est donc le suivant :

CHAPITRE	Ι	•	Synthèse des dérivés nitrés modèles et des peptides
CHAPITRE	II	•	Analyse conformationnelle des peptides
CHAPITRE	111	e 0	Etude des peptides par résonance magnétique nucléaire
CHAPITRE	IV	0	Etude des transitions électroniques du chromophore pitro-
			benzyle

CHAPITRE V : Dichroïsme circulaire naturel des peptides

Le mode opératoire se trouve dans l'appendice I, et les résultats de l'étude par spectroscopie infra-rouge des produits préparés, constituent l'appendice II.

Dans la suite du travail, les composés pour lesquels la configuration n'est pas précisée, seront de la forme L.

- 3 -

CHAPITRE I

-

SYNTHESE DES DERIVES NITRES MODELES

ET DES PEPTIDES

1 - SYNTHESE DES ACETATES DE NITROBENZYLE

II - SYNTHESE PEPTIDIQUE

A - Principe de la synthèse peptidique

- 1 Généralités
 - a Protection
 - b Couplage
 - c Libération des protections
- 2 Les groupements protecteurs
 - a Protection de la fonction amine
 - b Protection de la fonction acide

3 - Formation de la liaison peptidique

- a Activation du partenaire carboxylique
- b Activation du partenaire aminé
- c La méthode aux carbodiimides
- 4 Racémisation
 - a Généralités
 - b Méthodes de détermination du taux de racémisation.

B - Partie expérimentale

- 1 Préparation des monopeptides
 - a Préparation du N acyl acide aspartique et du N acyl acide glutamique
 - b Préparation du N acyl aspartate (βnitrobenzyl ester) de méthyl et du N acyl glutamate (γnitrobenzyl ester) de méthyl.
 - α Choix du schéma réactionnel
 - β Synthèse

- c Préparation du N acyl aspartate (β benzyl ester) de méthyl et du N acyl glutamate (γ benzyl ester) de méthyl.
 - α Choix du schéma réactionnel
 - β Synthèse

2 - Préparation des dipeptides

- a Choix du schéma réactionnel
- b Synthèse
 - α N tertiobutyloxycarbonyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de dicyclohexylammonium ou N tertiobutyloxycarbonyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de dicyclohexylammonium.
 - β Chlorhydrate de l'aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate
 (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou du glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl.
 - γ N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou N acyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl.

III - CARACTERISATION DES PRODUITS

- A Points de fusion
- B Rotation spécifique
- C Spectres ultra-violet
- D Spectres infra-rouge
- E Analyse élémentaire
- F Chromatographie sur couche mince
- G Estimation du taux de racémisation.

I - SYNTHESE DES ACETATES DE NITROBENZYLE

Les acétates de nitrobenzyle sont obtenus par action de l'acétate d'argent sur le bromure de nitrobenzyle correspondant, en utilisant le benzème comme solvant.



Pour obtenir l'acétate d'argent, on prépare d'abord le sel d'ammonium de l'acide acétique, puis on ajoute une solution aqueuse de nitrate d'argent.



11 - SYNTHESE PEPTIDIQUE

A - PRINCIPES DE LA SYNTHESE PEPTIDIQUE.

1 - Généralités

La synthèse peptidique consiste en la création d'une liaison amide entre deux acides aconés selon le schéma :

(1)
$$H_2N-CH-COOH + H_2N-CH-COOH \longrightarrow H_2N-CH-CO-NH-CH-COOH + H_2O$$

 R_1 R_2 R_1 R_2

cette réaction n'est pas spontanée à température ambiante, et se fait habituellement en trois stades :

a - Protection

Pour obtenir des peptides chimiquement purs, et en particulier pour éviter la condensation d'un acide aminé sur lui-même, il est nécessaire de protéger toutes les fonctions chimiques qui n'interviennent pas lors de la formation de la liaison peptidique. On est donc amené à employer des groupements protecteurs de la fonction amine, appelés groupements N protecteurs (X) ; et des groupements protecteurs de la fonction acide, appelés groupements C protecteurs (Y)

Le schéma (1) se modifie donc de la manière suivante :

(2) X-HN-CH-COOH +
$$H_2$$
N-CH-CGY ---- X-HN-CH-CG-NH-CH-COY + H_2 O
 $|$ $|$ $|$ $|$ $|$ $|$
 R_1 R_2 R_1 R_2

Les groupements protecteurs ont en plus l'avantage d'augmenter la solubilité des acides aminés dans les solvants organiques.

Il faut employer des groupements protecteurs qui sont facilement mis en place, mais qui peuvent être aussi éliminés facilement et sélectivement.

b - Couplage

La formation de la liaison amide n'étant pas spontanée, il faut donc transformer l'un des partenaires de la future liaison peptidique en une forme plus réactive, après avoir fixé les groupements protecteurs. Généralement, c'est la fonction carboxylique que l'on active. On a alors :



Dans un troisième temps, on enlève les groupes protecteurs : partiellement :



ou totalement :

 $X-HN-CH-CO-NH-CH-COY \longrightarrow H_2N-CH-CO-NH-CH-COOH$ $I \qquad I \qquad I$ $R_1 \qquad R_2 \qquad R_1 \qquad R_2$

2 - Les groupements protecteurs

Un très grand nombre de groupements protecteurs, tant de la fonction acide que de la fonction amine, sont actuellement à la disposition du chimiste (9) (10) (11) (12) nous nous bornerons à en énoncer les principaux types.

a - Protection de la fonction amine

La protection de la fonction amine peut se faire au moyen :

- de groupements du type acyle (formyle, trifluoroacétyle, phtalyle, orthonitrophénylsulfényle, tosyle, benzoyle, acétyle...)

de groupements du type alkyle (trityle, mono et dibenzyle, trialkylsilane...)
de groupements du type uréthane (benzyloxycarbonyle, tertiobutyloxycarbonyle, cyclopentyloxycarbonyle et cyclohexyloxycarbonyle...)

b - Protection de la fonction acide

On peut protéger la fonction acide

- en l'estérifiant (ester méthylique, éthylique, tertiobutylique, benzylique, paranitrobenzylique, phtalimidométhylique...)

- en formant une liaison amide
- en formant un hydrazide substitué
- en formant un sel.

3 - Formation de la liaison peptidique (9) (10) (11)

Il y a trois possibilités pour former la liaison peptidique

- par activation du partenaire carboxylique
- par activation du partenaire aminé
- en utilisant la méthode aux carbodiimides

a - Activation du partenaire carboxylique

Il existe quatre méthodes de ce type

- La méthode aux azides préconisée par CURTIUS

- La méthode aux chlorures d'acide développée par FISCHER

- La méthode aux anhydrides mixtes introduite par WIELAND et BOISSONNAS

- La méthode aux esters actifs de BODANSKY

b - Activation du partenaire aminé

C'est une technique très peu utilisée, qui peut apparaître comme un cas particulier de la méthode aux anhydrides mixtes. On distingue :

- la méthode aux isocyanates

- la méthode aux phosphazo-amides

c - La méthode aux carbodiimides

Depuis que SHEEHAM et HESS ont introduit, en 1955, les carbodiimides N, N' dialkylées dans la synthèse peptidique, ces intermédiaires de couplage, ont connu un succès grandissant (13).

La formation de la liaison amide se fait à basse température avec d'excellents rendements, il y a élimination d'une molécule d'eau entre la fonction acide libre d'un acide aminé, et la fonction amine libre de l'autre acide aminé ; le carbodiimide se transforme en une uréïde.

4 - Racémisation

a - Généralités

Au cours de la mise en place ou de l'élimination d'un groupement protecteur, et surtout lors de la formation de la liaison peptidique, le carbone asymétrique C_{α} risque de changer de configuration ; et le peptide résultant n'est plus optiquement pur.



5 oxazolone

L'oxazolone formée perd un proton en présence d'une base



On a résonance de l'oxazole



- Le carbone asymétrique C_{α} peut aussi s'épimériser par arrachement direct du proton, lorsque la formation d'oxazolone est impossible



ce mécanisme de racémisation est peu rencontré en synthèse peptidique, car il nécessite un milieu fortement basique, et des dérivés d'acides α aminés particuliers. Il faut remarquer que le groupement N protecteur tertiobutyloxycarbonyle évite la racémisation, car il existe sous deux formes mésomères, qui stabilisent l'hydrogène du carbone asymétrique.



Il faut également préciser que le pourcentage de racémisation peut varier selon les conditions expérimentales ; l'utilisation des solvants peu polaires et d'un milieu non basique minimise le taux de racémisation. Lors de la réaction de couplage par la méthode aux carbodiimides, l'abaissement de la température à -5° C, -10° C rend quasiment nul le taux de racémisation.

b - Méthodes de détermination du taux de racémisation

Actuellement, il existe deux méthodes de détermination du taux de racémisation d'un peptide synthétique.

- La première est une méthode enzymatique, elle consiste à soumettre le peptide à l'action d'un aminopeptidase qui a la propriété de rompre la liaison amide formée entre deux acides aminés naturels, de configuration L. Dès que l'aminopeptidase rencontre un acide aminé de configuration D, l'hydrolyse s'arrête. Il est alors possible de mettre en évidence par chromatographie les peptides non hydrolysés.

- Dans la seconde méthode, on hydrolyse en milieu acide le peptide, jusqu'à l'obtention des acides aminés qui le composent. On peut alors :

. déceler les acides aminés D par une méthode enzymatique

. comparer la rotation spécifique de l'hydrolysat, à celle

d'un mélange d'acides aminés approprié, qui a été soumis aux mêmes conditions d'hydrolyse que le peptide

. récemment YARON et ses collaborateurs (14) ont expérimenté une méthode apparemment très sensible de détection de la racémisation, elle

- 13 -

consiste à transformer les acides aminés obtenus pas hydrolyse acide du peptide, en N trifluoracétyl acide amine, ester méthylique CF₃-C-HN-CH-COOCH₃. On fait ensuite une chromatographie en phase gaz, en 0 R

utilisant une phase stationnaire chirale (à base de $CF_3CO-Phe-Ala-Leu-O-C_6H_{11}$) qui permet la séparation des énantiomorphes L et D.

B - PARTIE EXPERIMENTALE

1 - Préparation des monopeptides

a - Préparation du N acyl acide aspartique et N acyl acide glutamique

Nous avons acylé directement l'acide aspartique et l'acide glutamique au moyen de l'anhydride acétique en milieu aqueux, légèrement basique (pH = 8) (15)



Puis nous avons acidifié



b - Préparation du N acyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl et du N acyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl

α - Choix du schéma réactionnel

Nous voulions préparer du N acyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl et du N acyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl afin d'en faire plus particulièrement une étude spectroscopique. Un certain nombre d'impératifs devait être respecté , nous guidant dans la détermination du schéma réactionnel et dans le choix des groupements protecteurs. La synthèse devait :

- . entraîner un minimum d'épimérisation
- . conduire à des dérivés bien cristallisés

. respecter la fonction ester nitrobenzylique qui est très labile en milieu basique comme l'ont montré les travaux de HELBECQUE (16).

Nous avons donc :

. protégé la fonction amine par le groupement tertiobutyloxycarbonyle qui présente l'avantage supplémentaire de s'éliminer facilement au moyen du gaz chlorhydrique sec à température ambiante.

. protégé la fonction acide en a en la transformant en ester méthylique au moyen du diazométhane. L'ester méthylique est peu encombrant, de plus, il n'absorbe pas dans l'ultra-violet. Il n'est pas possible d'éliminer l'ester méthylique sans entraîner la saponification de l'ester nitrobenzylique.

D'où le schéma réactionnel suivant :



Tableau des abréviations :

L H
$$-A - OH$$
 : acide aspartique ou acide glutamique
NB : nitrobenzyl $- CH_2 - OP_{NO_2}$
t BOC : tertiobutyloxycarbonyl $CH_3 - CH_3 - CP_3$
Me : méthyl $-CH_3$
Ac : acyl $-C - CH_3$

β - Synthèse

- Aspartates de nitrobenzyle

Pour obtenir sélectivement l'ester nitrobenzylique en position de l'acide aspartique, nous avons bloqué la fonction acide située en α , en utilisant la méthode de complexation par les ions cuivriques préconisée par LEDGER et STEWART (17) et (18). Le processus expérimental est rappelé dans la figure I-1.

- Glutamates de nitrobenzyle

Les Y L glutamate de nitrobenzyle ont également été préparés selon la méthode de complexation par le cuivre précédemment citée. Le processus expérimental est rappelé dans la figure I-2.

- N tertiobutyloxycarbonyl acide aspartique (β nitrobenzyl ester) ou N tertiobutyloxycarbonyl acide glutamique (γ nitrobenzyl ester).

Nous avons protégé la fonction amine libre du β L aspartate de nitrobenzyle, et du γ L glutamate de nitrobenzyle par action de l'azide de tertiobutyloxycarbonyle, en utilisant le DMSO comme solvant, et en présence de triéthylamine qui rend légèrement basique le milieu (19) et (20).







- N tertiobutyloxycarbonyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou N tertiobutyloxycarbonyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl

La fonction acide libre du N tertiobutyloxycarbonyl acide aspartique (β nitrobenzyl ester) ou N tertiobutyloxycarbonyl acide glutamique (γ nitrobenzyl ester) est transformée en ester méthylique, à température ambiante en utilisant le diazométhane comme agent de méthylation, avec d'excellents rendements. (21)



- Chlorhydrate de l'aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou du glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl (22).

On dissout le N tertiobutyloxycarbonyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou le N tertiobutyloxycarbonyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl dans l'acétate d'éthyle, et on fait passer un courant de gaz chlorhydrique anhydre dans la solution, à température ambiante ; le chlorhydrate précipite dans le milieu.



- N acyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou N acyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl (23)

Le chlorhydrate de l'aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou du glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl est acétylé au moyen du chlorure d'acyl en présence de triéthylamine qui rend le milieu légèrement basique. On opère à basse température (T = 0°C)



c - Préparation du N acyl aspartate (β benzyl ester) de méthyl
 et du N acyl glutamate (γ benzyl ester) de méthyl

 α - Choix du schéma réactionnel

Nous avons pris le même schéma réactionnel que celui utilisé pour préparer les dérivés nitrés homologues.

 β - Synthèse

 $-\beta$ L Aspartate de benzyle

Le β L aspartate de benzyle a été obtenu par estérification directe de l'acide L aspartique par l'alcool benzylique, en utilisant comme catalyseur le gaz chlorhydrique anhydre (24).



-YL glutamate de benzyle

Le γ L glutamate de benzyle a été préparé en utilisant la méthode de complexation par le cuivre préconisée par LEDGER et STEWART.

Les étapes qui mènent au N acyl aspartate (β benzyl ester) de méthyl ou N acyl glutamate (γ benzyl ester) de méthyl sont rigoureusement identiques dans leur description, à celles qui conduisent aux dérivés nitrés homologues.

- 21 -

2 - Préparation des dipeptides

a - Choix du schéma réactionnel.

Nous avons choisi comme méthode de couplage, la méthode aux carbodiimides. D'où le schéma suivant :



b - Synthèse

 α - N tertiobutyloxycarbonyl aspartate (β nitrobenzyl ester)
 de dicyclohexylammonium ou N tertiobutyloxycarbonyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de dicyclohexylammonium;

La dicyclohexylamine est ajoutée à une solution de N tertiobutyloxycarbonyl acide aspartique (β nitrobenzyl ester) ou de N tertiobutyloxycarbonyl acide glutamique (γ nitrobenzyl ester) dans l'acétate d'éthyle. Le sel précipite



 β - Chlorhydrate de l'aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate
 (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou du glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl.

Le groupement N protecteur tertiobutyloxycarbonyl est enlevé au moyen du gaz chlorhydrique anhydre, mais seul le chlorhydrate de l'aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl cristallise.

> γ - N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ou N acyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl.

Le chlorhydrate précédemment obtenu est acylé par le chlorure d'acyl à basse température.

- 23 -
III - CARACTERISATION DES PRODUITS

Les produits obtenus ont été caractérisés par :

- . leur point de fusion F
- . leur rotation spécifique, mesurée à $\lambda = 546 \text{ mm}$, : $[\alpha]_{546}$
- . leur spectre ultra-violet

. leur spectre infra-rouge

. l'analyse élémentaire

. leur R_f

A - POINTS DE FUSION

Les points de fusion ont été déterminés au moyen d'un microscope LEITZ muni d'une platine chauffante (type 350)

Aucune correction n'a été apportée sur la valeur des points de fusion obtenus.

B - ROTATION SPECIFIQUE

Les rotations spécifiques ont été mesurées sur le polarimètre PERKIN-ELMER modèle 141, en utilisant une cuve en quartz de 5 cm d'épaisseur.

Les rotations spécifiques des composés sont exprimées en degré mlg⁻¹ dm⁻¹, unité hors système imposée par la tradition. On a en effet :

$$\left[\alpha\right] = \frac{\alpha}{1 C}$$

 α : angle de rotation mesuré, exprimé en degré

1 : trajet optique exprimé en dm.

C : concentration du soluté en g ml^{-1} .

20

C - SPECTRES ULTRA-VIOLET

Les spectres ultra-violet ont été enregistrés sur le spectrophotomètre CARY 14 de l'Institut de Recherche sur le Cancer de Lille, en utilisant des cuves en quartz de 0,01 cm, 0,1 cm et 0,5 cm d'épaisseur.

Nous avons reporté dans l'appendice I, la valeur du coefficient d'extinction moléculaire ε (exprimé en 1 mole⁻¹ cm⁻¹) au maximum d'absorption de la bande à transfert de charge intra moléculaire du groupement nitrobenzyle.

D - SPECTRES INFRA-ROUGE

Les spectres infrà-rouge ont été enregistrés à partir d'une suspension des composés dans du bromure de potassium anhydre, sur un spectrographe PERKIN ELMER, modèle 257.

Pour identifier les principales raies, nous nous sommes servis d'une part des deux ouvrages suivants :

"The infra-red spectra of complex molecules" de L.J. BELLAMY (London : Methuen an Co L.T.D. ; New York John Wiley and Sons inc.)

"Introduction to infra-red and Raman spectroscopy" de COLTHUP, DALY, WIBERLY (Academic Press New York and London)

d'autre part, nous avons synthétisé les méthanes et diuréthanes secondaires suivants, afin de pouvoir préciser les bandes dues au groupement protecteur tertiobutyloxycarbonyle :





La position des principales bandes, ainsi qu'une estimation de leur intensité, des composés synthétisés, sont rassemblés dans les onze tableaux de l'appendice n° I.

Nous avons joint dans l'appendice n° II les spectres infra-rouge de nos dérivés, entre $3500 \text{ cm}^{-1} - 2800 \text{ cm}^{-1}$ et $1800 \text{ cm}^{-1} - 1300 \text{ cm}^{-1}$

E - ANALYSE ELEMENTAIRE

Les analyses élémentaires ont été effectuées au Centre de Recherches sur les macromolécules de Strasbourg par Monsieur CALME, que nous tenons à remercier ici.

F - CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Les chromatographies ont été réalisées sur des plaques D.C. PLASTIKFOLIEN KIESELGEL F 254 MERCK, en utilisant deux solvants :

. le solvant n° 1 composé de : 400 ml de n Butanol 100 ml d'eau *100 ml d'acide acétique . le solvant n° 2 composé de : 1520 ml de chloroforme 80 ml de méthanol 48 ml d'acide acétique

Les acides aminés et les chlorhydrates d'acides aminés ont été directement révélés par la minhydrine.

- 26 -

Les monomères et les dimères N protégés par le groupement tertiobutyloxycarbonyle ont été révélés à la minhydrine, après chauffage de la plaque à 150° dans une étuve.

Enfin, les taches correspondant aux monomères et aux dimères N acylés, ont été mises en évidence par fluorescence.

Les valeurs R_{f_1} et R_{f_2} sont rassemblées dans les tableaux de l'appendice 1.

G - ESTIMATION DU TAUX DE RACEMISATION

Nos peptides étant formés d'acides aminés non naturels, il était donc exclu d'utiliser une méthode enzymatique pour évaluer le taux de racémisation.

L'hydrolyse des peptides dans une solution dans le dioxane de gaz chlorhydrique 6 N, à reflux pendant 24 heures, s'accompagne de la coupure de l'ester nitrobenzylique et on obtient un mélange d'acides aminés, qu'il est difficile de cristalliser et de purifier.

Aussi avons nous synthétisé le D Acyl Glutamyl (paranitrobenzyl ester) glutamate (paranitrobenzyl ester) de méthyl et comparé sa courbe de dispersion optique rotatoire avec celle du L acyl glutamyl (paranitrobenzyl ester) glutamate (paranitrobenzyl ester) de méthyl.

Dans la figure I-3, nous avons reporté la rotation molaire [m] du dimère L-L et moins la rotation molaire du dimère D-D entre 400 et 600 mm (Solvant T.M.P.). Aux erreurs d'expérience près, les deux courbes sont très voisines, ce qui entraîne deux conclusions possibles :

, les dimères ont racémisé avec le même taux de racémisation

les dimères ont faiblement racémisé.

Nous pensons qu'il est peu probable que les deux isomères aient racémisé exactement de la même manière. Il est tout à fait raisonnable d'interpréter la figure I - 3 comme une absence de racémisation, compte tenu du choix des groupements protecteurs, et de la méthode de couplage.

- 27 -



CHAPITRE II

ANALYSE CONFORMATIONNELLE

DES PEPTIDES

I - LES METHODES D'ANALYSE CONFORMATIONNELLE

A - Généralités

B - Les méthodes de calcul

- 1 Les calculs empiriques dans l'approximation de la "sphère dure"
- 2 Les calculs empiriques dans l'approximation d'une énergie potentielle composite
- 3 Les méthodes quantiques
- C Conventions et nomenclature
 - 1 Les angles de torsion qui interviennent pour décrire le squelette peptidique
 - 2 Les angles de torsion qui interviennent dans la description de la chaîne latérale
- D La méthode empirique dans l'approximation d'une énergie potentielle composite
 - 1 Les interactions non liantes
 - 2 Les interactions électrostatiques
 - 3 Les liaisons hydrogène
 - a La relation de STOCKMAYER
 - b La relation de LIPPINCOTT et SCHROEDER
 - c Les relations empiriques de SCHERAGA
 - 4 Barrière de rotation autour des liaisons simples
 - 5 Energie de déformation des angles de liaison et de valence

II - RESULTATS EXPERIMENTAUX

A - Les programmes SIMPLEX et DESCARTES

B - Conventions et nomenclature

C - Analyse conformationnelle des monomères

1 - Résultats obtenus à partir du programme SIMPLEX

2 - Résultats obtenus à partir du programme DESCARTES

D - Analyse conformationnelle des dimères

E - Conclusions

I - LES METHODES D'ANALYSE CONFORMATIONNELLE

A - GENERALITES

L'existence d'une relation étroite entre la structure et l'activité des macromolécules biologiques, telles que les protéines et les acides nucléiques, est maintenant bien établie. En particulier, les sites de contrôles, les sites de réactions, et les zones d'interactions spécifiques des enzymes, sont déterminées par la conformation de l'enchaînement polypeptidique formant la molécule.

L'étude de la conformation des macromolécules biologiques ou synthétiques, peut se faire de deux manières différentes et complémentaires

- expérimentalement, au moyen de méthodes spectroscopiques ou radiocristallographiques
- théoriquement, en procédant à l'analyse conformationnelle de la molécule.

Dans les études théoriques sur la conformation des protéines, la liaison peptidique est généralement supposée plane.



Figure II-1

La flexibilité du squelette polypeptidique est donc essentiellement due aux possibilités de rotation autour des liaisons simples N - C^{α} , et C^{α} - C' adjacentes au carbone C^{α} (figure II-1).

Par conséquent, la conformation d'un ensemble de deux unités peptidiques peut être décrite en donnant les valeurs des angles ϕ et Ψ de deux dièdres d'arête C^{α} — N et C^{α} — C'.

On admet en première approximation que la conformation d'un résidu amino-acide (Figure II-2)



Figure II-2

est indépendante de celle de ses plus proches voisins. En d'autres termes, les interactions à courte distance d'un résidu amino acide dans une chaîne polypeptidique, ne font intervenir que les deux unités peptidiques directement reliées au résidu, et dépendent fortement de la nature de la chaîne latérale R. Ceci constitue "l'approximation dipeptidique", elle néglige deux types d'interactions qui peuvent être d'une grande importance dans le cas des protéines ; à savoir les interactions macromolécule - solvant, et celles qui apparaissent entre résidus éloignés le long des chaînes peptidiques, mais proches dans l'espace à cause du repliement des chaînes.

Les calculs effectués en tenant compte uniquement des interactions entre plus proches voisins sont néanmoins valables pour déterminer les conformations préférentielles des résidus amino acide, et constituent un point de départ pour l'étude des conformations de chaînes polypeptidiques.

C'est pour ces raisons que les calculs ont eu pour premier objectif l'étude des propriétés conformationnelles des "dipeptides" du type N acyl, N' alkyl amino acide amide

- 32 -



B - LES METHODES DE CALCUL

Les études théoriques sur les conformations des résidus amino acide et des polypeptides peuvent se classer en trois catégories, qui correspondent grossièrement aux étapes successives du développement et du raffinement des calculs :

- Les calculs empiriques dans l'approximation de la "sphère dure"
- Les calculs empiriques dans l'approximation d'une énergie potentielle composite
- Les calculs quantiques

1 - Les calculs empiriques dans l'approximation de la "sphère dure"

En 1963, RAMACHANDRAN et ses collaborateurs (25) assimilant les atomes à des sphères dures d'un rayon égal au rayon de VAN DER WAALS, étudient d'une façon détaillée pour un résidu amino acide, les régions de l'espace stériquement permises (celles pour lesquelles les sphères n'entrent pas en contact) et les régions stériquement interdites (celles pour lesquelles les sphères se touchent).

Il est alors possible de tracer des cartes conformationnelles (ϕ , Ψ) comme celle de la figure (II-3).

En 1966, LEACH et ses collaborateurs (26) développent un traitement sur ordinateur de ce concept de sphères dures, ou sphères de VAN DER WAALS.

Dans cette approche, la notion de rayon de VAN DER WAALS devient insuffisante, et les auteurs qui utilisent l'approximation de la sphère dure, tiennent compte dans leurs calculs de deux séries de rayons atomiques, ce qui définit les conformations normalement permises, et les limites extérieures.





L'approximation de la sphère dure ne tient compte que des répulsions à courte distance, et ne fait pas intervenir les forces attractives entre atomes. Elle ne donne pas d'information sur la position des minima énergétiques, donc sur la nature des conformations préférentielles.

Néanmoins, cette première méthode de calcul a permis de déterminer les conformations stériquement permises de di et de tripeptides formés à partir d'acides aminés rencontrés dans les protéines (26), mais aussi de peptides de structure primaire connue, comme une boucle octapeptidique contenue dans la ribonucléase (27), et la gramidicine (28).

2 - Les calculs empiriques dans l'approximation d'une énergie potentielle composite

En 1965, LIQUORI et ses collaborateurs (29) suggèrent de décomposer l'énergie potentielle totale de la molécule, en une somme de plusieurs termes indépendants, jugés à priori importants, comme :

- . les interactions non liantes
- . les interactions électrostatiques
- . les liaisons hydrogène
- . les barrières de rotation autour des liaisons simples
- . les déformations des angles et des liaisons de valence

Ce procédé de calcul est très rapidement développé par plusieurs groupes de chercheurs, parmi lesquels :

- . SCHERAGA et ses collaborateurs (30)
- . BRANT et FLORY (31)
- . RAMACHANDRAN et ses collaborateurs (32)
- . POPOV et ses collaborateurs (33) et (34)

Dans ce type de méthode empirique, on part du principe que les conformations stables correspondent aux minima de l'énergie totale d'interaction entre les atomes de la molécule.

La difficulté majeure réside dans l'expression mathématique des différentes interactions qui composent l'énergie potentielle totale. On est obligé d'utiliser des formules semi-empiriques, dont les paramètres On peut reprocher à cette méthode :

. la diversité des relations semi-empiriques sur lesquelles elle est basée

. un certain arbitraire dans le choix des interactions dont on tient compte pour calculer l'énergie potentielle totale (en particulier, on ne prend pas en considération les interactions "fortes" comme les liaisons chimiques, les effets de résonance et de transfert de charge).

Néanmoins, la contribution des méthodes empiriques à la connaissance des conformations des peptides et des biopolymères en général, est indéniable. Le récent développement des méthodes quantiques a pu faire penser que les méthodes empiriques allaient être rapidement abandonnées. En fait, ces dernières méthodes permettent dans de nombreux cas de prévoir très valablement les conformations et sont d'un usage beaucoup plus commode pour le traitement sur ordinateur ; elles continuent donc d'être très largement employées, d'autant plus que d'une part la définition des fonctions potentiel s'améliore et que d'autre part, il semble maintenant possible de tenir compte des interactions avec le solvant, ou avec d'autres molécules.

3 - Les méthodes quantiques

Les méthodes quantiques visent à une évaluation directe de l'énergie moléculaire totale, associée aux différentes configurations atomiques du système, et ainsi, en une prédiction directe des conformations préférentielles, en utilisant un minimum de données semi-empiriques. Mais ce n'est que grâce à des développements récents qu'elles ont pu être utilisées pour l'analyse conformationnelle d'acides aminés et de polypeptides.

Trois méthodes ont été principalement appliquées aux molécules biologiques :

. la méthode EHT (Extended Hückel theory) par HOFFMAN (35)

. la méthode CNDO/2 (Complete Neglect of differential overlap) par POPLE et SEGAL (36) et (37)

. et la méthode PCILO (Perturbative Configuration Interaction using totally Localized Orbitals) par DINER et ses collaborateurs (38), par MALRIEU et ses collaborateurs (39) et par PULLMAN (40) et (41).

Il faut souligner que dans le domaine biologique, c'est de loin la méthode PCILO qui est la plus utilisée et qui fournit les calculs les plus complets.

Prenons l'exemple des "dipeptides" de formule générale :



qui ont fait récemment l'objet de nombreux travaux théoriques et expérimentaux.

Les résultats expérimentaux obtenus par spectroscopie infrarouge en solution très diluée dans un milieu inerte, et par résonance magnétique du proton, montrent la coexistence de deux formes cyclisées appelées C_5 et C_7 , qui sont stabilisées par des liaisons hydrogène intramoléculaires (42)



Seule la méthode PCILO (43) met en évidence théoriquement, que les cycles C_5 et C_7 sont des conformations favorisées, alors que la méthode EHT (44) ne retrouve que la forme C_5 . Dans la plupart des calculs empiriques, les angles de valence et la longueur des liaisons sont supposées fixes.

La conformation du squelette d'une part et de la chaîne latérale d'autre part d'un dipeptide est alors parfaitement déterminée par un certain nombre d'angles de torsion qui apparaissent sur la figure II-4.

Rappelons que l'angle de torsion τ (ABCD) des atomes A et D autour de la liaison B - C, dans la molécule A-B-C-D est l'angle dièdre défini par les plans ABC et BCD (figure II-5). est positif lorsque regardant le long de la liaison B - C, de B vers C, on fait tourner le plan ABC dans le sens des aiguilles d'une montre pour le superposer au plan BCD. τ est négatif dans le cas contraire.

1 - Les angles de torsion qui interviennent pour décrire le squelette peptidique.

Trois angles de torsion sont nécessaires pour décrire une unité peptidique, à savoir les angles

et

Malheureusement, en pratique, il existe deux conventions qui diffèrent dans le choix de l'origine des angles ϕ_i , Ψ_i et ω_i

. dans l'ancienne convention (45) qui est encore la plus utilisée, les angles ϕ_i , $\stackrel{\Psi}{}_i$ et $\stackrel{\omega}{}_i$ sont nuls lorsque le squelette polypeptidique est plan et complètement étendu, la liaison peptidique étant sous forme trans. (figure II-6).



figure II-4





Convention de 1970 $\Phi = \Psi = \omega = 180^{\circ}$

figure II-6





;

figure II-7



. dans la nouvelle convention, proposée par la Commission de Nomenclature en biochimie de l'IUPAC - IUB en 1970, un angle de torsion est nul lorsque les trois liaisons auxquelles il se rapporte, sont coplanaires, la première et la troisième étant en position cis par rapport à la seconde



Dans ce cas, pour la chaîne polypeptidique plane, complètement étendue, on a :

$$\Phi = \Psi = \omega = 180^{\circ}$$

Néanmoins, la convention de 1970 ne modifie pas l'aspect des cartes d'énergies conformationnelles (ϕ , Ψ) dressées avec l'ancienne convention. Il suffit en effet de faire subir à l'origine des angles ϕ et à l'origine des angles Ψ une translation de 180° pour passer des anciennes aux nouvelles conventions

2 - Angles de torsion qui interviennent dans la description de la chaîne latérale.

La désignation des atomes de la chaîne latérale, commence à partir du carbone C^{α} . Les atomes lourds (carbone, oxygène, azote) sont repérés par des lettres grecques β , γ , δ ... avec un indice 1 ou 2 dans le cas des branchements.

Les liaisons successives sont numérotées à partir de la liaison $C^{\alpha} - C^{\beta}$ vers l'extrémité de la chaîne, en ordre croissant.

L'angle de torsion autour de la j^{ême} liaison est appelé χ_j , il est compté positivement lorsque la $(j-1)^{ême}$ liaison tourne autour de la j^{ême} liaison dans le sens des aiguilles d'une montre, pour éclipser la $(j+1)^{ême}$ liaison (figure II-7).

- 38 -

La convention de 1966, et celle de 1970, adoptent la même définition de $\chi_j = 0$: χ_j est nul lorsque les liaisons j-1, j et j+1 sont coplanaires, et que les liaisons j-1 et j+1 sont en position cis.

D - LA METHODE EMPIRIQUE DANS L'APPROXIMATION D'UNE ENERGIE POTENTIELLE COMPOSITE

Comme nous l'avons vu précédemment, la méthode empirique dans l'approximation d'une énergie potentielle composite, est basée sur la possibilité de décomposer l'énergie d'interaction entre les différents atomes d'une même molécule, en plusieurs termes indépendants. Nous allons maintenant préciser la nature de ces différentes interactions.

1 - Les interactions non liantes

Les interactions entre charges fluctuantes, ou encore interactions de VAN DER WAALS, ou interactions de dispersion, interviennent de façon importante, et même souvent prépondérante, dans l'expression de l'énergie potentielle totale de la molécule. Elles sont du même ordre de grandeur que les interactions électrostatiques.

Parmi les nombreuses fonctions proposées pour décrire les interactions non liantes, les deux plus utilisées sont :

. la fonction de BUCKINGHAM

$$\mathbf{E}_{ij} = \frac{a_{ij}}{b_{ij}r_{ij}} - \frac{c_{ij}}{c_{ij}}$$

. et la fonction de LENNARD-JONES

$$\mathbf{E}_{\mathbf{ij}} = \frac{\mathbf{d}_{\mathbf{ij}}}{\mathbf{r}_{\mathbf{ij}}} - \frac{\mathbf{c}_{\mathbf{ij}}}{\mathbf{r}_{\mathbf{ij}}}$$

(figure II-8)

et un terme répulsif, qui prend de l'importance lorsque la distance entre atomes est de l'ordre de grandeur de la somme des rayons de VAN DER WAALS. E_{ij} est l'énergie d'interaction entre deux atomes "non liés" i et j (c'est-à-dire deux atomes séparés par plus de deux liaisons)

r_{ij} est la distance entre les atomes i et j

a , b , c , d sont des coefficients indépendants de r _{ij}, ajustés d'après les résultats de spectroscopie hertzienne et de cristallographie.

La fonction de LENNARD-JONES n'a pas l'inconvénient de tendre vers - ∞ quand r tend vers 0, elle permet aussi des calculs plus rapides, en évitant l'évaluation d'une fonction exponentielle ; c'est peut-être pour ces raisons, qu'elle est un peu plus utilisée que la fonction de BUCKINGHAM.

2 - Les interactions électrostatiques

ARRIDGE et CANNON (46), puis BRANT et FLORY (47) (48) ont montré que les calculs conformationnels devaient tenir compte des interactions électrostatiques dipole - dipole, entre les groupes amide qui ont un moment dipolaire permanent de 3,7 Debye.

OOI et ses collaborateurs (49) ont établi que ce type d'interaction intervient également lorsque les chaînes latérales ont un moment dipolaire non nul ; c'est le cas en particulier des aspartates et des glutamates dont la fonction ester possède un moment dipolaire permanent de 1,7 Debye.

Pour calculer l'énergie électrostatique totale E_E , on utilise l'approximation des monopoles, c'est-à-dire, que l'on détermine une distribution fictive de charges ponctuelles sur chaque atome, compatible avec le moment dipolaire total, et la charge globale de la molécule.

- 40 -







figure **II**-9

ģ

$$E_{E} = \frac{1}{4 \pi \epsilon} \sum_{i} \sum_{j} \frac{q_{i}q_{j}}{r_{ij}}$$

avec $\varepsilon = \varepsilon \varepsilon r o$

L'évaluation des charges o se fait habituellement par la méthode de DEL RE (50) ; les charges m sont évaluées par la méthode de BERTHOD et PULLMAN (51). Récemment, des méthodes quantiques plus élaborées, telles que la méthode EHT et surtout la méthode CNDO/2, ont été utilisées pour déterminer la distribution des charges partielles qui rend mieux compte des interactions électrostatiques.

3 - Les liaisons hydrogène.

L'énergie des liaisons hydrogène, comprise entre 3 et 8 kcal mole⁻¹ est nettement supérieure à l'énergie d'interaction non liante, elle doit donc être incluse avec la plus grande précision possible dans le calcul de l'énergie potentielle totale. Dans les peptides, il s'agit essentiellement des liaisons du type :



Il est assez délicat de trouver une fonction qui représente correctement la liaison hydrogène, car elle doit à la fois tenir compte de son énergie, mais aussi de sa géométrie. Un traitement correct de la liaison hydrogène ne peut se faire que par la mécanique quantique. Néanmoins, de très nombreuses fonctions ont été proposées pour décrire la liaison hydrogène.

a - La relation de STOCKMAYER

La relation de STOCKMAYER est constituée par une fonction de LENNARD-JONES et par un terme d'interaction dipolaire, introduisant une dépendance angulaire

$$\mathbf{E}_{\mathrm{H}} = 4 \varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^{6} \right] - \frac{\sigma}{r^{3}} \frac{\theta}{r^{3}} \mathbf{g} \left(\theta_{\mathrm{o}}, \theta_{\mathrm{H}}, \alpha \right)$$

avec $g(\theta_0, \theta_H, \alpha) = 2 \cos \theta_0 \cos \theta_H - \sin \theta_0 \sin \theta_H \cos \alpha$ (figure II-9)

 μ_{c} et μ_{H} étant les moments dipolaires centrés sur les atomes O et H, et respectivement dirigés suivant les liaisons C = O et H-N.

La relation de STOCKMAYER a surtout été utilisée par LIQUORI et ses collaborateurs (51).

b - La relation de LIPPINCOTT et SCHROEDER

Pour une liaison hydrogène linéaire, X = H = -Y, LIPPINCOTT et SCHROEDER proposent une fonction comprenant quatre termes :

. deux termes représentant les interactions X-H et H ---Y

- . un terme répulsif
- . un terme attractif



relation dans laquelle

r est la distance X-H à l'équilibre

r est la distance X-H après formation de la liaison H

r^X est la distance H---Y à l'équilibre

R est la distance X----Y

D, n et $D^{\mathbf{X}}$, n^{\mathbf{X}} sont des paramètres reliés aux énergies de liaison X-H et H---Y

A, b, B et m sont des constantes ajustées d'après les données expérimentales (m est voisin de 6). Cette relation a souvent été utilisée avec différentes modifications, destinées à rendre compte des effets directionnels, en particulier par MOULTON et KROMHOUT (53) d'une part, SCOTT et SCHERAGA (54) d'autre part.

c - Les relations empiriques de SCHERAGA

La difficulté d'utilisation des relations de LIPPINCOTT et SCHROEDER a conduit SCHERAGA à rechercher des relations empiriques représentant au mieux les données expérimentales.

L'idée de départ est que les effets directionnels de la liaison hydrogène doivent être contenus dans un calcul global, de l'interaction totale entre les deux molécules.

La première relation proposée par SCHERAGA pour une liaison R₁—A—H --- B—R₂ est :

$$E_{tot} = \begin{cases} Fonction de BUCKINGHAM \\ ou \\ de LENNARD-JONES \end{cases} + S_{(r)}$$

relation dans laquelle $S_{(r)}$ est l'énergie d'interaction entre tous les atomes autres que H et B (55).

La seconde relation proposée par SCHERAGA, basée sur un calcul d'orbitale moléculaire par une méthode du type CNDO/2, est de la forme :

$$E_{tot} = \sum_{ij}^{r} E_{min} \left(\frac{r_{ij}}{r_{ij}}\right)^{6} \left\{ \frac{r_{ij}}{r_{ij}} - 2, 0 \right\} + \frac{A_{k}}{R_{O--H}} - \frac{B_{k}}{R_{O--H}} + \frac{166, 0}{r_{ij}} \sum_{ij}^{r} \frac{q_{i}q_{j}}{r_{ij}}$$

les coefficients A_k et B_k sont ajustés à partir des valeurs trouvées pour les liaisons hydrogène dans des dimères de petites molécules modèles.

L'usage des fonctions empiriques de SCHERAGA a l'avantage de simplifier le traitement sur ordinateur.

4 - Les barrières de rotation autour des liaisons simples

On sait depuis longtemps que la rotation autour d'une liaison carbone carbone dans une molécule telle que l'éthane, n'est pas libre. Il existe une énergie potentielle de torsion qui est de l'ordre de 2,7 à 3 kcal mole⁻¹. Cette valeur ne peut pas seulement être expliquée à l'aide des interactions électriques entre les atomes "non liés" c'est-à-dire dans le cas de l'éthane, entre protons. Il faut ajouter un terme de torsion qu'on attribue en général aux effets d'échange entre les électrons des liaisons C - H et qui est une fonction périodique de l'angle de torsion.

L'évaluation de l'énergie de torsion est difficile dans le cas d'un peptide, surtout pour la liaison N - C^{α}. On convient de prendre pour le squelette

$$E_{T} = \frac{1}{2} E(\phi) (1 + \cos 3\phi) + \frac{1}{2} E(\Psi) (1 - \cos 3\Psi)$$

La hauteur des barrières $E(\phi)$ et $E(\Psi)$ varie selon les auteurs de O à 1,5 kcal mole⁻¹.

En ce qui concerne la chaîne latérale, l'énergie de torsion est définie avec plus d'empirisme encore, les paramètres sont ajustés en fonction de la nature chimique de cette chaîne.

5 - Energie de déformation des angles et des liaisons de valence

Pour expliquer la conformation de quelques protéïnes, il est nécessaire d'admettre une certaine flexibilité du squelette polypeptidique et des chaînes latérales, ce qui réduit les interactions répulsives non liantes dans certaines conformations.

Pour permettre cette flexibilité, tous les atomes sont supposés exécuter des oscillations harmoniques autour de leur position d'équilibre ; il en résulte une énergie de déformation des angles et des liaisons de valence, que l'on met sous la forme :

$$\mathbf{E}_{\Delta \mathbf{r}} = \frac{1}{2} \mathbf{K}_{\Delta \mathbf{r}} \left(\Delta \mathbf{r} \right)^2$$

 $\mathbf{E}_{\Delta \theta} = \frac{1}{2} \mathbf{K}_{\Delta \theta} \left(\Delta \theta \right)^2$

- 45 -

 $K_{\Lambda r}$ et $K_{\Lambda \theta}$ sont évalués à partir des résultats de l'infra rouge

On a pour
$$\Delta r = 10^{-2} \stackrel{\circ}{A}$$
 $E_{\Delta r} \neq 0,5 \text{ kcal mole}^{-1}$
 $\Delta \theta = 5^{\circ}$ $E_{\Delta r} \neq 0,3 \text{ kcal mole}^{-1}$

Le fait de faire intervenir la déformation des angles et des liaisons de valence dans les calculs conformationnels ne modifie pas beaucoup la position des minima d'énergie, mais peut apporter une différence considérable dans les valeurs relatives de ces énergies.

L'énergie potentielle totale de la molécule est donc :

 $\mathbf{E}_{tot} = \mathbf{E}_{VdW} + \mathbf{E}_{E} + \mathbf{E}_{H} + \mathbf{E}_{T} + \mathbf{E}_{\Delta r} + \mathbf{E}_{\Delta \theta}$

Il faut ensuite rechercher les minima de cette fonction, auxquels correspondent les conformations stables de la molécule. II - RESULTATS QUANTITATIFS

A - LES PROGRAMMES "SIMPLEX" ET "DESCARTES"

Les calculs conformationnels ont été faits pour les isomères L des trois N acyl aspartates (β nitrobenzyl ester) de méthyl, et les trois N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl, au Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay ; en utilisant les programmes "Simplex" et "Descartes".

Dans ces deux programmes, n'interviennent que les interactions non liantes, les interactions électrostatiques et les énergies de torsion avec les paramètres de DE COEN et collaborateurs (56).

Ces programmes ne diffèrent que par le mode d'exploration des géométries de la molécule.

Le programme "Descartes" calcule l'énergie potentielle de la molécule lorsqu'on fait varier systématiquement la valeur des angles de torsion entre 0 et 360°, avec un pas préalablement choisi, ce qui permet de tracer des cartes conformationnelles.

Le programme "Simplex" nécessite de fournir au départ, la valeur des angles de torsion (ϕ_A , Ψ_B ,...) de la molécule, qui correspondent à une conformation supposée favorisée, après examen de modèles moléculaires. L'ordinateur calcule l'énergie potentielle correspondante E_A , puis il calcule l'énergie E_B associée à un nouvel ensemble de valeurs des angles de torsion, (ϕ_A , Ψ_B ...) initialement choisis d'une manière aléatoire, puis en fonction des meilleurs résultats antérieurs.

Si $E_B > E_A$, on revient au point (ϕ_A, Ψ_A) , et le programme calcule l'énergie potentielle de la molécule pour une nouvelle série de valeurs des angles de torsion.

Si $E_B < E_A$, alors le programme continue dans la même direction (figure II-10).



Figure II-10

On trouve un puits de potentiel en I, lorsque la valeur des énergies calculées au voisinage d'un point (ϕ_I, Ψ_I) est toujours supérieure à l'énergie E_I en ce point.

Par conséquent, le programme "Simplex" est susceptible d'ignorer un puits de potentiel, mais il a l'avantage d'être d'une exploitation moins coûteuse que le programme "Descartes".

Le programme "Simplex" donne la position des puits de potentiel, ainsi que la projection de la molécule dans un état énergétiquement favorisé, selon trois plans.

