

N° d'ordre : 1207

50376
1984
171

50376
1984
171

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR TROISIEME CYCLE

par

Jean - Luc DELARUELLE



**ETUDE DE LA COMPLEXATION D'AMINO ACIDES ET DE
PEPTIDES PORTANT UNE FONCTION THIOETHER
PAR DES CATIONS METALLIQUES**

Soutenu le 9 octobre 1984 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury :	H. SLIWA	Président
	C. LOUCHEUX	Rapporteur
	B. DECOCK-LE REVEREND	Membre
	A. GARNIER	Membre
	H. KOZLOWSKI	Membre

DOYENS HONORAIRES DE L'ANCIENNE FACULTE DES SCIENCES

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

PROFESSEURS HONORAIRES DES ANCIENNES FACULTES DE DROIT
ET SCIENCES ECONOMIQUES, DES SCIENCES ET DES LETTRES

MM. ARNOULT, Mme BEAUJEU, BONTE, BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, CORSIN, DECUYPER, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P. GERMAIN, GLACET, GONTIER, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOURGANOFF, LAMOTTE, LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUELLE, SAVARD, SCHILTZ, WATERLOT, WIEMAN, ZAMANSKI.

PROFESSEUR EMERITE

M. A. LEBRUN.

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

MM. R. DEFRETIN, M. PARREAU, J. LOMBARD, M. MIGEON.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE LILLE

M. J. CORTOIS.

PROFESSEURS - CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. MONTREUIL Jean	Biochimie
M. PARREAU Michel	Analyse
M. TRIDOT Gabriel	Chimie appliquée
M. VIVIER Emile	Biologie cellulaire
M. WERTHEIMER Raymond	Physique atomique et moléculaire

PROFESSEURS - 1ère CLASSE

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS Jean Pierre	Chimie physique
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BILLARD Jean	Physique du solide
M. BOILLY Bénoni	Biologie

M. BOUGHON Pierrè	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie végétale
M. BREZINSKI Claude	Analyse numérique
M. CELET Paul	Géologie générale
M. CHAMLEY Hervé	Géotechnique
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des entreprises
M. DYMENT Arthur	Mécanique
M. ESCAIG Bertrand	Physique du solide
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOCT Jacques	Métallurgie
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences économiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. LABLACHE COMBIER Alain	Chimie organique
M. LACOSTE Louis	Biologie végétale
M. LAVEINE Jean-Pierre	Paléontologie
M. LEHMANN Daniel	Géométrie
Mme LENOBLE Jacqueline	Physique atomique et moléculaire
M. LHOMME Jean	Chimie organique biologique
M. LOMBARD Jacques	Sociologie
M. LOUCHEUX Claude	Chimie physique
M. LUCQUIN Michel	Chimie physique
M. MAILLET Pierre	Sciences économiques
M. PAQUET Jacques	Géologie générale
M. POUZET Pierre	Analyse numérique
M. PROUVOST Jean	Minéralogie
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie animale
M. SALMER Georges	Electronique
M. SEGUIER Guy	Electrotechnique
M. STANKIEWICZ François	Sciences économiques
M. TILLIEU Jacques	Physique théorique
M. VIDAL Pierre	Automatique
M. ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS - 2ème classe

M. AL FAKIR Sabah	Algèbre
M. ALLAMANDO Etienne	Electronique et électrotechnique
M. ANCIAN Bernard	Spectrochimie
M. ANTOINE Philippe	Analyse
M. BART André	Biologie animale
Mme BATTIAU Yvonne	Géographie
M. BEGUIN Paul	Mécanique
M. BELLET Jean	Physique atomique et moléculaire
M. BERZIN Robert	Analyse
M. BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BODARD Marcel	Biologie végétale
M. BOIVIN Jean-Claude	Chimie minérale
M. BONNELLE Jean-Pierre	Catalyse
M. BOSCO Denis	Probabilités
M. BOUQUELET Stéphane	Biochimie structurale
M. BRASSELET Jean-Paul	Géométrie et topologie

M. BRIDOUX Michel	Chimie physique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CAPURON Alfred	Biologie animale
M. CARREZ Christian	Informatique
M. CHAPOTON Alain	Electronique
M. COQUERY Jean-Marie	Psychophysiologie
Mme CORSIN Paule	Paléontologie
M. CORTOIS Jean	Physique nucléaire et corpusculaire
M. COUTURIER Daniel	Chimie organique
M. CRAMPON Norbert	Hydrogéologie et environnement
M. CROSNIER Yves	Electronique
Mlle DACHARRY Monique	Géographie
M. DAUCHET Max	Informatique
M. DEBRABANT Pierre	Géologie appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie animale
M. DE MASSON D'AUTUME Antoine	Sciences économiques
M. DEMUNTER Paul	Sociologie
M. DENEL JACQUES	Informatique
M. DE PARIS Jean-Claude	Analyse
M. DEPREZ Gilbert	Physique du solide et cristallographie
M. DERIEUX Jean-Claude	Microbiologie
Mlle DESSAUX Odile	Spectroscopie de la réactivité chimique
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie minérale
M. DHAINAUT André	Biologie animale
Mme DHAINAUT Nicole	Biologie animale
M. DORMARD Serge	Sciences économiques
M. DOUKHAN Jean-Claude	Physique du solide
M. DUBOIS Henri	Spectroscopie hertzienne
M. DUBRULLE Alain	Spéctroscopie hertzienne
M. DUBUS Jean-Paul	Spectrométrie des solides
M. DUPONT Christophe	Vie de la firme (I.P.A.)
Mme EVRARD Micheline	Chimie appliquée
M. FONTAINE Hubert	Dynamique des cristaux
M. FOUQUART Yves	Optique atmosphérique
M. FOURNET Bernard	Biochimie structurale
M. FRONTIER Serge	Ecologie numérique
M. GAMBLIN André	Géographie urbaine, industrielle et démographie
M. GLORIEUX Pierre	Physique moléculaire et rayonnements atmosphériques
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GREMY Jean-Paul	Sociologie
M. GREVET Patrick	Sciences économiques
M. GUILBAULT Pierre	Physiologie animale
M. HENRY Jean-Pierre	Génie mécanique
M. HERMAN Maurice	Physique spatiale
M. HOUDART René	Physique atomique et moléculaire
M. JACOB Gérard	Informatique
M. JACOB Pierre	Probabilités et statistiques
M. JACQUILLAT Bertrand	Gestion
M. JEAN Raymond	Biologie des populations végétales
M. JOFFRE Patrick	Vie de la firme (I.P.A.)
M. JOURNEL Gérard	Spectroscopie hertzienne
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LANGRAND Claude	Probabilités et statistiques

Mme LECLERCQ Ginette	Catalyse
M. LEFEVRE Christian	Pétrologie
Mlle LEGRAND Denise	Algèbre
Mlle LEGRAND Solange	Algèbre
Mme LEHMANN Josiane	Analyse
M. LEMAIRE Jean	Spectroscopie hertzienne
M. LE MAROIS Henri	Vie de la firme (I.P.A.)
M. LEROY Jean Marie	Chimie appliquée
M. LEROY Yves	Electronique, électrotechnique, automatique
M. LESENNE Jacques	Electrotechnique
M. LHENAFF René	Géographie
M. LOCQUENEUX Robert	Physique théorique
M. LOSFELD Joseph	Informatique
M. LOUAGE Francis	Electronique
M. MACKE Bruno	Physique moléculaire et rayonnements atmosphériques
M. MAHIEU Jean-Marie	Physique atomique et moléculaire
M. MAIZIERES Christian	Automatique
M. MESMACQUE Gérard	Génie mécanique
M. MESSELYN Jean	Physique atomique et moléculaire
M. MESSERLIN Patrick	Sciences économiques
M. MIGNOT Fulbert	Analyse numérique
M. MONTEL Marc	Physique du solide
M. MONTUELLE Bernard	Biologie et biochimie appliquées
Mme MOUNIER Yvonne	Physiologie des structures contractiles
Mme N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. NICOLE Jacques	Chimie analytique
M. NOTELET Francis	Electronique, électrotechnique, automatique
M. PARSY Fernand	Mécanique
M. PASZKÓWSKI Stéphan	Analyse numérique
Mlle PAUPARDIN Colette	Biologie physiologie végétales
M. PECQUE Marcel	Chimie organique
M. PERROT Pierre	Chimie appliquée
M. PERTUZON Emile	Physiologie animale
M. PETIT Francis	Chimie organique, minérale et analytique
M. PONSOLLE Louis	Chimie physique
M. PORCHET Maurice	Biologie animale
M. POVY Lucien	Automatique
M. RACZY Ladislas	Electronique
M. RAOULT Jean-François	Géologie structurale
M. RICHARD Alain	Biologie animale
M. RIETSCH François	Physique des polymères
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROY Jean-Claude	Psychophysiologie
M. SCHAMPS Joël	Spectroscopie moléculaire
Mme SCHWARZBACH Yvette	Géométrie
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SLIWA Henri	Chimie organique
M. SOMME Jean	Géographie
Mlle SPIK Geneviève	Biochimie
M. STERBOUL François	Informatique
M. TAILLIEZ Roger	Génie alimentaire
M. THERY Pierre	Electronique, électrotechnique, automatique
M. TOULOTTE Jean-Marc	Automatique
M. TURREL Georges	Spectrochimie infrarouge et Raman
M. VANDORPE Bernard	Chimie minérale
M. VAST Pierre	Chimie inorganique
M. VERBERT André	Biochimie
M. VERNET Philippe	Génétique
M. VILETTE Michel	Résistance des matériaux

M. WALLART Francis
M. WARTEL Michel
M. WATERLOT Michel
M. WERNER Georges
M. WOSNIAK Michel
Mme ZINN Justin Nicole

Spectrochimie Infrarouge et Raman
Chimie inorganique
Géologie générale
Informatique fondamentale appliquée
Hydrométallurgie
Algèbre

A MES PARENTS

*en hommage affectueux et reconnaissant
pour leurs sacrifices et leur confiance*

A MARIE-PIERRE, ma femme

en témoignage de ma profonde affection

A JULIEN, mon fils

avec toute ma tendresse

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Chimie Macromoléculaire de l'Université des Sciences et Techniques de Lille, où Monsieur le Professeur C. LOUCHEUX a bien voulu m'accueillir. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde et respectueuse gratitude.

Monsieur H. SLIWA, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de Lille, m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Qu'il veuille bien accepter mes remerciements respectueux.

Monsieur H. KOZLOWSKI, Professeur à l'Université de Wroclaw, a porté un grand intérêt à ce travail et pendant toute sa réalisation m'a donné critiques et conseils. Je tiens à lui exprimer ma reconnaissance et mes vifs remerciements.

Je remercie Madame A. GARNIER, Professeur à l'Université Paris XIII, qui a bien voulu accepter de faire partie du jury de cette thèse.

Les conseils et suggestions de Madame B. DECOCK, Maître assistante à l'Université des Sciences et Techniques de Lille m'ont été un apport des plus profitables pour mener à bien ce travail et ma formation de chercheur. Qu'elle veuille accepter mes remerciements sincères.

C'est aussi un immense plaisir, pour moi d'associer en une même pensée tous mes camarades de laboratoire, qui m'ont permis de travailler dans une ambiance chaleureuse et détendue.

Je remercie, enfin, tout particulièrement, Madame A.M. CAZE pour le soin apporté à la reproduction des schémas; Mesdames L. SAINLEGER et G. THOMAS qui se sont chargées de l'impression et de l'encollage de ce mémoire ainsi que Monsieur P. LECLERC pour son aide technique.

GLOSSAIRE

SMC	S-Méthyl-L-cystéine
SBC	S-Benzyl-L-cystéine
GSMC	Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine
GSBC	Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine
GGSMC	Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine
GGSBC	Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine
Z -	Benzyloxycarbonyle
t-Boc -	Tertiobutyloxycarbonyle
SOCl_2	Chlorure de thionyle
$\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$	Triéthylamine
D.C.C.I.	Dicyclohexylcarbodiimide
D.C.U.	Dicyclohexylurée
D.M.P.	Diméthylpyrolidone
D.M.F.	Diméthylformamide
P_2O_5	Anhydride phosphorique
H.O.B.T.	Hydroxybenzotriazole

PLAN

	Pages
INTRODUCTION	3
CHAPITRE I : Généralités sur la synthèse peptidique	
I) <u>Protection et déprotection</u>	
A) Protection N-terminale	11
B) Protection de la fonction carboxylique	14
II) <u>Méthodes de couplage</u>	
A) Méthode aux anhydrides mixtes	16
B) Méthode aux azides	18
C) Méthode à la D.C.C.I.	18
III) <u>Les différents types de synthèse</u>	
A) La phase liquide	23
B) La phase solide	24
IV) <u>Racémisation</u>	27
CHAPITRE II : Synthèses - Méthodes expérimentales	
I) <u>Synthèse en phase homogène</u>	33
II) <u>Synthèse en phase gel</u>	39
CHAPITRE III : Etude de la complexation du Pd(II) et du Pt(II) par des amino acides soufrés, par Dichroïsme circulaire et spectroscopie électronique	
I) <u>Etude théorique des transitions électroniques des peptides libres</u>	
A) Chromophores amide et acide	53
B) Chromophore benzénique	54
C) Chromophore sulfure	55

II) <u>Etude théorique des transitions électroniques des peptides complexés</u>	
A) Transitions électroniques du métal	56
B) Transitions électroniques par transfert de charge	58
III) <u>Etude théorique du dichroïsme circulaire</u>	60
IV) <u>Etude par dichroïsme circulaire des transitions électroniques des peptides libres et complexés</u>	
A) Région spectrale des transitions d-d du métal	64
B) Région spectrale des transitions aromatiques, intrasulfures et par transfert de charge	65
V) <u>Partie expérimentale</u>	66
VI) <u>Etude des complexes du Pd(II)</u>	
A) S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II)	67
B) Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II)	79
C) Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II) et Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine : Pd(II)	86
VII) <u>Etude des complexes du Pt(II)</u>	
A) S-Benzyl-L-cystéine : Pt(II) et S-Méthyl-L-cystéine : Pt(II)	95
B) Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pt(II) et Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine : Pt(II)	106
C) Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pt(II)	109
CHAPITRE IV : <u>Etude par résonance magnétique nucléaire des complexes du Pd(II)</u>	125
I) <u>Etude des spectres R.M.N. des peptides libres</u>	
A) S-Benzyl-L-cystéine	131
B) Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine	135

C) Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine	139
II) <u>Etude des spectres R.M.N. des complexes du Pd(II)</u>	
A) S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II)	142
B) Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II)	149
C) Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II) et Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine : Pd(II)	158
 CHAPITRE V : Etude par R.M.N. des complexes du Hg(II) avec des peptides soufrés	
I) <u>Etude de la complexation de la S-Méthyl-L-cystéine avec Hg(II) en fonction de la concentration en ligand</u>	163
II) <u>Etude de la complexation de la Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine avec Hg(II)</u>	176
III) <u>Etude de la complexation de la S-Benzyl-L-cystéine et de la Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine avec Hg(II)</u>	180
 CONCLUSION	 187

INTRODUCTION

Les études récentes menées en biochimie révèlent de plus en plus le rôle indispensable des ions métalliques dans les fonctions vitales de notre organisme. En effet, le bon fonctionnement des phénomènes vitaux dépend directement des 3 % de métaux contenus normalement dans le corps humain.

Le rôle des ions métalliques dans les processus biochimiques peut être mis en évidence dans un grand nombre de phénomènes biologiques. Par exemple, on peut montrer qu'une concentration anormale de cuivre dans le corps humain provoque la maladie de Wilson qui se manifeste par une dégénérescence des organes affectés (foie et système nerveux) et un fonctionnement anormal de l'organisme.

De plus, dans un certain nombre de maladies telles que l'arthrite, l'épilepsie, certains cancers et leucémies ainsi que la plupart des carcinomes, l'augmentation de la concentration du cuivre dans le sérum et le plasma sanguin est directement fonction du déroulement de la maladie, de même que le retour à des concentrations normales correspond avec sa rémission (95). De la même façon, il a été montré que certains cations métalliques pouvaient avoir une importance capitale dans l'induction des cancers (composés du nickel) ou dans leurs traitements (96), on peut noter par exemple la découverte par Rosenberg (97) des propriétés antitumorales du Cis-dichlorodiamine-platine(II).

Enfin, l'accumulation dans les espèces vivantes de métaux tels que le cadmium, le mercure ou le plomb, consécutive à la pollution de l'environnement a provoqué un énorme intérêt en ce qui concerne l'étude de leur interaction avec les protéines naturelles.

Parmi les différents sites réactifs existant sur la chaîne macromoléculaire d'une protéine, les motifs de la cystéine et de la cystine semblent être d'une grande importance dans la chimie de beaucoup de molécules biologiques. La création des liaisons soufre - métal est fondamentale.

pour l'activité de nombreuses molécules naturelles.

Les propriétés particulières de l'atome de soufre en tant qu'atome donneur vis à vis des cations métalliques sont aussi très intéressantes dans le domaine de la chimiothérapie utilisée pour déplacer sélectivement certains métaux en excès dans l'organisme (par exemple la D-pénicillamine dans la maladie de Wilson).

Ainsi, les rôles très nombreux joués par l'atome de soufre dans les systèmes biologiques sont souvent attribués à son interaction avec des cations métalliques.

La formation d'une liaison métal - thio-éther introduit dans la molécule de nouveaux caractères chimiques, structuraux et spectroscopiques qui, dans la plupart des cas ne sont pas bien connus, ceci à cause du manque de théorie convaincante décrivant l'effet donneur de l'atome de soufre.

Le nombre d'études systématiques de l'atome de soufre en tant qu'atome donneur ne semble pas être suffisant pour établir une théorie satisfaisante bien que plusieurs problèmes soient bien décrits dans la littérature.

L'étude des mécanismes réactionnels impliquant les molécules biologiques telles que les métalloprotéines et les métalloenzymes ainsi que la détermination de leurs structures se heurtent à des problèmes pratiquement insurmontables résultant de la complexité de ces systèmes macromoléculaires.

Ainsi, le fait que dans beaucoup de systèmes bioinorganiques, des groupements sulfures et thio-éther soient des sites de complexation privilégiés pour des ions métalliques rend indispensable l'étude de peptides incorporant des motifs dérivés de la cystéine, ceci principalement dans un but de recherche fondamentale; mais on peut toutefois supposer que les résultats ainsi obtenus puissent apporter certaines réponses aux problèmes posés par l'étude des interactions métaux - molécules naturelles.

Aussi, nous nous proposons dans ce mémoire d'exposer les résultats provenant de l'étude de deux séries de peptides soufrés avec le Pd(II), le Pt(II) et le Hg(II).

La première série implique la *S*-Méthyl-*L*-cystéine comme résidu soufré; ainsi, il est intéressant de comparer les structures des complexes mettant en jeu la Glycyl-Glycyl-*S*-Méthyl-*L*-cystéine avec celles des complexes de la *S*-Méthyl-*L*-cystéine avec le Pd(II) et le Pt(II) dont l'étude a été faite par A. Allain (89) et des complexes de la Glycyl-*S*-Méthyl-*L*-cystéine avec le Pd(II) dont l'étude a été menée au laboratoire (59).

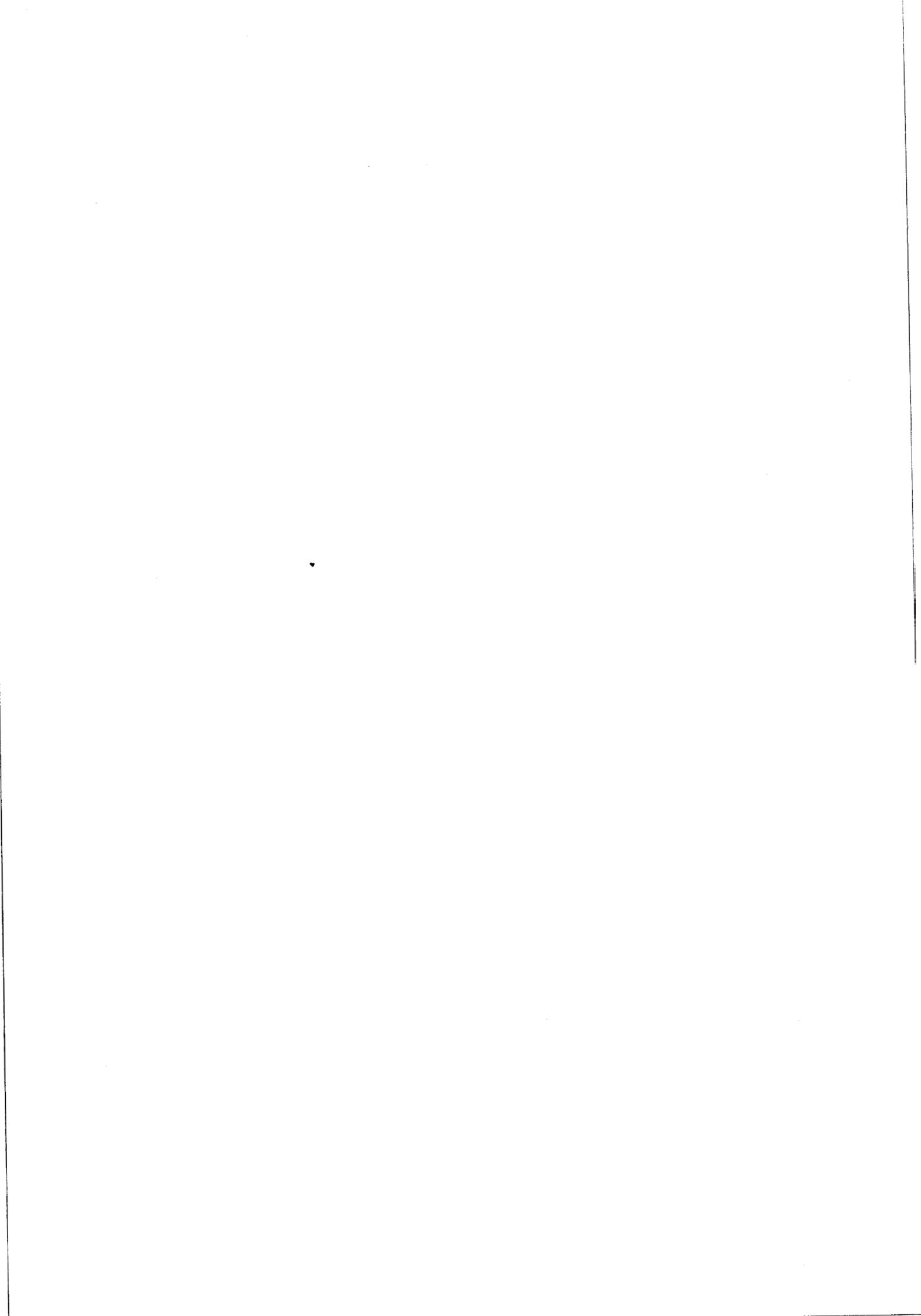
Il en est de même pour la série utilisant la *S*-Benzyl-*L*-cystéine comme résidu soufré : *S*-Benzyl-*L*-cystéine, Glycyl-*S*-Benzyl-*L*-cystéine et Glycyl-Glycyl-*S*-Benzyl-*L*-cystéine.

D'autre part, la complexation par l'atome de soufre introduit d'importants changements de structure sur le thio-éther et il est intéressant de mettre en évidence l'importance de ces changements en fonction de l'encombrement des substituants du soufre (passage du groupe méthyl au groupe benzyl).

L'ensemble de ces considérations nous a amené à choisir de préparer et d'étudier dans tout le domaine de pH, les peptides suivants :

- Gly-Gly-SMC libre et complexée avec le Pd(II) et le Pt(II)
- SBC, Gly-SBC et Gly-Gly-SBC libres et complexées avec le Pd(II) et le Pt(II)
- SMC et Gly-SMC complexées avec le Hg(II) et le Pt(II)
- SBC et Gly-SBC complexées avec le Hg(II)

par spectroscopie électronique U.V. et visible, dichroïsme circulaire et résonance magnétique nucléaire.



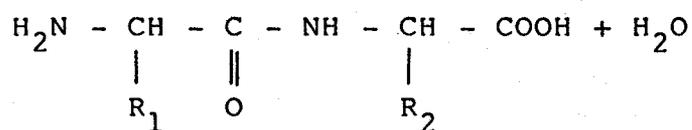
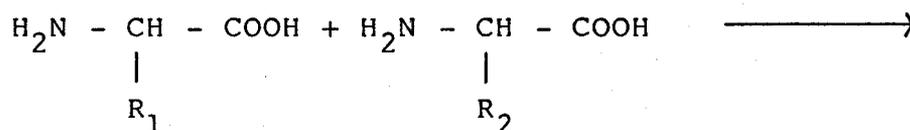
CHAPITRE I

GENERALITES

SUR LA

SYNTHESE PEPTIDIQUE

La synthèse peptidique consiste à former une liaison amide (dite aussi liaison peptidique) entre deux molécules d'acides aminés selon le schéma réactionnel suivant :

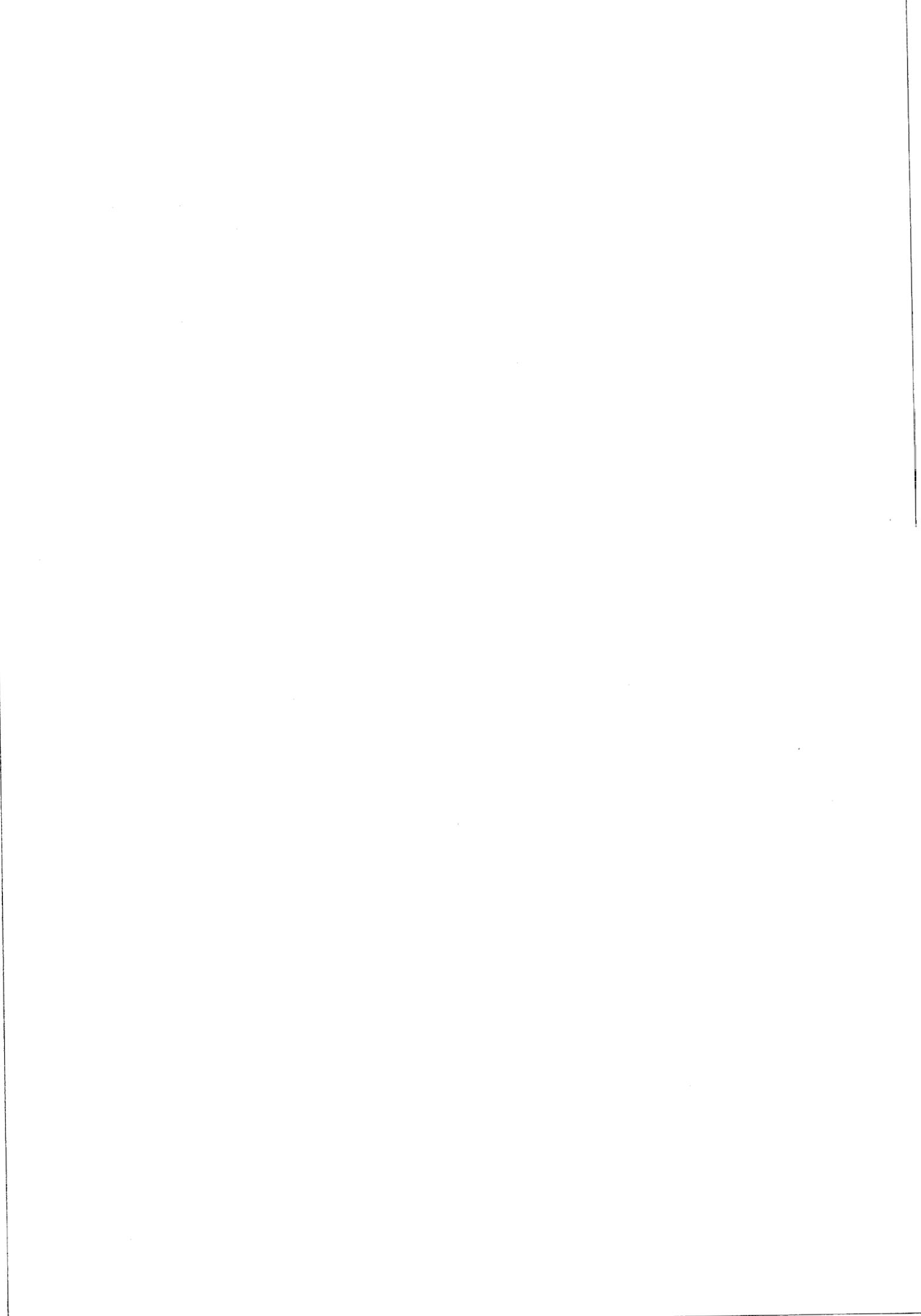


Etant donné le caractère au moins bifonctionnel des acides aminés, il est nécessaire de neutraliser la réactivité des fonctions ne devant pas intervenir directement dans le processus de couplage. Ceci est obtenu par introduction sur ces fonctions de groupes protecteurs.

Les groupes protecteurs doivent présenter certaines caractéristiques bien précises ; notamment une bonne facilité de mise en place, leur élimination doit être sélective et ils doivent montrer une bonne stabilité chimique vis-à-vis des agents de couplage.

Trois étapes essentielles interviennent donc dans le processus de formation de la liaison peptidique :

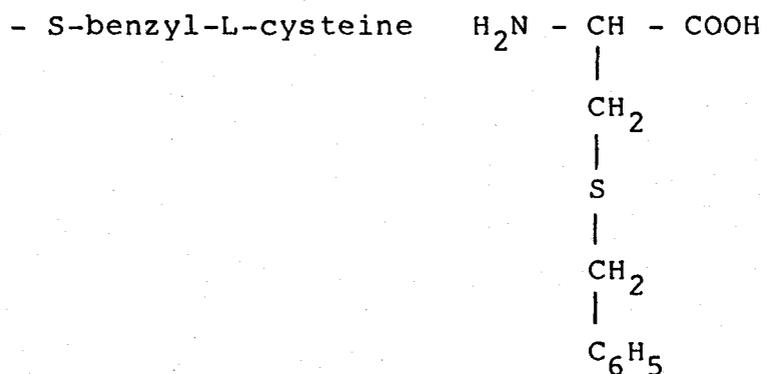
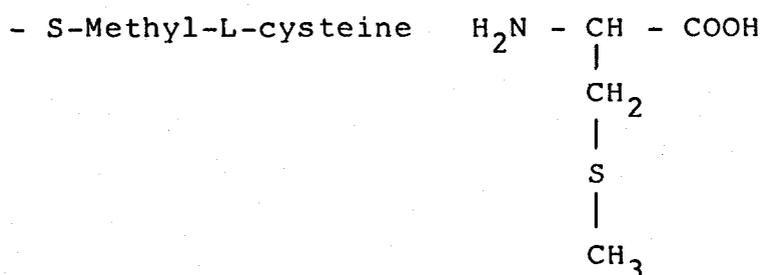
- Protection des fonctions ne devant pas réagir
- Couplage
- Déprotection



I PROTECTION ET DEPROTECTION

Trois types de protections peuvent intervenir selon les acides aminés et les méthodes de couplages utilisés. Il peut être nécessaire de protéger la fonction amine, la fonction acide ou la fonction portée par la chaîne latérale.

Nous avons utilisé les acides aminés suivants :

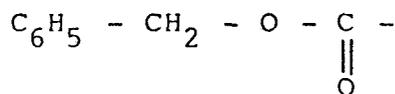


Aucun de ces acides aminés ne possède de fonction latérale à protéger. Nous présenterons donc essentiellement la protection de la fonction amine terminale en insistant sur la méthode utilisée pour la synthèse des peptides étudiés, et brièvement la protection de la fonction carboxylique qui n'a pas été nécessaire étant donné la méthode de couplage utilisée.

A) Protection N-terminale :

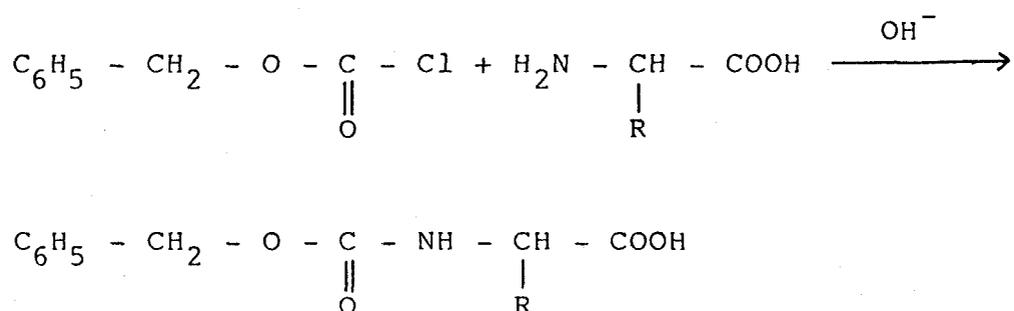
Il existe de nombreux groupes protecteurs de la fonction amine décrits dans la littérature (1, 2, 4), ne seront présentés ici que les deux plus employés.

a) Le groupe benzyloxycarbonyle : (Z)



a été introduit pour la première fois en synthèse peptidique par Bergmann et Zewas (3).

Il est obtenu facilement en faisant réagir le chlorure de benzyloxycarbonyle sur l'acide aminé suivant le schéma réactionnel suivant : (4)



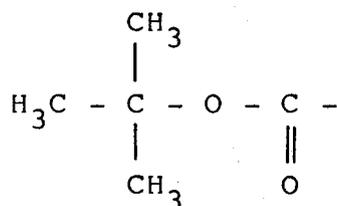
Le chlorure de benzyloxycarbonyle est lui-même obtenu par action de phosgène sur l'alcool benzylique.

L'un des grands intérêts du groupement Z est sa remarquable stabilité face à l'hydrolyse en milieu alcalin ; par conséquent, il est possible de déplacer sélectivement un autre groupe ester, tel qu'un ester utilisé pour la protection de la fonction acide terminale du peptide sans toucher à la protection N-terminale.

La déprotection de la fonction amine peut se faire de plusieurs façons dont les plus employées sont :

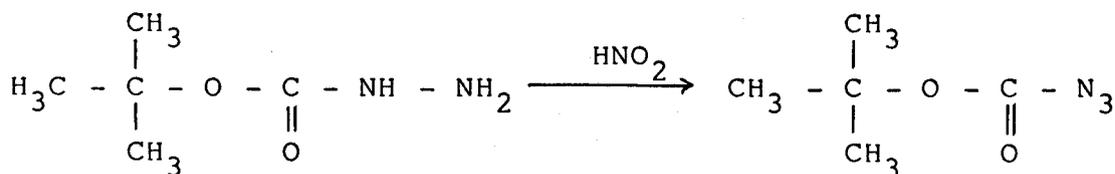
- hydrogénolyse catalytique sur palladium/charbon 10 % (inutilisable dans le cas des aminoacides soufrés en raison de l'empoisonnement du catalyseur par le soufre).
- coupure à l'HBr dans l'acide acétique (5)
- coupure à l'HF liquide (6).

b) Le groupe tertibutyloxycarbonyle (t.Boc.)



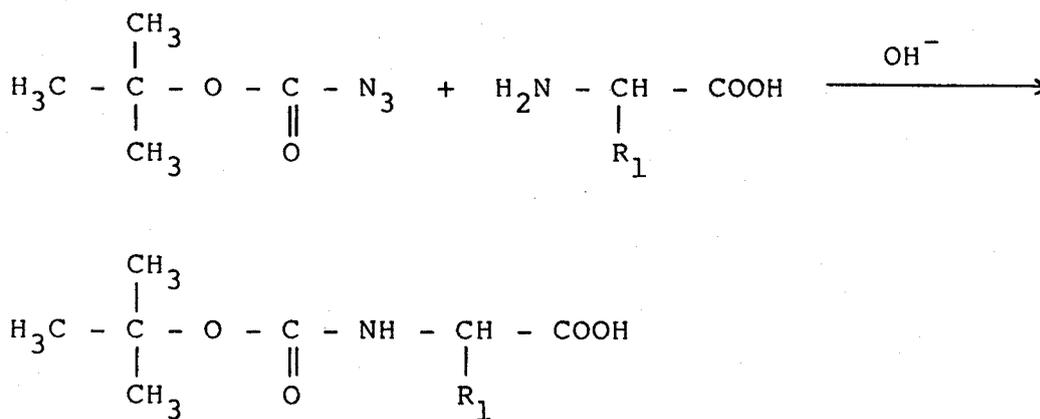
a été introduit en synthèse peptidique par Mac Kay et Albertson (7) et Anderson et Mac Gregor (8).

La fonction amine terminale de l'acide aminé est facilement protégée par réaction avec le tertibutylazidoformiate en milieu basique (9 - 12) lui-même préparé à partir du carbazate de tertibutyle selon le schéma réactionnel suivant :



carbazate de tertibutyle

La réaction de protection se fait alors de la façon suivante :



Pour la protection des acides aminés que nous avons utilisés nous avons choisi la méthode de Schnabel (13) qui utilise un autotitracteur permettant de maintenir le pH constant au cours de la réaction de formation du t-Boc ce qui améliore les rendements, et a le gros avantage de simplifier considérablement les conditions opératoires.

La déprotection intervient par coupure à l'acide chlorhydrique-dioxane 4N à 0°C (14), à l'acide chlorhydrique N dans l'acide acétique (15) ou à l'acide trifluoroacétique (16).

La grande stabilité de ce groupe protecteur vis-à-vis de l'hydrogénolyse catalytique est l'intérêt principal de la protection par le t-Boc. Il peut donc être utilisé conjointement avec des protections qui peuvent être enlevées par cette méthode. Par ailleurs, les protections hydrogénéolysables sont stables dans les conditions de déprotection du groupe t-Boc.

De ce fait, le groupement offre un excellent complément à la méthode de protection par le groupe benzyloxycarbonyle pour protéger sélectivement la fonction N-terminale d'un acide aminé basique alors que sa fonction amine latérale est protégée par le groupe t-Boc.

Dans le cadre de notre étude, ce groupement protecteur s'impose étant donné la présence de l'atome de soufre sur la fonction latérale de la S-Méthyl-L-cystéine, qui pourrait poser des problèmes, au cours de la déprotection d'un groupement Z.

B) Protection de la fonction carboxylique :

Dans la plupart des cas, la protection de la fonction carboxylique intervient par formation d'ester d'alkyl (méthyle, éthyle...) ou d'ester de benzyle (1, 2, 4).

1) Les esters d'alkyles :

Cette protection est mise en place par esterification de la fonction carboxylique avec l'alcool correspondant en présence d'acide chlorhydrique anhydre (17) ou du chlorure de thionyle (SOCl_2) (18).

La protection est facilement enlevée par une saponification dans l'acétone, le méthanol ou le dioxanne à température ambiante ou à 0°C .

2) Les esters benzyliques :

Ils sont obtenus par estérification de la fonction carboxylique de l'acide aminé par l'alcool benzylique en présence de catalyseur dont les plus importants sont :

- l'acide paratoluène sulfonique (19)
- l'acide benzène sulfonique (20)
- l'acide polyphosphorique (21, 22) en tant qu'agent de déshydratation.

La déprotection peut se faire comme pour les esters d'alkyles par saponification ou plus aisément par hydrogénolyse catalytique en présence de palladium fixé sur charbon ; c'est ce dernier mode de déprotection qui fait l'intérêt de l'ester benzylique, car la saponification présente parfois un risque de racémisation (23).

II METHODES DE COUPLAGE

La réaction de couplage met en jeu un acide aminé protégé sur sa fonction N-terminale et un autre protégé ou non sur sa fonction carboxylique selon la méthode de couplage utilisée, éventuellement leurs fonctions latérales doivent être protégées pour éviter les couplages parasites.

Les acides aminés étant à l'état naturel peu réactifs, il est nécessaire pour que la réaction ait lieu d'activer une des deux fonctions mises en jeu (21). Le plus souvent, c'est l'activation de la fonction carboxylique qui est pratiquée. Quant à l'activation de la fonction amine, elle est peu répandue, la seule méthode encore utilisée passe par l'intermédiaire d'un isocyanate d'ester d'acide aminé (25).

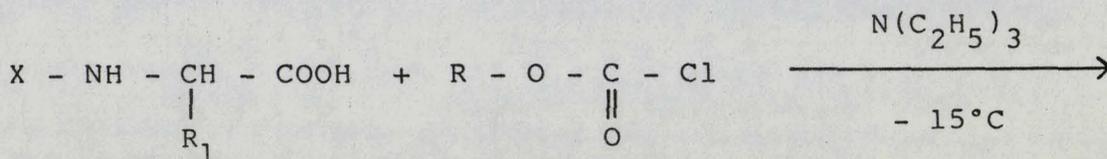
Nous ne parlerons dans ce chapitre que de l'activation de la fonction carboxylique en insistant sur les méthodes de couplage que nous avons utilisées pour cette étude.

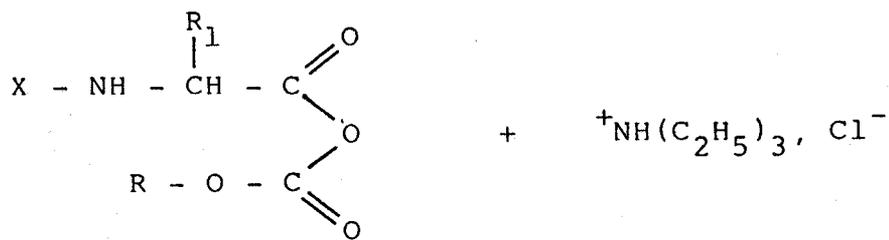
A) Méthode aux anhydrides mixtes :

La formation de la liaison peptidique par la méthode aux anhydrides mixtes a été développée simultanément par Wieland et Bernhard (26), Boissonnas (27) et Vaughan (28).

Le couplage intervient en deux étapes bien caractéristiques :

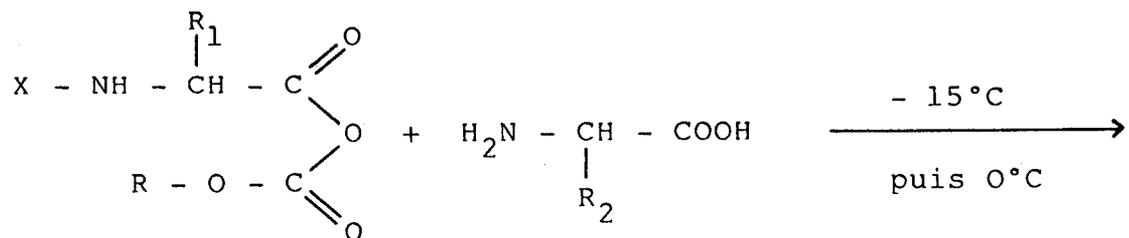
- a) Activation de la fonction carboxylique par formation d'un anhydride mixte, obtenu par réaction du premier acide aminé avec un chloroformiate d'alkyle, en présence de triéthylamine, dans un solvant rigoureusement anhydre, à basse température (-15°C).



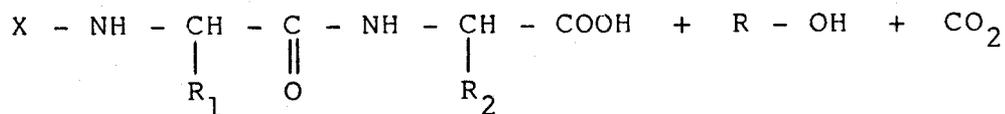


X est un groupe protecteur.

- b) Formation de la liaison peptidique par réaction avec le second acide aminé selon le schéma réactionnel suivant :



X est un groupe protecteur.



Les intérêts de la méthode sont nombreux :

- le faible taux de racémisation à condition que certaines précautions soient prises (travail à basse température, éviter les excès de triéthylamine).
- la rapidité d'obtention des peptides
- l'inutilité de la protection de la fonction C terminale du second acide aminé à coupler.

B) Méthode aux azides :

Bien qu'une des plus anciennes méthodes de synthèse peptidique (introduite en 1902 par Curtius (29)), elle est encore employée actuellement (30).

La préparation de l'azide de l'acide aminé est analogue à la préparation du tertiobutylazidoformiate (utilisé pour la préparation des t-Boc).

Il est à noter qu'au cours de cette réaction la racémisation n'est pas négligeable (31).

C) Méthode à la D.C.C.I. :

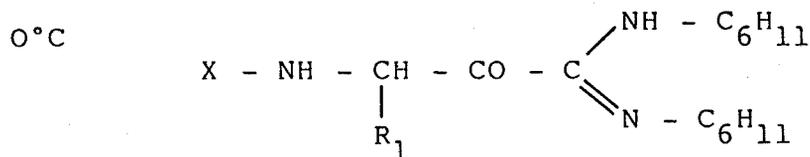
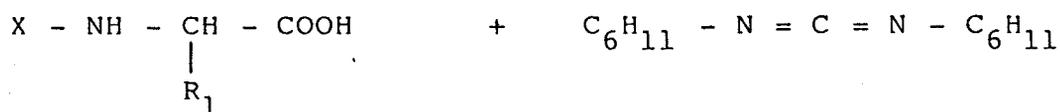
Introduite en 1955 en synthèse peptidique par Sheehan et Hess (32,1) en utilisant la dicyclohexylcarbodiimide (D.C.C.I.) comme agent d'activation.

La D.C.C.I. est devenue l'agent d'activation le plus largement utilisé en synthèse peptidique (33); à la fois la synthèse en phase solide et la synthèse en phase homogène utilisent la D.C.C.I., ou directement ou indirectement pour la formation d'esters actifs. Ces méthodes de couplage qui impliquent la formation d'un intermédiaire réactif de la fonction carboxylique sont basées sur l'augmentation de la réactivité de cette fonction acide par un accroissement du caractère électrophyle de l'atome de carbone du carbonyle.

1) Méthode directe :

Elle permet la formation de liaison peptidique entre deux acides aminés obligatoirement protégés sur leurs fonctions non réactives .

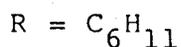
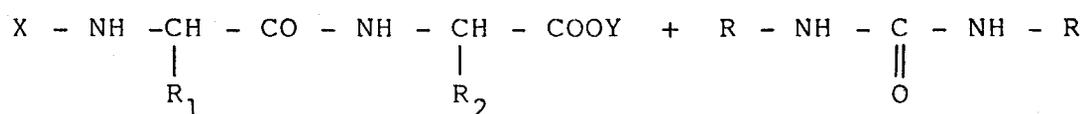
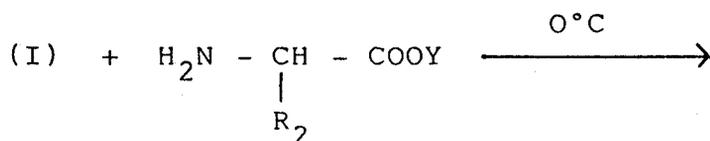
La D.C.C.I. réagit en premier lieu avec le groupe carboxyle pour former un agent acylant très réactif, l'Oacylurée non isolable.



O acylurée (I)

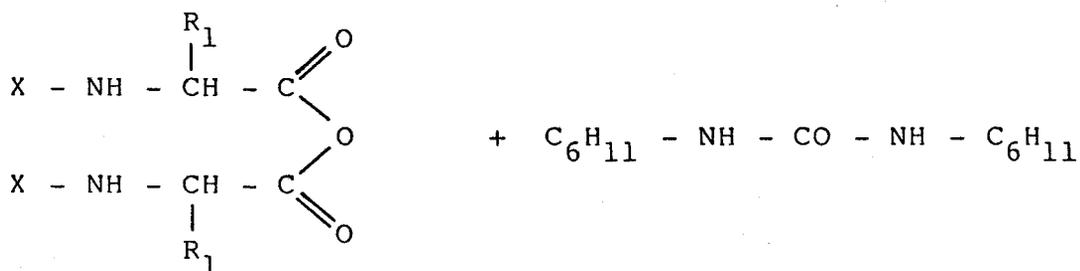
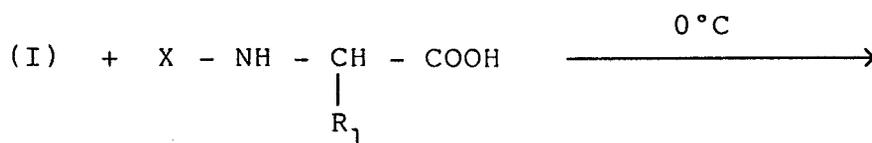
A partir de là, plusieurs schémas réactionnels sont possibles :

- attaque directe du second acide aminé sur l'intermédiaire réactif avec formation de la liaison peptidique



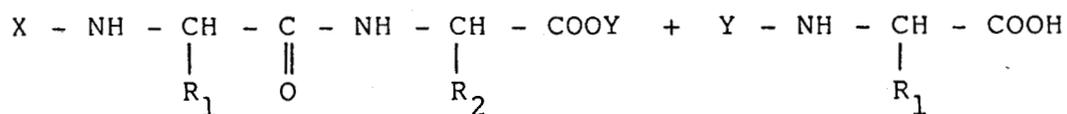
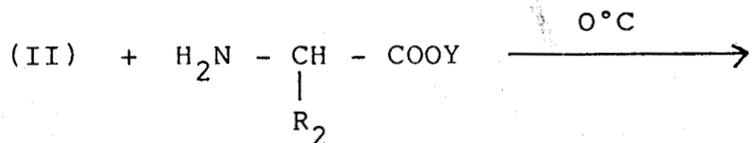
dicyclohexylurée

- formation d'un anhydride symétrique par réaction avec une autre molécule d'acide aminé N-protégé



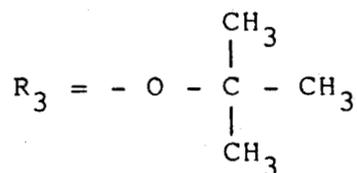
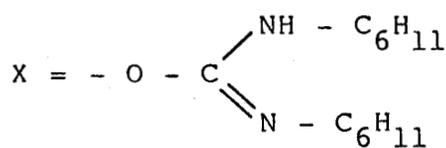
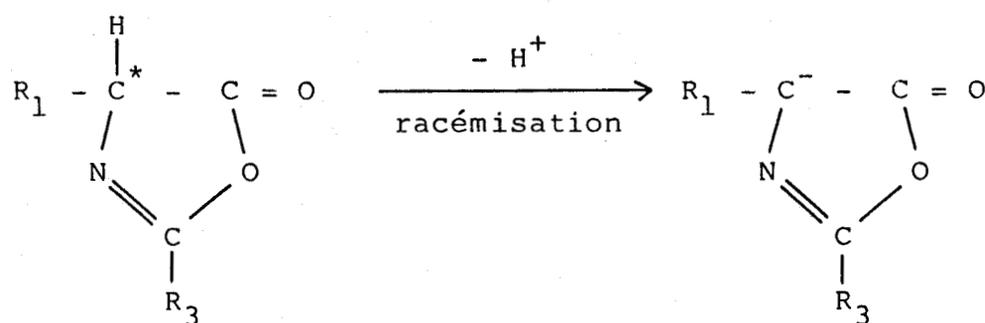
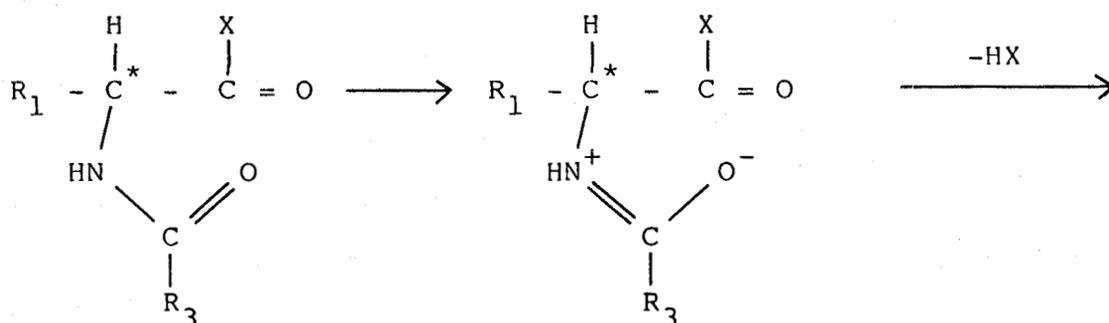
(II)

(II) est ensuite aminolysé par l'acide aminé C-protégé :



X et Y sont des groupements protecteurs.