Le programme "Descartes" trace les cartes conformationnelles, et donne des précisions sur la forme des puits de potentiel

B - CONVENTIONS ET NOMENCLATURE

Les angles de torsion sont exprimés avec la convention de 1970.

Dans la figure (II-11) nous avons dessiné une molécule de monomère, et une molécule de dimère, avec les angles de torsion correspondants. Les groupes nitrobenzyle ont été supposés plans en première approximation.

Etant donné le caractère approché des calculs, nous désignerons par un même symbole (lettre ou chiffre les angles de torsion qui diffèrent au plus de 19°, comme il est indiqué dans le tableau (II-1).

Les cartes conformationnelles tracées par le programme Descartes utilisent un certain nombre de symboles qui visualisent et précisent la forme des puits de potentiel. Dans l'ordre croissant d'énergie, nous avons blanc 1 . 3 - 5 + 7 \pm 9 Noir, ce qui produit un effet de relief.

Lorsqu'on passe d'un symbole à son voisin le plus proche, il y a variation de l'énergie potentielle de une kcalorie.

- 47 -





figure **I**-11

Angles de torsion	Symbole	Angles de torsion	Symbole
0 - 19	1	180 - 199	a
20 - 39	2	200 - 219	b
40 - 59	3	220 - 239	с
60 - 79	4	240 - 259	d
80 - 99	5	260 - 279	е
100 - 119	6	280 ~ 299	f
120 - 139	7	300 - 319	g
140 - 159	8	320 - 339	h
160 - 179	9	340 - 359	i

Tableau II-1.

C - ANALYSE CONFORMATIONNELLE DES MONOMERES

Les calculs conformationnels sur les N acyl aspartates ($_{\beta}$ nitrobenzyl ester) de méthyl ont été faits en utilisant les deux programmes.

1 - Résultats obtenus à partir du programme Simplex

Dans les tableaux (II-2), (II-3) et (II-4), nous avons rassemblé les valeurs des angles de torsion de départ, jugés favorables après examen des modèles moléculaires ; ainsi que les valeurs des angles de torsion des conformations obtenues après minimisation de l'énergie pour deux variations opposées des angles de départ (ler et 2ème sens).

11.2.
TABLEAU

ORTHO NITROBENZYL ESTER) DE METHYL N ACYL ASPARTATE (8

.∋-G G \mathbf{r} Φ ဖ ဖ Ø Φ 44 Ø 4-1 Φ X $\boldsymbol{\sigma}$ O ഹ Ø ഗ ¢ ()9 ъ $^{(0)}$ Ø Ð $\mathbf{x}_{\mathbf{4}}$ တ 00 Ċ 00 100 σ ъ υ σ 5 **[**~ ъ ĵ, × υ ഗ \mathcal{O} υ Ś 9 ~ ç σ Ċ ъ σ $\stackrel{\sim}{\times}$ <u>ب</u>کر 60 က ord က 44 5 \sim 44 က ~~~) ÷ × đ ದ 63 4 ര က ൽ က ൽ 44 60 က ∌ S ∞ vrel ၵာ 0 ი 5 Д, G ہے، r ► ÷ $_{\circ}$ σ 4-4 <u>م</u> Ω Q Ø **,**Q **,**Q o, Ο ,Q 280 э-278 118 278 270 242300 260 300 272104 180 112 2632828 8 101 270 279 276 180270 279 270 278 270 255 264 106258 258277 \sim 2 88 66 271 245180 238144 138120 120 228138 179 158 243 243 \times_{4} 127 2410 0 0 120 180 110 120 2482113 1 270 244120 112 × 244 247 90 248 247 <u>7</u> 1 1 8 240180 299 180 200 120 120 240сŋ 357 45 291 ار ۳۰ 307 47 \times^{c_2} 127 41 121 × 189 120 180 60 185 50120 190 60 60 2.98196 40 10 1 95 96 62 47 301 130 120 135 120 240 139 240 350 180 145 356 168332 105 171 131 96 0 270 270 209 2 1 2 1 2 1 2 180 218 240 212 218213 300 234300 287233 253 221 231 ÷ ,79 24,14 20,46 20,58 ູ່ ,86 .88 24,77 28,76 °62 21 .63 . 01 되 21 <u>58</u> 2 23 21 2 ຕ ເວັ ວ, ບ ເດ ເຕັ 3 ບົບ 5 ω (mara) ത Sens 2ème 2ème 2ème 2ème 2ème 2ème ler ler ler ter ler ler ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE BUS DEPART DEPART DEPART DEPART DEPART DEPART

Э

•
З
٠
н
I
5
<u> </u>
4
61
H
ß
<u> </u>
F-4

META NITROBENZYL ESTER) DE METHYL N ACYL ASPARTATE (8

٦ ۴ ဖ ဖ Φ σ ભ Ø ဖ 4-1 ဖ Φ Φ 44 ŝ Ъ Φ Ø S 44 44 4-1 Û ŝ Φ യ \times 44 \times_{4} p υ r \sim ъ ъ v 00 \sim \sim ъ ø $_{3}^{\times}$ 9 ဖ Ø σ ø ဖ σ 9 σ σ ဖ ശ $_{\times}^{2}$ υ က <u>م</u> 60 4-1 က 5 (7**2**74 çereş 3 ø \times က က ൽ က ಹ က ,C ൽ 9**-**1 60 ಹ 4 ₽ ø တ •••• œ ۰red [∽ ဖ 5 00 ۰ed ø ø ÷ ja, ൧ a, Д υ ø a υ υ ç υ д 4 1 116 105270 260 300 265116 116 80 247180 8 300 283267272 281281 270 270 255276270 284180 270 ۍ ۲ 283 288100 276 269 262277 96 255 282219 23.9 180 126124120 243129 128 120 247143237 1540 0 251 \times_4 0 110 270 113 115 120 114 ж Х 90 260 252180 113 8 246246120 118 116 251 240 230 180 120 $\frac{48}{8}$ 180 240124120 $^{\circ}_{\times}$ 297 ŝ 2.9327 131 10 10441 301 60 120 180 120 60 겫 46 $1\,96$ 28 18620 202 18760 $2\,96$ 190 60 301 × 240 359 120 120 144180 240 157 352 137 172138 148149 107 3471330 ₽ 215215 240 210 300 206 270 180 214238 300 230 270 218208 237 ÷ 227 23224,79 22,19 69 8 о Г 78 58 ,49 ,47 823 20 31,73 ы 22 22 24SZ ZZ 22 28, ลี 83 83 51 3,5 າ ເມື ເ ເ ິ ເ S ω ຕິ ---i Sens ler Sens ler Sens 2ème 2ème 2ème 2ème 2ème 2ème ler ler ler ler 895 900 ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE ARRIVEE DEPART DEPART DEPART DEPART DEPART DEPART

4.
. :
-
D
₹.
9
B
A
н

N ACYL ASPARTATE (β PARA NITROBENZYL ESTER) DE METHYL

		ω	ы	÷	Ψ	\times^{1}	×°	3°×	\times^4	°2×	л 4	- ф	≯	×	×°	$\mathbf{x}^{\mathbf{c}}$	\times^4	ۍ× م	¥
DEPART		3,5		270	120	120	120	120	120	270	300	()#FK-04-69404752							
	ler Sens		21,57	228	139	188	17	112	245	285	281	υ	2	đ	-	ę	q	ц	44
ARRIVEE	2ème Sens		24,55	213	152	59	87	117	161	267	268	م	œ	n	2		60	Φ	υ
DEPART		3,5		180	180	180	180	180	180	180	180								
	ler Sens		25,07	218	106	203	2 92	251	182	278	116	q	9	q	÷+1	q	2	e	9
ARRIVEE	2ème Sens		21,59	233	140	187	.15	248	246	106	281	U	2	57		g	q	9	я
DEPART		3,5		240	0	60	180	270	0	270	270								
	ler Sens		21,95	214	130	1 95	317	246	118	260	276	q	7	σ	60	ס	9	Ð	ပ
ARRIVEE	2ème Sens									·				·					
DEPART		3,5		300	240	60	240	90	0	270	300								
	ler Sens		23,00	281	355	289	44	118	234	66	266	((ب	ŗ	44	с	9	v	5	υ
AKKIVEE	2ème Sens		21,38	240	331	289	53	112	228	263	106	q	h	f	3	9	U	e	9
DEPART				270	120	120	120	120	120	270	300								
	ler Sens		28,82	232	133	190	10	118	251	282	281	υ	7	ъ		9	q	f	t,
ARRIVEE	2ème Sens		31,73	218	149	60	104	116	154	269	272	q	æ	4	6	9	8	e	e
					-		•												

Les énergies E des conformations d'arrivée sont exprimées en kilocalories, et sont définies à une constante arbitraire près.

Les calculs ont été faits en prenant généralement 3,5 comme valeur de la permittivité relative.

Nous avons reporté sur un diagramme (ϕ , Ψ) (Figures (II-12), (II-13) et (II-14) les points correspondant aux conformations favorisées, ainsi que la valeur des angles de torsion χ_1 , χ_2 , χ_3 , χ_4 , χ_5 et Ψ_1 dans cet ordre, pour chaque monomère.

A titre de comparaison, nous avons indiqué sur les figures (II-12), (II-13) et (II-14) les points correspondant aux structures connues des polypeptides et des peptides (Tableau II-5).

• •	ф			Ψ	
Hélice α droite	312	g	303	g	
Hélice _Q gauche	48	3	57	3	
Chaîne β parallèle	241	d	113	6	
Chaîne _β antiparallèle	215	b	1 42	8	
Cycle C ₅	180 à 210	a et b	180	a	
Cycle C ₇ axial	75	4	310	g	
Cycle C ₇ équatorial	180	f	50	3	

Tableau II-5




Ac - ASP-OMe OpŅB

Figure II-14

Sur les diagrammes (ϕ, Ψ) , on peut localiser grossièrement deux puits de potentiel A et B, dont la position est indépendante de la place du substituant nitro dans la chaîne latérale, comme le montre la figure (II-15). Si on porte sur un même diagramme (ϕ, Ψ) les points représentatifs des géométries de départ et les points qui correspondent aux conformations énergétiquement favorisées, on peut mettre en évidence un effet de convergence semblable à celui obtenu pour le N acyl aspartate (β métanitrobenzyl ester) de méthyl (Figure II-16). Autour du puits A, on retrouve les structures β parallèle et β antiparallèle, ainsi que la forme cyclique C₅, qui correspond dans notre cas à :



En ce qui concerne la chaîne latérale, on peut dire, qu'elle n'adopte pas de conformation préférentielle. Ce résultat est en contradiction avec ceux obtenus par SCHERAGA et ses collaborateurs (8) sur le poly aspartate de paranitrobenzyle |PA(pNB)|. En utilisant des méthodes empiriques et en considérant 10 unités peptidiques, les auteurs montrent en effet que l'hélice α droite est favorisée pour le PA(pNB), et que de plus, la chaîne latérale est transversale, et s'enroule autour du squelette polypeptidique dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. Ils trouvent pour les angles de torsion les valeurs suivantes :

ф	Ψ	X ₁	×2	× 3	. × ₄	× 5
309,7	303,8	122,5	162,7	349,3	36,5	338,4
g	g	7	9	i	2	h







Figure II-16

En particulier, la valeur 7 de l'angle χ_1 n'est pas retrouvée pour le N acyl aspartate (β para nitrobenzyl ester) aspartate de méthyl.

Sur les figures (II-17 et (II-18) nous avons reproduit la projection la plus significative d'une conformation possible du N acyl aspartate (β para nitrobenzyl ester) de méthyl, respectivement dans les puits A et B.

2 - <u>Résultats obtenus à partir du programme Descartes</u>

Nous avons fait varier les angles ϕ , Ψ et χ_1 en prenant pour valeur fixe des angles χ_2 , χ_3 , χ_4 , χ_5 et Ψ_1 , celles trouvées avec le programme Simplex à partir de la conformation étendue de la chaîne latérale (c'est-à-dire $\chi_1 = \chi_2 = \chi_3 = \chi_4 = \chi_5 = 180^\circ$) avec $\Psi_1 = 180^\circ$

Quel que soit l'isomère envisagé, les cartes conformationnelles (ϕ, χ_1) et (Ψ, χ_1) sont semblables à celles représentées figures (II-19), (II-20) et (II-21).

Sur les cartes conformationnelles (ϕ, Ψ) on voit apparaître un troisième puits de potentiel C, moins "profond" que les puits A et B, ce qui explique peut-être la raison pour laquelle le programme "Simplex" ne l'a pas prévu. Il est plus probable, comme le montre l'examen du diagramme de convergence de la figure II-16, que les angles ϕ et Ψ de départ ne sont pas assez indépendants et sont trop éloignés du puits C pour que ce dernier puisse être retrouvé par le programme "Simplex".

Les puits A et B ont approximativement le même emplacement que celui trouvé par le programme "Simplex". Les chaînes β parallèles et β antiparallèles semblent très favorisées, l'hélice α droite est également favorisée.

Afin de voir l'effet de la constante diélectrique sur la conformation de nos molécules, nous avons fait varier la permittitivité relative ε_r de l à 5. Sur les cartes la figure (II-22) on peut constater que la position des puits de potentiel ne change pas et que seule la forme de ces puits est affectée par une variation de ε_r .







Figure II-19



Figure II-20

BUS







BUS

D - ANALYSE CONFORMATIONNELLE DES DIMERES

Les calculs conformationnels sur les trois N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ont été faits par le programme "Simplex", car pour des raisons de temps de calcul le tracé systématique des cartes conformationnelles n'est pas envisageable au-delà d'une dizaine d'angles variables.

Nous avons rassemblé nos résultats dans les tableaux (II-7) (II-8), (II-9) et sur les figures (II-23), (II-24), (II-25).

Pour les dimères "ortho" et "méta", on a repris les mêmes valeurs des angles de torsion de départ, que celles utilisées pour les monomères ; on retrouve les deux puits de potentiel A et B approximativement aux mêmes endroits que pour les monomères.

Pour le dimère "para", on a multiplié le nombre de valeurs des angles de torsion de départ, en s'aidant des résultats obtenus par le programme "Descartes". On met alors en évidence quatre puits de potentiel A, B, C, D. (figure II-25).

On retrouve pour les dimères un certain effet de convergence, illustré par la figure II-26, et une indépendance de la position du groupement nitro dans la chaîne latérale sur la position des puits de potentiel (Figure II-27).

Afin de visualiser la conformation simultanée qu'ont les deux acides aminés pour une géométrie donnée d'un peptide, nous avons relié par une flèche les points représentatifs de la conformation des deux acides aminés. On peut penser que les flèches courtes sont en faveur de structures périodiques, et les flèches longues indiquent des structures "désordonnées". Nous voyons sur la figure II-28 que les résultats de l'analyse conformationnelle montrent que les acides aminés d'un peptide donné n'ont pas nécessairement la même conformation.

De plus, dans un peptide les chaînes latérales semblent éloignées les unes des autres comme on peut s'en rendre compte sur les projections représentées : figures II-29, II-30, II-31, II-32.



888 ULTE









Figure I-26



Figure I-27





BUS









		43	βŭ	Э-	÷	94 ⁰⁰	ي ج	⇒.cs	×	$\times^{c_{N}}$	×	.स २	×	`	X2,	` £	× **	`×
DEPART		n) m		0 7 8 0 7	() 80 13	180	1 00 00	180	180	180	180	180	180	180	160	180	180	180
	13 14 14 15 14 14 14 14 14 14 14 14 14 14 14 14 14		70 70 50 60	ব‡ ে ে	හ ග බ	र हर ह	134	19 12 27	୍ବର ଚୁର୍ଚ୍ଚ ୧୦1	94	50 50 50	ي) يعن اسم	23 23 4	() 20 F	2 22	293	F 09	33 [**
ARRIVEE	Zàne Sens		83 J. 83 J. 80	509 509	15 15 1	23 23 23 23	9 8 9	મેન્ટ્સ ઉપલં દુ:્યું	28	10 10 21	r 4 €∛ •==1	00 123 1-1	96 96	5 68 7	361	10 11 11	578	26
DEPART		10 M		570	120	270	120	300	130	120	120	5 5 7	270	130	120	120	50 5	270
	ler Sons		824°O	280	10 19 14	88 88 87	164	2 7 7	© © ⊷	201 	108	1.61	268	ic) IC)	28	101	රා 20 ~ 1	2 42 2
arte verte de la compañía de la comp	2ère Sens		827,5	236 2	159 1	287	10 10 10 10	52 53	62	62	108	52 53 53	50 50 50	6 6	86	্যন্থ দেশ বি	1 653 1	257
DEPART		ເລ ຕັ		300	240	300	240	06	00 00	240	6	0	270	60	240	06	0	270
ARRIVEE	ler Sens	1	825,1	227	151	261	335	108	263	44	117	186	67	64	310	2.48	160	261
	2 dme Sens		832 ,6	206	1 02 1	216	350	101	02	264	12	185	265	45	42	13 ~:	244	<u>17</u>
BUS		N ACY	VL ASPAI	RTYL (ß ORT	LIN OH.	ROBEN	ZYL ES	TER) A	SPARTA	ate () ORTH	O NITR	OBENZY	L ESTI	ER) DI	METHY	U T

TABLEAU II-7-a

Ġ;

US LLE

TABLEAU II-7-b

N ACVL ASPARTYL (& ORTHO NITROBENZYL ESTER) ASPARTATE (& ORTHO NITROBENZYL ESTER) DE METHYL ົ້×ິ 4 N.) σ °Ø Ø ø ×4 ი 9 ာ σ_{2}^{*} ത σ ×۳ σ g Q 9 σ ശ `×^ 44 Φ ut) 00 60 က `×「 ന **4**-5 $^{\circ\circ}$ 60 4 က ۍ × \mathbf{Q} 25 \mathbb{O} Φ ư) Ø \times_4 G 00 \bigcirc :tt ൽ ൽ ד ψ 0 9 ø G 5 \times^{\sim} G σ quanti ю က Û $\times^{\rm I}$ đ a_{i} रहं 4 (č) Ø ∌ຕ ω ¢Ø ъ ဖ Φ ဖ ∍∾ **t**~0 ₿°2-ා . . ۰rd **,2**, 9-⁶⁷ \mathbf{O} Q \bigcirc 44 م Ø **⊷** ____ ø t~ တ £~. œ œ ອ Q ¢ ,Q ¢ G, Q Sens Sons 2ème Sens ler Sens sens ler Sen 20me 2 emARRIVEE ARRIVEE ARRIVER DEPART DEPART DEPART BUS

- 57 -

د
60
1
00
1
H
ł
in the second
فيسو
A
EAL
LEAU
BLEAU
ABLEAU
TABLEAU

N ACYL ASPARTYL (8 META NITROBENZYL ESTER) ASPARTATE (8 META NITROBENZYL ESTER) DE METHYL

BUS

		w	Ъ	ด้	** 4 Э+	સ્	60 •€	ອາ	×	$\overset{3}{\times}$	×3 X	×	ŝ	► ×	×, 2	°×	× 4	° u° ×
DEPART		3,5	v	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180
្ត ជាមុននិង មុ	i Sen Sen Sen Sen Sen Sen Sen Sen Sen Sen		830, 4	218	44 44 **	516	 64	220	20 20 1	5	53 53 58	10 01 1	264	285	00	2 41	ка m	88
de vinne	2ène Sens		ର ସେ ବ ି ସେ	S S S	125	51 0 51	122	су Су	চ র্ম	50 0 0	EA N-S exel			80 80 81	253	tered Ared Att	5 25 25	65
DEPART		6.2 K.3	nana Mila Wa, 24 ju tinun Alua ang	270 270	120	520	120	300	120	50	120	120	540	120	120	50	120	270
1 RR IV EE	S S S S S S S S S S S S S S S S S S S		832,0	5 5 7	141	23	ani At ani	277		00	53 	स्थलम् अर्जुन इन्लम्	283	263	44	jo t	ති දිදි ;=	22 20 21
	2ème Sens		°3 85 85	(N) (N)	20 21 7	10 10 17	6 **) 8 (*) - 10-4	04 10	ç	8	(Pro)		267	63	са. Г~	e n [(73)	150	267
DEPART		3,5	ber C. W. Kone (1) Constants	900 9	240	300	240	06	60	240	06	0	270	60	240	06	0	270
ARE IVEE	lar Sec S		828 ,0	532 53	00 17 17	264	end territ	76	8 8 8	r B	188	235	274	294	15	233	573 573	262
	2ène Sens		835,0	268	312	211	350	66 6	305	591	117	2 03	253	ය. ෆ	.)	lang Lang Loca	195	282
(÷				The second s						Ĩ

- vo

TABLEAU II-8-b

717 5

BUS

$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$							Ī									-
8 0 0 1 00 1 00 1 00 1 00 1 00 1 00 1 00 1<		ر 1	₽ -	ઞે	* 01	∌"	×1	×°2	×°	\times_{4}	°5×	`	×°	, ж	×4 4	ىت ×
 (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1)																
し 〇 〇 〇 〇 〇 〇 〇 ○ <td> </td> <td>q</td> <td>œ</td> <td>. <u>a</u></td> <td>œ</td> <td>υ</td> <td>50 C</td> <td>ى س</td> <td>ပ</td> <td>2</td> <td>υ</td> <td>50</td> <td>വ</td> <td>σ</td> <td>L</td> <td>2</td>		q	œ	. <u>a</u>	œ	υ	50 C	ى س	ပ	2	υ	50	വ	σ	L	2
● ○		ą	2	٩	L	Ω.	م	υ	2	6	2	44	σ	Q	σ	ى
ひ 〇 〇 〇 〇 ○																
● C D ● C S ○ ● C ○ ○ C ○ ○ ○		م	œ	ą	œ	U	ര്	N	2	œ	_ 4 4	6	Э	v	2	q
μ ψ a γ b γ a γ b γ b γ c γ c γ c γ a γ b γ c γ c γ j γ		٩	80	μ	00 00	Φ	4,	വ	9	v	ω	4	4	9	œ	Q
e c																
e g b f 6 b d 2 2 6 b d 1 2 5 6 c 1 1 5 5 5 6 c 1 1 5 6 c 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	1	ల	.9	υ	9	4	50	<i>с</i> о -	9	U	Û	4-1	1	υ	2	Ð
		Û	ხ0	٩	'n	ນ	ы	Ψ	9	٩	q	63	5	e	ca Ca	4

-9-a
-11
EAU
ABL
E

N ACYL ASPARTYL (B PARA NITROBENZYL ESTER) ASPARTATE (B PARA NITROBENZYL ESTER) DE METHYL

							All the second	the second s		State in the second state of the second state								
		ω	ы	۶ŗ	∎	ч 23	`≁	⇒" C	×	$\mathbf{x}^{\mathbf{X}}_{2}$	×3	X_4	X5	×,	, ²²	×, ×,	× 44	×5,
DEPART		3°2 3		180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180
ARRIVEE	ler Sens		830,9	213	141	216	136	276	1 90	101	239	106	236	179	88	243	132	254
	2ème Sens		825,2	210	135	223	124	86	187	237	114	223	52	277	253	119	251	117
DEPART		3,5		180	180	270	120	300	180	180	180	180	180	120	120	120	120	270
	ler Sens		831,5	236	133	216	149	276	289	55.	110	228	263	188	88	242	134	261
AKKIVEE	2ème Sens		824,8	241	117	213	173	267	186	254	115	199	74	187	38	108	226	264
DEPART		3 , 5		270	120	180	180	300	120	120	120	120	270	180	180	180	180	180
ARRIVEE	ler Sens		826,7	259	138	224	119	279	179	19	122	168	264	189	325	244	133	72
	2ème Sens		827,9	270	147	216	122	280	69	63	121	145	262	190	74	246	141	260
DEPART		3,5		270	120	270	120	300	120	120	120	120	270	120	120	120	120	270
ARRIVEE	ler Sens		831,6	263	126	213	126	275	181	12	115	191	263	176	14	110	208	253
B	2ème Sens		833,4	213	159	243	154	279	60	80	112	226	256	63	96	116	143	272
US LE	N AC	ISA .IV	PARTVI.	(R DAR	A NTTP	T OR ENZY	л вст	SV (da	י א ידים אם נ	лв <i>(</i> 8			EMI7321		E C			

Δ
T
÷.
U
1
H
н
D
<
Ē
H
р
V.
Fi

			H H	1 ₄	5	°,	⇒.ω	~	×w	×3 X	X.4	×5	×,	×,2	×,	X4	×5
Ω	EPART							ar (au) 107an <u>a</u> rganta a an									
A	RRIVEE	ler Sens	م	ø	q	2	Û	ົກ	છ	U	9	ပ	6	ъ С	q	2	ס
		2ème Sens	Ą	2	υ	7	ى ئ	đ	υ	9	U	m	Û	σ	g	ס	9
<u>А</u>	EPART																
<	RR IV EE	ler Sens	U	2	ą	œ	Û	÷+1	m	9	υ	Û	જ	5	q	2	Ο
		2ème Sens	q	9	q	თ	U	đ	IJ	9	q	4	ದ	N	œ.	U	Ð
Q	EPART					a											
Ā	RRIVEE	ler Sens	r D	7	υ	9	ω	6		2	6	υ	c3	h	q	~	4
		2ème Sens	U	œ	م	۳	ω	4	ß	7	ø	Û	a	4	q	œ	ω
D	EPART																
	00 T(/ 86	ler Sens	U	7	q	7	Φ	ß	1	9	ದ	U	6	1	છ	q	q
		2ème Sens	q	ø	g	00	Φ	4	ດ	9	с С	σ	4	ى م	Q	ø	U
		A AC'	YL ASF	ARTYL	(B PAR/	NITR	OBENZY	L ESTI	ER) AS	PARTAT	E (RF	ARA NJ	TROBE	NZVI. I	STER)	DE ME	THVI.

C
Ť
~
0,
ł
н
н
D
5
4
ΕÐ
E P
<
2
C -1

N ACYL ASPARTYL (BPARA NITROBENZYL ESTER) ASPARTATE (BPARA NITROBENZYL ESTER) DE METHYL

	1				and the second se		A CONTRACTOR OF		Contractor in succession of the		and the second	and the second secon	£.
X5	270	252	236	242	81	63	33	275	279	5	269	105	and a subscription of the
X4,	0	130	227	341	139	177	4	171	239	309	133	252	an in the second second second second
×,	06	250	109	117	238	242	346	113	108	105	242	249	
×2,	240	317	231	227	71	30	271	61	77	328	310	142	synthesis at the second second
×,	60	327	42	33	181	290	276	304	57	240	65	59	of a second second
X5	270	264	304	61	284	263	206	LL.	275	26	251	117	r gallening and an annual the without
X4	0	235	222	10	219	210	2 95	121	136	156	178	195	
X ₃	06	109	143	269	122	121	217	115	117	87	248	239	
X2	240	54	289	115	2 99	299	323	70	76	282	100	8	*******
×1	60	298	66	134	301	307	N	176	1 93	1 02	185	2.95	
°. €	96	86	95	111	283	269	164	250	258	230	118	118	
°2 S	240	12	ო	166	66	1 93	50	340	214	224	143	145	
\mathbf{x}_{2}	300	54	208	221	28	54	210	230	30 3	1	22.4	212	
μΨ	240	304	149	164	321	302	30	152	154	180	150	299	
Υ1	300	252	206	133	295	287	280	205	213	303	61	68	
ы		837 , 0	826,7		839,3	835,9		829,1	842,4		834,7	846,2	
ω	ື່ວ			ື່ວ			3 , 5			3,5			
		ler Sens	2ème Sens		ler Sens	2ème Sens		ler Sens	2ème Sens		ler Sens	2ème Sens	
	DEPART	0 D T 1755		DEPART	ARRIVEE		DEPART		AKKIVEE	DEPART		ARRIVEE	E E

1
6
1
H
Η
D
4
Щ.
H.
р р
≤
r .

σ

		41	4 1	4 23	,∾	⇒.w	×	× ²	×°	×	×2	*×"	×, ×,	• ≻ "	,×,	×2°
DEPART															-	
	ler Sens	q	50	ę	H	Û	f	e	9	ပ	Q	ч	50	q	7	q
ЯЯХТАЯ	2ème Sens	Ą	80	٩	1	ß	4	ан 4н	œ	U	Б0	ß	v	9	υ	U
DEPART																
ARRIVEE	ler Sens	O	ч	ю	5	Ŧ	60	ų	7	٩	٩	ъ	4	υ	7	വ
	2ème Sens	Ĥ	60	m	ત્ય	0	50	ą	7	٩	υ	ų	0	יס	500	ى ى
DEPART																
	ler Sens	م	œ	ల	ч	J	თ	4	9	4	4	50	4	9	6,	υ
AKKIVEE	2ème Sens	ą	œ	2	٩	σ	t7	4	9	2	Ū	ო	4	9	ပ	ω
DEPART			50 (48976) (2) (2) (2) (2) (2) (2) (2) (2) (2) (2													
	ler Sens	4	∞	v	80	9	Ś	വ	q	6	σ	4	60	ס	7	Q
ARRIVEE	2ème Sens	4	ξų	Ą	000	Q	4-1	сл	ບ	ർ	Q	ო	œ	q	q	9
BUS	N ACYL	ASPAR	TYL (β	PARA	N I TRO	BENZYL	ESTER) ASPA	ARTATE	(B P	ARA NJ	(TROBE	NZYL E	STER)	DE MET	HYL

- 63 -

E - CONCLUSIONS

L'analyse conformationnelle des N acyl aspartates (β nitrobenzyl ester) de méthyl et des N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl, entraîne les remarques suivantes :

. La conformation d'un produit donné ne dépend pas de la position du substituant nitro dans la chaîne latérale.

. Trois puits de potentiel sont mis en évidence pour les monomères, et quatre puits de potentiel pour les dimères. Les chaînes β parallèles et β antiparallèles semblent favorisées. L'hélice α droite, mise en évidence par SCHERAGA (8) n'est pas incompatible avec nos résultats, mais ne serait réellement stabilisée que pour des peptides de longueur suffisante.

. Dans un dimère les 2 acides aminés n'ont pas forcément la même conformation.

. Enfin, la chaîne latérale ne semble pas adopter de conformation privilégiée et il semble y avoir une certaine indépendance des chaînes latérales dans les dimères.

CHAPITRE III

438

ETUDE DES PEPTIDES

PAR

RESONANCE MAGNETIQUE DU PROTON

A - LA RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE DU PROTON

I - Rappels théoriques

- 1 Généralités
- 2 Résonance magnétique nucléaire
- 3 Le glissement chimique
- 4 Le couplage spin spin
- 5 Analyse des spectres
 - a Les différents types de spectres, nomenclature
 - b Système AB
 - c Système ABX
- II Application de la RMN à l'étude des peptides en solution
 - 1 Constante de couplage ${}^{3}J(NH \alpha CH)$
 - 2 La constante de couplage $J_{\alpha\beta}$
 - 3 Limites d'utilisation d'une relation du type KARPLUS

B - RESULTATS EXPERIMENTAUX

- I Spectres RMN des dérivés de l'aspartate de nitrobenzyle
 - 1 Spectres RMN des monomères
 - a Spectres RMN des chlorhydrates d'aspartate (βnitrobenzyl ester) de méthyl
 - b Spectres RMN des N acyl aspartate (βnitrobenzyl ester) de méthyl.

- 2 Spectres RMN des dimères
 - a Spectres RMN des N tertiobutyloxycarbonyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl.
 - b Spectres RMN des N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl.

II - Spectres RMN des dérivés des glutamates de nitrobenzyle

- 1 Spectres RMN des monomères
 - a Spectres RMN des chlorhydrates de glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl.
 - b Spectres RMN des N acyl glutamates (γ nitrobenzyl ester) de méthyl.
- 2 Spectres RMN des dimères
 - a Spectres RMN des N tertiobutyloxycarbonyl glutamyl
 (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de
 méthyl.
 - b Spectres RMN des N acyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester)
 glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl.
- III Estimation de l'angle de torsion ϕ au moyen d'une relation type KARPLUS
- IV Considérations sur les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}}H_{\beta}$
 - 1 <u>Résultats obtenus par BRADBURY et ses collaborateurs concernant</u> la chaîne latérale du polyaspartate de beazyle
 - 2 Les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ associées aux dérivés des aspartates de nitrobenzyle.

C - CONCLUSION DE L'ETUDE RMN DES PEPTIDES

A - LA RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE DU PROTON

I - RAPPELS THEORIQUES

1 - <u>Généralités</u>

Les moments cinétique \overrightarrow{P} , et magnétique $\overrightarrow{\mu}$ engendrés par un noyau atomique, assimilé à une particule sphérique chargée, tournant autour d'un axe, sont colinéaires. On a la relation :

$$\dot{\mu} = \gamma \dot{P}$$

dans laquelle y est le rapport gyromagnétique

Le moment cinétique \overrightarrow{P} est quantifié en $\frac{h}{2\pi}$:

$$\dot{P} = \frac{h}{2\pi}$$

où h est la constante de PLANCK et

Î le vecteur spin nucléaire.

On a donc :

$$\vec{\mu} = \gamma \frac{h}{2\pi} \vec{I}$$

Lorsqu'on place un noyau atomique dans un champ magnétique extérieur \vec{H}_{O} , le moment magnétique $\vec{\mu}$ ne peut prendre que 2 I + 1 orientations par rapport à \vec{H}_{O} , et la projection de $\vec{\mu}$ sur \vec{H}_{O} a pour valeurs :

m Y
$$\frac{h}{2\pi}$$

avec m = -I; -(I-1);; 0...(I-1); I

I est le nombre quantique de spin du noyau considéré. Il vaut $\frac{1}{2}$ pour le proton $\frac{1}{1}$ H.
Lorsque I = $\frac{1}{2}$, le vecteur moment magnétique $\stackrel{\rightarrow}{\mu}$ ne peut être que parallèle ou antiparallèle au vecteur champ magnétique $\stackrel{\rightarrow}{H}_{o}$. Il en résulte que l'ensemble des noyaux protoniques se répartit dans deux niveaux énergétiques E_1 et E_2 , dont les populations P_1 et P_2 suivent une loi de BOLTZMAN.



On a :

 $\frac{P_2}{P_1} = e - \frac{(E_2 - E_1)}{kT}$

Cette distribution inégale des noyaux dans deux états différents de spin, crée une aimantation macroscopique $\stackrel{\rightarrow}{M}_{O}$, caractérisée par une susceptibilité paramagnétique X

$$\dot{M}_{o} = \chi \dot{H}_{o}$$

Le paramagnétisme nucléaire statique est faible ($\chi = 10^{-10}$), il est masqué par le diamagnétisme électronique, pour lequel χ_e est de l'ordre de 10⁻⁵ à 10⁻⁶.

2 - Résonance Magnétique Nucléaire

La détection d'un faible paramagnétisme ne peut se faire avec une bonne précision, qu'au moyen de méthodes dynamiques qui utilisent le principe de la résonance. Pour cela, un champ magnétique de radiofréquence vest disposé perpendiculairement par rapport au champ de polarisation \overrightarrow{H}_{0} . La résonance est obtenue lorsque $v = v_{0}$ (fréquence de LARMOR) avec :

$$v_{o} = \frac{\gamma H_{o}}{2\pi}$$

Actuellement, pour obtenir la résonance, on laisse la fréquence v fixe et on fait varier l'intensité du champ de polarisation H_o.

3 - Le glissement chimique

Le mouvement des électrons qui entourent le noyau des atomes, produit des petits champs magnétiques locaux, proportionnels au champ appliqué. Un noyau donné est donc soumis à un champ effectif H_{eff} tel que :

$$H_{eff} = H_{O} (1 - \sigma)$$

σ: constante d'écran

L'amplitude de cet effet d'écran dépend de la nature de l'environnement chimique du noyau considéré, et se traduit par une valeur différente de la fréquence de résonance. C'est ce qu'on appelle le "glissement chimique".

Pour chiffrer le glissement chimique, on utilise une substance de référence telle que tous ses protons soient équivalents. En milieu organique, la référence la plus employée est le tétraméthylsilane (TMS) $Si(CH_3)_4$; en milieu aqueux, on prend comme référence le 2.2 diméthylsilapentane 5 sulfonate de sodium (DSS) : CH_3

$$CH_3 =$$

 $Si = CH_2 = CH_2 = CH_2 = SO_3Na$
 $CH_3 = CH_2 = CH_2 = SO_3Na$

On peut alors :

- Exprimer la différence Δ entre la fréquence d'absorption du proton étudié et la fréquence d'absorption de la référence :

$$\Delta = v_{ech} - v_{ref}$$

- Utiliser un paramètre sans dimension δ , indépendant du champ magnétique H_, appelé déplacement chimique.

$$\delta = \frac{\gamma_{ech} - \gamma_{ref}}{\gamma_{o}} \quad 10^{6} = \frac{H_{ech} - H_{ref}}{H_{o}} \quad 10^{6}$$

 δ s'exprime en ppm (parties pour million).

4 - Le couplage spin - spin

En plus des champs magnétiques locaux produits par le mouvement des électrons, il existe des champs locaux produits par la présence d'autres noyaux dans la molécule qui ont un moment magnétique non nul. L'interaction entre deux spins nucléaires, est appelée couplage spin - spin, et se traduit par l'observation de multiplets dans les spectres RMN haute résolution.

La distance entre deux raies voisines d'un même massif est appelée constante de couplage J, elle s'exprime en Hertz. La constante de couplage dépend de la nature électronique (degré d'hybridation) des liaisons mises en jeu, des orientations relatives des spins nucléaires (angles de liaison) et de la température. Elle est indépendante du champ \hat{H}_{a} .

Les constantes de couplage sont souvent désignées par le symbole ⁿJ, l'exposant n indiquant le nombre de liaisons qui séparent les noyaux couplés. Les constantes de couplage ²J entre protons "géminés" et ³J entre protons dits "voisins" (ou vicinaux selon la terminologie anglo saxonne) ont généralement des valeurs importantes; par contre, les couplages pour lesquels n est supérieur à 3 appelés d'une manière générale "couplage à longue distance" sont souvent faibles.

La détermination des constantes de couplage n'est pas toujours immédiate et l'analyse d'un spectre RMN devient rapidement complexe lorsque le nombre le nombre de noyaux couplés augmente.

5 - Analyse des spectres (57)

a - Les différents types de spectres, nomenclature

Si nous considérons deux protons i et j, deux cas peuvent se présenter :

- soit que la valeur absolue de la différence $\begin{array}{c} v & -v \\ i & j \end{array}$ est grande devant J_i, les noyaux sont alors dits faiblement couplés

- soit que la valeur absolue de la différence $v_j - v_j$ est de l'ordre de grandeur de J_i, les protons i et j sont alors dits fortement couplés.

En pratique, on considère que deux noyaux sont fortement couplés, lorsque le rapport $\frac{\begin{vmatrix} v & -v \\ i & j \end{vmatrix}}{J_{ii}}$ est inférieur à 5.

Conventionnellement, on désigne par des lettres prises dans des parties différentes de l'alphabet : A....M et X les noyaux ou groupes de noyaux faiblement couplés, et par des lettres prises dans une même partie de l'alphabet ABC ou KLM ou XYZ les noyaux ou groupes de noyaux fortement couplés. Les noyaux équivalents sont désignés par la même lettre. Les noyaux ayant même déplacement chimique, mais étant différemment couplés aux autres spins, sont habituellement notés avec le symbole "prime".

Le spectre d'un ensemble de noyaux faiblement couplés est "analysable au premier ordre", c'est-à-dire que l'application des deux règles suivantes, permet d'élucider un spectre de résonance magnétique du proton. - le nombre de composantes du multiplet associé à un proton faiblement couplé avec plusieurs groupes de x, y, z...protons, est égal à :

 $(x+1)(y+1)(z+1) \dots$

- l'intensité des raies d'un multiplet résultant du couplage avec x noyaux équivalents, est donnée par le triangle de PASCAL :

 x = 1 1
 1

 x = 2 1
 2
 1

 x = 3 1
 3
 3
 1

Le dépouillement d'un spectre RMN fortement couplé n'est pas immédiat et nécessite une "analyse au second ordre". Pour un certain nombre de spectres types, il existe des expressions analytiques permettant de calculer les fréquences de transition et les constantes de couplage, à partir des résultats expérimentaux. Dans un premier temps, on vérifie que le spectre obtenu s'identifie à un spectre connu ou non ; dans le cas défavorable, on peut faire une décomposition systématique en sous spectres connus.

- 72 -

Lorsque les spectres deviennent trop complexes, on peut recourir à l'analyse par ordinateur, en simulant le spectre expérimental.

Mais ce procédé nécessite une certaine connaissance initiale du système étudié. On est obligé par exemple, de déterminer au préalable les niveaux d'énergie, ou d'évaluer de façon assez précise les déplacements chimiques et les constantes de couplage, dont les valeurs sont ensuites améliorées par itération.

Si l'échantillon est en quantité suffisante, il est préférable d'utiliser une technique expérimentale pour en interpréter le spectre RMN, technique basée sur l'utilisation des résonances multiples.

Dans notre étude, nous avons dépouillé au second ordre deux types de spectres : le spectre AB et le spectre ABX pour lesquels nous allons donner quelques précisions.

b - Le spectre AB

Les spectres AB se présentent sous forme de quatres raies(numérotées de 1 à 4), dont les fréquences vérifient les relations suivantes :

L'intensité des transitions est telle que : $I_1 = I_4$ $I_2 = I_3$

D'une manière plus précise, nous avons :

Numéro des raies	Probabilité
1	$1 - \sin 2 \theta$
2	$1 + \sin 2 \theta$
3	1 + sin 2θ
4	1 - sin 2θ
	a

avec $D \sin 2^{\theta} = J_{AB}$

 $D \cos 2^{\theta} = v - v_{B}$

c - Le spectre ABX

Un spectre ABX se compose de 4 raies A, 4 raies B, 4 raies X et 2 raies de combinaison, soit au total 14 raies (numérotées de 1 à 14). Le signe relatif des constantes de couplage affectent l'apparence d'un spectre ABX, comme on peut le voir sur la figure (III-1) plus précisément, l'intensité et la position des transitions dépendent des signes relatifs de J_{AX} et J_{BX} , mais sont indépendantes du signe de J_{AB} .

La partie AB du spectre se compose de deux pseudo quartets qui peuvent se recouvrir partiellement ou totalement ou ne pas se recouvrir du tout. La partie X du spectre consiste en 6 raies symétriques par rapport à v_x .

Il existe un certain nombre de relations entre les fréquences d'une part et les intensités d'autre part, des 14 transitions qui forment le spectre ABX.

Pour la partie AB nous avons : $v_1 - v_3 = v_2 - v_4 = v_5 - v_7 = v_6 - v_8 = J_{AB}$ $v_1 - v_5 = v_3 - v_7 = 2 D_+$ $v_2 - v_6 = v_4 - v_8 = 2 D_-$

Pour la partie X nous avons :

 $v_{9} - v_{12} = J_{AX} + J_{BX}$ $v_{10} - v_{11} = 2 (D_{\oplus} - D_{\ominus})$ $v_{13} - v_{14} = 2 (D_{\oplus} - D_{\ominus})$

L'intensité des raies est proportionnelle aux probabilités de transition rassemblées dans le tableau III-1.



Numéro des raies	Probabilité
	$1 - \sin 2 \theta_+$
ے کے 2 ۸	$1 - \sin 2 \theta_{-}$
A 3	$1 + \sin 2 \theta +$
4	$1 + \sin 2 \theta_{-}$
(5	$1 + \sin 2 \theta +$
) 6	$1 + \sin 2 \theta$
₽ 7	$1 - \sin 2 \theta$
8	$1 - \sin 2 \theta_{-}$
(9	1
) 10	$\cos^2(\theta_+ - \theta)$
X 11	$\cos^2(\theta_+ - \theta)$
12	1
(13	$\sin^2(\theta_+ - \theta)$
Combinaison { 14	$\sin^2(\theta_+ - \theta)$



De plus, nous avons les relations suivantes :

$$\frac{(\nu_{A} - \nu_{B})}{2} + \frac{J_{AX} - J_{BX}}{4} = \frac{\pm \sqrt{D_{+}^{2} - J_{AB}^{2}}}{4}$$
qui permettent de calculer
$$\frac{(\nu_{A} - \nu_{B})}{2} - \frac{(J_{AX} - J_{BX})}{4} = \pm \sqrt{D_{-}^{2} - J_{AB}^{2}}$$

 $D_{-} \sin 2 \theta_{-} = \frac{J_{AB}}{2}$ $D_{-} \cos 2 \theta_{-} = \frac{v_{A} - v_{B}}{2} - \frac{J_{AX} - J_{BX}}{4}$ $D_{+} \sin 2 \theta_{+} = \frac{J_{AB}}{2}$ $D_{+} \cos 2 \theta_{+} = \frac{v_{A} - v_{B}}{2} + \frac{J_{AX} - J_{BX}}{4}$

Le calcul des paramètres $v_A - v_B$, J_{AX} et J_{BX} n'est pas univoque, mais la prise en considération de l'intensité des transitions permet de choisir parmi les deux solutions mathématiques possibles.

II - APPLICATION DE LA RMN A L'ETUDE DES PEPTIDES EN SOLUTION

La RMN, s'est très rapidement révélée comme un moyen puissant d'étude de la structure des peptides d'intérêt biologique (58) et des peptides synthétiques en solution (59) à (63).

1 - La constante de couplage ${}^{3}J$ (NH - α CH)

Les premiers travaux théoriques visant à relier une constante de couplage 3 J avec la géométrie de la molécule ont été faits par KARPLUS sur les dérivés de substitution de l'éthane (64) (65). Ils se traduisent par une relation trigonométrique faisant intervenir l'angle θ du dièdre formé par les plans H - C - C' et C - C' - H' de la molécule - $\begin{pmatrix} i & i \\ C & - C' \\ I & H \end{pmatrix}$

et la valeur expérimentale de la constante de couplage ${}^{3}J_{CH-C'H'}$

$${}^{3}J_{CH - C'H'} = A + B \cos \theta + C \cos 2 \theta$$

Il est alors apparu intéressant à de nombreux chercheurs d'établir une relation semblable pour la constante de couplage ${}^{3}J_{NH-\alpha}_{CH}$ entre le proton de la liaison amide et l'hydrogène porté par le carbone α d'une unité peptidique. Aussi, des travaux théoriques et expérimentaux ont-ils été largement entrepris ces dernières années pour relier ${}^{3}J_{CH-\alpha CH}$ à l'angle θ du dièdre d'arête N - α C, dont les faces s'appuient sur les liaisons N - H et C - H, d'un peptide (59) et (66) à (68).



FIGURE III-2

En s'inspirant des travaux de KARPLUS sur les dérivés substitués de l'éthane et sur les hydrocarbures éthyléniques (69), BYSTROV et ses collaborateurs expriment $J_{NH} - \alpha CH$ en fonction de θ par la relation :

$$J_{\rm NH-\alpha CH} = A\cos^2\theta - B\cos\theta + C\sin^2\theta$$

où A, B et C sont des constantes.

Il existe une relation simple, entre θ et l'angle de torsion ϕ défini au chapitre II.

On a : $\theta = |60 - \phi|$ avec $0 \le \theta \le 180$

Nous avons visualisé les angles θ et ϕ sur la figure III-3.

Les auteurs soviétiques déterminent les constantes A, B et C en utilisant comme molécules modèles : la N méthylacétamide et des peptides dérivés de l'alanine. Ils trouvent :

> $A = 8,9 \pm 0,9 \text{ Hz}$ B = 0,9 ± 0,9 Hz C = 0,9 ± 0,9 Hz.



Figure III- 3



 $J_{corr}(\theta) = (4,55 \pm 0,25) \cos 2\theta - (3,55 \pm 0,35) \cos^{\theta} + (4,8 \pm 0,1)$ c'est-à-dire :

 $J_{corr}(\theta) = (9,10 \pm 0,50) \cos^2 \theta - (3,55 \pm 0,35) \cos^{\theta} + (0,25 \pm 0,35)$

avec : $J_{corr} = J_{exp} (1 - a \sum_{i} \Delta E_{i})^{-1}$

 J_{exp} : valeur expérimentale de la constante de couplage ${}^{3}J_{NH} - \alpha CH$ ΔE_{i} : différence d'électronégativité entre le substituant i et l'hydrogène a : coefficient voisin de 0,1

Récemment, BALASHOVA et OVCHINNIKOV (67) ont réestimé les coefficients A, B et C. A partir d'observations faites sur la gramicidine S et la valinomycine, ils proposent :

$$J_{corr} = 9.4 \cos^2 \theta - 1.1 \cos \theta + 0.4$$

avec :

 $J_{corr} = 1,09 J_{exp}$

Selon BOVEY (70) la relation précédente est valable sans correction pour des valeurs de $J_{NH-\alpha CH}$ comprises entre 0,5 Hz et 11,0 Hz.

Nous avons représenté sur la figure III-4 les fonctions $J_{NH} - \alpha CH$ (0).

2 - La constante de couplage $\begin{array}{c} 3\\ \alpha\beta\end{array}$

La conformation de la chaîne latérale d'un acide aminé est fonction de l'angle de torsion χ_1 . Il est donc intéressant de posséder une relation de type KARPLUS reliant la constante de couplage ${}^3J_{\alpha\beta}$ entre le proton porté par le carbone α et un proton attaché au carbone β de la chaîne



latérale, avec l'angle ω du dièdre d'arête C –C dont les faces s'appuient sur les liaisons C – H et C –H .

Récemment, KOPPLE et ses collaborateurs (71) ont proposé la relation suivante :

$$J_{\alpha\beta} = 11,0\cos^{2}\omega - 1,4\cos\omega + 1,6\sin^{2}\omega$$

 $\omega_2 = 240 - \chi_1$

l'angle ω est relié à l'angle χ_1 :

pour le proton H_{β_1} $\omega_1 = 360 - \chi_1$

et

pour le proton H_{β_2}



FIGURE III-5

En fait, même s'il n'existe que 3 valeurs privilégiées de l'angle χ_1 qui correspondent aux conformations décalées (72) à (75), la constante de couplage ${}^{3}J_{\alpha\beta}$ mesurée est une moyenne pondérée des constantes de couplage associées aux différents rotamères existant en solution. Par conséquent, la relation de KOPPLE n'a reçu jusqu'à maintenant que peu d'applications.

3 - Limites d'utilisation d'une relation du type KARPLUS

Une relation du type KARPLUS donne des informations valables sur la conformation d'une molécule, lorsque celle-ci est figée. Mais lorsqu'on a affaire à un mélange dynamique de rotamères, la constante de couplage mesurée est en fait une valeur moyenne pondérée des constantes de couplage correspondant aux différents rotamères . Dans le cas d'un peptide, on a en toute rigueur :

$$J_{\rm NH-\alpha CH}_{\rm obs} = \langle J_{\rm NH-\alpha CH} \rangle = \left\langle J_{\rm e} - \frac{V(\phi, \Psi, \chi_1 \cdots \chi_n)}{kT} - d\phi \, d\Psi \, d\chi_1 \cdots d\chi_n \right\rangle$$

avec V(ϕ, Ψ, χ) énergie potentielle de la conformation décrite par les angles ϕ , Ψ et χ_1, \ldots, χ_n .

le symbole **9** signifie que l'on intègre sur l'espace de l'ensemble des degrés de liberté.

De plus, la résolution de l'équation de KARPLUS conduit en général à deux ou quatre valeurs de l'angle ϕ . Il est donc intéressant de combiner les résultats obtenus par une relation type KARPLUS avec ceux que donne l'analyse conformationnelle, pour lever l'indétermination (61).

Enfin, certains calculs théoriques (76) à (78) suggèrent que la présence d'un doublet électronique libre sur l'atome d'azote et que l'existence d'une liaison hydrogène dans laquelle le proton de la liaison peptidique est engagé, modifient la valeur des paramètres A, B et C de la relation de KARPLUS. Cependant, on peut noter que la relation de KARPLUS a été utilisée sans modification des paramètres A, B, C et a conduit à des résultats cohérents. B - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Les spectres de résonance magnétique du proton ont été enregistrés au Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay, sur un spectromètre THOMSON CAMECA 250 MHz.

Nous avons utilisé comme solvants l'eau deutérée pour les composés sous forme de chlorhydrate, et le chloroforme deutéré pour les autres composés. La substance de référence utilisée est soit le DSS pour le solvant eau deutérée, soit le TMS pour le solvant chloroforme deutéré.

L'étude a été faite à température ambiante, et a porté d'une part sur les monomères sous forme de chlorhydrate et sous forme acylée, et d'autre part, sur les dimères soit N protégés par le groupement tertiobutyloxycarbonyle, soit par le groupement acyl. D'une manière générale, nous n'avons pas mentionné les résultats concernant les protons des noyaux benzéniques, car ils ne présentent pas d'intérêt pour l'étude que nous nous sommes proposée.

I - SPECTRES RMN DES DERIVES DE L'ASPARTATE DE NITROBENZYLE

- 1 Spectres RMN des monomères
 - a Spectres RMN des chlorhydrates d'aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl

Les chlorhydrates d'aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl, ont pour formule chimique :



Compte non tenu de la région caractéristique des protons aromatiques, les spectres RMN des trois isomères nitrés et du chlorhydrate d'aspartate (β benzyl ester) de méthyl, sont semblables à celui représenté Figure III-6. On voit que :

- les 3 protons du groupement méthyl de la fonction ester donnent naissance à un seul pic vers 3,8 ppm.

- les 2 protons benzyliques - $0 - CH_2$ - résonnent vers 5,3 ppm. Dans le cas du chlorhydrate d'aspartate (β benzyl ester) de méthyl, il apparaît une structure fine caractéristique d'un système AB, pour laquelle nous avons pu calculer la constante de couplage J.

- il y a un échange rapide des protons portés par l'atome d'azote avec les atomes de deutérium de l'eau lourde.

- le protona <u>CH</u> et les deux protons β <u>CH</u>₂ forment un système ABX qui a été analysé selon la méthode décrite précédemment exposée. Les raies de combinaison sont trop peu intenses pour être distinguées du bruit de fond. Sur la figure III -9 nous avons tracé le spectre ABX analysé. Il correspond au cas C de la figure III-1.

Les résultats obtenus sur les chlorhydrates de monomère sont rassemblés dans le tableau III-2.

On peut remarquer que les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta_1}}$, $J_{H_{\alpha}H_{\beta_2}}$ ou $J_{H_{\beta_1}H_{\beta_2}}$ sont respectivement très voisines les unes des autres pour les trois isomères nitrés.

Le pic correspondant aux protons CH₂ benzyle est déplacé vers les bas champs dans l'isomère "ortho". Cela peut s'expliquer par le fait que le groupement nitro dans la position "ortho" est proche des atomes d'hydrogène CH₀ benzyle, ce qui crée un effet de déblindage sensible à ce niveau



Les protons du dérivé benzylé ont un glissement chimique légèrement plus faible que celui des protons semblables des dérivés nitrés.

La différence la plus importante est enregistrée pour les protons CH₂ benzyle, qui, dans le chlorhydrate d'aspartate (β benzyl ester) de méthyl ne sont pas équivalents, et donnent naissance à deux doublets.



- cH ₃	б ррт			3,76				3,79				3,79				3,86	
-	$\Delta_{\mathbf{Hz}}$			940				947				947				965	
- 3	JGem			12,0													
H) - CH	opm bpm	5,29	5,24	5,22	5,17			5,59				5,34				5,37	
-	Δ_{Hz}	1321	1308,8	1305,2	1293			1397				1336				1344	
AB)	$J_{H_{\beta_1}-H_{\beta_2}}$			18,0			-	18,7				18,7				18,8	
(PARTIE	${}^{\mu}{}_{\beta_1}{}^{-}{}^{\nu}{}_{H\beta_2}$			21,2				23,0				21,6				19,37	
β CH ₂	$^{\Delta}_{\mathbf{Hz}}$	825,6 820	807,8 802,3	7 98 7 93	779,6 774,8	847,2 841,4	828,4 822,6	817,5 812,4	798,8 793,6	846,9 841	828,1 822,2	818 812,8	799,3 793,1	863 857,2	844,3 838,4	835,6 830,6	817 811,8
(X	$J_{H_{\alpha}H_{\beta_2}}$			5,62				5,95				6,03				6,06	
ARTIE	$J_{H_{\alpha}H_{\beta_1}}$			4,57				5,05				4,97				4,94	
CH (F	δ ppm		4,52	4,50	4,48		4,59	4,57	4,55		4,65	4,63	4,60		4,52	4,50	4,48
ಶ	$\Delta_{\mathbf{Hz}}$		1130	1125	1120	~	1147,4	1142	1136,6		1162,5	1157	1151,5		1130,4	1125	1119,6
								ORTHO				META				PARA	
				not, n - asp - one Bz1					ور €	$c_1 \sqrt{3} HN - c_H \sqrt{a} - c_1 \sqrt{a}$		- 4	с Н Э		•	B	US

TABLEAU III-2

- oo -

b - Spectres RMN des N acyl aspartate (β.nitrobenzyl ester) de méthyl

Les N acyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl ont pour formule chimique :



Les spectres RMN de ces composés sont tous semblables à celui représenté figure III-7.

Le proton N-H, le proton α CH et les deux protons β CH $_2$ forment un système ABMX.

Le proton N-H (partie X du spectre) est couplé avec le proton $\alpha \underline{CH}$ (partie M) et donne naissance à un doublet centré vers 6,6 ppm sur lequel on peut mesurer directement la constante de couplage J_{MX} (c'est-à-dire $J_{(NH-\alpha CH)}$.

Le proton α CH est couplé avec le proton porté par l'atome d'azote et les deux protons β CH₂; c'est donc un massif à 6 pics apparents et non plus trois pics comme c'était le cas pour les chlorhydrates d'aspartate de (β nitrobenzyl ester) de méthyl.

Le traitement au second ordre du sous spectre ABM pour les 4 dérivés acylés montre que les paramètres D_+ et D_- extraits des spectres sont égaux aux erreurs expérimentales près, le sous spectre ABM se ramène donc au cas plus simple A_2^M et les constantes de couplage J_{AM} et J_{BM} sont égales.

L'examen du tableau III-3 fait apparaître que quelque soit l'isomère considéré, les constantes de couplage $J_{NH-\alpha CH}$, $J_{H\alpha H\beta}$ et $J_{H\beta}$ sont identiques.



÷	N-Н (Р	ARTIE	X)	α CH	α CH (PARTIE M)				βCH_2 (PARTIE AB)				сн ₂ -	- 0	-сн _з	СН	3
	▲ _{Hz}	δ ppm) NH-xCl	${}^{\vartriangle}_{\mathbf{Hz}}$	$\delta_{\tt ppm}$	J H ₂ H _{β1}	J _{H₄} H _{β₂}	۱ ک	łz	UHB-HB2) Η _{β1} -Η _{β2}	$\Delta_{\mathbf{Hz}}$	δ _{ppm}	∆Hz	δ _{ppm}	$\Delta_{\mathbf{Hz}}$	δ _{ppm}
Ac - Asp - OMe I OBzl	1639 1631	6,56 6,524	8,0	1224,7 1220,4 1217 1216,1 1212,5 1207,9	4,89 4,88 4,87 4,86 4,85 4,83	4,4	4,4	774,4 757,4 732,5 715,5	769,9 752,9 728,1 710,8	38,45	16,9	1275	5,10	925	3,70	495	1,98
$CH_{3} - C - HN - CH - C = C = O = O = C = O = C = O = C = O = C = O = O$	1663 9 1656,1	6,65	7,8	1232,5 1228 1224 1220 1215,5	4,93 4,91 4,89 4,88 4,88	4,25	4,25	800 783,25 760 744,3	795,5 778,5 755,5 738,5	36,21	17	1380	5,52	930	3,72	510	2,04
i CH ₂ NO ₂ M E T A	1648,9 1641,1	6,59 6,56	7,8	1235 1230,5 1227 1226,5 1222,5 1218,3	4,94 4,92 4,91 4,90 4,89 4,87	4,5	4,5	790 773 755 737,5	785,5 768 750,5 733,5	29,87	17,25	1325	5,30	937	3,75	510	2,04
P A R A R	1658,9 1651,1	6,63 6,60	7,8	1235 1230,5 1227 1226 1222,5 1218	4,94 4,92 4,91 4,90 4,89 4,89	4,5	4,5	7 90 773 755 737,5	785,5 768 750,5 733,5	27,54	17,25	1310	5,24	915	3,66	510	2,04

TADIEAU TTT 9

і 85 і Les déplacements chimiques sont plus faibles dans le cas du N acyl aspartate (β benzyl ester) de méthyl que dans le cas des produits nitrés.

On retrouve l'effet de déblindage sur les protons \underline{CH}_2 benzyle dans le cas de l'isomère "ortho".

2 - Spectres RMN des dimères

a - Spectres des N tertiobutyloxycarbonyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de méthyl.

L'existence des groupements protecteurs entraîne que chaque acide aminé dans le dimère, n'a pas le même environnement chimique. Par conséquent, les protons appartenant au premier acide aminé seront repérés par l'indice I, et les protons appartenant au second acide aminé seront suivis de l'indice II, conformément au schéma suivant :



Les spectres RMN sont identiques à celui représenté figure III-8. Les résultats sont rassemblés dans le tableau III-4.

Pour chaque acide aminé, le proton N-H, le proton α CH et les deux protons β CH₂ forment un système ABMX.

Les protons NH_{I} et NH_{II} (parties X_{I} et X_{II}) sont respectivement couplés avec les protons $H_{\alpha_{I}}$ et $H_{\alpha_{II}}$ (parties M_{I} et M_{II}) et donnent naissance à deux doublets séparés d'environ 400 Hz sur le spectre.



			ORTHOMETAPARHz185518471847 ppm 7,427,397,3 αCH 7,48,07,8 $a CH$ 7,48,07,8 $a CH$ 1218,251222,51218121412101213,7512041209,1512051195 β_1 4.384,77 β_2 4,124,23 $4,77$ 768758,5 772 768758,5 $748,75$ 743,75733,5 $726,5$ 716,25711,5 $716,25$ 711,5721,75 H_{β_2} 37,5438,76 $37,54$ 38,7637, H_{β_2} 1303130m5,535,21 $5,53$ 5,215,2m5,55,18 930 935930				A	
		Δ Hz	185	55	184	7	184	6
r-i	NH _{II}	ö ppm	7,4	42	7,3	9	7,3	8
CH ₃		^J NH -αCH	7,4	1	8,0		7,8	
		$\Delta_{\mathbf{Hz}}$	1222,5 1214 120	1218,25 1210 9,15	1222,5 1213,75 1205	1218 1209,75	1212,3 1204 1195	1207,5 1199,8
	ach ^{II}	$J_{\rm HxH\beta}$	4,3	38	4,7'	7	4,73	
		J HαHβ ₂	4,1	.2	4,23	3	4,4	7
		Δ_{Hz}	789,75 772 748,75 731	785 768 743,75 726,5	775,5 758,5 733,5 716,25	771,25 754,5 728,5 711,5	779,75 763 739,25 721,75	775,5 758,5 734,25 717
	CH211	$\nu_{H\beta_1} - \mu_{\beta_2}$	37,	54	38,76		37,3	39
5-0-5		$J_{H_{\beta_1}-H_{\beta_2}}$	17,	38	17,1	.2	17,1	2
н СШ		$\mathcal{L}_{\mathbf{Hz}}$	138	2	1303	3	1305	5
	O-CH ₂	$^{\delta}{}_{\mathtt{ppm}}$	5,5	3	5,21		5,22	2
		$^{\Delta}_{ m Hz}$	137	5	1296	j	1305	
	0-сн ₂	$\delta_{{f ppm}}$	ō,	5	5,18	3	5,22	
	O-CH ₃	∆ _{Hz}	93	0	935		930	
	τ».	$\delta_{ t ppm}$	3,7	2	3,74		3,72	

TABLEAU III-4

BUS

			ORTHO	META	PARA	
		[∆] Hz	1 405	1 400	1399	
	NHI	$\delta_{ extbf{ppm}}$	5,62	5,60	5,60	
- CH ₃		J _{NH-aCH}	7,6	8,0	8,2	
		${}^{\vartriangle}_{Hm{z}}$	1150	1150	1144	
	αCH_{I}	^J HαHβ ₁	5,5	6,0	6,0	
		$^{J}_{H_{\alpha}H_{\beta_{2}}}$	4, 5	4,25	. 4,5	
			804,75 795,2	5 778 773,25	784 779,75	
	1		787,75 783,5	760,75 756,75	767,5 762,75	
		Δ Hz	717,5 710	698,5 682	705,5 699,75	
			700,5 695	681 675	688,25 682,5	
CH ₃ CH ₃	BCH ² 1	$v_{H_{\beta 1}} v_{H_{\beta 2}}$	86,85	78,63	77,59	
CH ³		$J_{H_{\beta_1}} H_{\beta_2}$	17,0	17,25	17,0	
 	(CH ₃) ₃	∆ ∦iz	362	362	365	
		õ ppm	1 , 45	1,45	1,46	

TABLEAU III-4 suite



Nous avons attribué le pic N-H correspondant aux champs élevés, au proton de la fonction uréthane, en accord avec BYSTROV et ses collaborateurs (39).

Chaque proton α CH reste couplé avec l'hydrogène porté par l'atome d'azote et les deux protons β CH₂ voisins.

Le massif αCH_{II} possède une structure fine qui permet de faire une analyse complète au second ordre du sous spectre (ABM)_{II}. Par contre, le massif αCH_I ne présente pas de structure fine, nous avons donc mesuré directement sur le spectre les constantes de couplage $J_{H\alpha H\beta_1}$ et $J_{H\alpha H\beta_2}$ ce qui se justifie dans ce cas, puisque le rapport :

$$\frac{\nabla_{H_{\beta_1}} - \nabla_{H_{\beta_2}}}{J_{H_{\beta_1}} H_{\beta_2}} \quad \text{est supérieur à 4}$$

et qu'une interprétation au premier ordre est suffisante.

Les sous spectres AB_I et AB_{II} sont partiellement superposés comme le montre la figure III-9.

Il n'y a pas semble-t-il d'interactions entre les chaînes latérales, et le spectre RMN des protons $\alpha \underline{CH}$ et $\beta \underline{CH}_2$ est la somme des spectres légèrement décalés donnés par chaque acide aminé I et II (figure III-8).

On peut remarquer que les constantes de couplage $J_{NH-\alpha CH_{II}}$ et $J_{NH-\alpha CH_{II}}$ ne sont pas identiques pour les dimères "ortho" et "para" $(J_{NH-\alpha CH_{I}} > J_{NH-\alpha CH_{II}})$ ce qui peut s'expliquer par l'encombrement stérique du groupement tertiobutylcarbonyle qui influence la conformation de l'acide aminé I.

b - Spectres RMN des N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (βnitrobenzyl ester) de méthyl

Nous avons conservé les mêmes notations que pour les dérivés précédents.

- 89 -



- 90 -



Les spectres RMN sont identiques à celui représenté figure III-10 et les résultats sont rassemblés dans le tableau III-5.

On ne relève pas de différence sensible entre les spectres RMN des dimères N protégés par le groupe tertiobutyloxycarbonyle et les spectres RMN des dimères N acylés, sauf en ce qui concerne le proton NH_I. Le proton N-H, le proton α CH et les deux protons β CH₂ de chaque acide aminé donnent naissance à un système ABMX qu'il est difficile d'analyser directement, car les massifs α CH_I et α CH_{II} d'une part β CH_{2 I} et β CH_{2 II} d'autre part se recouvrent d'une manière trop importante. Nous avons donc été obligé d'ajuster la valeur des constantes de couplage en simulant sur ordinateur les spectres RMN des dérivés acylés au moyen du programme LAOCOON III et en utilisant les paramètres reportés dans le tableau III-5. L'accord entre le spectre calculé et le spectre expérimental est satisfaisant comme il apparaît sur la figure III-11.

Si on compare les trois isomères entre eux, on remarque une différence importante dans la position des pics NH_I et CH₃ (de la fonction acyle) entre les dimères "ortho" et "para" d'une part et le dimère "méta" d'autre part. Les valeurs trouvées pour les dimères "ortho" et "para" sont très proches de celles trouvées pour les monomères correspondants, comme le montre le tableau III-6 ; où les déplacements chimiques sont exprimés en Hertz.



00 Ac ASP-OMe OoNB 2 protons: $\beta CH_2 [I+I]$ Figure II -th 750 expérimental calculé 800 BUS HZ

- 91 -

				1		
				ORTHO	META	PARA
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·			Δ	1850	1850	1850
		NH _{TT}	δ	7,4	7,4	7,4
			J _{NH H}	8,0	7,7	8 , O
	II		Δ	1695	1400	1682
		NH _I	δ	6,78	5,6	6,73
			J _{NH} H	8,2	7,7	8,0
			Δ	1385	1315	1315
		0 - СН ₂	δ	5,54	5,26	5,26
CH ³			J _{AB}	0	0	0
, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	0 7 7		Δ	1380	1305	1310
°× _o ,°		о – СН ₂	δ	5,52	5,22	5,24
Ĩ ,₽			J _{AB}	14,4	0	0
HN HN			Δ	1210	1215	1212
		CH ^{αII}	δ	4,84	4,86	4,85
			J Ha HR 1	4,6	4,6	4,8
			J _{H_aH_{β2}}	4,6	4,6	4,8
			Δ	1228	1150	1219
5-5-0	$\overline{\langle O \rangle}$	CH ^α I	δ	4,91	4,6	4,87
			$J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$	4,7	4,2	4,2
N	↓ Ţ		J _{H H} _{α β2}	6,0	6,2	6,2
	NO	0 – Сн	Δ	930	935	927
13. 13.	•	3	δ	3,72	3,74	3,71
C	• •		Δ	750	775	750
		^{CH} 2 ^β 11	δ	3,0	3,1	3,0
			$\nu_{\rm H\beta_1}^{-\nu_{\rm H\beta_2}}$	33,8	38,9	35
			^Ј н _{βг} н _{β2}	17,0	17,2	17,2
			Δ	742	758	730
	-		δ	2,97	3,03	2,92
		CH ^B 2I	۷_۷ H _{β1} ,H _{β2}	83,9	78,3	80
			JH _A H _{B2}	17,2	17,2	17,2
			Δ	510	370	502
		CH ₃	õ	2,04	1 , 48	2,00
		1	E I			

TABLEAU III-5



	DIMERE SOUS FORME tBOC NH _I	DIMERE ACYLE NH _I	MONOMERE NH	DIMERE ACYLE -CH ₃	MONOMERE CH ₃
ORTHO	1405	1695	1660	510	510
META	1 400	1400	1645	370	510
PARA	1399	1682	1655	502	510

TABLEAU III-6

Comparons nos résultats à ceux obtenus par BYSTROV et ses collaborateurs (59) sur la N benzyloxycarbonyl D alanyl D alanine méthyl ester (composé A) et sur la N acyl alanyl D alanine méthyl ester (composé B) (Tableau III-7).

Composé A :



1

11



	$^{\rm A}{}_{\rm Hz} {}^{\rm NH}{}_{\rm II}$	$^{\wedge}$ Hz $^{\rm NH}$ I	∆ _{Hz} ^{CH} 3 ⁻
Composé A	1700 Hz	1375 Hz	
Composé B	1875 Hz	1737 Hz	500 Hz

Composé B

Le passage de la fonction uréthane à la fonction amide s'accompagne d'un déplacement vers les bas champs (Δ passe de 1375 Hz à 1737 Hz) et la valeur obtenue est comparable à celle observée pour les dimères acylés "ortho" et "para" (1695 Hz et 1682 Hz). La position du pic correspondant aux protons CH₃ de la fonction acyle (Δ = 500 Hz) est identique à celle des protons analogues dans les trois monomères nitrés et dans les dimères "ortho" et "para" (Δ = 510 Hz et 502 Hz).

On peut donc penser que la chaîne latérale de l'acide aminé I dans le cas du dimère acyle "méta" se replie vers la fonction amide créant un effet diamagnétique au niveau des protons du CH₃ et du proton N-H₁.



II - SPECTRES RMN DES DERIVES DES GLUTAMATES DE NITROBENZYLE

D'une manière générale, les spectres RMN des dérivés des glutamates de nitrobenzyle sont semblables entre eux dans une même série d'isomères ; ils sont compliqués par la présence des protons y CH₂.

Nous nous sommes limités à relever les déplacements chimiques des protons ainsi que les constantes de couplage $J_{NH-\alpha CH}$, le système AA'BB'X que forme le groupe $\alpha CH - \beta CH_2 - \gamma CH_2$ - n'étant analysable que par de longs calculs sur ordinateur utilisant le programme LAOCOON III.

1 - Spectres RMN des monomères

a - Spectres RMN des chlorhydrates de glutamate (γ nitrobenzyl ester) de méthyl (figure III-12)

Les résultats sont rassemblés dans le tableau III-8.



	,	0 -	CH ₂	CI	Iα	0 ~	Сн ₃	СН	2 ^Y	(Сн ₂ β
		Δ	δ	Δ .	δ	Δ	δ	Δ	δ	Δ	δ
CHLORHYDRATE DE GLUT (γ BENZYL ESTER) DE METHYL	AMATE	1295	5,18	1047	4,19	952	3,80	670	2,68	570	2,28
C1 ^O H ₃ N-CH-C ^O IO-CH ₂	ORTHO	1380	5,52	1062	4,25	965	3,86	695	2,78	577	2,31
CH ₂ 1 CH ₂	META	1335	5,34	1092	4,37	990	3,96	720	2,88	610	2,44
	PARA	1345	5,38	1095	4,38	990	3,96	725	2,90	610	2,44

TABLEAU III-8

- Le proton α CH est couplé avec les deux protons du β CH $_2$ et donne naissance à un triplet

- Les protons H_{γ} sont équivalents, et sont couplés avec les 2 protons βCH_2 ; ils donnent également naissance à un triplet.

- On retrouve l'effet de déblindage du groupement nitro sur les deux protons benzyliques dans l'isomère "ortho".

- Les protons du chlorhydrate de glutamate (γ benzyl ester) de méthyl ont un déplacement chimique plus faible que leurs homologues dans les dérivés nitrés.

> b - Spectres RMN des N acyl glutamates (γ nitrobenzyl ester) de méthyl (Figure III-13)

Les résultats sont résumés dans le tableau III-9

Les protons N - \underline{H} , αCH , βCH_2 et γCH_2 forment un système AA'BB'MX très complexe.


1,98 2,04 2,05 2 ,04 ώ CH₃ 510 510 2,10 495 2,15 512 \triangleleft 2,16 2,15 ώ В CH_2 52.5540537 537 \triangleleft 2,45635 2,54 640 2,56 632 2,53 6 ≻ CH₂ 613 \triangleleft 930 3,72 945 3,78 945 3,78 943 3,77 CH3 ώ I \triangleleft 0 4,70 7,8 1315 5,26 1170 4,68 7,8 1387 5,55 1170 4,68 7,8 1280 5,12 1158 4,64 ю ಶ CH 7,8 1315 5,26 1175 \triangleleft ю $_{2}^{\mathrm{CH}}$ ł \triangleleft 0 NHACH Η 6,39 6,45 6,45 6,45 .1 ю z 1612 1612 1597 ORTHO 1612 \triangleleft PARA META CH - COO - CH₃ (γ BENZYL ESTER) DE METHYL N ACYL GLUTAMATE | H-N | ೦=೦ ı CH₃

TABLEAU III-9



- 95 -

L'examen des spectres montre que :

- le proton N-H est couplé avec le proton H_{α}

- le proton H_{α} est couplé avec le proton N-H, et les deux protons CH_{0} β et on observe un massif de 6 pics correspondant à αCH

- la constante de couplage $J_{\rm NH-\alpha CH}$ est indépendante du monomère acylé envisagé.

2 - Spectres RMN des dimères

a - Spectres RMN des N tertiobutyloxycarbonyl glutamyl
(γnitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de
méthyl (Figure III-14)

Les résultats sont rassemblés dans le tableau III-10

Les pics $N-H_I$ et $N-H_{II}$ ont été attribués de la même manière que dans le cas des dimères de l'aspartate de nitrobenzyle.

Dans les dimères "ortho" et "para", le doublet correspondant au proton N-H_I est partiellement masqué par le pic des protons CH₂ benzyle.

Les protons $\underline{CH}_2 \beta$ donnent naissance à deux massifs centrés vers 2,20 et 2 ppm, alors que les protons $\underline{CH}_2 \gamma$ ne donnent qu'un massif vers 2,55 ppm.

Nous ne relevons aucune différence sensible dans les déplacements chimiques, lorsqu'on passe d'un isomère à un autre.

b - Spectres RMN des N acyl Glutamyl (Y nitrobenzyl ester) glutamate (Y nitrobenzyl ester) de méthyl (figure III-15)

Les résultats sont rassemblés dans le tableau III-11.

Les protons $CH_2 \beta$ et $CH_2\gamma$ donnent naissance à un massif centré respectivement vers 2,20 ppm et vers 2,54 ppm.

3 ³ 3	Ş		1,44		í.	1,44			1,42	
(CH	Δ		360			360			355	
I ₂ β	Ş	2,26		2,02	2,24		2	2,2	ې د د	1, 30
C	. Δ	565		505	560		500	550		490
$I_2\gamma$	Q.	* .	2,56			2,6			2,53	
CI	Δ		640			650			632	
сн ₃	Ŷ		2,94	-	-	2,94	-		2 , 95	
и О	۲		735			735			737	
b	Ş	4,64		4,24	4,64		4,24	4,64	0	4,22
СН	Δ	1160		1060	1160		1060	1160		ccO I
CH ₂	Ŷ	5,56	 	5,53		5,28	 	-	5,31	
- 0	÷ Δ	1390		1382		1320			1307	
	J	-	8,2							
H - H	δ		5,31	." 1.		5 ,3			5,29	
, ,	Δ		1327			1325			1321	
	J		8,0			8,0			8,2	
- H	δ		6,98			6,94			6,92	
Z	Δ		1745			1735	<u>.</u>		1730	
- -			ORTHO			META			PARA	
			CH H 0	CH ₃ -C=0-C-N-CH+C-N-CH-C00CH ₃	CH ₃ 0 CH ₂ H CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂					

TABLEAU III-10









TABLEAU III-11.



L'examen du tableau III-11 ne révèle aucune différence importante dans les déplacements chimiques des protons d'un groupement donné, pour les trois isomères.

Dans le cas des dimères dérivés du glutamate de nitrobenzyle, on ne retrouve pas d'effet diamagnétique sur le proton N-H_I et sur les protons \underline{CH}_3 de la fonction acyle, probablement parce que la chaîne latérale étant plus souple et plus longue que dans le cas des diaspartates, le groupe nitrobenzyle a beaucoup moins de chance de s'approcher de l'extrémité de la chaîne principale.

III - ESTIMATION DE L'ANGLE DE TORSION ϕ AU MOYEN D'UNE RELATION TYPE KARPLUS.

A partir des valeurs expérimentales des constantes de couplage ${}^{3}J_{\text{NH-}\alpha\text{CH}'}$, nous avons calculé les angles ϕ correspondants, en utilisant la la relation de CUNG, MARRAUD et NEEL d'une part :

 $J_{\rm corr} = 9,10 \cos^2 \theta - 3,55 \cos \theta + 0,25$

avec

$$J_{corr} = J_{exp} (1 - a \sum_{i} \Delta E_{i})^{-1}$$

dans notre cas :

 $\sum_{i} \Delta E_{i} = 1,3$ et $J_{corr} = 1,15 J_{exp}$

0

(2)

et la relation de BALASHOVA et ORCHINNIKOV d'autre part :

$$J_{corr} = 9,4 \cos^2 \theta - 1,1 \cos \theta + 0,4$$

avec

 $J_{corr} = 1,09 J_{exp}$

Les constantes de couplage ${}^{3}J_{NH-\alpha CH}$ que nous avons obtenues sont toutes voisines de 8 Hz, dans ce cas, la relation (1) ne donne que deux valeurs de l'angle ϕ , et la relation (2) donne quatre valeurs de l'angle ϕ .

Les solutions des équations (1) et (2) sont rassemblés dans le tableau III.12. Les angles ϕ obtenus à partir de la relation (1) sont donnés avec une erreur de $\pm 5^{\circ}$.

Si nous comparons ces résultats, à ceux obtenus par l'analyse conformationnelle sur les monomères et les dimères de l'aspartate de nitrobenzyle, nous voyons que la valeur de l'angle ϕ correspondant au puits A (210° < ϕ <270°) est retrouvée par les deux relations d'une manière satisfaisante étant donné le caractère approximatif de l'analyse conformationnelle et de l'utilisation d'une loi du type KARPLUS.

> relation (1) $\phi = 277^{\circ}$ relation (2) $\phi = 269^{\circ}$

mais qu'en plus, la relation de BALASHOVA et OVCHINNIKOV retrouve le puits C $\phi = 69^{\circ}$.

Nous pouvons donc conclure que le squelette des monopeptides et que le squelette de chaque acide aminé des dipeptides adopte une conformation préférentielle toujours la même quel que soit l'isomère considéré, et qui correspond à ϕ voisin de 270° et Ψ voisin de 130° dans le cas des aspartates de nitrobenzyle.

IV - CONSIDERATIONS SUR LES CONSTANTES DE COUPLAGE JHOHO

Les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ sont susceptibles de donner des renseignements sur les conformations possibles de la chaîne latérale d'un acide aminé. Et dans ce domaine, les conclusions de l'étude par BRADBURY

			Sel	on BALA	SHOVA e	t OVICH	NNIKO			Selon C	UNG, MA	RRAUD,	NEEL
		ſ	Jcorr	θ			-0-			Jcorr	θ		
Ac - Asb - OWe	Benzyle	80	8,72	152		212	268			9,09	144	204	276
ONB	ORTHO	7,8-	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
	META	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
	PARA	7,8	8,5	5	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
	Benzyle	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	1 43	2 03	277
	октно	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
	META	7,8	8,5	თ	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
	PARA	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277

TABLEAU III-12

BUS

			Se	lon BAL	ASHOVA	et OVI(CHINNIK	OV		Selon C	UNG, MA	RRAUD,	NEEL
		J	Jcorr	Ð			· 0		1	Jcorr	θ	÷¢-	
	ORTHO	8,2	8,94	154		214	266			9,32	144	204	276
Ac-Asp-Asp-OMe	META	7,7	8,39	11	150	49	71	210	270	8,75	142	202	278
ONB ONB	PARA	œ	8,72	152		212	268			9,09	144	204	276
	октно	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
Ac-Glu-Glu-OMe	META	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
ONB ONB	PARA	7,3	7,96	17	147	43	77	207	273	8,29	140	200	280
	ORTHO	8	8,72	152		212	268			9,09	144	204	276
Ac⊣Asp-Asp-OMe	META	7,7	8,39	11	150	49	71	210	270	8,75	142	202	278
ONB ONB	PARA	80	8,72	152		212	268			9,09	144	204	276
	- ОКТНО	ø	8,72	152	×	212	268			9,09	144	204	276
Ac-Glu-Glu-OMe	META	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277
ONB ONB	PARA	7,8	8,5	6	151	51	69	211	269	8,86	143	203	277

TABLEAU III-12 suite

BUS

et ses collaborateurs (101) du spectre de résonance magnétique du proton 100 MHz du polyaspartate de benzyle (PAB), nous sont apparues riches d'enseignement. Dans un premier temps, nous allons donc exposer le travail de BRADBURY et de ses collaborateurs ; puis, nous essaierons de faire une discussion analogue sur les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ que nous avons mesurées pour les dérivés de l'aspartate de nitrobenzyle.

1 - <u>Résultats obtenus par BRADBURY et ses collaborateurs, concernant la</u> chaîne latérale du polyaspartate de benzyle.

Le spectre RMN du polyaspartate de benzyle a été enregistré à la température de 100°C, en utilisant le chloroforme deutéré comme solvant. Dans ces conditions, le PAB est sous forme d'hélice a gauche.

BRADBURY et ses collaborateurs ont trouvé :

$$J_{H_{\alpha}H_{\beta_1}} = 4 \pm 1 \text{ Hz}$$

 $J_{H_{\alpha}H_{\beta_2}} = 7,4 \pm 0,3 \text{ Hz}$

On admet (72) à (75) que les trois rotamères représentés figure III-12 ont un poids statistique prépondérant dans les conformations permises des chaînes latérales d'acides aminés. Si a_1 , a_2 et a_3 représentent respectivement la durée de vie fractionnaire de chacun des rotamères on peut écrire d'une manière générale que :

$$J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$$
 observé = $a_1J_1 + a_2J_2 + a_3J_3$

avec $a_1 + a_2 + a_3 = 1$

(3)

 J_1 , J_2 et J_3 sont les constantes de couplage associées au proton H β respectivement dans les rotamères 1, 2 et 3.

Pour déterminer le poids statistique des différents rotamères il faut connaître les constantes de couplage du type J_g et J_t représentées figure III-12. En première approximation, on suppose que les constantes J_g et J_t ont la même valeur quelque soit le rotamère considéré, ce qui conduit aux deux relations suivantes :



Figure II-16

BUS

- 104 -

$$a_{1} = \frac{J_{H_{\alpha}H_{\beta_{1}}} - J_{g}}{J_{t} - J_{g}}$$
(4)
$$a_{2} = \frac{J_{H_{\alpha}H_{\beta_{2}}} - J_{g}}{J_{t} - J_{g}}$$
(5)

Les constantes de couplage J_g et J_t ont été évaluées par PASCHLER (102)

 $J_{g} = 2,6 Hz$ $J_{t} = 13,6 Hz$

L'utilisation de modèles moléculaires montre que le polyaspartate de benzyle sous forme hélice α gauche ne peut pas avoir la conformation du rotamère 2 ; par conséquent $a_2 = 0$ et la relation (6) doit être satisfaite :

$$J_{H_{\alpha}H_{\beta_1}} + J_{H_{\alpha}H_{\beta_2}} = J_g + J_t$$
(6)

Cette relation n'est pas vérifiée pour le polyaspartate de benzyle. BRADBURY et ses collaborateurs, en déduisent que les valeurs de $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ observées ne peuvent pas s'expliquer en considérant uniquement l'existence des rotamères 1, 2 et 3. Les deux conformations privilégiées de la chaîne latérale du polyaspartate de benzyle prévués par le calcul conformationnel de SCHERAGA (131) ainsi que toute combinaison linéaire de ces conformations privilégiées ne permettent pas plus de retrouver les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ expérimentales.

BRADBURY conclue que les chaînes latérales du PAB sont en mouvement rapide entre deux rotamères de géométrie voisine des rotamères 1 et 3, un rotamère ayant une durée de vie double de l'autre. Et l'état des connaissances actuelles ne permet pas de préciser davantage ces conclusions.

2 - Les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ associées aux dérivés des aspartates de nitrobenzyle.

Les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ calculées pour les dérivés de l'aspartate de nitrobenzyle sont comprises entre 4,1 Hz et 6,1 Hz, et la différence entre $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ et $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ est toujours plus faible que celle observée par BRADBURY pour le polyaspartate de benzyle.

D'un point de vue stérique il n'y a aucune raison pour que les rotamères 1, 2 et 3 ne puissent exister pour les monomères et les dimères dérivés de l'aspartate de nitrobenzyle ; il est possible de calculer les paramètres a_1 , a_2 et a_3 . La solution mathématique des équations (3), (4) et (5) est physiquement acceptable. Nous avons rassemblé les résultats dans le tableau III-13.

Les durées de vies a_1 , a_2 et a_3 sont du même ordre de grandeur, et tout en reconnaissant le caractère approximatif des valeurs reportées dans le tableau III-13, nous pouvons raisonnablement supposer qu'il y a un mouvement rapide de la chaîne latérale entre les rotamères 1, 2 et 3, avec les durées de vie a_1 , a_2 et a_3 , la relation de KOPPLE est donc évidemment inutilisable dans notre cas.

	J _{Hα} H _{β1} Hz	J _{HαHβ2} Hz	^a 1	^a 2	^a 3
HCl, H - Asp - OMe OBzl	5,62	4,57	0,274	0,179	0,547
HCl, H - Asp - OMe OoNB	5,95	5,05	0,304	0,223	_. 0, 473
HC1, H - Asp - OMe OmNB	6,03	4,97	0,312	0,216	0,472
HC1, H - Asp - OMe OpNB	6,06	4,94	0,315	0,212	0,473
Ac - Asp - OMe OBzl	4,5	4,5	0,174	0,174	0,652
Ac - Asp - OMe I OoNB	4,25	4,25	0,150	0,150	0,700
Ac - Asp - OMe Í OmNB	4,5	4,5	0,174	0,174:	0,652
Ac - Asp - OMe / OpNB	4,5	4,5	0,174	0,174	0,652

TABLEAU III-13

		J _{Ha} H _a H _{β1} Hz	^J H _α H _{β2} Hz	^a 1	^a 2	^a 3
$tBOC - \left(Asp \\ I \\ OoNB \right)_2 OMe$	I	5,5	4,5	0,264	0,1 7 3	0,563
	II	4,38	4,12	0,162	0,138	0,700
tBOC $- \left(\begin{array}{c} Asp \\ I \\ OmNB \end{array} \right)_2$ OMe	1	6	4,25	0,309	0,150	0,541
	11	4,77	4,23	0,197	0,148	0,655
tBOC $- \begin{pmatrix} Asp \\ l \\ OpNB \end{pmatrix}_2$ OMe	I	6	4,5	0,309	0,173	0,518
	II	4,73	4,47	0,194	0,170	0,636
Ac $(Asp + OMe)$	I	6	4,7	0,309	0,191	0,500
$(OONB)_2$	II	4,6	4,6	0,182	0,182	0,636
Ac $(Asp \land OMe)$	I	6,2	4,2	0,327	0,145	0,528
$(I) OmNB \rangle_2$	II	4,6	4,6	0,182	0,182	0,636
Ac $(Asp \\ I \\ OpNB \\ 2 $ OMe	I	6,2	4,2	0,327	0,145	0,528
	II	4,8	4,8	0,200	0,200	0,600

TABLEAU III-13 suite

C - CONCLUSIONS DE L'ETUDE RMN DES PEPTIDES

L'étude par résonance magnétique du proton des peptides nous a permis d'une part de confirmer un certain nombre de résultats prévus par l'analyse conformationnelle, et d'autre part d'apporter des précisions qualitatives et même quantitatives sur la conformation de nos composés, que l'analyse conformationnelle ne pouvait pas donner.

L'examen du déplacement chimique des protons a montré que :

- La position du substituant nitro sur le noyau benzénique n'influence pas sensiblement la conformation des acides aminés ou des peptides dans la majorité des cas. En effet, dans une série homologue de composés, on observe peu de différence sur les déplacements chimiques d'un proton donné.

- Il existe un effet de déblindage sur les protons \underline{CH}_2 benzyle lorsque le produit considéré est substitué en "ortho" par le groupement nitro.

- On n'a pas mis en évidence d'interaction chaîne latérale - chaîne latérale, et excepté le cas du N acyl aspartyl (β méta nitrobenzyl ester) aspartate (β méta nitrobenzyl ester) de méthyl, nous n'avons pas vu d'interaction chaîne latérale - squelette peptidique.

Les renseignements plus précis sur la conformation des peptides sont fournis par les constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ et surtout $J_{NH} - \alpha CH$

- Les valeurs observées des constantes de couplage $J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ sont compatibles avec l'existence de trois conformations privilégiées de poids statistique légèrement différent correspondant aux trois formes décalées de la liaison

 $\alpha CH - \beta CH_2$ de la chaîne latérale ; avec la possibilité d'un mouvement rapide permettant le passage d'un rotamère à l'autre.

- L'exploitation de la constante de couplage J_{NH} - αCH au moyen de relation du type KARPLUS met en évidence que le squelette des peptides est assez rigide et que le puits de potentiel A trouvé par l'analyse conformationnelle correspond aux conformations privilégiées des molécules. La valeur de l'angle de torsion ϕ est estimée à 270°.

- 100 -

De plus, dans le cas des dimères les valeurs très voisines des constantes de couplage $J_{NH-\alpha CH}$ pour chaque résidu acide aminé permet de dire que ceux-ci ont la même conformation du niveau du squelette, ce qui lève l'indétermination qu'apportait l'analyse conformationnelle dans ce domaine.

CHAPITRE IV

ETUDE DES TRANSITIONS ELECTRONIQUES

DU CRHOMOPHORE NITROBENZYLE

.

A - ETUDE DU CHROMOPHORE NITROBENZYLE PAR SPECTROSCOPIE ULTRA-VIOLETTE

I - Rappels bibliographiques

- 1 La molécule de nitrobenzène
 - a Le groupement nitro
 - b Le nitrobenzène
- 2 Les nitrotoluènes

II - Résultats expérimentaux

- 1 Comparaison des spectres U.V. en fonction de la position du groupement nitro sur le cycle aromatique
- 2 Influence du solvant sur les spectres U.V.
- 3 Estimation de l'angle θ entre le plan du groupement nitro et le plan du cycle benzénique

B - ETUDE DU CHROMOPHORE NITROBENZYLE PAR DICHROISME CIRCULAIRE MAGNETIQUE

- I Rappels théoriques
 - 1 Théorie simplifiée du dichroïsme circulaire magnétique
 - 2 La force rotationnelle magnétique

II - Résultats expérimentaux

- 1 Etude des nitrotoluènes
 - a Comparaison des spectres DCM des 3 isomères
 - b Influence de la nature du solvant sur les spectres DCM des nitrotoluènes

2 - Etude des acétates de nitrobenzyle

3 - Etude des mono et des dipeptides

C - ETUDE DES TRANSITIONS ELECTRONIQUES DES NITROTOLUENES PAR LA METHODE CNDO/2.