- formation de 5(4H)-Oxazolone qui est responsable de la racémisation (voir chapitre sur la racémisation).



Nous avons utilisé cette méthode directe à la D.C.C.I. pour la synthèse en phase solide à l'aide d'un synthétiseur automatique (34).

2) Méthode aux esters actifs :

La méthode aux esters actifs est connue depuis longtemps, mais elle a pris un essor particulier depuis que Rothe et Kunitz (35) et parallèlement Elliott et Russel (36) ont proposé l'utilisation de la dicyclohexylcarbodiimide pour la préparation d'esters de para-nitrophénol.

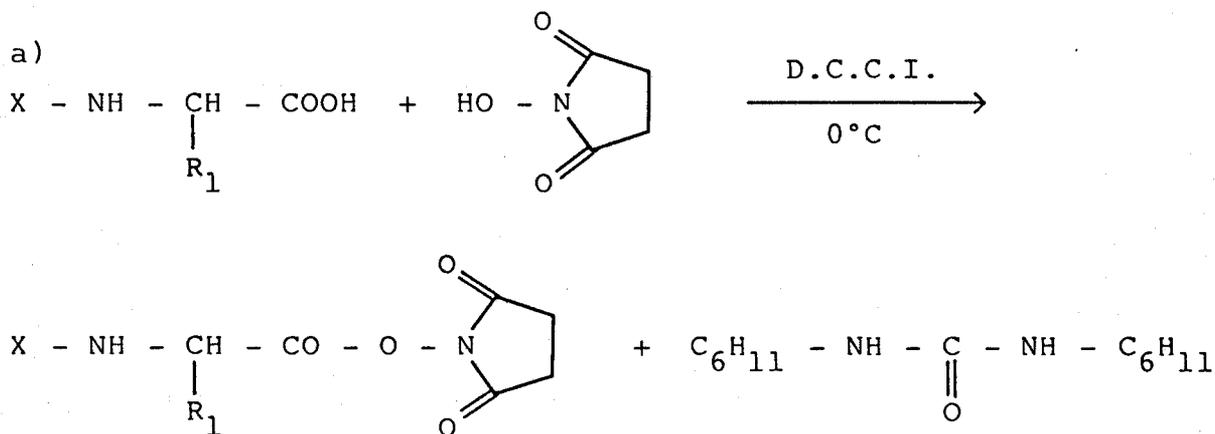
La transformation de l'acide aminé N-protégé en un ester porteur d'un groupe électroattracteur facilite considérablement l'aminolyse en activant la fonction C-terminale.

Il existe de nombreuses sortes d'ester actif selon le type du groupe activant (1,37).

L'utilisation des esters actifs dans la synthèse peptidique s'est particulièrement développée par l'introduction d'hydroxylamines substituées telles que le N-hydroxyphthalimide (38, 39) comme agent d'estérification. Toute une série de dérivés substitués ont été proposés, mais le plus utilisé de ceux-ci demeure le N-hydroxysuccinimide (40, 41). Nous développerons cette méthode qui a été utilisée dans nos synthèses.

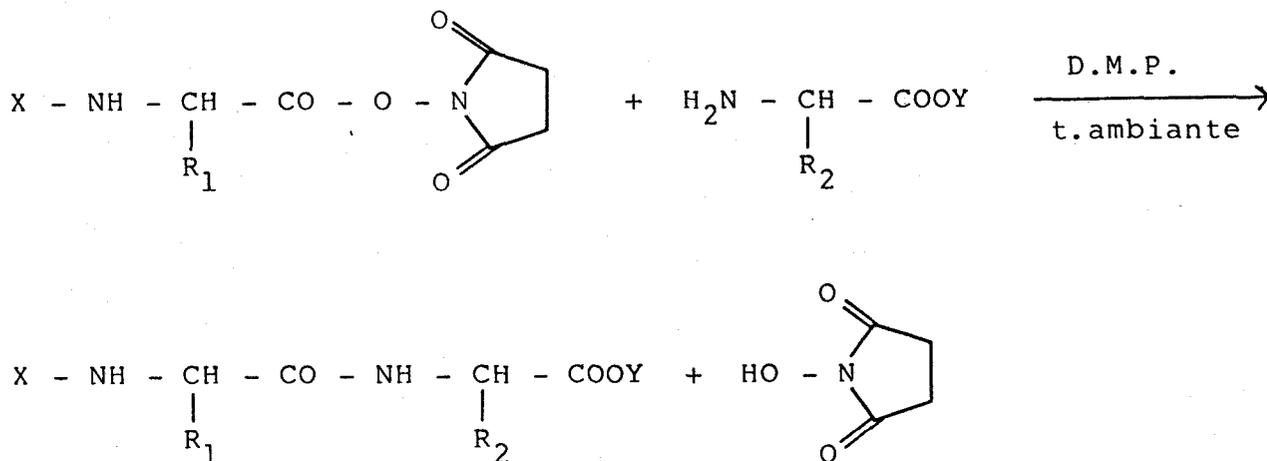
Le couplage passe par deux étapes bien distinctes :

- a) formation de l'ester actif
- b) aminolyse de l'ester actif par un second acide aminé



ester actif d'hydroxysuccinimide.

D.C.U.



X est un groupement protecteur.

Y = H ou est un groupement protecteur.

L'hydroxysuccinimide régénérée est éliminée par lavage à l'eau alors que le peptide est extrait par un solvant organique.

Les esters actifs dérivés de la N-hydroxysuccinimide doivent leur très bonne réactivité vis-à-vis des nucléophiles aux effets attracteurs d'électrons et à la catalyse basique intramoléculaire (assistance anchimérique).

Nous avons choisi cette méthode pour les couplages effectués en phase homogène pour diverses raisons dont les plus importantes sont :

- *la possibilité de cristalliser l'intermédiaire de couplage (ester actif) par rapport à la méthode directe à la D.C.C.I., ce qui apporte de nombreux avantages notamment en ce qui concerne la pureté des produits obtenus et la souplesse de la synthèse.*
- *l'aminolyse de l'ester actif peut se faire par un second acide aminé non protégé sur sa fonction C-terminale, ce qui réduit considérablement les opérations de protection et de déprotection.*
- *Par rapport aux anhydrides mixtes, les esters actifs sont moins réactifs mais beaucoup plus sélectifs et, de ce fait ils sont plus résistants à l'hydrolyse.*
- *La méthode est connue pour conduire à des peptides non racémisés (42,43).*

III LES DIFFERENTS TYPES DE SYNTHÈSE

Il existe plusieurs types de synthèse peptidique utilisant l'une ou l'autre des méthodes de couplage que nous avons décrites plus haut. On peut les ranger dans deux grandes familles bien distinctes :

- la synthèse en phase liquide
- la synthèse en phase solide

A) La phase liquide :

Toutes les réactions caractéristiques de la synthèse peptidique (protection, activation, couplage et déprotection) se font en milieu homogène comme une réaction organique classique, dans des solvants appropriés.

Cette synthèse en phase liquide est évidemment la plus simple à mettre en oeuvre car elle ne nécessite aucun appareillage particulier.

Les diverses réactions sont suivies par chromatographie sur couche mince. Dès que la réaction est terminée, les peptides sont extraits du milieu réactionnel par un solvant organique et les produits n'ayant pas réagi sont éliminés par lavages acides et basiques.

Les réactifs sont purifiés par cristallisation à chaque étape de la synthèse et le peptide final par chromatographie sur gel perméable.

Cette méthode est particulièrement adaptée à la synthèse de petits peptides (jusqu'à environ quatre motifs), et présente comme avantages :

- facilité de mise en oeuvre
- préparation de quantités importantes
- synthèse par couplage de fragments comportant quelques résidus.
- bonne pureté des produits obtenus, du fait des purifications intermédiaires.

Néanmoins, elle présente certains inconvénients, notamment en ce qui concerne la durée et le nombre d'étapes nécessaires à l'obtention du peptide.

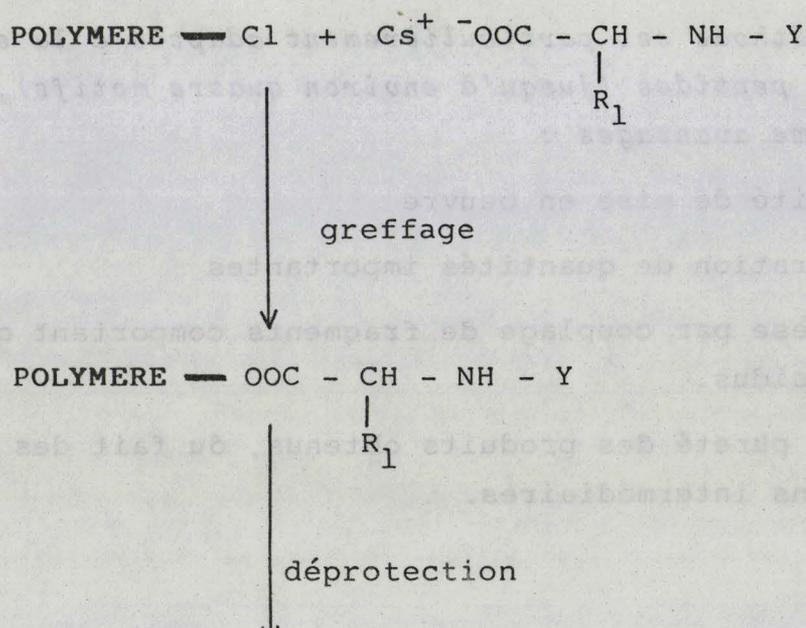
B) La phase solide :

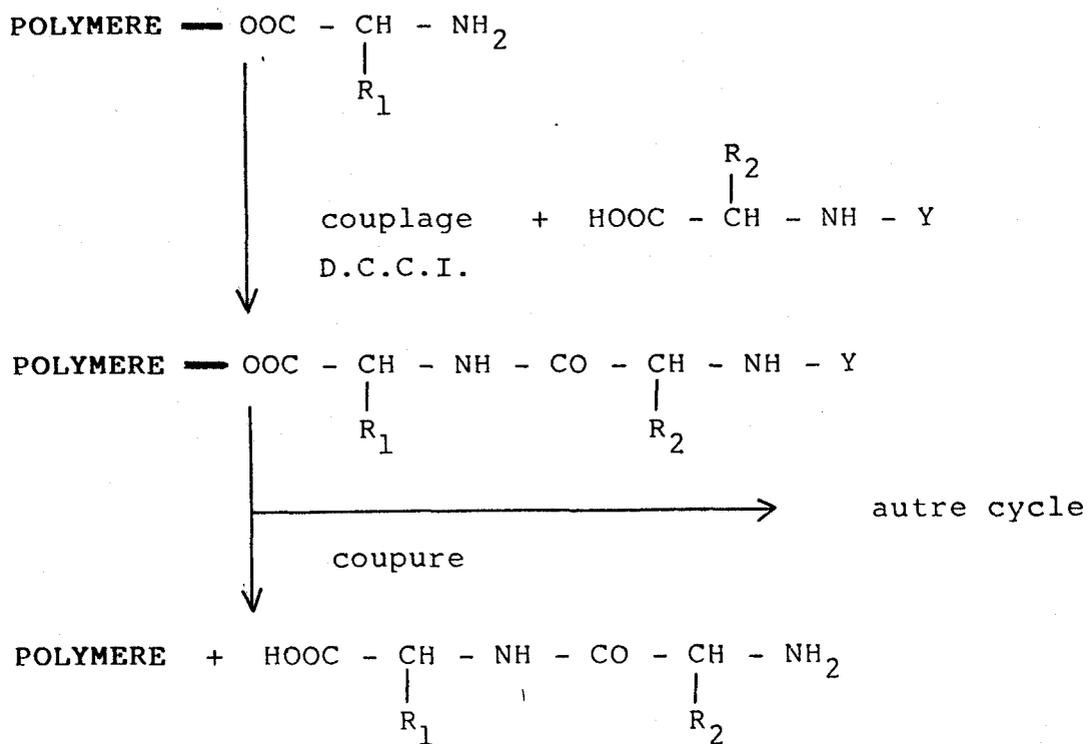
Le besoin de simplification et d'automatisation de la synthèse peptidique, notamment pour les peptides assez longs a conduit Merrifield (44) à proposer un type de synthèse basé sur une stratégie dite "pas à pas" où le premier acide aminé est fixé par son groupe C-terminal sur un polymère insoluble.

Toutes les opérations de couplage se font tant que le peptide est fixé au support gonflé dans un solvant organique (1,45).

Les couplages se font le plus souvent par la méthode directe à la D.C.C.I. exposée plus haut. Le support utilisé est constitué généralement par du polystyrène réticulé par du divinylbenzène (1 à 2 %) et partiellement chlorométhylé.

Pour le greffage du premier acide aminé sur le support polymérique, un certain nombre de sels de l'acide aminé N-protégé sont utilisés (46,45), parmi lesquels on peut retenir le sel de triéthylamine (44) ou le sel de césium (47) que nous avons utilisé pour cette étude. Le cycle des réactions intervenant dans la synthèse en phase solide se résume par le schéma suivant :





En fin de synthèse, le peptide est coupé du support polymérique généralement par un traitement acide (46,45). Nous avons utilisé la méthode de coupure par l'acide fluorhydrique anhydre.

L'utilisation du support polymérique et la répétitivité des opérations à effectuer permettent de réaliser la synthèse à l'aide d'appareils automatiques. Pour cette étude, nous avons utilisé un appareil mis au point au laboratoire (34).

Parmi les avantages que présente la synthèse en phase solide, on peut citer :

- l'élimination par filtration des réactifs non couplés ce qui théoriquement devrait assurer une haute pureté aux peptides synthétisés. Pratiquement, les couplages n'étant pas réalisés à 100%, il est nécessaire de pratiquer une purification finale soignée.
- la simplification des interventions qui se limitent à un contrôle du bon fonctionnement de l'appareil.
- la rapidité d'obtention des produits (4 heures sont demandées pour chaque cycle d'opérations).

Néanmoins, elle présente quelques inconvénients :

- il est nécessaire d'augmenter de 2 à 3 fois la quantité de réactifs à introduire par rapport à la quantité stoechiométrique*
- il faut disposer d'un synthétiseur automatique coûteux à l'achat ou à la mise au point.*
- la microporosité du polymère limite souvent l'accroissement de la chaîne peptidique.*
- la libération du peptide final est souvent délicate.*

IV RACEMISATION

La racémisation est un des problèmes les plus importants de la synthèse peptidique. De nombreuses études ont été menées sur ce sujet. On peut citer comme principaux facteurs favorisant la racémisation :

- la présence d'un excès de base (49)
- l'utilisation de solvants polaires tel que le DMF
- l'augmentation de la température (50)
- certaines méthodes de couplage

La racémisation peut intervenir à plusieurs stades de la synthèse; aux étapes de protection et déprotection, mais surtout pendant l'activation de la fonction acide.

L'introduction de groupements amino-protecteurs du type uréthane, tels que les groupes benzyloxycarbonyle ou tertio-butylloxycarbonyl (que nous avons utilisés), ne provoque pas de racémisation évidente. De même, les méthodes habituelles de déprotection comme l'utilisation d'acide chlorhydrique 4N dans le dioxanne interviennent sans risque pour la pureté optique des produits.

Par contre, la formation de la liaison peptidique est incontestablement l'étape qui affecte le plus la pureté optique des acides aminés. Avec l'activation de la fonction acide, la formation d'oxazolinone (48) ou le départ du proton porté par le carbone assymétrique en α peuvent intervenir, provoquant ainsi une racémisation partielle ou totale.

Habituellement, aucune perte d'activité optique n'est observée pendant le couplage d'acides aminés protégés par des groupes de type uréthane.

Pour cette étude, nous n'avons pas rencontré ces problèmes puisque nous avons utilisé l'ester actif de la N-Boc glycine.

Nous pouvons cependant conclure que la racémisation est évitée en respectant certaines règles :

- travailler à basse température
- mener le couplage en milieu concentré
- éviter des excès de base
- utiliser un solvant non polaire
- ajouter des additifs inhibiteurs de racémisation pour la méthode à la D.C.C.I., tels que la N-hydroxy-succiminide ou le 1-hydroxybenzotriazole.

CHAPITRE II

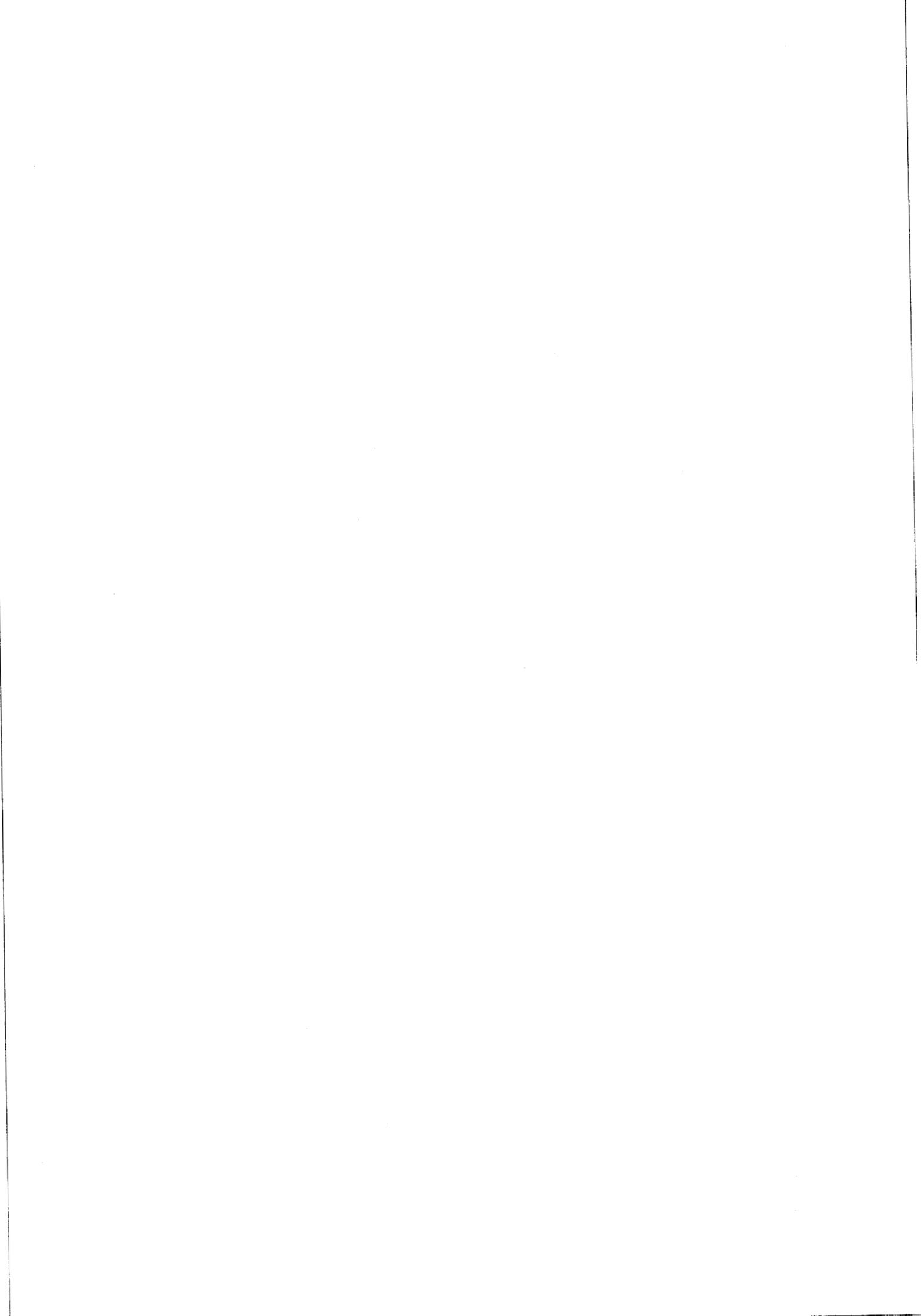
SYNTHESES

METHODES EXPERIMENTALES

Nous allons présenter dans cette seconde partie la synthèse de quatre peptides :

- **Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine**
- **Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine**
- **Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine**
- **Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine**

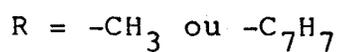
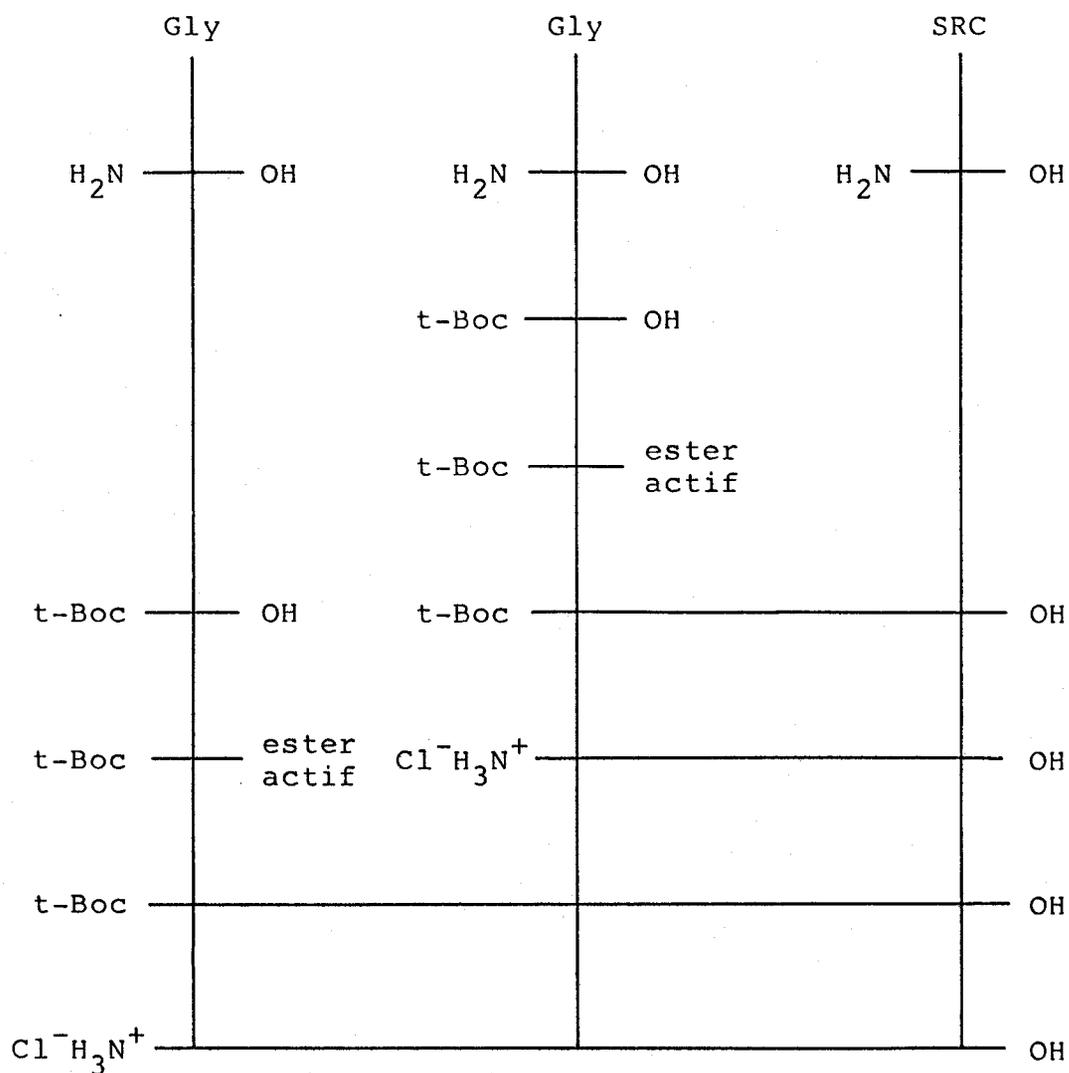
Tous ces peptides ont été préparés par voie classique (phase homogène), sauf Gly-Gly-SMC qui a été synthétisé par la méthode en phase gel à l'aide d'un synthétiseur automatique de peptides.



I SYNTHÈSE EN PHASE HOMOGÈNE

1) Stratégie de synthèse :

Etant donné la petite taille des peptides, nous avons utilisé la méthode récurrente où chaque étape consiste à ajouter un résidu.



SCHEMA DE SYNTHÈSE EN PHASE HOMOGÈNE

2) Techniques analytiques :

L'analyse chromatographique sur couches minces (gel de silice Merck) des peptides protégés a été un auxiliaire très utile en cours de synthèse. Elle nous a permis de suivre l'évolution des réactions de couplage, de déprotection et de vérifier la pureté des produits de départ.

L'éluant retenu est le mélange chloroforme - méthanol - acide acétique en proportions volumiques 85/10/5 respectivement.

Les peptides libres sont élués quant à eux après dépôt sur papier Whatmann n°1, dans le mélange ternaire (pyridine 35%, n-butanol 35%, eau 30%) ou dans le mélange quaternaire (n-butanol 30%, acide acétique 6%, pyridine 20%, eau 24%).

Les chromatogrammes sont révélés par pulvérisation d'une solution de ninhydrine (2,5 grs dans 50 mls d'éthanol) et chauffage à 100°C.

Pour les peptides N-protégés, un passage dans des vapeurs d'acide chlorhydrique, avant pulvérisation de ninhydrine, est nécessaire pour libérer la fonction amine.

En fin de synthèse, les peptides obtenus sont purifiés sur gel perméable (Séphadex G.10 ou LH.20) dans l'eau ou le méthanol.

La pureté des produits est contrôlée par chromatographie liquide à hautes performances sur colonne phase inverse (WATERS Micro-Bondapak C.18).

3) Préparation du Tertiobutylazidoformiate :

Cette synthèse doit être effectuée sous une hotte, le tertiobutylazidoformiate étant un hypertenseur.

On introduit dans un ballon de 250 ml, 36,5 ml d'eau et 22,5 ml d'acide acétique glacial. A cette solution refroidie à 0°C, on ajoute 26,4 gr (0,2 mole) de carbazate de tertiobutyle progressivement. Après dissolution complète (environ 1/2 heure), on additionne lentement, en maintenant

la température entre 9 et 13°C, 15,16 gr (0,22 mole) de nitrite de sodium dissout dans 150 ml d'eau (environ une heure). On laisse sous agitation pendant une heure, puis on ajoute 40 ml d'eau. Après décantation, on recueille la phase organique jaune d'or. On extrait l'azide restant dans la phase aqueuse avec 50 ml d'éther éthylique (4 fois).

Les phases organiques sont réunies et lavées trois fois avec 50 ml d'eau et trois fois avec une solution de bicarbonate de sodium à 5%. Après séchage sur sulfate de magnésium, la solution est filtrée et évaporée à froid sous vide. On recueille un résidu huileux jaune, que l'on conserve au froid.

L'azide n'est jamais distillé à cause des risques d'explosion.

4) Préparation du t-Boc-Glycine :

Il est préparé par action en milieu basique du tertio-butylazidoformiate sur la glycine.

On dissout dans 10 ml d'eau 3,76 gr (0,05 mole) de glycine. On ajoute 10 ml de dioxanne et 7,8 gr (0,0545 mole) de tertio-butylazidoformiate. Le pH de la solution est maintenu constant à 10 par une solution de soude 4N et à l'aide d'un autotitrateur. La réaction dure environ deux heures et demi.

On extrait l'azide restant avec de l'éther éthylique une fois. La solution aqueuse est acidifiée avec de l'acide citrique jusqu'à un pH d'environ 3 (on libère ainsi l'acide du sel de sodium). On extrait le t-Boc-Glycine deux fois par de l'éther éthylique et deux fois par de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées à l'eau saline, à l'acide chlorhydrique 1% et à l'eau, puis séchées sur sulfate de magnésium. La solution est filtrée puis évaporée sous vide.

La poudre blanche obtenue est reprise par un minimum de dichlorométhane puis précipitée dans l'éther de pétrole, filtrée et séchée sous vide.

La pureté du produit est contrôlée par chromatographie sur couche mince, comme indiqué plus haut.

5) Préparation de l'ester actif du t-Boc-Glycine :

On dissout dans 10 ml de chloroforme fraîchement distillé 1,75 gr (0,01 mole) de t-Boc-Glycine, 1,265 gr (0,011 mole) d'hydroxysuccinimide et 2,266 gr (0,011 mole) de dicyclohexylcarbodiimide. La solution est refroidie à -10°C dans un bain de glace et d'acétone. On laisse une nuit. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince.

La réaction terminée, on filtre et on lave sur Buchner avec du chloroforme la dicyclohexylurée formée. La solution est lavée au bicarbonate de sodium (4%), à l'eau, à l'acide chlorhydrique (1%) et à l'eau, puis séchée une nuit sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous vide.

Le résidu est repris par de l'acétate d'éthyle et la solution filtrée et évaporée sous vide; on recristallise dans l'isopropanol pour obtenir des cristaux blancs que l'on sèche sous vide.

6) Couplage de l'ester actif du t-Boc-Glycine avec la S-Méthyl (ou Benzyl) L-cystéine :

On dissout dans 10 ml de diméthoxyéthane 0,912 gr (0,004 mole) de l'ester actif du t-Boc-Glycine et dans 10 ml d'eau 0,005 mole de S-Méthyl-L-cystéine ou de S-Benzyl-L-cystéine et 0,506 gr (0,005 mole) de triéthylamine. On réunit les deux solutions. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince.

La solution est acidifiée par de l'acide citrique jusqu'à un pH d'environ 3. On extrait avec de l'éther éthy-

lique (deux fois) et de l'acétate d'éthyle (deux fois). Les phases organiques sont lavées deux fois avec une solution d'acide chlorhydrique 1% puis avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et évaporées sous vide.

La recristallisation est identique à celle utilisée pour la purification du t-Boc-Glycine.

7) Coupure de la protection N-terminale :

On dissout 0,01 mole de peptide N-protégé dans 30 ml d'une solution d'acide chlorhydrique 4N dans du dioxanne. L'évolution de la coupure est suivie par chromatographie sur couche mince. On évapore sous vide à froid la solution. Le résidu huileux est repris par du méthanol sec et précipité dans de l'éther éthylique anhydre. Après filtration sous vide, on place le peptide dans un dessiccateur et on sèche sous vide sur anhydride phosphorique.

8) Couplage de l'ester actif du t-Boc-Glycine avec la Glycyl-S-Méthyl (ou Benzyl) L-cystéine :

Le mode opératoire est identique à celui du couplage de l'ester actif du t-Boc-Glycine avec la S-Méthyl (ou Benzyl) L-cystéine.

composé	rendement	point de fusion	Rf couche mince	Rf papier
t-Boc	81%	-	-	-
t-Boc-Gly	80%	89°C	0,83	-
t-Boc-Gly e. actif	60%	168°C	0,47	-
t-Boc-Gly-SBC	67%	121°C	0,65	-
t-Boc-Gly-SMC	79%	112°C	0,45	-
t-Boc-Gly-Gly-SBC	résidu huileux	résidu huileux	0,41	-
Cl ⁻ Gly-SBC	66%	-	-	0,56
Cl ⁻ Gly-SMC	46%	-	-	0,25
Cl ⁻ Gly-Gly-SBC	50%	-	-	0,38

TABEAU I

Résultats des synthèses en phase homogène

II SYNTHÈSE EN PHASE GEL

Préparation de Gly-Gly-SMC

Le résidu C-terminal de la séquence du peptide doit être introduit le premier; il s'agit dans le cas présent de la S-Méthyl-L-cystéine. Il est accroché sur la résine selon la méthode de GISIN (47) par son sel de césium.

1) Préparation du sel de césium de la S-Méthyl-L-cystéine :

2 gr de t-Boc-SMC sont ajoutés à une solution de 10 à 15 ml d'éthanol et de 3 à 5 ml d'eau. Le pH est ajusté à 7 au moyen d'une solution aqueuse de carbonate de césium à 20%.

On ajoute un peu de toluène à la solution qui est évaporée rapidement. Le sel de césium de l'acide aminé est obtenu sous forme de poudre blanche qui est ensuite séchée sur P_2O_5 pendant 5 heures.

Le sel de césium est obtenu avec un rendement de 90%.

2) Flottation de la résine :

La résine utilisée est un polystyrène copolymérisé avec 2% de divinylbenzène, chlorométhylé (comportant 0,7 mole de Cl par gramme de résine).

Avant la fixation du premier acide aminé, les fines particules de la résine doivent être éliminées afin que les pores du verre fritté du réacteur ne se bouchent pas.

Pour les enlever, on procède comme suit :

La résine est placée dans du dichlorométhane. La solution est ensuite introduite dans une ampoule à décanter. La résine remonte en surface, seules les petites particules restent en suspension et sont éliminées avec le dichlorométhane.

Cette opération est répétée plusieurs fois, puis la résine est filtrée, séchée et peut alors être utilisée pour greffer le premier acide aminé.

3) Fixation sur la résine :

La méthode générale à utiliser pour fixer le premier acide aminé est la suivante :

- On place dans un tube :
 - 1,5 millimole de sel de césium de t-Boc acide aminé (en large excès)
 - 1 équivalent de résine chlorométhylée (0,7 millimole de Cl^- donc 1 gr de résine)
 - 6 à 8 ml de DMF purifié par gramme de résine.
- Le tube est scellé sous vide et mis sous agitation à 50°C pendant 16 heures.
- La résine gréffée est ensuite filtrée, lavée avec successivement du DMF, une solution de DMF/eau (9 vol /1 vol), puis du DMF et enfin de l'éthanol.

La résine est ensuite séchée et peut être utilisée pour les couplages.

Nous avons procédé de cette façon en utilisant comme acide aminé de départ la S-Méthyl-L-cystéine. La quantité de résine utilisée est 10 gr (7 millimoles de Cl^-) et celle de t-Boc-SMC est 15 millimoles (5,5 gr).

4) Couplage en phase gel :

L'ensemble (résine - acide aminé protégé) alors obtenu est introduit dans le réacteur, puis mis à gonfler dans un solvant judicieusement choisi.

Après élimination de ce solvant, la résine est prélavée par le réactif de déprotection de la fonction aminée pendant 2 minutes.

Le groupement protecteur est totalement éliminé par réaction pendant 30 minutes, avec le réactif (HCl 4N/dioxanne).

La résine - acide aminé - chlorhydrate est lavée plusieurs fois afin d'éliminer l'excès de réactif emprisonné dans les pores de la résine.

Le même type d'opérations (prélavage - neutralisation - lavage) est répété avec le réactif de neutralisation. La résine obtenue, lavée, est sous forme résine - acide aminé et peut alors être utilisée pour la réaction de couplage.

La résine est mise à gonfler et lavée par le solvant servant pour le couplage.

On additionne le second acide aminé protégé et le réactif de couplage.

Après deux heures de réaction, on élimine le réactif et l'acide aminé en excès, puis on lave l'ensemble résine - AA₁ - AA₂ protégé par le solvant utilisé lors de la réaction de couplage.

Le cycle est alors terminé, et une nouvelle réaction de couplage d'un troisième acide aminé peut alors être envisagée.

Le schéma récapitulatif des opérations est présenté à la figure 1 pour un couplage à la D.C.C.I., H.O.B.T.

On introduit 2,5 fois plus d'acide aminé à coupler que celui fixé sur la résine. Il en est de même pour les réactifs de couplage.

On prépare une solution de 3,06 gr (17,5 millimoles) de t-Boc-Glycine dans 35 ml de dichlorométhane et une solution contenant 3,61 gr (17,5 millimoles) de D.C.C.I. et 2,68 gr (17,5 millimoles) d'H.O.B.T. dans 13 ml de CH₂Cl₂ ceci pour un couplage.

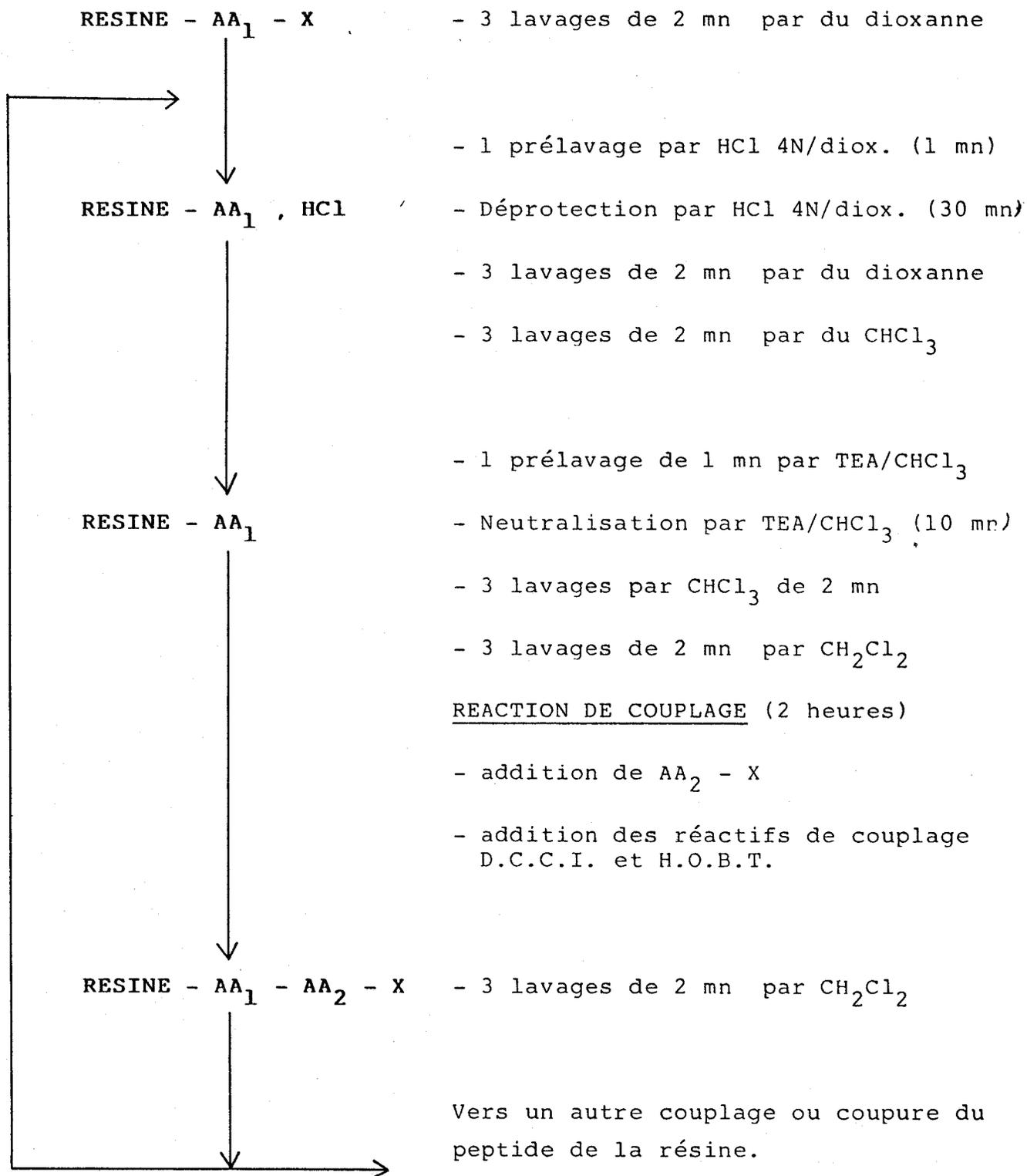


FIGURE 1

Le bon déroulement du couplage est suivi par un certain nombre de tests.

Ces tests ont été proposés par KAISER et Coll. (94).

Un peu de résine est prélevée puis soumise à deux opérations.

a) Réaction directe avec la ninhydrine :

Un échantillon de résine est placé dans un tube à hémolyse, on ajoute la ninhydrine. Le tube est laissé dans une enceinte chauffée à 100°C pendant deux à trois minutes. Si la résine reste blanche et la solution jaune, alors le test est négatif. Ceci veut dire que la réaction de couplage a été complète et que le groupe t-Boc protège la fonction amine.

b) Réaction après déprotection :

La fonction amine du peptide fixé sur la résine est déprotégée par addition d'acide trifluoroacétique puis lavée par du dichlorométhane.

Le test à la ninhydrine est exécuté sur la résine lavée.

La réaction est positive et montre bien que la fonction amine était protégée par le groupe t-Boc.

Ces deux opérations complémentaires sont les seuls tests rapides qui peuvent nous donner une indication sur le taux de couplage à chaque étape.

Dés que la synthèse de la séquence est terminée, l'ensemble (résine - peptide) est lavé par de l'éthanol, filtré et séché. Il est conservé au froid sur desséchants (P_2O_5 et soude).

5) Déprotection par l'acide fluorhydrique :

L'appareil qui est utilisé pour ce type d'opérations, doit être construit entièrement en polymères fluorés (téflon).

L'appareil utilisé se compose de trois réacteurs en téflon ($R_1 - R_2 - R_3$), d'une bouteille réservoir de HF, d'un piège de sortie (R_4) et d'une trompe à eau (P). Les réacteurs sont isolés par des vannes ($V_1 - V_2 - V_3$).

- Le premier réacteur (R_1) sert à mesurer le volume de HF qui est condensé par de l'azote liquide. Le HF condensé est desséché sur trifluorure de cobalt. En effet, toutes les opérations doivent être menées en milieu rigoureusement anhydre afin d'éviter le risque d'hydrolyse des fonctions amides.

- Le second réacteur (R_2) reçoit l'ensemble résine - peptide. On ajoute éventuellement de l'anisole pour protéger les acides aminés sensibles.

- Le troisième réacteur (R_3) sert lors de la distillation du HF vers le piège.

HF est un gaz très toxique, aussi l'opération est-elle menée sous une hotte fortement ventilée et en prenant des précautions particulières.

On procède comme suit pour enlever le peptide de la résine :

1) - Le vide est fait dans la ligne HF au moyen d'une trompe à eau.

Le premier réacteur R_1 est ensuite isolé en maintenant fermées les vannes V_1 et V_2 .

Il est refroidi par de l'azote liquide.

Le robinet de la bouteille (D) est ouvert doucement ainsi que la vanne V_1 . Le HF distillé est condensé, dans le réacteur R_1 , jusqu'à l'obtention d'un volume prédéterminé.

Le volume atteint, le robinet (D) est fermé, puis la vanne V_1 .

Le HF condensé est alors desséché sur trifluorure de cobalt; une agitation est maintenue constante tout au long de cette opération.

2) - Après un quart d'heure, le HF est transféré du premier réacteur (R_1) au réacteur contenant la résine (R_2). Pour ce faire, on procède de la façon suivante :

- le vide est fait dans le réacteur R_2 qui est refroidi par de l'azote liquide (la vanne V_3 est maintenue ouverte).

- la vanne V_2 est ouverte doucement; le HF est alors réchauffé lentement à température ambiante. Il est transféré par distillation du réacteur R_1 au réacteur R_2 . Cette distillation est contrôlée par un robinet de dépression V_4 qui permet d'augmenter ou de diminuer le vide dans la ligne HF.

- cette distillation contrôlée évite l'entraînement du trifluorure de cobalt par HF dans le réacteur R_2 contenant l'ensemble résine - peptide.

- la distillation terminée, le réacteur R_2 est isolé par fermeture des vannes V_3 et V_2 .

- une agitation constante est maintenue au sein de la solution, gardée à une température de 0°C par un bain de glace.

- la coloration dans le réacteur R_2 devient souvent rouge. Elle disparaîtra lors de la distillation du HF et de l'élimination de l'anisole.

3) - Le temps de coupure étant dépassé, le HF est éliminé par distillation.

Pour ce faire, on laisse revenir à température ambiante le réacteur R_2 , on ouvre la vanne V_3 et le HF distille lentement vers le réacteur R_3 dans lequel il est condensé, puis vers le piège de sortie contenant de la chaux (R_4).

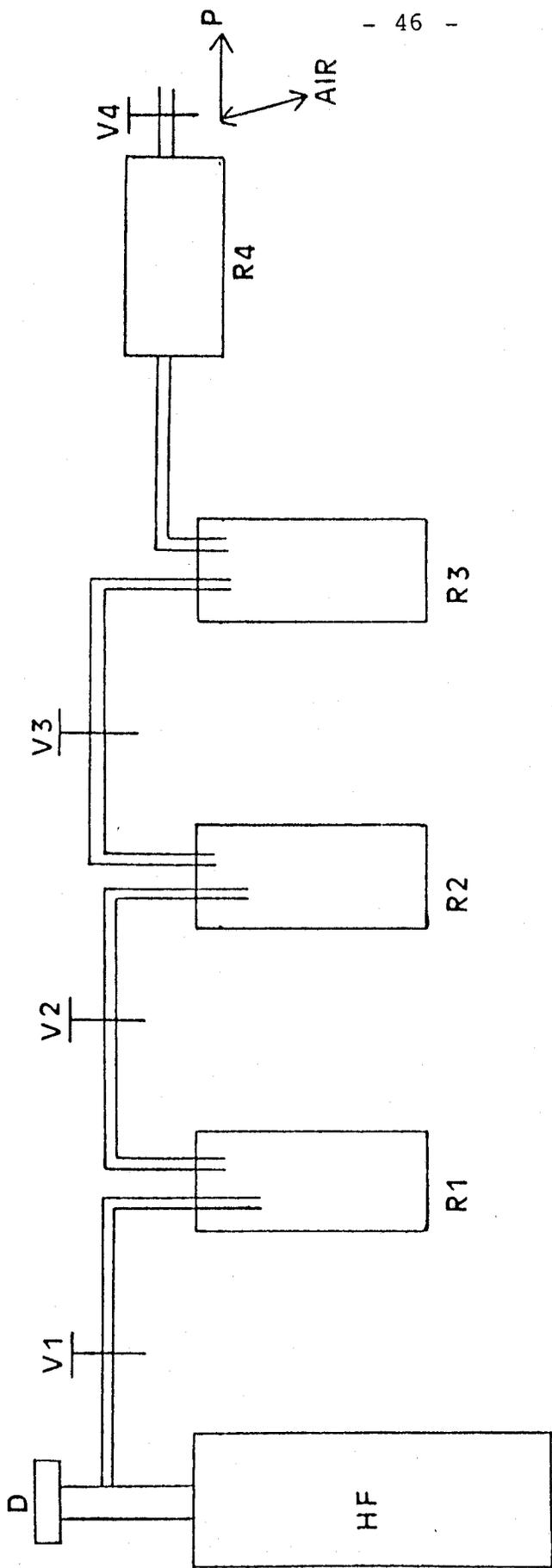


FIGURE 2

Schéma de la ligne HF

Quand la réaction est terminée, le HF condensé est neutralisé par de la chaux.

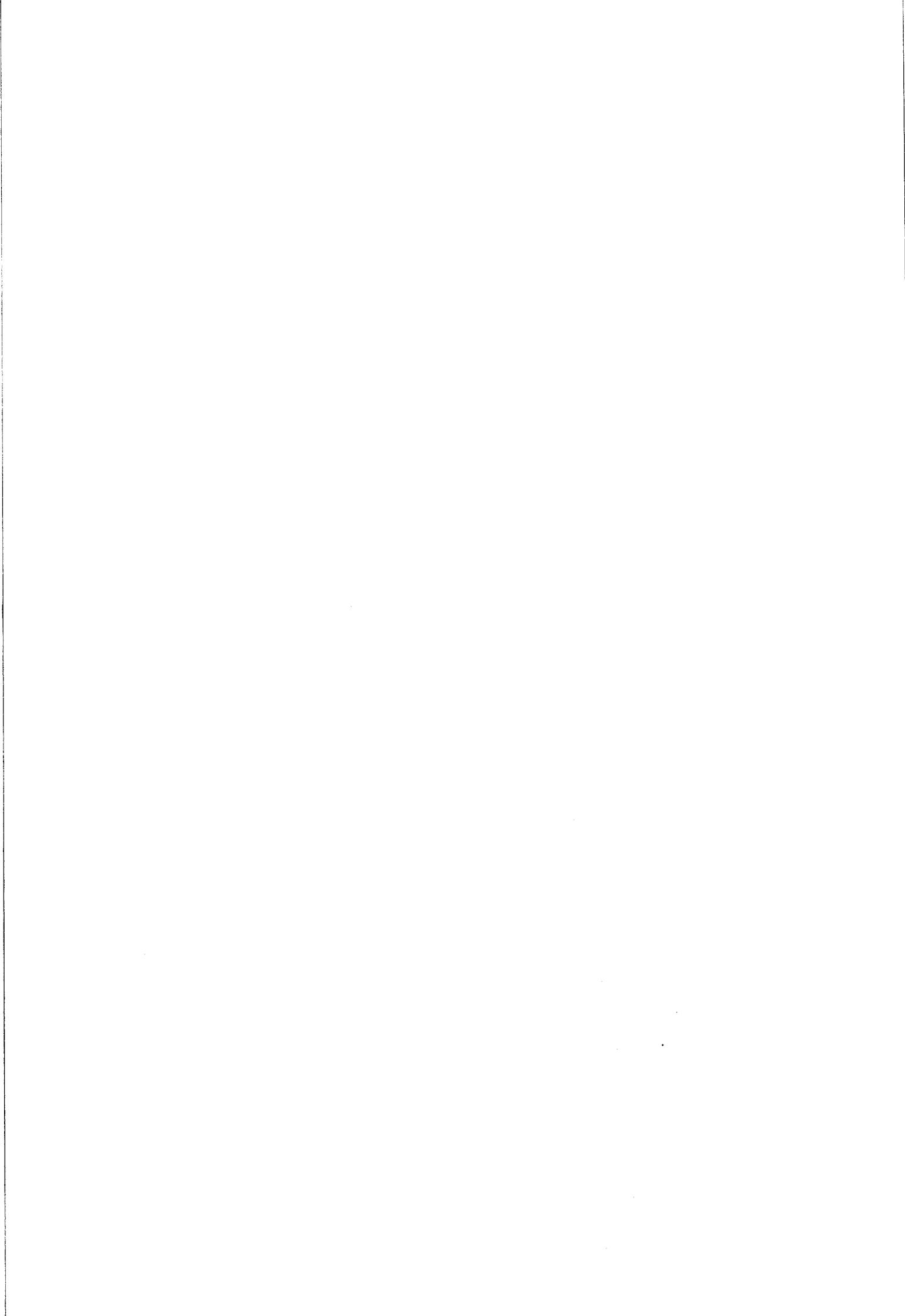
4) - Le peptide et la résine sont alors mis en suspension dans de l'éther ou de l'acétate d'éthyle qui élimine les dernières traces d'anisole.