- I Les méthodes quantiques de calcul
 - 1 Les méthodes ab initio
 - a Généralités
 - b La méthode du champ auto cohérent
 - c Discussion

2 - Les méthodes semi empiriques

- a L'approximation classique de HÜCKEL
- b La théorie étendue de HÜCKEL
- c La méthode ZDO
- d La méthode CNDO
- e Autres méthodes quantiques
- II <u>Application de la méthode CNDO/2 à l'étude des transitions électroniques</u> dans le nitrotoluène
 - 1 Résultats de l'analyse conformationnelle
 - 2 Résultats des calculs CNDO/2

C - CONCLUSIONS

Nous avons essayé de mener à bien l'étude des transitions électroniques du groupement nitrobenzyle en faisant deux approches :

- l'une expérimentale, basée sur la spectroscopie ultra-violette et le dichroïsme circulaire magnétique, de molécules modèles comme les nitrotoluènes et les acétates de nitrobenzyle, mais aussi des mono et dipeptides nitrés.

- l'autre théorique, utilisant une méthode quantique approchée, la méthode CNDO/2 qui a permis de calculer la position et la force oscillatrice des transitions électromiques qui existent dans les nitrotoluènes.

A - ETUDE DU CHROMOPHORE NITROBENZYLE

PAR SPECTROSCOPIE ULTRA-VIOLETTE

I - RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1 - La molécule de nitrobenzène (79)

La molécule de nitrobenzène peut être considérée comme une molécule composée R - S, dans laquelle R est le noyau benzénique et S le groupement nitro $-NO_{_{O}}$.

Nous allons donc tout d'abord, nous intéresser au groupement nitro.

a - Le groupement nitro (80)

Le groupement nitro est plan. L'atome d'azote est engagé dans trois liaisons σ : une liaison σ avec chacun des atomes d'oxygène, et une troisième liaison σ , avec un atome qui est généralement un carbone. Ces liaisons σ sont faites à partir d'orbitales hybrides sp².

Il existe une paire d'électrons non appariés sur l'atome d'azote dans une orbitale p_{π} (p_{x}); de plus, chaque atome d'oxygène possède un électron p_{π} dans une orbitale p_{x} . Les orbitales p_{x} se combinent pour former trois orbitales moléculaires : l'orbitale π_{1} liante, l'orbitale π_{2} non liante, et l'orbitale π_{3}^{*} antiliante. Enfin, il existe deux doublets électroniques non appariés sur chaque atome d'oxygène. Un de ces doublets électroniques est une orbitale s, ou une orbitale hybride sp, l'autre est une orbitale p que l'on désignera par n.

Les quatre électrons p_x remplissent les orbitales moléculaires π_1 et π_2 qui sont issues des orbitales atomiques p_x de l'azote et des atomes d'oxygène.

Dans le groupement nitro, il y a interaction des orbitales n due à la proximité des deux atomes d'oxygène, et qui conduisent à des combinaisons symétriques et antisymétriques d'orbitales atomiques. D'où le diagramme énergétique représenté figure IV-1.

Le nitrométhane présente un spectre ultra-violet constitué par deux bandes larges ; une centrée vers $\lambda = 270$ nm ($\varepsilon_{max} = 20$) qui correspond à la transition $n_a \rightarrow \pi^{\bigstar}$; l'autre centrée à $\lambda = 210$ nm ($\varepsilon_{max} = 15850$) qui correspond à la transition $\pi \rightarrow \pi^{\bigstar}$.

Il existe une autre transition $n_s \rightarrow \pi^{\mathbf{X}}$ qui donne naissance à une bande d'absorption de faible intensité, située à une longueur d'onde plus basse.

b - Le nitrobenzène

La molécule de nitrobenzène est plane. Pour des raisons de symétrie l'orbitale n_a non liante du groupement nitro ne reçoit pas de contribution de l'orbitale atomique p_x de l'atome d'azote, elle n'interagit donc pas avec les orbitales moléculaires π du noyau benzénique.

Désignons avec l'indice prime les orbitales moléculaires issues du groupement nitro, et sans indice, les orbitales moléculaires du noyau benzénique. Le diagramme des niveaux énergétiques est représenté figure IV-2.

Le spectre ultra violet du nitrobenzène en solution dans un hydrocarbure saturé, montre :

. une faible bande à λ = 330 nm ($\epsilon_{_{MA\, \rm X}}$ = 140)

- . un épaulement à $\lambda = 280$ nm ($\epsilon_{max} = 640$)
- . une bande assez intense à λ = 250 nm (ε_{max} = 8700)
- . une bande intense à $_{\lambda} = 200 \text{ nm} (_{\varepsilon_{\text{max}}} = 15500)$



La bande centrée à 330 nm est une transition $n \rightarrow \pi^{*} d'un$ électron de l'orbitale antisymétrique non liante n'_a des atomes d'oxygène vers une orbitale antiliante $\pi_{3}^{'}$ du groupement nitro.

L'origine de l'épaulement à $\lambda = 280$ nm est controversée : certains auteurs pensent qu'il s'agit de la bande α du benzène c'est-à-dire de la transition ${}^{1}B_{2u} \leftarrow {}^{1}A_{1g}$ (79), d'autres auteurs considèrent cette bande comme une transition $n \Rightarrow \pi^{*}$ du groupement nitro (81). Nous désignerons par la suite cette bande par la lettre a.

La bande qui présente un maximum pour $\lambda = 250$ nm, est toujours interprétée comme une bande à transfert de charge moléculaire, probablement due à la transition d'un électron d'une orbitale moléculaire liante du noyau benzénique (π_1) vers une orbitale moléculaire antiliante du groupement nitro (π_3^i).

La bande centrée à $\lambda = 200$ nm correspond à la bande β du benzène et est attribuée à la transition ${}^{1}E_{1u} \leftarrow {}^{1}A_{1g}$.

2 - Les nitrotoluènes

WEPSTER et ses collaborateurs (82) à (84) ont beaucoup étudié les dérivés de substitution en position "ortho" du nitrobenzène. Ils ont mis en évidence que les molécules du type $\bigotimes_{\mathbf{p}} NO_2$ ne sont pas planes et que

l'angle θ que fait le plan du groupement nitro avec le plan du cycle benzénique est d'autant plus important que R est volumineux. Ils ont retrouvé expérimentalement les prévisions théoriques faites sur les molécules de nitrobenzène substituées, non planes, à savoir :

- l'intensité de la bande $n \to \pi^{\frac{1}{n}}$ augmente avec l'angle θ , car il y a un mélange plus important des transitions $\pi \to \pi^{\frac{1}{n}}$ permises avec la transition $n \to \pi^{\frac{1}{n}}$.

- il y a un déplacement hysochrome de la bande à 280 nm

- l'intensité de la bande à transfert de charge diminue rapidement lorsque θ augmente, pour devenir nulle lorsque $\theta = 90^{\circ}$.

- la bande à 200 nm subit un faible déplacement bathochrome.

Il est possible d'évaluer grossièrement l'angle $_{\theta}$, en effet, selon E.A. BRAUDE (85) on a :

$$\frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} = \cos^2 \theta$$

ε : coefficient d'extinction molaire pour la molécule étudiée ($\theta \neq 0$) ε₀ : coefficient d'extinction molaire pour une molécule nitrée plane voisine ($\theta = 0$)

En particulier, WEPSTER a trouvé pour l'orthonitrotoluène que $\theta = 34^{\circ}$. Ce résultat a été confirmé par des mesures de moment dipolaire (86) par spectroscopie infra-rouge (87) (88) par RMN (89) et par spectroscopie ultra violette faite par d'autres groupes de chercheurs (87) - (90) à (93).

II - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Les spectres ultra-violet ont été enregistrés sur un spectrophotomètre CARY 114, en utilisant des cuves en quartz de 1 mm et 0,1 mm d'épaisseur.

Cette étude a été faite sur les nitrotoluènes et les acétates de nitrobenzyle ; nous avons retenu les trois solvants suivants : le 1,2 dichloréthane (DCE), l'hexafluoro-isopropanol (HFIP) et le triméthylphosphate (TMP). Ces solvants ont l'avantage d'être transparent dans l'U.V. et d'avoir des polarités différentes ; HFIP est très polaire, le DCE et le TMP sont peu polaires.

1 - Comparaison des spectres U.V. en fonction de la position du groupement | nitro sur le cycle aromatique.

Les spectres U.V. des nitrotoluènes et des acétates de nitrobenzyle en solution dans le T.M.P. (Figures IV-3 et IV-4) ont été décomposés en courbes de Gauss, en utilisant un analyseur de courbe "du Pont de Nemours 310".

Dans le tableau IV-1, nous avons reporté la longueur d'onde λ_i et le coefficient d'extinction moléculaire ε_i^o (en 1 mole⁻¹ cm⁻¹) au maximum d'absorption d'une courbe de Gauss ; ainsi que la demi-longueur Δi de la bande, calculée à $\frac{\varepsilon_i}{e}$, et la force dipolaire D_i de chaque transition électronique.





7
⊳
н
5
1
Ц
<u> </u>
щ,
2

12100129519813,51345014953650410222,511,52650223505076325926,55100850505076325926,551008505050114298282650314105011429828265031451280011429828265033455750532323765039570501412203161350017345575053232376503251280014122037553257050110223376503257050110226126700185610001053081955300535093219315120001520560003792187,545002525940015822682430130066464,4321374007566464,4321379790066464,4321379790066464,4321379790066464,43213797900		n i trot Å _i	OLUENE . E1	Di	A(CETATE DE 1	NITROBENZY	LE D
3650 410 $222,5$ $11,5$ 2650 223 5050 763 259 $26,5$ 5100 850 1050 114 298 28 2050 314 275 32 341 27 300 39 275 32 341 27 300 39 275 32 341 27 300 39 5 5750 532 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 16 12300 1734 5 5750 532 203 16 12300 1185 5 7050 1102 261 26 7300 1185 5 7050 1102 233 7 6500 322 10000 1050 3379 15 12000 1520 5 60000 379 218 $7,5$ 4500 252 60000 379 218 $7,5$ 4500 1200 6000 1582 268 24 8900 1300 6000 164 $64,4$ 321 37 400 75	13		12100	1295	198	13,5	13450	1495
5050 763 259 $26,5$ 5100 850 1050 114 298 28 2050 314 275 32 341 27 300 39 5 2750 32 341 27 300 39 5 5750 532 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 7 650 39 5 5750 532 203 7 650 32 5 7050 11102 203 7 650 32 10000 1102 261 26 7300 1185 10000 1102 261 26 7300 1285 5 7050 1102 218 $7,5$ 4500 55 10000 105 337 22 300 322 10000 379 218 $7,5$ 4500 552 5 9400 1944 $234,5$ $13,55$ 9000 844 $64,4$ $64,4$ 321 37 400 1300	15		3650	410	222 , 5	11,5	2650	223
1050 114 298 28 2050 314 275 32 341 27 300 39 5 12800 1412 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 7 650 32 5 7050 1102 261 26 7300 1185 7 1000 1102 261 26 7300 1185 10000 1102 261 26 7300 1185 10000 105 308 19 550 55 350 444 337 22 300 320 5 3000 379 15 12000 1520 5 6000 379 218 $7,5$ 4500 252 6000 144 $234,5$ $13,5$ 900 844 5 9400 1582 268 24 8900 1300 5 $64,4$ 321 37 37 400 75	24		5050	763	259	26,5	5100	850
275 32 341 27 300 39 5 12800 1412 203 16 13500 1734 5 5750 532 203 7 650 32 6 5750 532 203 7 650 32 7 7050 1102 261 26 7300 1185 7 7050 1102 261 26 7300 1185 1 10000 105 308 19 55 320 1 10000 105 308 19 55 320 1 10000 105 308 19 55 3200 1 10000 105 328 193 15 12000 1520 5 6000 379 218 $7,5$ 4500 252 6 8000 144 $234,5$ $13,5$ 900 84 5 9400 1582 268 24 8900 1300 64 $64,4$ 321 37 400 75	20		1 050	114	298	28	2050	314
5128001412203161350017345575053220376503267050110226126730011857705011022612673001185100010530819550553504433722300152010350932193151200015201035093219315230025280003792187,545002529400158226824890013006464,4321373740075	24		275	32	341	27	300	39
5 5750 532 233 7 650 32 5 7050 1102 261 26 7300 1185 5 7000 1102 261 26 7300 1185 1000 105 308 19 550 55 350 44 337 22 300 55 350 44 337 22 300 1520 5 6000 379 218 $7,5$ 4500 1520 6000 379 218 $7,5$ 4500 252 800 144 $234,5$ $13,5$ 900 84 800 1582 268 24 8900 1300 64 $64,4$ 321 37 37 400 75	13 ,	i0	12800	1412	203	16	13500	1734
5 7050 1102 233 7 650 32 7 7050 1102 261 26 7300 1185 1000 105 308 19 550 55 350 44 337 22 300 55 350 44 337 22 300 32 10350 932 193 15 12000 32 5000 379 218 7,5 4500 352 6000 379 218 7,5 4500 364 800 144 234,5 13,5 900 364 9400 1582 268 24 8900 1300 64 64,4 321 37 400 75	12 ,	5	5750	532				
7050 1102 261 26 7300 1185 1000 105 308 19 550 55 350 44 337 22 300 32 10350 932 193 15 12000 1520 10350 932 193 15 12000 1520 6000 379 218 $7,5$ 4500 252 8000 1444 $234,5$ $13,5$ 900 84 9400 1582 268 24 8900 1300 64 $64,4$ 321 37 400 75	a sini ba gani 40 juni 40 din 2003 e	1			233	r	650	32
1000 105 308 19 550 55 350 44 337 22 300 32 10350 932 193 15 12000 32 10350 932 193 15 12000 1520 6000 379 218 7,5 4500 252 800 144 234,5 13,5 900 84 9400 1582 268 24 8900 1300 64 64,4 321 37 400 75	25,5		7050	1102	261	26	7300	1185
350 44 337 22 300 32 10350 932 193 15 12000 1520 6000 379 218 7,5 4500 252 800 144 234,5 13,5 900 84 9400 1582 268 24 8900 1300 64 64,4 321 37 400 75	20		1000	1 05	308	19	550	5.5 2
10350 932 193 15 12000 1520 6000 379 218 7,5 4500 252 800 144 234,5 13,5 900 84 9400 1582 268 24 8900 1300 64 64,4 321 37 400 75	26		350	44	337	22	300	32
6000 379 218 7,5 4500 252 800 144 234,5 13,5 900 84 9400 1582 268 24 8900 1300 64 64,4 321 37 400 75	11		10350	932	1 93	15	12000	1520
800 144 234,5 13,5 900 84 9400 1582 268 24 8900 1300 64 64,4 321 37 400 75	8		6000	379	218	7,5	4500	252
5 9400 1582 268 24 8900 1300 64 64, 4 321 37 400 75	26		800	144	234,5	13,5	006	84
64 64,4 321 37 400 75	28,5		9400	1582	268	24	8 900	1300
	33		64	64,4	321	37	400	75

Lorsque la bande d'absorption est assimilée à une courbe de Gauss, la force dipolaire en Debye² est donnée par la relation :

$$D_{i} = 1,63 \ 10^{-38} \ \epsilon_{i}^{O} \ \frac{\Delta i}{\lambda}$$

N'ayant pas pu enregistrer les spectres en dessous de 205 nm, la position et l'intensité de la bande β centrée à 200 nm n'ont pu qu'être estimées.

L'examen du tableau IV-1 fait apparaître que l'intensité de la bande à transfert de charge diminue lorsqu'on passe d'un dérivé "para" à un dérivé "méta", et d'un dérivé "méta" à un dérivé "ortho".

Dans les nitrotoluènes et les acétates de nitrobenzyle, la bande a est déplacée vers les grandes longueurs d'onde ; elle n'apparaît pas pour les dérivés "para".

La bande $n \rightarrow \pi^{\bigstar}$ étant très faible, l'évaluation de son intensité est entâchée d'erreur, il est donc difficile de tirer des conclusions sur les variations d'intensité de ce pic, lorsqu'on passe d'un isomère à un autre.

Ces observations sont en accord avec la non planéité des composés "ortho" et "méta".

La décomposition fait apparaître une bande d'intensité moyenne vers 220 nm (nous l'appellerons bande b) pour toutes les molécules, et une faible bande vers 235 nm pour les dérivés "para", qui n'ont pas encore été décrites.

2 - Influence du solvant sur les spectres U.V.

Sur les figures IV-5 à IV-7 nous avons tracé les spectres U.V. des acétates de nitrobenzyle en solution dans HFIP, TMP e. DCE.

Quel que soit l'isomère considéré, il se produit un léger effet hyperchrome lorsqu'on passe du TMP au DCE, pour toutes les transtions électroniques accessibles à l'expérience.







L'hexafluoroisopropanol produit un effet hyperchrome important pour la bandeà transfert de charge intramoléculaire, et pour les autres transitions électroniques situées aux plus grandes longueurs d'onde ; et un effet hypochrome pour la bande b centrée à 220 nm.

De plus dans HFIP, la bande à transfert de charge subit un déplacement bathochrome, ce qui est en accord avec les observations de NAGAKURA et ses collaborateurs (93) sur le déplacement important vers les grandes longueurs d'onde que la bande à transfert de charge subit dans les solvants polaires.

Nous avons rassemblé dans le tableau IV-2 les résultats concernant la bande à transfert de charge.

k		ТМР	DCE	HFIP	ε _{HFIP} ε _{TMP}	$\frac{\varepsilon_{\rm HFIP}}{\varepsilon_{\rm DCE}}$
OPTHO	λ _{nm}	259	260	268		
ORINO	ε _{max}	5300	5500	6093	1,149	1,108
	λ_{nm}	263	263	268		
MEIA	ε _{max}	7400	7657	8536	1,153	1,114
ΡΔ ΒΔ	λ_{nm}	268	267	273		
FAINA	[€] max	9000	9904	10606	1,178	1,071

TABLEAU IV-2.

Noua avons calculé les rapports $\frac{\varepsilon_{\text{HFIP}}}{\varepsilon_{\text{TMP}}}$ et $\frac{\varepsilon_{\text{HFIP}}}{\varepsilon_{\text{DCE}}}$ pour les trois isomères, et nous voyons que ces rapports sont constants aux erreurs expérimentales près ; ce qui signifie que quel que soit l'acétate de nitrobenzyle envisagé, la polarité du solvant agit de la même manière sur la bande à transfert de charge intromoléculaire.

- 119 -

3 - Estimation de l'angle θ entre le plan du groupement nitro et le plan du cycle benzénique.

Nous avons calculé l'angle θ que fait le plan du groupement nitro avec le plan du cycle benzénique, en considérant que le para nitrotoluène est plan et que le groupement nitrobenzyle est plan dans l'acétate de para nitrobenzyle. Les résultats sont résumés dans le tableau IV-3.

	N ITROTOLU	JENES	ACETA NITROP	ATES DE BENZYLE
	ORTHO	META	ORTHO	MÈTA
ТМР	42 °	28°	40°	25°
DCE			42 °	28°
HFIP			41 °	26°

TABLEAU IV-3

L'examen du tableau IV-3 montre que la nature du solvant n'a pas d'influence sur la valeur de l'angle θ pour les acétates de nitrobenzyle.

Nous retrouvons pour les dérivés "ortho" une valeur un peu plus élevée que celle prévue par WEPSTER, mais du même ordre de grandeur que celle obtenue par WATSON (94).
B - ETUDE DU CHROMOPHORE NITROBENZYLE

PAR DICHROISME CIRCULAIRE MAGNETIQUE

I - RAPPELS THEORIQUES

En 1845, FARADAY découvre qu'un corps transparent isotrope, liquide ou solide, placé dans un champ magnétique, produit une rotation du plan de polarisation d'un faisceau lumineux qui le traverse parallèlement à la direction du champ magnétique et que cette rotation est proportionnelle à l'intensité du champ magnétique H appliqué (95).

Par la suite, il montre que la rotation magnétique s'ajoute à la rotation optique naturelle.

Bien que ces premières observations remontent à plus d'un siècle, l'effet FARADAY, comparé à l'activité optique naturelle, a reçu peu d'applications jusqu'à ces dernières années. C'est qu'il faut attendre 1960 pour voir l'apparition d'appareils industriels performants et d'un emploi aisé ; et 1966 pour avoir une théorie générale (96) qui explique les expériences précédentes, et redonne de l'intérêt aux recherches dans ce domaine.

Néanmoins, peu de travaux ont été faits à ce jour, pour relier l'activité magnéto optique à la structure des molécules.

1 - Théorie simplifiée du dichroïsme circulaire magnétique

Deux grandeurs sont principalement utilisées pour chiffrer le dichroïsme circulaire magnétique :

- l'ellipticité molaire magnétique $\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix}_{M}$ - le dichroïsme circulaire magnétique $\Delta_{\varepsilon_{M}}$ pour un champ magnéti-

elles ont les mêmes définitions que les grandeurs analogues utilisées pour chiffrer le dichroïsme circulaire naturel (chapitre V). En particulier on a :

 $\left[\Theta\right]_{M} = 3300 \frac{\Delta \varepsilon}{M}$

Certains auteurs normalisent à un gauss l'ellipticité molaire magnétique ou le dichroïsme circulaire magnétique, en divisant $|_{\theta}|_{M}$ ou $\Delta \epsilon_{M}$ par la quantité βH

avec β magnéton de Bohr

H intensité du champ magnétique

BUCKINGHAM et STEPHENS (96) ont montré que dans la zone d'absorption d'un chromophore, l'ellipticité molaire magnétique $|_{\theta}|_{M}$ exprimée dans les mêmes unités que l'ellipticité molaire naturelle (c'est-à-dire en degré cm² décimole⁻¹) peut se mettre sous la forme d'une somme de trois termes

$$|\theta|_{M} = -21,3458 \left[f_{1}A + f_{2}(B + \frac{C}{kT}) \right]$$
 (1)

avec :

$$F_{1} = \frac{4 v_{o} v^{3} (v_{o}^{2} - v^{2})\Gamma}{h \left\{ (v_{o}^{2} - v^{2}) + v^{2} \Gamma^{2} \right\}^{2}}$$

et

$$f_{2} = \frac{\Gamma v^{3}}{(v_{0}^{2} - v^{2}) + \Gamma^{2} v^{2}}$$

relations dans lesquelles :

 v_{c} est la fréquence d'absorption du chromophore

 Γ est la largeur à demi hauteur du pic d'absorption

- k constante de BOLTZMAN
- T température absolue
- ν fréquence

A, B et C sont les paramètres de STEPHENS, exprimés respectivement en Debye $^2 \beta$; Debye. β .cm⁻¹ et Debye 2 . β .

Les fonctions f_1 et f_2 sont représentées figure IV-8.

Nous allons nous limiter à la justification de la relation (1) en prenant l'exemple d'un système à symétrie sphérique : l'atome.



Un système à symétrie sphérique possède un moment angulaire quantifié par J, la projection du moment angulaire total sur l'axe z est quantifié par M_{τ} .

En l'absence d'un champ magnétique extérieur, l'état possédant le moment angulaire caractérisé par le nombre quantique J, est (2 J+1) fois dégénéré.

L'application d'un champ magnétique H lève la dégénérescence, c'est l'effet ZEEMAN ; l'énergie de chaque sous niveau est donnée par la relation :

$$\mathbf{E}_{\mathbf{E}}^{*} = \mathbf{E}_{\mathbf{E}} - \frac{\mathbf{f}}{2} \mathbf{g} \mathbf{M}_{\mathbf{I}} \mathbf{\beta} \mathbf{H}$$

g est le facteur de Landé

 β est le magnéton de Bohr

 $E_{_{\rm F}}$ énergie de l'état excité E, en absence de champ



FIGURE IV-9.

Pour une observation longitudinale, les deux transitions correspondant à $\Delta M_J = +1$ et $\Delta M_J = -1$ sont polarisées dans le plan perpendiculaire à la direction de propagation du champ magnétique. La transition correspondant à $\Delta M_r = 0$ vibre parallèlement au champ.

Il est possible de considérer la lumière polarisée circulairement droite ou gauche comme un ensemble de photons de moments J = 1 et $M_J = 1$ et + 1 respectivement (97). L'absorption d'un de ces photons par un système, fait varier son moment angulaire de + 1 et sa composante sur l'axe z de +1 pour la vibration polarisée circulaire gauche, et - 1 pour la vibration polarisée circulaire droite.

Ces règles permettent une description qualitative des effets observés en dichroïsme circulaire magnétique.

Considérons en effet un atome dans l'état fondamental ¹S et étudions la transition ¹S \rightarrow ¹p. Dans une telle transition, J varie de O à 1, et l'état excité est trois fois dégénéré. La figure IV-10 montre les courbes d'absorption des vibrations circulairement polarisées gauche et droite, ainsi que leur différence $\varepsilon_{\rm G}^{\rm c} - \varepsilon_{\rm D}^{\rm c}$. Dans ce cas, l'ellipticité molaire n'est composée que du terme A.

Considérons maintenant la transition ${}^1p \rightarrow {}^1S$, le niveau fondamental est dégénéré. La population des sous niveaux est régie par la loi de BOLTZMAN, et par conséquent, le sous niveau 1p_1 est moins peuplé que le sous niveau ${}^1p_{-1}$. Il en résulte que l'absorption de la lumière polarisée gauche est moins intense que l'absorption de la lumière polarisée droite. La courbe différence ${}^{\varepsilon}_{G} - {}^{\varepsilon}_{D}$ obtenue, a la forme donnée par la figure IV-11, et correspond à la superposition d'un terme A et d'un terme C dû à la différence de population des sous niveaux de l'état fondamental.

Enfin, il peut y avoir un mélange des niveaux par le champ magnétique, ce qui donne naissance au terme B de la relation (1) (Figure IV-12). Le paramètre B est inversement proportionnel à l'énergie de séparation des deux niveaux. La forme du terme B est identique à celle du terme C, mais elle ne dépend pas de la température. Le terme B existe même pour des systèmes qui ont peu de symétries, alors que les termes A et C nécessite au moins un élément de symétrie d'ordre trois.













Figure IV-12



En général, les molécules organiques ne possèdent pas d'axe de symétrie d'ordre élevé, et leur ellipticité molaire magnétique n'est composée que de termes B.

2 - La force rotationnelle magnétique

On peut caractériser l'intensité d'une bande dichroïque, par sa force rotationnelle magnétique M.

La force rotationnelle magnétique M_i , associée à la i^{ème} transition électronique, est proportionnelle à la quantité :

$$\int_{0}^{\infty} \frac{|\theta|_{M_{i}}(v)}{\frac{1}{2}} dv$$

Pour les molécules organiques peu symétriques, on a :

$$\left|\theta\right|_{\mathrm{M}} = -21,3458 \mathrm{f}_{2} \mathrm{B}$$

Si nous considérons que la bande dichroïque obtenue est une courbe de Gauss, alors :

$$M_{i} = -0,7717 \ 10^{-6} \quad \frac{|\theta|_{i}^{0} \Delta i}{\lambda_{i}}$$

avec :

 $|\theta|_i^o$: ellipticité molaire magnétique mesurée à l'extremum de la bande (en degré cm² décimole⁻¹)

 λ_i : longueur d'onde de l'extremum

 Δ_{i} : demi largeur de la bande mesurée à $\frac{\left|\theta\right|_{i}^{o}}{e}$

M : force rotationnelle magnétique de la i^{ème} transition, exprimée en 2 - 1Debye². β cm⁻¹

II - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Les spectres de dichroïsme circulaire magnétique (DCM) ont été enregistrés au Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay, sur un dichrographe ROUSSEL JOUAN CD 185, muni d'une bobine supraconductrice. En mesure normale, le champ magnétique créé est de 68 500 gauss.

Les spectres bruts ont été corrigés de la contribution du solvant et des cuves, en retranchant de l'ellipticité obtenue pour la solution, celle de la ligne de base enregistrée avec le solvant.

Le dichroïsme circulaire magnétique a été ensuite obtenu, en retranchant le dichroïsme naturel du dichroïsme mesuré en présence du champ magnétique.

Entre 400 nm et 250 nm, l'amplitude du bruit de fond, évaluée crête à crête est environ 5 mm pour la sensibilité s = 10^{-5} utilisée, elle est égale à 1 cm entre 230 nm et 220 nm, et voisine de 2 cm pour 220 nm $\lambda \lambda 210$ nm. Il n'a pas été possible d'enregistrer les spectres en dessous de $\lambda = 210$ nm.

Les molécules étudiées étant peu symétriques, leur dichroïsme circulaire magnétique ne présente que des termes B. Nous avons donc décomposé chaque spectre en courbes de Gauss en utilisant l'analyseur de courbes "du Pont de Nemours 310", et en nous aidant des résultats obtenus par dichroïsme circulaire naturel pour positionner les bandes (chapitre V).

Les valeurs de $|\theta|_{M}$ sont exprimées en degré cm² décimole⁻¹ pour un champ de 68 500 gauss.

1 - Etude des nitrotoluènes.

D'une manière générale les spectres de DCM des nitrotoluènes entre 400 nm et 210 nm sont formés de deux bandes positives et d'une bande négative.

La bande positive située aux plus hautes longueurs d'onde peut être souvent décomposée en deux courbes de Gauss centrées vers 300 nm et 310 nm et correspondant respectivement à la bande a et à la transition $n \rightarrow \pi^{*}$. Scule dans le DCE, la bande $n \rightarrow \pi^{*}$ existe pour les trois isomères.

La bande négative intense, centrée vers 265 nm correspond à la bande à transfert de charge intramoléculaire.

Nous retrouvons la transition b vers 218 nm, sous forme d'une bande positive intense.

La bande β centrée vers 200 nm n'est que suggérée et apparaît négative.

Enfin, il est parfois nécessaire de faire intervenir une bande vers 240 nm, d'intensité moyenne pour recomposer le spectre de DCM expérimental.

a - Comparaison des spectres DCM des trois isomères

Les spectres de DCM des nitrotoluènes sont semblables à ceux représentés figure IV-13.

Nous avons rassemblé dans le tableau IV-4 les résultats de la décomposition des spectres de DCM en courbes de Gauss.

Dans un solvant donné, le passage du dérivé "para" au dérivé "méta" et du dérivé "méta" au dérivé "ortho" s'accompagne :

- d'une diminution d'intensité de la bande a

- d'une diminution d'intensité, et d'un déplacement hypsochrome de la bande à transfert de charge.

Nous remarquons que la bande b est située à la même longueur d'onde pour les isomères "méta" et "para", mais qu'elle subit un effet bathochrome pour l'isomère "ortho". L'intensité de la bande b est la plus grande pour le méta nitrotoluène et la plus faible pour l'orthonitrotoluène.

b - Influence de la nature du solvant sur les spectres DCM des nitrotoluènes

L'examen du tableau IV-4 et des figures IV-14 à IV-16 montre que : - la position de la bande b est peu affectée par la polarité du solvant, il n'en est pas de même de son intensité qui est plus faible dans HFIP que dans les autres solvants (sauf pour l'orthonitrotoluène en solution dans le TMP pour lequel les intensités sont du même ordre de grandeur.).

- 127 -





Figure IV-14

BUS



Figure <u>I</u>V-15

BUS



NITION TOLIDENES MITHON TOLIDENES Air PAIA Air Air PAIA Air Air Air PAIA Air Air Air PAIA Air Air Air PAIA Air Air Air Air Air Air Air Air 2211 9 5 500 C 23:5 C 246 215 S600 S600 <th <="" colspan="6" th=""><th>ſ</th><th>1</th><th></th><th>1</th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th>-</th><th>~</th><th>1</th><th></th><th></th><th></th><th></th><th>T- 1</th></th>	<th>ſ</th> <th>1</th> <th></th> <th>1</th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th>-</th> <th>~</th> <th>1</th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th>T- 1</th>						ſ	1		1								-	~	1					T - 1
NITRO TOLIDNISS A1 A1 A1 Io ⁶ , M1 A META PAIA 221 9 8500 - 267 217,5 8 23100 - 656 218,5 9,5 15400 221 9 8500 - 267 217,5 8 23100 - 656 218,5 9,5 15400 221 9 8 5500 - 230 283,5 18,5 -666 218,5 9,5 18400 298 24,5 5200 - 330 283,5 18,5 7600 271,5 286 16600 298 24,5 5200 - 230 289,5 18,5 7600 271,5 24,5 -18600 222,5 6,5 11300 - 254 219 7,5 21800 16600 222,5 6,5 11300 - 254 219 7,5 21800 115 245 1800 222,5 24,5 1800 18,5 2100 <td rowspan="2"></td> <td></td> <td>10⁶.M₁</td> <td>- 517</td> <td>- 152</td> <td>1296</td> <td>- 688</td> <td></td> <td>~ 603</td> <td></td> <td>1279</td> <td>- 563</td> <td>- 123</td> <td>- 439</td> <td></td> <td>994</td> <td>- 558</td> <td></td> <td></td>			10 ⁶ .M ₁	- 517	- 152	1296	- 688		~ 603		1279	- 563	- 123	- 439		994	- 558								
NITRO TOLUENES λ_1 Δ_1 $ 0 _{M_1}$ 10^6 , M_1 λ_1 Λ_1 $ 0 _{M_1}$ λ_1 </td <td>RA</td> <td> ⊖ Mi</td> <td>15400</td> <td>3600</td> <td>-18600</td> <td>16600</td> <td></td> <td>18000</td> <td></td> <td>-2.08.00</td> <td>16600</td> <td>4500</td> <td>1 08 00</td> <td></td> <td>-15600</td> <td>11800</td> <td></td> <td></td>		RA	⊖ Mi	15400	3600	-18600	16600		18000		-2.08.00	16600	4500	1 08 00		-15600	11800								
Million <		PA	, T	9,5	13,5	24,5	16		9,5		21,5	13	11	11,5		23	19								
MITTRD TOLUENES λ1 Δ1 θ N1 10 ⁶ ,M1 λ1 Δ1 θ N1 10 ⁶ ,M1 221 9 8500 - 267 217,5 8 23100 - 656 221 9 8500 - 267 217,5 8 23100 - 656 221 9 8500 - 330 293,5 18,5 - 18400 1260 261 20,5 -11300 - 254 219 7,5 21800 - 370 298 24,5 5200 - 330 293,5 18,5 7600 - 370 298 24,5 5200 - 330 293,5 18,5 7600 - 370 210 260 19 -15500 846 265 23,5 -16800 1150 207 23 241,5 5 216,00 - 370 2356 2060 19 -15500 846 265 23,5 -16800 1150 207 <t< td=""><td></td><td></td><td>, ,</td><td>218,5</td><td>246</td><td>271,5</td><td>298</td><td></td><td>219</td><td></td><td>270</td><td>2 96</td><td>310</td><td>218,5</td><td></td><td>278,5</td><td>310</td><td>r</td><td></td></t<>			, ,	218,5	246	271,5	298		219		270	2 96	310	218,5		278,5	310	r							
λ1 Δ1 θ M1 10 ⁶ .M1 λ1 Δ1 θ M1 221 9 8500 - 267 217,5 8 23100 221 9 8500 - 267 217,5 8 23100 21 9 8500 - 728 265 23,5 -18400 261 20,5 -12000 + 728 265 23,5 -18400 298 24,5 5200 - 330 293,5 18,5 7600 298 24,5 5200 - 330 293,5 18,5 7600 222,5 6,5 11300 - 254 219 7,5 21800 222,5 6,5 11300 - 254 219 7,5 21800 222,5 6,5 11300 - 254 219 7,5 21800 290 233,5 18,5 5 23,5 -16800 291 29 21,5 218,5 5 23,600 <td< td=""><td></td><td></td><td>10⁶, M₁</td><td>- 656</td><td></td><td>1260</td><td>- 370</td><td>- 203</td><td>- 576</td><td>- 35</td><td>1150</td><td>- 432</td><td>- 146</td><td>- 464</td><td>- 17</td><td>884</td><td>- 443</td><td>- 57</td><td></td></td<>			10 ⁶ , M ₁	- 656		1260	- 370	- 203	- 576	- 35	1150	- 432	- 146	- 464	- 17	884	- 443	- 57							
$\begin{tabular}{ c c c c c c } \hline Λ_1 & Λ_2 & $221 \ 221 \ 298 & 245 & 5200 & -267 & 2175 & 8 \\ \hline $298 & 245 & 5200 & -330 & 293,5 & 18,5 \\ 298 & 245 & 5200 & -330 & 293,5 & 18,5 \\ 298 & 245 & 5200 & -330 & 293,5 & 18,5 \\ \hline $298 & 245 & 5200 & -330 & 293,5 & 18,5 \\ \hline $298 & 245 & 5200 & -270 & 293,5 & 18,5 \\ \hline $222,5 & 6,5 & 11300 & -254 & 219 & $7,5 \\ \hline $222,5 & 6,5 & 11300 & -254 & 219 & $7,5 \\ \hline $295 & 24 & 4300 & -270 & 293 & 21 \\ \hline $270 & 295 & 24 & 4300 & -270 & 293 & 21 \\ \hline $270 & 23,5 & -11000 & -35 & 214,5 & 5 \\ \hline $21,5 & 6200 & -150 & 313,5 & 16,5 \\ \hline $310,5 & 21,5 & 6200 & -331 & 311 & 21,5 \\ \hline $335,5 & 25,5 & 1700 & -100 & 340 & 21 \\ \hline \end{tabular}$	NES	META	0 _{M1}	23100		-18400	7600	4400	21800	2200	-16800	7800	3600	14600	1100	-13100	8300	1200							
$\begin{tabular}{ c c c c c } \hline Λ_1 & Λ_1 & Λ_1 & Λ_1 & $ \theta _M_1$ & $10^6, M_1 & Λ_1 \\ \hline λ_1 & Δ_1 & $ \theta _M_1$ & $10^6, M_1 & Λ_1 \\ \hline $221 & 9 & 8500 & -267 & $217, 5$ \\ \hline $221 & 9 & 8500 & -267 & $217, 5$ \\ \hline $298 & $24, 5$ & 5200 & $+728$ & 265 \\ \hline $298 & $24, 5$ & 5200 & $+728$ & 265 \\ \hline $298 & $24, 5$ & 5200 & -330 & $293, 5$ \\ \hline $298 & $24, 5$ & 5200 & -330 & $293, 5$ \\ \hline $298 & $24, 5$ & 5200 & -330 & $293, 5$ \\ \hline $222, 5$ & $6, 5$ & 11300 & -267 & $219, 5$ \\ \hline $222, 5$ & $6, 5$ & 11300 & -254 & 219 \\ \hline $222, 5$ & $6, 5$ & 11300 & -254 & 219 \\ \hline $222, 5$ & $6, 5$ & 11300 & -254 & 219 \\ \hline $274, 5$ & $307, 5$ & $244, 5$ \\ \hline $210 & 10 & 1100 & -35 & $218, 5$ \\ \hline $210 & $23, 5$ & 11000 & -35 & $214, 5$ \\ \hline $310, 5$ & $21, 5$ & 6200 & -150 & $313, 5$ \\ \hline $310, 5$ & $21, 5$ & 6200 & -331 & 311 \\ \hline $335, 5$ & $25, 5$ & 1700 & -100 & 340 \\ \hline \end{tabular}$	rro tolue		Å Å	œ		23,5	18,5	18,5	7,5	ى ئ	23,5	21	16,5	ი	2	24	21,5	21							
$\begin{tabular}{ c c c c c } & & & & & & & & & & & & & & & & & & &$	IN		, 1 1	217,5		265	293,5	309,5	219	241,5	265	2 93	313,5	218,5	244,5	274,5	311	340							
$\begin{tabular}{ c c c c c } & & & & & & & & & & & & & & & & & & &$			10 ⁶ , M _i	- 267		+ 728	- 330		- 254		846	- 270	- 150	- 293	- 35	739	- 331	- 100							
$MP = \frac{\lambda_1}{221 - 2} = \frac{0}{9}$ $221 - 9 = 9$ $222,5 = 6,5$ $298 = 24,5$ $298 = 24,5$ $298 = 24,5$ $295 = 24,5$ $295 = 24$ $307 = 23$ $307 = 23$ $240 = 10$ $240 = 10$ $240 = 10$ $240 = 10$ $21,5 = 335,5 = 25,5$		RTHO	0 Mi	8500		-12000	52.00		11300		-15500	43 00	2600	8800	1100	-11000	6200	1700							
λi 221 221 222,5 298 219 335, 5		0	$\Delta_{\hat{1}}$	6		20,5	24,5		6 , 5		19	24	23	9,5	10	23,5	21,5	25,5							
			λi	221 222		261	2 98		222 , 5		260	295	307	220,5	240	27.0	310,5	335,5							
	L					TMP		- 		<u>.</u>	DCE				4	HFIP	.	- 							

128 -

- la bande a, et la bande $n \neq \pi^*$ (quand elle existe) subissent un déplacement bathochrome dans HF1P. Pour les isomères "ortho" et "méta", l'intensité de la bande a augmente dans HF1P, alors que l'intensité de la bande $n \neq \pi^*$ diminue.

2 - Etude des acétates de nitrobenzyle.

L'introduction du chromophore ester - C_0 à proximité du chromophore nitrobenzyle amène des modifications dans le spectre DCM des acétates de nitrobenzyle par rapport au sepctre des nitrotoluènes, comme le montre la comparaison des tableaux IV-4 et IV-5.

- Quel que soit le solvant, les spectres DCM des acétates de nitrobenzyle présentent un déplacement hypsochrome par rapport aux spectres DCM des nitrotoluènes.

- Dans HFIP, l'intensité des bandes est plus grande pour les acétates que pour les nitrotoluènes, nous ne mettons pas en évidence de bande à 240 nm, et la transition $n \rightarrow \pi^*$ n'est présente que pour l'acétate de para nitrobenzyle.

- Dans le TMP, on ne trouve pas la bande $n \rightarrow \frac{\pi}{\pi}$, par contre, il apparaît pour les trois acétates une bande centrée vers 250 nm négative, et d'intensité moyenne, alors que pour les nitrotoluènes, elle est positive et n'est présente que pour le paranitrotoluène.

- L'influence de la polarité du solvant sur les spectres DCM des acétates de nitrobenzyle est de même nature que pour les nitrotoluènes.

Nous avons donc mis en évidence une interaction électronique entre le chromophore ester et le chromophore nitrobenzyle.

3 - Etude des mono et des dipeptides

Nous avons étudié le dichroïsme circulaire magnétique des mono et des dipeptides dérivés des aspartates et des glutamates de nitrobenzyle, afin d'essayer de mettre en évidence une interaction chaîne latérale squelette peptidique, ou chaîne latérale - chaîne latérale.

		10 ⁶ , M ₁	- 163	183	479	- 276	- 481	1361	332	- 356
	RA	le M1	63.00	-3050	-7600	67 50	13400	-20300	1 02 00	98.00
	PA	Δi	13 ~ [~	20	22 5	16	10	23 [°] 3	14	14,5
		λâ	20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 2	257	275,5	2 97	215	270,5	294	3 08
		10 ⁶ .M ₁	- 314	1 97	322	- 182	- 668	1 095	- 436	
OBENZYLE	УI	l e l _{M i}	12500	-3500	-6300	3575	22 000	-16500	0006	
S DE NITF	IM	Δi	E.	80 T	17,5	19	88	53	19	
ACETATE		, Å1	215	247	264	288,5	216	267, 5	3 03	
		10 ⁶ .M ₁	140	80	357	- 199	- 387	973	- 546	
	НС	0 M ₁	6050	-1200	0002-	3300	12200	-16800	8600	
	ORT	${\boldsymbol{\Delta}}_{\mathbf{i}}$	6_5	ي 1	<u>E</u> ~ 1	22 ° 3	6	20	25	
		, T , Y	216 Z	244	524 5	287 , 5	219	266 , 5	304	
	2.		a x					i		

BUS

- 130 -

Comme le montrent les figures IV-17 à IV-19 et les tableaux IV-6 à IV-8, les spectres de DCM des mono et dipeptides sont très voisins de ceux des acétates de nitrobenzyle. Les mêmes effets de solvant sont retrouvés sur les transitions électroniques quand on passe de l'HFIP au TMP.

Il n'y a donc pas d'interaction électronique importante entre le squelette peptidique et les chaînes latérales, ou entre chaînes latérales des peptides. THIRION (98) est parvenu à la même conclusion en étudiant des acides aminés naturels et des peptides dérivés d'acides aminés naturels, par dichroïsme circulaire magnétique.

ŧ







Figure **I∑**-19

BUS

		Н	FIP		ТМР				
	λ _i	۵ _i	e _{Mi}	10 ⁶ . M _i	λ_{i}	۵ _i	e _{Mi}	10 ⁶ .м _і	
	219	9	12200	-387	216	6,5	6050	-140	
Ac OoNB					244	21	-1200	80	
	266,5	20	-16800	973	257	17	-7000	357	
	304	25	8600	-546	287,5	22,5	3300	-199	
	220	8,25	13300	-385	220	7,5	6650	-175	
a da karan					251,5	19	-1175	68	
Ac - Asp - OMe	263,5	23	-16400	1105	260	16,5	-7200	353	
OoNB	3 02	19	9400	-457	291,5	23	3200	-195	
	324,5	9,5	800	-18					
Ac $-Asp + OMe$	219,5	7	1 43 00	-352					
	264,5	21,5	-16400	1029					
	3 03	17	8300	-359					
Ac — Glu — ØMe	220,5	8,25	8950	-258	221	10	5950	-208	
QoNB	266	20	-16100	93 4	258	18	-8525	459	
	304,5	22	8350	-466	295	19	3800	-189	
Ac -Glu + OMe	220	9	11000	-347					
	265	21,5	-1 5600	+977					
	305	18	8000	-364					
	337	9	800	-16					

88% មាន

		HF I	Р		ТМР				
	λ i	۵ _i	e _{Mi}	10 ⁶ .М <u>і</u>	λ_{i}	۵ _i	0 _{Mi}	10 ⁶ .M _i	
	216	8,5	22000	-668	215	7	12500	-502	
Ac - OmNB					24 7	18	-3500	197	
	267,5	23	-16500	1 0 9 5	264	17,5	-6300	322	
	303	19	9000	-436	288,5	19	3375	-182	
	216	8,5	23200	- 7 05	225	5,5	14800	-279	
Ac - Asp - OMe					262,5	20	-6450	379	
OmNB	263,5	21,75	-16700	1064	265	16	-3525	164	
	300	19	8200	-401	294	19,5	3500	-179	
Ac $+$ Asp $+$ OMe	217,5	9	23200	-741					
$\left\langle O_{\rm mNB} \right\rangle_2$	264	21,5	-17400	1094					
	301,5	17	8500	-370					
	215	8,5	23100	-702	214	5,5	11900	-236	
Ac - Glu - OMe					244	17	-3400	183	
OmNB	263	23	-15800	1054	261	20	-7600	449	
	301	17,5	8200	-315	284,75	19	53 7 5	-277	
Ac +Glu + OMe	215	8,5	21600	-659					
	263	23	-16900	1141					
	301	17,5	8400	-377					

88 44

		HF	IP		ТМР					
	λ i	∆ i	$ \theta _{i}$	10 ⁶ .M ₁	λ i	Δ i	$\left \theta\right _{i}$	10 ⁶ .M _i		
	215	10	13400	-481	223,5	7,5	6300	-163		
Ac OrNE					257	20	-3050	183		
AC OPINE	270, 5	23,5	-20300	1361	275,5	22,5	-7600	479		
	294	14	10200	-375	297	15,75	6750	-276		
	308	14,5	9800	-356			- - -			
	216	8	10600	-303	222	7,5	7000	-183		
Ac - Asp - OMe	236	4	-2500	33	257	24	-2300	166		
l OpNB	266	22	-17800	1136	269	15,75	-8600	389		
	301	17	11500	-501	296,75	16,75	4875	-212		
Ac + Asp + OMe	216	10	11800	-422						
$\left< O_{\text{pNB}} \right>_2$	265	25	-21200	1544	2 50 Mart 19 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	Sare da Statistica and same statistic.	- 100 (100 7/maples) (1 2700 12 4 - 100 (2 4 4 4 10 100			
	300	18	12500	-579						
	216	8	11400	-326	221	7,5	6650	-172		
Ac - Glu - OMe					256	19	-5900	338		
OpNB	268	22	-17500	1109	273,5	16	-8650	391		
	299	18	12400	-576	292,5	17,5	6625	-306		
	214,5	10,5	11000	-416						
	269	23	-19900	1314						
$\langle O_{\rm pNB} \rangle_2$	299,5	20,5	12800	-676						



C - ETUDE DES TRANSITIONS ELECTRONIQUES

DES NITROTOLUENES PAR LA METHODE CNDO/2

I - LES METHODES QUANTIQUES DE CALCUL (99) (100)

Les objectifs premiers de la chimie-physique sont d'expliquer comment les atomes se combinent pour former les molécules, de prédire les réactions que peuvent subir les atomes et les molécules, et de déterminer la vitesse avec laquelle celles-ci se font.

Tous ces objectifs dépendent de la possibilité de calculer l'énergie d'une collection d'atomes, en fonction de leur configuration.

Le but des calculs quantiques est de fournir à priori ces informations, en respectant deux conditions fondamentales :

- les calculs doivent être suffisamment précis pour avoir une signification chimique

- le prix de revient est très important, car le volume des calculs nécessaires devient rapidement très grand. On ne peut pas en effet calculer directement la géométrie d'une molécule, on est obligé de la déduire à partir d'une interpolation de l'énergie d'un grand nombre de géométries voisines de celle qui correspond au minimum de l'énergie potentielle.

La solution exacte de l'équation de SCHRODINGER permet de prédire en détail le comportement de n'importe quel système chimique ; mais en pratique, cela n'est réalisable que pour les atomes ou les ions les plus simples.

Par conséquent, les théoriciens ont été amenés à concevoir des méthodes de calcul moins rigoureuses que l'on a classées en :

. méthodes ab initio

. et méthodes semi empiriques

Nous nous limiterons à l'exposé des méthodes qui ont conduit à l'élaboration de la méthode CNDO/2.

1 - Les méthodes ab initio (SCF. LCAO. MO)

a - Généralités

Le point de départ de la méthode des orbitales moléculaires est la construction d'une fonction d'onde d'un système polyélectronique, en faisant une combinaison adéquate des fonctions d'onde monoélectroniques.

La fonction d'onde totale décrivant un système de n électrons sans interaction est donnée par le déterminant de SLATER

 $\Psi = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} \Psi_{1}(1) & \alpha(1) & \Psi_{1}(1) & \beta(1) & \Psi_{2}(1) & \alpha(1) & \Psi_{2}(1) & \beta(1) \dots \\ \Psi_{1}(2) & \alpha(2) & \Psi_{1}(2) & \beta(2) & \Psi_{2}(2) & \alpha(2) & \Psi_{2}(2) & \beta(2) \dots \\ \vdots & & & \\ \Psi_{1}(n) & \alpha(n) & \Psi_{1}(n) & \beta(n) & \Psi_{2}(n) & \alpha(n) & \Psi_{2}(n) & \beta(n) \dots \\ \end{vmatrix}$

 φ est l'orbitale qui ne dépend que des coordonnées d'espace α et β sont les fonctions d'onde de spin.

En réalité, dans une molécule réelle les électrons interagissent, il est donc nécessaire de déterminer les orbitales individuelles Ψ de telle manière que la présence des autres électrons soit prise en considération.

> b - La méthode du champ auto-cohérent (Self-Consistent field ou méthode S.C.F.)

La méthode du champ auto-cohérent est la meilleure méthode qui permette de déterminer les orbitales moléculaires individuelles. En voici les principales caractéristiques :

- l'hamiltonien total exact du système est écrit en explicitant les interactions des électrons :

$$H = \sum_{v} H(v) + \sum_{u \le v} \frac{1}{v}$$

H(v) est l'hamiltonien pour un électron v dans le champ créé par tous les noyaux.

- l'énergie totale du système est alors donnée par la relation classique en mécanique quantique

$$E = \frac{\int \Psi^* H \Psi d\tau}{\int \Psi \Psi^* d\tau}$$

- on applique alors le principe variationnel pour l'énergie, c'est-à-dire que l'on ajuste la valeur des paramètres qui composent la fonction ψ , afin d'obtenir l'énergie E minimale. On obtient ainsi les équations générales de FOCK.

$$F \Psi_i = \varepsilon_i \Psi_i$$

F est un opérateur qui joue le rôle d'un hamiltonien individuel ε_i est l'énergie individuelle d'un électron occupant l'orbitale Ψ_i

La caractéristique essentielle des équations de FOCK réside dans le fait que chaque opérateur individuel F dépend de toutes les orbitales occupées dans le système. Ainsi, chaque Ψ est donnée pour une équation qui dépend de tous les Ψ . Il est donc nécessaire de choisir arbitrairement un ensemble de fonctions d'onde Ψ , de calculer les valeurs des F (v), de résoudre les séries d'équations pour un nouvel ensemble de fonctions d'onde Ψ ; on recommence toutes ces opérations, jusqu'à ce que la p^{ième} série de fonctions d'onde Ψ reproduise la (p-1)^{ième} série de fonctions d'onde Ψ , avec une bonne précision. D'où le nom "auto cohérent" donné à ce procédé.

Pour que les orbitales de départ Ψ soient aussi proches que possible de la solution, on fait l'approximation L.C.A.O. dans laquelle chaque orbitale moléculaire d'une molécule est une combinaison linéaire de toutes les orbitales atomiques occupées de chaque atome.

$$\Psi = \sum_{\mathbf{r}} C_{\mathbf{r}} \chi_{\mathbf{r}}$$

Les équations de FOCK sont alors transformées en un système d'équations linéaires homogènes : les équations de ROOTHAAN:

- 137 -

- 138 -

$$\sum_{\mathbf{q}} C_{\mathbf{i}\mathbf{q}} (\mathbf{F}_{\mathbf{p}\mathbf{q}} - \varepsilon S_{\mathbf{p}\mathbf{q}}) = 0$$
 (2)

avec :

$$S_{pq} = \int \chi_{p}^{\bigstar} (v) \chi_{q} (v) d\tau_{v}$$
 intégrale de recouvrement

$$F_{pq} = \int \chi_{p}^{\bigstar} (v) F\chi_{q} (v) d\tau_{v}$$
 élément pq de la matrice de l'opérateur
de FOCK

Un ensemble d'équations du type (2) ne possède pas de solution, sauf si le déterminant $|\mathbf{F}_{pq} - \varepsilon S_{pq}|$ est nul. $|\mathbf{F}_{pq} - \varepsilon S_{pq}| = 0$ (3)

L'équation (3) fournit l'énergie ε ; à partir de l'équation (2), on peut alors obtenir les paramètres C_{iq}. Cependant on peut montrer que les éléments F_{pq} dépendent des coefficients C_{iq} :

$$F = H + G \\ pq pq pq$$

où :

$$H_{pq} = \int \chi_{p}^{*} (v) H (v) \chi_{q}(v) d\tau_{v}$$

et

$$G_{pq} = \sum_{j} \sum_{r,s} C_{jr} C_{js} [2 (rp, qs) - (rq, ps)]$$

avec :

$$(pq,rs) = \iint \chi_{p}^{*}(\mu) \chi_{q}(\mu) \frac{1}{r} \chi_{r}^{*}(\nu) \chi_{s}(\nu) d^{\tau}_{\mu} d^{\tau}_{\nu} \qquad (4)$$

Donc, en pratique, pour résoudre les équations de ROOTHAAN, il faut choisir un ensemble de valeurs de départ des paramètres C_r^o , calculer les F_{pq} , résoudre les équations pour un nouvel ensemble de valeurs de paramètre C_r , et ainsi de suite jusqu'à ce qu'une certaine uniformité soit atteinte. Selon l'expression mathématique que l'on donne aux orbitales atomiques, on distingue :

- la méthode STO (Slater Type Orbital) qui est la plus ancienne et dans laquelle, la fonction d'onde est sous forme exponentielle.

- la méthode STO-N G dans laquelle les orbitales atomiques sont formées de N fonctions de Gauss, ce qui simplifie les calculs.

En fait, dans le cas des atomes non hydrogénoïdes, les fonctions exponentielles du type Slater ne sont pas de bonnes approximations pour les orbitales atomiques ; aussi dans la méthode LEMAO-N G (Least Energy Minimal Atomic Orbital with N Gaussians) les orbitales atomiques sont des sommes d'orbitales gaussiennes normalisées, dont les paramètres sont ajustés par une méthode des moindres carrés.

c - Discussion

En principe, la méthode SCF s'applique à n'importe quèlle molécule, avec un nombre non limité d'orbitales atomiques χ . Pratiquement, la méthode nécessite le calcul d'un grand nombre d'intégrales doubles du type (4) (leur nombre varie comme la puissance quatrième du nombre d'orbitales atomiques de départ) ce qui rend le prix de revient du calcul excessif et limite l'application de la méthode.

Cette méthode est incapable de donner les valeurs correctes des chaleurs d'atomisation (on commet une erreur de 100 kcal.mole⁻¹). Des artifices comme l'introduction des interactions de configuration (C.I.) réduisent les erreurs commises.

Les chaleurs de réactions sont en général mal reproduites, si on prend un nombre minimum d'orbitales atomiques pour faire le calcul.

Par contre, la méthode SCF est très bien adaptée pour comparer des systèmes qui ont le même nombre de liaisons du même type.

2 - Les méthodes semi-empiriques.

L'objectif des méthodes semi-empiriques est de réduire le nombre des calculs, en diminuant le nombre des intégrales de répulsion du type (4).

- 139 -

Pour cela, on utilise un nombre minimum d'orbitales atomiques de base, et on suppose qu'il n'y a pas d'interactions entre les électrons des couches internes et les électrons périphériques. Cependant, même avec ces simplifications, le volume des calculs demeure excessif, d'autres approximations sont nécessaires.

a - L'approximation classique de HÜCKEL

Au lieu d'essayer de déterminer la meilleure orbitale moléculaire de la forme LCAO qui minimise l'énergie correspondant à une fonction d'onde sous forme de déterminant, on cherche des orbitales moléculaires approximatives que l'on met toujours sous forme LCAO.

Cette méthode a été utilisée pendant longtemps en particulier pour l'étude des systèmes ayant des électrons π . On suppose que chaque électron π du système, se déplace dans un champ "effectif" créé par l'ensemble des noyaux, des électrons des couches internes, et des autres électrons π .

On peut alors introduire un "hamiltonien effectif" H eff , et la résolution d'une équation de SCHRÖDINGER individuelle

$$H_{eff} \Psi = \varepsilon \Psi$$

conduit à l'énergie individuelle ϵ , et à l'orbitale Ψ

Pour une orbitale moléculaire du type LCAO on est conduit aux équations :

 $\sum_{s} C_{s} (H_{rs} - \varepsilon S_{rs}) = 0$

avec

$$H_{rs} = \int \chi_{r}^{*} H_{\chi_{s}} d\tau$$
$$S_{rs} = \int \chi_{r}^{*} \chi_{s} d\tau$$

où H est l'hamiltonien effectif individuel.

Les énergies individuelles sont solution de l'équation :

$$|H_{rs} - \varepsilon S_{rs}| = 0$$

On retrouve formellement les équations de la méthode SCF LCAO MO. Ainsi, une bonne définition de H_{eff} peut donner des solutions satisfaisantes, sans utiliser le procédé fastidieux d'itération de la méthode SCF. Deux procédés de calculs dérivent de ces équations : l'approximation de HÜCKEL et l'approximation de WHELAND-MULLIKEN. Dans les deux cas, l'hamiltonien H n'est pas explicité, mais les éléments matriciels H_{rs} sont considérés comme des paramètres ajustables. La différence essentielle entre les deux approximations réside dans le fait que HÜCKEL néglige le recouvrement, alors que WHELAND et MULLIKEN en tiennent compte.

b - La théorie étendue de HUCKEL (Extended HÜCKEL theory (E.H.T.))

Cette méthode due principalement à HOFFMANN est la première à tenir compte de tous les électrons de valence dans une grande molécule.

Dans cette méthode, les orbitales moléculaires Ψ_i sont construites à partir d'une combinaison linéaire d'orbitales atomiques de Slater χ_r .

les coefficients C_{ir} et les énergies des orbitales sont obtenus en résolvant la série d'équations séculaires :

$$\sum_{s} C_{is} (H_{rs} - E S_{rs}) = 0$$

avec i = 1, 2, 3... n.

où H est un hamiltonien effectif.

L'ensemble des orbitales atomiques de base est construit à partir de l'orbitale 1 s de l'atome d'hydrogène, des orbitales 2 s et 2 p de chaque atome de carbone et de chaque hétéroatome. Les éléments diagonaux H_{rr} de la matrice sont les potentiels d'ionisation de l'orbitale r, les éléments non diagonaux H_{rs} sont obtenus d'une manière approximative par la relation de WOLFSBERG - HELMOLTZ.

$$H_{rs} = 0,5 \text{ K} (H_{rr} + H_{ss}) S_{rs}$$

où K est une constante voisine de 1,75.

- 141 -

Les orbitales moléculaires sont les valeurs propres d'un hamiltonien effectif H que l'on n'explicite pas. Les éléments matriciels de H sont traités comme des apports empiriques caractéristiques des atomes envisagés.

La limitation principale de la méthode EHT est son incapacité de tenir compte des interactions entre une orbitale atomique donnée, et les électrons du même atome ou des atomes voisins.

c - La méthode ZDO (Zero differential overlap)

On peut tourner les difficultés des calculs pratiques sur les grandes molécules, tout en évitant d'utiliser un hamiltonien totalement empirique, à condition de simplifier la méthode SCF et d'en garder le formalisme.

La pierre d'achoppement de la méthode SCF est le calcul des intégrales sur toutes les orbitales atomiques. Il est donc nécessaire de réduire leur nombre, ce qui a conduit à l'approximation ZDO qui suppose que :

$$\chi_{p}(\mu)\chi_{q}(\mu) \equiv 0 \quad \text{pour } p \neq q$$

Cette hypothèse primitivement faite par PARISER et PARR en 1953 dans le cas des électrons π , a été par la suite généralisée par POPLE et ses collaborateurs pour n'importe quelle orbitale de valence.

Par conséquent, les intégrales de recouvrement disparaissent, et de plus, parmi les intégrales (pq, rs) seules subsistent les intégrales (pp, pp) et (pp, qq).

Les équations de ROOTHAAN se trouvent simplifiées de la manière suivante :

$$\sum_{\mathbf{q}} C_{\mathbf{j}\mathbf{q}} (\mathbf{F}_{\mathbf{p}\mathbf{q}} - \epsilon \delta_{\mathbf{p}\mathbf{q}}) = 0$$
 (5)

où δ_{pq} est le symbole de KRONECKER.

Les éléments F comprennent les éléments d'interaction G qui pq se réduisent à :

- 143 -

$$G_{pq} = -\sum_{j} \sum_{p,q} C_{jp} C_{jq} (pp, qq)$$
(6)

et

$$G_{pp} = \sum_{i} \sum_{r} 2 c_{ir}^{2} [(rr, pp)]$$
(7)

d - La méthode CNDO (Completely Neglected of differential overlap)

Dans cette approximation, tous les électrons de valence de la molécule sont traités explicitement dans le cadre de la méthode LCAO SCF précédemment décrite. Les électrons de couches profondes sont inclus dans le "coeur", et tous les produits $\chi_p(\mu) \chi_q(\mu)$ entre les orbitales de valence appartenant à un même atome, ou à deux atomes différents, sont négligés.

Par conséquent, les équations à résoudre sont celles de la méthode ZDO. :

$$\sum_{\mathbf{q}} C_{\mathbf{i}\mathbf{q}} (\mathbf{F}_{\mathbf{p}\mathbf{q}} - \varepsilon_{\dot{\mathbf{0}}\mathbf{p}\mathbf{q}}) = 0$$

et les éléments de matrice G et G sont donnés par les relations (6) et (7).

Nous allons maintenant réécrire les relations (5), (6) et (7) avec les notations traditionnelles de POPLE. Les lettres grecques en indice correspondent aux orbitales atomiques, et les lettres capitales en indice, correspondent aux atomes.

L'équation (5) devient :

$$\sum_{\nu} c_{i\nu} (F_{\mu\nu} - \epsilon \delta_{\mu\nu}) = 0$$

En utilisant la définition de la densité de charge et de la matrice de multiplicité on a :

$$P_{\mu\nu} = 2 \sum_{i} C_{i\mu} C_{i\nu}$$

la sommation est faite sur toutes les orbitales moléculaires occupées.

$$\mathbf{G}_{\mu\mu} = \frac{1}{2} \mathbf{P}_{\mu\mu} \mathbf{\gamma}_{\mu\mu} + \sum_{\lambda \neq \mu} \mathbf{P}_{\lambda\lambda} \mathbf{\gamma}_{\lambda\mu}$$

$$\mathbf{G}_{\mu\nu} = -\frac{1}{2} \mathbf{P}_{\mu\nu} \mathbf{\gamma}_{\mu\nu}$$

et

où
$$\gamma_{\mu\nu}$$
 est l'intégrale ($\mu\mu$, $\nu\nu$).

Dans la méthode CNDO, on fait deux autres hypothèses fondamentales :

- Les intégrales de Coulomb $\gamma_{\mu\nu}$ sont toutes considérées comme des intégrales de Coulomb calculées à partir des orbitales atomiques s du type Slater. Si μ et ν appartiennent à la même seconde sous couche de l'atome A, alors :

$$\gamma_{\mu\nu} = \gamma 2 s_A^2 s_A = \gamma A A$$

sinon :

$$\gamma_{\mu\nu} = \gamma_{2S_{A}^{2}S_{B}} = \gamma_{AB}$$

Posons :

$$P_{AA} = \sum_{\mu A} P_{\mu\mu}$$

les éléments matriciels G_{111} deviennent :

$$G_{\mu\mu} = (P_{AA} - \frac{1}{2} P_{\mu\mu}) \gamma_{AA} + \sum_{B \neq A} P_{BB} \gamma_{AB}$$

- La seconde hypothèse concerne les éléments matriciels de "coeur" H_{µν}, dans la méthode CNDO, le coeur est composé des électrons 1 s et du noyau atomique. Si on fait une partition de l'hamiltonien de "coeur" en fractions centrées sur les atomes, alors, l'intégrale de coeur concernant une orbitale µ et centrée sur un atome A, s'écrit :

$$H_{\mu_{A}\mu_{A}} = U_{\mu_{A}\mu_{A}} + \sum_{B \neq A} \langle \mu_{A} | v_{B} | \mu_{A} \rangle$$
$$= U_{\mu_{A}\mu_{A}} - \sum_{B \neq A} V_{BA}$$

où V $_B$ est le potentiel dû au coeur B et U $_{\mu_A\mu_A}$ un paramètre caractéristique de l'atome A.

Les valeurs de tous les H $_{\mu_{A}\nu_{A}}$ pour deux orbitales différentes d'un même atome sont négligées.

Les intégrales $H_{\mu_A \nu_B}$ sont exprimées de la manière suivante :

$$H_{\mu_A \nu_B} = \frac{1}{2} (\beta_A^o + \beta_B^o) S_{\mu\nu}$$

où $S_{\mu\nu}$ est l'intégrale de recouvrement entre les orbitales μ et V β_A^O et β_B^O sont des paramètres caractéristiques des atomes A et B.

Dans la méthode CNDO/2, on prend pour valeur du paramètre U : $\begin{array}{c} \mu\mu\\ \mu\mu\end{array}$

$$U_{\mu\mu} = -\frac{1}{2} (I_{\mu} + A_{\mu}) - (Z_{A} - \frac{1}{2}) \gamma_{AA}$$

avec :

 $\begin{array}{ll} \mathbf{I}_{\mu} & \mbox{potential d'ionisation de l'orbitale } \mu \\ \mathbf{A}_{\mu} & \mbox{affinité électronique de l'orbitale } \mu \end{array}$

et pour valeur des V_{AB} :

$$V_{AB} = Z_B \gamma_{AB}$$

avec Z_{B} charge du coeur B.

e - Autres méthodes quantiques

Il existe un certain nombre d'autres méthodes quantiques comme les méthodes INDO (intermediate neglect of differential overlap) et NNDO (neglect of diatomic differential overlap) qui dérivent de l'approximation ZDO ; la méthode PCILO (Perturbative Configuration interaction using totally localised orbitals) et la méthode MINDO 3 (Modified INDO).

Les méthodes quantiques que nous venons d'exposer ou de citer, ont des applications généralement très spécifiques ; en particulier, la méthode CNDO/2S est bien adaptée à l'étude des transitions électroniques.

II - APPLICATION DE LA METHODE CNDO/2 A L'ETUDE DES TRANSITIONS ELECTRONIQUES DANS LES NITROTOLUENES

L'étude des transitions électroniques par la méthode CNDO/2 nécessite la connaissance préalable de la géométrie de la molécule considérée. Nous avons donc fait dans un premier temps une analyse conformationnelle des nitrotoluènes.
1 - Résultats de l'analyse conformationnelle.

Nous n'avons tenu compte que des interactions non liantes dans l'étude conformationnelle des nitrotoluènes. Le programme "Descartes" (chapitre II) a tracé les cartes conformationnelles en fonction des deux paramètres θ et χ .

- θ étant l'angle que fait le plan du groupement nitro, avec le plan du cycle benzénique
- χ étant l'angle du dièdre défini par le plan du cycle aromatique et le plan défini par la liaison C-C, et une liaison C-H du groupement méthyl.

Les conventions sont les suivantes :

 $\theta = 0$ lors que le groupement nitro et le noyau benzénique sont coplanaires $\chi = 0$ lorsque la liaison C-H considérée est dans le plan du cycle benzénique à l'opposé du groupe nitro comme le montre la figure IV-20.

L'examen des cartes conformationnelles (figures IV-22 et IV-23) fait apparaître que les conformations favorisées sont celles pour lesquelles le groupement nitro est perpendiculaire au plan du cycle, à \pm 10° près. L'angle X n'intervient pas dans l'établissement de la conformation des isomères "méta" et para". Il n'en est pas de même pour l'orthonitrotoluène ; en effet l'empêchement stérique dû à la disubstitution en position ortho, limite X aux valeurs comprises entre 0 et 27° ou 93° et 120°.

Discussion :

Dans le calcul qui a été fait, nous n'avons tenu compte que des interactions non liantes qui favorisent une géométrie dans laquelle le groupement nitro est perpendiculaire au plan du cycle. Or, la délocalisation complète des 6 électrons T du noyau benzénique et des doublets électroniques non appariés du groupement nitro, est énergétiquement favorable, et est d'autant plus aisée que la molécule est plane.

"L'énergie de résonance" diminue l'énergie totale de la molécule, et rend favorables les conformations pour lesquelles l'angle θ est proche de 0, comme le suggère la figure IV-21.

L'utilisation d'une méthode quantique comme la méthode MINDO 3 aurait été plus adaptée à ce type de calcul conformationnel complet. Malheureusement, nous ne possédions pas le programme MINDO 3.

•

•





ORTHO NITRO TOLUENE

Figure **I**<u>V</u>−22





PARA NITRO TOLUENE



Figure <u>I</u><u>V</u>-23

2 - Résultats des calculs CNDO/2.

Les calculs CNDO/2 ont été faits sur les nitrotoluènes en utilisant les paramètres de Jaffé. Nous avons toujours pris $\chi = 0$.

Dans les tableaux IV-9, IV-10 et IV-11, nous avons reporté la longueur d'onde et la force oscillatrice f des transitions électroniques, ainsi que la valeur de l'angle θ . Nous avons comparé ces valeurs aux résultats expérimentaux.

$\theta = 0^{\circ}$		$\theta = 30^{\circ}$		$\theta = 90^{\circ}$		Expérience	
λ_{nm}	f	λ_{nm}	f	λ nm	f	λ nm	ε
187,7	0, 932	187,3	0,506	186,3	1,035		
193,1	3,77.10 ⁻⁴	189,8	0,351	187,2	1,094		
196,3	0,950	197,2	0,790	205	0,455	1 98	12100
220,1	9,23.10 ⁻²	219,2	0,134			217,5	3650
252,3	3,54.10 ⁻²	250,4	2,29.10 ⁻²	249,7	7,06.10 ⁻³	259	5050
276,4	3,14,10 ⁻²	276,4	2,02.10 ⁻²	273,2	5,21.10 ⁻³	300	1050
349,2	1,73.10 ⁻⁶	346,1	3,38.10 ⁻⁴	327,5	2,25.10 ⁻⁵	336	275
396,8	4,73,10 ⁻⁶	374,2	1,25.10 ⁻³	355,8	1,01.10 ⁻⁶		
	1	1	1	•			

ORTHON ITROTOLUENE

TABLEAU IV-9

θ	$\theta = 0$.		90°	Expérience		
$\lambda \atop {nm}$	f	$\lambda \atop {nm}$	f	λ_{nm}	ε	
187,1	0,774	186	0,994			
196,4	196,4 1,043		1,07	199,5	12800	
		205,5	0,436			
223,3	7,69.10 ⁻²			220	5750	
254,2	4,28.10 ⁻²	249	8,95.10 ⁻³	266	7050	
278,4	1,73.10 ⁻²	273	4,74.10 ⁻³	310	1000	
347,2	5,93.10 ⁻⁸	327,7	1,55.10 ⁻⁵	340	350	
367,5	4,08.10 ⁻⁸	354,1	1,99.10 ⁻⁷			

META NITROTOLUENE

TABLEAU IV-10

PARAN ITROTOLUENE

θ.	= 0	Expérience		
λ_{nm}	f	λ_{nm}	ε	
186,4	0,955			
195,5	0,896	199	10350	
222 ,7	5,99,10 ⁻²	219	6000	
		235	800	
255,9	1,07.10 ⁻¹	276	9400	
274,1	3,035.10 ⁻⁴	an na an a		
334,4	1,56.10 ⁻⁸	334	64	
363,4	2,917.10 ⁻⁸			

Sur les figures IV-24 à IV-29, nous avons simulé les spectres U.V. en portant f en fonction de λ .

L'examen des tableaux IV-9, IV-10 et IV-11 amène les remarques suivantes :

- la valeur $\theta = 90^{\circ}$ donne le plus mauvais accord entre le calcul CNDO/2 et les résultats expérimentaux sur la position des transitions électroniques, et de plus, la bande b située vers 220 nm n'est pas retrouvée dans ce cas.

- Il y a un très mauvais accord entre l'intensité calculée et l'intensité expérimentale des bandes en particulier pour la transition $n \rightarrow \pi$ pour laquelle l'intensité doit beaucoup dépendre des effets vibrationnels complètement négligés dans cette étude préliminaire.

- Par contre, il existe une assez bonne corrélation, comme le montre la figure IV-30, entre les longueurs d'onde calculées et les longueurs d'onde expérimentales des transitions électroniques ; sauf pour la bande "a" pour laquelle le calcul CNDO/2 donne une valeur proche de celle trouvée dans la littérature pour le nitrobenzène $\lambda = 280$ nm (1).

- Le calcul CNDO/2 ne fait pas apparaître de bande vers 240 nm.

- Dans le cas de l'orthonitrotoluène le spectre U.V. est peu affecté lorsque l'angle θ varie de O à 30°.

- L'effet hypochrome de la bande à transfert de charge qui apparaît lorsqu'on passe de l'isomère para à l'isomère méta, et de l'isomère méta à l'isomère ortho est retrouvé par la méthode CNDO/2 même lorsque les molécules de nitrotoluène sont planes et semble ne dépendre que de la position des substituants sur le cycle aromatique.

















L'ensemble des études expérimentales et théoriques que nous avons faites sur le chromophore nitrobenzyle nous a permis de mettre en évidence, outre les quatre transitions déjà décrites dans la littérature, une transition intense centrée vers 200 nm, probablement due aux électrons π du noyau benzénique.

L'apparition d'une bande vers 240 nm n'a pas été confirmée par le calcul CNDO/2 mais il faut remarquer que nous l'avions mise en évidence dans notre simulation de spectres expérimentaux en supposant que toutes les bandes d'absorption étaient gaussiennes, ce qui n'est qu'une première approximation.

Le calcul CNDO/2 montre que la non planéité des molécules d'ortho et de méta nitrotoluène n'est pas la seule cause de l'effet hypochrome qu'on observe pour la bande à transfert de charge intramoléculaire.

Enfin, les spectres de DCM ont confirmé qu'il n'y avait pas d'interactions notables des chaînes latérales entre elles ou avec le squelette peptidique.

CHAPITRE V

DICHROISME CIRCULAIRE

1 - Origine Phénoménologique

Lorsqu'une onde électromagnétique, linéairement polarisée, traverse un milieu possédant un groupement chromophore optiquement actif, ses composantes circulairement polarisées gauche et droite, ne sont pas absorbées de la même manière $\varepsilon_D \# \varepsilon_G^c$, il y a apparition de dichroïsme circulaire.

L'extrémité du vecteur champ électrique $\stackrel{\rightarrow}{E}$, décrit donc à la sortie, une ellipse.

L'angle Ψ , figure V-1, appelé ellipticité, est relié aux indices d'absorption K_G et K_D des lumières circulairement polarisées gauche et droite, par la relation :

$$\Psi = -\frac{\pi}{\lambda} (K_{\rm G} - K_{\rm D})$$
1

Ψ: ellipticité exprimée en radians

 λ : longueur d'onde de l'onde électromagnétique

1 : épaisseur du milieu

Deux grandeurs macroscopiques ont été introduites pour exprimer l'ellipticité d'un soluté d'une manière commode :

- l'ellipticité spécifique $\left[\Psi\right]$

$$\left[\Psi\right] = \frac{\Psi}{1 \text{ C}}$$

y: ellipticité exprimée en degré

- 1: épaisseur du milieu exprimée en dm
- C: concentration du soluté, exprimée en gml^{-1}



Figure X-1

883 11112

- l'ellipticité molaire $\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix}$

par définition $\left[\theta\right] = \left[\Psi\right] \frac{M}{100}$

Sachant que l'indice d'absorption K est relié au coefficient d'extinction molaire ϵ par la relation :

$$K = Log \ 10 \ \frac{\lambda}{4 \pi} \ \ell \varepsilon = \frac{2,303}{4} \lambda \ell \varepsilon$$

avec ℓ : concentration du soluté exprimée en mole.1⁻¹. On montre que

• 1	[θ]	= 3300	(ε _G -	ε _D)

La $\varepsilon_{c} - \varepsilon_{p} = \Delta \varepsilon$ porte le nom d'absorption différentielle dichroïque

l'ellipticité molaire $\left[\theta\right]$, s'exprime en degré cm² décimole⁻¹, unité hors système consacrée par l'usage.

Le dichrographe fournit directement la différence de densité optique ($A_G - A_D$) à la sortie de l'échantillon pour les lumières circulairement polarisées gauche et droite.

$$\Delta \varepsilon = \frac{M}{C \ 1} (A_{G} - A_{D})s$$

M : masse moléculaire soluté (en g)
C : concentration du soluté (en gl⁻¹)
1 : épaisseur de la cuve (en cm)
la différence A_G - A_D est mesurée sur le spectre en mm.
s : est la sensibilité exprimée en mm⁻¹

2 - Les théories quantiques de l'activité optique

De nombreuses théories ont été proposées pour expliquer l'origine de l'activité optique d'un milieu. Elles ont pour point de départ les deux observations suivantes : - Une transition électronique peut impliquer le déplacement linéaire des charges électroniques et créer par là même un moment électrique appelé moment de transition électrique

- ou entraîner la rotation des charges électriques autour d'un axe, donnant naissance à un moment magnétique appelé moment de transition magnétique.

D'une manière générale, les transitions électroniques peuvent être électriquement ou magnétiquement permises, mais les transitions électriquement permises sont dix mille fois plus intenses que les transitions magnétiquement permises.

a - La théorie de ROSENFELD. Introduction de la force rotationnelle.

La première théorie quantique de l'activité optique d'une substance en solution a été présentée par ROSENFELD en 1928 (103) ; celui-ci attribue l'activité optique d'une molécule à des transitions électroniques ayant des moments de transition électriques et magnétiques, parallèles ou antiparallèles. Les résultats obtenus ne sont valables que dans les régions du spectre en dehors de la zone d'absorption.

ROSENFELD exprime la force rotationnelle R_a de la transition électronique 0 \rightarrow a en termes quantiques par la relation :

$$R_{a} = \left\{ I_{m} < O | \mu | a > \dots < a | m | O > \right\}$$

où I_m signifie partie imaginaire

- μ opérateur moment dipolaire électrique
- m opérateur moment dipolaire magnétique
- O fonction d'onde de l'état fondamental
- a fonction d'onde de l'état excité

Par la suite des théories plus élaborées ont complété la théorie de ROSENFELD en l'appliquant à des modèles particuliers.

b - La théorie de l'oscillateur couplé de KIRKWOOD(1937) (104)

KIRKWOOD suppose que l'état électronique fondamental de la molécule n'est pas dégénéré, et que la molécule optiquement active se compose de N groupes couplés par des liaisons de covalence, à un groupe

- 154 -

central inactif (le carbone asymétrique par exemple). Si les groupes couplés sont optiquement actifs, ils sont à leur tour décomposés. On obtient finalement un ensemble de groupes inactifs que l'on juxtapose pour former un ensemble asymétrique, à l'origine de l'activité optique. Une fois la molécule décomposée, KIRKWOOD couple deux moments de transition électriques voisins, et ne tient compte dans la suite du calcul que des interactions des groupes secondaires avec le groupe central. Pour qu'il y ait dans ce cas couplage effectif, il faut :

- soit des moments de transition élevés

- soit une proximité des deux groupes.

La théorie de KIRKWOOD est aussi appelée "mécanisme K".

c - La théorie à "un électron" de CONDON, ALTAR et EYRING (1937) (105)

CONDON, ALTAR et EYRING supposent que chaque électron de la molécule se déplace dans un champ de force créé par la distribution de charge dans la molécule. L'activité optique est alors due au mélange d'une transition magnétique d'un chromophore, avec une transition électrique du même chromophore, sous l'influence du champ perturbateur provenant des autres groupements de la molécule.

Cette théorie est aussi désignée sous le nom de "mécanisme C.A.E.".

d - La théorie de l'oscillateur couplé de MOFFITT (1956) (106)

Cette théorie fait intervenir le couplage de deux moments de transition identiques, appartenant à deux chromophores voisins, couplage qui s'æcompagne dume levée de dégénérescence des états excités. On observe alors un dédoublement excitonique de la bande d'absorption, et l'apparition de deux bandes dichroïques de forces rotationnelles égales et de signes contraires. La théorie de MOFFITT est désignée sous le nom de "terme KIRKWOOD-MOFFITT, ou terme K.M.".

e - Le mécanisme μ - m (107)

Le mécanisme μ - m met en jeu l'interaction d'une transition électriquement permise d'un chromophore, avec une transition magnétiquement permise d'un autre chromophore. Pendant très longtemps, on n'en a pas tenu compte.

- 155 -

- . -

- 156 -

transitions électroniques _{de} cette molécule nous allons donc rappeler dans le paragraphe suivant quelles sont les transitions électroniques qui existent dans les fonctions composant les acides aminés et les peptides que nous étudions.

II - LES TRANSITIONS ELECTRONIQUES RENCONTREES DANS LES MONOMERES ET LES DIMERES ETUDIES.

Les molécules qui nous intéressent, contiennent les groupements chromophores suivants :

- : la fonction ester
- . la fonction amide primaire
- . la fonction chlorhydrate d'amine primaire
- . le noyau benzénique
- . le groupement nitrobenzylique

1 - La fonction ester

Le spectre ultra violet de la fonction ester peut être interprété à partir de celui du formaldéhyde, $CH_2 = 0$, en considérant qu'il y a substitution d'un atome d'hydrogène par le groupement fortement donneur d'électrons : $-\tilde{Q} - R$ (108). Nous allons donc, dans un premier temps considérer les transitions électroniques qui interviennent dans le formaldéhyde.

a - Les transitions électroniques associées au formaldéhyde (109)

La molécule de formaldéhyde possède 12 électrons de valence, répartis en :

. 3 liaisons σ (ces liaisons pouvant être décrites par 3 orbitales non localisées, 2 d'entre elles seraient d'espèce a₁, et une d'espèce a₂ du groupe de symétrie C_{2v} auquel appartient la molécule de formaldéhyde

. une liaison $\ensuremath{^{\pi}}$, formée à partir d'une orbitale moléculaire liante

. et deux paires d'électrons non appariés qui occupent deux orbitales non liantes sur l'atome d'oxygène



Figure V-2

Une de ces orbitales est probablement l'orbitale 2 P (ou n), l'autre étant l'orbitale hybride sp, provenant du mélange d'une orbitale 2 s avec une orbitale 2 P (encore appelée n_{sp})

Les niveaux énergétiques de la molécule de formaldéhyde se répartissent comme il est indiqué figure V-3.

Il existe donc une transition $\pi \rightarrow \pi^{*}$ ((3)) notée V \leftarrow N et une transition $\pi \rightarrow \sigma^{*}$ ((5))

Les autres transitions font intervenir l'excitation d'un électron non apparié de l'atome d'oxygène ; on distingue :

> - deux transitions $n \rightarrow \pi^{*}$ ((1) et (4)) - deux transitions $n \rightarrow \sigma^{*}$ ((2) et (6))

La transition (1) $n \rightarrow \pi^*$ est interdite pour des raisons de symétrie mais grâce à l'existence d'interactions entre les niveaux d'énergie électronique et les niveaux d'énergie vibrationnelle, cette transition est observée à $\lambda = 270 \text{ nm}^3$ avec une faible intensité ($\epsilon_{\text{max}} = 100$). Seule la transition (1) est unanimement localisée par les spectroscopistes sur les spectres ultra-violet des dérivés carbonylés. Les autres transitions sont encore mal connues et nécessitent un travail théorique et expérimental important :

. SUZUKI (110) attribue la bande observée à $\lambda = 185$ nm à la transition n $\rightarrow \sigma^{*}$ ((2)) alors que JAFFE et ORCHIN (109) pensent que d'une part, la transition $\pi \rightarrow \pi^{*}$ participe à la bande à 185 nm et que d'autre part les transitions $n \rightarrow \pi^{*}$ ((4)) ou $\pi \rightarrow \sigma^{*}$ donnent naissance à cette bande.

. SUZUKI (110) ainsi que d'autres auteurs (111) attribuent la bande à 156 nm à la transition $\pi \rightarrow \pi^{\frac{1}{2}}$.

b - La fonction ester

Lorsqu'on substitue un atome d'hydrogène de la molécule de formaldéhyde par un groupement riche en électrons de caractère π , non liants, comme les groupements - $\overline{0}$ - R, ou - \overline{NR}_2 , on obtient un effet hypsochromique important de la transition n $\rightarrow \pi^*$ du groupe carbonyle.

Il y a interaction entre les électrons non liants de l'hétéroatome avec les orbitales π du groupement carbonyle, ce qui a pour effet d'augmenter l'énergie de l'orbitale antiliante π^* et de séparer l'orbitale π liante en deux nouvelles orbitales π_1 et π_2 , l'orbitale π_2 étant essentiellement une orbitale non liante localisée principalement sur l'hétéroatome (112).

Le diagramme des niveaux énergétiques du formaldéhyde est modifié comme on peut le voir sur la figure V-4.

Les deux transitions de plus basse énergie sont :

. la transition $n \rightarrow \pi_3^{*}$

, la transition $\pi_2 \rightarrow \pi_3^{\star}$

Dans le cas de l'acétate d'éthyle on a :

. transition $n \rightarrow \pi^{*}$ $\lambda_{max} = 204 \text{ nm}$ $\varepsilon_{max} = 60$ (solvant eau) . transition $\pi \rightarrow \pi^{*}$ $\lambda_{max} = 164 \text{ nm}$ $\varepsilon_{max} = 3600$ (état gazeux)

- 158 -



Figure <u></u>¥-4

2 - La fonction amide

Le diagramme énergétique suivant est admis pour le chromophore amide (113) (figure V-5).



Figure V-5

Il existe donc :

une transition n $\rightarrow \pi^*$ d'un électron d'une orbitale non liante de l'atome d'oxygène de la liaison amide vers l'orbitale antiliante π^* ($\lambda_{max} \simeq 220$ nm)

. deux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ (notées $V_1 \leftarrow N$ et $V_2 \leftarrow N$). C'est la transition centrée à $\lambda = 190$ nm qui est la plus intense.

, et une transition n $\Rightarrow \sigma^{*}$ centrée vers 150 nm et qui n'est accessible expérimentalement qu'au moyen d'un spectromètre sous vide.

La N méthyl acétamide en solution dans l'eau présente une bande d'absorption $\pi \rightarrow \pi^{\star}$ centrée à 187 nm ($\varepsilon_{max} = 8800$). 3 - La fonction chlorhydrate d'amine

a - La fonction amine primaire

Une amine primaire aliphatique possède un doublet électronique libre. L'orbitale moléculaire occupée, de plus haute énergie est vraisemblablement celle qui correspond au doublet électronique seul, et la bande d'absorption située à la plus grande longueur d'onde est une transition $n \rightarrow \sigma^{*}$

Il existe des bandes d'intensité moyenne qui apparaissent à des longueurs d'onde plus basses. Ce sont vraisemblablement des transitions $\sigma \rightarrow \sigma^{\texttt{X}}$

Pour la méthylamine, on a :

Transitions électroniques	λ_{\max}	ε _{max}	
$n \rightarrow \sigma^{\frac{1}{N}}$	215	590	
$\sigma \rightarrow \sigma^{\mathbf{k}}$	173,7	2190	

b - La fonction chlorhydrate d'amine

En milieu acide, le doublet libre de l'atome d'azote est capté par un proton, il n'y a donc plus de transition $n \rightarrow \sigma$ dans les chlorhy-drates d'amine.

4 - Le Benzène

La molécule de benzène possède six orbitales moléculaires de caractère π . Il y a trois transitions électroniques bien définies qui apparaissent dans le spectre du benzène, au dessus de 175 nm (114) :

- La transition ${}^{1}B_{2u} \leftarrow {}^{1}A_{1g}$ ou ${}^{1}L_{b} \leftarrow {}^{1}A$ dans la notation de PLATT (115) interdite pour des raisons de symétrie, qui donne naissance à une faible bande centrée à 256 nm.

- la transition ${}^{1}B_{1u} \leftarrow {}^{1}A_{1g}$ ou ${}^{1}L_{a} \leftarrow {}^{1}A$ responsable de l'épaulement situé vers 200 nm.

- la transition ${}^{1}E_{1u} \leftarrow {}^{1}A_{1g}$ ou ${}^{1}B \leftarrow {}^{1}A$ qui est à l'origine de la bande intense située à 185 nm.



Figure V-6

111 - RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT L'ETUDE DES ACIDES AMINES ET DES PEPTIDES PAR DICHROISME CIRCULAIRE

Avant d'exposer nos résultats expérimentaux, nous allons rappeler brièvement les résultats obtenus en étudiant les acides aminés et les peptides par dichroïsme circulaire.

1 - Dichroïsme circulaire naturel des acides aminés.

a - Spectre dichroïque du squelette

L'étude de l'activité optique des acides aminés a été limitée pendant longtemps pour des raisons technologiques aux essais d'interprétation des courbes de dispersion du pouvoir optique rotatoire, dans le visible d'abord, puis dans le proche ultra-violet par la suite.

Les premiers spectres dichroïques des acides aminés ont été enregistrés en 1964 par LEGRAND et VIENNET (116). Les auteurs remarquent que tous les acides aminés de configuration L, présentent une bande dichroïque positive en milieu acide (pH = 1) centrée vers 208-209 nm dont l'intensité dépend de la nature de la chaîne latérale. Cette bande est attribuée à la transition n $\rightarrow \pi^{*}$ du chromophore carbonyle. En milieu neutre et alcalin, une bande dichroïque positive due à l'anion carboxylate est encore observée ; mais il est difficile de trouver une explication logique sur le sens de variation de l'amplitude de la bande, et sur la position de son maximum, quand on passe d'un milieu acide, à un milieu basique, pour un acide aminé donné et pour une série d'acides aminés homologues. Nous retiendrons les résultats suivants pour l'acide L aspartique et l'acide L glutamique.

	pH = 1		pH = 7		pH = 13	
	λ	[ָּש]	λ	[θ]	λ	[θ]
Acide L aspartique	208	2670	202	3630	204	6430
Acide L glutamique	208	4590	202	3700	210	2540

 $\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix}$ est exprimé en degré décimole⁻¹ cm²

Tableau V-1.

Depuis 1964, des études nombreuses et souvent contradictoires concernant le dichroïsme circulaire des acides aminés et de leurs dérivés ont été publiés. Nous allons résumer les résultats obtenus par les chercheurs pendant ces onze dernières années.

ANAND et HARGREAVES (117) en étudiant l'acide s(+) lactique mettent en évidence deux effets Cotton en ultra-violet :

- un effet Cotton négatif, centré à 245 nm, qu'ils attribuent à la transition n $\rightarrow \pi^{\texttt{R}}$ du groupement carbonyle

- et un effet Cotton positif situé à longueur d'onde plus basse qu'ils attribuent à la transition $\pi \rightarrow \pi^{*}$ du carbonyle.

En milieu basique, l'effet Cotton négatif disparaît.