L'éther ou l'acétate d'éthyle sont éliminés par filtration.

Le peptide est extrait par lavage à l'eau ou à l'acide acétique à 5%.

Les phases aqueuses sont ensuite lyophilisées et le peptide est purifié.

Nous avons obtenu le peptide Gly-Gly-SMC avec un rendement après coupure de près de 25% par rapport au t-Boc-SMC fixé sur la résine.



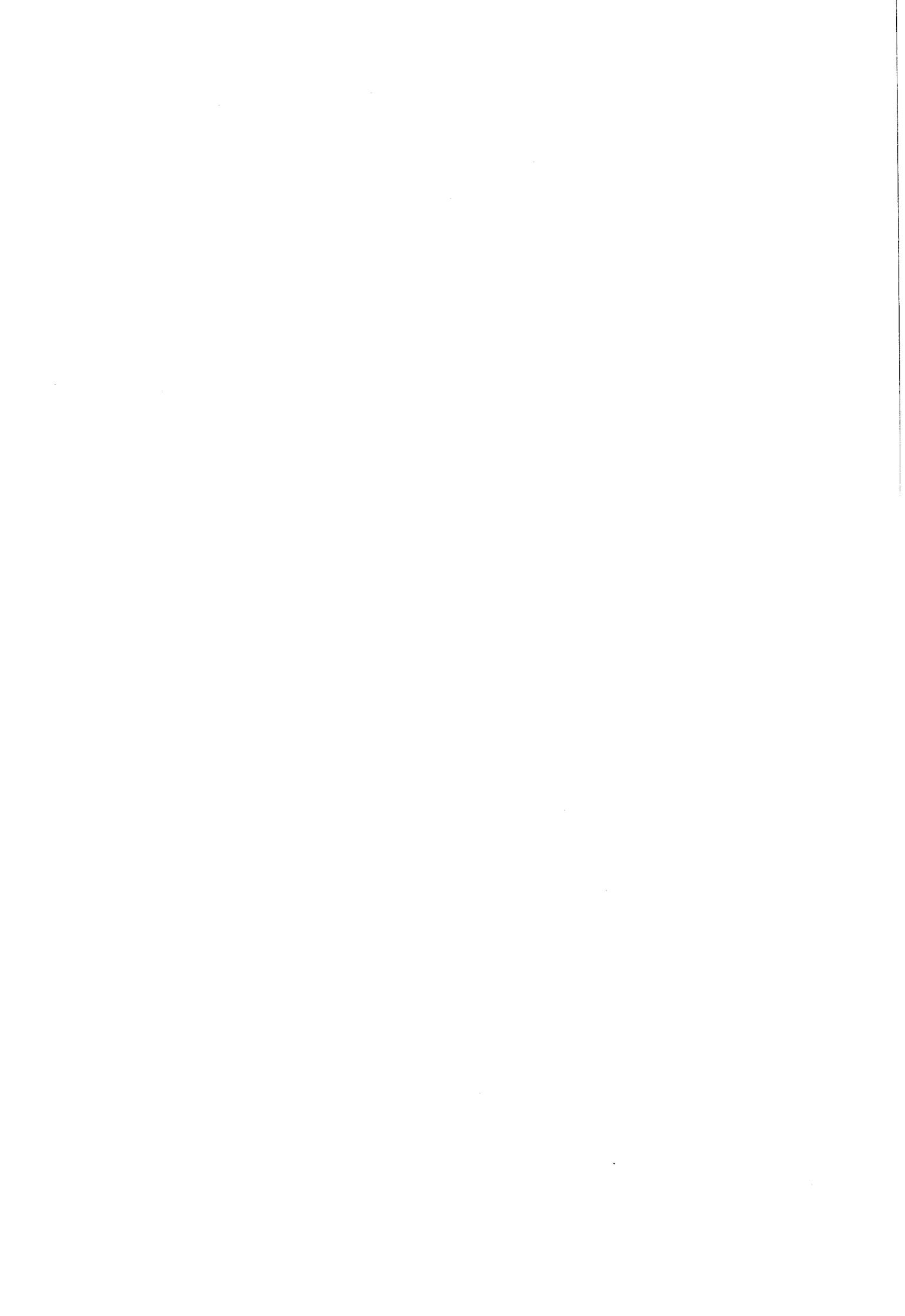
CHAPITRE III

ETUDE DE LA COMPLEXATION DU Pd (II)

ET DU Pt (II) PAR DES AMINO ACIDES SOUFRES

PAR DICHROISME CIRCULAIRE ET SPECTROSCOPIE ELECTRONIQUE

Les peptides libres et complexés peuvent être étudiés par spectroscopie électronique et par dichroïsme circulaire en raison de la présence de centres asymétriques.



I ETUDE THEORIQUE DES TRANSITIONS ELECTRONIQUES DES PEPTIDES LIBRES

A) Chromophores amide et acide :

Ces chromophores symétriques sont optiquement inactifs mais placés dans un environnement moléculaire asymétrique, ils deviennent optiquement actifs.

La figure 3 représente le diagramme énergétique du chromophore amide.

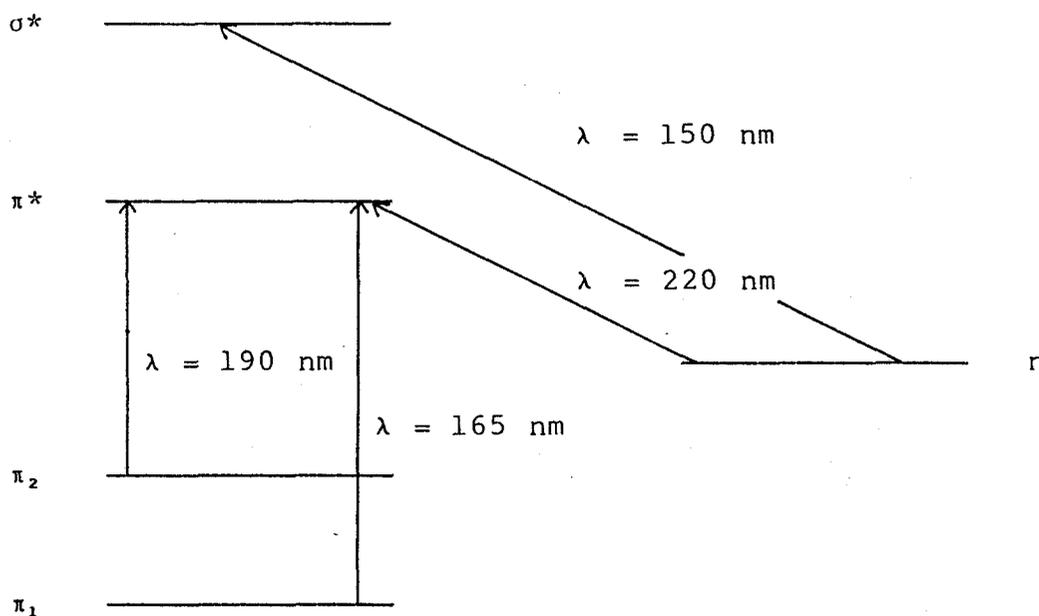


FIGURE 3

L'interaction entre les électrons non liants de l'oxygène ou de l'azote et les orbitales π du groupement carbonyle a pour effet d'augmenter l'énergie de l'orbitale anti-liante π^* et de séparer l'orbitale π liante en deux orbitales π_1 et π_2 (54).

Il existe donc :

- une transition $n \rightarrow \pi^*$ d'un électron d'une orbitale non liante de l'atome d'oxygène vers l'orbitale anti-liante π^* ($\lambda_{\max} = 220 \text{ nm}$).
- deux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ dont la plus intense est celle centrée à $\lambda_{\max} = 190 \text{ nm}$.
- et une transition $n \rightarrow \sigma^*$ centrée vers 150 nm mettant en jeu les électrons non liants de l'atome d'azote qui est difficilement accessible expérimentalement.

Pour le chromophore acide, on distingue également une transition $n \rightarrow \pi^*$ que l'on situe vers 207 nm . La longueur d'onde et l'intensité de cette bande d'absorption varient souvent avec le pH du milieu (55).

Cette transition est habituellement faible, la bande correspondante peut être partiellement masquée par la présence dans la même région de la bande $\pi_1 \rightarrow \pi^*$ amide qui est plus intense.

Le groupement carboxyle présente également une transition $\pi_1 \rightarrow \pi^*$ située approximativement à 170 nm mais qui est difficilement observable expérimentalement.

B) Chromophore benzénique

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 entre 180 et 300 nm (51, 56) :

- une transition (${}^1B_{2u} \leftarrow {}^1A_{1g}$), interdite pour des raisons de symétrie, qui donne naissance à une bande de faible intensité centrée à 256 nm .
- deux transitions appelées bandes principales ou primaires donnant deux bandes d'absorption l'une très forte à 185 nm notée ${}^1E_{1u} \leftarrow {}^1A_{1g}$ et l'autre située à 200 nm (${}^1B_{1u} \leftarrow {}^1A_{1g}$).

C) Chromophore sulfuré

Les spectres d'absorption des sulfures organiques (R_2S) ont été très étudiés bien que la majeure partie des travaux concerne les composés aromatiques (56).

En spectroscopie U.V., les dialkyles sulfures présentent une bande d'absorption de faible intensité habituellement observée comme un épaulement proche de 230 nm (57, 58). De plus, une transition électronique intervient à de plus courtes longueurs d'onde, à environ 210 nm avec un ϵ compris entre 1000 et 2500.

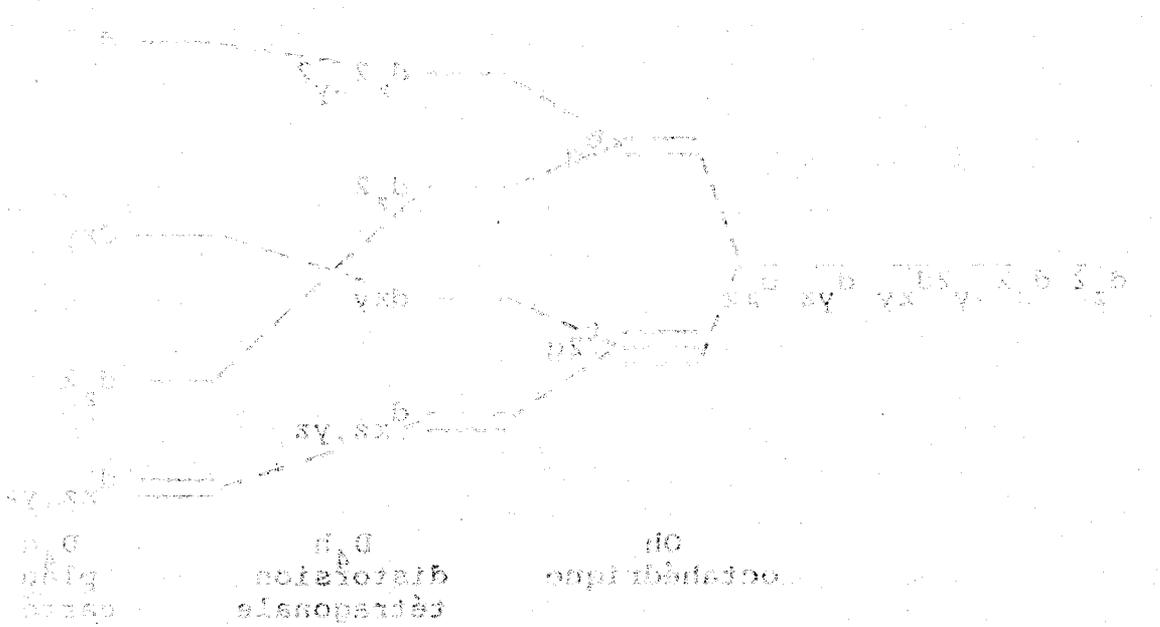


FIGURE 4

II ETUDE THEORIQUE DES TRANSITIONS ELECTRONIQUES DES PEPTIDES COMPLEXES

A) Transitions électroniques du métal :

Les cinq orbitales d du palladium ou du platine, bien que différentes, ont toutes la même énergie dans l'atome ou dans l'ion libre. Or, la présence autour du cation des charges négatives dues aux ligands lève cette dégénérescence.

L'effet produit sur les énergies des orbitales d, dépend de la disposition des ligands autour du cation métallique. De ce fait, l'éclatement des niveaux d'énergie de l'ion complexé est une mesure de la symétrie de son environnement chimique.

Les complexes du Pd(II) et du Pt(II) que nous avons étudiés présentent une symétrie de type D_4h caractéristique des complexes dit "plan-carrés".

La figure 4 montre le diagramme énergétique des orbitales de ces cations métalliques :

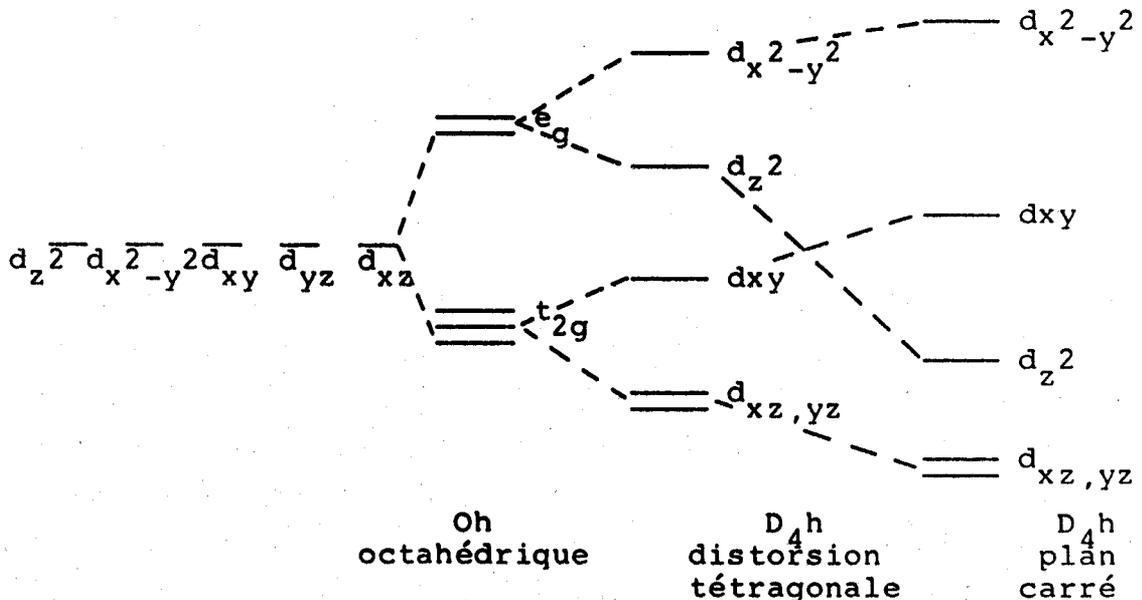


FIGURE 4

De ce fait, les spectres d'absorption dans la région visible et du proche U.V. des complexes du Palladium (II) et du platine (II) sont dus aux transitions électroniques suivantes :

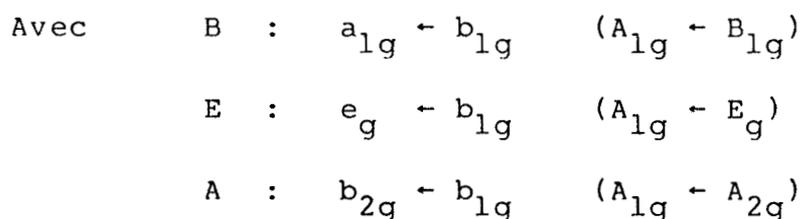
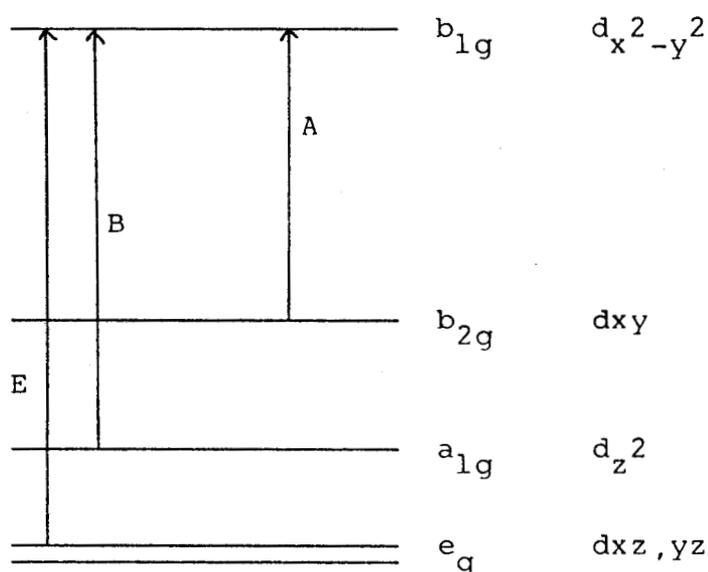


FIGURE 5

De plus, une levée de dégénérescence des niveaux d'énergie dxz et d_{yz} est mise en évidence lorsqu'une diminution de symétrie du complexe intervient, celui-ci passant d'un type "plan carré" (D_{4h}) à une symétrie de type orthorhombique (D_2). Ce passage à une symétrie plus basse provoque le dédoublement de la transition E en deux transitions dichroïques Γ_a et Γ_b (figure 6) (53).

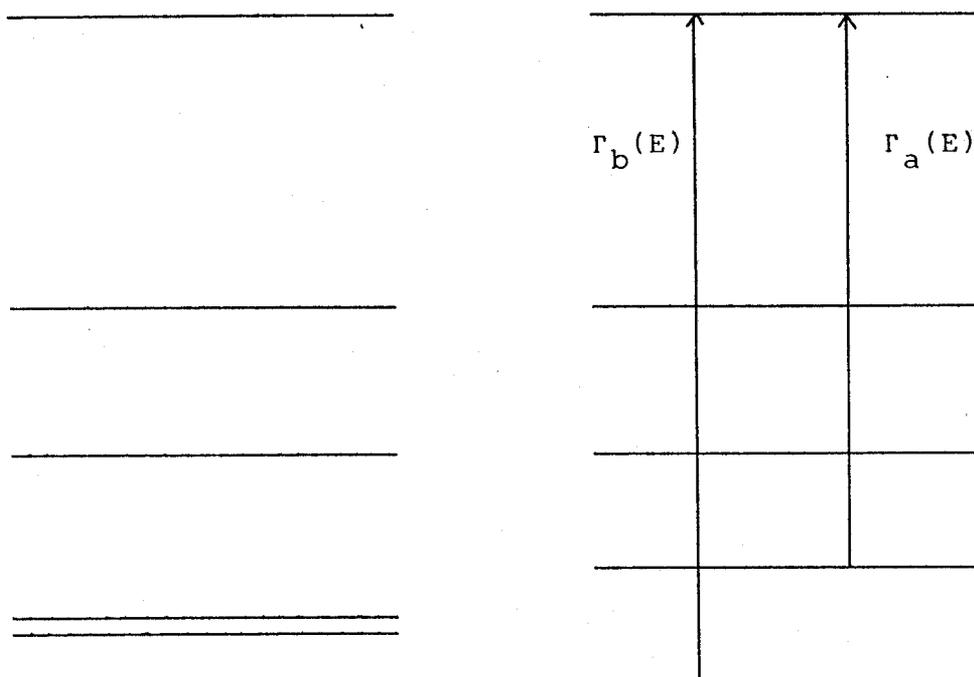


FIGURE 6

Les maxima d'absorption pour les bandes d-d du Pd(II) et du Pt(II) sont situés entre 300 et 500 nm. En spectroscopie U.V. la visualisation des transitions d-d est difficile. Elles se manifestent sous la forme d'un épaulement englobant les différentes transitions situés sur la bande de transfert de charge soufre-métal, les ϵ des transitions d-d étant faibles comparés au ϵ des transitions de transfert de charge.

B) Transitions électroniques par transfert de charge :

L'absorption par transfert de charge est caractéristique des transferts électroniques d'une orbitale principalement localisée sur un atome vers une orbitale essentiellement localisée sur un autre atome. Les énergies de ces transitions sont habituellement beaucoup plus élevées que celles correspondant aux transitions d-d.

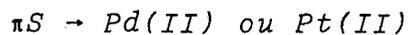
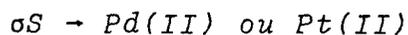
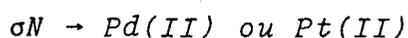
Le spectre de transfert de charge qui en résulte présente une absorption intense, généralement dans le domaine de l'ultraviolet.

Ces processus de transfert de charge sont de deux types : du type ligand vers le métal, noté $L \rightarrow M$, dans lequel un électron est transféré d'une orbitale localisée en grande partie sur le ligand vers une orbitale localisée surtout sur le métal, et du type métal vers ligand, noté $M \rightarrow L$, dans lequel l'électron est transféré dans le sens inverse du cas précédent.

Les transitions par transfert de charge, au contraire, des transitions $d-d$, ne sont souvent interdites ni par multiplicité ni au sens de Laporte; par conséquent, elles donnent de fortes bandes d'absorption avec des coefficients d'extinction dont les valeurs sont comprises entre 500 et 2000.

Ce fait, associé à la différence d'énergie, permet de distinguer l'absorption par transfert de charge des absorptions dues à des transitions $d-d$ pour lesquelles ϵ est en général inférieur à 100.

Avec des ligands de type glycine ou *S*-alkyl-*L*-cystéine, trois types de transfert de charge peuvent intervenir :



L'énergie du transfert de charge soufre \rightarrow métal est plus faible que pour le transfert azote \rightarrow métal. Le nombre de couches électroniques de l'atome d'azote étant inférieur à celui de l'atome de soufre.

III ETUDE THEORIQUE DU DICHROISME CIRCULAIRE

Quand une onde électromagnétique linéairement polarisée traverse un milieu possédant un chromophore optiquement actif, ses composantes circulairement polarisées gauche et droite sont différemment absorbées : $\epsilon_G \neq \epsilon_D$. Il y a apparition du phénomène de dichroïsme circulaire. La lumière résultante est elliptiquement polarisée (51 - 53).

L'activité optique est donc liée à l'anisotropie optique du milieu.

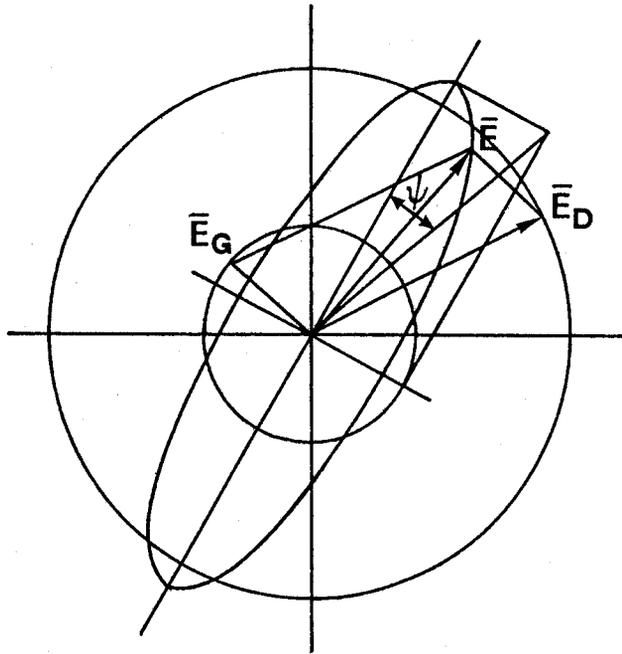


FIGURE 7

L'angle φ appelé ellipticité est relié aux indices d'absorption K_G et K_D des lumières circulairement polarisées gauche et droite par la relation :

$$\varphi = \frac{\pi}{\lambda} (K_G - K_D) L$$

φ : ellipticité exprimée en radians

λ : longueur d'onde de l'onde électromagnétique

L : épaisseur du milieu

Pour exprimer l'ellipticité d'un soluté d'une manière pratique, deux grandeurs macroscopiques ont été introduites :

- l'ellipticité spécifique

$$\varphi = \frac{\varphi}{lc}$$

φ : ellipticité exprimée en degrés

l : épaisseur du milieu exprimée en décimètres

c : concentration du soluté exprimée en gramme par millilitre de solution

- l'ellipticité molaire

$$\theta = \frac{\varphi M}{100}$$

M : masse moléculaire du soluté

Sachant que l'indice d'absorption K est relié au coefficient d'extinction molaire ϵ par la relation :

$$K = \frac{2,3\lambda}{4\pi} C$$

C : concentration du soluté exprimée en mole par litre

On montre que :

$$\theta = 3300 (\epsilon_G - \epsilon_D) = 3300 \Delta\epsilon$$

$\Delta\epsilon = \epsilon_G - \epsilon_D$ porte le nom d'absorption différentielle dichroïque.

L'ellipticité molaire θ s'exprime en degré.cm⁻¹.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.

On a donc :

$$\theta = \frac{3300 M (A_G - A_D) S}{lc}$$

c : concentration du soluté exprimée en gramme par litre

l : épaisseur du milieu exprimée en centimètre

S : est la sensibilité exprimée en mm⁻¹

La différence $A_G - A_D$ est mesurée sur le spectre en mm.

La combinaison de l'absorption différentielle (dichroïsme circulaire) et de la différence de vitesse de transmission de la lumière polarisée droite et gauche (activité optique), dans la région spectrale où se manifeste une bande d'absorption optiquement active est appelée "effet COTTON".

Les courbes dichroïques représentent les variations de $\Delta\epsilon$ ou θ en fonction de la longueur d'onde. On obtient ainsi des courbes à effet Cotton positif ou effet Cotton négatif représentant les mêmes absorptions que les courbes de spectroscopie électronique.

Il peut être nécessaire d'expliciter une autre grandeur qui permet de mesurer les interactions entre un chromophore et son entourage asymétrique : la force rotationnelle. Elle est parfois utilisée pour mesurer l'asymétrie induite dans la distribution électronique du chromophore.

Les phénomènes d'absorption et de dichroïsme trouvent leur origine dans des déplacements de charges induits par une onde électromagnétique; ces déplacements produisent des dipôles électriques et magnétiques, c'est pourquoi la force rotationnelle R_K d'un chromophore est liée à ces moments électriques et magnétiques induits :

$$R_K = \mu_e^K \cdot \mu_m^K$$

μ_e et μ_m ont respectivement les dimensions des moments électriques et magnétiques.

Si une molécule possède soit un centre de symétrie, soit un plan de symétrie, R_K sera égal à zéro et on n'observera pas d'activité optique.

IV ETUDES EN DICHROISME CIRCULAIRE
DES TRANSITIONS ELECTRONIQUES DES
PEPTIDES LIBRES ET COMPLEXES

En examinant les spectres dichroïques des peptides libres et complexés, trois régions particulières peuvent être mises en évidence :

- région des transitions intraligand du type amide ou acide ($\lambda < 220$ nm)
- région des transitions électroniques par transfert de charge et intrasulfure ($225 \text{ nm} < \lambda < 290$ nm).
- région des transitions électroniques centrées sur les orbitales d-d du métal ($\lambda > 300$ nm).

Les transitions intraligand du type amide ou acide présentent un spectre beaucoup trop compliqué pour pouvoir être aisément exploité. De nombreuses bandes se superposent dans cette région spectrale et il est pratiquement impossible d'extraire individuellement ces transitions.

Par contre, les deux autres régions correspondant aux transitions électroniques par transfert de charge et aux bandes d-d du métal sont d'une aide très précieuse et fournissent de nombreux renseignements concernant les complexes formés.

A) Région spectrale des transitions d-d du métal :

Les différentes transitions électroniques pouvant intervenir sur les couches d-d du métal ont été présentées dans le chapitre II et il y est précisé que celles-ci se traduisent en spectroscopie U.V. comme un large épaulement rendant impossible la différenciation de ces transitions.

La proximité immédiate dans l'espace du carbone asymétrique des acides aminés coordonnés au métal provoque une perturbation asymétrique des transitions électroniques d-d.

Il y a ainsi création d'un effet Cotton qui va permettre d'individualiser les cinq transitions possibles. De plus, la région d-d ne se présente plus comme un épaulement de la bande de transfert de charge mais devient bien indépendante du reste du spectre.

En dichroïsme circulaire, la transition B est "interdite" pour le groupe de symétrie D_{4h} , seules les transitions A et E peuvent être observées.

B) région spectrale des transitions électroniques aromatiques, intrasulfures et par transfert de charge :

Les transitions électroniques aromatiques, intrasulfures et par transfert de charge ne présentent pas habituellement de signal dichroïque. Toutefois, lorsque les chromophores impliqués dans ces transitions sont au voisinage d'un centre chiral, celles-ci sont perturbées asymétriquement et deviennent actives en dichroïsme circulaire.

L'apparition et l'activation de ces bandes dichroïques particulières sont très utiles pour mettre en évidence et déterminer les différents sites de complexation ainsi que les changements de conformation des complexes étudiés.

V PARTIE EXPERIMENTALE

Toutes les solutions ont été préparées à partir d'eau distillée. Les concentrations en aminoacide et peptide sont comprises entre $5 \cdot 10^{-3}$ et $5 \cdot 10^{-4}$ mole par litre suivant la solubilité du composé et le rapport peptide/métal est de 1.

Les spectres d'absorption ont été effectués sur un spectrophotomètre U.V. - visible Cary 219. Les cellules utilisées sont en quartz et d'épaisseur 0,1 cm ou 1 cm. Les régions explorées vont de 200 à 500 nm.

Les spectres dichroïques ont été réalisés sur un dichrographe Jobin et Yvon Mark III muni d'un système d'acquisition et de traitement de données. Les mesures ont été faites avec des cellules en quartz de 0,01 à 2 cm d'épaisseur. Le domaine de longueur d'onde exploré est de 200 nm à 500 nm.

VI ETUDE DES COMPLEXES DU Pd(II)

A) S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II)

a) Spectroscopie U.V. :

Comme cela a été exposé dans les généralités la spectroscopie U.V. n'apporte pas beaucoup de renseignements en ce qui concerne le complexe étudié.

L'apparition de transitions électroniques par transfert de charge (T.C.) dans la zone 250-300 nm semble indiquer que l'on a bien la formation d'un complexe (Tableau II). Néanmoins, ces bandes observées comme des épaulements peuvent aussi renfermer les transitions électroniques intrasulfures et aromatiques propres au ligand.

Toutefois, en comparant les valeurs et longueurs d'onde maxima des transitions spécifiques aux orbitales d-d du métal (tableau III) on observe un net déplacement des énergies de ces transitions vers les plus courtes longueurs d'onde, ce qui semble révéler la formation d'un complexe impliquant la S-benzyl-L-cysteine.

En examinant les variations énergétiques des transitions d-d en fonction du pH, un changement de substituants sur les deux sites de coordinations du Pd(II) non occupés par la SBC est mis en évidence. Les Cl^- sont totalement ou partiellement remplacés par H_2O ou OH^- en fonction de la variation de pH (62,69) et provoquent ainsi un déplacement de longueur d'onde en accord avec la série spectroscopique.

b) Dichroïsme circulaire :

Région visible

Dans ce domaine de longueur d'onde, les complexes métalliques des acides aminés ou des peptides présentent des effets Cotton positifs et négatifs caractéristiques des transitions électroniques d-d à l'intérieur de l'ion métallique, comme cela a été exposé précédemment.

pH	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{l}$)	attribution
0,9	384	750	d-d
	280 (ep.)	5200	trans. de charge, intrasulfure et aromatique.
	250 (ep.)		
4,85	375	1000	d-d
	272 (ep.)	7000	trans. de charge, intrasulfure et aromatique.
10,8	368	450	d-d

TABLEAU II

Principales transitions électroniques de Pd(II) - SBC

pH	λ max (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{l}$)
1,6	448	145
4,2	415	570
12,3	370	144

TABLEAU III

Transitions électroniques de K_2PdCl_4

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
0,8	400 (-0,80)		A
	353 (+0,58)		Γ_a (E) et Γ_b (E)
		296 (-0,26)	$\pi S \rightarrow Pd(II)$
4,2		265 (+0,90)	intrasulfure et aromatique.
	400 (-0,54)		A
	354 (+0,58)		Γ_a (E) et Γ_b (E)
7,5		278 (+1,40)	$\pi S \rightarrow Pd(II)$
		250 (+1,10)	intrasulfure et aromatique.
		238 (+2,40)	$\sigma S \rightarrow Pd(II)$
	425 (+0,25)		A et B
	367 (+0,49)		Γ_b (E)
	330 (-0,24)		Γ_a (E)
		272 (+0,37)	$\pi S \rightarrow Pd(II)$, intra
		245 (-1,20)	sul. et aromatique. $\sigma S \rightarrow Pd(II)$

TABLEAU IV

Principales bandes dichroïques de Pd(II)-SBC

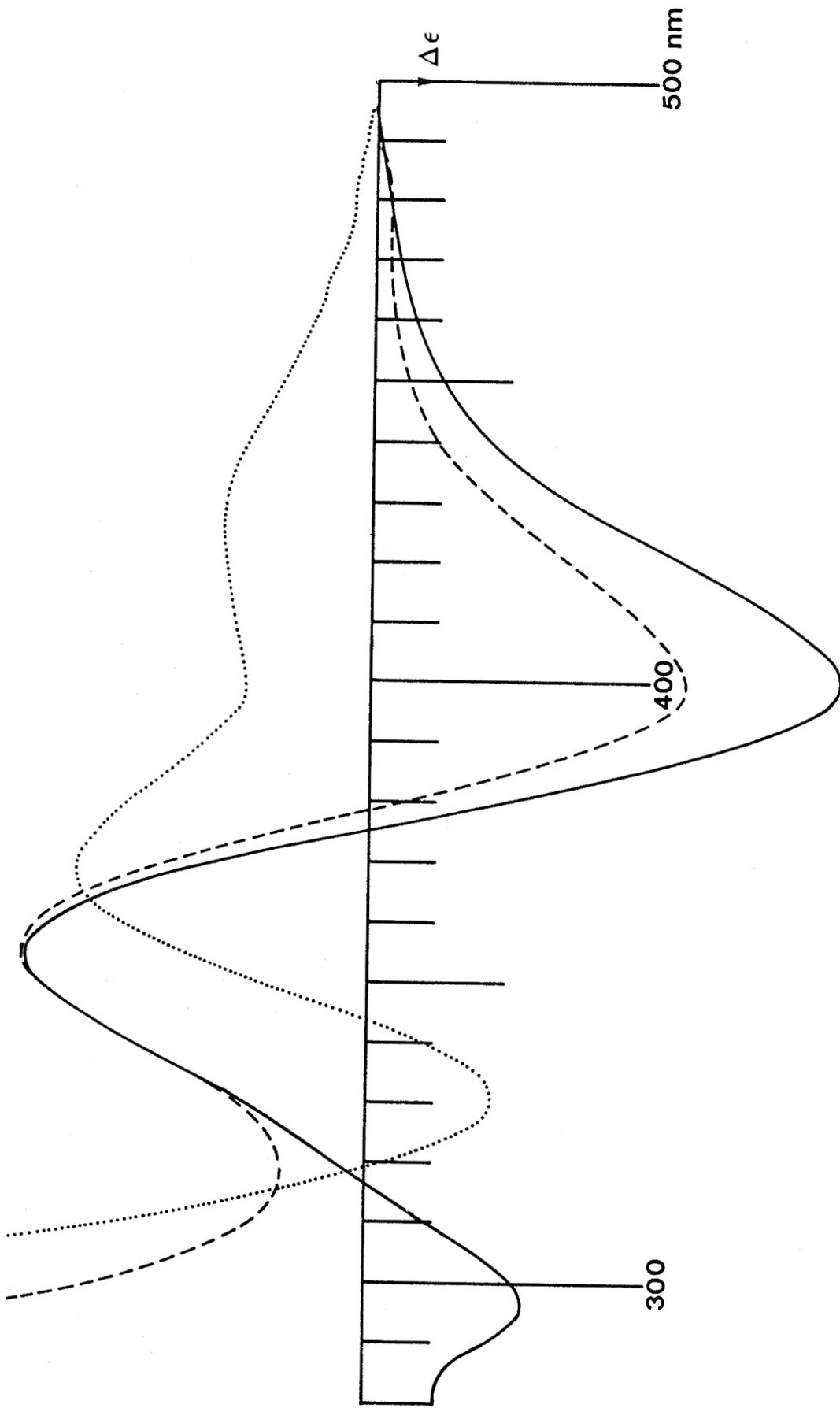


FIGURE 8

Spectre D.C. de SBC - Pd(II) (500-300 nm)

pH = 0,8 (—); 4,2 (---); 7,5 (.....)

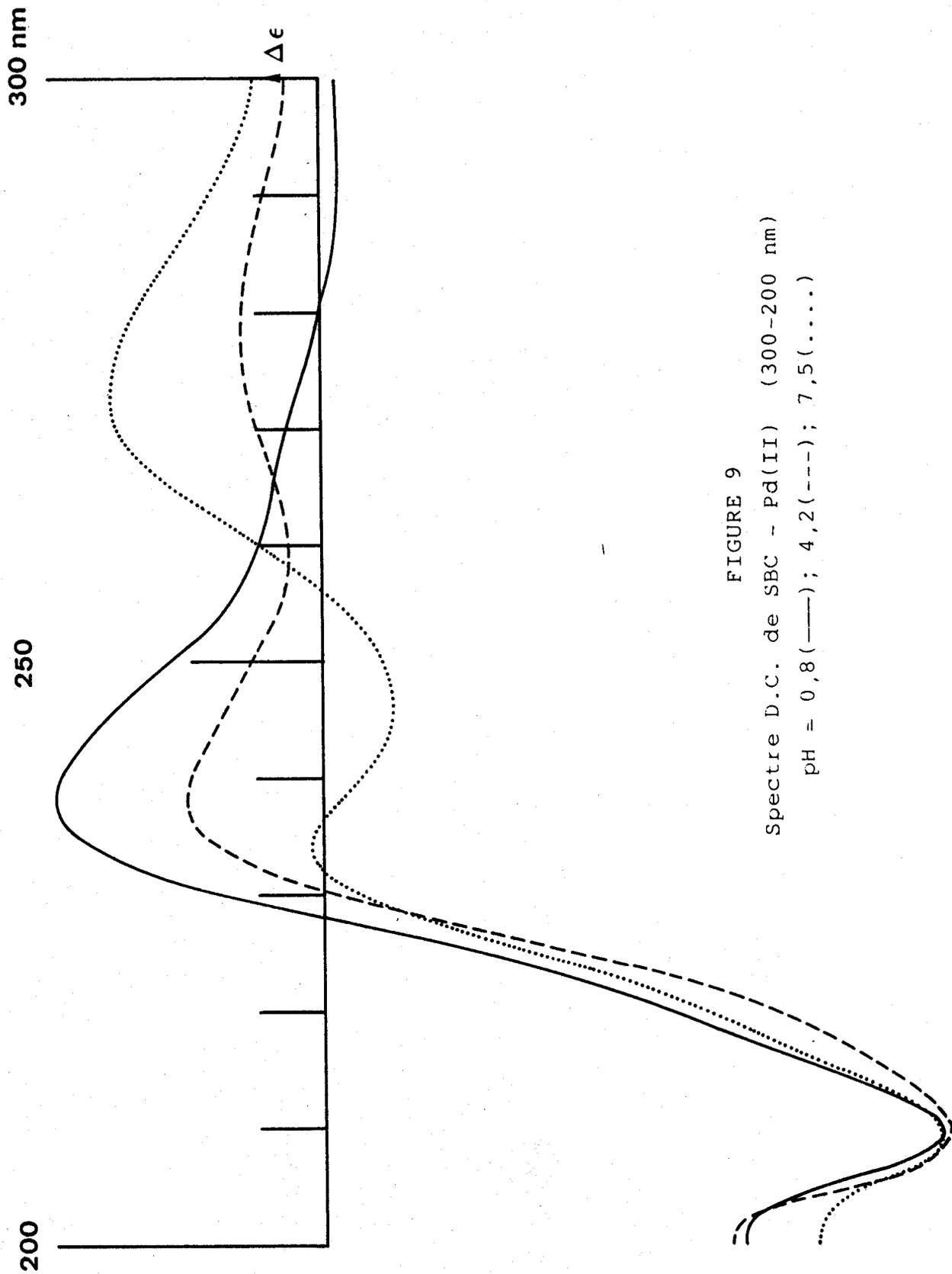
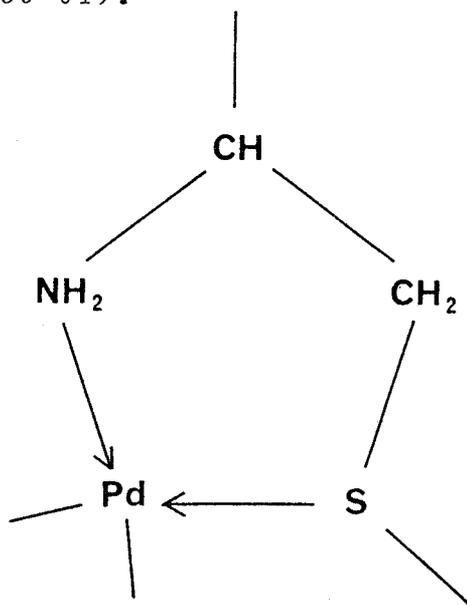


FIGURE 9
Spectre D.C. de SBC - Pd(II) (300-200 nm)
pH = 0,8(—); 4,2(---); 7,5(.....)

Quelque soit le pH (jusque 5), les spectres dichroïques de Pd(II)-S-Benzyl-L-cystéine sont identiques et présentent un effet Cotton négatif situé à 400 nm ($\Delta\epsilon = -0,80$) et un effet Cotton positif à 350 nm environ ($\Delta\epsilon = +0,58$) (tableau IV). Ces deux bandes d'absorption peuvent être attribuées d'une part à la transition électronique A (400 nm) et pour la bande non symétrique située à environ 350 nm aux deux transitions $\Gamma_a(E)$ et $\Gamma_b(E)$ résultant de la levée de dégénérescence de la transition E.

Dans ce domaine de pH, le spectre dichroïque de la S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II) est sensiblement identique à celui de la S-Méthyl-L-cystéine : Pd(II), et la valeur des énergies des transitions électroniques semble caractéristique d'une coordination [N,S], comme cela a été mis en évidence dans le cas du complexe de la S-Méthyl-L-cystéine et du Pd(II) (59-61).



En se référant à la série spectroscopique, le remplacement d'un Cl^- par un azote ou un soufre sur le métal provoque une stabilisation du complexe par effet de champ de ligand, donc une augmentation d'énergie des transitions électroniques d-d.

D'autre part, les valeurs des λ_{max} observées en U.V. sont sensiblement les mêmes que celles calculées à partir

des paramètres δ_x déterminés pour les complexes plan-carrés du Pd(II) (76). Ces paramètres caractérisent les groupes fonctionnels du ligand complexés à un ion métallique spécifique.

Les δ_x pour différentes fonctions liées au Pd(II) sont présentés dans le tableau V.

fonction	δ_x (kK)
H ₂ O	6,6
Cl ⁻	5,3
S ⁻	5,3
NH ₂	8,1
COO ⁻	7,5
N ⁻ (1)	8,3
N ⁻ (2)	9,4

TABLEAU V

Ils ont été approchés empiriquement par comparaison des spectres d'absorption de différents complexes du Pd(II) portant ces groupes fonctionnels.

La variation d'énergie des transitions électroniques d-d due au remplacement des ligands est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\Delta = n_a \delta_a + n_b \delta_b + n_c \delta_c + n_d \delta_d \quad \text{et} \quad \sum_1^4 n_i = 4$$

δ_a , δ_b , δ_c et δ_d sont les paramètres des ligands placés dans le plan x,y du complexe.

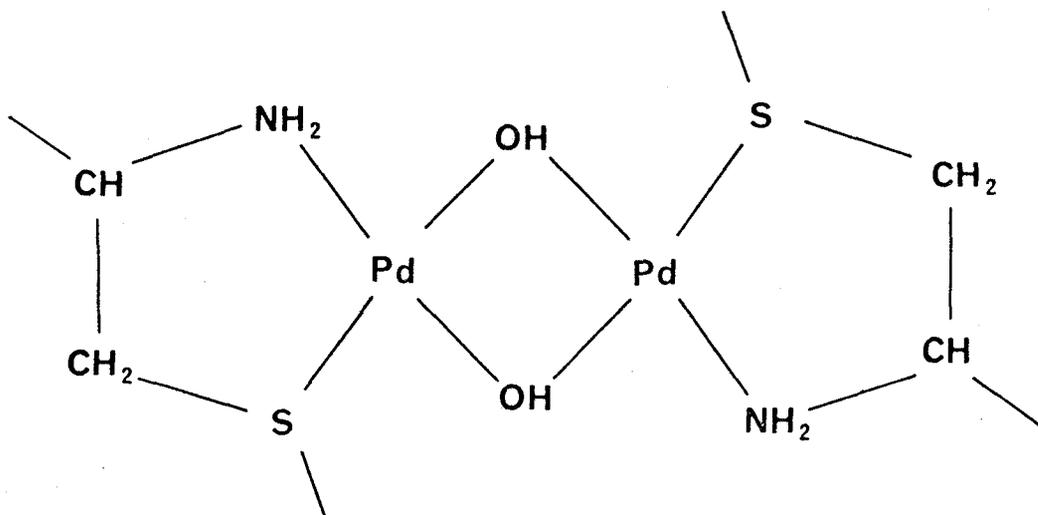
A $pH > 7$, le spectre dichroïque change totalement d'aspect et présente trois effets Cotton à 330 nm ($\Delta\epsilon = 0,21$), 367 nm ($\Delta\epsilon = +0,49$) et 425 nm ($\Delta\epsilon = +0,25$). De plus, la transition électronique située à 425 nm se présente comme une bande très élargie.

Les deux transitions à 330 et 367 nm correspondant aux deux transitions $\Gamma_a(E)$ et $\Gamma_b(E)$, la bande large à 425 nm pourrait recouvrir les deux transitions électroniques A et B, cette dernière normalement interdite, devenant visible en dichroïsme circulaire à la suite de la diminution de symétrie de la molécule à plus haut pH.

Cette diminution de symétrie peut avoir diverses origines; cependant, le fait que les spectres soient identiques de $pH = 0,8$ à $pH = 4,2$ exclut l'effet de changement de conformation du cycle du chélate du à la déprotonation de la fonction carboxylique ($pK_a \approx 2,2$).

Le remplacement de Cl^- par H_2O ou OH^- sur les deux sites restant sur le Palladium au cours du gradient de pH se traduirait par une diminution des longueurs d'onde maxima, conformément aux règles de la série spectroscopique dans la théorie du champ de ligand, phénomène qui n'est pas observé.

Ainsi à $pH > 7$, il est possible qu'il y ait la formation d'un dimère du type :



Dimère supposé aussi par Lim et Martin (62) pour le complexe $Pd(OH_2)_2^{2+}$ à $pH > 7$.

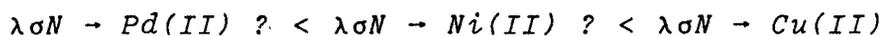
Il est intéressant de noter que l'on observe les mêmes variations de $\Delta\epsilon$ à peu près au même pH dans le cas du complexe $Pd(II)$ -S-Méthyl-L-cystéine (63), ce qui pourrait révéler aussi la formation d'un dimère du même type.

D'autre part, le spectre dichroïque du complexe $Pd(II)$ - SMC présentant les mêmes variations et changements de signe des effets Cotton en fonction du pH que ceux du complexe $Pd(II)$ - SBC, le remplacement du substituant méthyl sur le soufre par un groupe plus volumineux ne semble pas modifier considérablement le type de complexe formé.

Région U.V.

Le complexe $Pd(II)$ -S-Benzyl-L-cystéine présente à pH acide quatre signaux dichroïques à 296 nm ($\Delta\epsilon = -0,26$), 265 nm ($\Delta\epsilon = +0,90$), 238 nm ($\Delta\epsilon = +4,70$) et 210 nm ($\Delta\epsilon = -10,8$, bande très large) qui semble correspondre aux transitions amides intraligand. Les trois premières bandes résultent de la formation du complexe.

Il est possible, dans un premier temps, d'éliminer les transitions électroniques par transfert de charge azote (NH_2) \rightarrow palladium. D'après la théorie du champ de ligand, plus l'atome de métal est volumineux, plus les électrons affectés par les ligands sont sensibles à la levée de dégénérescence, donc les transitions électroniques sont plus énergétiques. Aussi, il est possible d'anticiper l'ordre dans lequel vont se situer les transitions azote (NH_2) \rightarrow métal :



(270 nm)

Il en est de même pour les transitions par transfert de charge azote (N^-) \rightarrow métal (70 - 73), de ce fait la transition électronique par transfert de charge de l'azote

$(\text{NH}_2) \rightarrow \text{Pd(II)}$ se situe à un niveau d'énergie trop haut pour être visible en dichroïsme circulaire à une $\lambda > 210$ nm.

Il est clair que le signal situé à 296 nm (à plus faible énergie) correspond à la transition par transfert de charge $\pi\text{S} \rightarrow \text{Pd(II)}$ (64 - 66). Cependant, si l'origine de la bande à 238 nm est aussi la transition à transfert de charge $\sigma\text{S} \rightarrow \text{Pd(II)}$ (64,65), la bande dichroïque à 265 nm pourrait résulter de transitions intrasulfures mélangées aux transitions intraaromatiques.

Ces transitions intrasulfures sont actives en dichroïsme circulaire de par la proximité d'un centre chiral. Dans le cas du complexe $\text{Pd(II)} - \text{SBC}$, deux types de centre asymétriques peuvent perturber ces transitions : le carbone chiral de la *S*-Benzyl-*L*-cystéine et l'atome de soufre rendu chiral par la formation du complexe. Celle-ci provoque l'apparition d'un troisième substituant sur le soufre qui supporte de ce fait quatre substituants différents : le cation métallique, les deux groupes méthylènes non équivalents et un doublet libre d'électrons. Lorsque l'on compare les spectres dichroïques du complexe $\text{Pd(II)} - \text{SMC}$ et ceux de $\text{Pd(II)} - \text{Met}$ (67), les transitions intrasulfures sont observées dans les deux cas.

Ainsi, il est peu probable que le carbone asymétrique joue un rôle très important dans l'activation des transitions électroniques sur le soufre, il faut impliquer l'apparition d'un centre chiral sur l'atome de soufre au cours de la formation du complexe.