ANAND et HARGREAVES trouvent par la suite en réexaminant la S(+) alanine et la S(-) proline (118) une très faible bande dichroïque négative centrée vers 236 nm, en plus de la forte bande positive bien connue, située à plus basse longueur d'onde. Les transitions $n \rightarrow \sigma^*$ de la fonction amine et $\pi \rightarrow \pi^*$ du groupe carbonyle sont reconnues comme étant l'origine de l'effet Cotton positif.

Une nouvelle étude sur l'alanine et la proline par CRAIG et PEREIRA (119) (120) conduit aux résultats suivants :

	(t				
	bande à 200 nm		bande à 210 nm		bande à 235 nm	
	λ(nm)	[θ]	λ (nm)	[θ]	^λ (nm)	[0]
S(+) alanine pH = 1			209	1277		
S(+) alanine pH = 11		и.	211	(1261)		
S(+) ala n ine méthyl ester	199	3654	209	3227	236	- 395
S(+) chlorhydrate de l'ester méthylique de l'alanine		0	208	2987		0
S(-) proline méthyl ester	202	3788	209	2889	232	- 604
S(-) chlorhydrate de l'ester méthylique de la proline		0	208	3148		0

Tableau V-2

Ils attribuent la bande centrée vers 200 nm à la transition $n \rightarrow \sigma^{\star}$ des électrons non liants de l'atome d'azote, la bande centrée vers 210 nm à la transition $n \rightarrow \pi^{\star}$ du groupement carbonyle (Fig. V-4). Labande centrée à 235 nm est attribuée au couplage du doublet électronique porté par l'atome d'azote, avec une orbitale π^{\star} antiliante de la fonction ester. Pour que

- 163 -

cette interaction existe, il est nécessaire que l'atome d'azote soit suffisamment proche de la fonction carbonyle. Les auteurs concluent donc à l'existence de deux rotamètres en solution :

- La forme I, la plus stable serait à l'origine de la bande $n \to \pi^{\bigstar}$ centrée à 210 nm

- La forme II donnerait naissance à la faible bande dichroïque négative vers 235 nm.



Τ

II

Cette hypothèse se confirme par la disparition des bandes dichroïques à 200 nm et 235 nm lorsque l'acide aminé est sous forme de chlorhydrate. Et puisque les acides aminés libres se présentent sous la forme de zwitterion $H_3^{+}N^{-}CH^{-}COO^{-}$, la bande à $\lambda = 235$ nm n'apparaît donc pas sur leurs spectres dichroïques.

Selon TONOLIO (12), les acides aminés à pH = 1 ainsi que leur chlorhydrate en solution dans l'eau présentent deux effets Cotton de signe opposé, le premier positif centré à 206 - 209 nm, le second négatif centré à 244 - 252 nm. Ces deux effets Cotton sont attribués à la transition $n \rightarrow \pi^*$ du chromophore carbonyle. A pH = 13, il apparaît pour la S alamine une bande négative à 250 nm que TONOLIO attribue à la transition $n \rightarrow \sigma^*$ du groupe amine. Enfin, le spectre dichroïque difficilement interprétable des esters d'acide aminé en solution basique ne peut s'expliquer dans la région 230 -270 nm que par la contribution des groupements amine et carbonyle. Récemment SNYDER, VIPOND et JOHNSON (122) ont étudié le dichroïsme circulaire des acides aminés aliphatiques sous forme de zwitterion en solution dans HFIP jusqu'à λ = 160 nm, en utilisant un dichrographe sous vide.

Ils trouvent deux effets Cotton :

- l'un positif centré à 200 nm

- l'autre négatif centré à 170 nm.

qu'ils attribuent respectivement aux transitions $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$ du groupement carbonyle (Figure V-7).

b - Spectres dichroïques dus aux chaînes latérales

Nous nous limiterons aux résultats obtenus sur les acides aminés ayant un cycle benzénique dans leur chaîne latérale, à savoir la phénylalanine et la tyrosine.

Le spectre dichroïque de la L phényl alanine présente entre 250 et 270 nm, une faible bande ($\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix}$ <100 degré cm² décimole⁻¹) possédant une structure vibrationnelle attribuée à la transition ${}^{1}L_{b} \leftarrow {}^{1}A$ du benzène ; et une bande positive intense, vers 220 nm ($\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix}$ de l'ordre de 15 000 degré cm² décimole⁻¹) attribuée à la transition ${}^{1}L_{a} \leftarrow {}^{1}A$ du benzène (116) (123) à (125).

HOOKER et SCHELLMAN (126) ont étudié théoriquement et expérimentalement l'ortho, la méta et la "para" Tyrosine. Ces acides aminés présentent trois bandes d'absorption entre 300 nm et 190 nm à savoir :

- une bande centrée à 275 nm due à la transition L

- une bande centrée vers 220 nm sensible à la position du groupement hydroxyle sur le noyau benzénique ; causée par la transition ${}^{1}L_{2}$.

- et une bande à 194 nm associée à la transition 1 B.

Entre 260 nm et 280 nm, la transition ¹L donne naissance à une bande négative pour les dérivés "ortho" et "méta", et à une bande positive pour la tyrosine. Cette bande est d'intensité moyenne : $\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix} = -2200 \text{ degré cm}^2 \text{ décimole}^{-1} \text{ pour "l'ortho" tyrosine}$ $\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix} = -400 \text{ degré cm}^2 \text{ décimole}^{-1} \text{ pour la "méta" tyrosine}$ $\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix} = 670 \text{ degré cm}^2 \text{ décimole}^{-1} \text{ pour la tyrosine}.$



Figure ∑ -7

BUS

2 - Dichroïsme circulaire naturel des peptides

Du point de vue expérimental, les études par dichroïsme circulaire des peptides, portent en général sur une série d'homopeptides, dont le nombre n d'acides aminés varient de 2 à 8 ou 10. Et les auteurs s'intéressent généralement à la valeur de n pour laquelle le spectre dichroïque devient caractéristique d'une structure secondaire organisée, ce brusque changement se produisant pour n = 7. Les homopeptides dérivés du glutamate d'éthyle (127), de la méthionine (128) et de la phényl alanine (129) ont ainsi été étudiés.

Du point de vue théorique, SCHELLMAN (107) et BAILEY (130) ont essayé de relier la force rotationnelle des transitions $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$ du chromophore peptidique aux angles de torsion Ψ et Ψ dans le cas des "dipeptides" du type :

$$CH_{3} - C - N - CH - C - N - R_{2}$$

Le problème est très ardu, car la transition $\pi \rightarrow \pi^{*}$ est électriquement permise, alors que la transition n $\rightarrow \pi^{*}$ est magnétiquement permise. Il est dans ce cas nécessaire de tenir compte des trois mécanismes K M, CAE et μ - m pour calculer l'activité optique d'un "dipeptide".

L'utilisation pratique des résultats obtenus par SCHELLMAN et BAILEY impose que les chromophores R_1 et R_2 n'absorbent pas dans la région 190 - 230 nm du spectre. De plus, il faut tenir compte du fait que le spectre dichroïque expérimental est une moyenne des spectres dichroïques de toutes les conformations adoptées par la molécule en solution.

IV - RESULTATS EXPERIMENTAUX.

Les spectres dichroïques ont été enregistrés sur le dichrographe JOBIN YVON III de l'Institut de Recherches sur le Cancer de Lille en utilisant des cuves en quartz de 0,1 cm entre 400 nm et 300 nm et 0,01 cm d'épaisseur entre 300 nm et 190 nm.

Les concentrations utilisées sont de l'ordre de 3 g 1⁻¹. Les solutions étudiées avaient au plus une densité optique égale à 1,5.

Entre 400 nm et 300 nm, l'amplitude du bruit de fond évaluée crête à crête, est d'environ 3 mm pour la sensibilité 5.10^{-6} utilisée. Entre 300 nm et 220 nm elle est de l'ordre de 6 mm pour la sensibilité 2.10^{-6} .

Enfin, l'amplitude du bruit de fond est de l cm entre 220 nm et 200 nm (pour s = 2.10^{-6}), elle devient 2 cm pour une longueur d'onde inférieure à 200 nm (s = 2.10^{-6}). Nous avons enregistré les différents spectres en se plaçant toujours dans les mêmes conditions.

Les spectres dichroïques ont été décomposés en courbes de Gauss en utilisant l'analyseur de courbe du Pont de Nemours 310 de l'Ecole de Chimie de Strasbourg. Nous avons calculé pour chaque transition la force rotationnelle R_i, en utilisant la relation de MOSCOWITZ. :

$$R_{i} = 0,696 \sqrt{\pi} 10^{-42} \frac{\Delta_{i}}{\lambda_{i}} [e]_{i}^{o}$$

 $\overset{\Delta}{i} \text{ est la demi largeur de la courbe de Gauss mesurée à } \frac{\left[\theta\right]_{i}^{o}}{e}$ $\overset{\lambda}{i} \text{ est la longueur d'onde de l'extrémum de la courbe de Gauss }$ $\left[\theta\right]_{i}^{o} \text{ est la valeur de l'ellipticité (en degré cm² décimole⁻¹) mesurée à } \lambda_{i}$

 R_i s'exprime en erg cm⁻² radian. Dans le cas des dimères et pour faciliter la comparaison avec les monomères, $[\theta]$ et R_i ont été corrigés pour correspondre à un résidu d'acide aminé.
Afin de reconstituer les spectres dichroïques, nous avons fait intervenir quelquefois des bandes situées dans l'ultraviolet lointain dont la position et l'intensité ne sont qu'estimées. Les paramètres correspondant à ces bandes, sont soulignés dans les tableaux de résultats.

Nous avons utilisé des solvants transparents dans l'ultraviolet comme DCE, HFIP, TMP, H_2O ; et des solvants peu transparents comme ADC, ATF et CHCl₃ dont l'emploi est classique dans les études physico-chimiques des peptides et polypeptides. Les solvants ont été purifiés par distillation avant utilisation.

Généralement, CHCl₃, DCE, HFIP, TMP favorisent une structure secondaire organisée pour les polypeptides, alors que l'ADC et l'ATF donnent naissance à une chaîne souple en formant des liaisons hydrogène intermoléculaire au niveau de l'atome d'oxygène porté par le groupement peptidique.

Les molécules que nous étudions, possèdent un grand nombre de chromophores, il a été nécessaire d'enregistrer le spectre dichroïque de molécules modèles plus simples, afin d'interpréter ceux des dérivés nitrés.

1 - Spectre dichroïque du squelette des chlorhydrates d'acides aminés (tableaux V-3, V-4 et V-5) (Figures V-8, V-9).

Dans les chlorhydrates d'aspartate de diméthyl ou de glutamate de diméthyl , la seule transition électronique accessible à l'expérience est la transition $n \rightarrow \pi^{*}$ de la fonction ester. Nous trouvons effectivement une bande positive centrée vers 207 nm dans $H_{2}O$, HFIP et TMP.

Pour les dérivés benzylés et nitrobenzylés, nous attribuons de la même manière la bande positive centrée vers 207 nm, à la transition n $\rightarrow \pi^*$ du chromophore ester. Pour tous ces composés, il apparaît une bande négative d'intensité moyenne, vers 232 nm lorsque le solvant utilisé est le TMP. Cette bande n'apparaît que pour HCl, H - Asp - OMe lorsque le solvant considéré est HFIP.

L'attribution de la bande à 232 nm n'est pas aisée. Il ne s'agit vraisemblablement pas de la transition ${}^{1}L_{a}$ du cycle aromatique. Nous pensons plutôt que les fonctions chlorhydrate d'acide étant hydrophiles, il se forme au sein du TMP des micelles, facilitant un couplage entre fonctions esters et donnant naissance à une bande vers 232 nm.





	HC	1, H - 2	Asp - On OMe	ne	HC	1, H - (Glu - Ol OMe	Me	нс	1, Н-А /0	sp - OM Bzl	le	H	С1, Н -	Glu - (OBzl	OMe
	λ	۵	[0] ⁰	10 ⁴² r _i	λ i	۵ i	[0] ⁰ i	10 ⁴² _R i	λ _i	Δ i	[θ] ^ο i	10 ⁴² R _i	λ i	۵ i	[θ]°	10 ⁴² R _i
	173,5	<u>8</u>	- 6950	<u>- 395</u>	<u>173,5</u>	9,5	- 9700	- 655								
н ₂ 0	1 97	10	2800	175	202	18,5	4600	520								
44. 	207,5	15	1750	156					209,5	12	3200	226	208,5	16,5	4975	486
-									1 93	20,5	1 480	194				
HFIP	207,5	17	5000	505	208,5	18	3000	319	211,5	11	3800	244	209,5	14	3 92 5	323
									230	7	280	10				
	<u>177,5</u>	<u>8,5</u>	- 8600	- 508	<u>178</u>	<u>10</u>	<u>8200</u>	<u>568</u>								
TMP	n ang sing ang ding the state of the state o								200	21	2280	295				
	208	19	2600	2 93	212,5	16	5200					101.1010/101010-001000-001000-000	214,5	17	6000	587
									232	12,5	- 1320	- 88	233,5	7,5	- 1500	- 59



- 169

	•	HC1, H -	A.s.p - OMe I			HC1, H - /	Asp - OMe 1			HC1, H -	Asp - OMe	
			OoNB			Ũ	0mNB				OpNB	
λ, Δ	Ą		[θ] i	$10^{42} R_{1}$	ű	Δį	[ə] <mark>i</mark>	10 ⁴² R _i	ŗ,	∆ 1	e] i	$10^{42} R_{1}$
					179,5	<u>10,5</u>	- 3300	- 238				
205 1		2	4400	450	208	21,5	2 900	370	206,5	18,5	4000	442
									<u>182,5</u>	12	- 4750	- 385
205,5 1	Ч	7,5	5000	525					204,5	16	2600	251
					218	15	3750	318				and a second second second second second
199,5		13	2200	177					207	10	1700	101
230		14	- 2200	- 165	230	25	- 2250	- 302	530 53	7,25	- 1000	- 39
							3		يقو بالفاخير معاملة يوخ المستخد في الم			



- 170 -

				_	1			
Ø	10 ⁴² R ₁	- <u>455</u> 499		495	110		427	59
Glu - OMe opNB		- 6700 4800		4850	- 5800	Γα Το Ν ΟΥ - Ο - <u>α</u> - για Ακά	4600	850
HC1, H ~	ų T	10. 17,5		E-1	12°2		16	12 , 5
	e <	181.5 207,5		205,5	175		212,5	222 , 5
le	$10^{42} R_{1}$	63 494	-337	501		-283	354	
- Glu - O omNB	$\left[\theta\right]_{1}^{0}$	0955 006	-7150	5800		-4150	42.50	
HC1, H	Δ 1	10,5 15	11,5	14, 5		10,75	14,5	
	, L	186 208	189	207	-	194,5	215	
	$10^{42} \mathrm{R_{i}}$	2 03 3 5 8	<u>159</u>	363		3 43	190	
Glu - OMe l OoNB	[e] î	2 000 42 00	1300	3600		2 900	3050	and all the second s
HCI, H -	T V	15.5 14,5	18,5	17		19,5	11	
	بل ج	210	186,5	208		203 , 5	217,5	
		H ₂ 0	di JH				AWT	



2 - Spectres dichrofques du squelette des monopeptides

(Tableaux V-6, V-7, V-8) (Figures V-10, V-11)

Dans ces spectres interviennent :

- la transition n $\rightarrow \pi$ de la fonction ester
- les transitions $n \rightarrow \pi$ et $\pi \rightarrow \pi$ de la fonction amide.

Nous trouvons la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ entre 190 et 200 nm sous forme d'une bande presque toujours positive quel que soit le solvant ou le composé envisagé.

Au-dessus de 200 nm, nous trouvons une ou deux bandes correspondant aux transitions n $\rightarrow \pi^{\frac{1}{2}}$. La position, le signe et l'intensité de ces bandes varient pour un même corps d'un solvant à un autre ; et il est difficile de comparer deux composés analogues.

3 - Spectres dichroïques du squelette des dipeptides

(Tableaux V-9 et V-10) (figure V-12).

Les spectres Dc des dimères de l'aspartate de nitrobenzyle sont semblables à ceux représentés figure V-12, quelle que soit l'isomère. De même, les spectres DC des dimères du glutamate de nitrobenzyle sont semblables à ceux représentés figure V-12.

La transition $\pi \rightarrow \pi^{\mathbb{R}}$ située entre 195 et 200 nm donne naissance à une bande négative quel que soit le composé.

Dans les dimères de l'aspartate de nitrobenzyle, il existe en général une seule bande n $\rightarrow \pi^{\frac{3}{2}}$ négative centrée vers 218 - 220 nm.

Les dimères du glutamate de nitrobenzène présentent en général deux bandes au-dessus de 200 nm, une bande $n \rightarrow \pi^{*}$ généralement située entre 205 -220 nm, et une seconde bande centrée vers 230 nm, dont il est difficile de donner une interprétation. On peut cependant remarquer que l'effet négatif vers 220 nm - 230 nm est environ trois à quatre fois plus fort pour les dérivés des aspartates de nitrobenzyle, que pour ceux des glutamates de nitrobenzyle.

V-6
TABLEAU

BÜS

		Ac - As 0H	но – dғ			Ac - 1	Glu - OH OH			Ac - A 1 0	sp - OM Bzl	Ŵ	7	4c - G1 - OB	u - OMe z1	
	λi	م i		10 ⁴² R _i	, i	Å غ	[0] ^o 1	10 ⁴² R _i	۳. ۲.	, L L	$\begin{bmatrix} \theta \end{bmatrix}_{i}^{o}$	$10^{42} R_{j}$, i	∆ .i.		10 ⁴² R _i
DCE		NIO SNI	BLE			INSOLI	UBLE		<u>195</u>	<u>10</u>	11200	708				
									215	17,5	-1500	-151	207	20,5	92 00	1124
	<u>163</u>	13	-10400	- 1023	179,5	11	-12400	- 937								
HFIP	193,5	9,5	1550	94					199,5	6,25	15000	580				
-	210	15,5	-1000	- 91	202,5	14,5	7500	662	202	13,5	4600	379	204,5	16,5	7500	746
					230	8,5	- 600	- 27	222,5	12,5	-1150	-80	δ	ten (μαζουργια) γγγγ		
					182	7,5	-16300	-829	<u>1 90</u>	6,5	5900	249	<u>190</u>	8,5	-13100	-723
E			F		2				208,5	LO LO	- 700	- 21				
ATW T		TINSUL	AL BU		216	14,25	7550	614	219,5	11	-1950	-121	218	19,5	7400	817
					a months/ togg = m?				and a market				235	8,25	-1350	-58
	170	18	10700	1397												
H ₂ 0	196,5	14,5	-14300	-1302		INS OLI	JB L.E			INSOLUE	3LE			IOSNI	UBLE	
	207,5	16,5	4800	471												
K																

- 173 -

		Ac - Asi 00	o - OMe VB			Ac - Asp I OmN	B. OMe			Ac - Asp OpNI	- OMe B	
	۲ − ۲	, T	[θ] i	$10^{42} R_1$	λ i	ک ن		10^{42} R _i	, i	∆ ,	[θ] i	10^{42}R_{1}
	<u> </u>		2750	187	194,5	$\frac{14,5}{}$	0069	635	300	10,25	<u>91 00</u>	575
DCE					217,5	13 ,5	-750	-57				
	230,5	8,25	300	13					225,5	2	-1000	-38
1 - 41					<u>193,5</u>	<u>13,5</u>	7500	$\overline{645}$	eren et solar.			
HFIP	205,5	11,5	2900	200					200	9,5	91 00	533
		2				₩9₩966.664,672 mg c19₩2			215	2	750	30
34	230	Q	-450	-22	226,5	8,5	-850	-39				
DMT							n Salana di Salara		202,5	6,75	1300	53
1	218	12,75	-2850	-206	216	17,5	-3650	-365	219	16	-3700	-333

BUS ULLE

- 174 -

1		Ac - G]	lu - OMe NB			Ac - Glu OmN	B OMe			Ac - G11	u - OMe VB	
	γi	Å i	$\left[\theta\right]_{i}^{o}$	10 ⁴² R ₁	λį	Δi	[0] o i	10 ⁴² R _i	λi	Δi	[0] ^o i	$10^{42} R_{1}$
DCE	206	18	5800	625	207,5	20	1 0000	1189	206	21,25	92.00	1171
	221	11,5	2 000	128								
HF I D	207,5	18	13900	1487	205	15,5	11650	1087	2 03	18	1 0000	1094
	229,5	8,5	-3600	-164								A DOWN TO REPORT TO A DOWN TO A DOWN
dMT	<u>191</u>	10	-10000	-646	<u>193</u>	10	-8500	-543	<u>190,5</u>	∞	-14150	-733
	215,5	16,5	5550	524	214	16,5	4900	466	214,5	17,5	5400	543
							Contraction of the local division of the loc				- And and a second seco	Party of the second sec

BUS

- 175 -





		Ac - Asp	- Asp - OW	le	A	.c – Asp –	Asp - OM	Ð		Ac - Asp -	- Asp - ON	- 9
		OoNB	ÓoNB	4		l OoNB	l OoNB			l OoNB	OoNB	
	λi	Δi	[θ] i	10 ⁴² R ₁	الم الم الم	∆ i	θ] i	$10^{42} \mathrm{R_i}$, L	Δ i	[θ] i	10 ⁴² R
снс1 ₃	224,5	15	- 8900	- 734	225	14	-7600	-583	223	14	-8850	-689
DCE	224,5	15	- 9800	- 808	223	17	0066 -	- 931		INSOLUBI		
	181	α (12600	<u>687</u>								
HFIP	204,5	16	-4050	-391	194,5	18	-1900	-217	204,5	21,5	-2300	-2.98
	217	16	-6700	-609	217,5	13,5	-5650	-433	219,5	12	-5000	-337
	196,5	6,75	-8400	-356	193,5	9,75	-7200	- 906				
TMP									209	15	-10800	- 956
•	220	17,5	-7450	-731	215	16,25	-8300	-774	220	5,5	-2 000	-62
	tendeticas no con de	NG PURSELY ANY 1	er byer is the order age of						226	13,5	-5550	-409
									~	~		

BUS

	A	c - Glu -	Glu - OME	0		Ac - Glu - 	Glu - OM Levre	()	4	$Ac - Glu - \int_{mMB}$	Glu - OMe I Onne	2
			o [θ]	10 ⁴² R	~		ρ] o	10^{42} R	λ.	. ⊲	, [θ]	10 ⁴² R.
	; • -1	, -r-t	 		ī	ŗ	τ _r , η	- i	-1	г	Г ,	1
	194	9,5	- 9800	-592	191,5	10	0096 -	-618	194	ര	-10700	-612
DCE	2 06	11,5	4150	286	211,5	11	3500	224	206,5	10	3500	209
	224	20,5	-3450	-389	232	14,5	-2300	-177	233,5	11	-2550	-148
					196	9,5	- 9750	-583				
	211	6	5450	287					207,5	11,5	5950	407
HFIP					218,5	12	6300	427				
	232.5	10	-1150	-61	236	14,5	-580	-64	230,5	8,25	-550	-24
	1 93	10,25	-16200	-1061	194	8,5	- 9650	-522				رور
TMP	217	16	3300	300	215	14	4050	325	209,5	7,5	-11100	-490
	235,5	6,75	-850	-30					233,5	13,5	2400	171

BUS



Figure **¥**-12

Le groupement para nitrobenzyle est plan, il est donc intrinséquement symétrique, et pour qu'il soit optiquement actif, il faut qu'il soit perturbé de manière dissymétrique.

Les groupements ortho et méta nitrobenzyle ne sont pas plans, mais étant donné que nous n'avons pas fait une synthèse asymétrique, les conformations symétriques par rapport au plan du noyau benzénique sont en proportions égales et la condition précédente est nécessaire pour rendre ces chromophores optiquement actifs.

Comme le montrent les tableaux V-11 à V-16, les effets Cotton dus aux groupements nitrobenzyliques sont faibles. Ce sont les dérivés "ortho" qui présentent les bandes les plus fortes. Les aspartates ont des bandes plus intenses que les glutamates. Il y a bon accord entre la position des bandes et l'étude des transitions électroniques du chromophore nitrobenzyle (chapitre IV) ; la décomposition en courbes de Gauss fait apparaître quelquefois une transition située vers 360 nm, prévue par le calcul CNDO/2.

Il nous a été impossible d'établir des corrélations entre les différents peptides et acides aminés en ce qui concerne le nombre, l'intensité et le signe des bandes dues aux chaînes latérales. Nous avions déjà observé ceci dans l'étude des homopolyaspartates de nitrobenzyle et des homopolyglutamates de nitrobenzyle (5) (2). Toutefois, les bandes dues aux chaînes latérales sont un peu plus intenses pour les polypeptides, que pour les peptides correspondants.

V - CONCLUSIONS

Il est difficile d'interpréter les spectres dichroïques de nos composés dans la région 180 - 230 nm, car les groupements protecteurs jouent dans ce cas un rôle important, et beaucoup de transitions électroniques susceptibles de devenir dichroïques existent dans cette région. D'une manière générale l'ellipticité molaire des aspartates est environ trois fois celle des glutamates correspondants vers 220 nm - 230 nm.



	HCI	L, H -	Asp - OoNB	OMe	HC	1, H -	Asp - 1 OmNB	OMe	HC	1, H -	Asp I OpNB	- OMe
	λ i	∆ i	[0]°i	10 ⁴² r. i	λ i	۵ ۱	0 0 i	10 ⁴² R	λ i	∆ i	[θ] ^o i	10 ⁴² R i
	271	27	- 160	-19,5	269	13,5	205	12,5	265	24	1015	113
	310	17	200	13,5	287	11	160	7,5			nije i nasloži i Prislaniji (* 19	n, i na sana saka pi din ka
н ₂ о	325	37	85	12	325	14	-45	-2	99729999999999999999999999999999999999	tin to a state of a st	17 Mathania (Santa Program)	aki i londanan na 1991 -
	9 - 100 - 20 - 10 - 20 - 20 - 20 - 20 - 2				348	18	-40	-2,5		·		1
e	246	33	-230	-38								n.
ADC									272	16	480	35
	285,5	40	-395	-68								
					251	10	120	6				
4.453.75	268	24	-485	-53,5	268	12	290	16	270	16	460	33,5
ATF	326	18	50	3,5								
	360	40	30	4								
	263,5	27	-635	-80	274	13,5	210	12,5	265	20	670	62
HFIP	335	26	125	12	330	17	-30	-2				
	366	25	80	6,5					355	27	-30	-3
					266	13	-230	-14	259,5	14	300	20
тмр	331,5	20,5	-350	-27			5					
	361	19,5	-150	-10		7						



. . .

	HCI	, H -	Glu - OoNB	OMe	нс	1, H -	Glu - I OmNB	- OMe	HC	1, H -	Glu - OpNB	- OMe
¥	λ i	∆ i	[θ]° i	10 ⁴² R.	λ i	۵ i	[θ]°i	10 ⁴² R _i	λ _i	۵ _i	[0] <u>;</u>	10 ⁴²
	258	21,5	-380	-39					267	13	210	12,5
н ₂ 0	308	29	200	23								
	3 40	33	90	11	338	32	- 30	- 3,5				
	265	11,5	135	7								
ADC	326	24	- 90	-8								
	344	30	-45	-5		e						
	258	10	220	10,5				3				
ATF	334,5	26,5	-225	-22								
	362	22	-120	-9						24 4		
	257,5	13	285	18		- * *						
HFIP	334	24	-225	-20								
	353	25	-105	-9					343	ຸ26	-30	-2,8
	250,5	17,5	- 42 5	-36	247	12,5	-500	-31	256	32	390	60
TWD					263	25	-190	-22				2,
1 1411.	331,5	20,5	240	18								
	360	27	95	9								·



	Ac	- Asp OoN	o - OM IB	e	Ac	- Asp OmNI	- OMe	9	Ac	- Asp OpNI	- OMe	
	λ _i	Δ _i	[0]°	0 ⁴² R _i	λ _i	Δ _i	$\left[\theta\right]_{i}^{c}$	10 ⁴² R ₁	λ _i	۵i	[θ]° i	10 ⁴² R _i
		L AUTOMATIN			•				267,5	14,5	865	58
ADC	281	11	200	10					288,5	9	180	7
	353	29	30	3					-			
	255,5	9,5	-330	-15	267	20	135	12,5	249	8	-80	-3
	282	9,5	240	10		,			271	16	255	18,5
ATF	324	18,25	335	23								
	352	28	230	23	345		- 25	;				
-	258	9,5	380	17	261	16	200	15	257,5	21,5	670	69
	300,5	14	480	28				e 	278,5	12,5	215	12
CHC1 ³	322,5	15	-65	-4		<u>.</u>						
	351	21	-250	-18	 Introduction III Subscription III 	a ay na analasa kata kata kata kata kata kata kata k	N	an a' de la constant d'un a de la constant d'un a de la constant d'un a constant d'un a constant d'un a constant				
	381,5	24	-145	-11								
	255	10	-290	-14			. :		246,5	5	-40	-1
	282,5	11,5	240	12			-		269	15	235	16
DCE	327,5	23,5	80	7								
	355	25	60	5								
	250	15,5	-700	-53	241	11,5	-200	- 12	259	23,5	870	97
	299,5	6,5	-100	-2,5		-			276,5	19,5	235	20,5
HFIP	333	17,5	140	9	333		- 35		338	30	-30	-3
	358	21,5	80	6								
	254	13,5	240	16					256,	19	3 90	35,5
	286	10,5	-235	5 -11			2 F 🖉		273	14	115	7
ТМР	331,	5 25	-170	D -16	329,5	20,5	- 65	- 5				0110
	363	23	-90	-7	347,5	25	- 50	-4,5				ULLE

1

and the second

	Ac - Glu - OMe I OoNB			A	.c - G - 1 0	lu - (mNB	DMe	Ac - Glu - OMe I OpNB				
	λ 1	∆ i	[0] 0 i	10 ⁴² R ₁	λ i	۵ i	[0]° i	10 ⁴² r ₁	λ i	۵ i	[0]°	10 ⁴² r' i
ADC	258,5	24	705	81			-					
	316	11	70	3								
	346,5	25	-165	-14,5								
									249	13	-144,5	- 9
	253	26,5	350	45	261	20	125	12				
ATF	275	11	-120	-6								
	328	30,5	-100	-11	335	Ber terre 8 ¥√rtt*kunn for sag	-25					
	348	34	-245	-29,5				4				
	245	13	-1150	-75								
снс1 ₃	265	17,5	-310	-25								
	321,5	15	-50	-3	and the set sector of the two	an lariar analas na arte na						
	338	30	-170	-18,5								
						-		,	242,5	12,5	650	41
									256	8	375	14,5
DCE	310,5	16	-75	-5			-					
	333	30	-75	8		1						
	244	5	-500	-12,5	240	10,5	-350	-18				
	259	11	295	15,5								
HFIP	323	20	-130	-10	333		-40					
	346,5	30,5	-165	-18				a 140 at 200 at - 10 at 90 at - 10 at - 10 at - 10 a	345		-20	
ТМР	254	12	-190	-11	252	10	-500	-24,5	268	12	310	17
	284,5	7,5	100	3		1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1				****		
	330	19,5	110	8		- Martin of the Antonia and Antonia Antonia and Antonia and Antonia Antonia and Antonia Antonia and Antonia and Antonia Antonia and Antonia and Antonia and Antonia and Antonia and Antonia Antonia and Antonia and Antonia Antonia and Antonia and Antonia Antonia and Antonia	namente das determinantes de la calente de la composition de la composition de la composition de la compositio de la composition de la de la composition de la composition de de la composition de la composition de de la composition de la composition de de la composition de la composition de de la composition de la composition de de la composition de la composition de de la composition de la composition de de la composition de la composition de de la composition de la composition de la composition de la compositi	ande is e freelst vuelsta oor oorfee	1 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 1949 - 19 - 1949			
	350	22,5	100	8			1				(LILLE

	Ac -	Asp - OoNB	sp - Asp - OMe Ac - Asp - Asp - OM 1 DNB OoNB OmNB OmNB		- OMe B	Ac - Asp - Asp - OMe I I OpNB OpNB							
	^گ 1	Δ _i	[0]°	$10^{42} R_{j}$	λ _i	Δ _i		$10^{42} R_{1}$	$\lambda_{\mathbf{i}}$	۵ _i	[0]°	10 ⁴² R _i	
ADC	253,5	7	-110	-3,5	261	8	-180	-7	265	23	680	73	
	289,5	13,5	-100	-5,5	anno gua como harror a	and the second	erer sarana kama		nin terrescen servenser og		Non - Incoment incoments		
	334	22,5	-200	-16,5	na man	ana (1957 - 1977 - 1997 - 19 -	t , a, dir , d t , a , t , t , a , a , a , a , a , a ,	n an tean coir an ann				
	366	25	-65	-5,5	er () og av sener hænne forsk sjonen i		galet 4. opdaarsaksise (op jaasis op storf as	and destroyed as the logist gas - 1944	ne der hande som en			and a second	
					247	9	-125	-5,5					
	269	11,5	-380	-20			1.		260	26	845	104	
ATF					2 91	15	-115	-7	1	1	278 - 7 8 0 V (276 7 166 7	**************************************	
) }			330	21	40	3	n (2000 men men men et al per estate de la competence	anan martina takan ang			
снс 1 ₃	271	26,5	-310	-37	252	17	-375	-31	259	10	725	34,5	
	308,5	19	285	21,5	299,5	12,5	100	5	an an the constant and a second s	and the second of the second o			
					336,5	20	70	5				ar geologich (1996) (1999) an d	
	346,5	26	120	11	355	22,5	55	4,3					
	267,5	5	-165	~4	253,5	11,5	-285	-16	INSOLUBLE				
	301,5	20	165	13,5									
DCE				n and a second day (name in 2) and a second of a second seco	329,5	20	40	3					
	342.5	25	80	7.2	356.5	20	40	3					
	247,5	14	-500	-35	,-				253,5	10	850	41,3	
	278	13	-360	-21	271	14	105	6,5	265	26	715	86,5	
HFIP	326.5	9	-90	-3	ey legen y d _{en} rene 18 kg	9		l Fri Hanti (na dinarana ar	94 (h. 14)46 (h. 17)	ek fan i Newski fan i	and an	5 5 5 5	
	353,5	22,5	-60	-4,5	annan y an an an			n manifesti san san sa					
	260	12	450	25.5	279.5	15.5	-125	-8	269.5	23	195	20.5	
ТМР	302,5	15	160	7,8	- , -				,~				
	330	20	-160	-12	326.5	19	-100	-7				(
	361	25	-105	-9	, 358,5	23	-85	-6,75	- n ₀	i indiskunan di		(

	Ac -	- Glu OoNB	- Glu OoNI	- CMe 3	Ac	Ac - Glu - Glu - OMe OmNB OmNB			Ac - Glu - Glu - OMe ÓpNB ÓpNB			
NORMALAR	λ i	Δ 1	[0]°	10 ⁴² r _i	λ i	۵ ĭ	[ŋº	$10^{42} R_{1}$	λ i	∆ i	[ŋ]	10^{42} R _i
	273,5	20,5	-3.40	-31,5					282,5	22,5	-470	-46
ADC	341,5	21,5	1 45	11								
	366,5	23	90	7								
ATF	363	25	-45	-4								
	252	16,5	-18:0	-148	261	25	-360	-42,5	274	19	- 490	- 42
	280	21	-440	-41								
CHC13	348	28,5	165	16.5	335	23	150	12,5				
	380	30	80	8	371	26	75	6,5				
	245,5	19	-500	-48	254,5	14	-220	-15				
DOD	316,5	13	70	~3,5					a di ka manangan sana sana sana sa			· · · · ·
DCE	329	17	70	4,5	330	20	80	6				
	349	27	75	7	355	22	65	5				
	250,5	12	-980	-58	() and ()				256	18	450	39
গার্গনের "দার্গণ	278	14	-290	-18				186 - 75 157 1995 1, 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 - 1994 -				a a distanti da di secondo di secondo de
ant i t	338,5	23	240	12	1 P							
	363	28	160	15								
	250	13,5	-500	-33					246,5	10	-650	-32,5
TMP	330	17	110	7								
	350	26	80	7	د. می بعد این معلولی با دارد میلواند. مرابع							



De plus, le groupement nitrobenzylique est peu transparent endessous de 215 nm, on est donc obligé de travailler avec des solutions très diluées, qui fournissent dans notre cas un signal de moyenne amplitude, ce qui entraîne une imprécision sur les spectres, donc sur la décomposition en courbes de Gauss. Nous pensons néanmoins que la transition ${}^{1}L_{a}$ du cycle aromatique n'est pas optiquement active.

La faible intensité des bandes dichroïques dues aux chaînes latérales est en accord avec les résultats obtenus par RMN et l'analyse conformationnelle et amènent à penser que les chaînes latérales sont mobiles, et qu'elles sont susceptibles de se replier au cours de leurs mouvements, près du carbone asymétrique, créant ainsi une certaine asymétrie. Les spectres que nous enregistrons sont les valeurs moyennes des spectres donnés par toutes les conformations des chaînes latérales ; c'est ainsi que dans le cas d'un peptide où les degrés de liberté sont plus importants que dans le cas des chaînes latérales portés par des polypeptides sous forme hélice α , l'intensité des bandes est plus faible. Il est en effet peu probable comme l'ont montré LOUCHEUX, DUFLOT et WEILL (7) que les chaînes latérales des polyaspartates de nitrobenzyle soient ordonnées autour de l'hélice α en une "super hélice" créant ainsi des effets dichroïques extrinsèques intenses.

- 185 -

CONCLUSION

Les peptides ont été synthétisés par une méthode de préparation classique. Le test de racémisation que nous avons fait peut être discuté, mais il est actuellement le mieux adapté à notre cas.

L'étude conformationnelle par une méthode semi empirique, ainsi que les résultats de la RMN, font apparaître que la position du groupement nitro sur la chaîne latérale n'influence pas la conformation des peptides. Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'interactions chaîne latérale - chaîne latérale ; et il semble que les interactions chaîne latérale - squelette peptidique ne puissent exister que pour le dimère dérivé de l'aspartate de méta nitrobenzyle, pour lequel la RMN met en évidence un repliement de la chaîne latérale vers le groupe acyl.

L'analyse conformationnelle montre l'existence de trois puits de potentiel pour les monopeptides dérivés de l'aspartate de nitrobenzyle, et de quatre puits de potentiels pour les dipeptides dérivés de l'aspartate de nitrobenzyle. Le puits de potentiel le plus profond pour les deux séries de composés, est celui qui est proche des structures β parallèle et β antiparallèle. L'application d'une loi du type KARPLUS pour la constante de couplage ${}^{3}J_{NH-\alpha CH}$ permet de préciser les résultats obtenus par l'analyse conformationnelle ; elle montre en particulier que le squelette peptidique possède une certaine rigidité et que dans le cas des dipeptides, le squelette des deux acides aminés a la même conformation, définie approximativement par

 $\phi = 270^{\circ}$ et $\Psi = 130^{\circ}$. Bien que les valeurs des angles ϕ et Ψ ainsi trouvés, soient très voisines de celles qui définissent la structure de la polyglycine II mais étant donné le caractère approximatif de l'analyse conformationnelle et de l'application d'une loi du type Loi de KARPLUS d'une part, et de l'encombrement stérique important de la chaîne latérale des aspartates de nitrobenzyl d'autre part, il est vraisemblablement plus correct de penser que les peptides adoptent une structure proche de la structure β .

L'ensemble des études expérimentales et théoriques faites sur le chromophore nitrobenzyle a mis en évidence outre les quatre transitions décrites dans la littérature, une transition intensée vers 220 nm, probablement due aux électrons π du noyau benzénique. De plus, le calcul CNDO/2 a montré que la non planéité des molécules d'ortho et de méta nitro toluène n'était pas la seule cause de l'effet hypochrome observé pour la bande à transfert de charge intramoléculaire.

- 187 -

Le dichroïsme circulaire magnétique a montré qu'il n'y avait pas d'interaction électronique importante entre le chromophore nitrobenzyle, et le chromophore peptidique. On peut donc expliquer le dichroïsme naturel des peptides entre 400 nm et 250 nm, en considérant que les chaînes latérales peuvent adopter un grand nombre de conformations possibles d'énergie voisine, certaines de ces conformations exposent le groupement nitrobenzyle à la dissymétrie créée par le carbone asymétrique. Nous observons une valeur moyenne des spectres correspondant à chacune de ces conformations, ce qui explique la faiblesse de l'effet mesuré. Lorsqu'on passe d'un solvant à un autre, le poids statistique des conformations possibles de la chaîne latérale change, ce qui entraîne parfois des changements de signe des bandes.

De ce travail se dégagent donc deux conclusions :

- le squelette d'un dipeptide n'a pas la même conformation que le squelette d'un polypeptide

- les chaînes latérales d'un **p**eptide n'adoptent pas de conformation privilégiée ce qui est en contradiction avec les travaux de SCHERAGA et de ses collaborateurs sur le polyaspartate de benzyle (8).

Il faut souligner que l'existence d'une géométrie privilégiée de la chaîne latérale, a été depuis remise en question par SCHERAGA lui-même (132) et par M.H. LOUCHEUX (1) à (7). Nos résultats viennent confirmer cette nouvelle hypothèse.

APPENDICE

- I PREPARATION DES ACETATES DE NITRO BENZYLE
- II PREPARATION DES DERIVES N ACYLES DE L'ACIDE ASPARTIQUE ET DE L'ACIDE GLUTAMIQUE
- III PREPARATION DU CHLORHYDRATE D'ASPARTATE DE DI METHYLE ET DU CHLORHYDRATE DE GLUTAMATE DE DI METHYLE
 - IV PREPARATION DES MONOPEPTIDES DERIVES DE L'ASPARTATE DE BENZYLE ET DU GLUTAMATE DE BENZYLE
 - V PREPARATION DES MONOPEPTIDES DERIVES DES ASPARTATES DE NITRO BENZYLE ET DES GLUTAMATES DE NITRO BENZYLE
- VI PREPARATION DES DIPEPTIDES DERIVES DES ASPARTATES DE NITRO BENZYLE
 ET DES GLUTAMATES DE NITRO BENZYLE.

I - PREPARATION DES ACETATES DE NITRO BENZYLE

A - Préparation de l'acétate d'argent

- B Préparation des acétates de nitro benzyle
 - 1 Bromures de nitro benzyle
 - a Bromure de 2 nitro benzyle
 - b Bromure de 3 nitro benzyle
 - c Bromure de 4 nitro benzyle
 - 2 Acétates de nitro benzyle
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
- 11 PREPARATION DES DERIVES N ACYLES DE L'ACIDE ASPARTIQUE ET DE L'ACIDE GLUTAMIQUE.
 - A Processus expérimental
 - B Résultats

III - PREPARATION DU CHLORHYDRATE D'ASPARTATE DE DI METHYLE ET DU CHLORHYDRATE DE GLUTAMATE DE DI METHYLE

A - Processus expérimental

B - Résultats

IV - PREPARATION DES MONOPEPTIDES DERIVES DE L'ASPARTATE DE BENZYLE ET DU GLUTAMATE DE BENZYLE

- A Préparation du β L aspartate de benzyle
- B Préparation de _YL glutamate de benzyle

- 2 -

- 1 glutamate de cuivre
- 2 glutamate de cuivre et de sodium
- 3 glutamate de cuivre et de benzyle
- 4 L y glutamate de benzyle
 - a Préparation de la solution de sel disodique de l'E.D.T.A.
 - b Obtention du L y glutamate de benzyle
- C Préparation du N tertiobutyl oxycarbonyl β L aspartate, ou
 - γ L glutamate de benzyle
 - 1 Azide de tertiobutyl oxycarbonyl
 - 2 Synthèse du N tertiobutyl oxycarbonyl β L aspartate ou γ L glutamate de benzyle
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
- D Synthèse du N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (β benzyl ester)
 de methyl et du N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (γ benzyl ester)
 de methyl,
 - 1 Synthèse du nitrosométhylurée
 - 2 Synthèse du diazométhane
 - 3 Synthèse du N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (β benzyl ester) de methyl et du N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (β benzyl ester) de methyl
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
- E Préparation du chlorhydrate de l'aspartate (β benzyl ester) de methyl ou du glutamate (γ benzyl ester) de methyl
 - 1 Processus expérimental
 - 2 Résultats

- F Préparation du N acyl aspartate (β benzyl ester) de methyl ou du N acyl glutamate (γ benzyl ester) de methyl.
 - 1 Processus expérimental
 - 2 Résultats

V - <u>PREPARATION DES MONOPEPTIDES DERIVES DES ASPARTATES DE NITRO BENZYLE</u> ET <u>DES GLUTAMATES DE NITRO BENZYLE</u>

- A Préparation des aspartates de nitro benzyle
 - 1 L aspartate de cuivre
 - 2 I aspartate de cuivre et de lithium
 - 3 Aspartate de cuivre et de β nitro benzyle
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
 - 4 Aspartates de β nitro benzyle
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
- B Préparation des glutamates de nitro benzyle
 - 1 L glutamate de cuivre et de nitro benzyle
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
 - 2 L glutamates de nitro benzyle
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
- C Préparation des N acyl aspartate (β benzyl ester) de methyl et des
 N acyl glutamate (γ benzyl ester) de methyl.
 - Synthèse du N tertiobutyl oxycarbonyl L aspartate ou L glutamate de nitro benzyle
 - a Processus expérimental
 - b Résultats

- 2 Synthèse des N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (βnitrobenzyl ester) de methyl et des N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de methyl.
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
- 3 Synthèse du chlorhydrate des aspartates (β nitrobenzyl ester) de methyl et des glutamates (γ nitrobenzyl ester) de methyl.
 - a Processus expérimental
 - b Résultats
- 4 Synthèse des N acyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de methyl et des N acyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de methyl.
 - a Processus expérimental
 - b Résultats

VI - PREPARATION DES DIPEPTIDES DES ASPARTATES DE NITRO BENZYLE ET DES GLUTAMATES DE NITRO BENZYLE

- A Préparation du N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de dicyclohexyl ammonium et du N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de dicyclohexyl ammonium.
 - 1 Processus expérimental
 - 2 Résultats
- B Préparation du N tertiobutyl oxycarbonyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester de methyl ou du N tertiobutyl oxycarbonyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de methyl.
 - 1 Processus expérimental
 - 2 Résultats

- C Préparation du chlorhydrate de l'aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de methyl ou du glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de methyl.
 - 1 Processus expérimental
 - 2 Résultats
- D Préparation du N acyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate
 (β nitrobenzyl ester) de methyl ou du N acyl glutamyl
 (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de methyl.
 - 1 Processus expérimental
 - 2 Résultats

I - PREPARATION DES ACETATES DE NITRO BENZYLE

A - PREPARATION DE L'ACETATE D'ARGENT

On dissout 6 g d'acide acétique (O,1 mole) dans 50 ml d'eau. On ajoute goutte à goutte en refroidissant 11 ml d'ammoniaque à 32 %.

On dissout 17 g de nitrate d'argent (0,1 mole) dans 50 ml d'eau.

On ajoute en agitant la solution aqueuse de nitrate d'argent, à la solution aqueuse d'acétate d'ammonium précédemment préparée. L'acétate d'argent précipite.

On filtre, on lave à l'eau et on sèche sous vide à 50° C, à l'abri de la lumière.

On obtient m = 11,7 g soit un rendement de 70 %.

B - PREPARATION DES ACETATES DE NITRO BENZYLE (133)

1 - Bromures de nitro benzyle

a - Bromure de 2 nitro benzyle (134)

Lorsqu'on chauffe lentement 15,30 g (0,1 mole)d'alcool 2 nitro benzylique avec 33,88 ml d'acide bromhydrique azéotropique (d = 1,49), l'alcool se dissout à T = 50° C.

A 75°C la solution se trouble, le bromure se rassemble au fond du ballon. On chauffe encore pendant 1 h 30 à 75°C, puis on laisse le mélange revenir à température ordinaire.

- 7 -

Le bromure cristallise alors, on le filtre, le lave à l'acide chlorhydrique concentré pour éliminer l'alcool qui n'a pas réagi.

On obtient 18,36 g de bromure de 2 nitro benzyle. Soit un rendement de 85 %.

Point de fusion $F = 45 \,^{\circ}C$.

b - Bromure de 3 nitro benzyle (134)

La méthode de préparation est identique à celle indiquée pour le bromure d'ortho nitro benzyle. Mais dans le cas présent, la température de séparation entre la phase aqueuse et le bromure, est de 83 °C.

On obtient un rendement de 92 %.

Point de fusion $F = 58 \,^{\circ}C$.

c - Bromure de 4 nitro benzyle

Nous avons utilisé le produit commercial FLUKA.

Tous ces produits sont très lacrymogènes, et brunissent à la lumière.

2 - Acétates de nitro benzyle

a - Processus expérimental

On met en suspension 6,68 g d'acétate d'argent (4.10^{-2} mole) dans 200 ml de benzène anhydre. On ajoute 8,64 g de bromure de nitro benzyle (4.10^{-2} mole) , et on fait bouillir 12 h. à reflux. On laisse refroidir, on filtre. Le filtrat est évaporé à sec. L'acétate d'ortho nitrobenzyle et l'acétate de para nitro benzyle cristallisent alors. On les reprécipite en les dissolvant dans l'acétate d'éthyle, et en utilisant l'éther de pétrole comme précipitant. L'acétate de méta nitro benzyle est un liquide que l'on purifie par distillation sous pression réduite.

> b - <u>Résultats</u> Tableau 1.

- 8 -

	Acétate de 2 nitro benzyle	Acétate de 3 nitro benzyle	Acétate de 4 nitro benzyle
Masse obtenue	3,27 g	6,24 g	7,5 g
Rendement	42 %	80 %	96 %
Analyse élémentaire M. calculée : 195,17 g % calculé C 55,38 % H 4,65 % O 32,79 % N 7,18 %	55,48 % 4,79 % 33,28 % 6,97 %	55,50 % 4,76 % 32,50 % 7,24 %	55,64 % 4,76 % 32,49 % 7,23 %
Point de fusion	29 - 30°	liquide n _D = 1,5416	74°
Spectre U.V. Solvant TMP	$\epsilon_{260} = 5300$	$\varepsilon_{263} = 7400$	ε ₂₆₈ = 9000

TABLEAU I.


II - PREPARATION DES DERIVES N ACYLES

DE L'ACIDE AS PARTIQUE ET DE L'ACIDE GLUTAMIQUE

A - PROCESSUS EXPERIMENTAL

On dissout 4 g de soude (0,1 mole) dans 100 ml d'eau permutée. On ajoute 0,1 mole d'acide aminé (13,3 g d'acide aspartique ou 14,7 g d'acide glutamique).

10 ml d'anhydride acétique sont alors ajoutés goutte à goutte. Le pH de la solution est maintenu voisin de 8, au moyen d'une solution concentrée de soude (5 N).

Lorsque l'addition est terminée, on agite encore 10 mn le milieu réactionnel, et on acidifie par l'acide chlorhydrique concentré, jusqu'à obtenir pH = 3.

La solution est ensuite concentrée sous vide, le N acyl acide glutamique précipite. On filtre, on lave avec un minimum d'eau froide et on sèche sous vide à 40°C.

Le N acyl acide aspartique étant très soluble dans l'eau, c'est le chlorure de sodium qui précipite lorsqu'on concentre la solution aqueuse. On filtre, et le filtrat est concentré sous vide jusqu'à sec. On dissout l'huile obtenue dans le méthanol, le chlorure de sodium encore présent cristallise alors. On le filtre, et on précipite le N acyl acide aspartique dans l'éther éthylique. On filtre et on sèche sous vide.

B - RESULTATS

Tableau 2.

			Ac — Asp — OH I OH	Ac — GLU — OH I OH
Masse obt	enue		15,75 g	17,2 g
Rendement			90 %	91 %
Analyse él	émentaire			
M. calculée	: 174,14 g	189,17 g		
С	41,38 %	44,45 %	41,40 %	44,60 %
н	4,64 %	5,86 %	4,58 %	6,04 %
О	45,94 %	42,99 %	46,05 %	42,50 %
N	8,04 %	7,40 %	7,97 %	7,43 %
% calculé	Asp	Glu		
Point de	fusion		205 - 210°	190 - 193°
[a] solvan] t h ₂ 0		20,1°	- 13,3°

TABLEAU 2.

(BUS)

III - PREPARATION DU CHLORHYDRATE D'ASPARTATE DE DI METHYLE

ET DU CHLORHYDRATE DE GLUTAMATE DE DI METHYLE

A - PROCESSUS EXPERIMENTAL

On met en suspension 13,3 g d'acide L aspartique ou 14,7 g d'acide glutamique dans 150 ml d'alcool méthylique anhydre. On refroidit le tout à 0°C, et on fait passer dans la suspension un courant de gaz chlorhydrique anhydre jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. On laisse encore agiter pendant 2 heures, puis on évapore sous vide le solvant. On précipite le chlorhydrate en ajoutant de l'éther éthylique anhydre. On filtre, lave à l'éther et on sèche sous vide.

B - RESULTATS

Tableau 3.

HCl, H - Asp - OMe j OMe	HCl, N - GLU - OMe I OMe
15,01 g	15,87 g
76 %	75 %

Masse obtenue			15,01 g	15,87 g
Rendement			76 %	75 %
Analyse élémentaire				
M. calculée :	197,5 g	231,5 g		
C	36,47	39,72	36,44	39,45
11	6,12	6,67	5,78	6,28
0	32,38	30,24	32,37	30,37
N	7,09	6, 62	7,19	6,83
C1	17,94	16,75	18,22	17,07
% calculé	Asp	Glu		
Point du fusion			$184^{\circ} - 187^{\circ}$	153 [°] - 155 [°]
$\begin{bmatrix} \alpha \\ Solvant \\ H_2 \\ 0 \end{bmatrix}$			13,1°	24,8 °
R ₁			0,27	0,34
R, 2			0	0

TABLEAU 3



IV - PREPARATION DES MONOPEPTIDES DERIVES

DE L'ASPARTATE DE BENZYLE ET DU GLUTAMATE DE BENZYLE

A – PREPARATION DU β L AS PARTATE DE BENZYLE

Dans un ballon de 1 l, on introduit 6,5 g d'acide L aspartique (0,5 mole) et 0,665 l d'alcool benzylique.

Au moyen d'un bain d'huile à 100°C, on chauffe la suspension obtenue, et on y fait barboter du gaz chlorhydrique anhydre jusqu'à obtention d'une solution limpide.

Le β L aspartate de benzyle est précipité par la triéthyl amine en excès.

On filtre, on lave à l'alcool et on sèche sous vide. Le produit est recristallisé dans l'eau bouillante (C = 100 g 1^{-1}). On obtient m = 33,45 g soit un rendement de 30 %.

F = 223 °C Spectre U.V. : $\xi_{255,5} = 192$ 1 mole⁻¹ cm⁻¹ solvant NaOH $\frac{N}{10}$ $R_{f_1} = 0,48$ $R_{f_2} = 0.$

B - PREPARATION DU Y L GLUTAMATE DE BENZYLE

1 - Glutamate de cuivre (18)

On dissout à ébullition sous reflux 14,7 g (0,1 mole) d'acide glutamique dans 1 litre d'eau.

Lorsque la dissolution est totale, on ajoute en une seule fois 20 g (0,1 mole) d'acétate de cuivre monohydraté en agitant.

On fait bouillir de nouveau à reflux, un précipité apparaît au bout de quelques minutes. On fait bouillir pendant 15 mn encore, en continuant d'agiter. Quand la solution est revenue à température ambiante, on filtre, ce qui donne un précipité bleu turquoise qu'on sèche sous vide, pendant 24 heures à 45 °C. On obtient 20,15 g de glutamate de cuivre ; soit un rendement de 82,5 % si on suppose que le glutamate de cuivre cristallise avec quatre molécules d'eau.

Analyse élémentaire M = 489,385 g

% calculé : C (24,543) ; H (4,531) ; O (39,231) ; N (5,724) ; Cu (25,970) % trouvé : C (24,63) : H (4,56) ; N (5,69) : Cu (25,93)

L'oxygène ne peut pas se doser en présence de cuivre.

2 - L Glutamate de cuivre et de sodium (18)

Dans un erlenmeyer de 2 1, on dissout 16 g (0,4 mole) de soude dans 1 1 d'eau. On ajoute 29,4 g (0,2 mole) d'acide L glutamique. On ajoute petit à petit 48,80 g (0,1 mole) de glutamate de cuivre.

On agite pendant 2 heures à température ambiante, puis on filtre le glutamate de cuivre qui n'a pas réagi.

On concentre ensuite le filtrat sous vide jusqu'à obtenir 250 ml de solution, puis on précipite le glutamate de cuivre et de sodium en ajoutant goutte à goutte de l'alcool éthylique. On laisse 12 heures à 5°C pour terminer la précipitation, on filtre et on sèche sous vide à 40°C. Le produit obtenu est broyé finement, et de nouveau séché sous vide à 100°C.

On obtient 76 g de glutamate de cuivre et de sodium, poudre bleue non hygroscopique.

Rendement : 97 % $\varepsilon_{620 \text{ nm}} = 55 \text{ 1 mole}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ solvant H}_20$

3 - L Glutamate de cuivre et de benzyle

On dissout 160 g (0,4 mole) de glutamate de cuivre et de sodium dans 400 ml d'eau, et 91,5 ml (0,8 mole) de chlorure de benzyle dans 400 ml de DMF.

La solution aqueuse et la solution organique sont ensuite mélangées dans un erlenmeyer de l l ; on ajoute 120 g (0,8 mole) d'iodure de sodium. On maintient le mélange à 35° C pendant 24 h. sous forte agitation.

On dilue avec de l'acétone, on filtre, on lave avec l'acétone, puis avec l'eau jusqu'à ce que le filtrat soit incolore. On sèche sous vide à 40°C.

On obtient m = 94,2 g soit un rendement de : 44 %.

4 - L YGlutamate de benzyle

a - Préparation de la solution de sel disodique de l'E.D.T.A.

Dans une fiole jaugée de 2 litres, remplie à moitié d'eau permutée, on dissout 16 g (0,4 mole) de soude pure puis 58,4 g (0,2 mole) d'E.D.T.A. On complète à 2 litres la solution par de l'eau. On vérifie le pH au moyen d'un pHmètre (pH = 4,5).

b - Obtention du L YGlutamate de benzyle

On fait bouillir à reflux 250 ml de sel disodique d'E.D.T.A. à pH = 4,5, puis on ajoute 5,355 g (0,01 mole) de glutamate de cuivre et de benzyle.

Lorsque le glutamate de cuivre et de benzyle est dissous, on filtre à chaud. Le filtrat est ensuite refroidi et gardé à 4 °C pendant 12 h.

Le glutamate de benzyle précipite sous forme de paillettes blanches. On filtre et lave à l'eau. On sèche sous vide à 35° C. On ellient m = 1,94 g soit un rendement de : 41 %.

> Point de fusion F = $173 \degree C$ Spectre U.V. $\epsilon_{264} = 218 1 \text{ mole}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ soluble H_2O $R_{f_1} = 0,52$ $R_{f_2} = 0$

C - PREPARATION DU N TERTIOBUTYL OXYCARBONYL β L AS PARTATE OU γ L GLUTAMATE DE BENZYLE

1 - Azide de tertiobutyl oxycarbonyl

Dans un ballon de 250 ml, on met 36,5 ml d'eau et 22,5 ml d'acide acétique. On refroidit le mélange dans un bain de glace, puis on ajoute en agitant 26,4 g (0,2 mole) de carbazate de tertiobutyl oxycarbonyl.

Lorsque la solution est homogène, on ajoute 15,16 g (0,22 mole) de nitrite de sodium en solution dans 150 ml d'eau. Cette addition se fait en 20 mn, en maintenant la température entre 9 et 13 °C.

Le mélange est agité pendant 1 heure, puis on ajoute 40 ml d'eau. On sépare alors la couche azide jaune d'or de la phase aqueuse.

Celle-ci est extraite 4 fois avec 50 ml d'éther éthylique. On combine les couches organiques, et on les lave 3 fois avec 50 ml d'eau et 3 fois avec 50 ml de bicarbonate de sodium 1 M.

On sèche la solution éthérée sur sulfate de magnésium et on évapore le solvant, sous vide sans chauffer.

On obtient m = 27,15 g.

Rendement : 95 %.

2 - Synthèse des N tertiobutyl oxycarbonyl β L aspartate ou γ L glutamate de benzyle

a - Processus expérimental

A une suspension de 0,1 mole d'acide aminé de départ (23,7 g de glutamate de benzyle, 22,3 g d'aspartate de benzyle) dans 500 ml de DMSO, on ajoute successivement 27,1 ml de triéthylamine et 15,6 ml d'azide de tertiobutyl oxycarbonyl.

Ce mélange est agité pendant 20 h à 25° C, puis on dilue la solution avec 1,5 l d'eau. On laisse revenir à température ambiante.

On extrait 3 fois avec 100 ml d'éther éthylique pour éliminer l'azide qui n'a pas réagi.

On acidifie la phase aqueuse au moyen de l'acide citrique, jusqu'à pH = 3,5.

On extrait plusieurs fois (au moins 5 fois) par 150 ml d'acétate d'éthyle, à 50 ml environ. On précipite le produit en laissant tomber goutte à goutte la solution précédente dans un bécher contenant environ 2 l. d'éther de pétrole.

Le N tertiobutyl oxycarbonyl Y L glutamate de benzyle ne cristallise pas. On en fait le sel de dicyclohexylammonium qui est un solide que l'on peut caractériser.

b - Résultats

	tBOC - Asp - OH	tBOC - Glu - OH, DCHA
	ÒBz 1	OBz1
Masse obtenue	27,5 g	32,9 g
Rendement	85 %	63,5 %
Analyse élémentaire		
M. calculée 323 g 518 g		
C 59,43 67,15	59,60	67,45
H 6,55 8,94	6,53	8,91
0 29,69 18,51	29,37	18,52
N 4,33 5,40	4,38	5,23
Aspartate Glutamate		
Point de fusion	1 02 °C	119 - 122°
Spectre U.V. Solvant : CHCl ₃	$\epsilon = 193$	$\epsilon_{256,5} = 209$
$\left[\alpha\right]^{20}$ solvant CHCl ₃ 5460	35,4	12,6
R _f 1	0,89	0, 93
^R f 2	0,48	0,43

TABLEAU 4.

D - <u>SYNTHÈSE DU N TERTIOBUTYL OXYCARBONYL ASPARTATE (β BENZYL ESTER) DE</u> <u>METHYL ET DU N TERTIOBUTYL OXYCARBONYL GLUTAMATE (γ BENZYL ESTER)DE</u> <u>METHYL</u>

1 - Synthèse du nitrosométhylurée (135)

Le nitroso méthyl urée a été synthétisé à partir du chlorhydrate de méthylamine

Dans un ballon taré de 1 l, on met 200 g (1,5 mole) de solution aqueuse à 24 % de méthylamine, et on ajoute de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à acidité au rouge de méthyle (environ 155 ml).

On porte à 500 g le poids total par addition d'eau, puis on ajoute 300 g (5 moles) d'urée. On fait bouillir la solution pendant 2 h 45 à léger reflux puis vigoureusement pendant un quart d'heure.

On refroidit la solution à la température ambiante et on y dissout 110 g (1,5 mole) de nitrite de sodium à 95 % et on refroidit le tout à 0° C.

On plonge dans un bon mélange réfrigérant un bécher de 3 l contenant 600 g de glace et 100 g (1 mole) d'acide sulfurique concentré. On verse lentement dans ce mélange en agitant mécaniquement, la solution froide méthylurée - nitrite, à une vitesse telle que la température ne dépasse pas $O^{\circ}C$.

Le nitrosométhylurée monte à la surface sous forme d'un précipité cristallin, formant écume, qu'on filtre aussitôt et qu'on essore bien sur le filtre. On réduit les cristaux en pâte, en les agitant avec 50 ml d'eau froide. On essore au maximum.

On sèche à poids constant dans un dessicateur à vide. Il faut conserver le nitrosométhylurée à 4° C.

On obtient m = 108 gRendement : 70 %.

2 - Synthèse du diazométhane (135)

Dans un ballon de 500 ml, on introduit 60 ml de solution aqueuse de potasse à 50 g dans 100 ml, et 200 ml d'éther. On refroidit le mélange à 5°C et on ajoute en remuant 20,6 g (0,2 mole) de nitrosométhylurée.

On adapte au ballon un réfrigérant descendant suivi d'une allonge qui plonge dans un ballon de 500 ml contenant 50 ml d'éther anhydre afin que le diazométhane s'y dissolve. Le ballon est refroidi par un mélange glace - sel.

On distille l'éther jusqu'à ce qu'il passe incolore.

La solution de diazométhane dans l'éther, ainsi obtenue est suffisamment pure pour être utilisée telle quelle.

3 - Synthèse du N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (β benzyl ester) de méthyl et du N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (γ benzyl ester) de methyl.

a - Processus expérimental

On dissout 0,01 mole de N tertiobutyl oxycarbonyl d'acide aminé (3,23 g de N tertiobutyl oxycarbonyl β L aspartate de benzyle ou 3,37 g de N tertiobutyl oxycarbonyl Y L glutamate de benzyle dans 50 ml d'acétate d'éthyle anhydre.

On ajoute goutte à goutte la solution éthérée de diazométhane, en agitant, jusqu'à ce que la coloration jaune caractéristique du diazométhane soit persistante.

On laisse sous agitation pendant 5 mn, puis on évapore sous vide les solvants, jusqu'à obtention d'une huile. On dissout cette huile dans l'acétate d'éthyle, et on précipite l'ester méthylique par l'éther de pétrole.

On filtre, lave à l'éther de pétrole, et sèche sous vide à 30°C.

Le tBOC - GLU - OMe ne cristallise pas I OBz1

b - <u>Résultats</u>

Tableau 5.

	tBOC - Asp - OMe OBz1
Masse obtenue	3,20 g
Rendement	95 %
Analyse élémentaire M. cal. 337,37 g	
C 60,52	60,53 %
н 6,87	6,91 %
0 28,46	28,23 %
N 4,15	4,06 %
% calculé	
Point de fusion	53 [°] - 55°
[a] Solvant CHC1 ₃	28,2°
Spectre U.V. Solvant CHC1 ₃	$\epsilon_{256,5} = 218$
^R f1	0,94
R _{f2}	0,94

TABLEAU 5

BUS

E - PREPARATION DU CHLORHYDRATE DE L'ASPARTATE (β BENZYL ESTER) DE METHYL OU DU GLUTAMATE (γ BENZYL ESTER) DE METHYL.

1 - Processus expérimental

On dissout 3,37 g de N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (β benzyl ester) de methyl (0,01 mole) ou 3,51 g de N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (γ benzyl ester) de methyl (0,01 mole) dans 50 ml d'acétate d'éthyle anhydre.

On fait passer un courant de gaz chlorhydrique sec pendant 30 mm, puis on agite pendant 2 h. Le chlorhydrate précipite.

On filtre, lave à l'acétate d'éthyle, et on sèche sous vide à 30°C.

Le chlorhydrate est redissous dans le minimum de méthanol, puis précipité par de l'éther éthylique anhydre.

2 - Résultats.

Tableau 6.

			HC1, H - Asp - OMe I	HC1, H - Glu - OMe
Mag	se obtenuo			
mas	se oblenue		2,43 g	2,67 g
Rend	dement		89 %	93 %
Analy	se élémentaire			
М. са	1 : 265,74 g	279,74 g		
c	54,24	55,81	52,31	54,26
н	6,07	6,48	5,94	6,35
о	21,08	20,03	23,67	22 ,55
N	5,27	5,01	5,03	5,14
C1	13,34	12,67	12,95	12,41
	Aspartate G	lutamate		
Point	t de fusion		135 [°] - 138 [°]	$130^{\circ} - 134^{\circ}$
[α] solvant H_2^0		21,2°	30,00 °
Spectre U.V. solvant H ₂ O		$\epsilon_{255,5} = 225$	$\epsilon_{256} = 194$	
Rf 1		0,68	0,70	
R_{f_2}			0,15	0,09

- 22 -

F - PREPARATION DU N ACYL ASPARTATE (β BENZYL ESTER) DE METHYL OU DU N ACYL GLUTAMATE (γ BENZYL ESTER) DE METHYL,

1. Processus expérimental

On met en suspension 2,655 g de chlorhydrate de l'aspartate (β benzyl ester) de methyl (0,01 mole) ou 2,795 g de chlorhydrate du glutamate (γ benzyl ester) de methyl (0,01 mole) dans 50 ml de chloroforme anhydre.

On refroidit la suspension à 0° C, et on ajoute 0,025 mole (3,48 ml) de triéthyle amine, et 0,011 mole (0,78 ml) de chlorure d'acétyle. On agite pendant 10 mn à 0° C, puis on laisse revenir à température ambiante, tout en continuant d'agiter.

Au bout d'une heure, on évapore à sec, puis on reprend par 50 ml d'acétate d'éthyle. Le chlorhydrate de triéthyl ammonium précipite. On filtre, le filtrat est concentré sous vide à 20 ml, et on précipite à l'éther de pétrole.

On filtre, on lave et on sèche sous vide.

2. Résultats

	Ac - Asp - OMe	Ac - Glu - OMe
	OBz1	OBz1
Masse obtenue	2,37	2,60
Rendement	85 %	89 %
Analyse élémentaire		
M. cal. 279,29 293,32		
C 60,21 61,42	59,94	61,60 %
H 6,14 6,53	6,17	6,52 %
0 28,64 27,27	28,74	27,27 %
N 5,01 4,78	4,93	4,84 %
Aspartate Glutamate		
Point de fusion	52 [°] - 55 [°]	56 [°] - 57 [°]
$\begin{bmatrix} \alpha \end{bmatrix}$ Solvant T.M.P.	- 23,9°	- 22,9°
Spectre U.V. Solvant T.M.P.	$\epsilon_{256,5}^{=216}$	$\epsilon_{257} = 199$
R _f	0,76	0,77
R _{f2}	0,46	0,45

Tableau 7.

V - PREPARATION DES MONOPEPTIDES DERIVES DES ASPARTATES DE NITRO BENZYLE ET DES GLUTAMATES DE NITRO BENZYLE

A - PREPARATION DES ASPARTATES DE NITRO BENZYLE

1 - L Aspartate de cuivre

On chauffe 4 l d'eau à 90° C, et on y dissout 66,5 g (0,5 mole) d'acide L aspartique. On ajoute alors lentement 100 g d'acétate de cuivre monohydraté dissous dans 1 l d'eau portée à ébullition, en agitant vigoureusement.

La réaction se poursuit pendant l heure, le L aspartate de cuivre apparaît sous forme d'un précipité bleu. Puis toujours sous agitation on laisse revenir à température ambiante.

On filtre, lave à l'eau jusqu'à ce que le filtrat soit incolore, puis à l'alcool.

On obtient un solide bleu turquoise que l'on sèche sous vide à 110° C.

Rendement : on obtient 111 g de produit. Si l'on admet que l'aspartate de cuivre cristallise avec 6 molécules d'eau, on a un rendement de 89 %.

2 - L Aspartate de cuivre et de lithium.

On dissout à froid 19,6 g (0,8 mole) d'hydroxyde de lithium à 98 % dans 3,5 1 d'eau. Puis on ajoute 53,2 g (0,4 mole) d'acide aspartique.

Lorsque la solution d'aspartate de lithium est limpide, on ajoute 99,4 g (0,2 mole) d'aspartate de cuivre.

On agite à température ambiante pendant 6 heures, puis on filtre l'aspartate de cuivre qui n'a pas réagi.

On concentre sous vide le filtrat à un volume de 500 ml, et on précipite l'aspartate de cuivre et de lithium par l'alcool éthylique.

On filtre, on lave à l'alcool éthylique et on sèche sous vide à 40°C. Le précipité est finement broyé puis séché de nouveau sous vide à 110°C.

On obtient 122,5 g de produit.

Rendement 90 %

 $\xi_{630 \text{ nm}} = 41,8 \text{ 1 mole}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ solvant H_2^0

3 - Aspartate de cuivre et de β nitro benzyle

a - Processus expérimental

33,95 g (0,1 mole) d'aspartate de cuivre et de lithium sont dissous dans 400 ml d'eau.

43,20 g (0,2 mole) de bromure de nitro benzyle sont dissous dans au moins 400 ml de DMSO.

La solution aqueuse et la solution organique sont ensuite mélangées dans un erlenmeyer de 1 l. On agite vigoureusement le mélange pendant 48 h. à une température de 35 °C.

Si le bromure de nitro benzyle précipite lors du mélange des 2 solutions, on ajoute du DMSO jusqu'à l'obtention d'une solution de départ limpide.

Au cours du temps, l'aspartate de cuivre et de nitro benzyle précipite. On ajoute de l'acétone, puis on filtre, lave à l'acétone pour éliminer le bromure qui n'a pas réagi, puis à l'eau pour éliminer l'aspartate de cuivre et de lithium qui n'a pas réagi. Le complexe est séché sous vide à 40°C.

b - Résultats

Tableau 8.

	AC (oNB)	AC(mNB)	AC (pNB)
Volume de DMSO néces- saire	400 ml	400 ml	400 ml
Masse de complexe	20,3 g	28,1 g	23,9 g
Rendement	34 %	47 %	40 %

TABLEAU 8

4 - Aspartates de β nitro benzyle

a - Processus expérimental

On porte à ébullition 250 ml d'une solution de disodique d'EDTA à pH = 4,5.

On ajoute alors 5,975 g (0,01 mole) d'aspartate de cuivre et de nitro benzyle.

Lorsque l'aspartate de cuivre et de nitro benzyle est dissous, on filtre à chaud.

Le filtrat est ensuite refroidi et gardé à 4°C pendant 12 h. L'aspartate de nitro benzyle précipite.

L'aspartate de méta nitro benzyle s'hydrolyse facilement à chaud en milieu acide. Il faut donc refroidir très rapidement le filtrat sous un courant d'eau froide, ou mieux initier la cristallisat. A avec quelques cristaux d'aspartate de méta nitro benzyle.

On filtre l'aspartate de nitro benzyle, lave à l'eau jusqu'à ce que le filtrat soit incolore, puis à l'alcool. On sèche sous vide à 30° C.

On recristallise dans le minimum d'eau portée à ébullition.

b - <u>Résultats</u>

Tableau 9.

	Asp(oNB)	Asp(mNB)	Asp(pNB)
Masse obtenue	3,75 g	3,46 g	4,40 g
Rendement	70 %	64,5 %	82 %
Analyse élémentaire M. cal. 277 g 282 g	Monohydrate	Hémihydrate	Monohydrate
C 47,66 46,16	45,98	47,45	46,45
H 4 ,7 3 4,93	5,08	4,81	5,10
0 37,51 39,12	39,30	37,37	38,91
N 10,10 9,79	9,59	10,04	9,75
hémihydrate monohydrate			
Spectre U.V. Solvant NaOH <mark>N</mark> 10	$\epsilon_{265} = 5510$	$\epsilon_{268,5} = 8200$	$\epsilon_{275} = 10200$
Point de fusion	185 [°] - 187°	183° - 184°	190 [°] - 191°
[a] Solvant	11,2 Ac OH	25,4 HC1 6 N	13,2 Ac OH
R f 1	0,49	0, 48	0, 49
R _f	0	0	0

TABLEAU 9



1 - L Glutamate de cuivre et de nitro benzyle

a - Processus expérimental

On dissout 40 g (0,1 mole) de GCN dans 100 ml d'eau et 43,20 g (0,2 mole) de bromure de nitro benzyle dans 100 ml de DMF.

La solution aqueuse et la solution organique sont ensuite mélangées dans un erlenmeyer de 250 ml. Le glutamate de cuivre et de nitro benzyle précipite ; on agite énergiquement le mélange pendant 48 heures à une température de 35° C.

On ajoute de l'acétone distillée, on filtre, on lave à l'acétone pour éliminer le bromure qui n'a pas réagi. On lave à l'eau jusqu'à ce que le filtrat soit incolore.

On sèche sous vide à 40° C.

b - <u>Résultats</u>

Tableau 10.

	GC (oNB)	GC (mNB)	GC (pNB)	D GC (pNB)
Masse obtenue	20 g	32,9 g	34,4 g	31,9 g
Rendement	32 %	52,5 %	55 %	51 %

2 - L Glutamates de nitro benzyle

a - Processus expérimental

On fait bouillir à reflux 6,255 g (0,01 mole) de glutamate de cuivre et de nitro benzyle en suspension dans 250 ml de sel disodique d'EDTA à pH = 4,5.

Lorsque le glutamate de cuivre et de nitro benzyle est dissous, on filtre à chaud. Le filtrat est ensuite refroidi et gardé à 4°C pendant 12 heures pour accélérer la précipitation.

On filtre, on lave à l'eau et on sèche sous vide pendant 12 heures à 30° C.

On recristallise dans le minimum d'eau à ébullition.

b –	Rés	ultats	1
-----	-----	--------	---

Tableau 11.

	GLU (ONB)	GLU(mNB)	GLU(pNB)	D GLU(pNB)
Masse obtenue	4,8 g	3,41 g	3,77 g	2,87 g
Rendement	71 %	60,5 %	67 %	51 %
Analyse élémentaire				
M. cal. 282 g				
C 51,065	51,01	51,09	51,02	51,87
Н 4,999	5,05	5,05	5,19	5,14
0 34,010	34,07	34,32	33,68	33,66
N 9,925	10,18	9,90	9,76	9,93
Spectre U.V. dans NaOH N/10	ε 267 ⁼⁵⁶⁵⁰	ε 269 ⁼⁸¹⁶⁰	ε 275 ⁼¹⁰²⁰⁰	ε 275 ⁼¹⁰⁰⁰⁰
Point de fusion	162,5°	167 °	176 ⁰	181,5–183°
[α]	19,1 [°]	18,7°	18,3 [°]	- 19,5°
Solvant	HC1 6 N	HC1 6 N	HC1 6 N	HC1 6 N
^R f 1	0,53	0,44	Э	О
^R f ₂	0	0	0	0

TABLEAU 11.

C - PREPARATION DES N ACYL ASPARTATE (β BENZYL ESTER) DE METHYL ET DES N ACYL GLUTAMATE (γ BENZYL ESTER) DE METHYL.

1 - Synthèse du N tertiobutyl oxycarbonyl β L aspartate ou γ L glutamate de nitro benzyle.

a - Processus expérimental

Le processus expérimental suivi, est le même que celui utilisé pour la préparation des N tertiobutyl oxycarbonyl β L aspartate ou γ L glutamate de benzyle.

On part de : 0,050 mole d'acide aminé (13,40 g d'aspartate de nitro benzyle, ou 14,1 g de glutamate de nitro benzyle.

250 ml de DMSO

13,55 ml de triéthylamine

7,85 ml d'azide de tertiobutyl oxycarbonyle.

Dans le cas du glutamate de paranitro benzyle on évapore l'acétate d'éthyle jusqu'à ce qu'on obtienne une huile, on la dissout dans le DMSO, et on précipite par l'eau.

On filtre, lave à l'éther de pétrole, et sèche.

b - <u>Résultats</u>

Tableau 12.

2 - Synthèse des N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (β nitro benzyl ester) de methyl ou des N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (γ nitro benzyl ester) ester) de methyl,

a - Processus expérimental

On adopte le même processus expérimental que pour l'obtention des composés analogues dérivés de l'aspartate ou du glutamate de benzyle.

b - <u>Résultats</u>

Tableau 13.

	tBOC-Asp-OH	tBOC-Asp-OH	tBOC-Asp-OH	tBOC-Glu-OH	tBOC-Glu-OH OmNB	tBOC-Glu-OH opNB	D tBOC-G1 1-OH OpNB
Masse obtenue	16,37 g	15,54 g	15,91 g	13,94 g	12,60 g	14,95 g	14,95 g
Rendement	89 %	84,5 %	86,5 %	73 %	66 %	65 %	65 %
Remarques	Nécessité de chaufferà35°C Produit non cristallisé			Nécessité de chauffer à 35°C		Cristallise avec u a molé- cule de DMSO	Cristallise avec une molé- cule de DMSO
Analyse élémentaire M.cal. 368 382 460	en de la gran de la gran de la grande e desertante						
C 52,17 53,40 49,6		52,49	52 , 50	53,63	53,04	49,46	49,63
H 5,47 5,80 6,1		5,74	5,10	6,00	5,87	6,08	6,07
0 34,75 33,47 31,3		34,28	34,41	33,46	33,08	31,16	30,54
N 7,61 7,33 6,1		7,48	7,70	7,45	7,14	6,10	6,02
s 0 0 7,0		0	0	0	0	6,42	6,61
Asp Glu Glu. DMSO					a von 1944 i A Ministria Vonterina de la Ministria Andre de Maria de Ministria de Ministria de Ministria de Min	ց անդերացնելու հանցին։ Մաստությունը։ Անելու հանցին անցինությունը։ Դանի հանցին հանցին հանցին հանցին հանցին հանցին հանցին հանցին հանցին հանցին։	
Spectre U.V. Solvant CHCl,		°263=8150	°567,5=10580	³ 563=5600	³²⁶³⁼⁷ 800	³ 268 ⁼ 1 0990	²⁶⁷⁼¹ 0410
Point de fusion	n men i nen i nen managemen i ne anna managemente en en interna	90 [°] - 93 [°]	142° - 143	118°	133 0	104 - 105°	98° - 100°
$\left[\alpha \right]$ solvant CHCl ₃		41,8	37,8	19,6	16,6	- 17,0°	+ 17,0°
\mathbb{R}_{1}^{r}		0,80	0,81	0,90	0,84	0, 83	0,83
${ m I}_{ m I}$		0,52	0,49	0,48	0, 46	0, 42	0, 42
(BUS)			ТА	BLEAU 12.			

- 31 -

	tBOC-Asp-OMe OcNB	tBOC-Asp-OMe	tBOC-Asp-OMe	tBOC-Glu-OMe	tBOC-Glu-CMe	tBOC-Glu-OMe	D tBOC-Glu-OMe
Masse obtenue	3,63 g	3,55 8	3,65 g	3,90 g	3,20 g	3,78 g	3,40 g
Rendement	95 %	93 %	95,5 %	98,5 %	81 %	95,5 %	86 %
Analyse élémentaire							
M. cal. 382 g 396 g C 53.400 54.451	Dérivé non	53,26	53 , 42	54,44	54,60	54,69	54,49
H 5,799 6,103	cristallisé	5,81	5,93	5,94	6 , 07	6 ,14	6,18
0 33,474 32,289		33,41	33,19	32,17	31,88	32,10	32,09
N 7,326 7,067		6,99	7,21	7 , 03	7,18	7 , 01	7,56
Aspartate Glutamate	0						in and the probability of the probability o
Spectre U.V.		³ 262 , 5=8400	ε ²⁶⁸ ,5=10800	€261,5=5600	² 263,5 ⁼ 8060	⁶ 266 ⁼ 10200	² 266 ⁼¹ 0420
Point de fusion		75° 76°	57 ° 58 °	65° 68°	49°	76°	75°
[a] solvant CHC13		28,8	26,7	13,7	15,7	- 13,5	+ 13,5
$^{\mathrm{R}}\mathrm{f}_{1}$		0,88	0,94	0, 96	0,88	0, 92	0,92
$^{\mathrm{R}}\mathrm{f}_{2}$		0,94	0,96	0,93	0, 95	0,90	0, 90

TABLEAU 13

BUS

- 32 -

3 - Synthèse du chlorhydrate des aspartates (β nitro benzyl ester) de methyl et des glutamates (γ nitro benzyl ester) de methyl.

a - Processus expérimental

On adopte le même processus expérimental que pour l'obtention des composés analogues dérivés de l'aspartate ou du glutamate de benzyle.

b - <u>Résultats</u>

Tableau 14.

4 - Synthèse des N acyl aspartate (βnitro benzyl ester) de methyl et des N acyl glutamate (γ nitro benzyl ester) de methyl.

a - Processus expérimental

On adopte le même processus expérimental que pour l'obtention des composés analogues dérivés de l'aspartate ou du glutamate de benzyle.

b - <u>Résultats</u>

Tableau 15.

naman, sanahan a	n de la companya en l		-	 A state of the sta	and definitions in the state. As an interfacement of the desired of the state of th	refer and terratives. By much benchment on the above sections of the other of the other of the other of the other othe	 Section in contraction means which are in the contraction of the section
	HC1, H-Asp-OMe	HC1, H-Asp-OMe	HC1 H-ASP-OME OPNB	HCI H-GIU-OME	HCI H-GIU-OME	HCL H.G.IU-OME	D HCL, H-GLU-OME OPNB
Masse obtenue	2,83 g	3,09 8	2,89 g	3,11 g	3,19 8	2,54 84 89	2,26 в
Rendement	% 68	% 26	91 %	93,5 %	96 %	76,5	68 %
Analyse élémentaire	and and the first and the second s	forder i van de fel baar e felo samt felo felo man, men jedninge staan mee fe	n andre of the andre of the second	n Balance and La College and Annual Annua			
M. cal. 318,5 332,5							
C 45,223 46,926	45,30	45,24	45 , 33	46,56	46,44	46,87	46,62
H 4,744 5,150	4,25	4,35	4,67	5,31	5,17	5,17	5,37
0 30,120 28,850	29,26	30,75	29,73	29,70	28,75	28,86	29,56
N 8,789 8,419	8,48	8,36	8,40	8,21	8,84	8,50	8,73
Cl 11,124 10,655	11,28	11,20	11,23	10,68	10,86	10,60	10,67
Aspartate glutamate							
Spectre U.V. Solvant H ₂ O	د 264=5250	ε 265 =7180	د 268 =9184	^с 266 = 5780	$\frac{c}{267} = 7680$	$\epsilon_{271} = 9100$	$e^{270} = 9050$
Point de fusion	165 ° - 166°	154°- 158°	152° - 155°	143°- 144°	124,5°- 125°	133° - 135°	134°- 136°
$\begin{bmatrix} \alpha \end{bmatrix}$ solvant H_20	26,5°	17,2 °	28,0°	28,1 °	24,8 0	26,0°	- 26,4 °
\mathbb{R}_{f_1}	0,66	0,65	0,67	0,67	0,64	0,62	0,62
R ^r 2 Sfield	0,11	0,14	0,14	0,87	0,79	0,07	0,07
)					and an and a second s	n an	A DESCRIPTION OF A DESC

.

TABLEAU 14

- 34 -

	Ac-Asp-OMe I CoNB	Ac-Asp-OMe . 0mNB	Ac-Asp-OMe 0 DNB	Ac-Glu-OMe	Ac-Glu-OMe OmNB	Ac-Glu-OMe . L OpNB
Masse obtenue	3,11 g	2,67 g	3 , 04 g	3,24 g	3 , CO B	3 , OO g
Rendement	96 %	82,5 %	94 %	96 %	89 %	89 %
Analyse élémentaire						
M. cal 324,29 338,32						
C 51,85 53,25	51,82	51,91	52 ,17	53,07	53,54	53,42
Н 4, 97 5, 36	5,04	4,87	5,08	5 , 46	5,46	5 , 49
0 34,54 33,10	34,34	34,96	34,23	32,78	33 ,01	33,30
N 8,64 8,28	8,35	8,67	8,48	8,19	8 ,21	8,13
Aspartate Glutamate	:					A for an and on the second
Spectre U.V. Solvant TMP	² 260 = 5100	^c 262 = 7100	e ²⁶⁸ = 9320	e259 = 5300	⁶ 262,5 =6800	$e_{267} = 9470$
[a] solvant TMP	- 23,7°	- 26,3°	- 25,5°	- 17,1 [°]	- 18,1 [°]	- 20,3°
Point de fusion	114°- 115°	61 - 64	97°- 98°	86,5°- 87°	56°- 57°	79°- 80°
\mathbf{F}_{1}	0,79	0,80	0,78	0,80	0,79	0,80
$^{ m R}_{ m I_2}$	0,47	0, 50	0, 53	0, 48	0,52	0,32

TABLEAU 15

BUS

r

VI - PREPARATION DES DIPEPTIDES DERIVES DES ASPARTATES DE NITRO BENZYLE ET DES GLUTAMATES DE NITRO BENZYLE

A - <u>PREPARATION DU N TERTIOBUTYL OXYCARBONYL AS PARTATE (β NITROBENZYL ESTER)</u> DE DICYCLOHEXYL AMMONIUM OU DU N TERTIOBUTYL OXYCARBONYL GLUTAMATE (γ NITROBENZYL ESTER) DE DICYCLOHEXYL AMMONIUM.

a - Processus expérimental

On dissout 0,01 mole d'acide aminé N protégé (3,68 g de N tertiobutyl oxycarbonyl L aspartate de nitro benzyle ou 3,82 g de N tertiobutyl oxycarbonyl L glutamate de nitro benzyle) dans 30 ml d'acétate d'éthyle.

On ajoute goutte à goutte 1,81 g (0,01 mole) de dicyclohexylamine, en agitant.

La réaction se poursuit pendant 2 heures, le sel de dicyclohexyl ammonium précipite.

On filtre, lave à l'acétate d'éthyle, et sèche sous vide.

b - <u>Résultats</u>

Tableau 16.

	tBOC-Asp-OH, DCHA	tBOC-Asp-OH,	tBOC-Asp-OH, DCHA	tBOC-GIU-OH, DCHA	tBOC-Glu-OH,	©BOC-G1u-OH,	D tBOC-Glu-OH,
	OoNB	OMNB	OpNB	OoNB	OmNB	OpNB	OPNB
sse obtenue	3,18 g	5,38 g	5,32 g	5,46 g	5,46 g	4,84 g	2,88 g
ndement	58 %	98 %	97 %	67 %	67 %	86 %	27 %
alyse élémentaire					,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,		
cal. 549 g 563 g				Ļ	0 E 5	12	61 72
61,184 61,793	60,88	60,99	61,27	61,95	61,19	07,10	
7,885 8,047	7,98	7,49	7,60	8,08	8,19	8,11	7,99
23,286 22,706	23,24	23,28	23,44	22,96	23,06	22,62	23,10
7,645 7,454	1,38	7,48	7,87	7,33	7,45	7,32	7,54
Aspartate Glutamate	0				والمحافظ والمحافظ المحافظ المحافظ والمحافظ والمحافظ والمحافظ والمحافظ والمحافظ والمحافظ	an a staine seast an a staine an a staine an a staine an	en e
ectre U.V. Jvant CHCl ₂	°262,5 =5600	³ 64 ⁼ 8500	ε ₂₇₀ =1 02 00	ε ₂₆₃ = 5700	³ 262,5 ⁼⁸⁶⁸⁰	ε ₂₇₀ =10000	$\varepsilon_{268} = 9610$
vint de fusion	130° - 132°	120° - 122°	148° - 150°	155°- 157°	91°- 93°	151°- 155°	150°- 153 °
$\left[\alpha\right]$ solvant CHCl ₃	31,8	17,9	22,8	14,2	16,2	13,5	- 13,6
	0,80	0,82	0,79	0,89	0,81	0,82	0,82
f_2	0, 52	0,53	0,48	0,50	0, 44	0,42	0, 42
		The summary second s					

TABLEAU 16

ខែមិទ នៃមួយ

B - PREPARATION DU N TERTIO BUTYL OXYCARBONYL ASPARTYL (β NITROBENZYL ESTER) ASPARTATE (β NITROBENZYL ESTER) DE METHYL OU DU N TERTIO BUTYL OXYCARBONYL GLUTAMYL (γ NITROBENZYL ESTER) GLUTAMATE (γ NITROBENZYL ESTER) DE METHYL

1 - Processus expérimental.

On dissout 5 mmole du N tertiobutyl oxycarbonyl aspartate (β nitrobenzyl ester) de dicyclohexyl ammonium ou du N tertiobutyl oxycarbonyl glutamate (γ nitrobenzyl ester) de dicyclohexyl ammonium (2,745 g de tBOC-Asp-OH, DCHA ou 2,815 g de tBOC-Glu-OH, DCHA dans 80 ml ONB de chloroforme distillé. On refroidit le mélange au moyen de glace et de sel. Puis on ajoute 5 mmole de HC1, H-A - OMe

$$(1,5925 \text{ g de HC1}, \text{H} - \text{Asp} - \text{OMe}$$
 ou 1,6625 g de HC1, H - Glu-OMe)
NB ONB

et 5 mmole (1,03 g)de dicyclohexyl carbodiimide, en agitant

La réaction se poursuit pendant 2 h à - 10°C, puis pendant 3 heures à température ambiante. Le dicyclohexylurée précipite.

On filtre le dicyclohexylurée, et on évapore le chloroforme à sec. On dissout dans l'acétate d'éthyle l'huile qui se forme. On filtre le précipité qui apparaît, on évapore sous vide l'acétate d'éthyle jusqu'à l'obtention d'une huile. On redissout cette huile dans l'acétate d'éthyle. Si un précipité apparaît, on recommence le cycle précédemment décrit.

Le peptide est enfin précipité dans l'éther de pétrole.

On filtre, lave à l'éther de pétrole et sèche sous vide.

Le dimère de l'aspartate de para nitro berzvle est peu soluble dans l'acétate d'éthyle à froid. On est donc obligé de purifier le monopeptide en le dissolvant à chaud dans l'acétate d'éthyle, et en filtrant à chaud. Le dimère cristallise à froid dans le filtrat.

Les dimères sont recristallisés dans le minimum d'alcool éthylique bouillant.