La bande située à 265 nm observée comme un large épaulement peut contenir plus d'une transition. La transition intrasulfure située dans cette région du spectre dichroïque peut être accompagnée par des transitions centrées sur le noyau aromatique du groupe benzylique. Ces dernières peuvent être asymétriquement perturbées par la proximité du centre chiral sur le soufre du à la formation du complexe $(\text{Pd})\text{II} - \text{SBC}$.

En ce qui concerne les transitions par transfert de charge supposées à 296 et 238 nm, il peut être mentionné qu'aucune transition de ce type n'est observée dans le complexe Pd(II)-L-Alanine avec une coordination du type [N,0], elles semblent donc être caractéristiques du transfert de charge soufre - palladium.

D'autre part, l'attribution des bandes à 265 et 238 nm aux transitions par transfert de charge de π et σ_S à l'ion métallique du palladium respectivement, est en bon accord avec ce qui est proposé par Miskowski et Schugar (66) pour les complexes du cuivre avec des ligands contenant un thioéther, si on tient compte de la levée de dégénérescence plus élevée des orbitales d dans Pd(II) (69).

A plus haut pH, les bandes dichroïques autour de 270 nm deviennent très larges et l'identification des différentes transitions électroniques à partir du spectre n'est plus possible.

Il est très important de noter que l'on observe le même changement dans le spectre dichroïque de cette région U.V. à pH > 7 que celui observé pour les transitions d-d du palladium (inversion de signe de $\Delta\epsilon$). Cette totale modification suppose une nouvelle fois l'existence d'un changement important dans le type de complexe présent à ce pH.

En ce qui concerne cette région spectrale des transitions électroniques par transfert de charge, le spectre dichroïque du complexe Pd(II) - SMC apparaît mieux résolu que celui du Pd(II) - SBC, notamment l'individualisation des deux bandes de transfert de charge S - Pd(II) et des bandes intrasulfures est plus aisée; ceci s'explique par la présence des transitions intra-aromatiques qui viennent compliquer le spectre de la S-benzyl-L-cystéine.

Le complexe Pd(II) - SMC présente un effet Cotton négatif à 256 nm attribué aux diverses transitions intrasulfures alors que celles-ci sont attribuées pour le complexe Pd(II) - SBC à une large bande à effet Cotton positif à

265 nm. Cette différence illustre bien l'importance de la contribution des transitions électroniques intra-aromatiques dans le spectre de la S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II).

Comme pour les transitions d-d, les bandes de transfert de charge présentent les mêmes variations en fonction du pH pour les deux complexes (inversion du signe des effets Cotton), ceci laisse supposer que l'on peut avoir des changements de conformation identiques en élevant le pH (possibilité de formation d'un dimère à pH > 7).

B) Glycyl-S-Benzyl-L-Cystéine : Pd(II)

a) Spectroscopie U.V.

Contrairement au complexe Pd(II) - SBC, aucune variation d'énergie des transitions électroniques d-d du Pd(II) en fonction du pH n'est observée. Toutefois, un déplacement général des longueurs d'onde maximum est constaté pour les bandes d-d, elles passent de 380 nm pour le complexe de la S-Benzyl-L-cystéine à 320 nm pour celui de la Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine.

Ce déplacement énergétique laisse supposer que dans le cas de ce dipeptide un deuxième azote (de la fonction amine terminale) intervient sur le troisième site de complexation du Pd(II). Le complexe Pd(II) - GSBC présente donc une coordination du type [N,N,S].

La bande caractéristique des transitions électroniques d-d du métal se présente sous la forme d'un épaulement situé sur la bande de transfert de charge, ceci peut expliquer son absence de variation apparente en fonction du pH.

D'autre part, avec un complexe du type [N,N,S], il ne reste plus qu'un seul Cl^- susceptible d'être remplacé par un OH^- ou un H_2O sur le métal lorsque l'on élève le pH; ainsi, l'effet produit par ce remplacement sur la levée de dégénérescence des niveaux d est beaucoup moins forte que dans le cas du complexe Pd(II) - SBC.

pH	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{l}$)	attribution
2,27	320	3000	d-d
4,40	320	2934	d-d
7,60	320 (ep.)	3452	d-d
12,50	320	1666	d-d

TABLEAU VI

Transitions électroniques de Pd(II) - GSBC

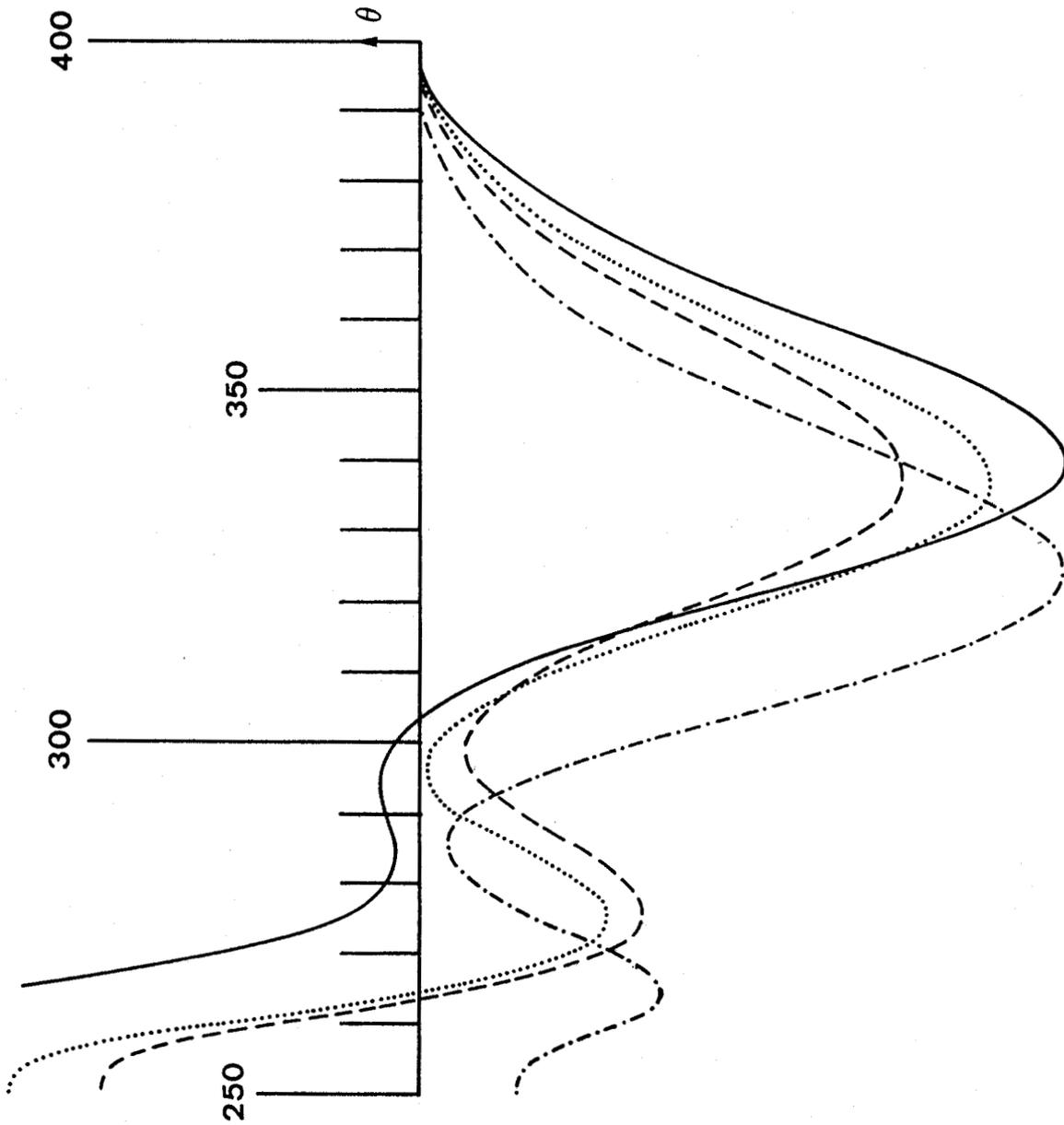


FIGURE 10

Spectre D.C. de Gly-SBC - Pd(II) (400-250 nm)

pH = 2,19(—); 5,9(---); 8,69(.....); 12,3(-.-.-)

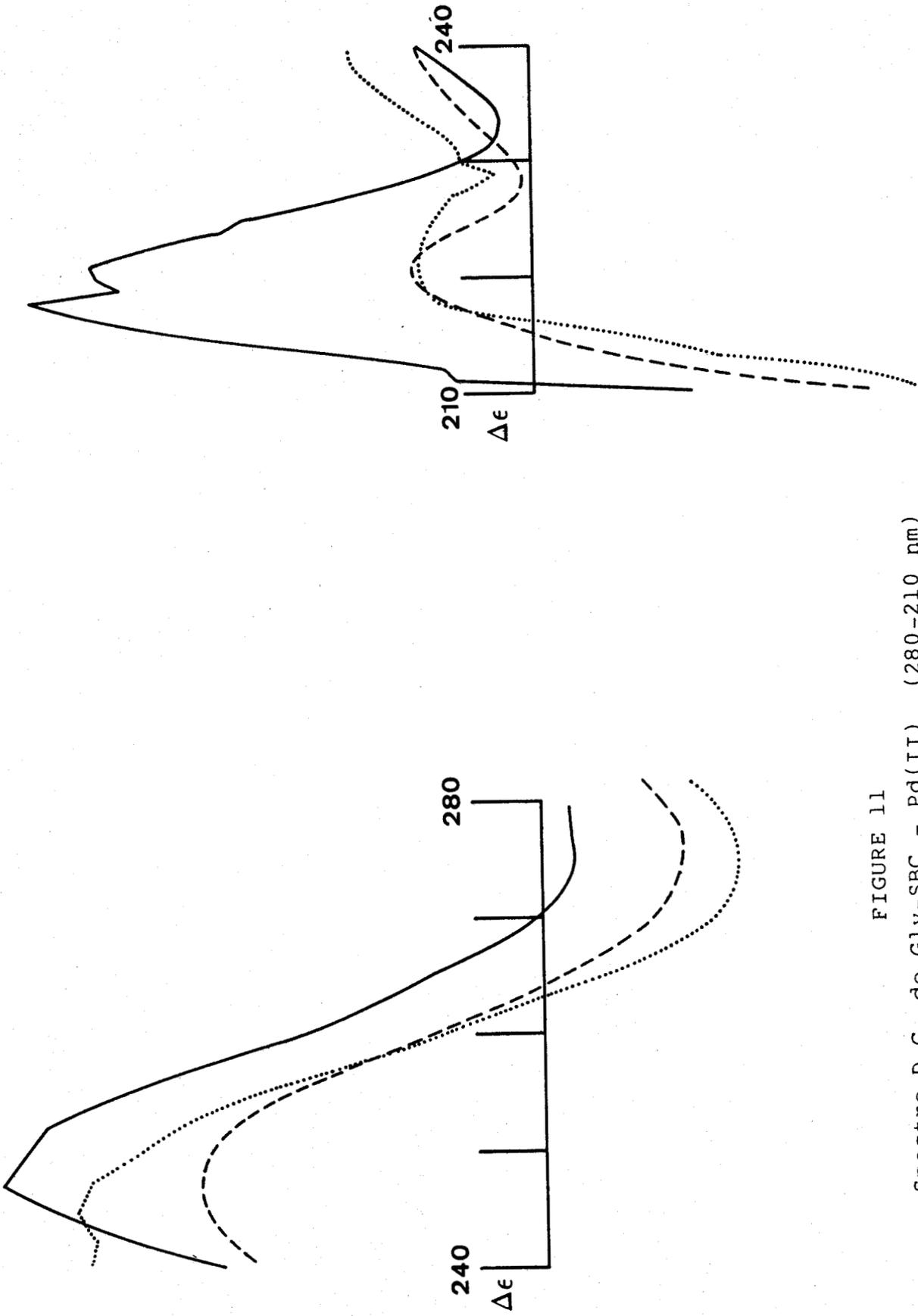


FIGURE 11

Spectre D.C. de Gly-SBC - Pd(II) (280-210 nm)

pH = 2,19(—); 5,90(---); 8,69(.....)

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
2,19	340 (-2,79)	275 (-0,13)	A + E
			$\pi S \rightarrow Pd(II)$ intrasul. aroma.
			$\sigma S \rightarrow Pd(II)$
5,90	338 (-2,09)	220 (+3,94)	n $\rightarrow \pi^*$ amide
			A + E
			$\pi S \rightarrow Pd(II)$ intrasul. aroma.
8,69	337 (-2,45)	277 (-0,99)	$\sigma S \rightarrow Pd(II)$
			248 (+1,82)
			220 (+0,10 ?)
12,30	325 (-2,76)	276 (-0,80)	A + E
			$\pi S \rightarrow Pd(II)$ intrasul. aroma.
			245 (+2,50)
		221	n $\rightarrow \pi^*$ amide
		264 (-1,03)	A + E
		226 (-2,58)	$\pi S \rightarrow Pd(II)$ intrasul. aroma.
			$\sigma S \rightarrow Pd(II)$

TABLEAU VII

Principales bandes dichroïques de Pd(II) - GSBC

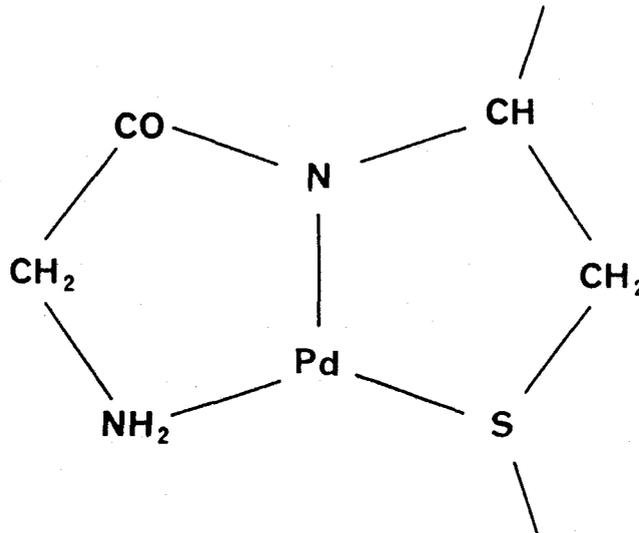
b) Dichroïsme circulaire :

Région visible

Dans tout le domaine de pH étudié, le spectre dichroïque de la région des transitions électroniques d-d du Pd(II) présente une extrême simplicité par rapport à celui du complexe Pd(II) - SBC. Une large bande montrant un effet Cotton négatif est observée à 340 nm. Celle-ci subit un net effet hypsochome pour des pH > 10 (325 nm avec $\Delta\epsilon = 2,76$).

La largeur de cette bande dichroïque laisse supposer qu'elle représente le recouvrement des deux transitions électroniques d-d permises A et E.

La faible longueur d'onde de cette transition comparée à celle observée pour le complexe Pd(II) - SBC suggère la formation d'un complexe faisant intervenir un troisième site de coordination et semble caractéristique d'un complexe du type [N,N,S].



Cette proposition est en accord avec ce que propose Bruce Martin pour les complexes du Pd(II) avec la di et tri-glycine (61,74), le Pd(II) étant capable de déprotoner l'azote de la liaison peptidique avec un pKa d'environ 2.

Contrairement à ce qui est observé pour Pd(II) - SBC aucun changement significatif du signe des effets Cotton n'est observé sur tout le domaine de pH étudié. Ainsi, au-

cune variation de conformation du complexe ne semble intervenir en fonction du pH.

Le déplacement de longueur d'onde intervenant à haut pH est dû au remplacement de Cl^- par OH^- sur le quatrième site de coordination du Pd(II). La relative stabilité de l'énergie de transition d-d jusque $\text{pH} = 9$ peut suggérer que Cl^- demeure sur le dernier site du métal jusqu'à un pH nettement basique.

Les transitions électroniques d-d du complexe Pd(II) - GSBC se situent aux mêmes niveaux énergétiques environ que celles du complexe Pd(II) - GSMC (59), ce qui peut donner à penser que le type de complexe est le même en ce qui concerne les sites de coordination et les atomes impliqués, ceci quelque soit la taille du substituant sur l'atome de soufre de la cystéine.

Il n'en est certainement pas de même pour le type de conformation de ces deux complexes puisque les valeurs de $\Delta\epsilon$ pour Pd(II) - GSBC sont nettement plus élevées que celles pour Pd(II) - GSMC. La raison de cette différence repose sur une répartition différente entre les isomères possibles, notion qui sera développée à l'aide des résultats obtenus par résonance magnétique nucléaire.

Région U.V.

La région U.V. ne présente que trois signaux dichroïques sur tout le domaine de pH et plus particulièrement pour un $\text{pH} = 5,90$ à 277 ($\Delta\epsilon = -0,99$), 248 nm ($\Delta\epsilon = +1,82$) et 220 nm ($\Delta\epsilon = +0,1 ?$).

Les bandes dichroïques situées à 248 et 277 nm peuvent être attribuées respectivement aux transitions électroniques par transfert de charge $\sigma\text{S} \rightarrow \text{Pd(II)}$ et $\pi\text{S} \rightarrow \text{Pd(II)}$

Il est remarquable, cependant, du fait de la largeur de ces bandes qu'elles contiennent chacune d'autres transitions électroniques comme les transitions intrasulfures et intra-aromatiques. Enfin, la bande à 220 nm peut être at-

tribuée à la transition $n \rightarrow \pi^*$ du chromophore amide (75).

Comme pour la région visible, les valeurs de $\Delta\epsilon$ pour les transitions électroniques par transfert de charge sont plus fortes pour le complexe Pd(II) - GSBC que pour Pd(II) - GSMC, ce qui confirme la possibilité d'une répartition différente des populations d'isomères entre ces deux complexes.

C) Glycyl-Glycyl-S-benzyl-L-cystéine : Pd(II) et Glycyl-Glycyl-S-méthyl-L-cystéine : Pd(II)

a) Gly-Gly-SBC - Pd(II) :

Dans tout le domaine de pH étudié, le spectre dichroïque présente dans sa totalité une extrême complexité contrairement à celui du complexe Gly-SBC - Pd(II).

De plus, on peut observer des changements considérables en fonction du pH concernant à la fois les valeurs de $\Delta\epsilon$ ainsi que l'allure du spectre dichroïque.

De ce fait, l'attribution des différentes bandes dichroïques est relativement difficile.

On peut observer dans une grande partie du domaine de pH exploré, une bande dichroïque située à environ 450 nm qui peut être attribuée à une transition électronique de type B. L'apparition de cette bande est principalement la conséquence d'un abaissement de symétrie intervenant sur les types de complexes présents en solution.

Toutefois, la complexité du spectre dichroïque semble révéler la présence d'un mélange d'espèces qui se trouvent en échange assez rapide. Le même phénomène est observé sur le spectre de résonance magnétique nucléaire du proton du complexe Gly-Gly-SBC - Pd(II). Celui-ci n'est absolument pas résolu (même sur un appareil à haut champ 500 MHz), on ne peut observer qu'une "bande" large d'environ 3 ppm située à la fréquence de résonance des protons du système ABC et des différents protons méthyléniques.

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
0,90	448 (+0,01)		
	373 (+0,02)		
	303 (+0,10)		
2,15	445 (+0,02)		
	367 (+0,06)		
	313 (+0,07)		
5,73	468 (+0,01)		
	408 (-0,01)		
	329 (+0,06)	285 (+0,08)	
8,00	405 (+0,03)		
	315 (+0,14)		

TABLEAU VIII

Principales bandes dichroïques de GGSCB - Pd(II)

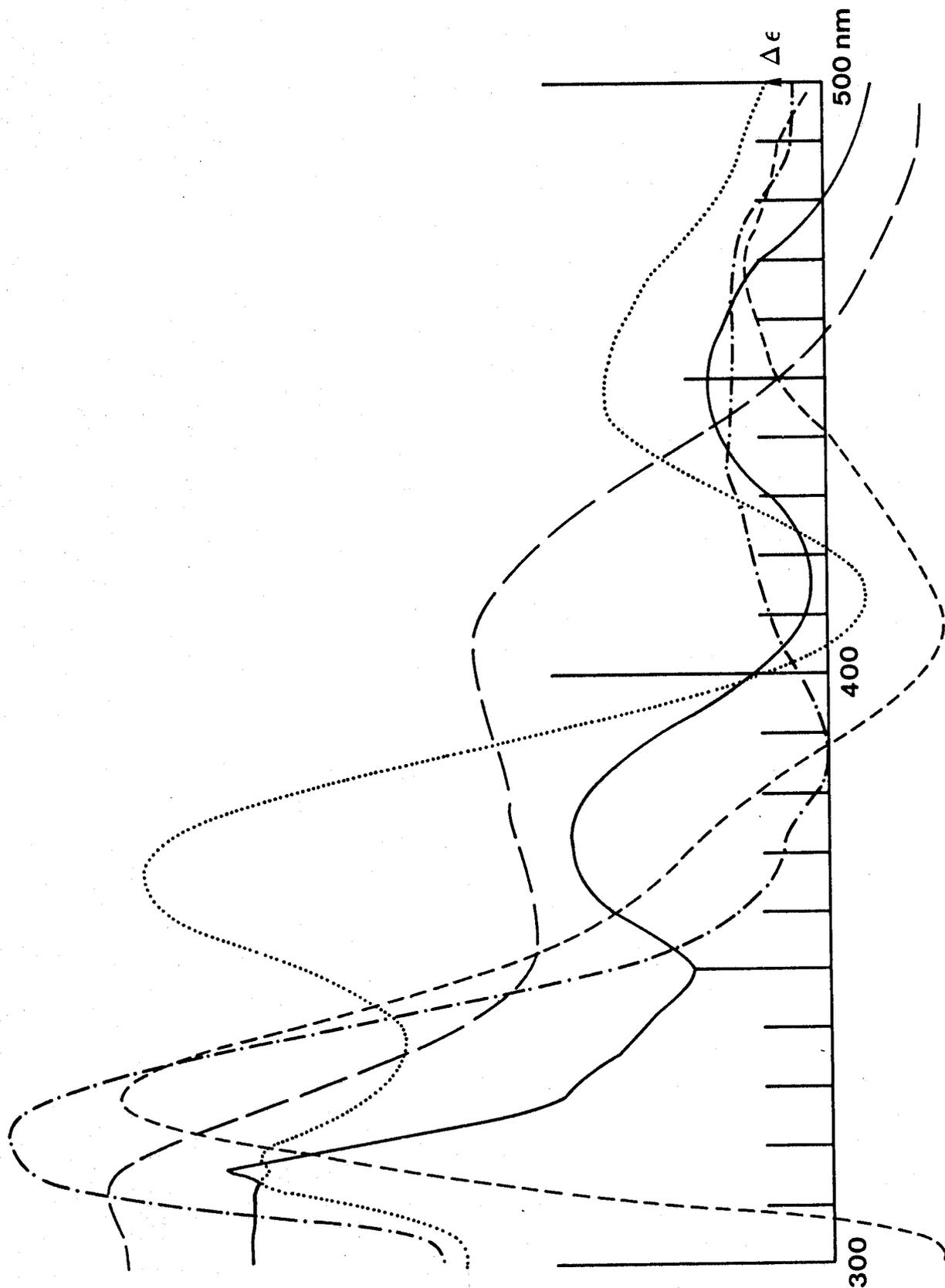


FIGURE 10

Spectre D.C. de Gly-Gly-SBC - Pd(II) (500-300 nm)
pH = 0,9(—); 2,15(.....); 5,73(---); 8(— —)

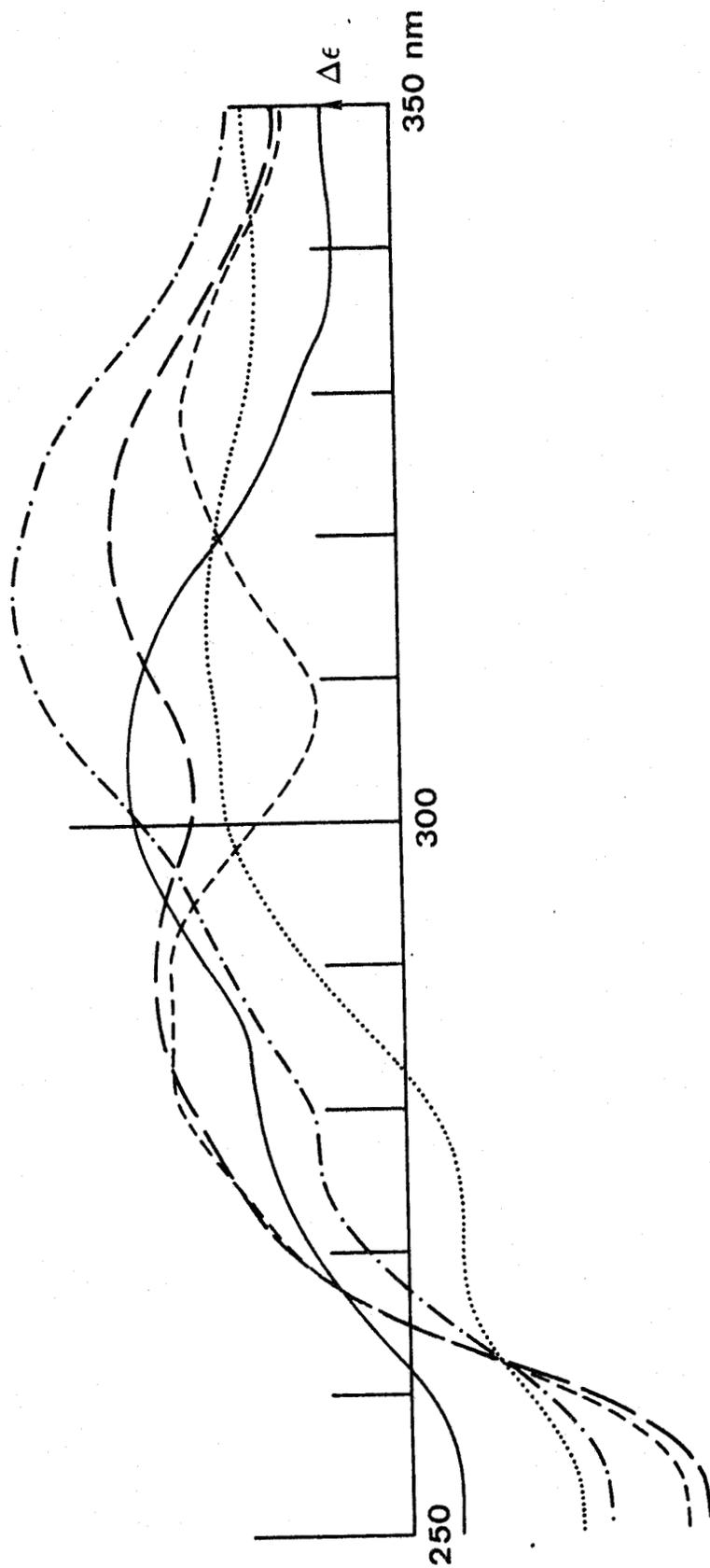


FIGURE 11
Spectre D.C. de Gly-Gly-SBC - Pd(II) (350-250 nm)
pH = 0,9(—); 2,15(.....); 5,73(---); 8(-·-·-)

Ainsi, la présence d'un résidu diglycine semble rendre difficile la formation d'un complexe de type [S,N,N,N], qui impliquerait l'établissement de contraintes stériques assez importantes. Aussi, à partir de cette hypothèse, nous pouvons avoir en solution un mélange de différents complexes possibles à partir des sites de complexation présents sur la molécule. Malheureusement, il est difficile d'individualiser ces complexes car le spectre dichroïque n'est qu'une résultante des spectres dichroïques de ces espèces.

L'analyse par spectroscopie électronique du complexe GGSBC - Pd(II) donne un faible épaulement sur la bande de transfert de charge (280 nm) situé à environ 320 nm, qui correspond à la transition d-d du métal.

Cette valeur est à rapprocher de la longueur d'onde de la même transition concernant le complexe GSBC - Pd(II) et semble être une preuve de la non existence de manière prépondérante d'un complexe de type [S,N,N,N], plus que les valeurs des transitions électroniques en dichroïsme circulaire sensiblement identiques à celles de l'espèce GSBC - Pd(II).

b) Gly-Gly-SMC - Pd(II) :

Le spectre dichroïque du complexe GGSMC - Pd(II) est sensiblement moins compliqué que celui de GGSBC - Pd(II).

L'allure du spectre est presque identique en ce qui concerne les valeurs des énergies de transition que celui observé pour le complexe SMC - Pd(II) (59), ceci pour une même zone de pH.

Il serait alors facile de conclure que l'on a le même type de complexe [S,N] observé pour les espèces SMC - Pd(II) (59) et GGSMC - Pd(II). De plus, l'absence de spectre dichroïque caractéristique d'une coordination de type [S,N,-N,N] peut résulter des mêmes causes exposées pour le complexe GGSBC - Pd(II).

Toutefois, il est plus probable que l'on ait comme pour GGSBC - Pd(II), un mélange d'espèces en échange rapide, phénomène à l'origine de la très mauvaise résolution du spectre de résonance magnétique nucléaire des différents protons du complexe GGSMC - Pd(II).

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
2,30	433 (+0,14)		
	355 (-0,59)	287 (+0,58) 231 (-2,00)	
5,95	440 (+0,03)		
	365 (-0,60)	300 (+0,27) 241 (-3,00)	
8,00	432 (+0,02)		
	360 (-0,48)	310 (+0,09) 238 (-3,25)	
10,00	415 (+0,01)		
	347 (-0,35)	230 (-3,65)	

TABLEAU IX
Principales bandes dichroïques de GGSMC - Pd(II)

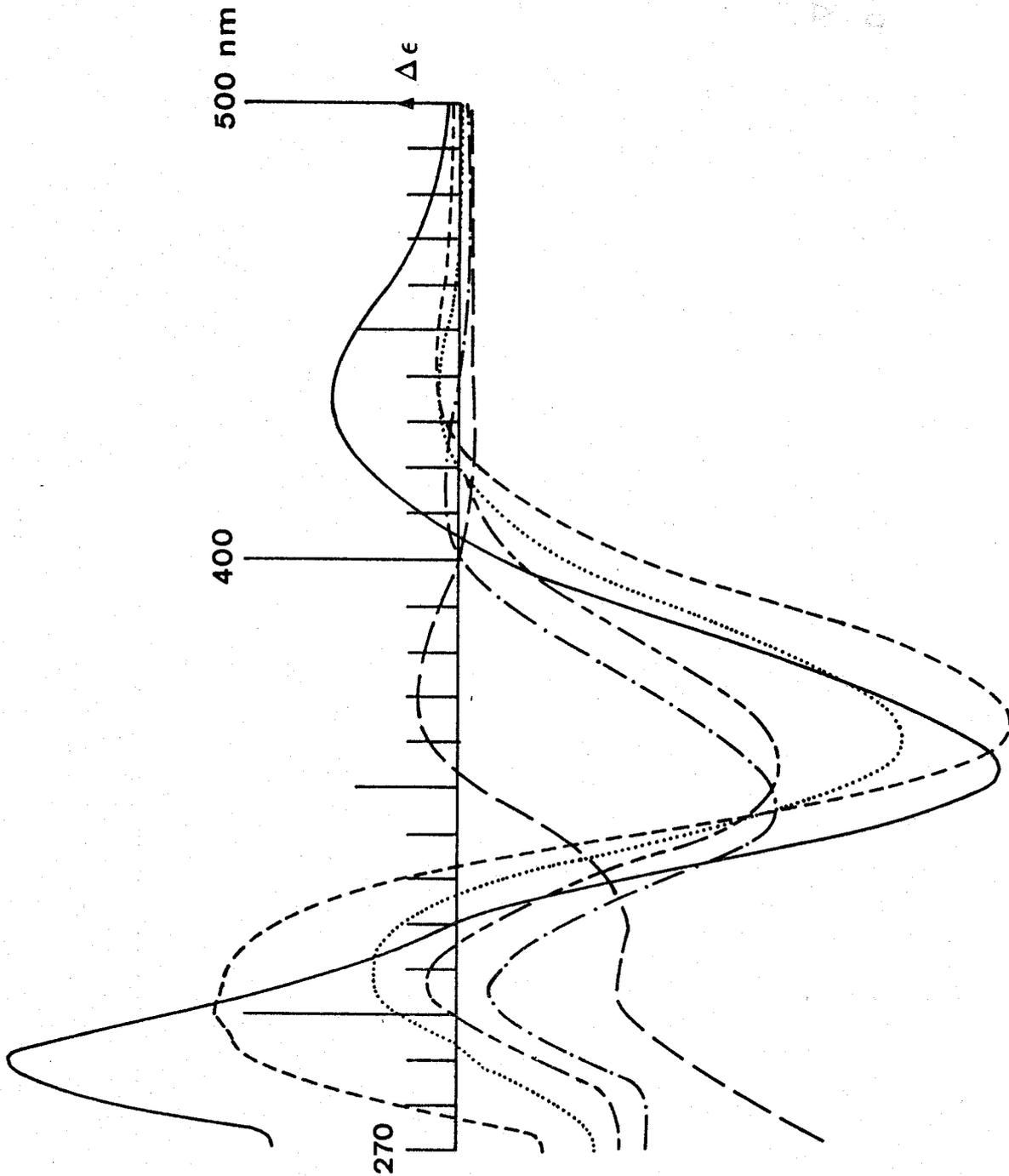


FIGURE 12
Spectre D.C. de Gly-Gly-SMC - Pd(II) (500-270 nm)
pH = 2,30(—); 5,95(---); 8(.....); 10(-.-.-)

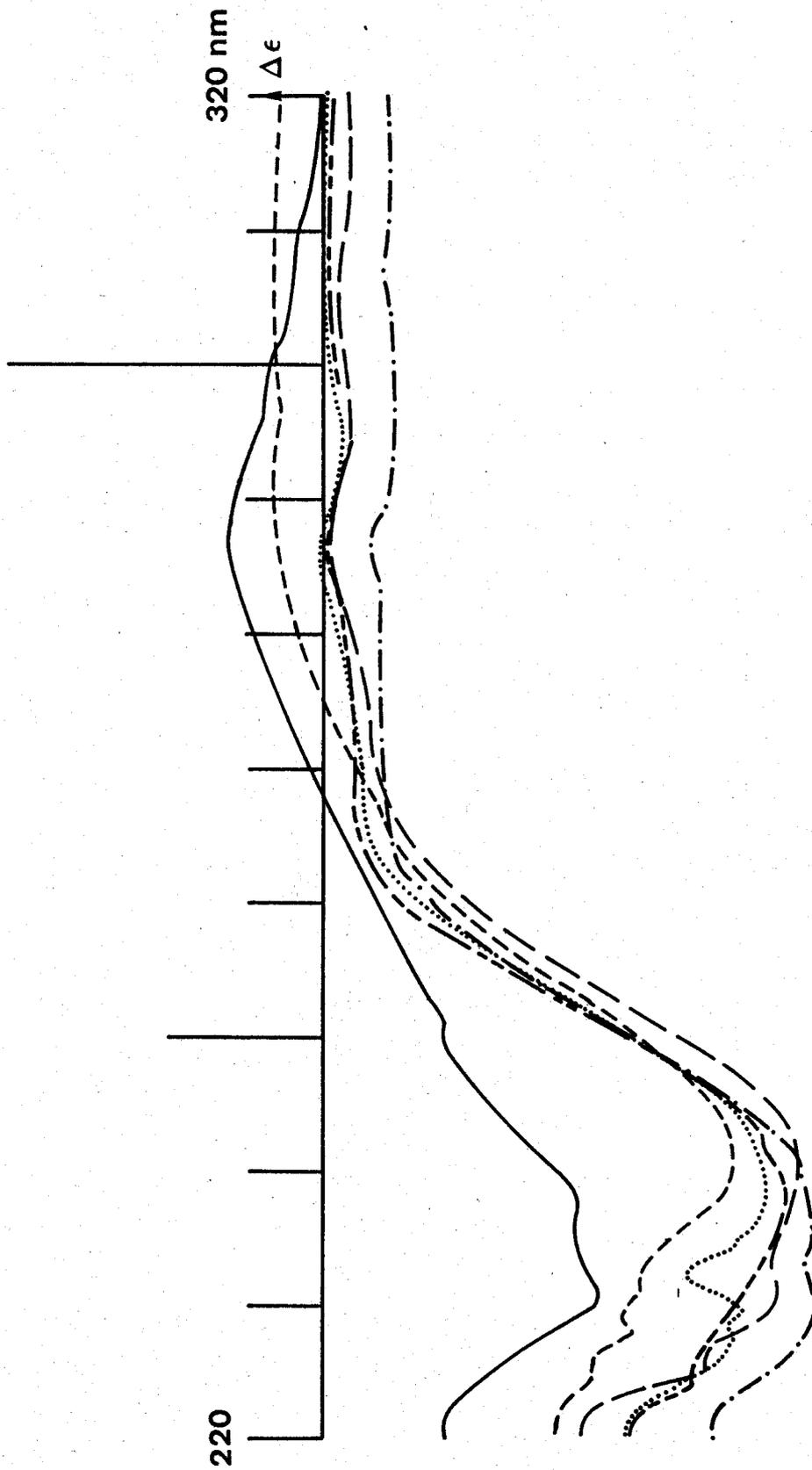


FIGURE 13
Spectre D.C. de Gly-Gly-SMC - Pd(II) (320-220 nm)
pH = 2,30(—); 5,95(---); 8(.....); 10(-.-.-)

VII ETUDE DES COMPLEXES DU Pt(II)

A) S-Benzyl-L-cystéine : Pt(II) et S-Méthyl-L-cystéine : Pt(II)

a) Dichroïsme circulaire :

Il faut noter que dans le cas du complexe du platine, seule la complexation en milieu acide a pu être étudiée, une élévation de pH entraînant la formation d'un précipité.

Il est bien connu que le Pt(II) présente le même type de complexes que le Pd(II) (89), ainsi les complexes Pt(II) - SBC et Pt(II) - SMC présentent une coordination du type [N,S], comme cela a été mis en évidence dans le cas du complexe Pd(II) - SBC.

Région visible

A pH = 1,1 les spectres dichroïques présentent un effet Cotton négatif situé à 402 nm ($\Delta\epsilon = -0,07$), un effet Cotton positif à 357 nm ($\Delta\epsilon = +0,22$) et un effet Cotton négatif à 320 nm ($\Delta\epsilon = -0,06$) qui peuvent être attribués respectivement aux transitions électroniques d-d A, $\Gamma_a(E)$ et $\Gamma_b(E)$.

Il est intéressant de noter le caractère non symétrique de la bande d'absorption située à 402 nm qui pourrait de ce fait contenir la transition B en plus de la transition A, ce qui avec la levée de dégénérescence de E peut être caractéristique d'un abaissement de symétrie sur le platine. Ce type de spectre était aussi observé pour le complexe Pd(II) - SBC.

Il faut remarquer que les bandes dichroïques des complexes Pd(II) - SBC et Pt(II) - SBC sont isoénergétiques, résultat assez inattendu car un effet hypsochrome devrait être observé dans le cas de Pt(II) - SBC puisque celui-ci possède une couche électronique supplémentaire (passage de $4d^8$ (Pd(II)) à $5d^8$ (Pt(II))). Les électrons $5d^8$ étant plus sen-

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
1,10	402 (-0,07)		A
	357 (+0,22)		Γ_a (E)
	320 (-0,06)		Γ_b (E)
		290 (+0,33)	π S \rightarrow Pt(II)
		250 (-1,25)	σ S - Pt(II) + intrasulfure et aromatique.

TABLEAU X

Principales bandes dichroïques de Pt(II) - SBC

-sibles à l'effet de champ des ligands, la levée de dégénérescence est plus importante donc les transitions électroniques plus énergétiques pour le Pt(II) par rapport au Pd(II) (87).

Pour expliquer cette similitude entre les deux spectres du Pd(II) et du Pt(II) il est possible de supposer que l'un des deux sites non complexés par la SBC sur le Pd(II) subisse un échange en solution aqueuse et qu'un des Cl^- soit remplacé par une molécule d'eau, ce qui aurait pour effet d'après la loi de la série spectroscopique d'augmenter l'effet de champ des ligands, donc d'augmenter l'énergie des transitions électroniques intervenant sur le palladium.

Cet échange de ligand très probable dans le cas du Pd(II), l'est beaucoup moins en ce qui concerne le Pt(II). Les électrons périphériques du platine étant plus éloignés du noyau que ceux du palladium, ceux-ci sont beaucoup plus fortement impliqués dans les liaisons intervenant dans le complexe. Ainsi la liaison Pt(II) - Cl doit être beaucoup plus forte que la liaison Pd(II) - Cl.

De plus, les cinétiques de formation des complexes du Pd(II) et du Pt(II) sont très différentes et la réaction d'échange du ligand sur le palladium est 10^5 fois plus rapide que celle du complexe du Pt(II) correspondant. La substitution d'un Cl^- par une molécule d'eau dans le complexe cis [dichloro-Pt-amines] est très lente (88).

Ainsi, il paraît logique de supposer qu'un échange du Cl^- par H_2O intervient sur le complexe Pd(II) - SBC et non sur le complexe Pt(II) - SBC. Ceci pourrait expliquer l'égalité de longueurs d'ondes des différentes transitions.

En ce qui concerne le complexe du Pt(II) - SMC, les mêmes remarques peuvent être faites comparativement au composé Pd(II) - SMC (59). Le complexe du platine comme dans le cas du palladium présente une coordination du type [N,S].

A pH = 1,58, les spectres dichroïques montrent deux bandes à 394 nm (-0,03) et 353 nm (+0,18) qui peuvent être attribuées respectivement aux transitions électroniques A et E.

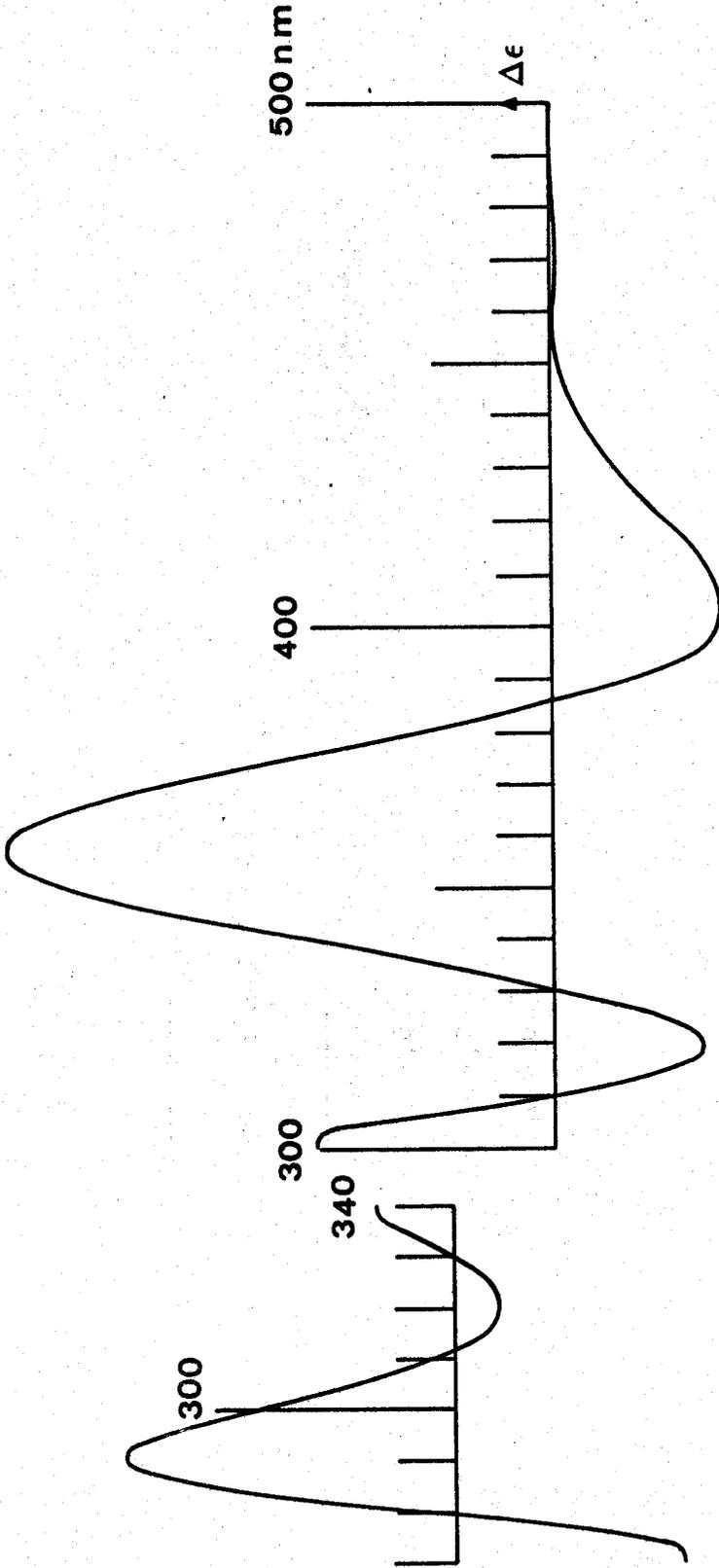


FIGURE 14
Spectre D.C. de SBC - Pt(II) (500-270 nm)
pH = 1,1

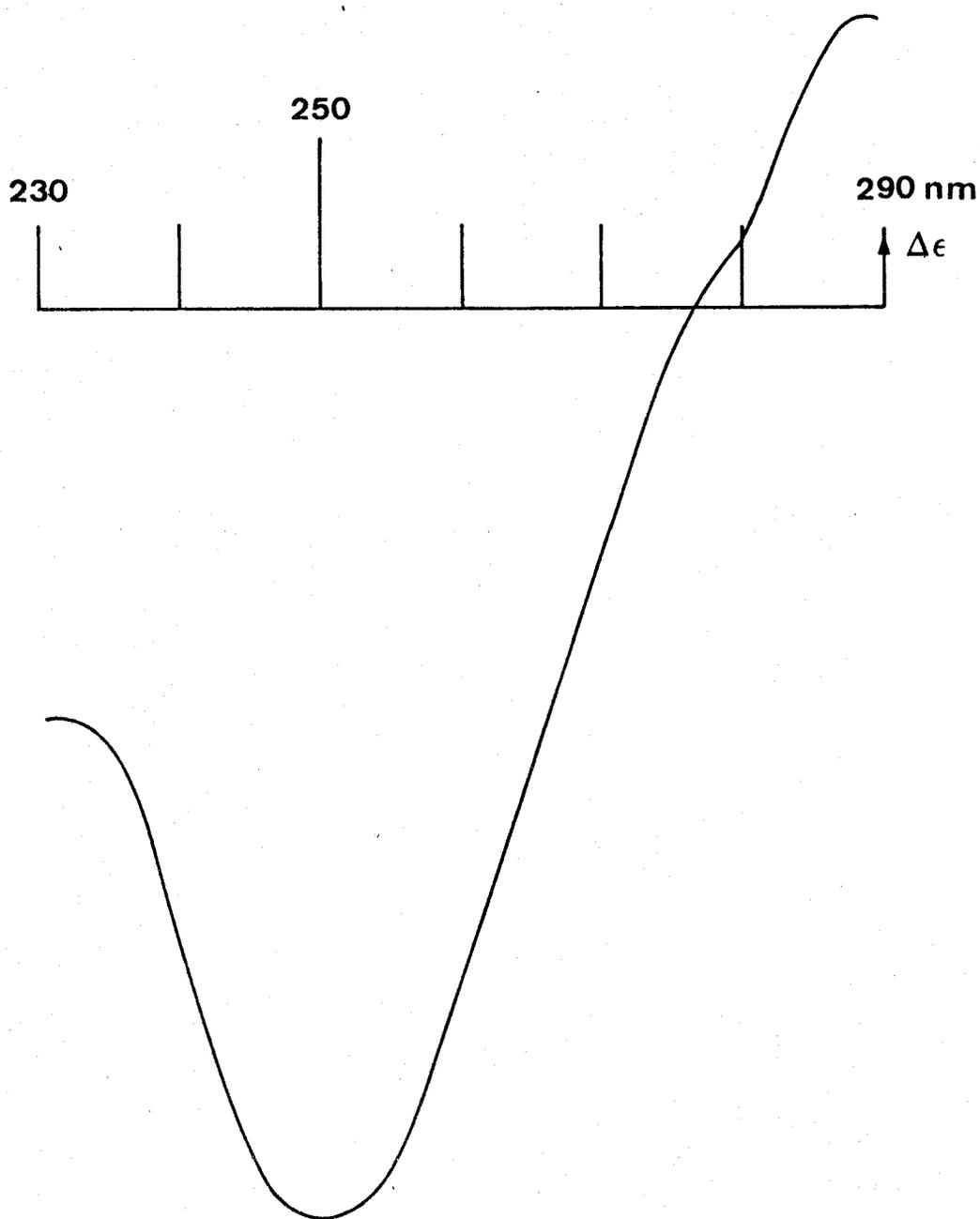


FIGURE 15
Spectre D.C. de SBC - Pt(II) (290-230 nm)
pH = 1,1

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
1,58	394 (-0,03)		A
	353 (+0,18)		E
6,42		278 (+0,53)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
		222 (-5,40)	$\sigma S \rightarrow Pt(II)$
	352 (+0,13)		E
		282 (+0,38)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
8,09		224 (-5,05)	$\sigma S \rightarrow Pt(II)$
	380 (ep.)		A
	358 (+0,15)		E
		281 (+0,31)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
		221 (-3,10)	$\sigma S \rightarrow Pt(II)$

TABLEAU XI

Principales bandes dichroïques de Pt(II) - SMC

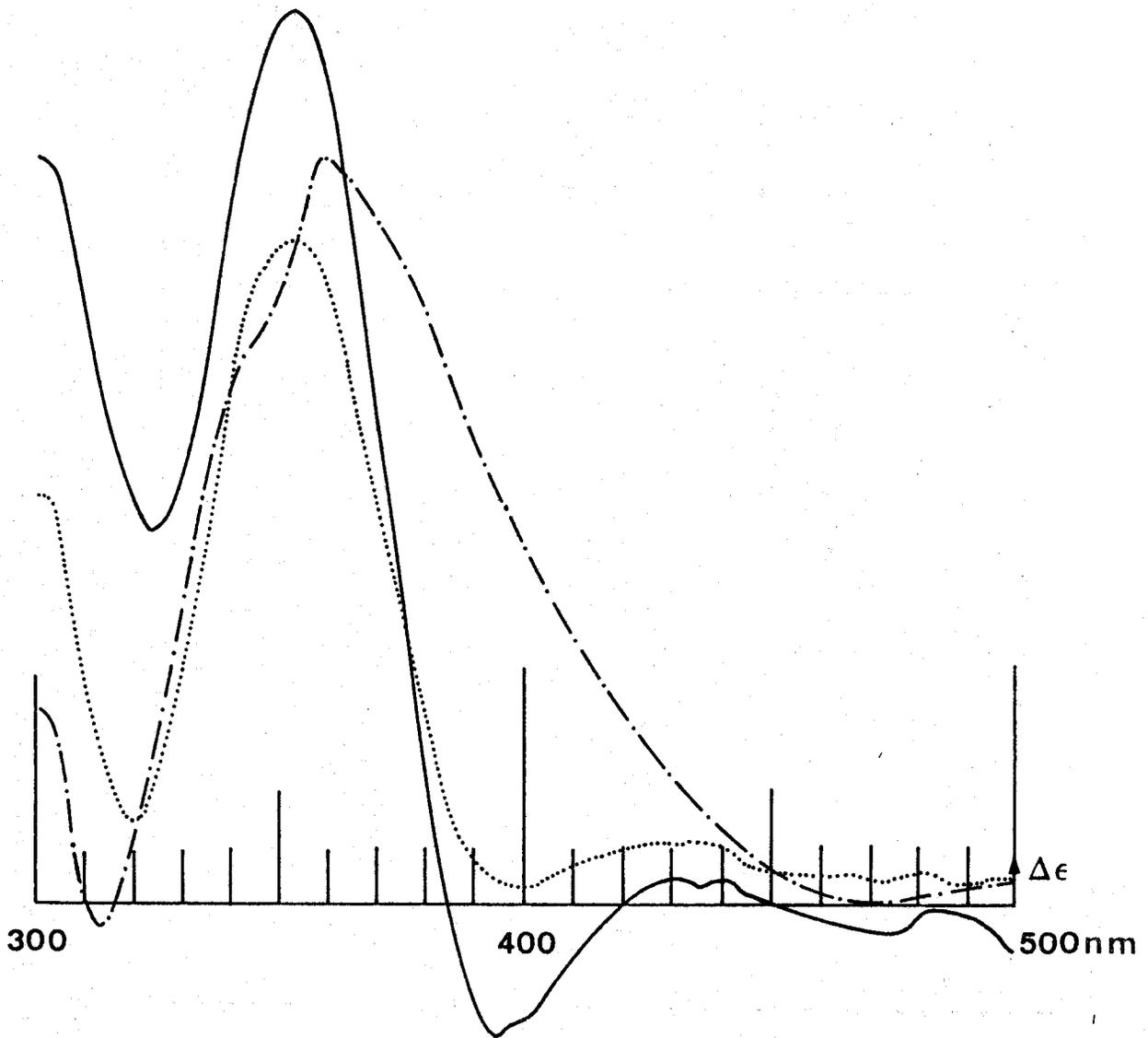


FIGURE 16
Spectre D.C. de SMC - Pt(II) (500-300 nm)
pH = 1,58 (—); 6,42 (.....); 8,09 (---)

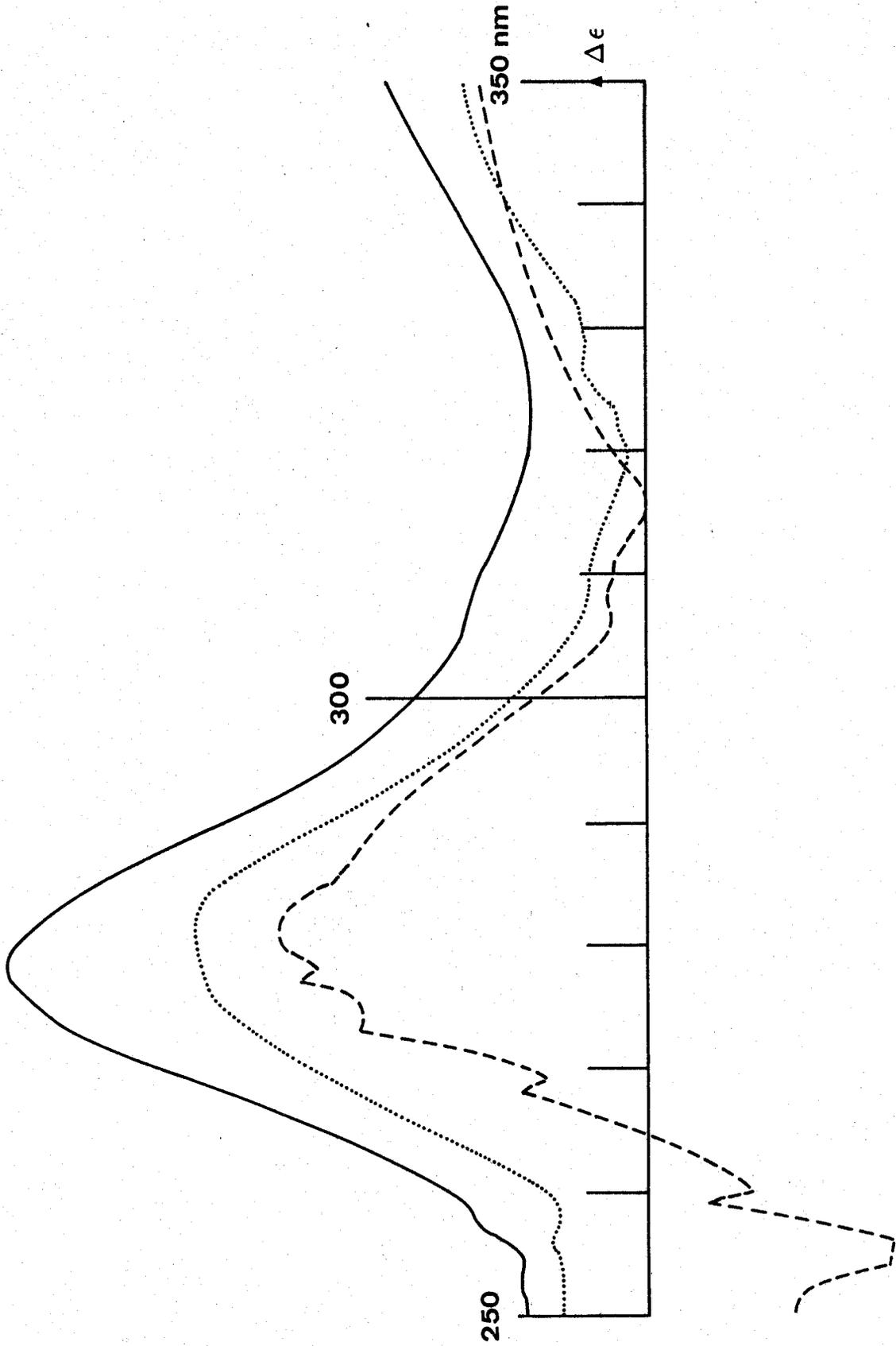


FIGURE 17

Spectre D.C. de SMC - Pt(II) (350-250 nm)

pH = 1,58() ; 6,42(.....) ; 8,09(---)

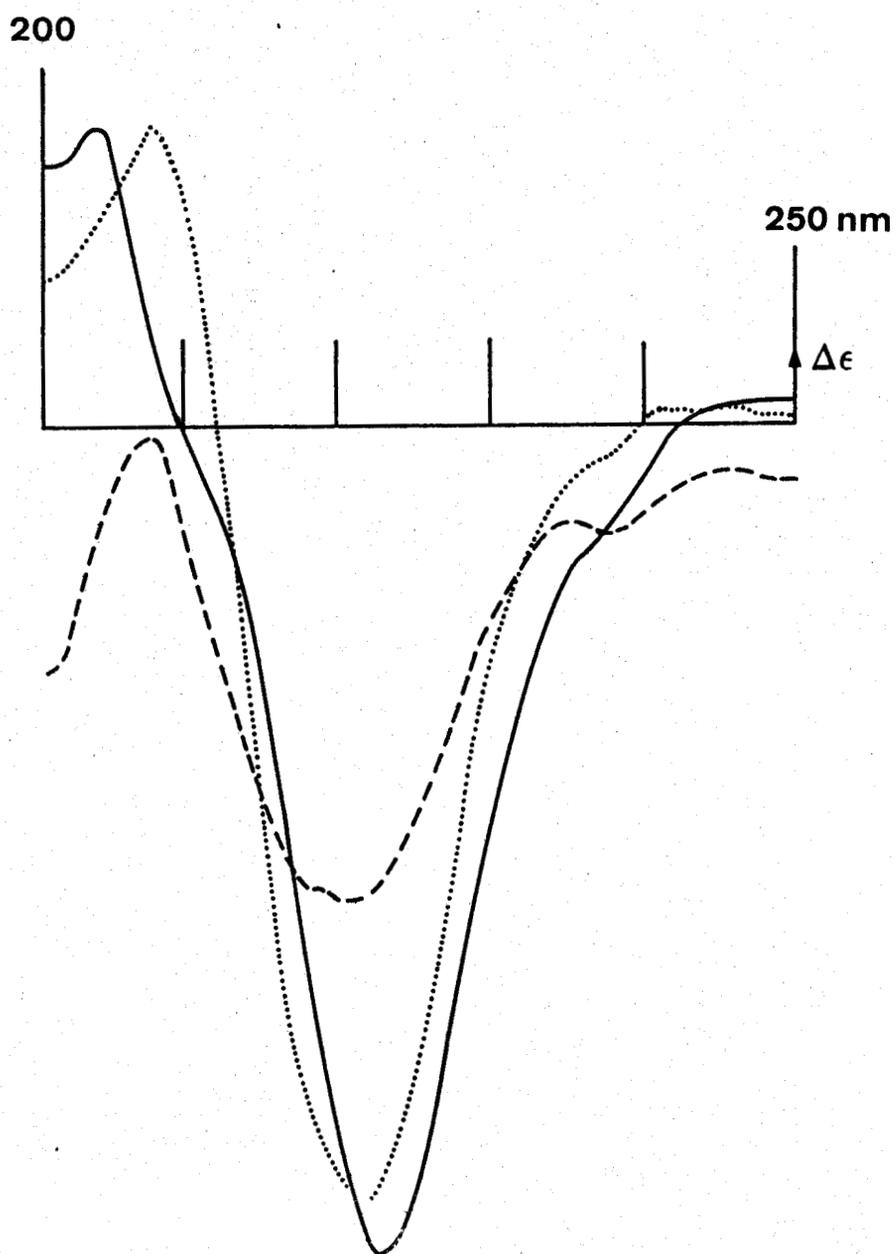


FIGURE 18
Spectre D.C. de SMC - Pt(II) (250-200 nm)
pH = 1,58 (—); 6,42 (.....); 8,09 (---)

Il faut noter une variation de signe de l'effet Cotton de la bande A en fonction du pH; le signe est négatif à pH = 1,58 et devient positif à pH = 8,09. Toutefois, un tel changement n'affecte pas la transition E comme dans le cas du complexe du Pd(II) - SBC.

De ce fait, il est délicat d'expliquer cette variation de signe de l'effet Cotton de la bande A par un changement de type de conformation du complexe en fonction du pH comme nous l'avions supposé pour Pd(II) - SBC (formation d'un dimère) puisque la bande E semble peu affectée.

Région U.V.

Pour le complexe Pt(II) - SBC à pH = 1,1, une bande dichroïque est observée à 290 nm (+0,33) et une autre à 250 nm (-1,25) qui peuvent être affectées respectivement à la transition électronique par transfert de charge $\pi S \rightarrow Pt(II)$ et à la transition T.C. $\sigma S \rightarrow Pt(II)$ associée aux transitions intrasulfures et intra-aromatiques.

En ce qui concerne Pt(II) - SMC, à pH = 1,58 le spectre dichroïque montre un effet Cotton positif à 278 nm ($\Delta\epsilon = +0,53$) et un autre négatif à 222 nm ($\Delta\epsilon = -5,4$). Le premier peut être attribué à la transition électronique par transfert de charge $\pi S \rightarrow Pt(II)$ et le second au transfert $\sigma S \rightarrow Pt(II)$. Ces bandes sont assez larges et doivent contenir les transitions intrasulfures et intra-aromatiques.

Les résultats obtenus avec le Pd(II) sont sensiblement identiques à ceux obtenus avec le Pt(II). Ainsi, le remplacement de l'atome de palladium par le platine ne semble pas provoquer de grands changements dans le type de complexe avec la SBC et la SMC (figure 19); toutefois, il faut noter que la formation d'un dimère à pH > 7 n'est pas vraiment mis en évidence en ce qui concerne le complexe Pt(II) - SMC.

pH	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{l}$)	attribution
1,58	360	760	d-d
	305	2950	trans. de charge S → Pt(II)
6,42	356	510	d-d
	300	3500	trans. de charge S → Pt(II)

TABLEAU XII

Principales transitions électroniques de Pt(II) - SMC

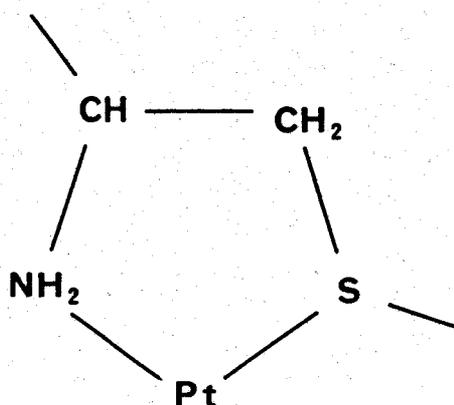


FIGURE 19

b) Spectroscopie U.V. :

Les valeurs des longueurs d'onde sont sensiblement identiques à $\text{pH} = 1,58$ comme à $\text{pH} = 6,42$, aucun déplacement énergétique n'est observé, ce qui semble indiquer qu'il n'y a pas d'échange de ligand (remplacement d'un Cl^- par un H_2O ou un OH^-) en fonction du pH sur les sites libres du cation du platine; ceci étant dû à la force particulière de la liaison $\text{Pt} - \text{Cl}$.

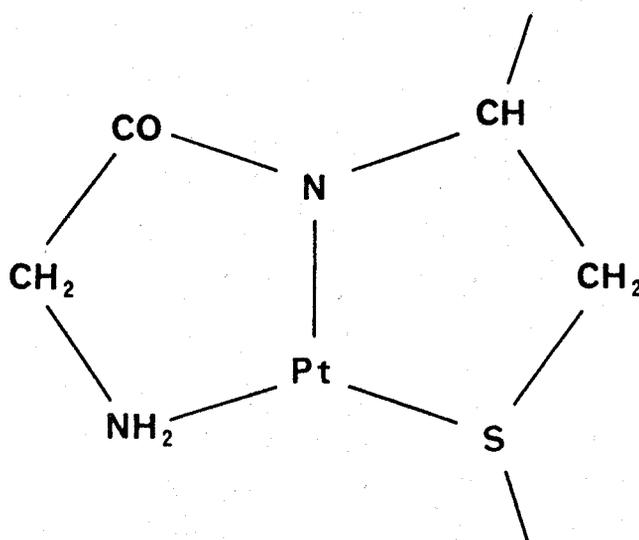
B) Glycyl-S-benzyl-L-cystéine : Pt(II) et Glycyl-S-méthyl-L-cystéine : Pt(II)

a) Spectroscopie U.V. :

Une diminution très sensible des longueurs d'onde est à noter en comparant le spectre d'absorption électronique du complexe $\text{Gly-SMC} - \text{Pt(II)}$ avec celui du complexe $\text{SMC} - \text{Pt(II)}$. La bande d'absorption de la transition $d-d$ du Pt(II) du composé $\text{SMC} - \text{Pt(II)}$ située à 305 nm à $\text{pH} = 1,58$ (épaulement) passe pour le complexe $\text{Gly-SMC} - \text{Pt(II)}$ à 255 nm à $\text{pH} = 2,10$ (épaulement).

Cette variation de la valeur de longueur d'onde peut être significative de l'intervention d'un nouveau site de

complexation sur le platine à savoir l'atome d'azote de la liaison peptidique. Ainsi, pour l'espèce GSMC-Pt(II), on peut supposer la formation d'un complexe du type [S,N,N] impliquant l'atome de soufre, l'azote de la liaison peptidique et celui de la fonction amine terminale du résidu Glycine, identique à ce qui a été mis en évidence pour le complexe Gly-SMC - Pd(II) (59).



pH	λ max nm	ϵ $\text{cm}^{-1} \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{l}$
2,10	255 (ep.)	d-d
4,26	256 (ep.)	d-d
6,66	255 (ep.)	d-d
11,50	260 (ep.)	d-d

TABEAU XIV

Principales transitions électroniques de GSMC - Pt(II)

Il en est de même pour le complexe Gly-SBC - Pt(II). L'espèce SBC - Pt(II) présente à pH = 1, une transition électronique d-d située à 305 nm ($\epsilon = 330$) alors que le complexe Gly-SBC - Pt(II) montre à un pH = 2,30 un épaulement à 255 nm correspondant à cette même transition d-d.

Cet effet hypsochrome, comme pour le complexe GSMC - Pt(II), peut être caractéristique de la formation (par la présence d'un résidu Glycine supplémentaire par rapport à l'espèce SBC - Pt(II)) du complexe de type [S,N,N] figuré plus haut.

De plus, pour les deux complexes, on peut remarquer la stabilité des valeurs de longueur d'onde en fonction du pH qui est caractéristique de la force de la liaison Cl - Pt, comme cela a déjà été souligné pour les complexes impliquant la S-benzyl-L-cystéine et la S-méthyl-L-cystéine.

pH	λ max nm	ϵ $\text{cm}^{-1} \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{l}$
2,30	255 (ep.)	d-d
4,36	258 (ep.)	d-d
7,69	255 (ep.)	d-d
11,08	255 (ep.)	d-d

TABLEAU XIII

Principales transitions électroniques de GSBC - Pt(II)

b) Dichroïsme circulaire :

Les spectres dichroïques du complexe Gly-SBC - Pt(II) à pH = 2,30 montrent plusieurs bandes situées à 353 nm ($\Delta\epsilon = -0,20$), 275 nm ($\Delta\epsilon = -0,77$), 233 nm ($\Delta\epsilon = +2,70$) et 220 nm ($\Delta\epsilon = -4,40$) qui peuvent être attribuées respectivement aux transitions électroniques A + E, par transfert de charge $\pi S \rightarrow Pt(II)$, intrasulfures et intra-aromatiques et par transfert de charge $\sigma S \rightarrow Pt(II)$.

Quant aux spectres du complexe Gly-SMC - Pt(II), ils présentent à pH = 2,10 plusieurs bandes dichroïques situées à 356 nm ($\Delta\epsilon = -0,16$), 281 nm ($\Delta\epsilon = -0,47$) et 233 nm ($\Delta\epsilon = +3,00$) attribuées respectivement aux transitions d-d A + E, par transfert de charge $\pi S \rightarrow Pt(II)$ et intrasulfures et par par transfert de charge $\sigma S \rightarrow Pt(II)$.

Ces différentes valeurs issues des spectres dichroïques des complexes Gly-SBC - Pt(II) et Gly-SMC - Pt(II) sont similaires à celles des complexes SBC - Pt(II) et SMC - Pt(II) ce qui peut poser certains problèmes quant à la détermination du type de complexe présent en solution.

Toutefois, comme nous l'avons vu plus haut, l'étude par spectroscopie électronique U.V. et visible ne laisse aucun doute sur la nature du complexe formé (type [S,N,N]).

c) Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pt(II)

Le spectre d'absorption U.V. du complexe Gly-Gly-SBC - Pt(II) montre un léger épaulement situé à 265 nm qui peut être attribué aux transitions électroniques d-d du platine. Cette valeur est à comparer avec celles des complexes Gly-SBC - Pt(II) et SBC - Pt(II), étant respectivement 255 nm et 305 nm.

Ainsi, on peut exclure la présence d'une coordination de type [S,N,N,N] de façon majoritaire, du fait de l'inexistence d'un effet hypsochrome sur l'ensemble des longueurs d'onde. Aussi, il est possible que l'on ait en solution, un mélange d'espèces de différents types de coordination, ceci

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
2,30	353 (-0,20)		A + E
		275 (-0,77)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
		233 (+2,70)	intrasul. + arom.
4,39	352 (-0,20)	220 (-4,40)	$\sigma S \rightarrow Pt(II)$
			A + E
		279 (-0,86)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
7,69	355 (-0,20)	221 (-6,50)	intrasul. + arom. $\sigma S \rightarrow Pt(II)$
			A + E
		279 (-1,08)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
11,08	348 (-0,13)	220 (-9,30)	intrasul. + arom. $\sigma S \rightarrow Pt(II)$
			A + E
		279 (-0,68)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
		223 (-7,00)	intrasul. + arom. $\sigma S \rightarrow Pt(II)$

TABLEAU XV

Principales bandes dichroïques de Pt(II) - GSBC

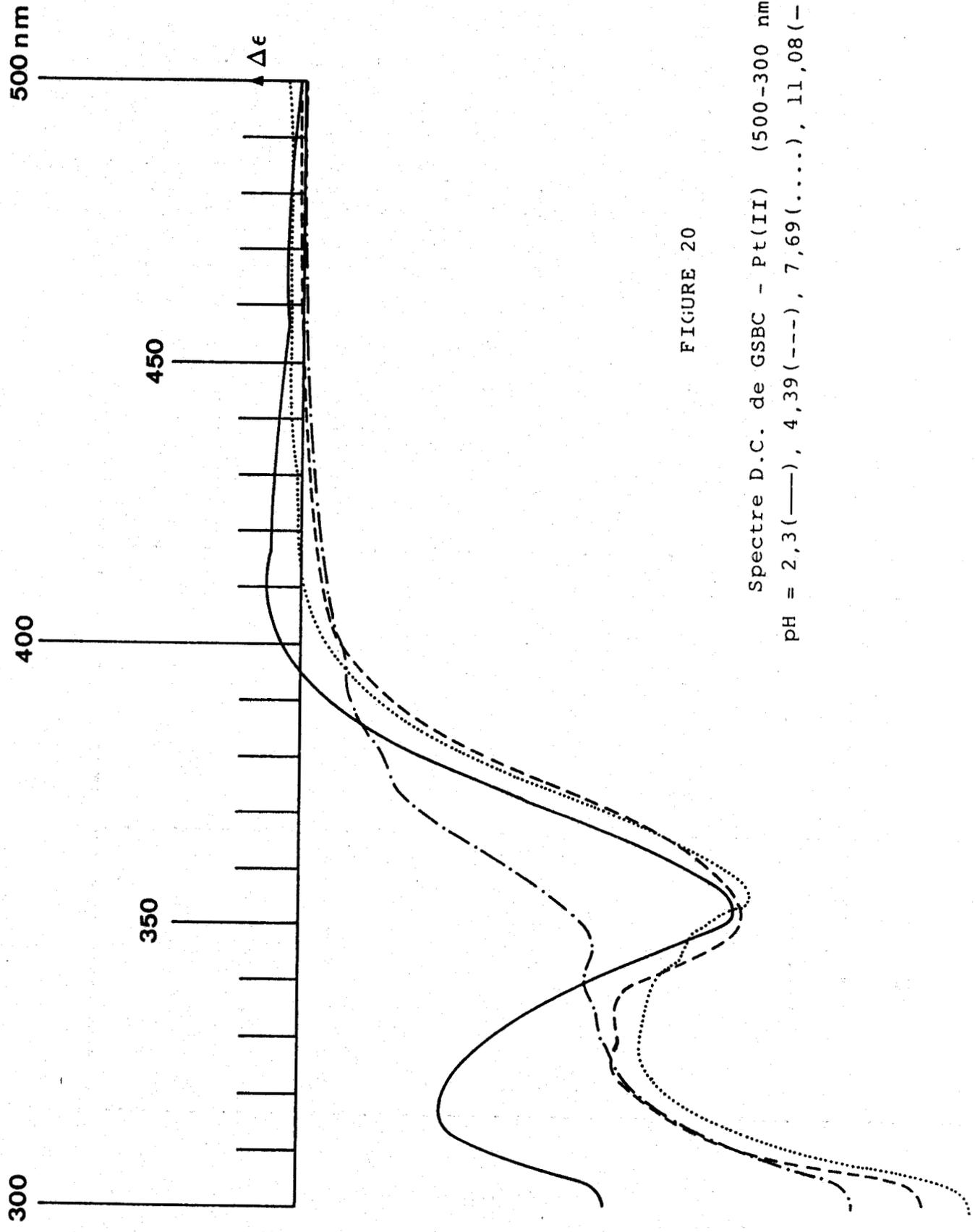


FIGURE 20

Spectre D.C. de GSBC - Pt(II) (500-300 nm)
pH = 2,3(—), 4,39(---), 7,69(.....), 11,08(-.-.-)

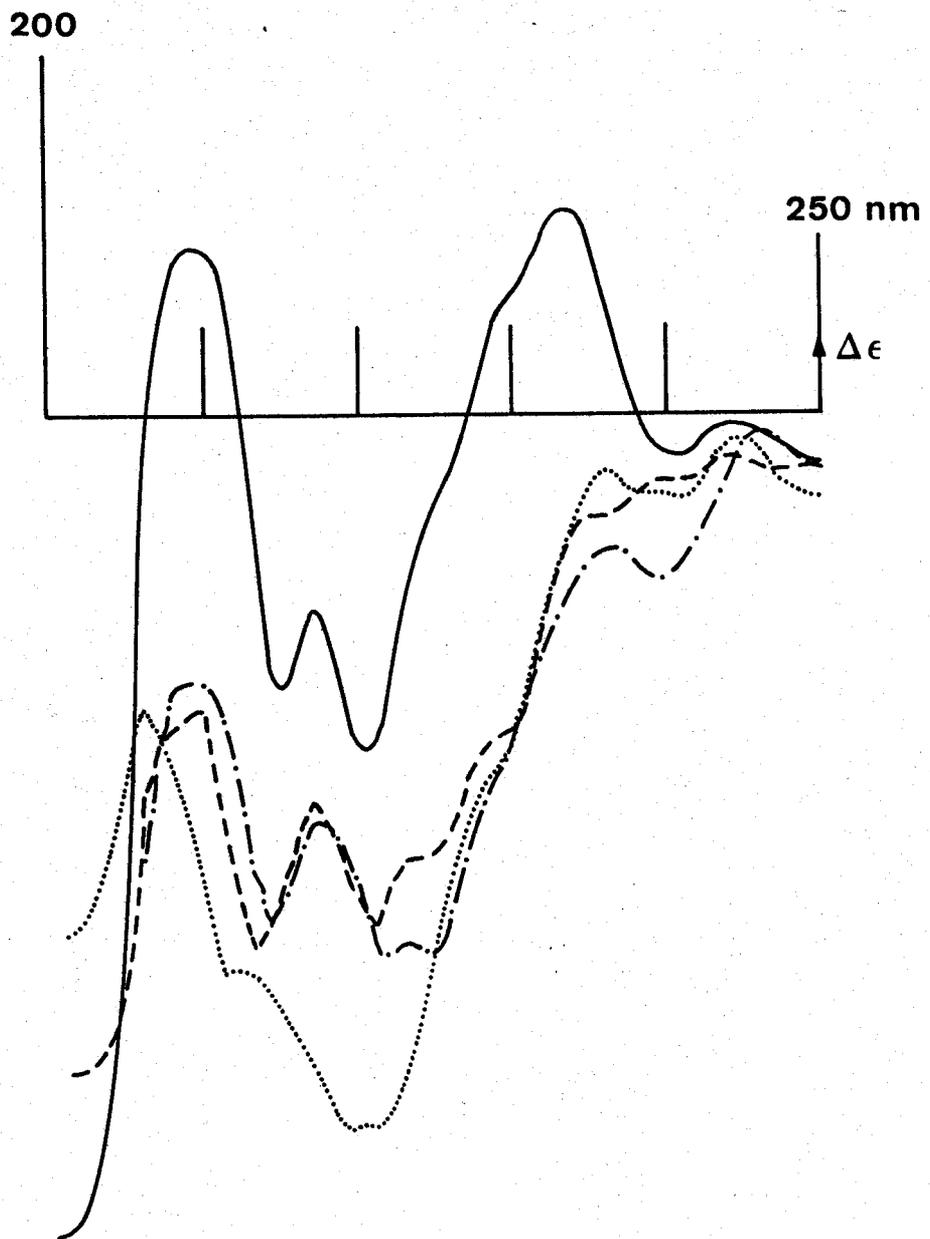


FIGURE 22

Spectre D.C. de GSBC - Pt(II) (250-200 nm)
pH = 2,3 (—), 4,39 (---), 7,69 (.....), 11,08 (-.-.-)

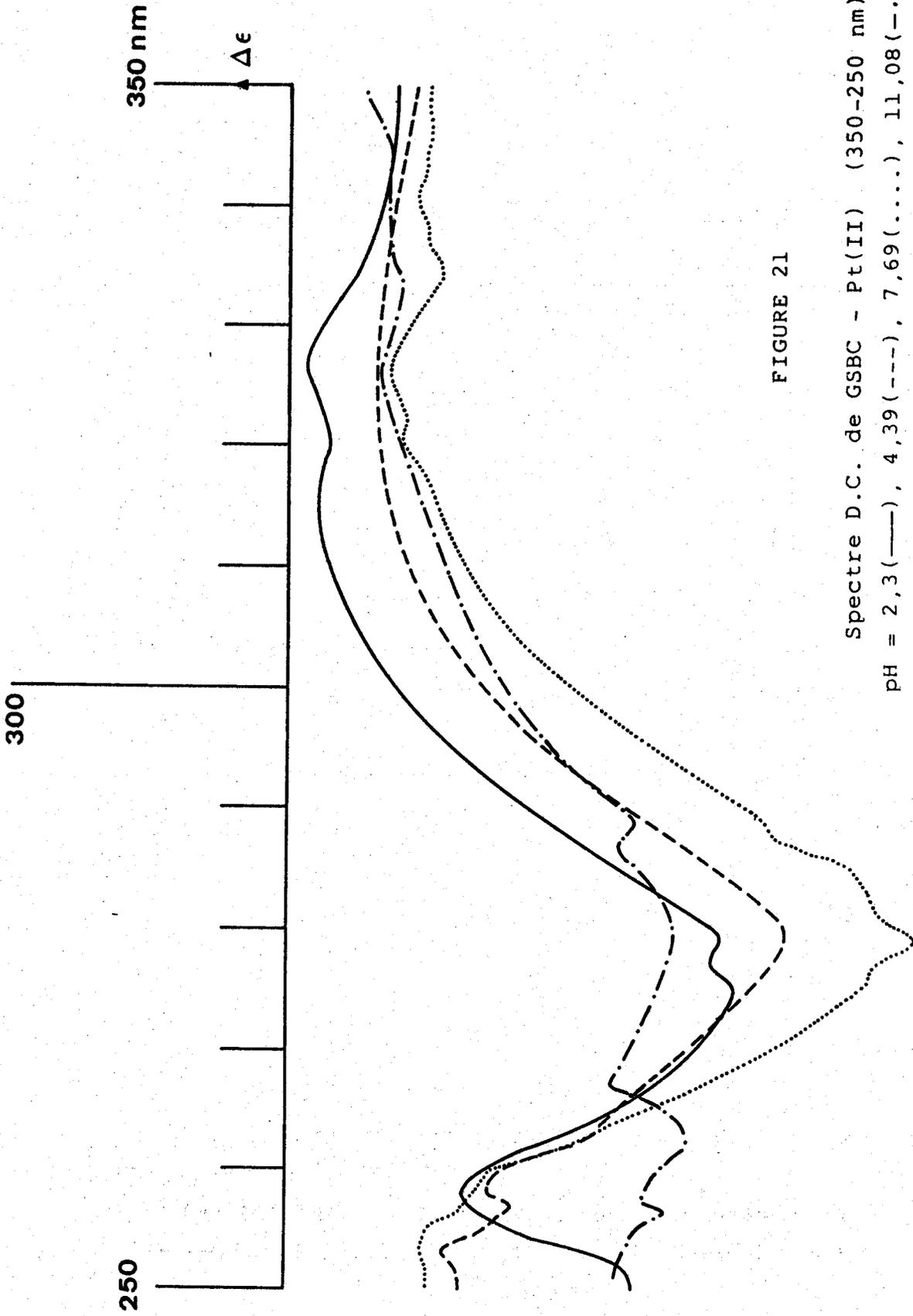


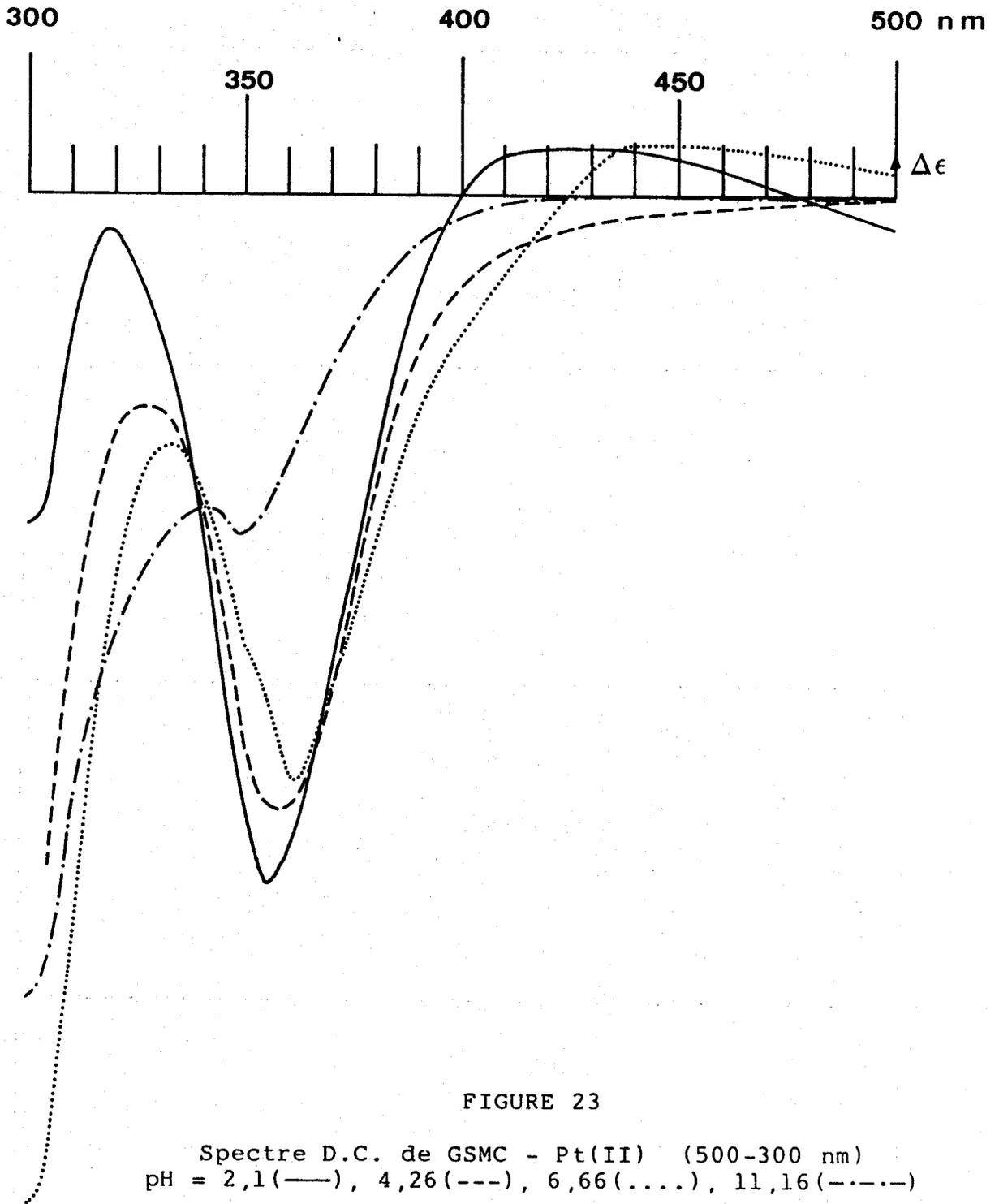
FIGURE 21

Spectre D.C. de GSBC - Pt(II) (350-250 nm)

pH = 2,3(—), 4,39(---), 7,69(.....), 11,08(-.-.-.-)

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
2,10	356 (-0,16)	281 (-0,47)	A + E
		233 (+3,00)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$ intrasulfures + $\sigma S \rightarrow Pt(II)$
4,26	359 (-0,14)	283 (-0,60)	A + E
		241 (+2,10)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
		234 (+2,30)	intrasulfures $\sigma S \rightarrow Pt(II)$
6,66	362 (-0,13)	282 (-0,75)	A + E
		242 (+1,00)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$ intrasulfures + $\sigma S \rightarrow Pt(II)$
11,16	350 (-0,08)	283 (-0,35)	A + E
		240 (+1,40)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$
		234 (+1,70)	intrasulfures $\sigma S \rightarrow Pt(II)$

TABLEAU XVI
Principales bandes dichroïques de GSMC - Pt(II)



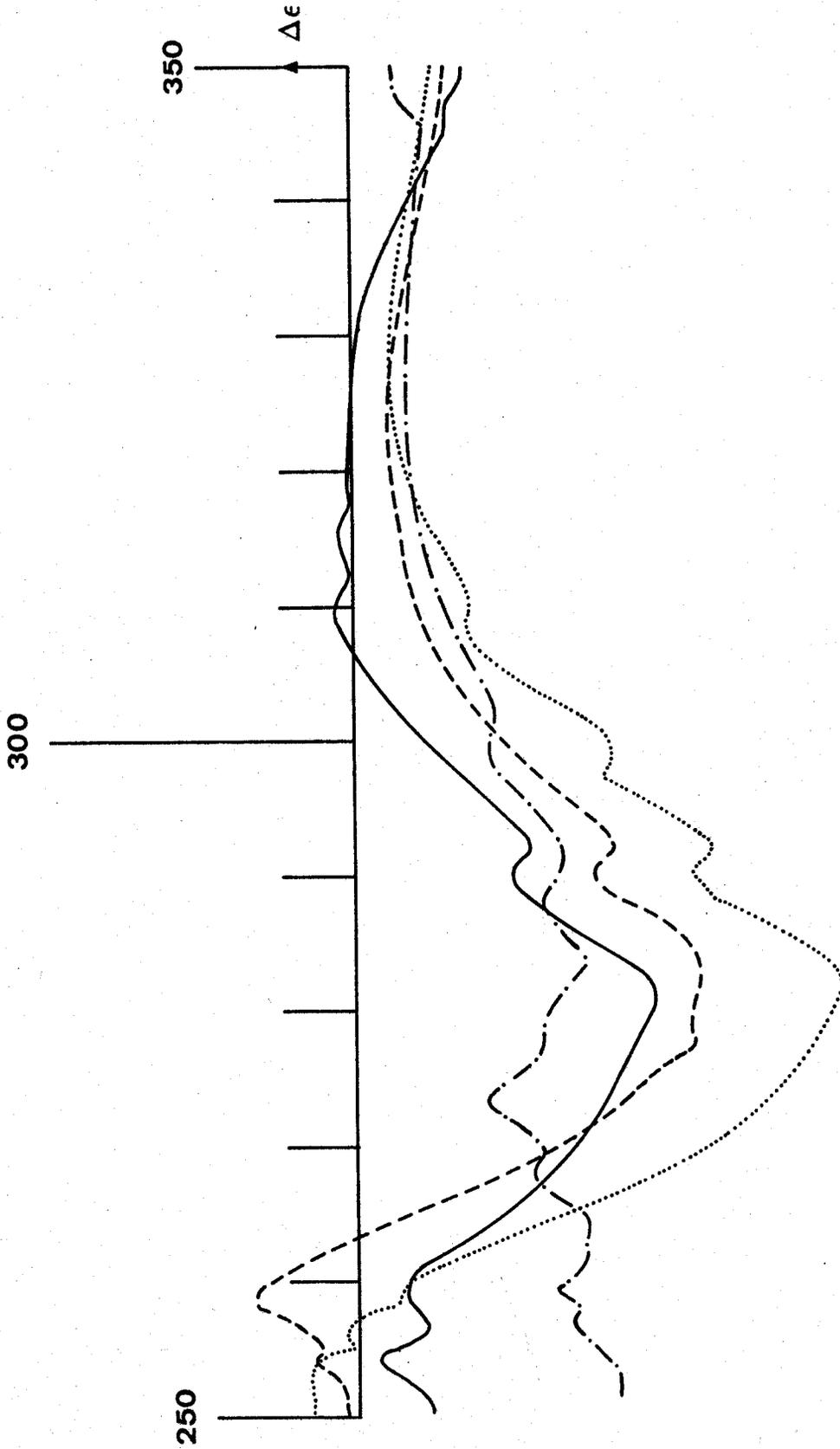


FIGURE 24

Spectre D.C. de GSMC - Pt(II) (350-250 nm)
pH = 2,1(—), 4,26(---), 6,66(.....), 11,16(-.-.-)

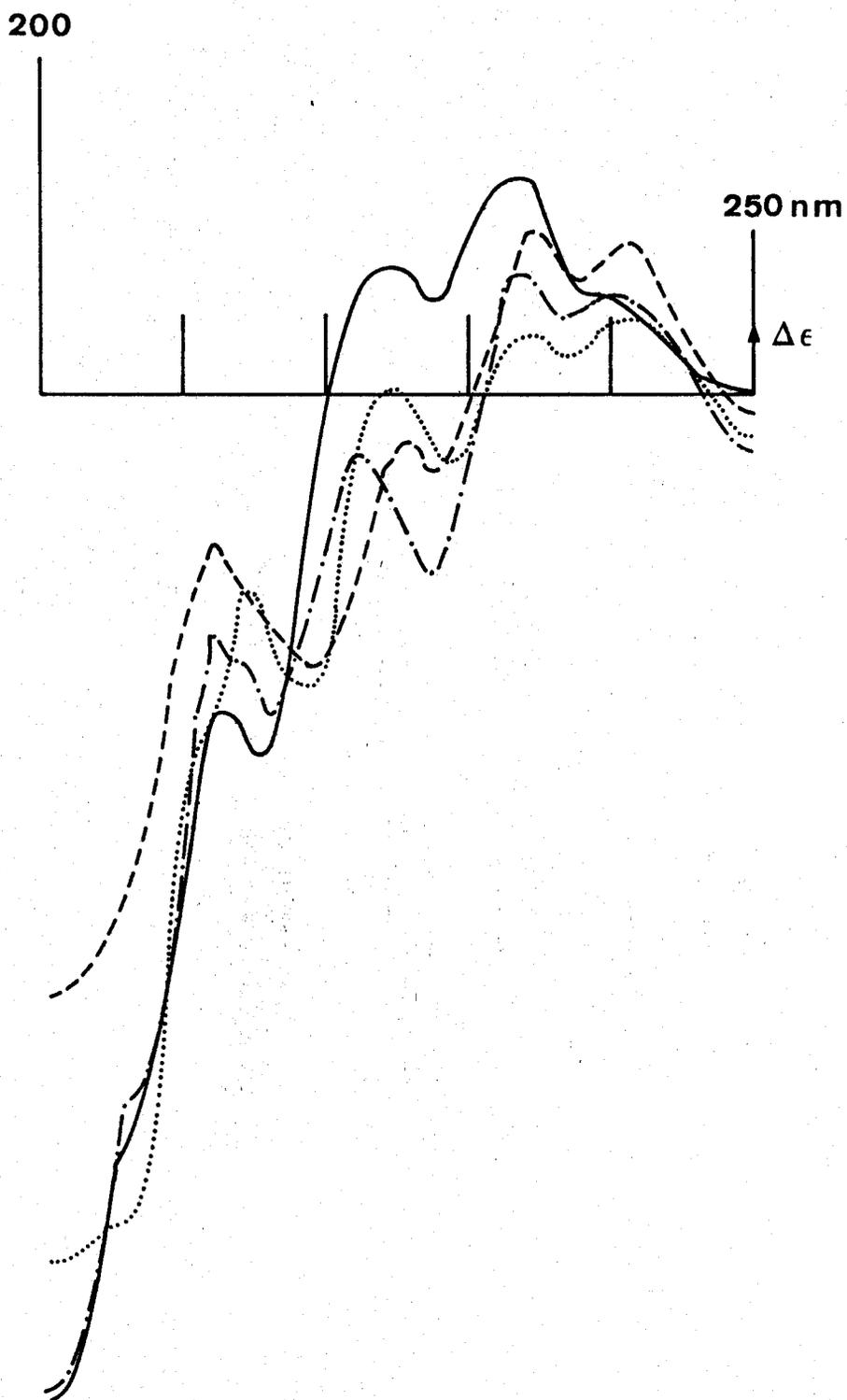


FIGURE 25

Spectre D.C. de GSMC - Pt(II) (250-200 nm)
pH = 2,1(—), 4,26(---), 6,66(.....), 11,16(-.-.-)

pouvant être du, comme nous l'avons supposé dans le cas du complexe du palladium, à la présence du résidu diglycine.

Ceci est plus ou moins confirmé à la lecture des spectres dichroïques qui sont toutefois moins complexes que ceux de l'espèce Gly-Gly-S-Benzyl-L-cystéine - Pd(II), ce qui peut s'expliquer par la différence de cinétique des réactions d'échange de ligand existant entre le palladium et le platine, celui-ci étant beaucoup moins réactif.

Toutefois, il est intéressant de comparer le spectre dichroïque du complexe Gly-Gly-SBC - Pt(II) à celui de SBC - Pt(II). Ainsi, on retrouve sensiblement les mêmes transitions placées à des longueurs peu différentes en ce qui concerne les transitions d-d du platine, mais il faut noter l'inversion de signe de $\Delta\epsilon$.