2 - <u>Résultats</u>

Tableau 17.

	tBOC+Asp - OMe	tBOC Asp -OMe	t boc Asp - OMe opn=2	tBOC-GIU -OMe	tBOC/GIU/-ON	tBOCfGIU - OME	DtBOC GIU - OMe
Masse obtenue	2,70 g	2,65 g	2,10 g	2,92 g	2,84 g	2,97 g	2,72 g
Rendement	85,5 %	84 %	66,5%	88,5 %	86 %	% 06	82,5 %
Analyse élémentaire M. cal. 632g 660g							
C 53,164 54,543	53,53	53,75	54,20	54,88	54,83	54,74	54,50
Н 5,099 5,493	4,84	5,21	5,63	5°38	5,55	5,65	5,58
0 32,880 31,483	32,18	32,81	30,62	31,02	31,48	31,38	31,17
N 8,867 8,481	8,58	8,54	8,74	8,37	8,29	8,37	8,68
Aspartate Glutamate							
Point de fusion	98° - 99°	89°- 90°	140 - 141°	75°77°	63°- 65°	104°- 105°	108°- 109°
Spectre U.V. CHC1 ₃	$\epsilon_{260,5}^{=12240}$	$\epsilon_{261}^{=15950}$	² 65=21000	² 260 ⁼ 12070	² 261,5=16080	€ ₂₆₆ =20010	$\varepsilon_{266}^{=} 20250$
[α] solvant CHCl ₃	41,1	33,5	34,1	7,3	3,8	4,5	- 4,8
$^{ m R}_{ m 1}$	0, 93	0, 91	0, 92	0, 92	0,91	0,88	0,88
$^{ m Rf}_{ m 2}$	0,88	0,84	0,79	0,72	0,76	0,86	0,86

TABLEAU 17

BUS

- 39 -

C - PREPARATION DU CHLORHYDRATE DE L'ASPARTYL (β NITROBENZYL ESTER) ASPARTATE (β NITROBENZYL ESTER) DE METHYL OU DU GLUTAMYL (γ NITROBENZYL ESTER) GLUTAMATE (γ NITROBENZYL ESTER) DE METHYL.

1 - Processus expérimental

On dissout 6,32 g de N tertiobutyl oxycarbonyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de methyl 50° (0,01 mole) ou 6,60 g de N tertiobutyl oxycarbonyl glutamyl (γ nitrobenzyl ester) glutamate (γ nitrobenzyl ester) de methyl soit 0,01 mole dans 100 ml de chloroforme distillé. On fait passer un courant de gaz chlorhydrique sec pendant 20 mn. Puis on agite pendant 2 heures. Le chlorhydrate du dimère ne précipite pas.

On évapore le chloroforme sous vide, on obtient une huile. On dissout cette huile dans le méthanol, et on évapore sous vide plusieurs fois, jusqu'à élimination du gaz chlorhydrique. L'huile obtenue est utilisée directement dans l'étape suivante.

2 - Résultats

Seul le chlorhydrate de l'aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de methyl précipite lorsqu'on ajoute de l'éther éthylique anhydre, à sa solution dans l'alcool méthylique. Ce produit a pu être caractérisé.

Masse obtenue : 5,37 g soit un rendement de 94,5 % Analyse élémentaire :

Calculée % C (48,56) ; H (4,43) ; O (30,93) ; N (9,85) ; C1 (6,25) Trouvée % C (47,97) ; H (4,61) ; O (30,87) ; N (10,01) ; C1 (6,09) Point de fusion F = 138 - 140°

 $\begin{bmatrix} \alpha \end{bmatrix} = 2,4^{\circ} \text{ solvant } CH_3 - OH$ $R_{f_1} = 0,73 \qquad R_{f_2} = 0,01$

D - PREPARATION DU N ACYL AS PARTYL (β NITROBENZYL ESTER) AS PARTATE (β NITROBENZYL ESTER) DE METHYL OU DU N ACYL GLUTAMYL (γ NITROBENZYL ESTER) GLUTAMATE (γ NITROBENZYL ESTER) DE METHYL.

1 - Processus expérimental

L'huile obtenue par coupure au moyen du gaz chlorhydrique, de 6,32 g de N tertiobutyl oxycarbonyl aspartyl (β nitrobenzyl ester) aspartate (β nitrobenzyl ester) de methyl soit 0,01 mole ou 6,60 g de N tertiobutyl oxycarbonyl glutamyl (Ynitrobenzyl ester)glutamate (y nitrobenzyl ester) de methyl soit 0,01 mole, est dissoute dans 50 ml de chloroforme anhydre.

On refroidit la solution à 0° C, et on ajoute goutte à goutte 0,025 mole (3,48 ml) de tri éthyl amine, et 0,011 mole (0,78 ml) de chlorure d'acétyle.

On agite pendant 10 mn à 0° C, puis pendant 1 h à température ambiante.

On évapore sous vide le chloroforme, on obtient une huile qu'on dissout dans l'acétate d'éthyle. Le chlorhydrate de triéthyl ammonium précipite ; on filtre, on évapore sous vide le filtrat, et on précipite le dimère au moyen de l'éther de pétrole.

Les dipeptides sont recristallisés dans un minimum d'alcool éthylique bouillant.

Remarque :

Le N acyl aspartyl ($^{\beta}$ paranitrobenzyl ester) aspartate ($_{\beta}$ paranitrobenzyl ester) de methyl est très peu soluble dans l'acétate d'éthyle. Lorsqu'on évapore le chloroforme (solvant de la réaction), on obtient un solide, que l'on purifie une première fois en le lavant à l'eau. Puis on le dissout dans le chloroforme, et on le précipite avec l'éther de pétrole.

2 - <u>Résultats</u>

Tableau 18.

- 41 -

ann - Carl ann an Carl ann	Ac - Asp - OMe	Ac $- \begin{pmatrix} Asp \\ l \\ OmNB \end{pmatrix} OMe$	Ac $-(Asp + OMe)$ (OpNB)	Ac $- \begin{pmatrix} G1u \\ I \\ OoNB \\ 2 \end{pmatrix}$	Ac $- (Glu) - OMe$ $(I) OmNB_2$	Ac $- \begin{pmatrix} G_{1u} \\ I \\ O_{pNB} \\ 2 \end{pmatrix}$	D AC $-G1u$ OMe OMe
Masse obtenue	5,28 g	4,99 g	4,88 g	5,65 g	4,51 g	4,21 g	4,21 g
Rendement	92 %	87 %	85 %	94 %	75 %	70 %	70 %
Analyse élémentaire M. cal : 574,50g 602,56g							
C 52,27 53,82	52,35	52,18	52,35	53,93	53,94	53,50	53,60
н 4,56 5,02	4,47	4,61	4,51	5,12	5,07	5,15	5,05
0 33,42 31,86	33,32	33,05	33,03	31,84	31,74	31,17	31,72
N 9,75 9,30	9,66	9,67	9,60	8,93	8,92	9,12	10,47
Point de fusion	140 - 144	107 [°] - 110 [°]	190 [°] - 191 [°]	131 [°] - 133 [°]	°°° 141 – 143	151 - 153	149 - 151
Spectre U.V. Solvant TMP	ε 261 ⁼¹⁰³⁷⁰	ε 263 ⁼¹⁴⁰⁰⁰	$\frac{\varepsilon}{268,5} = 18810$	$\frac{\varepsilon_{260}}{260}$ =10300	ε ₂₆₂ =14610	εε 268 ⁼¹⁸⁰⁶²	$^{\varepsilon}_{269}$ =19175
$\begin{bmatrix} \alpha \end{bmatrix}$ solvant TMP	- 33,9	- 35,6	- 33,7	- 9,0	- 10,6	- 12,1	+ 10,1
^R f ₁	0,82	0,78	0,78	0,80	0,79	0,81	0,81
R _f 2	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,33	0,33

TABLEAU 18.



- 42 -

APPENDICE II

ETUDE PAR

SPECTROPHOTOMETRIE INFRA-ROUGE

ACETATES DE NITRO BENZYLE

		Ac Oonb	Ac OmNB	Ac OpNB
	C = 0 élongation	1755 (F)	1750 (F)	1745 (F)
FONCTION ESTER	0 - C - C - O - élongation asymétrique	1230 (F)	1235 (F)	1245 (F)
	ا - O - CH ₂ - C - ۱ élongation asymétrique	1045 (F)	1045 (F)	1055 (F)
	= C - H élongation	3030 (f)	3030 (f)	3030 (f)
CYCLE AROMATIQUE		1620 (m) 1585 (m)	1625 (m) 1590 (m)	1610 (F)
	C = C	1470 (f) 1450 (m)	1495 (m) 1450 (m)	1500 (F) 1390 (F)
	Substitution	1170 (f)	1175 (f) 1105 (m)	1260 (F) 1190 (f) 1117 (m) 1020 (m)
	C - H déformation hors du plan	750 (m)	900 (m) 815 (F)	845 (F)
FONCTION -	NO ₂	1535 (F) 1350 (F)	1540 (F) 1360 (F)	1525 (F) 1350 (F)
Liaison C -	- N	870 (m)	840 (m)	870 (F)
Bande Nitro) aromatique	735 (F)	740 (F)	750 (F)

BUS

ASPARTATES DE BENZYLE ET DE NITRO BENZYLE

		H-Asp-OH OBz1	H-Asp-OH OoNB	H-Asp-OH) OmNB	H-Asp-OH J OpNB
	- NH ₃ déformation asymétrique	1600 (m)	1670 (m)	1665 (m)	1685 (m)
ACIDE	+ - NH ₃ déformation symétrique	1515 (f)	1510 (f)	1510 (m)	1525 (m)
AMINE	- CO2 asymétrique	1585 (m)	1595 (f)	1585 (m)	1605 (m)
	- CO_2^- symétrique	1420 (m)	1420 (F)	1405 (F)	1420 (m)
	C - H déformation	1315 (F)	1335 (m)	1325 (m)	1335 (F)
FONCTION	c = 0	1470 (F)	1715 (F)	1740 (F)	1725 (F)
FSTER	- 0 - CH ₂ - C -		1055 (f)	1055 (f)	1060 (f)
101	$ \begin{array}{c} 0 \\ 1 \\ - C \\ - C \\ 1 \end{array} $	1240 (m)	1255 (m)	1260 (m)	1250 (f)
		1604 (m)	1620 (f)	1615 (F)	1610 (m)
	c = c	1585 (m)		1585 (m)	1565 (m)
		1500 (f) 1460 (m)	1580 (m)	1485 (m)	1500 (m)
CYCLE AROMAT IQUE		1230 (m)	1155 (m)	1435 (f)	1400 (m) 1270 (m)
		1170 (F)	1125 (m)	1160 (m)	1160 (m)
	Substitution	1070 (f)	1035 (f)	1090 (m)	1110 (m)
		1025 (m)			1010 (m)
	C - H hore du	700 (1)	a fail a suit a suit a suit again de fair a suit again de fair a suit anna an fair a suit anna an fair an suit	900 (f)	an a
	plan	740 (F)	7 85 (m)	805 (F)	845 (F)
FONCTION -	NO ₂		1545 (F)	1535 (F)	1525 (F)
	2		1345 (F)	1345 (F)	1345 (F)
Liaison C -	N		865 (F)	865 (F)	865 (F)
	o to omo filo 10		795 (T)	745 (E)	740 (F)
GLUTAMATES DE BENZYLE ET DE NITRO BENZYLE

		H-Glu-OH l OBzl	H-Glu-OH l OoNB	H-Glu-OH ¦ OmNB	H-Glu-OH I OpNB
	∓ NH ₃ déformation asymétrique	1660 (m)	1665 (m)	1665 (m)	1665 (m)
ACIDE	+ NH ₃ déformation symétrique	1515 (f)	1525 (m)	1515 (f)	1500 (f)
AMINE	– CO_ asymétrique	1585 (m)	1605 (m)	1600 (F)	1605 (F)
	- CO_2^{-} symétrique	1420 (m)	1420 (m)	1420 (m)	1420 (m)
	CH déformation	1315 (F)	1315 (f)	1310 (m)	1320 (m)
	c = 0	1740 (F)	1730 (F)	1 7 30 (F)	1730 (F)
FONCTION	- C - C - O - 1	1240 (m)	1260 (F)	1255 (f)	1260 (F)
ESTER	- 0 - CH ₂ - C -		1060 (f)	1050 (f)	1060 (f)
		1580 (F)	1620 (m)	1615 (m)	1615 (m)
	C = C		1585 (m)	1485 (f)	1585 (m)
		1515 (m)	1455 (f)	1460 (f)	1505 (f)
CYCLE		1450 (m)	1440 (m)		1410 (F)
AROMAT IQUE		1230 (m)	1280 (f)		1250 (m)
	Substitution	1180 (F)	1155 (m)	1270 (m)	1155 (F)
	Substitution	1080 (m)	1125 (m)		1115 (f)
		1030 (m)	1030 (m)	1090 (m)	1015 (f)
		700 (F)		1050 (f)	
	C - H hors du			890 (f)	
	plan	740 (F)	7 60 (m)	815 (F)	850 (F)
			1535 (F)	1540 (F)	1530 (F)
FONCTION -	NO2		1355 (F)	1350 (F)	1355 (F)
LIAISON C -	N		865 (m)	870 (f)	870 (m)
Bande nitro	aromatique	2°	735 (F)	735 (F)	745 (F)
					885
					UILLE

					8	
	tBOC-Asp-OH	tBOC-Asp-OH	tBOC-Asp-OH	tBOC-Glu-OH	tBOC-Glu-OH	tBOC-Glu-OH
	OBz1	OmNB	OpNB	OoNB	OmNB	OpNB
	3360 (m)	3140 (F)	3440 (F)	3360 (F)	3350 (F)	3380 (F)
	3380 (m)					
FONCTION URETHANE	1660 (F)	1680 (F)	1675 (F)	1690 (F)	1685 (F)	1690 (F)
	1535 (F)	1505 (F)	1520 (F)	1520 (F)	1510 (F)	1520 (F)
CH ₃	1390 (m)	1385 (m)	1385 (m)	1375 (m)	1390 (m)	1380 (m)
CH3 - C - C	1360 (F)	1360 (m)	1370 (m)	1360 (f)	1360 (m)	1350 (F)
CH CH3	1265 (m)	1255 (m)	1260 (F)	1250 (m)	1250 (m)	1260
$\int c = 0$ ESTER	1740 (F)	1755 (E)	1755 (E)	1740 (F)	1740 (F)) 1740 (F)
yc = 0 ACIDE		1740 (F)	1740 (F)	1710 (F)	1710 (F)	
	1500 (f)	1585 (f)	1610 (f)	1620 (f)	1620 (f)	1610 (F)
, U	1460 (m)	1485 (f)	1395 (m)	1580 (m)	1590 (f)	1395 (m)
		2	der ber an fremende af de trage de Para a vertra sender andere segueren en se		1485 (f)	
C - H hors du plan	755 (F)	810 (F)	840 (F)	800 (m)	810 (m)	850 (m)
		1530 (F)	1520 (F)	1535 (F)	1540 (F)	1520 (F)
FONCTION - NO2	in the state of	1355 (F)	1350 (F)	1340 (F)	1360 (F)	1350 (F)
FONCTION C - N		840 (F)	860 (F)	865 (F)	860 (m)	870 (m)
FONCTION NITRO BENZYLIQUE		745 (F)	755 (F)	735 (F)	735 (F)	750 (F)

BUS

	tBOC	tBOC	tBOC	tBOC	tBOC	tBOC	tBOC	tBOC
	Asp - OH DCHA OBz1	Asp - OH, DCHA OoNB	.Asp - OH, DCHA OmNE	Asp - OH, DCHA OPNB	Glu - OH, DCHA OBzl	Glu - OH, DCHA OoNB	Glu - OH, DCHA OmNB	Glu - OH, DCHA ODNB
	3395 (F)	3390 (F)	3400 (m)	3380 (F)	3430 (m)	3480 (F)	3415 (m)	3430 (F)
FONCTION URETHANE	1700 (F)	1695 (F)	3350 (m)	1710 (F)	1730 (F)	1725 (F)	1710 (F)	1730 (F)
	1505 (F)	1500 (F)	1700 (F)	1495 (F)	1500 (F)	1510 (F)	1510 (F)	1510 (F)
	, de Janes de Lande (1997), de la de la de la deservició de la	or a l'internation control part de la casa de la control de la control de la control de la control de la contro	1500 (F)	and the second second of the second				
CH ₃	1385 (m)	1390 (E)	1385 (m)	1380 (m)	1380 (m)	1385 (E)	1395 (m)	1390 (F)
CH ₃ - C	1365 (m)	1365 (m)	1365 (m)	1365 (m)	1370 (m)	1365 (m)	1370 (m)	1370 (m)
CH ₃	1250 (m)	1250 (F)	1250 (m)	1255 (m)	125C (m)	1250 (F)	1250 (F)	1245 (F)
- 000	1635 (F)	1640 (F)	1635 (F)	1635 (F)	1650 (m)	1645 (m)	1635 (F)	1645 (F)
	1420 (m)	1420 (m)	1420 (m)	1420 (m)	1425 (f)	1415 (f)	1410 (E)	1415 (m)
NH2	1565 (F)	1570 (F)	1575 (F)	1580 (F)	1580 (F)	1565 (F)	1565 (F)	1565 (F)
- (CH ₂) ₅	2860 (F)	2860 (F)	2860 (F)	2860 (F)	2865 (F)	2860 (F)	2860 (F)	2860 (F)
	1735 (F)	1740 (F)	1740 (F)	1740 (F)	1740 (E)	1725 (F)	1740 (F)	1750 (F)
x c = 0		1720 (F)	1725 (m)				1725 (F)	
$CYCLE \qquad z = c'$				1610 (m)		1615 (m)		1610 (m)
AROMATIQUE C - H	750 (F)	795 (m)	805 (m)	850 (E)	750 (F)	800 (F)	815 (m)	850 (F)
FONCTION - NO		1530 (F)	1530 (F)	1520 (F)		1535 (F)	1535 (F)	1530 (F)
s de la constante de	 19. Statistics	1340 (F)	1355 (F)	1355 (m)		1340 (F)	1355 (F)	1350 (F)
LIAISON C - N		860 (F)	860 (f)	860 (F)		860 (F)	855 (f)	860 (F)
BANDE NITRO AROMATIQUE		730 (F)	740 (F)	750 (m)		730 (F)	735 (F)	740 (F)
			Contraction of the Contraction o	and and the state of the second s	And the second	a de la companya de	the second se	

BUS

- 47 -

	tBOC-Asp-OMe	tBOC-Asp-OMe UmNB	tBOC-Asp-OMe OpNB	tBOC-Glu-OMe OcNB	tBOC-Glu-OMe	tBOC-Glu-OME OpNB
	3415 (F)	3425 (F)	3415 (F)	3370 (m)	3365 (<i>w</i>)	3365 (F)
FONCTION URETHANE	1710 (F)	3410 (F) 1715 (F)	1715 (F)	1690 (F)	1690 (F)	1685 (F)
	1515 (F)	1510 (F)	1510 (F)	1520 (F)	1515 (E)	1520 (F)
CH ₃	1380 (m)	1390 (m)	13 90 (m)		1385 (f)	ne o contra c
CH3 - C	1365 (m)	1365 (E)	1365 (m)	1365 (f)	1365 (m)	1370 (m)
сн ₃	1260 (m)	1250 (f)	1250 (E)	1255 (f)	1255 (m)	1250 (f)
	1745 (F)	1745 (F)	1745 (F)	1760 (m)	1750 (F)	1750 (F)
C = 0 ester				1750 (F)	1740 (F)	1735 (F)
				1735 (F)		
		1585 (f)	1610 (m)	1620 (f)	1585 (f)	1610 (m)
cACTE $c = c$		1455 (m)	1460 (m)	1580 (f)		
ARCMATIQUE C - H	755 (F)	820 (F)	845 (F)	800 (m)	810 (m)	840 (m)
		1530 (F)	1525 (F)	1535 (F)	1525 (F)	1520 (F)
FUNCTION - NO_2		1355 (F)	1350 (F)	1340 (F)	1355 (F)	1350 (F)
LIAISON - N		850 (m)	855 (F)	865 (m)	865 (m)	860 (m)
Bande nitro aromatique		740 (F)	740 (F)	735 (F)	740 (F)	740 (m)

			OWe	0				and the second sec	
		435-7, 108 1982 - 108	HCI , H-Asp Oove		H - H - C - H - H - C - H - H - C - H		HC2 H-C214	n s n 1 1 0 4 1 0 4	
	n	Annaho Sanaha Marina and Annaha Sanaha Sanaha Sanaha	Succession and	i contractor	ine de pice		10 em et	harversearanne an had	
- van soon all and all all all all all all all all all al		(4) £207	(@) 069T	(m) 026T		(~) 000Z	2 02 0 (B)	(v) 066	2000 ().
1		1400 (E)	[1480 (F)		1300 (E)	(m) 0801	(T) (T) (T)	(%) (%) (%)	(m) 06% 5
יביר (מופשי את היו שיי יודה ערייה) איש אוא עישיאנע היי מישי או ערייה או אישר אונער און אישר און אינער איז איש אווי אישר און אישר אווי אישר און אישר אווי אישר אווי אישר אוויער אווין אישר אוויער אוויער אוויער אוויער אוויער א			A (1964 - 1996 - 1972 - 1974 - 197	and the second se	Construction of the Distribution of the Dis	1:10 (F)	1310 (E)		1500 (%)
1		1760 (F)		145 (P)					
8 0 1 1	¥ t t t t	1740 (F)	1745 (F)	1720 (F)	1750 (E)		1735 (F)	1755 (P)	1740 (F)
		1600 (f)	1610 (m)	161 5 (m)	1610 (m)	800 (m)	1615 (m)		
CYCLE) 	1460 (m)	[1580 (m)	1585 (m)				-	1610 (m)
				1480 (f)		1505 (E)	1580 (m)		
AROWAT IQUE	C ·	760 (F)	(4) 562	810 (F)	820 (F)	730 (F)	805 (F)	810 (n)	845 (F)
			152.6 (F)	1530 (F)	1520 (F)		1525 (F)	1535 (F)	1525 (P)
FONCETON -	NO ₂		1360 (m)	1350 (F)	1350 (F)		1335 (F)	1350 (F)	1350 (F)
LIAISON C	ų M		850 (F)	845 (F)	860 (F)		860 (F)	870 (F)	865 (F)
Bande ni ' r	co aromatique	-	730 (F)	740 (F)	750 (F)		740 (F)	730 (F)	740 (F)

~ 49 -

		Ac-Asp-OMe 1 OBz1	Ac-Asp-OMe	Ac-Asp-OMe	Ac-Asp-OMe OpNB	Ac-Glu-OMe 1 OBzl	Ac-Glu-OMe OoNB	Ac-Glu-OMe OmNB	Ac-Glu-OMe ODNB
	Amide A	3325 (m)	3315 (F)	3330 (F)	3300 (F)	3335 (F)	3320 (F)	3310 (F)	3295 (F)
		3285 (m)							
FONCTION	Amide B	3100 (f)	3090 (m)	3100 (m)	3080 (m)		3120 (f)	3100 (m)	3120 (f)
AMIDE	Amide I	1665 (F)	1645 (F)	1650 (F)	1645 (F)	1655 (F)	1665 (F)	1665 (F)	1650 (F)
		1650 (E)							· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
	Amide II	1560 (F)	1555 (F)	1550 (E)	1550 (F)	1535 (F)	1540 (F)	1540 (F)	1550 (F)
ہ ا س						1755 (F)	1760 (F)	1760 (F)	1755 (E)
	rer	1740 (F)	1735 (F)	1740 (F)	1740 (F)	1735 (F)	1740 (F)	1740 (F)	1740 (F)
		1510 (f)	1620 (m)	1605 (f)	1610 (m)	1595 (f)	1620 (m)	1590 (f)	1615 (m)
CICITR	, [,] , [,]		1585 (m)	1590 (f)	1365 (E)	1500 (f)	1580 (m)	1490 (f)	
AROMAT IQUE				1485 (f)	1505 (E)				
	С – Н	765 (F)	800 (F)	805 (m)	850 (m)	765 (F)	800 (F)	810 (F)	815 (F)
			1535 (F)	1535 (F)	1515 (F)		1540	1540 (F)	1530 (F)
N NOT TONO J	67		1345 (F)	1355 (F)	1355 (F)		1345 (F)	1355 (F)	1350 (F)
LIAISON C	N		860 (F)	850 (f)	860 (F)		865 (F)	845 (f)	855 (F)
Bande nitre arom	en e		740 (F)	740 (F)	745 (F)		735 (F)	740 (F)	755 (F)
	And and a second se							and the second	Contraction of the second se

- 50 -

·

	•	$tBOC - \begin{pmatrix} Asp \\ h \\ OcNB_2 \end{pmatrix} - OMe_1$	tBOC-(Asp)-OMe	tBOC- Asp OpNB2	$tBOC - \begin{pmatrix} G_1 u \\ 0 & OME \end{pmatrix} - OME$	$tBOC - \left(GI u \right) - OMe \left(Ombol B \right)$	$tBOC \left(\begin{array}{c} G_{1} u \\ I \\ OpNB \end{array} \right) - OMe$
		3440 (F) 3390 (F)	3440 (m)	1. 1. 1.		3400 (m)	
FONCTION UF	RETHANE	1690 (F)	1700 (F)	1680 (F)	1680 (F)	1710 (F)	1690 (F)
- CH ₃	m	1390 (m)	1390 (m)	1395 (f)	1395 (m)	1395 (f)	
cH ³ - C	K	1365 (m)	1375 (m)	1360 (m)	1375 (m)	1375 (m)	
сн ³	~	1260 (m)	1260 (m)	1260 (m)	1270 (m)	1270 (m)	
	Amide A		3320 (m)	3310 (F)	3320 (F)	3340 (m)	3340 (F)
FONCTION	Amide B	3100 (m)	3080 (f)	3080 (f)		3080 (f)	3090 (f)
AMIDE	Amide I	1660 (E)	1650 (F)	1650 (F)	1670 (F)	1670 (F)	1670 (F)
	Amide II	1550 (E)		1545 (F)	1550 (E)		1550 (E)
" ""	= 0 ester		1760 (F)		.1740 (F)	1745 (F)	1750 (F)
~		1740 (F)	1740 (F)	1735 (F)	1730 (F)	1735 (F)	1735 (F)
		1620 (m)	1590 (f)	1605 (m)	1620 (m)	1595 (f)	1615 (m)
CYCLLE	ວ "	1585 (m)	*******		1585 (m)		
AROMAT VE	H I U	795 (F)	810 (F)	850 (F)	800 (F)	810 (m)	850 (m)
		1525 (F)	1540 (F)	1520 (F)	1535 (F)	1540 (F)	1530 (F)
ONCTION -	NO2	1350 (F)	1360 (F)	1350 (F)	1350 (F)	1355 (F)	1355 (F)
LIAISON C	N	870 (F)	860 (f)	860 (m)	865 (F)	860 (f)	860 (F)
) Bande Nitro	o benzylique	740 (F)	740 (F)	735 (F)	740 (F)	740 (F)	740 (F)

- 51 -

		HC1, H $- \begin{pmatrix} Asp \\ l \\ OpNB \end{pmatrix}$ OMe
+		1570 (m)
- NH ₃		1480 (m)
		3460 (m)
		1695 (F)
LIAISON AMID	E	1680 (F)
		1650 (f)
		1550 (f)
C = 0 ester		1750 (F)
CYCLE	C = C	1610 (m)
AROMAT IQUE	С – Н	840 (m)
FONCTION -	NO.	1530 (F)
	2	1350 (F)
LIAISON C -	N	860 (m)
Bande nitro	benzylique	740 (m)

		Ac-(Asp)-OMe (00NB)2	$Ac - \begin{pmatrix} Asp \\ OmNB_2 \end{pmatrix} - OMe$	Ac-(Asp)-OMe	$Ac - \begin{pmatrix} G_{1}u \\ 0 & 0 \end{pmatrix} OMe$	Ac-(Glu)-OMe	Ac $- \begin{pmatrix} G_1 u \\ 0 \end{pmatrix} - OMe \\ OpNB_2 \end{pmatrix}$
	Amide A	3300 (F) 3280 (F)	3290 (m)	3360 (F) 3300 (F)	3280 (F)	3290 (F)	3290 (F)
LIAISON	Amíde B	3090 (m)	(J) 0608	3120 (f) 3090 (f)	3080 (f)	3080 (m)	3090 (f)
AMIDE	Amide I	1650 (F)	1650 (F)	1630 (F) 1650 (m)	1650 (F)	1640 (F)	1650 (F)
	Amide II	1530 (m)		1550 (m)	1550 (F)	1550 (E)	1550 (E)
	stor	1755 (F) 1745 (F)	1740 (F)	1750 (F) 1740 (F)	1740 (E) 1730 (F)	1760 (F) 1735 (F)	1740 (F)
CYCLE		1620 (m) 1580 (m)	590 (f)	1610 (m)	1620 (m) 1580 (m)	1595 (f)	1615 (m)
AROMAT LQUE	H I O	800 (F)	810 (m)	845 (F)	795 (F)	820 (F)	845 (m)
FONCTION	10.3	1535 (F) 1350 (F)	1540 (F) 1355 (F)	1525 (F) 1350 (F)	1530 (F) 1350 (F)	1535 (F) 1360 (F)	1530 (F) 1355 (F)
Liaison C	N	870 (m)	860 (f)	865 (F)	865 (m)		860 (F)
Eie nitro t	oenzyligue	740 (F)	740 (F)	740 (F)	735 (F)	740 (F)	740 (F)

- 53 -





Figure A-1





Figure A-2













Figure A-5





Pigure A-6





BIBLIOGRAPHIE

1	-	M.H. LOUCHEUX, S. GRAFF, C.R. Acad. Sci. 269 1509-1512 (1969)
2	-	P. LE BARNY, M.H. LOUCHEUX LEFEBVRE, Biopolymers 12 2831-2852 (1973).
3	-	M.H. LOUCHEUX, C. DUFLOT, Biopolymers 12 121 (1973)
4	-	M. DELPORTE-LEROY, P. LE BARNY, M.H. LOUCHEUX, Macromolecules <u>6</u> 780 (1973).
5	-	J.B. ARAGAO, M.H. LOUCHEUX, J. Chim. Phys. 1578-1584 (1974).
6	-	M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, A. FORCHIONI, C. DUFLOT, Polymer <u>15</u> 474-478 (1974).
7	-	M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, C. DUFLOT, G. WEILL, Biopolymers <u>14</u> 469-485 (1975).
8	-	J.F. YAN, G. VANDERKOOI, H.A. SCHERAGA, J. Chem. Phys. <u>46</u> 4410-4426 (1967).
9	-	"The Peptides" Eberhard SCHRÖDER et Klaus LÜBKE Volume 1 Academic Press
		New York and London (1965).
10	-	"Peptides Synthesis" Miklos BODANSZKY et Miguel A. ONDETTI Interscience
		Publishers (1966).
11		"Peptides et acides aminés" Kenneth D. KOPPLE Edition française : A. BRACK,
		G. SPACH, E. BRICAS, Ediscience p. 43-94 1968.
12	-	M. FRIDKIN and A. PATCHORNIK Annual Review of Biochemistry 43 419-443
		(1974).
13	-	J.C. SHEEHAN and G.P. HESS, J.A.C.S. 77 1067 (1955).
14	canet?	YARON A., TAL (Turkeltaub) N. and BERGER A., Biopolymers 11 2461 (1972).
15	-	J.P. GREENSTEIN, M. WINITZ "Chemistry of the amino acids" J. WILEY and Sons
		ed., New-York - London p. 1948 et p. 2230 (1961).
16	-	N. HELBECQUE Thèse Lille (1972).
17	-	F.C. STEWART and R. LEDGER, Aust. J. Chem. <u>18</u> 1477 (1965).
18	-	M.H. LOUCHEUX et J. PARROD, C.R. Acad. Sci. Paris 267 614 (1968).
19	-	J.M. STEWART and J.D. YOUNG "Solid Phase Peptide Synthesis" FREEMAN and Co,
		San Francisco (1969).
20	1	J. HALSTRØM, O. SCHOV, K. KOVACS et K. BRUNFELDT, Hoppe-Seyler's
		Z. Physiol. Chem. <u>351</u> 1576 (1970).
21	-	J.P. GREENSTEIN, M. WINITZ, "Chemistry of the amino acids" J. WILEY and Sons
		ed., New-York - London p. 2033 (1961).
22	-	L.A. CARPINO, J.A.C.S. <u>79</u> 98-101 (1957).
23	-	L.F. FIESER, M. FIESER, "Organic Chemistry" Reinhold pub. corporation,
		New-York, Chapman and Hall Ltd London p. 235 (1956).
24	-	E.M. BRADBURY, L. BROWN, A.R. DOWNIE, A. ELLIOIT et W.E. HANBY, Proc. Roy.
		Soc. (London) <u>A. 259</u> 110 (1960).
25	-	G.N. RAMACHANDRAN, C. RAMAKRISHNAN, V. SASISEKHARAN, J. MOI. BIOL. 7 95

(1963).

- 26 S.J. LEACH, G. NEMETHY, H.A. SCHERAGA, Biopolymers, 4 369 (1966).
- 27 G. NEMETHY, H.A. SCHERAGA, Biopolymers 3 155 (1965).
- 28 G. VANDERKOOI, S.J. LEACH, G. NEMETHY, R.A. SCOTT, H.A. SCHERAGA, Biochemistry 5 2991 (1966).
- 29 P. De SANTIS, E. GIGLIO, A.M. LIQUORI, A. RIPAMONTI, Nature 206 455 (1965).
- 30 H.A. SCHERAGA, R.A. SCOTT, G. VANDERKOOI, S.J. LEACH, K.D. GIBSON, T. OOI,
 G. NEMETHY, Conformation of Biopolymers, G.N. RAMACHANDRAN Volume 1 43
 Academic Press London.
- 31 Statistical Mechanics of chain molecules P.J. FLORY, Interscience New York (1969).
- 32 Advances in Protein Chemistry G.N. RAMACHANDRAN, V. SASISEKHARAN 23 283 (1968) Academic Press London.
- 33 E.M. POPOV, V.D. DASHEVSKII, G.M. LIPKIND, S.F. AZKHIPOVA, Mol. Biol. (URSS) 2 612 (1968).
- 34 E.M. POPOV, G.M. LIPKIND, S.F. AZKHIPOVA, V.G. DASHEVSKII, Mol. Biol. (URSS) 2 622 (1968).
- 35 R. HOFFMANN, J. Chem. Phys. 39 1397 (1963).
- 36 J.A. POPLE, G.A. SEGAL, J. Chem. Phys. 43 S 136 (1965).
- 37 J.A. POPLE, G.A. SEGAL, J. Chem. Phys. 44 3289 (1966).
- 38 S. DINER, J.P. MALRIEV, P. CLAVERIE, Theor. Chim. Acta, 13 1 (1969).
- 39 J.P. MALRIEV, P. CLAVERIE, S. DINER, Theor. Chim. Acta, 13 18 (1969).
- 40 The Conformation of Biological Molecules and Polymers, B. PULLMAN (Ed.
- Bergmann and B. Pullman Eds) Academic Press, New York p. 13 (1973).
- 41 B. PULLMAN, A. PULLMAN, Adv. in Protein Chemistry 28 347-526 (1974).
- 42 M. AVIGNON, P.V. HUONG, J. LASCOMBE, M. MARRAUD, J. NEEL, Biopolymers <u>8</u> 69 (1969).
- 43 B. MAIGRET, B. PULLMAN, M. DREYFUS, J. Theor. Biol. 26 321 (1970).
- 44 R. HOFFMANN, A. IMAMURA, Biomolymers 7 207 (1969).
- 45 J.T. EDSALL, P.J. FLORY, J.C. KENDREW, A.M. LIQUORI, G. NEMETHY,
 - G.N. RAMACHANDRAN, H.A. SCHERAGA, Biopolymers 4 121 (1966).
- 46 R.G.C. ARRIDGE, C.G. CANNON, Proc. Roy. Soc. (London) A 278 91 (1964).
- 47 D.A. BRANT, P.J. FLORY, J.A.C.S. 87 663 (1965).
- 48 D.A. BRANT, P.J. FLORY, J.A.C.S. 87 2791 (1965).
- 49 T. OOI, R.A. SCOTT, G. VANDERKOOI, H.A. SCHERAGA, Nature 214 363 (1967).
- 50 Electronic Aspect of Biochemistry DEL RE Academic Press N.Y. (Editeur Pullman) 221 (1964).
- 51 H. BERTHOD, A. PULLMAN, J. Chim. Phys., 62 942 (1965).

- 52 Symetry and Function of biological systems at the macromolecular level. A.M. LIQUORI (Editeurs A. ENGSTROM, B. STRANDBERG) A. Linquist and Wiksell Stockholm 101 (1969).
- 53 W.G. MOULTON, R.A. KROMHOUT, J. Chem. Phys. 25 34 (1956).
- 54 R.A. SCOTT, H.A. SCHERAGA, J. Chem. Phys. 45 2091 (1966).
- 55 D. POLAND, H.A. SCHERAGA, Biochemistry 6 3791 (1967).
- 56 E. RALSTON, J.L. DE COEN, J. Mol. Biol. 83 393-420 (1974).
- 57 M.L. MARTIN, G.J. MARTIN, Manuel de Résonance Magnétique Nucléaire AZOULAY Editeur Paris 91 - 139 (1971).
- 58 D.W. URRY, M. OHNISHI, Nuclera Magnetic resonance and the conformation of cyclic polypeptide antibiotics. Spectroscopic Approches to biomolecular conformation. Edited by D.W. URRY 263-299 (1970).
- 59 V.F. BYSTROV, S.L. PORTNOVA, V.I. TSETLIN, V.T. IVANOV, Y.A. OVCHINNIKOV, Tetrahedron 25 493-515 (1969).
- 60 V.F. BYSTROV, S.L. PORTNOVA, T.A. BALASHOVA, V.I. TSETLIN, V.T. IVANOV, P.V. KOSTETZKY, Y.A. OVCHINNIKOV, Tetrahedron Letters <u>59</u> 5225-5228 (1969).
- 61 W.A. GIBBONS, G. NEMETHY, A. STERN, L.C. CRAIG, Proceedings of the National Academy of Sciences 67 n° 1 239-246 (1970).
- 62 M.T. CUNG, M. MARRAUD, J. NEEL, Ann. Chim. 7 183-209 (1972).
- 63 P. GUPTA-BHAYA, Biopolymers 14 1143-1160 (1975).
- 64 M. KARPLUS, J.A.C.S. 85 2870 (1963).
- 65 M. KARPLUS, J. Chem. Phys. 30 11 (1959).
- 66 G.N. RAMACHANDRAN, R. CHANDRASEKARAN, K.D. KOPLE, Biopolymers <u>10</u> 2113 (1971).
- 67 T.A. BALASHOVA, Y.A. OVCHINNIKOV, Tetrahedron 29 873 (1973).
- 68 M. BARFIELD, H.L. GEARHART, J.A.C.S. 95 641 (1973).
- 69 M. KARPLUS, J. Chem. Phys. 33 1842 (1960).
- 70 F.A. BOVEY, J. Polymer Science Macromolecular reviews 9 1-81 (1974).
- 71 K.D. KOPLE, G.R. WILEY, R. TAUKE, Biopolymers 12 627 (1973).
- 72 F.A. BOVEY, High Resolution NMR of Macromolecules Academic Press New-York 247-336 (1972).
- 73 V.J. HRUBY, Chemistry and Biochemistry of Amino acids, Peptides and Proteins, vol. 3 B. WEINSTEIN Ed. Marcel Dekker New-York (1974).
- 74 G.C.K. ROBERTS, C. JARDETZKY, Adv. Protein Chem. 24 447 (1970).
- 75 J.J.M. ROWE, J. HINTON, K.L. ROWE, Chem. Rev. 70 1 (1970).
- 76 M.S. GOPINATHAN, P.T. NARASIMHAN, Mol. Phys. 22 473-481 (1971).
- 77 M.S. GOPINATHAN, P.T. NARASIMHAN, Mol. Phys. 21 1141-1144 (1971).
- 78 T. YONEZAWA, I. MORISHIMA, K. FUKUTA, V. DHMORI, J. Mol. Spectrosc. <u>31</u> 341-345 (1960).

- 79 H. SUZUKI, Electronic absorption spectra and geometry of organic molecules. Academic Press New-York - London 464-473 (1967).
- 80 H. SUZUKI, Electronic Absorption spectra and geometry of organic molecules. Academic Press New-York - London 463-464 (1967).
- 81 C. TONOLIO, M.L. FAIXA, M. GOODMAN, Biopolymers 6 1579 (1968).
- 82 B.M. WEPSTER, Rec. Trav. Chim. 76 335 (1957).
- 83 J. BURGERS, M.A. HOEFNAGEL, P.E. VERKADE, H. VISSER, B.M. WEPSTER, Rec. Trav. Chim. 77 491 (1958).
- 84 B.M. WEPSTER "Progress in stereochemistry 2". W. Klyne and P.B.D. de la Mare Butterworths London 99 (1958).
- 85 E.A. BRAUDE, F. SONDHEIMER J. Chem. Soc. 3574 (1955).
- 86 H. KOFOD, L.E. SUTTON, P.E. VERKADE, B.M. WEPSTER, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 78 790 (1959).
- 87 C.P. CONDUIT, J. Chem. Soc. 3273 (1959).
- 88 A. VAN VEEN, P.E. VERKADE, B.M. WEPSTER, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 76 801 (1957).
- 89 P.C. LAUTERBUR, J. Chem. Phys. 38 1432 (1963).
- 90 W.R. REMINGTON, J.A.C.S., 67 1838 (1945).
- 91 W.G. BROWN, H. REAGAN, J.A.C.S., 69 1032 (1947).
- 92 W.F. FORBES, Can. J. Chem. 36 1350 (1958).
- 93 S. NAGAKURA, M. KOJIMA, Y. MARUYAMA, J. Mol. Spectrosc. 13 174 (1964).
- 94 K.J. WATSON, Nature 188 1102 (1960).
- 95 H. FARADAY, Phil. Trans. <u>3</u> 20 (1846).
- 96 A.D. BUCKINGHAM, P.J. STEPHENS, Ann. Rev. Phys. Chem. 17 399 (1966).
- 97 A.S. DAVIDOV, Quantum Mechanics Pergamon Press Oxford 135 (1965).
- 98 C. THIRION, Thèse de Doctorat ès-Sciences, Université de Nancy (1974).
- 99 B. PULLMAN, A. PULLMAN, Advances in Protein chemistry 28 347-526 (1974).

100 - M.J.S. DEWAR, Science 187 1037-1044 (1975).

- 101 E.M. BRADBURY, B.G. CARPENTER, C. CRANE-ROBINSON, H. GOLDMAN, Macromolecules 4 n° 5 557-564 (1971).
- 102 K.G.R. PASCHLER, Spectrochim Acta 20 581 (1934).
- 103 V.L. ROSENFELD, Z. Phys. 52 161-174 (1928).
- 104 J.G. KIRKWOOD, J. Chem. Phys. 5 479-491 (1937).
- 105 E.V. CONDON, W. ALTAR, H. EYRING, J. Chem. Phys. 5 753-775 (1937).
- 106 W. MOFFITT, J. Chem. Phys. 25 467-478 (1956).
- 107 P.M. BAYLEY, E.B. NIELSEN, J.A. SCHELLMAN, J. Phys. Chem. <u>73</u> 228-243 (1969).

- 108 H.H. JAFFE, M. ORCHIN, Theory and applications of ultra violet spectroscopy John Wiley and Sons Inc. 179 (1962).
- 109 H.H. JAFFE and M. ORCHIN, Theory and applications of ultra violet spectroscopy, John Wiley and Sons, Inc. (1962), p. 105-110.
- 110 H. SUZUKI, Electronic Absorption Spectra and geometry of organic molecules Academic Press New-York - London (1967) p. 429-432.
- 111 H. ITO, Y. NOGATA, S. MATSUZAKI and A. KUBOYAMA, Bulletin of the chemical Society of Japan 42 2453-2458 (1969).
- 112 W.D. CLOSSON, P. HAUG, J.A.C.S. 86 2384 (1964)
- 113 W.B. GRATZER, Poly & amino acids volume 1 G.D. FASNFAN, M. DEKKER. Inc. New-York 179 (1967).
- 114 M. GOPPERT-MAYER, A.L. SKLAR, J. Chem. Phys. 6 645 (1938).
- 115 J.R. PLATT, J. Chem. Phys. 17 484 (1949).
- 116 M. LEGRAND, R. VIENNET, Bulletin de la Société Chimique de France, p. 679 p. 681 (1964).
- 117 R.D. ANAND, M.K. HARGREAVES, Chem. Commun. p. 421 et 422 (1967).
- 118 R.D. ANAND, M.K. HARGREAVES, Chem. Commun. p. 880 (1968).
- 119 J.C. CRAIG, W.E. PEREIRA, Tetrahedron Letters 18 p. 1563 à 1565 (1970).

120 - J.C. CRAIG, W.E. PEREIRA, Tetrahedron 26 p. 3457-3460 (1970).

- 121 C. TONOLIO, J. Phys. Chem. 74 6 1390-1392 (1970).
- 122 P.A. SNYDER, P.M. VIPOND, W. JOHNSON, Biopolymers 12 975 (1973).
- 123 D.B. WETLAUFER, Adv. in protein Chemistry 17 303 (1962).
- 124 M. LEGRAND, R. VIENNET, Bull. Soc. Chim. France 9 2798 (1966).
- 125 L.I. KATZIN, E. GULYAS, J.A.C.S. 90 247 (1968).
- 126 T.M. HOOKER, J.A. SCHELLMAN, Biopolymers 9 1319-1348 (1970).
- 127 M. GOODMAN, A.S. VERDINI, C. TONOLIO, W.D. PHILIPS, A.F. BOVEY, Proc. Nat. Acad. Sci. US 64 444 (1969).
- 128 G.M. BONORA, C. TONOLIO, Biopolymers 13 2179-2190 1974.
- 129 C. TONOLIO, E. PEGGION, G.M. BONORA, M. PALUMBO, Bioorganic Chemistry <u>3</u> 125-132 (1974).
- 130 P.M. BAILEY, Progress in Biophysics and Molecular Biology 27 3-76 (1973).
- 131 J.F. YAN, G. VANDERKOOI, H.A. SCHERAGA, J. Chem. Phys. 49 2713 (1968).
- 132 D.N. SILVERMAN, H.A. SCHERAGA, Biochemistry 10 1340-1347 (1971).
- 133 A.I. VOGEL " A text book of Practical Organic Chemistry including qualitative organic analysis" Longman p. 381 (1956).
- 134 J.A.C.S. 38 1077 (1916).
- 135 Synthèse Organique Volume II Masson et Cie editeurs p. 277 (1949).