Ceci pourrait signifier que nous sommes principalement en présence d'un complexe de type [S,N], l'apparition d'une coordination [S,N,N,N] pouvant être contrariée par le "poids" du résidu diglycine comme cela a été avancé pour les complexes du Pd(II) avec le même ligand. De plus, la chaîne diglycine pourrait être à l'origine de l'inversion de signe de $\Delta\epsilon$ remarquée entre SBC - Pt(II) et Gly-Gly-SBC - Pt(II).

pH	transition d-d nm ($\Delta\epsilon$)	trans. de charge nm ($\Delta\epsilon$)	attribution
1,20	347 (+0,02)		E
		276 (+0,05) 235 (-6,50)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$ + intrasul. et arom. $\sigma S \rightarrow Pt(II)$
6,30	411 (+0,01)		A + B
	368 (+0,02)		Γ_a (E)
	328 (+0,04)		Γ_b (E)
9,50		284 (-0,11) 236 (-4,80)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$ + intrasul. et arom. $\sigma S \rightarrow Pt(II)$
	405 (+0,01)		A + B
	363 (-0,01)		Γ_a (E)
	329 (+0,03)		Γ_b (E)
		277 (-0,12) 236 (-3,70)	$\pi S \rightarrow Pt(II)$ + intrasul. et arom. $\sigma S \rightarrow Pt(II)$

TABLEAU XVII

Principales bandes dichroïques de GGSCB - Pt(II)

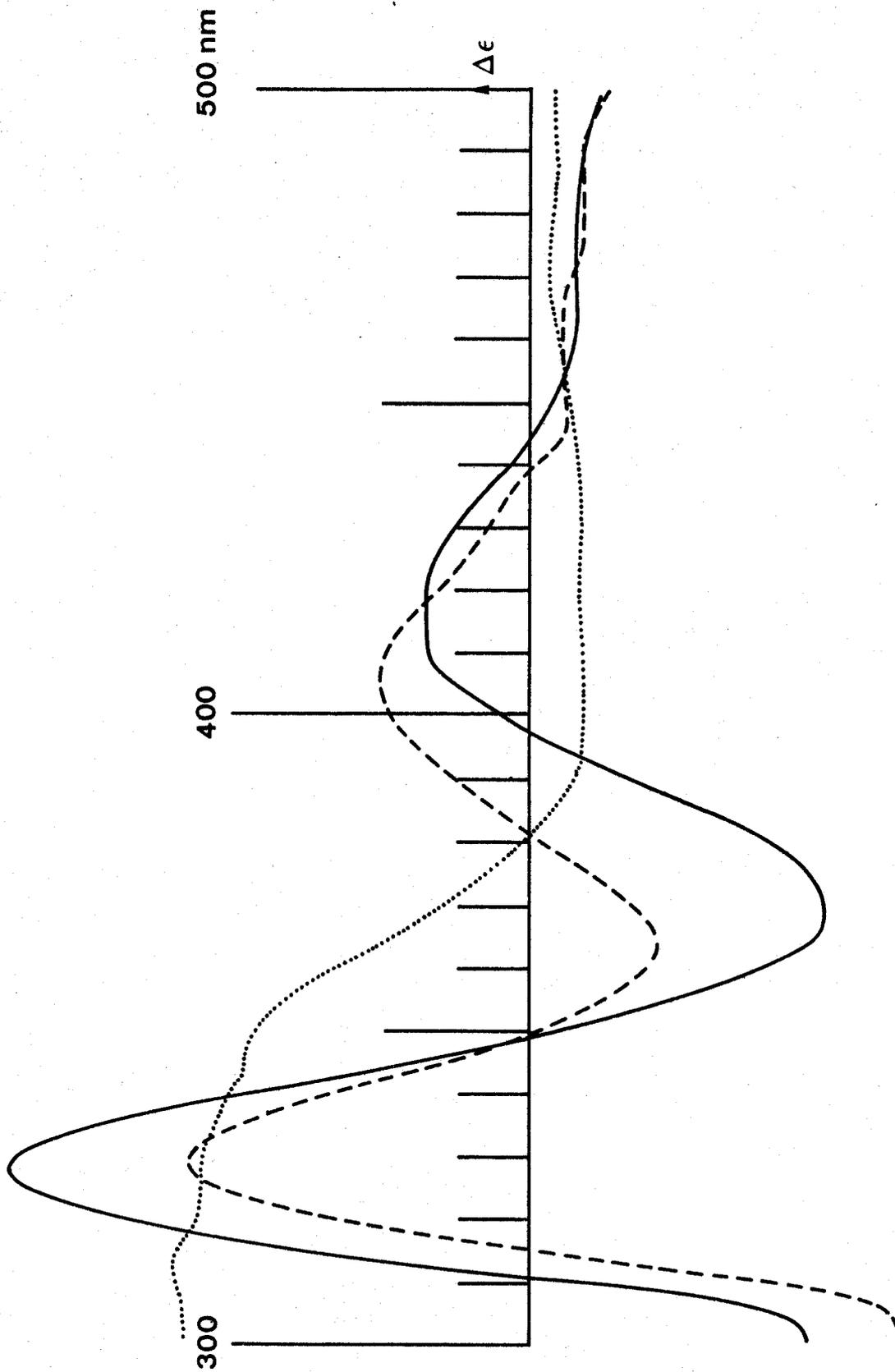


FIGURE 26

Spectre D.C. de GGBC - Pt(II) (500-300 nm)

pH = 1,2(.....), 6,3(—), 9,5(---)

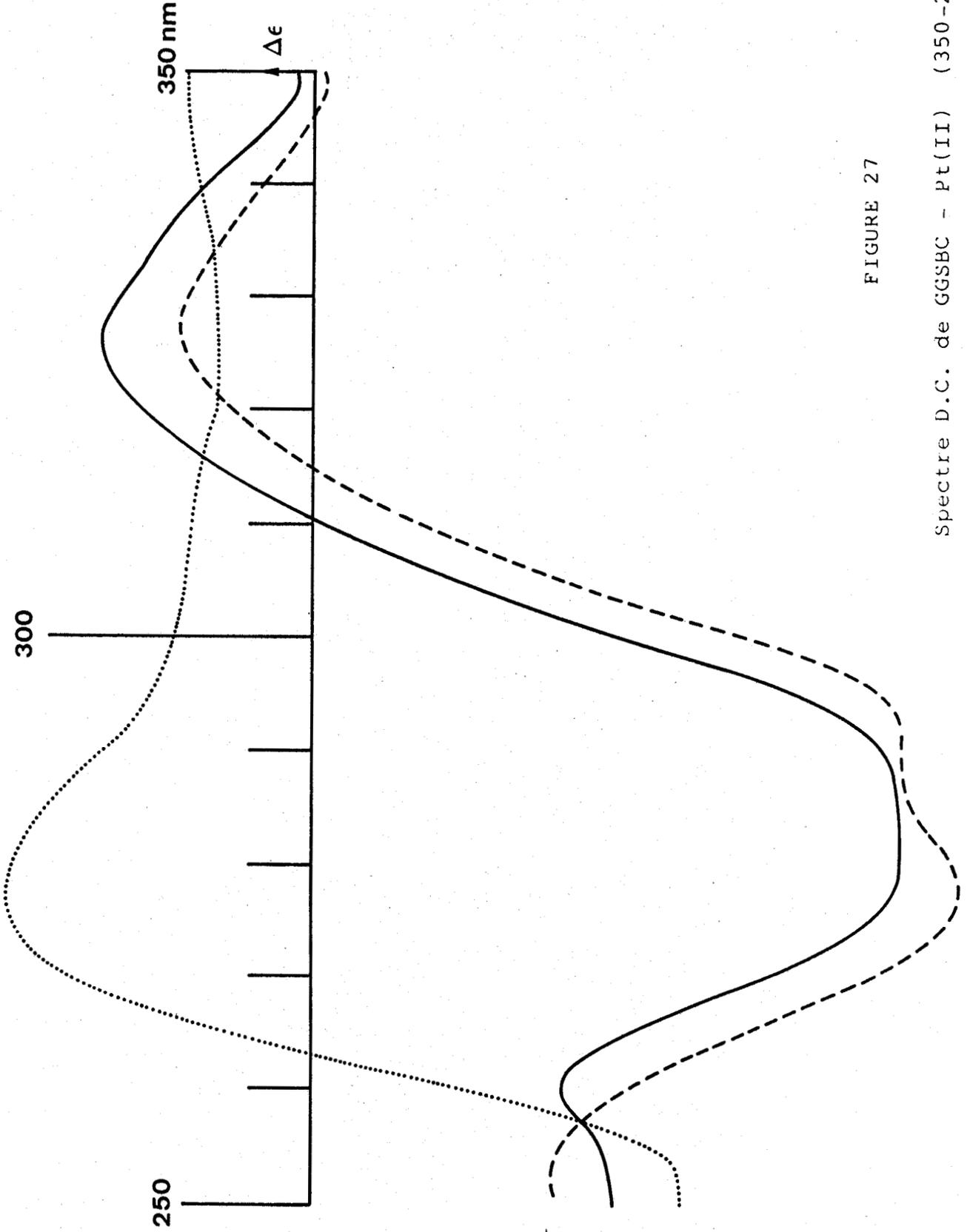


FIGURE 27

Spectre D.C. de GGSBC - Pt(II) (350-250 nm)

pH = 1,2(.....), 6,3(---), 9,5(—)

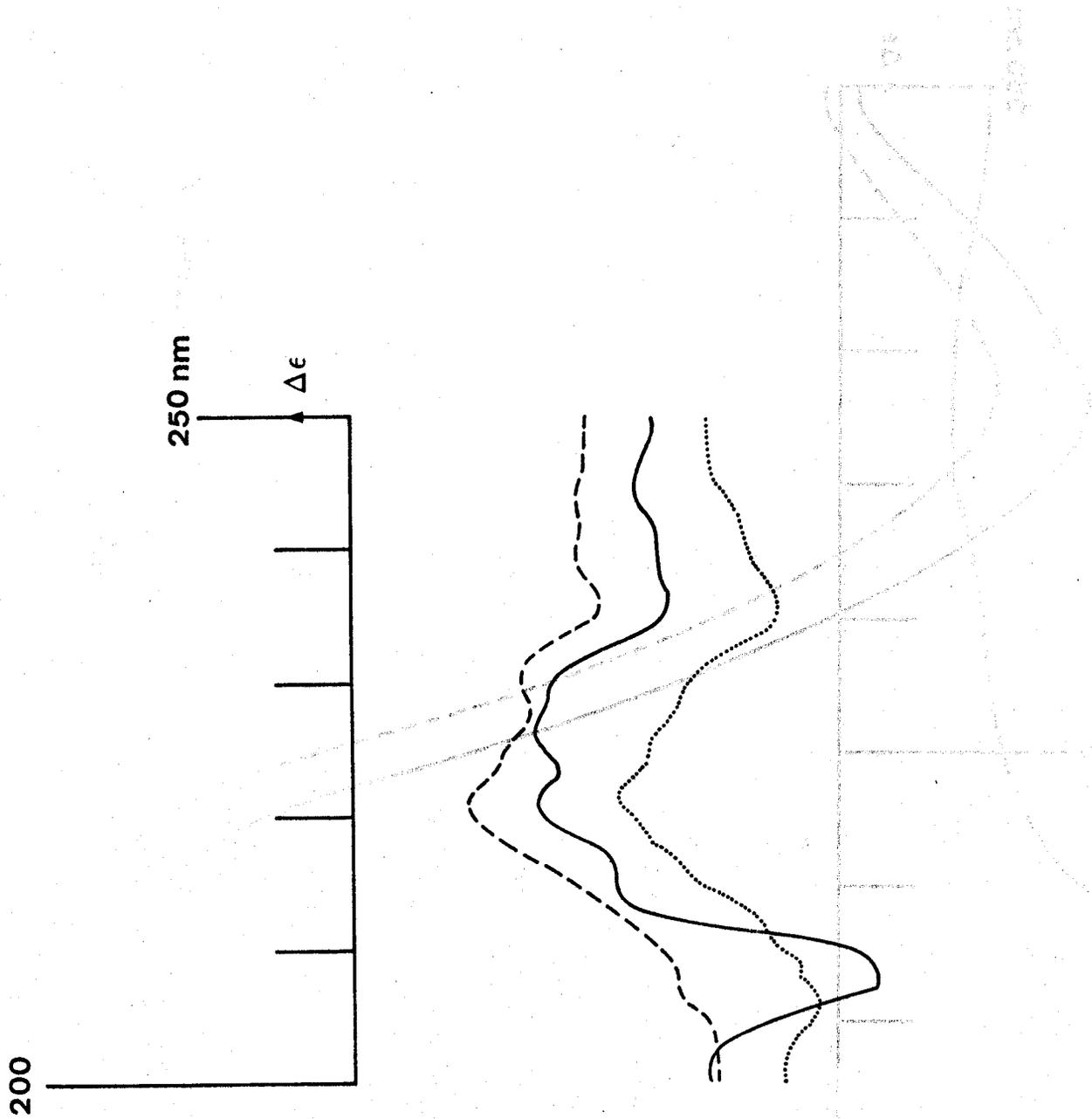


FIGURE 28

Spectre D.C. de GGSBC - Pt(II) (250-200 nm)
pH = 1,2(.....), 6,3(—), 9,5(---)

CHAPITRE IV

ETUDE PAR RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

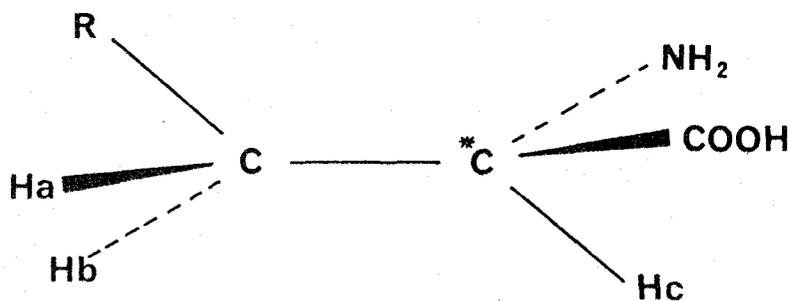
DES COMPLEXES DU Pd(II)

La comparaison des spectres R.M.N. des peptides libres et complexés apporte beaucoup de renseignements sur les sites de complexation et la stéréochimie des complexes étudiés. L'étude par R.M.N. permet de confirmer et d'approfondir les hypothèses émises à partir des spectres d'absorption électronique et de dichroïsme circulaire.

Les seuls acides aminés optiquement actifs étudiés dans ce travail sont des dérivés S-alkylés ou arylés de la cystéine et présentent donc un spectre ^1H R.M.N. de type ABC correspondant à la résonance de l'unité $-\text{CH}-\text{CH}_2-$.

En effet, les protons géminés sont le plus souvent isochrones. Cependant un phénomène de non équivalence magnétique au sens du déplacement chimique est susceptible d'être introduit par une dissymétrie ou pseudodissymétrie moléculaire.

C'est le cas des amino acides autre que la glycine qui présentent un centre de chiralité (C_α), ce qui entraîne la non équivalence des protons du $-\text{CBH}_2$.



Donc les deux protons Ha et Hb du méthylène en α du carbone asymétrique, ne présentant pas le même environnement chimique sont diastéréotopiques, ils présenteront donc un spectre du type AB.

De plus, dans le cas des amino acides, on a la présence en position vicinale du proton Hc porté par le carbone asymétrique qui donne donc avec les protons Ha et Hb un spectre R.M.N. de type ABC.

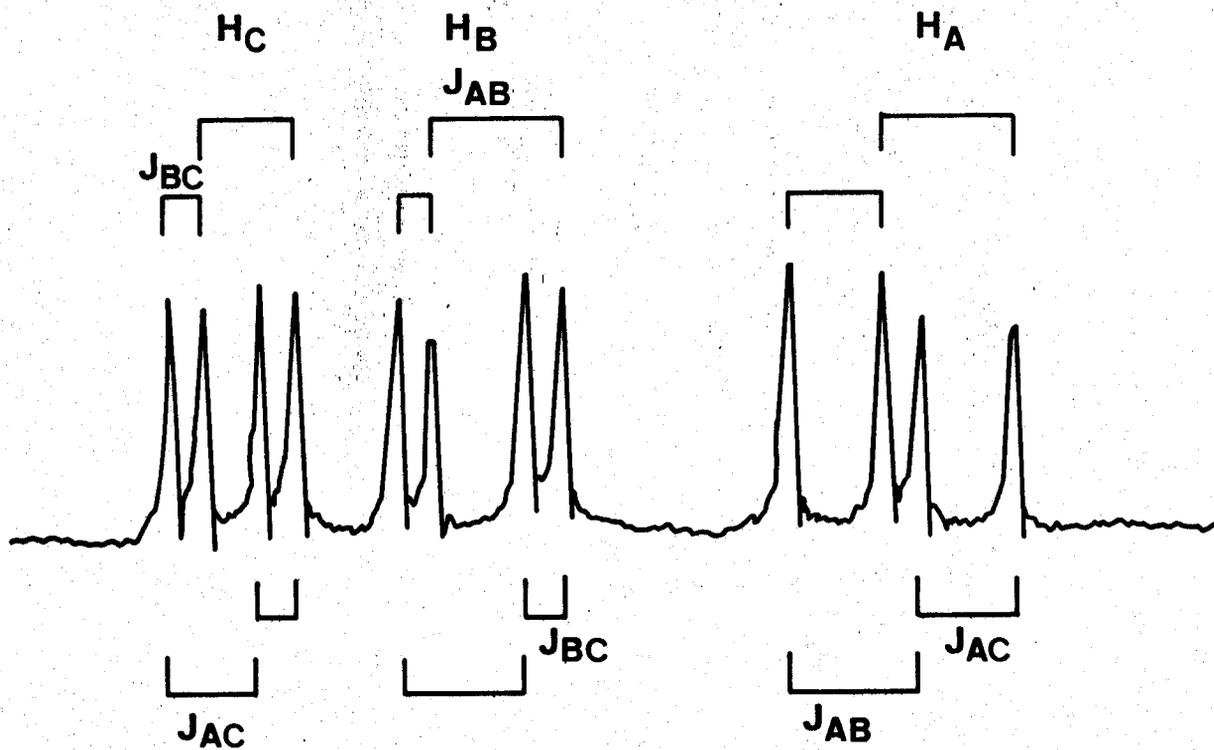


FIGURE 29
Spectre ¹H R.M.N. de type ABC

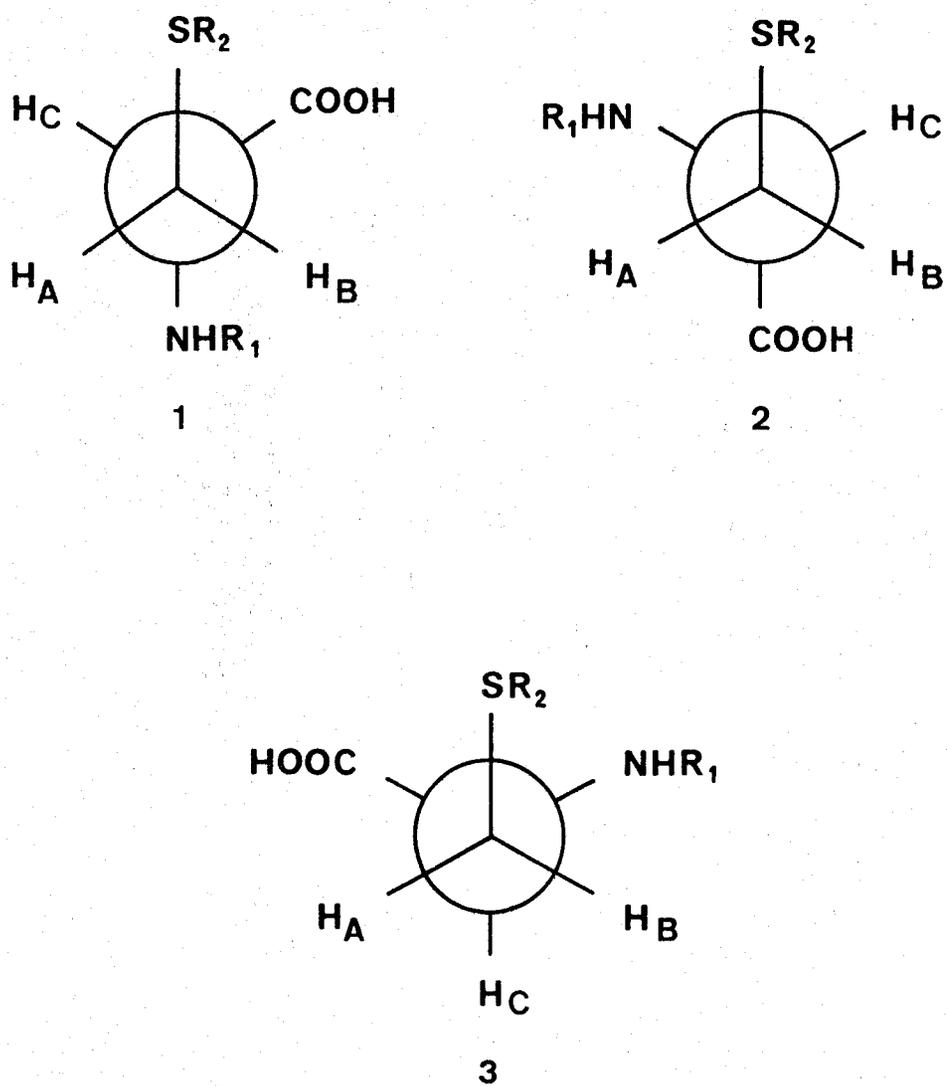


FIGURE 30

Notation des rotamères (autour de la liaison $C\alpha - C\beta$)

En solution, un amino acide présente un équilibre rapide entre trois rotamères différents, la rotation se faisant autour de la liaison $C\alpha - C\beta$.

Ces trois types de rotamères sont représentés par des projections de Newman (figure 30) et leurs rapports de population sont égaux à P_I , P_{II} et P_{III} .

Les deux groupements volumineux $-COOH$ et $-SR_2$ sont en position trans dans le rotamère II, gauche dans le rotamère I et gauche aussi dans le rotamère le plus encombré (rotamère III) où les trois substituants sont adjacents.

La détermination à partir du spectre des six paramètres qui caractérisent le système ABC ne présente habituellement aucune difficulté (figure 29). Ces paramètres sont les différentes constantes de couplage J_{AB} , J_{AC} , J_{BC} et les déplacements chimiques des protons concernés ν_A , ν_B et ν_C .

La lecture directe sur le spectre ne permet de connaître exactement que J_{AB} et ν_C , toutes les autres variables ne peuvent être qu'approximées dans un premier temps; il est nécessaire d'utiliser une méthode de calcul par itérations permettant d'approcher leurs valeurs exactes.

Karplus a proposé une méthode d'approximation des constantes de couplage vicinal en fonction des angles entre les différentes liaisons $C - H$ de $-C\alpha H - C\beta H_2$ pour les trois rotamères (77). Selon la valeur de l'angle diédral, Karplus propose deux équations pour déterminer J vicinal :

$$J_{vic} = k_1 \cos^2 \theta + A \quad (0 < \theta < 90^\circ)$$

$$J_{vic} = k_2 \cos^2 \theta + B \quad (90 < \theta < 180^\circ)$$

Certaines corrections doivent être introduites car la constante de couplage gauche dans l'isomère trans (II) peut différer des deux autres constantes de couplage gauches dans les isomères gauches (I et II); il en est de même pour les couplages trans.

L'évaluation de ces constantes de couplage gauche (J_g) et trans (J_t) permet de déduire la population des trois conformères décalés.

J_{AB} et J_{BC} peuvent être rapportées aux fractions molaires de chacun des trois rotamères et aux paramètres J_g et J_t dus aux positions du proton H_C relativement à H_A et H_B par l'intermédiaire des équations de Pachler (78,79) :

$$J_{AC} = P_I J_g + P_{II} J_t + P_{III} J_g$$

$$J_{BC} = P_I J_t + P_{II} J_g + P_{III} J_g$$

avec $P_I + P_{II} + P_{III} = 1$

donc $J_{BC} - J_{AC} = (P_{II} - P_I) (J_t - J_g)$

de ce fait quand J_t est supérieur à J_g et J_{BC} supérieur à J_{AC} la fraction molaire P_{II} est supérieure à P_I .

De ces équations, on en déduit les populations des différents rotamères :

$$P_I = \frac{(J_{BC} - J_g)}{(J_t - J_g)}$$

$$P_{II} = \frac{(J_{AC} - J_g)}{(J_t - J_g)}$$

$$P_{III} = \frac{(J_{BC} - J_{AC})}{(J_t - J_g)}$$

Les paramètres les plus utilisés sont ceux proposés en premier par Pachler (78 - 80) avec :

$$J_g = 2,56 \text{ Hz}$$

$$J_t = 13,60 \text{ Hz}$$

PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton ont été enregistrés sur un spectromètre Brucker WP 80 (80 MHz) et un Brucker WP 200 (200 MHz) avec une concentration en amino acide et en peptide de 10^{-2} mole par litre à $300 +$ ou $- 2^{\circ}\text{K}$ en ce qui concerne la S-Benzyl-L-cystéine, la Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine et la Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine.

Les spectres R.M.N. du proton de la Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine ont été enregistrés sur un spectromètre Brucker WM 500 (500 MHz) avec une concentration de $5 \cdot 10^{-3}$ mole par litre à $300 +$ ou $- 2^{\circ}\text{K}$.

L'analyse et la simulation du spectre de type ABC ont été menées sur un ordinateur de type Apple II; nous avons utilisé pour le calcul des populations de rotamères le jeu de constantes de Pachler.

Toutes les solutions sont faites dans D_2O et les pH ajustés avec du DCl ou NaOD. La référence utilisée est le 3-(Triméthylsilyl)-1-propane-sulfonique acide (sel de sodium).

Tous les complexes étudiés sont dans le rapport 1:1.

I ETUDE DES SPECTRES R.M.N. DES PEPTIDES LIBRES

A) S-Benzyl-L-cystéine : (Tableaux XVIII et XIX)

Le spectre de résonance magnétique nucléaire du proton de la SBC non complexée en solution aqueuse est composé à tout pH, d'un singulet pour les protons du méthylène du groupe benzyl, d'un autre singulet plus ou moins élargi à la base pour les protons portés par le cycle aromatique et de deux multiplets caractéristiques d'un système ABC pour les protons de l'unité - C α H - CBH₂ (figure 31).

Le déplacement vers les champs faibles du pic de résonance du CH₂ benzylique (3,8 ppm) par rapport à un CH₂ aliphatique s'explique par le déblindage opéré par les électrons π du noyau aromatique, ces protons sont toutefois moins déblindés que ceux portés par le cycle aromatique dont la position du pic de résonance est caractéristique (7,5 ppm).

La résolution apportée par un spectromètre 80 MHz n'est pas suffisante pour individualiser les différents types de protons aromatiques présents dans la SBC, un singulet plus ou moins large à la base est seulement obtenu à la place du multiplet attendu.

Le signal du proton C α H se présente comme un triplet avec un large pic médiant (résultant du recouvrement des 2 raies centrales du quartet théoriquement attendu) et les deux protons du CBH₂ montrent un multiplet caractéristique d'un système ABC (8 raies visibles sur les 15 théoriquement calculées).

Le pic de résonance situé à 4,8 ppm est celui des protons de H₂O présents sur tous les spectres R.M.N. du fait de l'échange hydrogène-deutérium des protons portés par l'atome d'azote et le groupement carboxyle.

L'utilisation des constantes de couplage vicinales J_{AC} et J_{BC} calculées à partir du spectre R.M.N., nous permet

pH	ν_A (ppm)	ν_B (ppm)	ν_C (ppm)	ν_{CH_2} (ppm)	$\nu_{C_6H_5}$ (ppm)
0,93	3,006	3,107	4,156	3,860	
6,20	2,972	3,032	3,852	3,857	7,450
10,90	2,745	2,806	3,424	3,815	7,510

TABLEAU XVIII

Déplacements chimiques des différents protons de la SBC

PH	J_{AB} Hz	J_{AC} Hz	J_{BC} Hz	P_I	P_{II}	P_{III}
0,93	15,1	8,5	3,6	0,12	0,55	0,33
6,20	14,9	9,5	2,5	0,02	0,64	0,34
10,90	13,7	8,5	3,5	0,10	0,55	0,35

TABLEAU XIX

Constantes de couplage et population des rotamères de la SBC

Spectre ^1H R.M.N. de la SBC
pH = 10,9

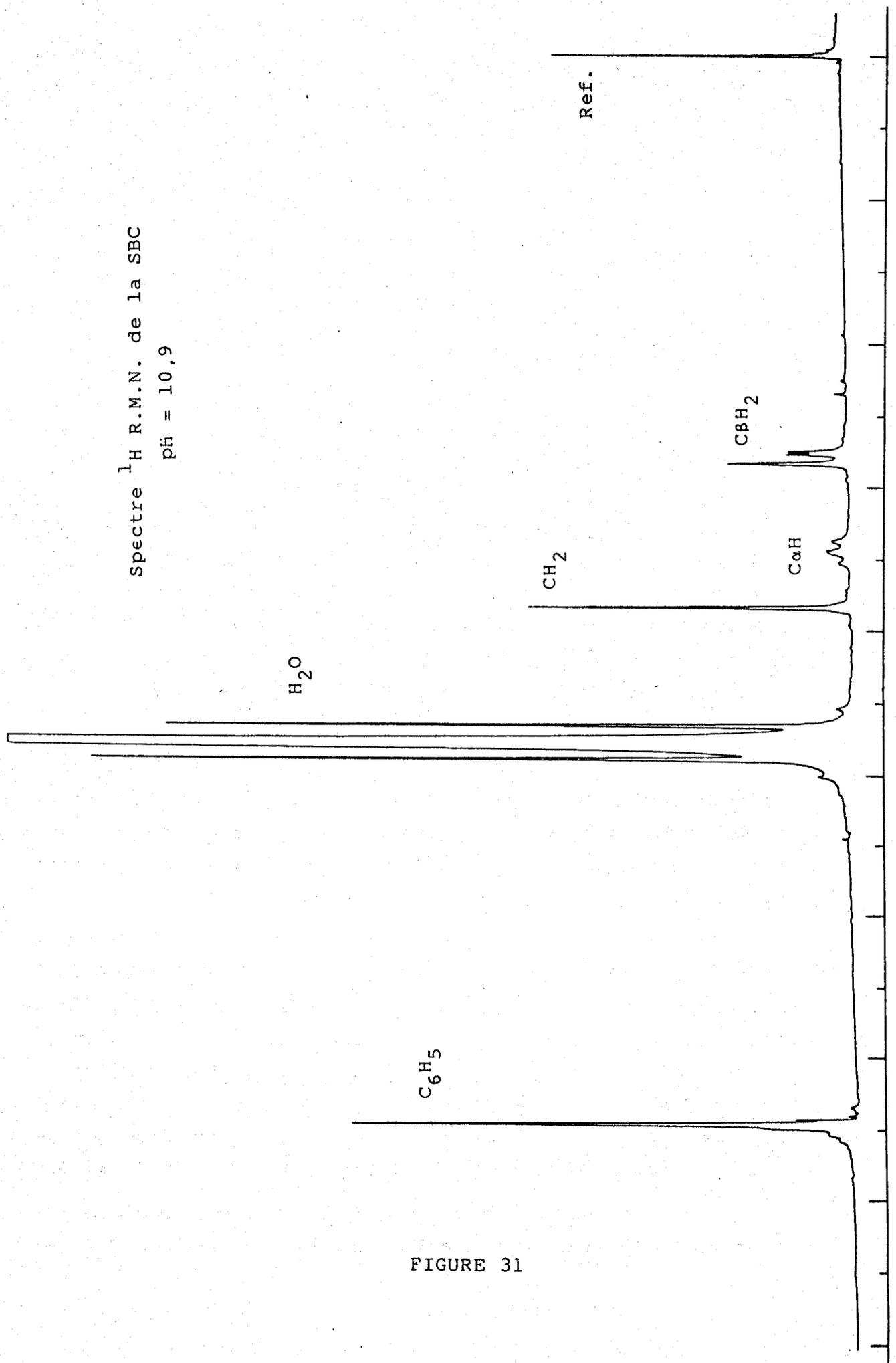


FIGURE 31

d'évaluer les populations relatives des trois rotamères (tableau XIX). Le conformère II (figure 30) possède la fraction molaire la plus élevée, ce qui s'explique par les effets stériques qui favorisent la position trans du thio-éther volumineux par rapport au groupement carboxylique. Ce résultat est similaire à ceux trouvés pour la S-Méthyl-L-cystéine (86).

B) Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : (Tableaux XX et XXI)

Les spectres R.M.N. du proton de la Gly-SBC non complexée présentent le même système ABC déjà mis en évidence pour la SBC (figure 32). Les noyaux H_A et H_B possèdent environ les mêmes déplacements chimiques que ceux des protons A et B dans la S-Benzyl-L-cystéine, alors que le quartet du proton $C\alpha H$ est déplacé vers les champs faibles (Tableau XX). Le noyau H_C de la Gly-SBC subit un déblindage par rapport au proton H_C de la SBC de par la formation de la liaison peptidique qui déplace la densité électronique sur la liaison $N - C\alpha$ un peu plus vers l'azote que dans le cas de la SBC.

D'autre part, le singulet dû à la résonance des deux protons méthylènes du groupe benzylique présente le même déplacement chimique que pour la SBC et se trouve confondu avec le singulet résultant de la résonance des deux protons du résidu Glycine.

Les fréquences de résonance des différents protons varient très peu en fonction du pH, sauf pour les noyaux du CH_2 de la Glycine qui subissent à partir de $pH = 8$ la déprotonation de l'amine terminale et le blindage en résultant, d'où le déplacement des fréquences de résonance vers les champs forts. Le même phénomène est remarquable en ce qui concerne le proton H_C du résidu S-Benzyl-L-cystéine (déprotonation de la fonction carboxylique à un pH d'environ 2).

Les fractions molaires des différents rotamères sont sensiblement identiques à celles trouvées pour la SBC (Ta-

pH	ν_A (ppm)	ν_B (ppm)	ν_C (ppm)	ν_{CH_2} (ppm)	$\nu_{C_6H_5}$ (ppm)
0,66	2,932	3,054	4,623	3,850	3,850
3,24	2,858	2,983	4,394	3,805	3,793
4,90	2,859	2,985	4,391	3,815	3,809
8,40	2,884	2,981	4,393	3,821	3,592
11,30	2,890	2,870	4,385	3,812	3,296

TABLEAU XX

Déplacements chimiques des différents protons de la Gly-SBC

pH	J_{AB} Hz	J_{AC} Hz	J_{BC} Hz	P_I	P_{II}	P_{III}
0,66	14,1	8,5	4,5	0,19	0,55	0,26
3,24	13,7	8,6	3,9	0,14	0,56	0,30
4,90	13,9	8,5	3,9	0,14	0,55	0,31
8,40	13,1	8,5	3,9	0,14	0,55	0,36
11,30	13,0	7,9	3,9	0,14	0,50	0,36

TABLEAU XXI

Constantes de couplage et population des rotamères de la Gly-SBC

Spectre ^1H R.M.N. de la Gly-SBC
pH = 4,9

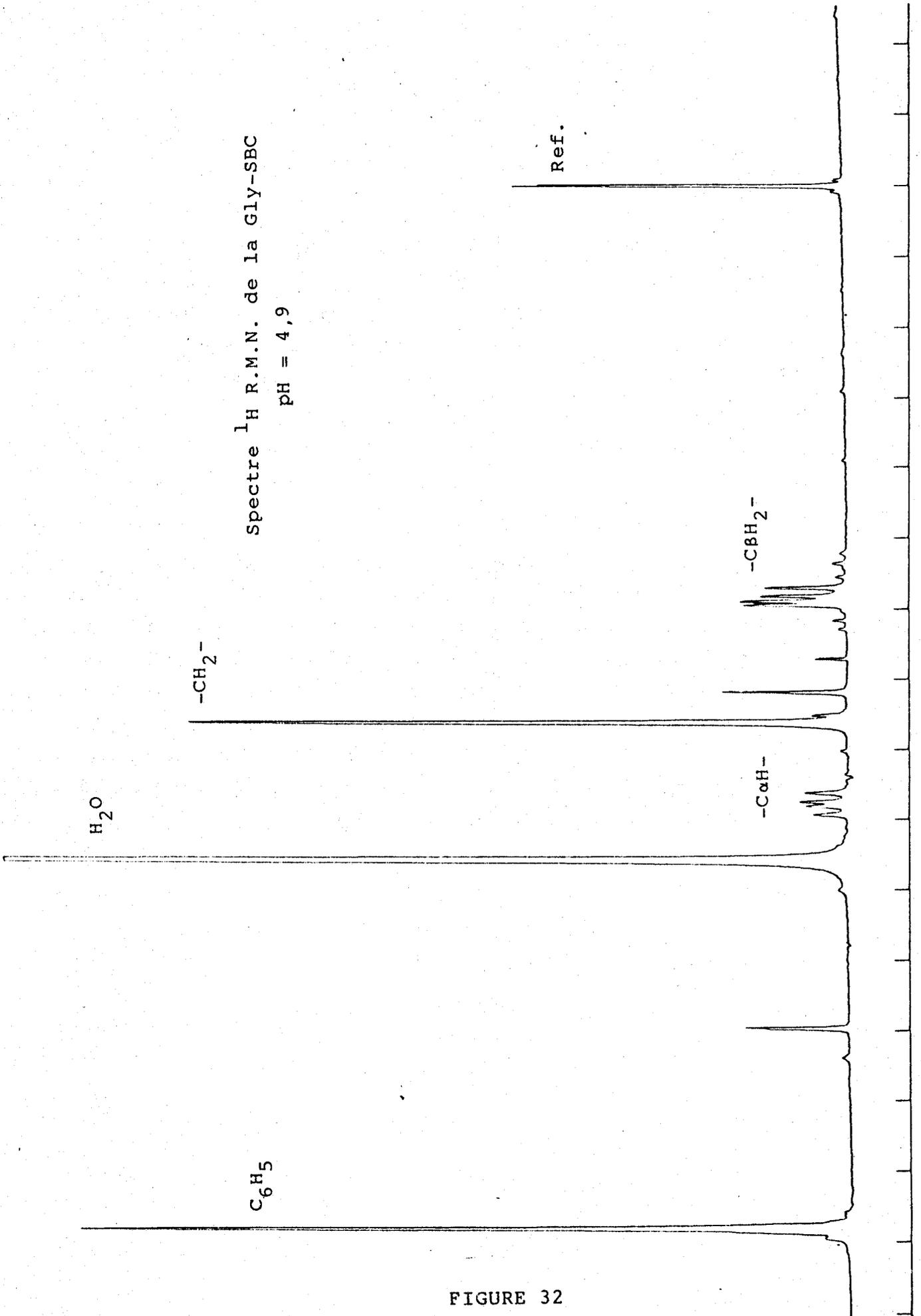


FIGURE 32

bleau XXI) et le rotamère II qui présente le moins d'effets stériques est prédominant en solution.

C) Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine : (Tableau XXII)

Les spectres R.M.N. du proton de la GGSMC non complexée présentent le même système ABC déjà mis en évidence pour la SMC et la SBC (figure 32). Les noyaux H_A et H_B possèdent des déplacements chimiques relativement identiques à ceux des protons A et B de la GSMC (59), ceci pour une même zone de pH. Il en est de même pour les valeurs de δ du proton C du résidu SMC.

D'autre part, le singulet dû à la résonance des trois protons du groupe méthyle - S - CH_3 présente la même fréquence de résonance que pour GSMC.

Les fréquences des différents protons varient très peu en fonction du pH, sauf pour les noyaux du - CH_2 - du résidu glycine qui subissent pour un pH = 8,10 la déprotonation de la fonction amine et le blindage en résultant, d'où le déplacement des fréquences de résonance vers les champs forts. Ceci nous permet d'individualiser les deux groupes méthylènes des motifs glycine, le singulet situé à 3,92 ppm correspondant au - CH_2 - de la glycine terminale et celui situé à 4,57 ppm à l'autre motif glycine.

Les fractions molaires des différents rotamères sont sensiblement identiques à celles trouvées pour la GSMC et le rotamère II qui présente le moins d'effets stériques est prédominant en solution.

FIGURE 34

Spectre ^1H R.M.N. de GGSMC

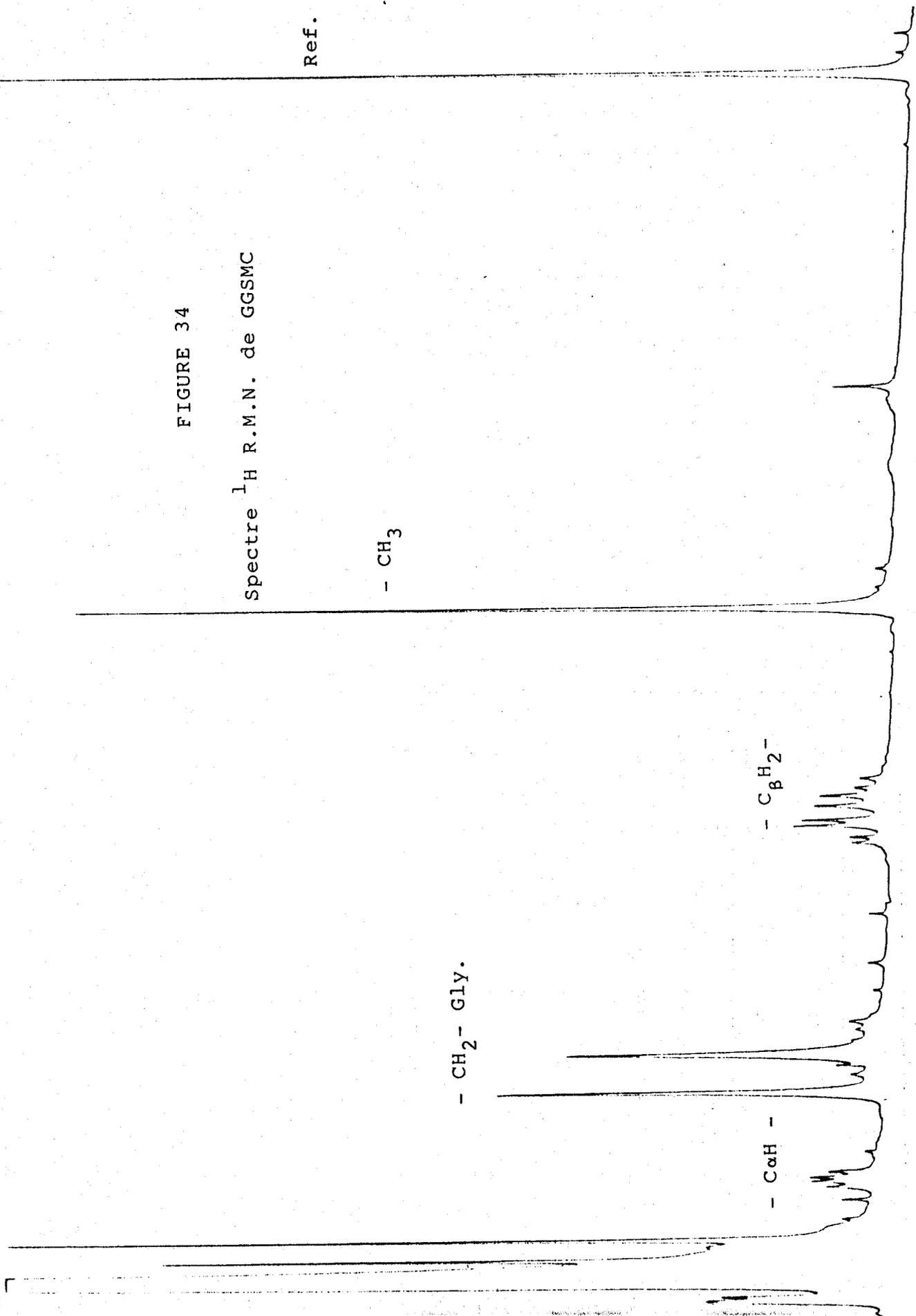
Ref.

- CH_3

- CH_2 - GLY.

- C_βH_2 -

- C_αH -



pH	ν_{CH_2} ppm	ν_{CH_2} ppm	ν_C ppm	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_{CH_3} ppm
5,35	4,07	3,92	4,42	2,87	3,02	2,13
8,10	4,02	3,50	4,42	2,88	3,02	2,13

	J_{AB} Hz	J_{AC} Hz	J_{BC} Hz	P_I	P_{II}	P_{III}
5,35	13,9	8,0	4,2	0,15	0,50	0,35
8,10	14,0	7,9	4,2	0,15	0,49	0,36

TABLEAU XXII
Paramètres de 1H R.M.N. de GGSMC

II ETUDE DES SPECTRES R.M.N. DES COMPLEXES DU Pd(II)

A) S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II)

La complexation par le palladium de la SBC entraîne une modification totale de l'aspect du spectre ^1H R.M.N. (figure 35).

Le signal situé à 3,86 ppm pour la SBC (pH = 0,9), attribué aux deux protons méthylènes du groupement benzylique est d'une part considérablement déplacé vers le domaine des champs faibles et d'autre part modifié pour donner deux quartets caractéristiques du système AB à environ 4,4 et 4,3 ppm. Le déblindage de ces deux protons indique que l'on a effectivement une coordination par l'atome de soufre comme cela avait été supposé après examen des spectres de dichroïsme circulaire.

La variation du déplacement chimique du groupe méthyle par complexation avec le Pd(II) dans le cas de la S-Méthyl-L-cystéine est du même ordre de grandeur (86).

La coordination par l'atome de soufre implique, comme nous l'avons vu précédemment la formation d'un centre chiral sur le soufre, les quatre substituants étant différents (Pd(II), CBH_2 , CH_2 benzylique et un doublet libre). La formation de ce centre chiral et la présence du cycle aromatique entraînent la non équivalence magnétique des protons du CH_2 benzylique et expliquent la transformation du singulet en quartet, caractéristique d'un système AB.

Le fait que deux quartets apparaissent, démontre que deux complexes existent en solution. Kozłowski H. et al ont montré dans le cas de la S-Méthyl-L-cystéine, que la complexation par le soufre entraînait la formation de deux diastéréoisomères, résultant du phénomène d'inversion du soufre (celui-ci étant visible du fait de sa vitesse faible comparée au temps de prise du spectre R.M.N.). On peut donc supposer que le même phénomène est observé dans le cas de la S-Benzyl-L-cystéine.

	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_C ppm	ν_{CH_2} ppm	$\nu_{C_6H_5}$ ppm	J_{AB} CH_2 Hz
espèce majeure	3,199	3,039	3,506	4,504 : 4,242(AB)	7,500	13,4
espèce mineure	2,907	3,106	3,980	4,310	7,800	
	J_{AB} Hz	J_{AC} Hz	J_{BC} Hz	P_I	P_{II}	P_{III}
espèce majeure	14,1	10,3	5,3	0,26	0,71	0,03
espèce mineure	12,7	11,6	4,6	0,17	0,83	0,00

TABLEAU XXVI

Paramètres R.M.N. du 1H de la SBC-Pd(II) à pH = 0,3

Spectre ^1H R.M.N. de SBC - Pd(II)
pH = 0,93

$-\text{CH}_2-$ benzyl

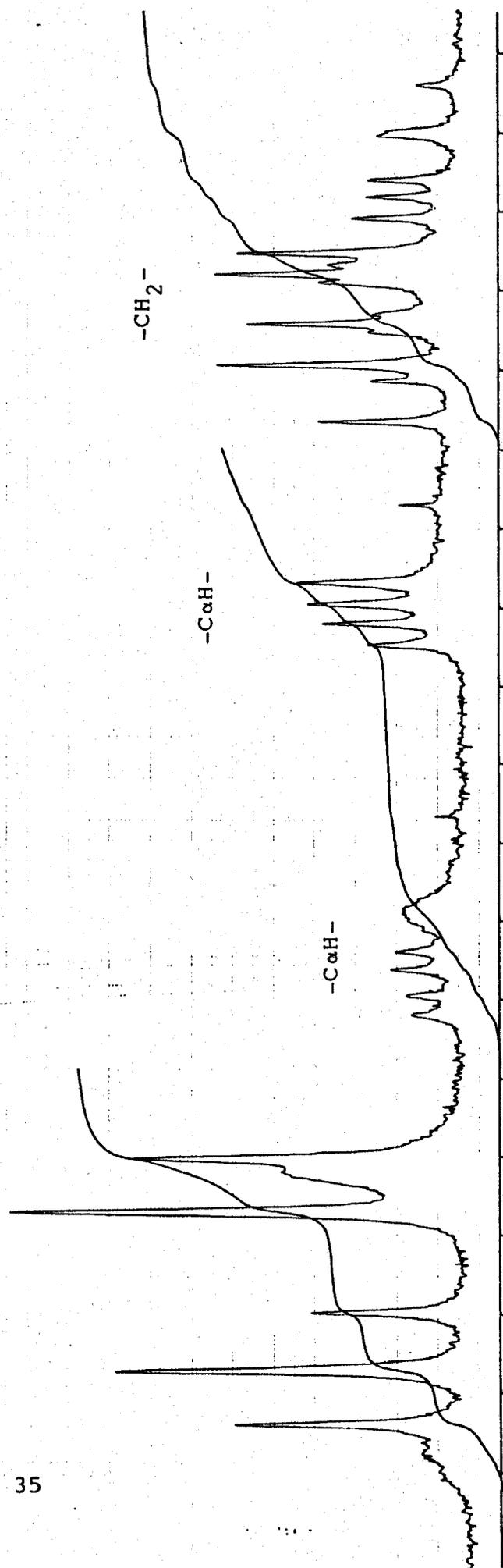


FIGURE 35

Spectre ^1H R.M.N. de SBC - Pd(II)
pH = 0,93

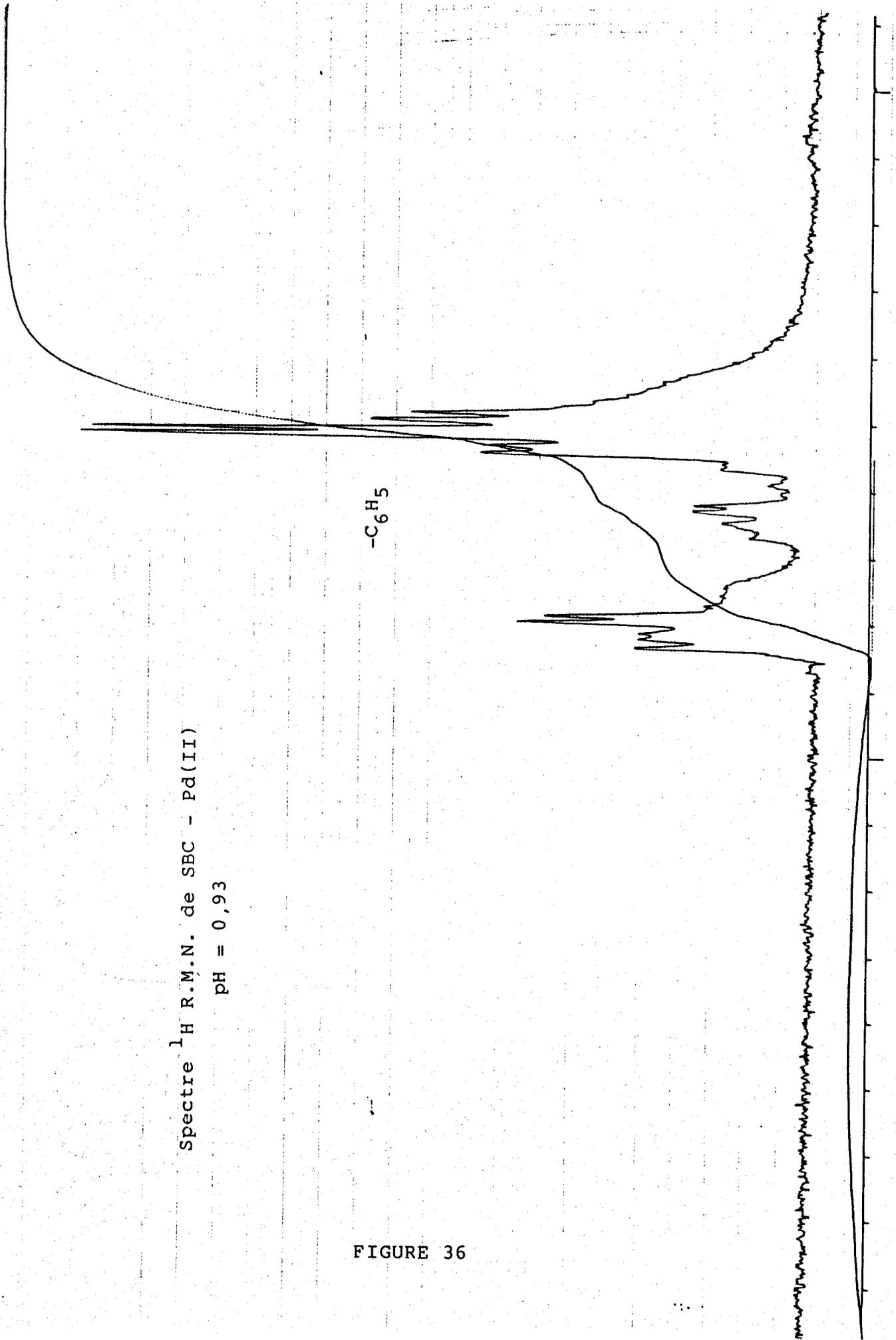


FIGURE 36

Le proton $C\alpha H$ donne deux quartets bien séparés à environ 3,5 et 4,0 ppm, résultant là encore de la présence des deux diastéréoisomères. La variation du déplacement chimique de ce proton comparé à l'acide libre montre une complexation par l'atome d'azote. Le blindage du proton C indique la déprotonation de la fonction amine qui ne peut intervenir à ce pH que consécutivement à l'action du palladium.

Les protons du groupe CBH_2 présentent un multiplet complexe correspondant à deux systèmes AB superposés.

Les protons du cycle aromatique montrent deux multiplets assez proches, dans un rapport 2:1 en ce qui concerne l'intensité des pics de résonance.

La comparaison des populations des trois rotamères dans le produit libre et complexé est intéressante (Tableau XXVI). La formation du complexe entraîne la disparition totale du rotamère III, le rotamère II étant fortement prépondérant.

Il est clair que la complexation par l'azote et le soufre favorise les rotamères II et III et que le rotamère II où les groupements $S - Pd(II)$ et $-COOH$ sont en position trans est le moins défavorisé stériquement.

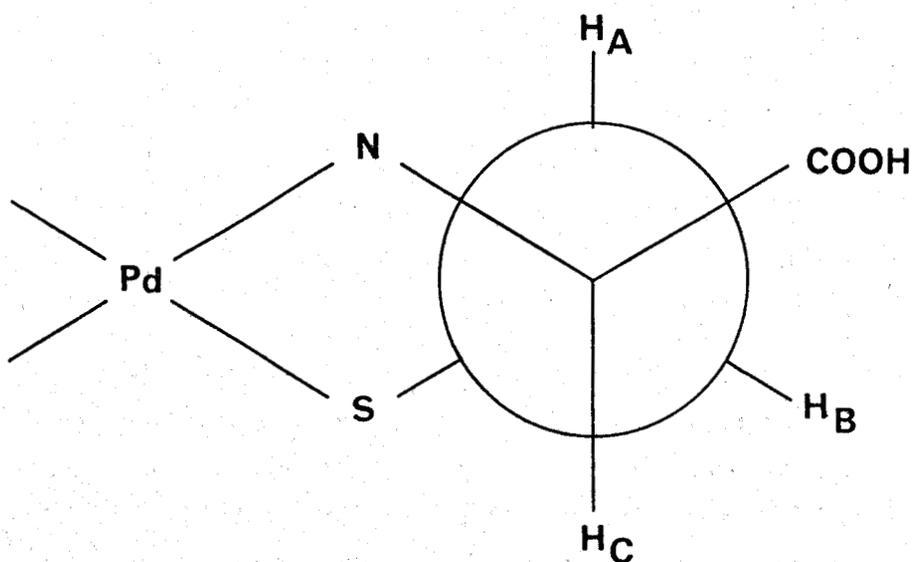


FIGURE 37

Il faut noter que pour exclure totalement la possibilité d'une complexation par le carboxyle, il aurait été souhaitable d'étudier la complexation par R.M.N. du carbone 13, ce qui n'a pas été possible pour des raisons de solubilité (les concentrations possibles sont trop faibles).

Toutefois, les résultats de dichroïsme circulaire et de ^1H R.M.N. obtenus avec la SBC sont comparables à ceux obtenus pour la SMC, où la non intervention du groupe carboxyle a été clairement établie par R.M.N. du ^{13}C et par infrarouge (86).

La grande différence entre la SMC et la SBC se situe dans la proportion des deux diastéréoisomères.

Le diastéréoisomère de SMC - Pd(II) avec les protons de $\text{C}\alpha\text{H}$ et de $\text{S} - \text{CH}_3$ déplacés vers les champs faibles est l'espèce prédominante dans la solution (rapport molaire 2:1) tandis que pour le complexe SBC - Pd(II), ce diastéréoisomère est moins favorisé (rapport molaire 1:2).

Etant donné que la variation des déplacements chimiques entre les produits libres et complexés dans le cas de SMC et de SBC est comparable, on peut supposer que les diastéréoisomères dont les protons H_C et CH_3 ou CH_2 benzyliques résonnent à champ faible correspondent au diastéréoisomère avec même configuration absolue sur l'atome de soufre.

Il est donc clair que la présence d'un groupe encombrant comme le groupement benzyle défavorise un des deux diastéréoisomères, qui diffèrent l'un de l'autre au niveau de la position du groupe benzylique sur l'atome de soufre, celui-ci étant soit en position trans soit en position cis par rapport au plan $\text{S} - \text{Pd(II)} - \text{N}$ (figure 38 et 39).

Toutefois, les renseignements obtenus jusqu'à présent ne sont pas suffisants pour déterminer la configuration absolue de l'atome de soufre dans chaque diastéréoisomère; l'étude du complexe Gly-SBC - Pd(II) nous permettra, comme nous le verrons ultérieurement, cette attribution.

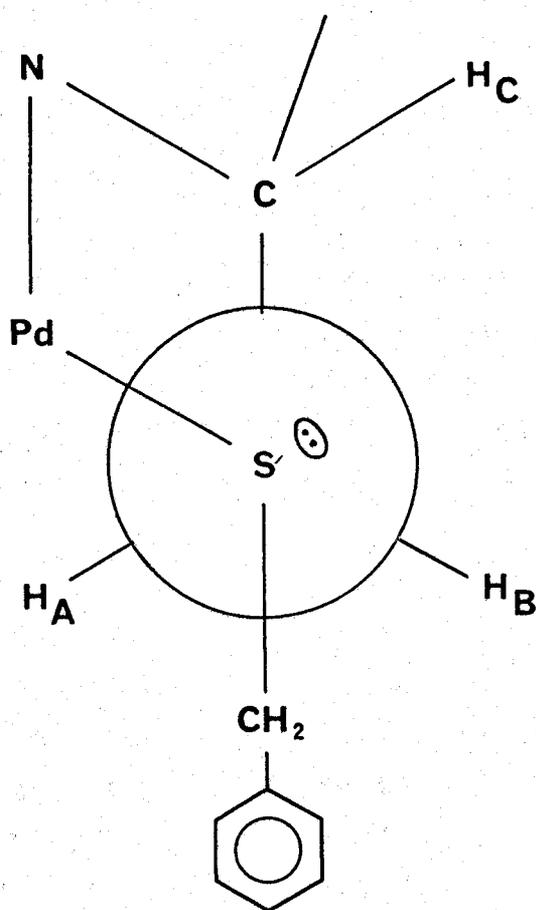
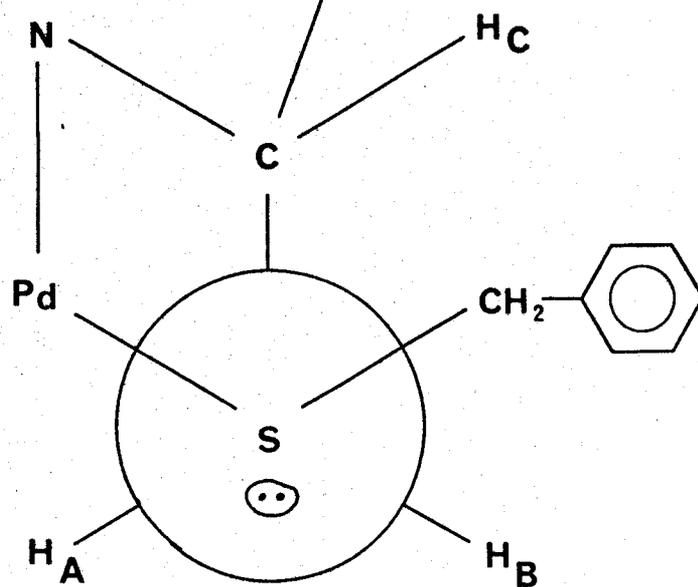


FIGURE 38

Diastéréoisomères de SBC - Pd(II)

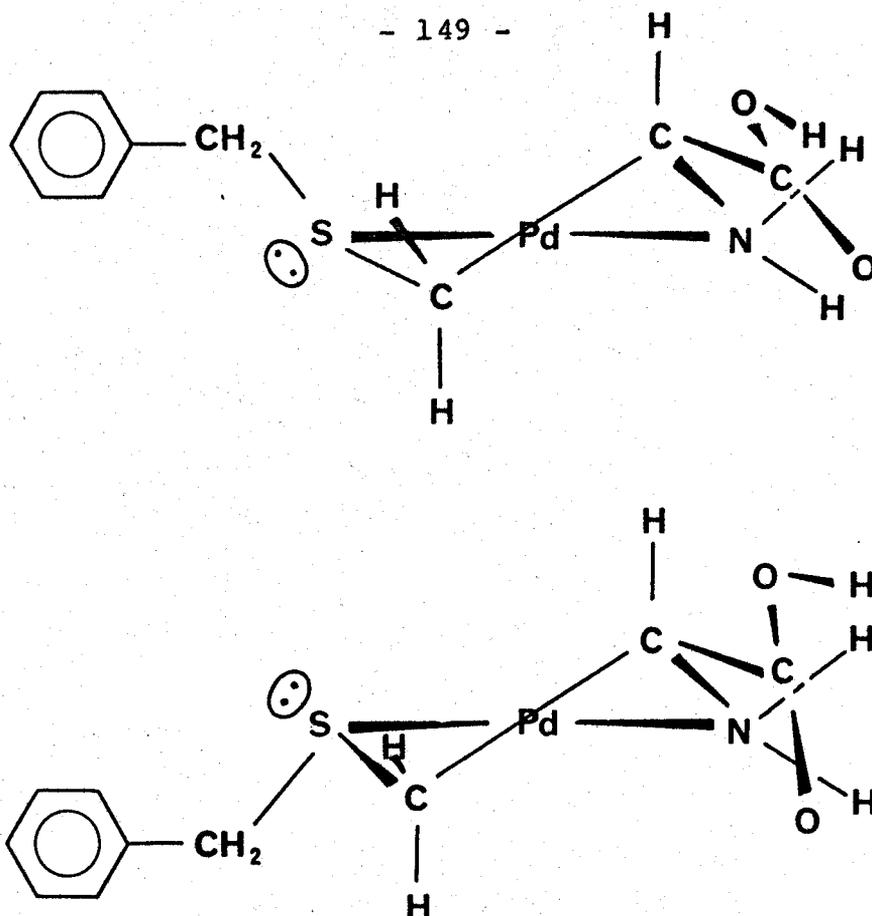


FIGURE 39

Quant à l'éventuelle existence à un pH supérieur à 7 d'un dimère, comme cela a été supposé en examinant les spectres de dichroïsme circulaire, elle n'a pu être vérifiée par R.M.N. du proton, du fait de la faible solubilité de SBC à un tel pH qui n'a pas permis d'obtenir des spectres exploitables.

B) Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II)

La variation des déplacements chimiques des différents protons présents dans la molécule de Gly-SBC après complexation avec le Pd(II) montre clairement que les sites de coordination sur le ligand à pH = 4,3 sont les deux atomes d'azote (NH₂ et N⁻ amide), et l'atome de soufre (Tableau XXVII). Ce sont les mêmes sites que ceux mis en évidence pour le complexe Gly-SMC - Pd(II) dans un domaine de pH allant de 2 à 13 (59).

	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_C ppm	ν_{CH_2} ppm	$\nu_{CH_2}^{GLY}$ ppm	$J_{AB}^{CH_2GLY}$ Hz
espèce majeure	3,032	3,097	4,055	4,295 : 4,137(AB)	3,707 : 3,627(AB)	17,1
espèce mineure	3,027	3,170	4,237	4,271(A ₂) : 3,718(AB)	3,843 : 3,718(AB)	17,1
	J_{AB} Hz	J_{AC} Hz	J_{BC} Hz	P_I	P_{II}	P_{III}
espèce majeure	11,8	7,0	2,6	0,03	0,42	0,55
espèce mineure	14,5	7,6	1,4	0,00	0,49	0,61

$$J_{AB} (CH_2) = 14,7 \text{ Hz}$$

TABLEAU XXVII

Paramètres R.M.N. du ¹H de la Gly-SBC-Pd(II) à pH = 4,30

Le déplacement de la fréquence de résonance des deux protons méthylènes du groupe benzylique vers les champs faibles montre comme pour le complexe SBC - Pd(II), l'intervention du soufre dans la complexation. Il en est de même pour les protons du motif CBH_2 .

Par contre, le proton $C\alpha H$ et les deux protons de la Glycine subissent une variation de déplacements chimiques vers les champs forts qui est caractéristique d'une augmentation de densité électronique sur les liaisons - N - $C\alpha$ - et - N - C_{Gly} -, résultante de la déprotonation de l'amine (comme dans le cas du complexe SBC - Pd(II)), celle-ci ne pouvant intervenir à un tel pH sans l'action du palladium.

Cette étude par R.M.N. confirme le type de complexation [N,N,S], qui avait été supposé à partir des résultats de dichroïsme circulaire.

Comme pour le complexe SBC - Pd(II), l'individualisation des deux noyaux du méthylène benzylique est observée après complexation du Pd(II) et de la Gly-SBC qui crée un centre chiral sur l'atome de soufre. La non équivalence de ces deux protons donne donc lieu à un système AB (figure 41).

D'autre part, le spectre R.M.N. du complexe Gly-SBC - Pd(II) montre aussi la formation de deux diastéréoisomères résultant de l'inversion lente sur le soufre, comme cela a été exposé pour le complexe SBC - Pd(II). L'existence de ces deux isomères est aussi responsable de la présence de deux multiplets pour les protons du cycle aromatique (figure 40).

Mais la région la plus intéressante du spectre du complexe Gly-SBC - Pd(II) est celle des protons du CH_2 de la Glycine. Ces noyaux, de par la formation d'un cycle chélatant sur la Glycine n'ont plus le même entourage et présentent de ce fait, une non équivalence magnétique.

Ces deux types de spectres peuvent suggérer que le cycle chélatant de la Glycine est présent avec plus d'une conformation (ne dérivant pas nécessairement de la configu-

ration absolue de l'atome de soufre) dans le complexe Gly-SBC - Pd(II); cependant, la non équivalence des protons de la Glycine peut aussi résulter des différentes conformations du cycle chélatant sur la résidu S-Benzyl-L-cystéine.

Le résidu Glycine dans le complexe Gly-SBC - Pd(II) semble être un facteur important qui influence la conformation du cycle chélatant de la SBC. Le rotamère III devient le conformère prédominant alors que dans le complexe SBC - Pd(II) sa population est proche de zéro, malgré l'encombrement stérique de ce rotamère.

La stabilisation de l'isomère gauche peut laisser supposer un équilibre entre les conformations λ et δ (81-83) du cycle chélatant [N,S] de la SBC (figure 42), la conformation λ correspondant au rotamère II et la conformation δ au rotamère III.

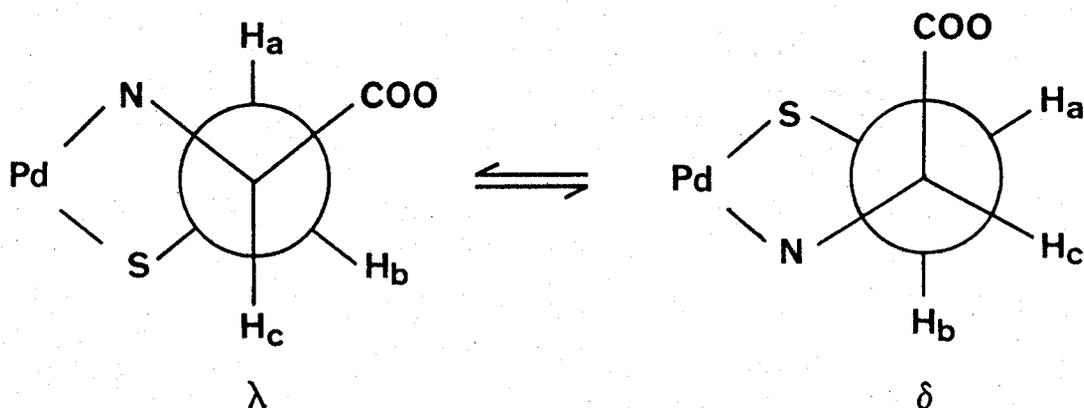


FIGURE 42

Conformères λ et δ du cycle chélatant de la SBC

La forte population du rotamère III dans le complexe étudié (0,6) signifie que le conformère δ du cycle chélatant de la SBC avec la fonction carboxylique en position

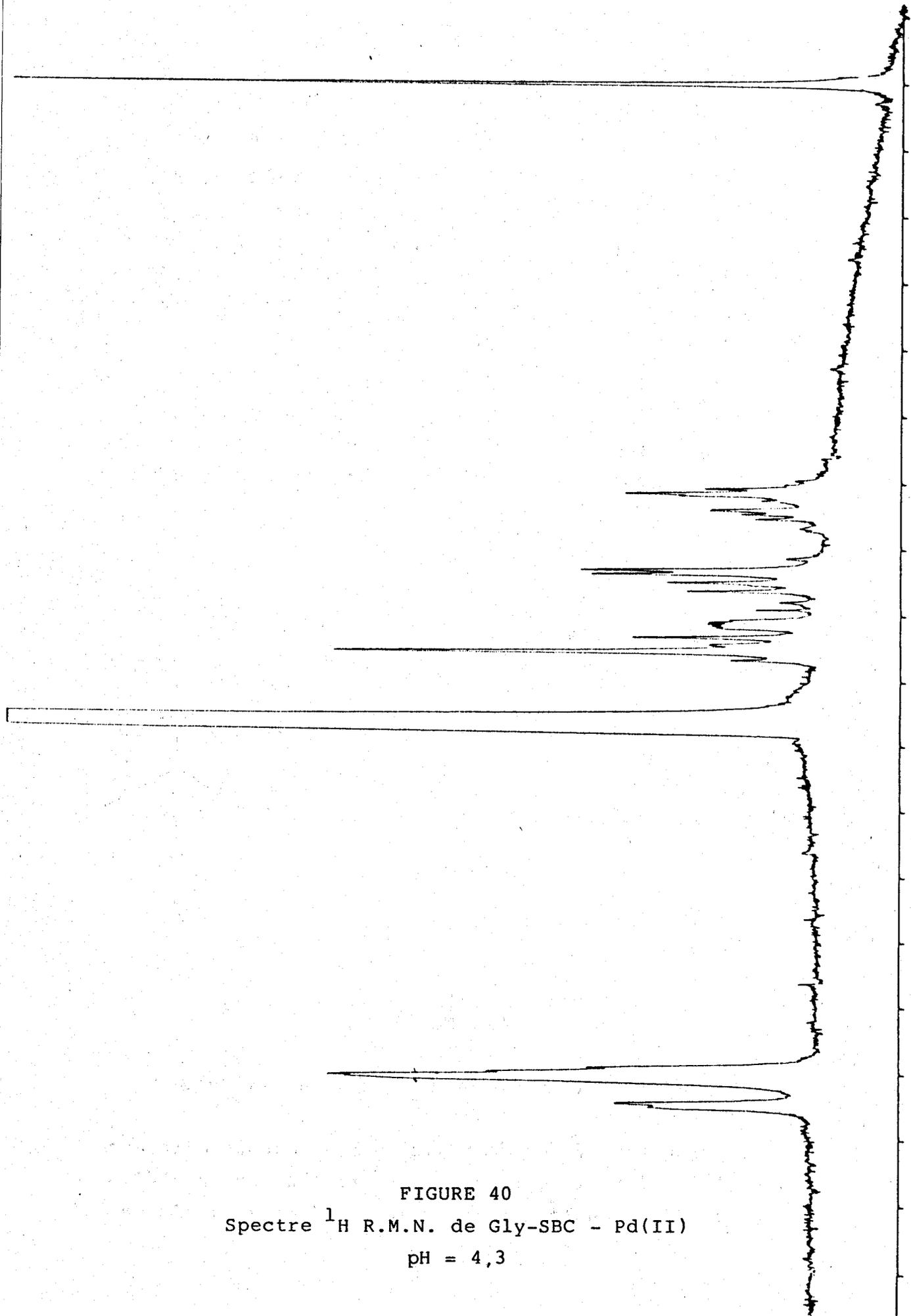


FIGURE 40
Spectre ^1H R.M.N. de Gly-SBC - Pd(II)
pH = 4,3

Spectre ^1H R.M.N. de Gly-SBC - Pd(II)
pH = 4,3

-CH₂- benzyl

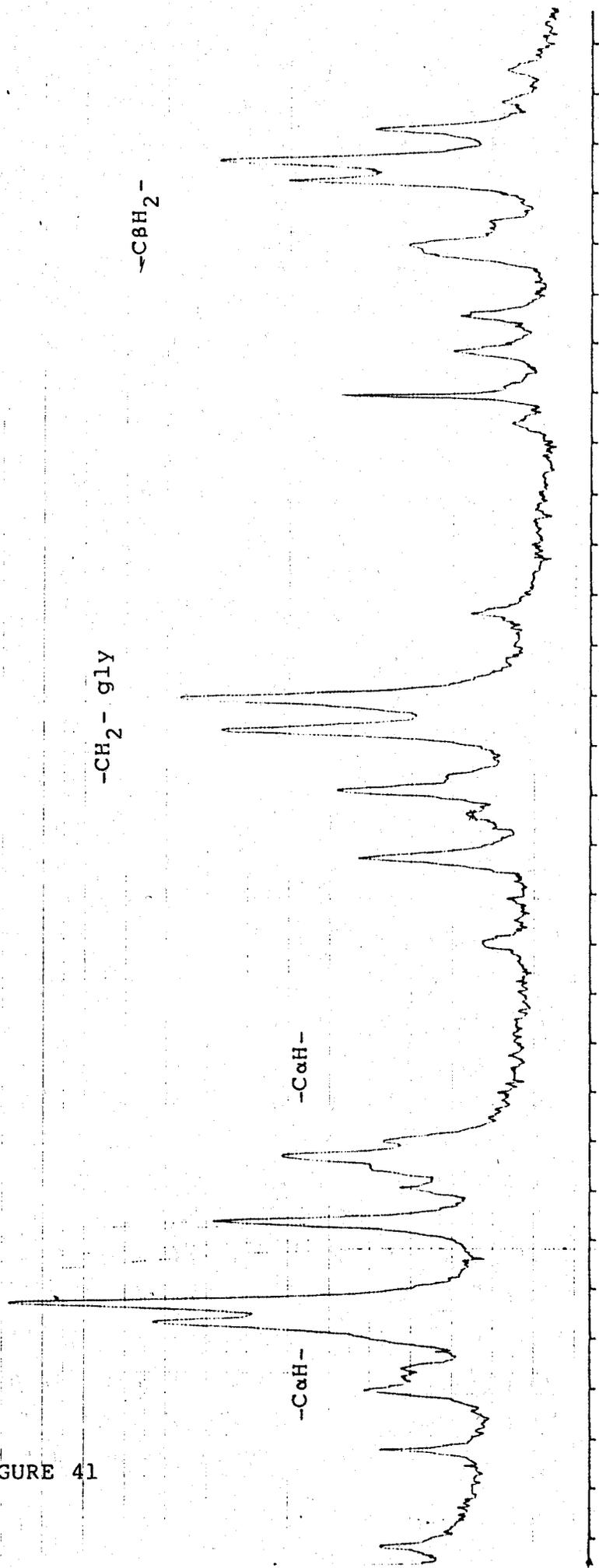
-CH₂- gly

-CBH₂-

-CaH-

-CaH-

FIGURE 41



axiale pourrait prédominer. L'étude du complexe SBC - Pd(II) a montré que, dans ce cas, la coordination par l'atome d'azote et l'atome de soufre ne stabilise pas le rotamère III, mais le rotamère II qui est fortement favorisé par rapport aux deux autres.

Si la supposition de l'existence d'un équilibre $\lambda \rightleftharpoons \delta$ est raisonnable, dans le complexe SBC - Pd(II), le conformère λ avec la fonction carboxylique en position équatoriale serait prédominant avec une faible proportion de l'isomère δ . Cela signifie donc que le cycle chélate Glycine force le cycle chélate SBC à adopter une conformation δ même si celle-ci entraîne une gêne stérique plus importante que pour le conformère λ . La même influence du résidu Glycine a été observée pour le complexe Gly-SMC - Pd(II) (59).

Il est intéressant de noter, toutefois, que des conformations de type "enveloppe" sont aussi possibles, notamment ceci a été supposé pour des dérivés simples de la S-Méthyl-L-cystéine (84).

L'augmentation du conformère δ du cycle chélatant de la SBC dans le complexe Gly-SBC - Pd(II) provoque de plus une diminution de la population du diastéréoisomère caractérisé par les fréquences de résonance situées à champs faibles, puisque l'intensité relative passe de 1:2 pour le complexe SBC - Pd(II) à 1:3 pour le composé Gly-SBC - Pd(II) (Tableau XXVIII).

La variation de population des diastéréoisomères quand un groupe plus volumineux est placé comme substituant sur le soufre et le changement de conformation de cycle chélatant de λ (SMC - Pd(II), SEC - Pd(II), SBC - Pd(II)) à δ (Gly-SMC - Pd(II), Gly-SBC - Pd(II)) peuvent permettre l'attribution de la configuration absolue sur l'atome de soufre dans les diastéréoisomères correspondants.

En effet, il semble clair que l'augmentation de la population du conformère δ dans les complexes du palladium et des dipeptides en comparaison des complexes des aminoacides peut déstabiliser fortement la configuration S de

complexe	I_1/I_2^a	diastéréoisomère dominant
SMC - Pd(II)	2,0	C α (R)S(S)
SEC - Pd(II) ^b	2,0	C α (R)S(S)
Gly-SMC - Pd(II)	1,2	C α (R)S(S)
SBC - Pd(II)	0,5	C α (R)S(R)
Gly-SBC - Pd(II)	0,3	C α (R)S(R)

TABLEAU XXVIII

Attribution des diastéréoisomères

- a) I_1 et I_2 correspondent à l'intensité relative du signal de la résonance de C α H (ou S-CH₃) des diastéréoisomères à champ magnétique faible et fort respectivement.
- b) S-Ethyl-L-cystéine (85).

l'atome de soufre, ceci résultant des effets stériques entre un groupe carboxylique en position axiale (dans le conformère δ) et les substituants respectifs sur le soufre (figure 43).

Ainsi, la comparaison des changements de population dans les deux groupes de complexes SMC - Pd(II), Gly-SMC - Pd(II) et SBC - Pd(II), Gly-SBC - Pd(II) (Tableau XXVIII) semble suggérer que le diastéréoisomère avec la résonance du proton C α H à champs faibles présente une configuration absolue S sur l'atome de soufre et l'autre une configuration R.

Cette attribution semble aussi être vérifiée en considérant les effets stériques dans les paires de complexes SMC - Pd(II) et SBC - Pd(II) ou Gly-SMC - Pd(II) et Gly-SBC - Pd(II).

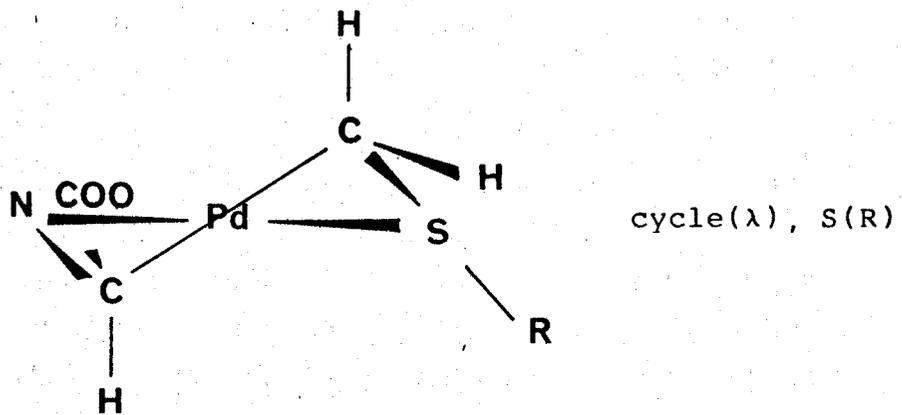
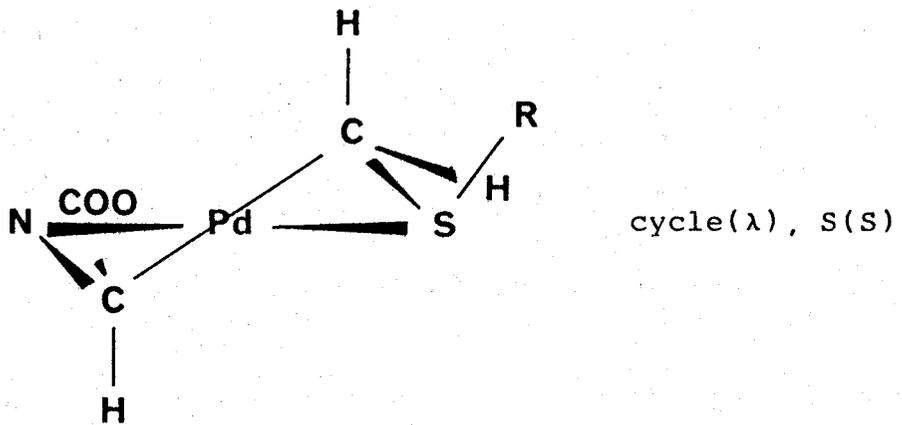
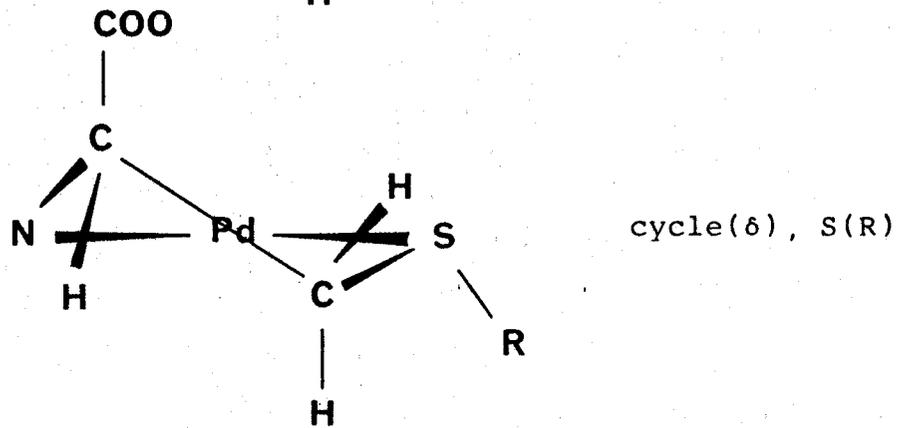
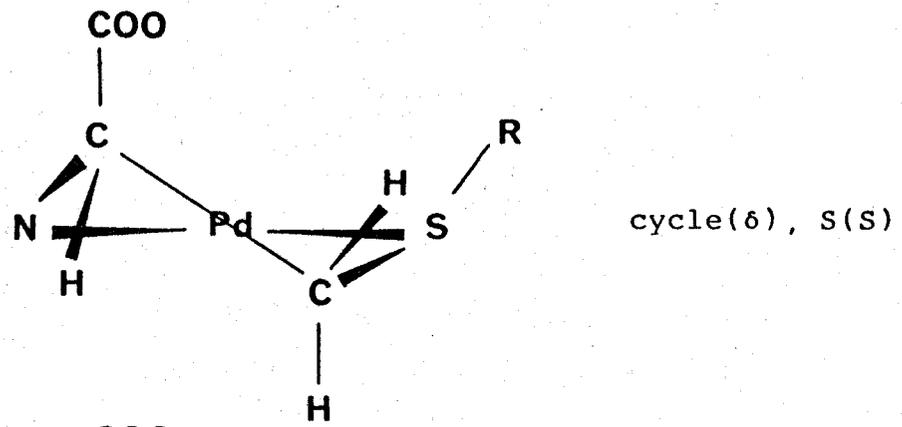


FIGURE 43

Configuration absolue de l'atome de soufre

La conformation du cycle chélatant du résidu soufré dans Gly-SMC - Pd(II) et Gly-SBC - Pd(II) semble être similaire dans chaque complexe. Ainsi, le groupe benzyle plus volumineux pourrait déstabiliser la configuration S sur l'atome de soufre beaucoup plus fortement que ne le ferait le groupe méthyle du résidu SMC. Ces déductions sont visibles dans le tableau XXVIII.

Des résultats similaires peuvent dériver de la comparaison des complexes SMC - Pd(II) et SBC - Pd(II), dans lesquels les effets stériques du groupement benzylique sont aussi d'une importance primordiale dans la distribution des populations des diastéréoisomères.

C) Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine : Pd(II) et Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine : Pd(II)

Nous avons obtenu pour ces deux complexes, des spectres pauvrement résolus, même sur des appareils à haut champ.

Cette absence de résolution peut s'expliquer, comme nous l'avons supposé pour l'interprétation des spectres de dichroïsme circulaire, par la présence en solution d'un mélange de différentes espèces en échange lent à l'échelle de la R.M.N.

Toutefois, il semble qu'il n'y ait pas formation majoritaire d'un complexe de type [S,N,N,N], mais un mélange de différents types de complexes en proportions variables utilisant plusieurs combinaisons de sites de complexation présents sur les molécules des deux tripeptides; ce qui provoquerait la très faible résolution des spectres obtenus et ceci dans tout le domaine de pH étudié.

CHAPITRE V

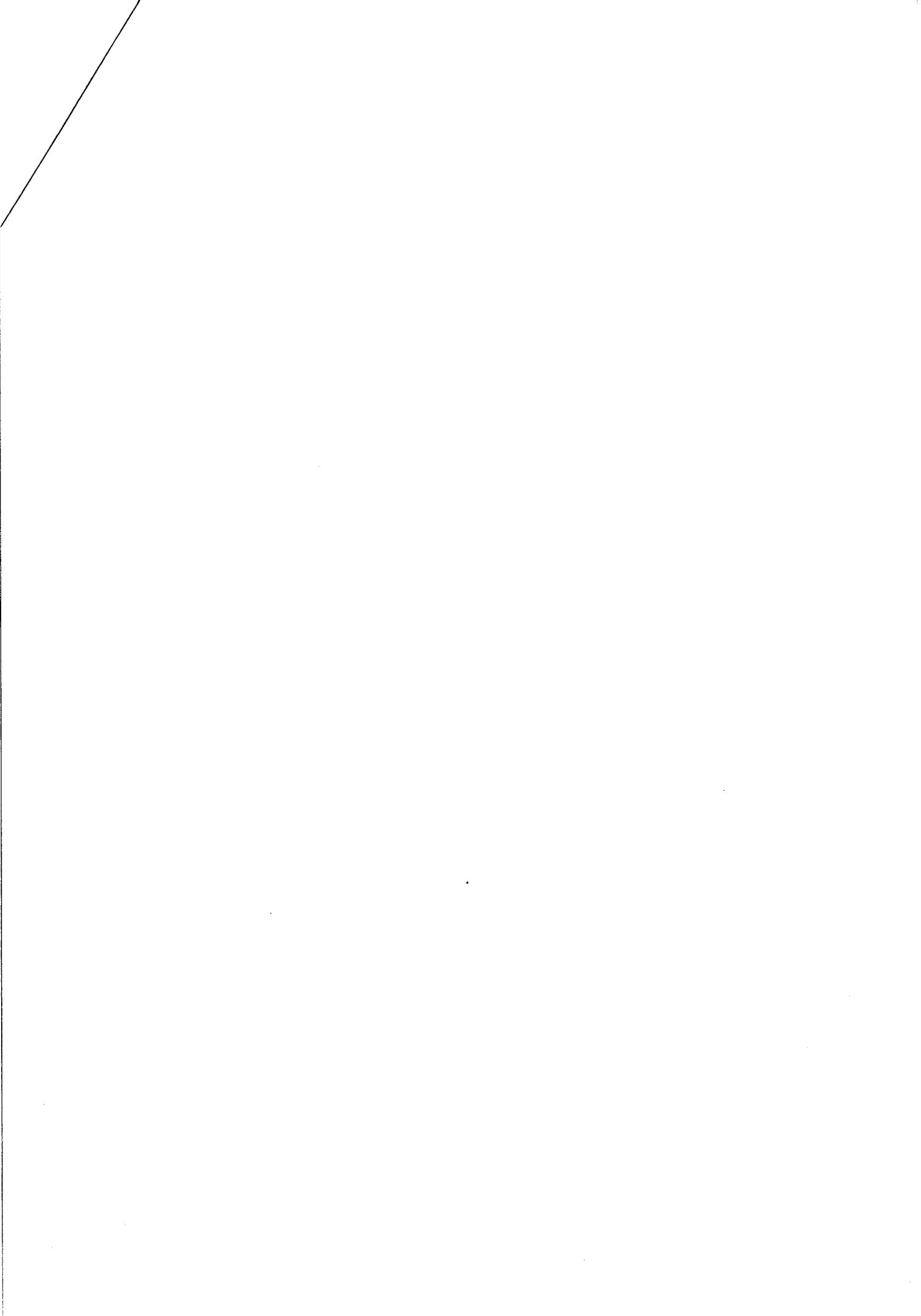
ETUDE PAR R.M.N. DES COMPLEXES DU Hg^{2+}

AVEC DES PEPTIDES SOUFRES

Bien que le mercure soit un des métaux les plus toxiques pour le corps humain, peu d'études ont été menées pour connaître les types de complexation qu'il peut présenter.

Li et Manning (90) ont conclu à partir d'études par résonance magnétique nucléaire du proton en solution que le soufre n'est pas impliqué dans la coordination de la méthionine avec le mercure. Par la suite, Lenz et Martell (91) par des études potentiométriques ont supposé que dans les complexes du mercure avec la méthionine, la S-Méthyl-L-cystéine et l'éthionine, l'atome de soufre n'intervenait pas ou très peu dans la chélation.

Toutefois, Natusch et Porter (92) ont montré plus récemment à partir d'études R.M.N. du proton que le mercure (II) se complexait par l'atome de soufre en milieu acide à la cystéine, à la S-Méthyl-L-cystéine et à la méthionine. Ces résultats ont été confirmés par Jezowska-Trzebiatowska, Kowalik et Kozłowski en ce qui concerne les complexes de l'éthionine et de la méthionine avec le mercure (93).



I ETUDE DE LA COMPLEXATION DE LA
S-METHYL-L-CYSTEINE AVEC LE MERCURE (II)
EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN LIGAND

Les études faites antérieurement sur les complexes du mercure et de la SMC ont montré une complexation en milieu acide par l'atome de soufre et la formation d'un complexe de type $M(LH_2)_2$ (92). Ces études ont été menées en solution fortement acide (2,0 M en acide nitrique) et avec une concentration de 0,5 mole par litre en ligand soufré.

Il n'existe aucun autre travail faisant état d'un autre type de complexe, notamment $M(LH_2)X$.

Nous avons donc étudié l'influence de la concentration du ligand SMC sur la type de complexe obtenu.

Partie expérimentale :

Les complexes ont été préparés à partir de S-Méthyl-L-cystéine et de nitrate mercurique en solution dans l'eau lourde fortement acidifiée par DNO_3 (2M).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été obtenus sur BRUCKER WP 80 avec le sel de sodium de l'acide 3-(Triméthylsilyl)-1-propane sulfonique comme référence interne.

La simulation du système ABC et le calcul des populations des trois rotamères ont été menés sur un ordinateur Hewlett Packard 9826.

Résultats :

Le spectre de résonance magnétique nucléaire du complexe SMC - Hg(II) présente le système ABC attendu pour le motif - CH - CH₂ - (figure 45).

La variation de déplacement chimique des protons et plus précisément des protons du méthyl, montre bien la coordination par l'intermédiaire de l'atome de soufre, comme cela avait été remarqué par Natusch et Porter (92) (figure 44).

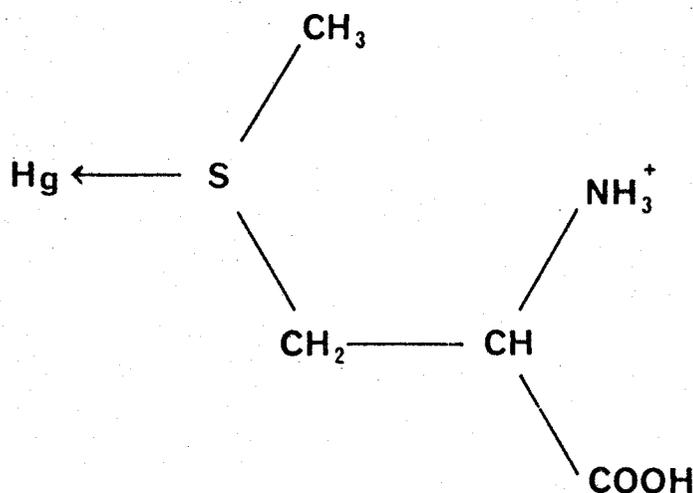


FIGURE 44

Il est intéressant de noter que, contrairement aux spectres obtenus avec le palladium, aucun mélange de diastéréoisomères n'est observé en solution. Cette absence peut s'expliquer par un phénomène d'inversion de configuration sur le soufre beaucoup plus rapide que dans le cas des complexes du palladium.

Celui-ci est plus rapide à l'échelle de la R.M.N. car le complexe formé avec le mercure(II) n'étant pas un chélate contrairement aux complexes du palladium, l'échange entre les deux diastéréoisomères est facilité.

Jusqu'à présent, les études faites sur les complexes SMC - Hg(II) faisaient état d'un complexe de type $M(LH_2)_2$ dans des milieux fortement acides et très concentrés. Lorsque la concentration en ligand diminue, l'apparition du complexe

Rapport Hg/lig.	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_C ppm	ν_{CH_3} ppm	P I	P II	P III
0,20	3,000	3,100	4,245	2,057	0,11	0,52	0,36
0,28	3,009	3,113	4,250	2,069	0,12	0,50	0,37
0,50	3,067	3,174	4,271	2,127	0,13	0,51	0,36
0,66	3,062	3,167	4,271	2,121	0,14	0,51	0,35
1,00	3,210	3,349	4,296	2,295	0,19	0,47	0,34
1,50	3,258	3,386	4,343	2,329	0,17	0,49	0,34

TABLEAU XXIX

Paramètres 1H R.M.N. de SMC - Hg(II) [0,05 M] (DNO₃ 2M)

Rapport Hg/lig.	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_C ppm	ν_{CH_3} ppm	P I	P II	P III
0,20	3,085	3,201	4,277	2,155	0,14	0,51	0,35
0,33	3,166	3,290	4,307	2,240	0,16	0,49	0,35
0,50	3,258	3,396	4,340	2,341	0,19	0,46	0,35
0,66	3,357	3,510	4,375	2,445	0,21	0,45	0,34
1,00	3,551	3,731	4,430	2,661	0,28	0,41	0,31
1,35	3,647	3,828	4,486	2,762	0,32	0,42	0,26
1,50	3,640	3,823	4,484	2,753	0,29	0,41	0,30

TABLEAU XXX

Paramètres 1H R.M.N. de SMC - Hg(II) [0,1 M] (DNO₃ 2M)

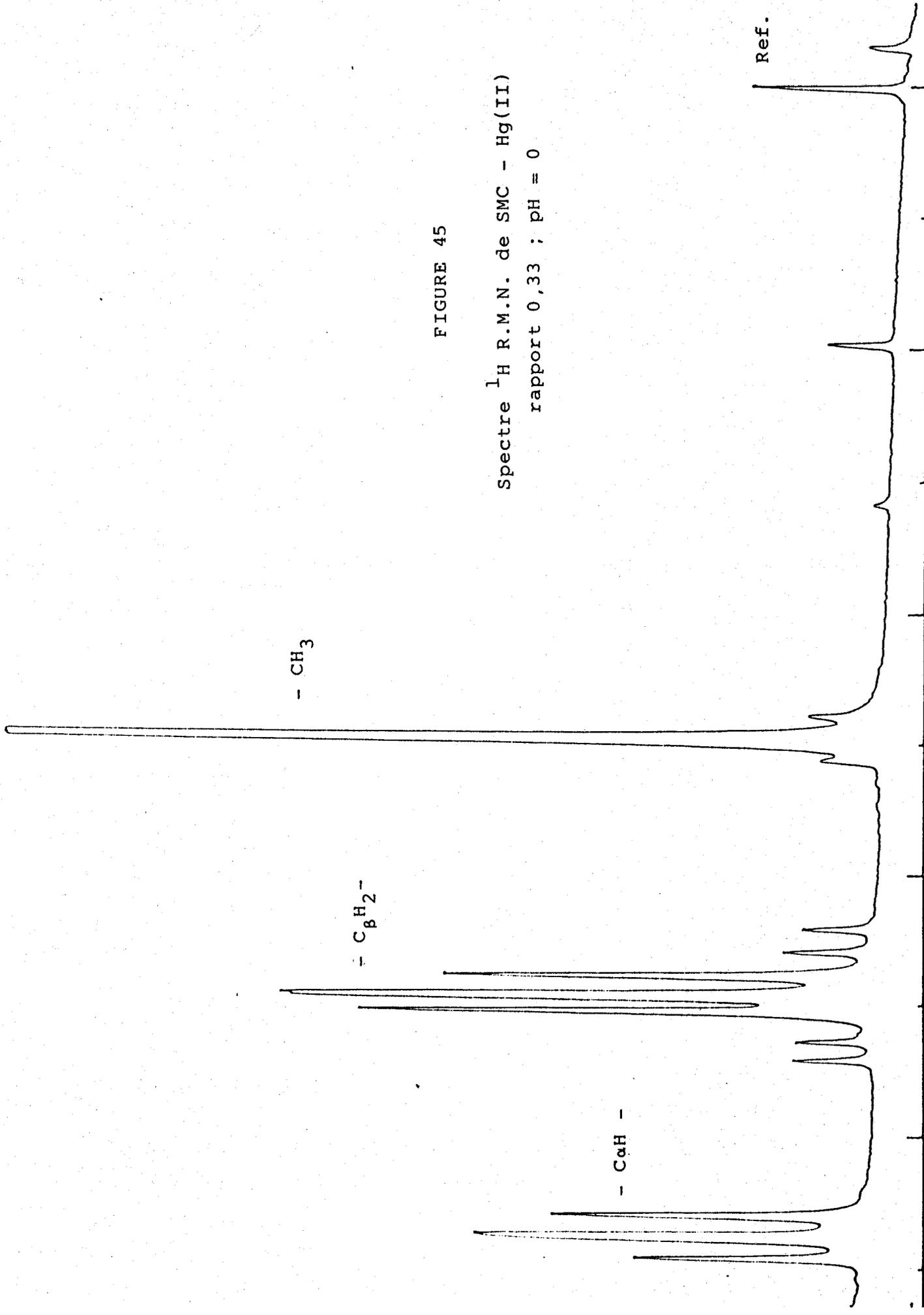
Rapport Hg/lig.	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_C ppm	ν_{CH_3}	P _I	P _{II}	P _{III}
0,20	3,223	3,361	4,324	2,307	0,17	0,48	0,35
0,50	3,534	3,724	4,440	2,646	0,26	0,41	0,32
0,66	3,627	3,810	4,468	2,744	0,29	0,40	0,30
1,00	3,633	3,814	4,453	2,750	0,30	0,39	0,31
1,50	3,653	3,827	4,464	2,765	0,32	0,38	0,30

TABLEAU XXXI

Paramètres ¹H R.M.N. de SMC - Hg(II) [0,5 M] (DNO₃ 2M)

FIGURE 45

Spectre ^1H R.M.N. de SMC - Hg(II)
rapport 0,33 ; pH = 0



$M(LH_2)$ est évidente, en examinant les variations des déplacements chimiques des protons du système ABC et du $-S-CH_3$ entre l'acide libre et complexé à différents rapports $Hg(II)/SMC$ (figure 46 à 48).

ν_A	ν_B	ν_C	ν_{CH_3}	P_I	P_{II}	P_{III}
ppm	ppm	ppm	ppm			
3,122	3,220	4,387	2,182	0,10	0,53	0,37

TABLEAU XXXII

Paramètres 1H R.M.N. de la SMC (DNO_3)

A une concentration de 0,5 mole par litre de S-Méthyl-L-cystéine (figure 46), on observe un palier à partir du rapport mercure sur ligand 0,5, ceci implique la formation à cette concentration d'un complexe du type $M(LH_2)_2$ uniquement.

Par contre, pour les concentrations 0,1 et 0,05 mole par litre en ligand (figure 47 et 48), l'apparition d'un complexe de type $M(LH_2)$ est effective. Ainsi, cette étude a permis de mettre en évidence un complexe 1:1 pour de faibles concentrations en ligand, alors que jusqu'à présent le complexe 1:2 était signalé.

L'existence de ce complexe $M(LH_2)$ est aussi mise en évidence sur la courbe de titration potentiométrique de la S-Méthyl-L-cystéine par des ions mercuriques (nitrate mercurique). Nous pouvons observer deux points d'inflexion aux rapports Hg^{2+}/SMC 0,5 et 1,1 correspondant respectivement aux deux espèces $M(LH_2)_2$ et $M(LH_2)$, leurs constantes de for-

mation sont d'environ $2 \cdot 10^8$ pour le complexe $M(LH_2)_2$ et 10^8 pour le complexe $M(LH_2)$.

D'autre part, l'augmentation de pH complique considérablement la forme du spectre. A pH = 5,7, on observe plusieurs espèces en solution mises en évidence par la transformation du singulet des protons - S - CH₃ en multiplet et par l'apparition de plusieurs systèmes ABC.

Il n'a pas été possible d'exploiter ces différents spectres du fait de leur complexité.

Natusch et Porter (92) ont avancé la présence d'un chélate à haut pH mettant en jeu l'atome de soufre et l'atome d'azote de la fonction amine terminale, ceci intervenant après rupture d'une liaison Hg(II) - S du complexe $M(LH_2)_2$.

Dans notre cas, l'incrément de pH se fait à partir d'une solution faiblement concentrée; ainsi nous passons d'un complexe du type $M(LH_2)$ en milieu acide impliquant l'atome de soufre à un mélange de différentes espèces en milieu alcalin faisant peut-être intervenir des complexes du type [S,N] (92) ou autre (91,93).

Mais l'atome de soufre reste toutefois un site complexant même à haut pH, car le déplacement chimique observé pour les protons - S - CH₃ à pH = 9,6 est à peu près le même qu'en solution très acide.

On peut supposer que l'apparition de plusieurs systèmes ABC soit due à la formation d'un chélate de type [N,S] qui générerait considérablement le phénomène d'inversion de configuration du soufre, comme dans le cas des complexes du palladium. Ainsi, la diminution de vitesse de cette inversion provoquerait l'apparition sur le spectre des isomères en résultant.

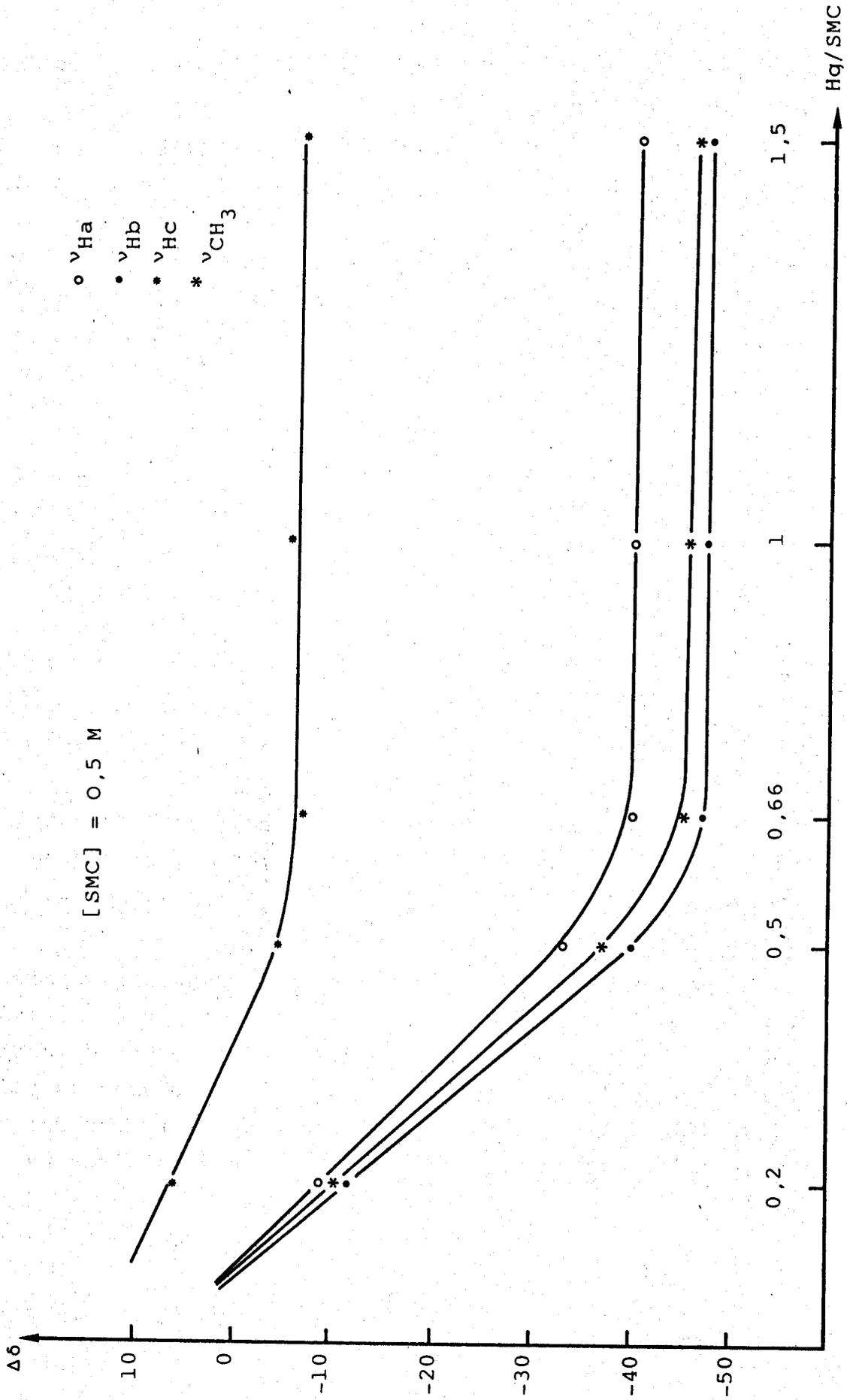


FIGURE 46
δ SMC libre - δ SMC complexée en fonction du rapport Hg/SMC

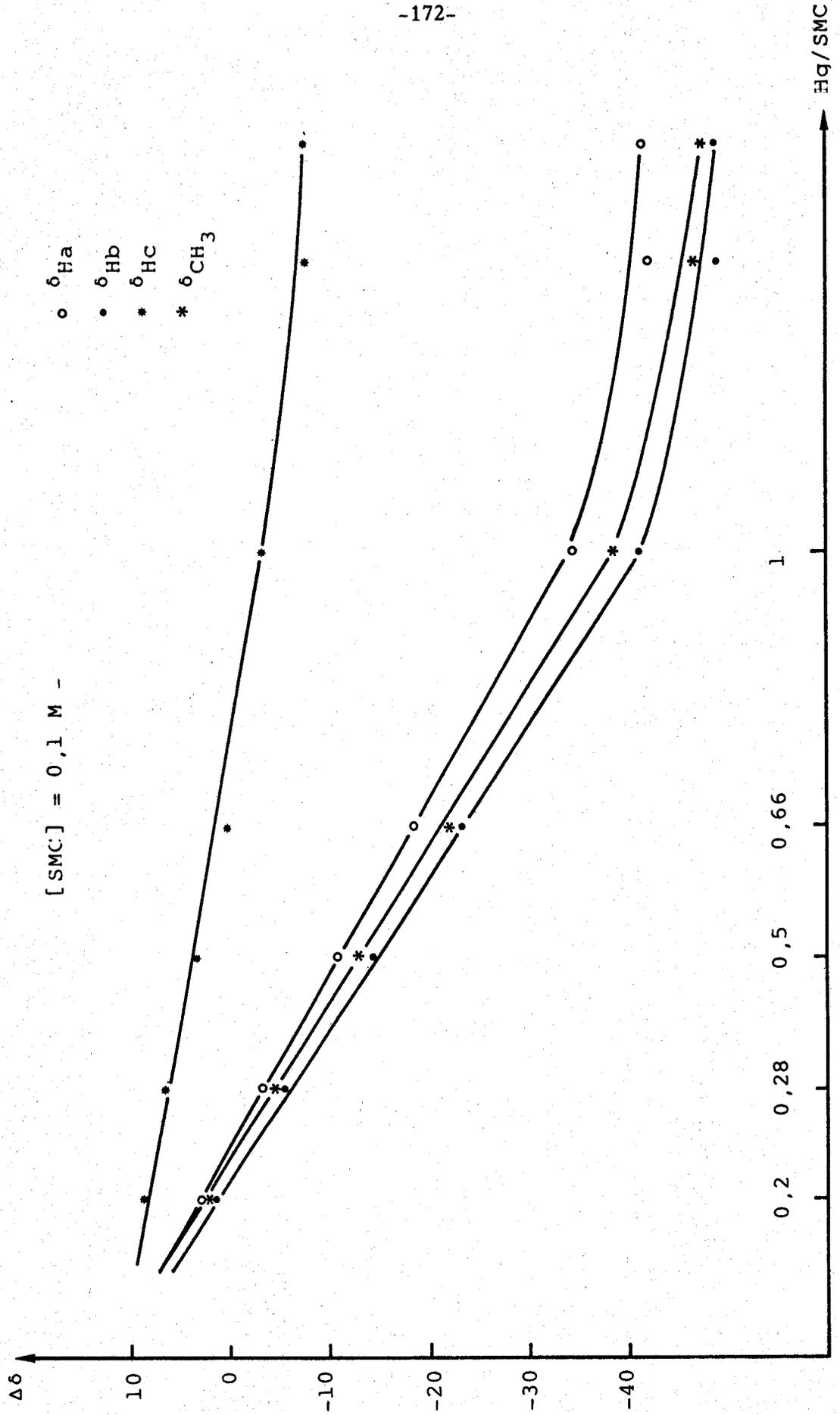


FIGURE 47
6 SMC libre - δ SMC complexée en fonction du rapport Hg/SMC

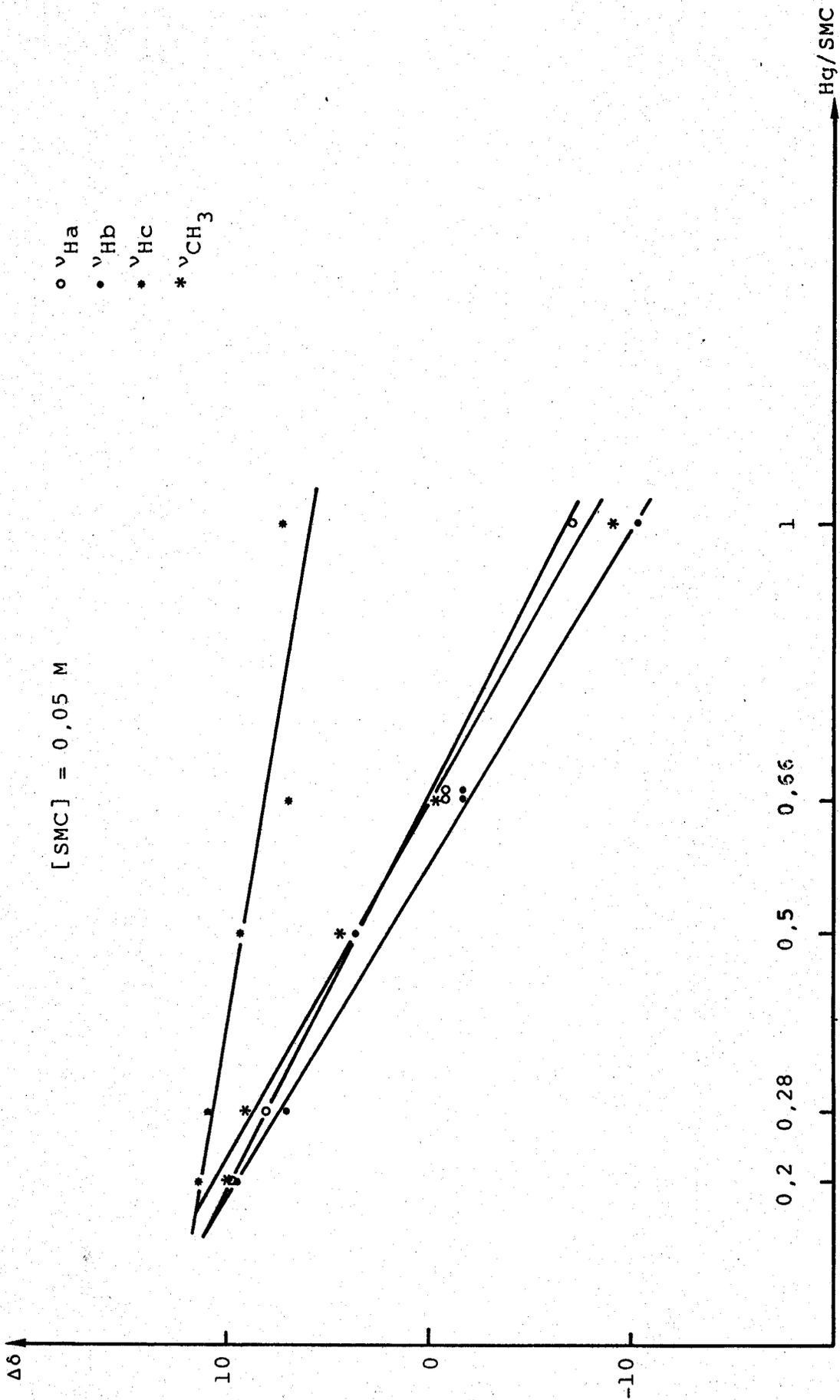


FIGURE 48
6SMC libre - 6SMC complexée en fonction du rapport Hg/SMC

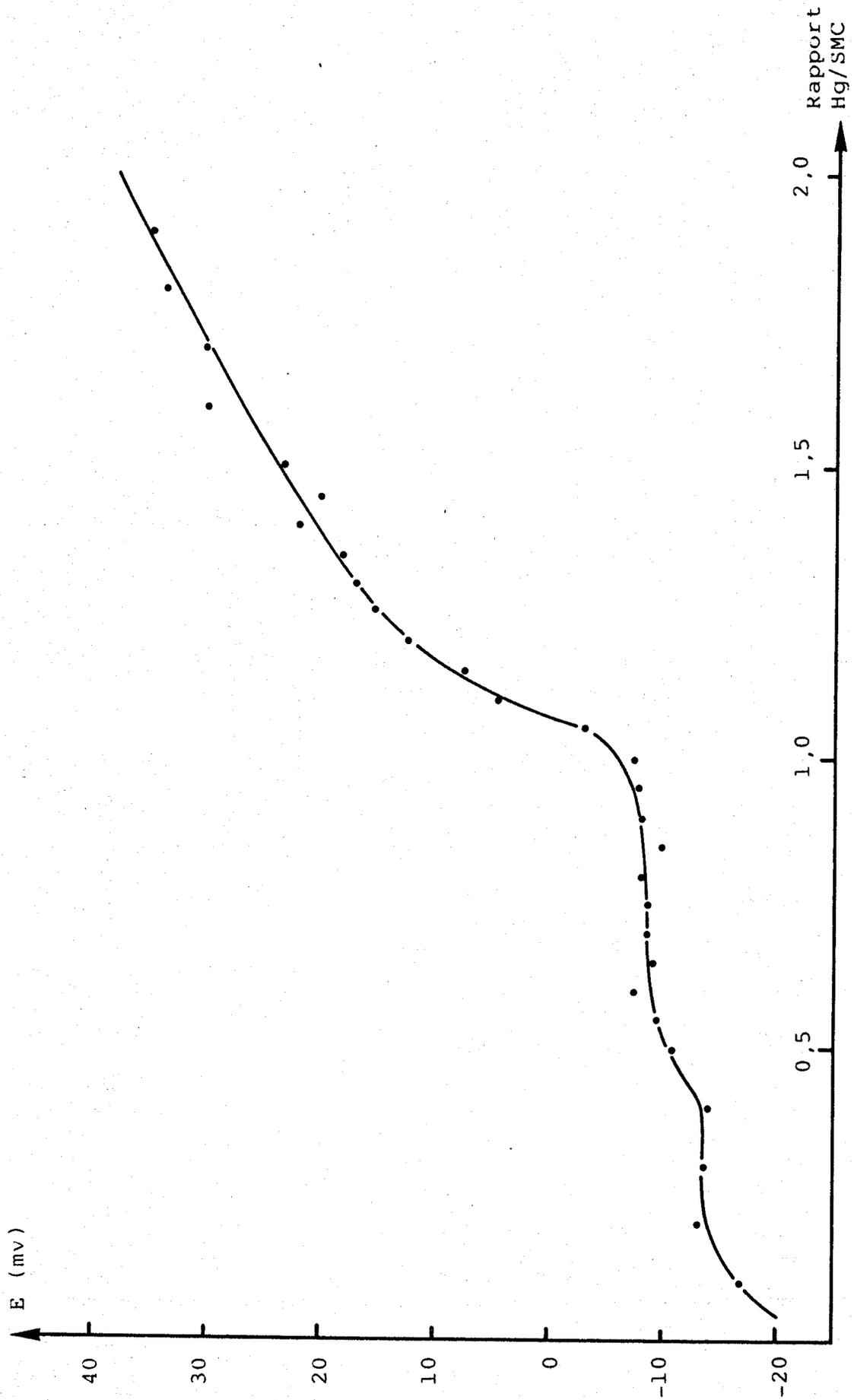


FIGURE 53

Courbe de titrage potentiométrique de la SMC par les ions Hg(II) en milieu HNO_3 0,1 M

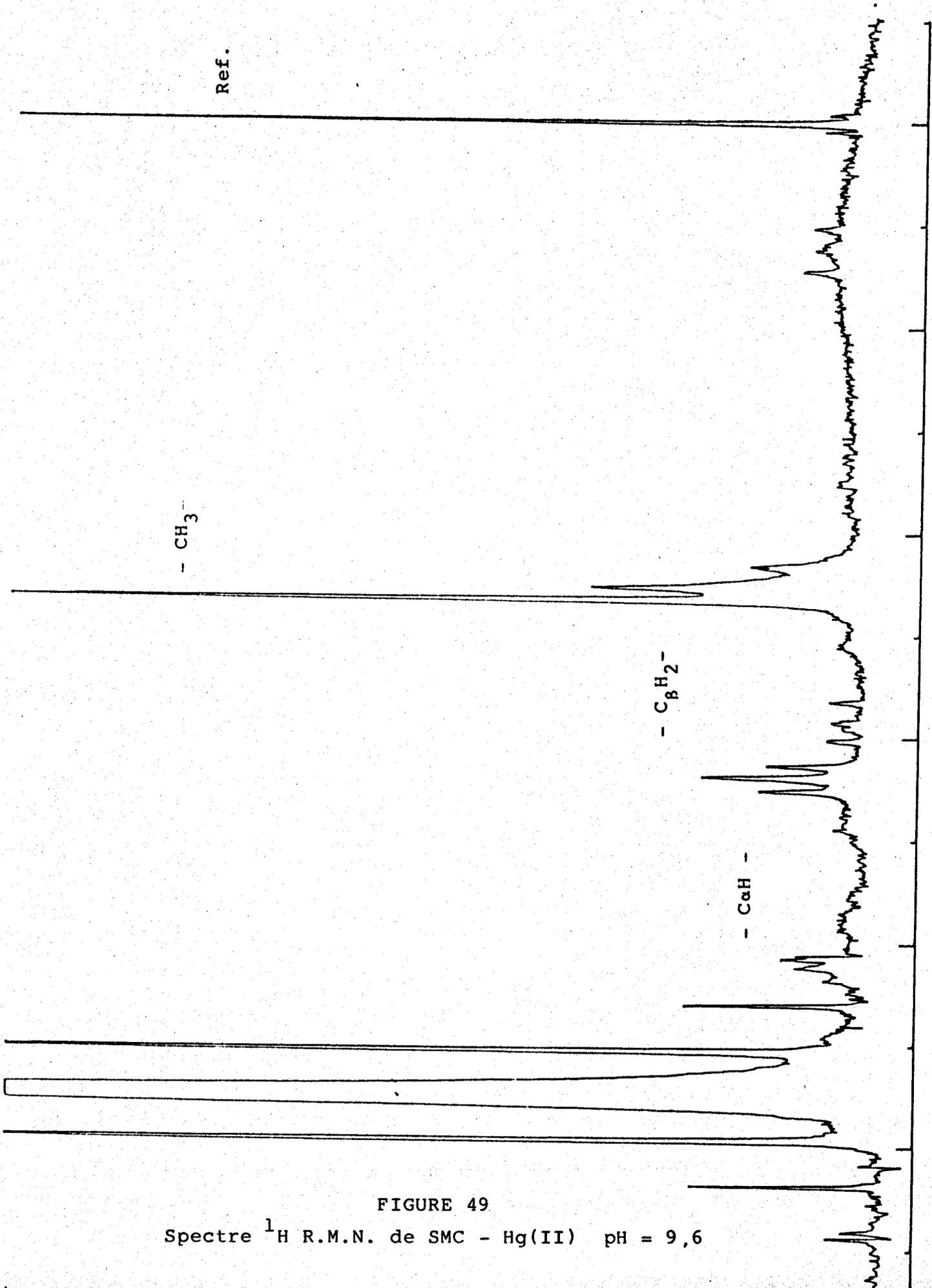


FIGURE 49
Spectre ^1H R.M.N. de SMC - Hg(II) pH = 9,6

II ETUDE DE LA COMPLEXATION DE LA GLYCYL-S-METHYL-L-CYSTEINE AVEC Hg(II)

Nous avons étudié la complexation de la Gly-SMC avec le mercure(II) avec le rapport 1:1, dont les résultats issus de l'étude R.M.N. du proton sont présentés dans les tableaux XXXIII et XXXIV.

Le spectre de résonance magnétique nucléaire du proton du complexe de la Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine avec Hg(II) présente le même type de spectre que pour SMC - Hg(II) en ce qui concerne le système ABC.

Il faut noter qu'aucun dédoublement de ce système et du singulet des protons - S - CH₃ n'est visible contrairement à ce que l'on peut observer pour le complexe Gly-SMC-Pd(II) (59), ceci étant dû à la rapidité de l'inversion de configuration du soufre à l'échelle de la R.M.N. comme cela a été expliqué pour le complexe SMC - Hg(II).

L'examen des variations de déplacements chimiques dues à la formation du complexe conduit à considérer l'atome de soufre comme principal site de complexation : les protons du - S - CH₃ sont fortement déplacés vers le domaine des champs faibles ainsi que les deux protons du groupe méthylène - C_αH₂ -. Par contre, le proton - C_βH - ne subit qu'une faible variation de déplacement chimique, ce qui laisserait supposer que l'atome d'azote de la fonction amide n'intervient pas dans la complexation.

Toutefois, on peut constater un déplacement du δ des protons du méthylène de la glycine vers les domaines des champs forts. A un tel pH (0,76), il ne semble pas que l'on soit en présence d'une coordination par l'intermédiaire de l'atome d'azote de la fonction amine terminale ; par contre, il est possible d'attribuer cette variation de fréquence de

Composé	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_C ppm	ν_{CH_3} ppm	ν_{CH_2Gly} ppm
Gly-SMC	2,975	3,096	4,720	2,152	3,921
Gly-SMC - Hg(II)	3,534	3,810	4,918	2,695	3,565

TABLEAU XXXIII

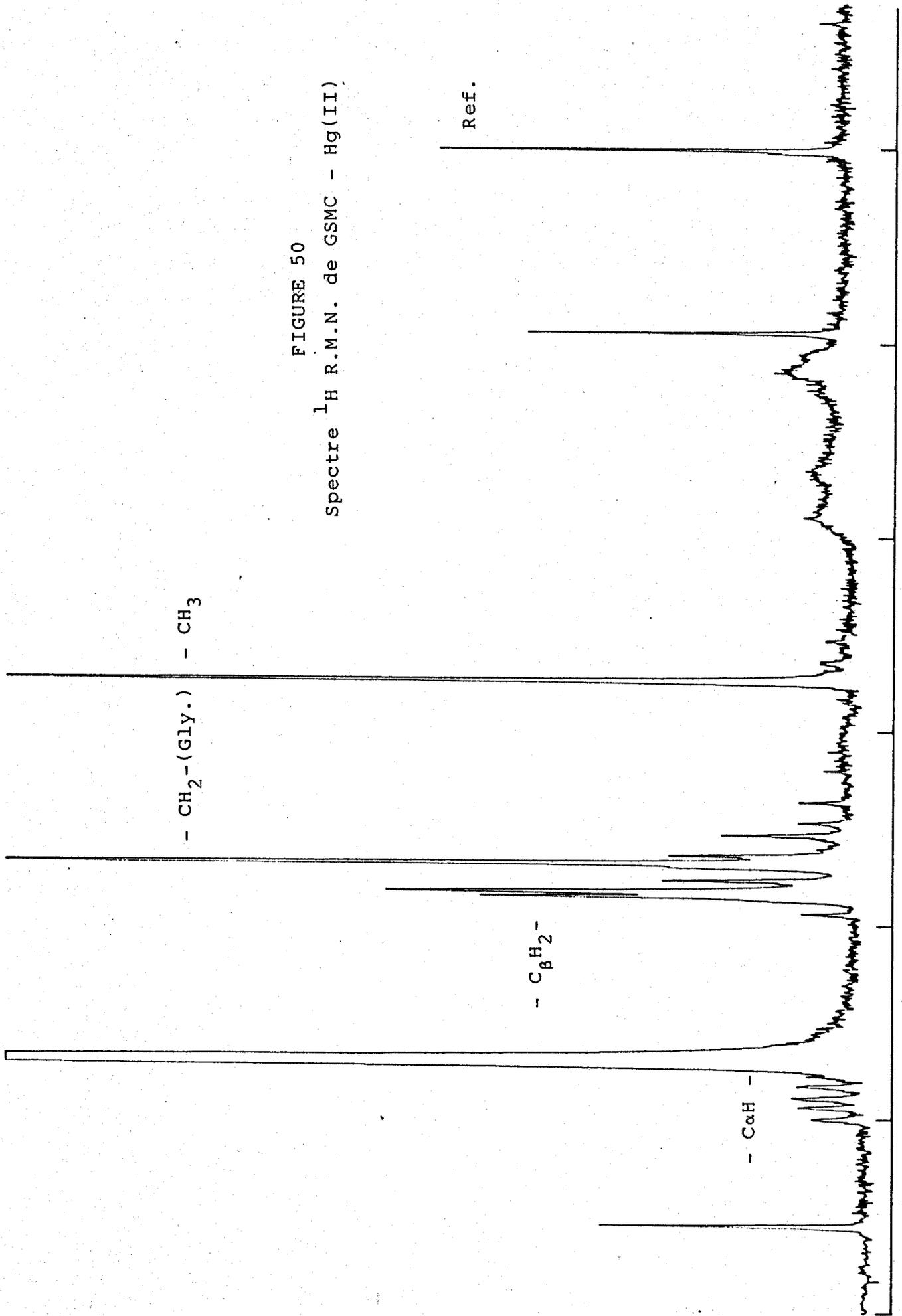
Déplacements chimiques des protons de Gly-SMC et de Gly-SMC - Hg(II)
 pH = 0,76 [Gly-SMC] = 0,05 mole par litre.

Composé	J_{AB} Hz	J_{AC} Hz	J_{BC} Hz	P_I	P_{II}	P_{III}
Gly-SMC	13,7	8,3	4,6	0,21	0,54	0,25
Gly-SMC - Hg(II)	13,6	9,0	3,9	0,12	0,58	0,30

TABLEAU XXXIV

Constantes de couplage et paramètres de population pour Gly-SMC et
 Gly-SMC - Hg(II) pH = 0,76 [Gly-SMC] = 0,05 mole par litre

FIGURE 50
Spectre ^1H R.M.N. de GSMC - Hg(II)



résonance à des interactions longues distances.

Toutefois, ces résultats de ^1H R.M.N. ne peuvent apporter plus de renseignements en ce qui concerne la structure du complexe Gly-SMC - HG(II).

Pour le peptide libre, le rotamère II possède la fraction molaire la plus importante, ce qui est en accord avec la présence d'un encombrement stérique minimum; il en est de même pour le peptide complexé avec le mercure(II). Ainsi, le processus de complexation ne modifie presque pas la distribution des fractions molaires des trois rotamères, de ce fait il ne semble pas qu'il y ait formation d'un chélate qui favoriserait fortement l'un ou l'autre des rotamères comme nous l'avions observé dans le cas des complexes Gly-SMC - Pd(II) et Gly-SBC - Pd(II).

III ETUDE DE LA COMPLEXATION DE LA S-BENZYL-L-CYSTEINE ET DE LA GLYCYL-S-BENZYL-L-CYSTEINE AVEC Hg(II)

Comme pour les complexes SMC - Hg(II) et Gly-SMC - Hg(II), une variation des déplacements chimiques des protons méthylène du groupe benzyl, caractéristique d'une coordination par le soufre est observée pour les complexes SBC - Hg(II) et Gly-SBC - Hg(II).

La faible variation du déplacement chimique du proton - CaH - peut nous permettre de supposer que l'atome d'azote de la fonction amine dans le cas de la SBC, ou de la fonction amide dans le cas de la Gly-SBC ne joue pas de rôle prépondérant dans la complexation.

Dans le cas du complexe Gly-SBC - Hg(II), un blindage des protons méthylènes du résidu Glycine est à noter.

En ce qui concerne le complexe impliquant la SBC, on peut supposer que sa structure est du même type que celle du composé SMC - Hg(II), c'est à dire que l'atome de soufre est le seul site de complexation mis en évidence par R.M.N. du proton.

Il est à noter, en examinant la répartition des populations des différents rotamères pour la SBC et le complexe SBC - Hg(II) que, d'une part, la complexation par le mercure ne modifie pas la prédominance du rotamère II et que, d'autre part, le remplacement sur l'atome de soufre du groupement méthyl par un groupe benzyl plus volumineux ne modifie en rien le fait que le rotamère II soit le plus peuplé.

Pour le complexe Gly-SBC - Hg(II), il est possible de faire les mêmes observations que pour le complexe Gly-SMC - Hg(II) et, aussi, de supposer avec les mêmes réserves, l'existence d'un dimère ou d'oligomères.

résonance à des i nact: is l. di c

Composé	ν_A ppm	ν_B ppm	ν_C ppm	ν_{CH_2} ppm	ν_{CH_2GLY} ppm
SBC (pH = 0,93)	3,006	3,107	4,156	3,860	
SBC-Hg(II) (pH = 0)	3,532	3,746	4,221	4,382	
GLY-SBC (pH = 0,66)	2,932	3,054	4,623	3,850	3,850
GLY-SBC-Hg(II) (pH = 0)	3,357	3,589	4,542	4,349	3,723

TABLEAU XXXV

Déplacements chimiques des protons de la SBC
et de la Gly-SBC libres et complexées avec le Hg(II)

Composé	J _{AB} Hz	J _{AC} Hz	J _{BC} Hz	P _I	P _{II}	P _{III}
SBC (pH = 0,93)	15,1	8,5	3,6	0,12	0,55	0,33
SBC-Hg(II) (pH = 0)	14,2	7,9	5,4	0,28	0,52	0,19
GLY-SBC (pH = 0,66)	14,1	8,5	4,5	0,19	0,55	0,26
GLY-SBC-Hg(II) (pH = 0)	13,2	8,3	4,1	0,13	0,52	0,34

TABLEAU XXXVI

Constantes de couplage et paramètres de population de la SBC
et de la Gly-SBC libres et complexées avec Hg(II)

Ref.

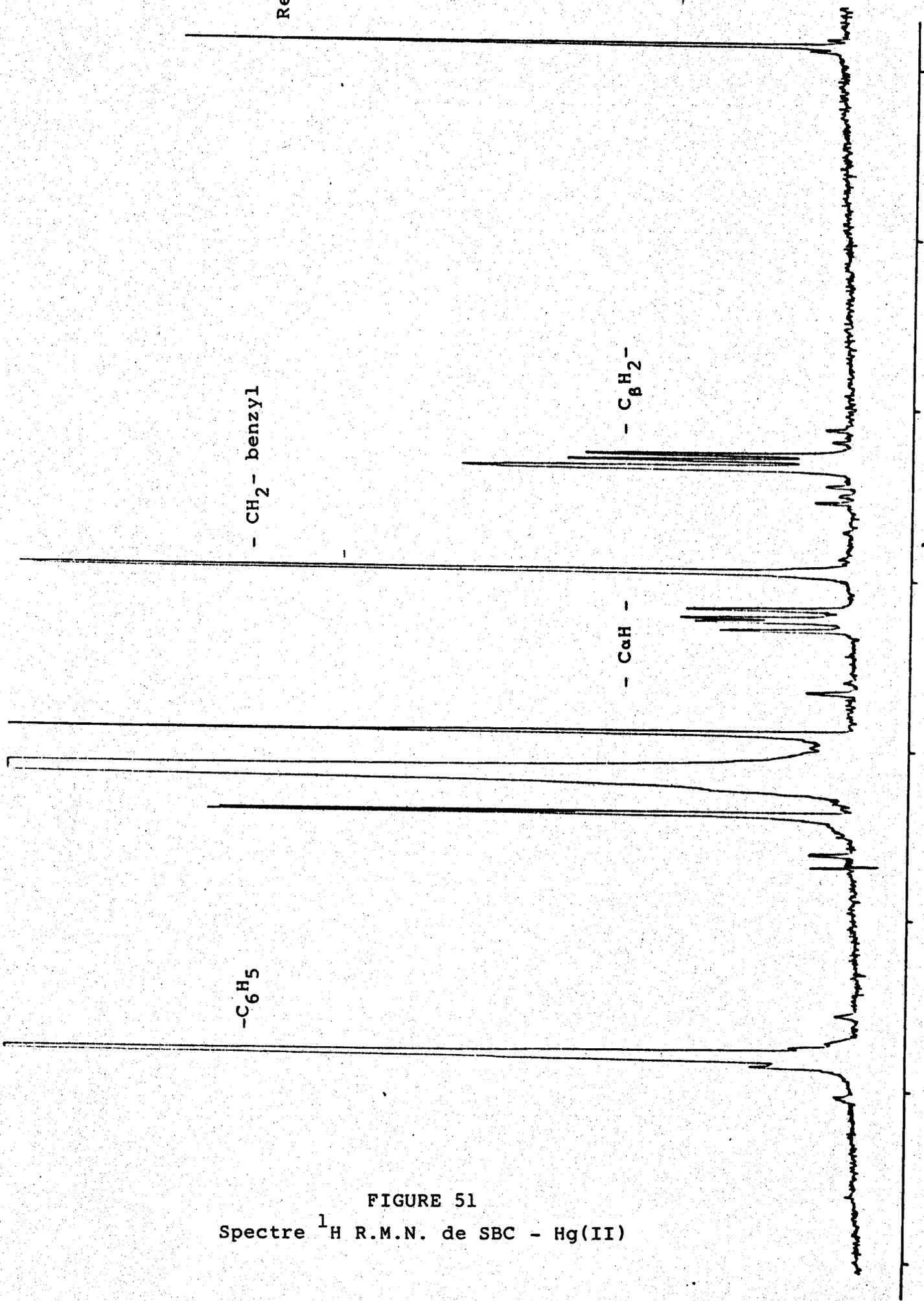
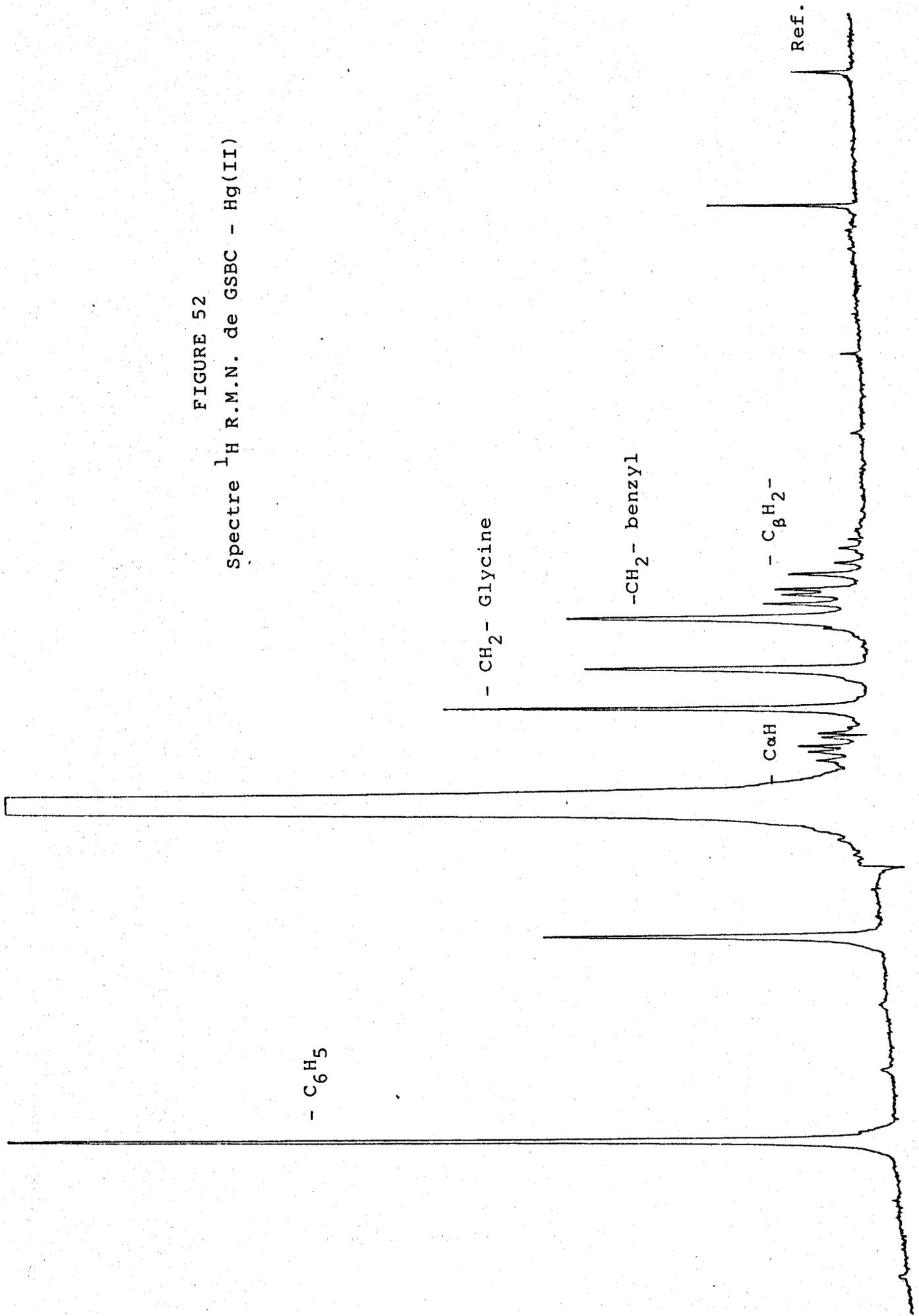


FIGURE 51
Spectre 1H R.M.N. de SBC - Hg(II)

FIGURE 52
Spectre ^1H R.M.N. de GSBC - Hg(II)



CONCLUSION

La première partie de ce travail a donc consisté en la synthèse de peptides comportant un résidu thioéther.

La synthèse classique en phase homogène nous a permis de préparer la Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine, la Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine et la Glycyl-Glycyl-S-Benzyl-L-cystéine. Par la méthode en phase gel, nous avons obtenu la Glycyl-Glycyl-S-Méthyl-L-cystéine.

Nous avons alors, dans une deuxième partie, étudié la complexation des peptides préparés ainsi que celle des amino acides soufrés impliqués dans les dipeptides, avec le Pd(II) le Pt(II) et le Hg(II).

Ainsi, à l'aide de la spectroscopie électronique U.V.-Visible, du dichroïsme circulaire et de la R.M.N. du proton, nous avons pu déterminer les différents sites de complexation et la structure des divers complexes formés en solution aqueuse.

Les sites de complexation dans le cas du Pd(II) et du Pt(II) sont dans chaque cas le soufre et le ou les azotes conduisant à la formation de complexes possédant 1 ou 2 cycles chélatés. Dans le cas du tripeptide, il semblerait qu'une complexation de type [S,N,N,N] n'intervienne pas, ceci étant probablement du aux tensions stériques trop importantes qui résulteraient d'un système à trois cycles chélatés.

En effet, nous avons montré que la présence d'un seul résidu Glycine force le cycle comportant l'atome de soufre à adopter une conformation qui engendre une gêne stérique maximum par le groupement thioéther.

Dans le cas des amino acides et des peptides, l'étude R.M.N. montre clairement la formation de deux diastéréoisomères résultant de la formation d'un centre chiral sur le soufre. La comparaison des résultats obtenus par R.M.N. quant à la proportion des deux diastéréoisomères obtenus, lorsqu'un groupement peu encombrant (CH_3) est remplacé par un groupement volumineux ($\text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5$) et lorsque l'amino

acide est seul complexé ou lorsqu'il s'agit d'un dipeptide permet l'attribution de la configuration absolue de l'atome de soufre dans les diastéréoisomères considérés.

L'étude de la complexation de la SMC avec le mercure en fonction de la concentration nous a permis de mettre en évidence un complexe de type $M(LH_2)$ alors que jusqu'à présent la littérature ne faisait état que de complexe de type $M(LH_2)_2$. Avec le mercure seul le soufre est coordonné, aussi bien pour SMC que pour SBC. Les résultats pour les deux amino acides sont identiques, l'influence d'un groupement volumineux étant ici négligeable car il n'y a pas formation d'un cycle chélaté.

Enfin, dans le cas des dipeptides Gly-SMC et Gly-SBC, l'étude R.M.N. montre, comme pour les complexes aminoacides, que le soufre est toujours le site de complexation principal, ceci sans formation de cycle chélaté.

BILIOGRAPHIE

- 1) Bodansky M., Klausner Y.S. & Ondetti M.A.
Peptides synthesis II Ind Edition
Wiley - Interscience.
- 2) Geiger R. & König W.
The peptides Vol.3 Chap.1
(Gross E. & Meienhofer J.) Academic Press.
Roeske R.W.
The peptides Vol.3 Chap.2
(Gross E. & Meienhofer J.) Academic Press.
- 3) Bergmann M. & Zervas L.
Ber. 65, 1192 (1932)
- 4) Wünsch E., Deffner M., Deimer K-H., Jaeger E., Stezel P., Thamm P. & Wendlberger G.
Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl) Vol.XV(1)
Mueller E. & Als., eds.
Thieme, Stuttgart.
- 5) Ben Ishai D. & Berger A.
J. Org. Chem. 17, 1564-1570 (1952)
- 6) Sakakibara S., Shimonishi Y., Kishida Y., Okada M. & Sugihara H.
Bull. Chem. Soc. Jpn, 40, 2164-2167 (1967)
- 7) Mc Kay F.C. & Alberton N.F.
J. Am. Chem. Soc. 79, 4686-4690 (1957)
- 8) Anderson G.W. & Mc Gregor A.C.
J. Am. Chem. Soc. 79, 6180-6183 (1957)
- 9) Carpino L.A.
J. Am. Chem. Soc. 79, 4427 (1957)
- 10) Schwyzer R., Sieber P. & Kappeler H.
Helv. Chimica Acta, 42, 2622 (1959)
- 11) Schwyzer R.
Helv. Chimica Acta, 44, 2042 (1961)
- 12) Kappeler H., Sieber P. & Schwyzer R.
Helv. Chimica Acta, 44, 1136 (1961)

- 13) Schnabel E.
Liebigs Ann. Chem. 702, 188-196 (1967)
- 14) Stewart J.M. & Wooley D.W.
Nature 206, 619 (1965)
- 15) Merrifield R.B.
J. Am. Chem. Soc. 86, 304 (1964)
- 16) Kappeler H. & Schwyzer R.
Helv. Chimica Acta 43, 1453 (1960)
- 17) Curtius Th. & Goebel F.
J. Prakt. Chem. 37(2), 150 (1888)
- 18) Brenner M. & Huber W.
Helv. Chimica Acta 36, 1109 (1953)
- 19) Brand E., Erlanger B.F., Sachs H. & Polatnick J.
J. Am. Chem. Soc. 73, 3510 (1951)
- 20) Miller H.K. & Waelsch H.
J. Am. Chem. Soc. 74, 1092 (1952)
- 21) Erlanger B.F. & Hall R.M.
J. Am. Chem. Soc. 76, 5781 (1954)
- 22) Ciperia R.V. & Nicholls
Chem. Ind. (London) 16 (1955)
- 23) Mc Laren J.A.
Aust. J. Chem. 11, 360-365 (1958)
- 24) Gross E. & Meienhofer J.
The Peptides Vol.1
Academic Press.
- 25) Goldschmidt S.
Angew. Chem. 62, 538 (1950)
Zeit. Naturforschung 56, 170 (1950)
- 26) Wieland T. & Bernhard H.
Justus Liebig's Ann. Chem. 572, 190-194 (1951)
- 27) Boissonnas R.A.
Helv. Chimica Acta 34, 874-879 (1951)

- 28) Vaughan J.R. Jr.
J. Am. Chem. Soc. 73, 3547 (1951)
- 29) Curtius T.
Ber. Dtsch Chem. Ges. 35, 3226-3228 (1902)
- 30) Meienhofer J.
The Peptides Vol.1 Chap.4
(Gross E. & Meienhofer J.) Academic Press.
- 31) Sieber P., Riniker B., Brugger M., Kamber B. &
Rittel W.
Helv. Chimica Acta 53, 2135-2150 (1970)
- 32) Sheehan J.C. & Hess G.P.
J. Am. Chem. Soc. 77, 1067-1068 (1955)
- 33) Rich D.H. & Singh J.
The Peptides Vol.1 Chap.5
(Gross E. & Meienhofer J.) Academic Press.
- 34) Bernard J-M.
Thèse de 3^{ème} cycle, Lille (1981)
- 35) Rothe M. & Kunitz F.W.
Ann. Chem. 609, 88 (1957)
- 36) Elliott D.F. & Russell D.W.
Biochem. J. 66, 49P (1957)
- 37) Bodànsky M.
The Peptides Vol.1 Chap.3
(Gross E. & Meienhofer J.) Academic Press.
- 38) Nefkens G.H.L. & Tesser G.I.
J. Am. Chem. Soc. 83, 1263 (1961)
- 39) Nefkens G.H.L., Tesser G.I. & Nivard R.J.F.
Rec. Trav. Chem. Pays-Bas 81, 683 (1962)
- 40) Anderson G.W., Zimmerman J.E. & Callahan F.M.
J. Am. Chem. Soc. 85, 3039 (1963)
- 41) Anderson G.W., Zimmerman J.E. & Callahan F.M.
J. Am. Chem. Soc. 86, 1839-1842 (1964)

- 42) Koenig W. & Geiger R.
Chem. Ber. 103, 788 (1970)
- 43) Weygand F., Prox A., Schmidhammer L. & Koenig W.
Angew. Chem. 75, 282 (1963)
Weygand F. & Ragnarsson U.
Zeit. Naturforschung 216, 426 (1966)
- 44) Merrifield R.B.
J. Am. Chem. Soc. 85, 2149 (1963)
- 45) Barany G. & Merrifield R.B.
The Peptides Vol.2 Chap.1
(Gross E. & Meienhofer J.) Academic Press.
- 46) Stewart J.M. & Young J.D.
Solid Phase Peptide Synthesis
Freeman W.H. and Company
- 47) Gisin B.F.
Helv. Chimica Acta Vol.56, Fasc.5, n°142-143,
1476-1482 (1973)
- 48) Bergmann M. & Zervas L.
Boichem. Z. 203, 280 (1928)
- 49) Williams M.W. & Young G.T.
J. Chem. Soc. 3701 (1964)
- 50) Weygand F., Prox A., Schimidhammer L. & Koenig W.
Angew. Chem. 75, 282 (1963)
- 51) Crabbé P.
Applications de la dispersion rotatoire optique et du
dichroïsme circulaire optique en chimie organique.
Gauthier-Villars Paris (1968)
- 52) Fujita J. & Shimura Y.
Spectroscopy and Structure of Metal Chelate Compounds
Chapitre 3
Nakamoto K. & Mc Carthy P.J.
John Wiley and Sons, Inc. (1968)

- 53) Hawkins C.J.
Absolute Configuration of Metal Complexes Chapitre 5
Wiley-Interscience (1971)
- 54) Closson W.D. & Haug P.
J. Am. Chem. Soc. 86, 2384 (1964)
- 55) Listowsky I., Avigad G. & England S.
J. Org. Chem. 35, 1080 (1970)
- 56) Jaffé H.H. & Orchin M.
Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy
John Wiley and Sons, Inc (1962)
- 57) Koch H.P.
J. Chem. Soc. 387 (1949)
- 58) Fehnel E.A. & Carmack M.
J. Am. Chem. Soc. 71, 84, 2889 (1949)
- 59) Decock-Le Révérend B., Loucheux C., Kowalik T. &
Kozlowski H.
Inorganica Chimica Acta 66, 205-212 (1982)
- 60) Kowalik T., Kozlowski H. & Decock-Le Révérend B.
Inorganica Chimica Acta 67, L39-L40 (1982)
- 61) Sigel H. & Bruce Martin R.
Chem. Rev. 82, 385-426 (1982)
- 62) Lim M.C. & Bruce Martin R.
J. Inorg. Nucl. Chem. Vol.38, 1911-1914 (1976)
- 63) Decock-Le Révérend B., Loucheux C., Kowalik T. &
Kozlowski H;
Inorganica Chimica Acta 66, 205-212 (1982)
- 64) Lam-Thanh H., Lintner K., Mannot M., Piriou F. &
Fermandjian S.
J. Chim. Physique 75, 755 (1978)
- 65) Lam-Thanh H. & Fermandjian S.
J. Chim. Physique 75, 361 (1977)

- 53) Hawkins C.J.
Absolute Configuration of Metal Complexes Chapitre 5
Wiley-Interscience (1971)
- 54) Closson W.D. & Haug P.
J. Am. Chem. Soc. 86, 2384 (1964)
- 55) Listowsky I., Avigad G. & England S.
J. Org. Chem. 35, 1080 (1970)
- 56) Jaffé H.H. & Orchin M.
Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy
John Wiley and Sons, Inc (1962)
- 57) Koch H.P.
J. Chem. Soc. 387 (1949)
- 58) Fehnel E.A. & Carmack M.
J. Am. Chem. Soc. 71, 84, 2889 (1949)
- 59) Decock-le-Révérant B., Loucheux C., Kowalik T. &
Kozlowski H.
Inorganica Chimica Acta 66, 205-212 (1982)
- 60) Kowalik T., Kozlowski H. & Decock-le-Révérant B.
Inorganica Chimica Acta 67, L39-L40 (1982)
- 61) Sigel H. & Bruce Martin R.
Chem. Rev. 82, 385-426 (1982)
- 62) Lim M.C. & Bruce Martin R.
J. Inorg. Nucl. Chem. Vol.38, 1911-1914 (1976)
- 63) Decock-le-Révérant B., Loucheux C., Kowalik T. &
Kozlowski H;
Inorganica Chimica Acta 66, 205-212 (1982)
- 64) Lam-Thanh H., Lintner K., Mannot M., Piriou F. &
Femandjian S.
J. Chim. Physique 75, 755 (1978)
- 65) Lam-Thanh H. & Femandjian S.
J. Chim. Physique 75, 361 (1977)

- 66) Miskowski V.M., Thich J.A., Solomon R. & Schugar H.J.
J. Am. Chem. Soc. 98, 8344 (1976)
- 67) Toniolo C. & Bonora G.M.
Can. J. Chem. 54, 70 (1976)
- 68) Kozlowski H.
Proceed 8th Conf. Coord. Chem.
Smolenice-Bratislava, pp 215-220 (1980)
- 69) Coley R.F. & Martin D.S.
Inorganica Chimica Acta 7, 573 (1973)
- 70) Tsangaris J.M., Wen Chang J. & Bruce Martin R.
J. Am. Chem. Soc. 91, 726 (1969)
- 71) Phan C.V., Tosi L. & Garnier A.
J. Inorg. Nucl. Chem. Vol.37, 2385-2388 (1975)
- 72) Kennedy B.P. & Lever A.B.P.
J. Am. Chem. Soc. 95, 6907 (1973)
- 73) Garnier A., Tosi L., Mosoni L., Toniolo C., Bonora G.M.
& Paniago E.B.
Biopolymers Vol.20, 951-966 (1981)
- 74) Wilson E.W. & Bruce Martin R.
Inorg. Chem. 9, 528 (1970)
- 75) Bruce Martin R.
Metial Ions in Biological Systems Vol.1 Chap.4
Sigel H. Dekker (1974)
- 76) Jezowska-trzebiatowska B., Formicka-Kozlowska G. &
Kozlowski H.
Bull. Acad. Polon. Sci., ser. sci. chim., 26, 561
(1978)
- 77) Karplus N.
J. Chem. Phys. 30, 11 (1953)
J. Am. Chem. Soc. 85, 2870 (1963)
- 78) Pachler K.G.
Spectrochimica Acta 20, 281 (1964)

- 79) Bruce Martin R.
The J. of Phys. Chem. Vol.83, n°18 (1979)
- 80) Feeney J.
J. of Magn. Res. 21, 473-478 (1976)
- 81) Hawkins C.J., Peachey R.M. & Szoredi C.L.
Austr. J. Chem. 29, 33 (1976)
- 82) Hawkins C.J., Peachey R.M. & Szoredi C.L.
Austr. J. Chem. 31, 973 (1978)
- 83) Hawkins C.J. & Palmer J.A.
Austr. J. Chem. 31, 1689 (1978)
- 84) Kubiak M., Allain A., Jezowska-Trzebiatowska B.,
Glowiak T. & Kozlowski H.
Acta Cryst. B36, 2246 (1980)
- 85) Hadjiliadis N., Theodorou V., Photaki I., Gellert R.W.
& Bau R.
Inorganica Chimica Acta 60, 1 (1982)
- 86) Jezowska-Trzebiatowska B., Allain A. & Kozlowski H.
Bull. Acad. Polon. Sci. Vol.XXV, n°12 (1977)
- 87) Haruko I., Fujita J. & Saito K.
Bull. Chem. Soc. Jpn Vol.40, 2584-2591 (1967)
- 88) Coley R.F. & Martin D.S.
Inorganica Chimica Acta 7, 573 (1973)
- 89) Allain A.
Thèse de doctorat Wroclaw (1979)
- 90) Li N.C. & Manning R.A.
J. Am. Chem. Soc. 77, 5225 (1955)
- 91) Lenz G.R. & Martell A.E.
Biochemistry 3, 745 (1964)
- 92) Natusch D.F.S. & Porter L.J.
J. Chem. Soc. (A), 2527 (1971)
- 93) Jezowska-Trzebiatowska B., Kowalik T. & Kozlowski H.
Bull. Acad. Polon. Sci. Vol.XXV, n°1 (1977)

- 94) Kaiser E., Clolescott R.L., Bossinger C.D. & Cook P.I.
Anal. Biochem. 34, 595 (1970)
- 95) Sorenson J.R.J., Kishore V., Pezeshk A., Oberley L.W.,
Leuthauser S.W.C. & Oberley T.D.
Inorganica Chimica Acta 91, 285-294 (1984)
- 96) Zwilling L.A. & Kohn K.W.
Pharmacologie Principles of Cancer Treatment
Chabner B. (ed.) pp 309-339 (1982)
W.B. Saunders Co, Philadelphia Pa.
- 97) Rosenberg B., Van Camp L., Trosko J.E. & Mansour V.H.
Nature 222, 385 (1969)



RESUME

Le but de ce travail est l'étude de la complexation d'acides aminés et d'oligopeptides portant une fonction thioéther par le Pd(II), le Pt(II) et le Hg(II). Nous nous sommes proposés de définir en fonction du pH les différents sites de complexation et le type des complexes obtenus en milieu aqueux.

Nous avons d'abord synthétisé deux dipeptides et deux tripeptides contenant le résidu S-Méthyl(ou Benzyl)-L-cystéine, les autres motifs étant des Glycines. Les synthèses ont été effectuées soit en phase homogène soit en phase gel.

Dans une seconde étape, nous avons identifié et caractérisé par spectroscopie électronique U.V.-Visible, dichroïsme circulaire et R.M.N. du proton, les complexes obtenus.

Nos études nous ont permis de mettre en évidence des complexes de type <S,N> pour les acides aminés et de type <S,N,N> pour les dipeptides soufrés ; quant aux tripeptides, il semblerait qu'une complexation de type <S,N,N,N> n'intervienne pas.

L'étude de la complexation de la S-Méthyl-L-cystéine avec le mercure en fonction de la concentration nous a permis de mettre en évidence un complexe de type $M(LH_2)$ alors que la littérature ne faisait état que de complexes de type $M(LH_2)_2$.

Dans le cas des dipeptides, l'étude R.M.N. montre que le soufre est toujours le site de complexation principal mais que l'atome d'azote terminal est aussi impliqué sans formation de cycle chélaté.

MOTS - CLES

- Peptide soufré - Acide aminé soufré,
- Complexation,
- Palladium,
- Platine,
- Mercure,
- Spectre U.V.-visible,
- Spectre R.M.N.,
- Dichroïsme circulaire.