

N° d'ordre : 42

50376  
1986  
175

50376  
1986  
175

# THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR EN CHIMIE**

Spécialité : Chimie Organique et Macromoléculaire

par

**Damien FICHEUX**



SYNTHÈSE DE PEPTIDES THIOLES ET ETUDE DE LEUR COMPLEXATION  
PAR DES CATIONS METALLIQUES

Soutenu le 12 juin 1986 devant la Commission d'Examen.

Membres du Jury :

Président	B. SEBILLE
Rapporteurs	M. WARTEL B. SEBILLE
Examineurs	C. LOUCHEUX H. KOZLOWSKI B. DECOCK-LE REVEREND

A mes parents

A ma famille

A mes amis

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Macromoléculaire de l'Université des Sciences et Techniques de Lille où **Monsieur le Professeur Claude LOUCHEUX**, Directeur du Laboratoire, a bien voulu m'accueillir.

Je remercie,

**Monsieur C. LOUCHEUX**, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de Lille, pour avoir suivi mon travail et donné ses conseils lors de la rédaction de celui-ci.

**Monsieur B. SEBILLE**, Professeur à l'Université du Val de Marne, de bien avoir voulu jugé ce travail et de présider le jury de cette thèse.

**Monsieur M. WARTEL**, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques de Lille, d'avoir accepté de juger ce travail et de participer au jury de cette thèse.

**Monsieur H. KOZLOWSKI**, Professeur à l'Université de Wroclaw (Pologne), pour avoir porté un grand intérêt à ce travail et d'y avoir apporté critiques et conseils.

**Madame B. DECOCK**, Maître de Conférences à l'Université des Sciences et Techniques de Lille dont les conseils m'ont été des plus profitables.

Je remercie **Monsieur I. SOVAGO**, Professeur à l'Université LAJOS KOSSUTH, a Debrecen (Hongrie) pour la réalisation des études potentiométriques.

Je remercie également les camarades de Laboratoire qui m'ont apporté leur soutien et plus particulièrement **T. KOWALIK**.

Je remercie encore **Madame M. BACQUET** et **Monsieur P. LECLERCQ** pour leur aide technique et tous ceux qui ont contribué à ce mémoire : **Madame M. SENA**, pour la dactylographie soignée, **Madame A.M. CAZE**, pour la reproduction fidèle des schémas, **Mesdames L. SAINLEGER** et **G. THOMAS** pour l'impression et la mise en page de ce mémoire.

Je remercie enfin tous ceux qui m'ont aidé dans ce travail et dont je ne saurais citer tous les noms ici.

# SOMMAIRE

--0000000--

## INTRODUCTION

### Chapitre I

#### PRINCIPES GENERAUX DE LA SYNTHÈSE PEPTIDIQUE

<u>A - PROTECTIONS ET DEPROTECTIONS</u>	4
A1 - Protection N-terminale	4
A2 - Protection des groupes carboxyliques	5
<u>B - METHODES DE COUPLAGES</u>	6
B1 - Méthode aux anhydrides mixtes	6
B2 - Méthode aux azides	7
B3 - Méthode à la D.C.C.I.	7
<u>C - STRATEGIE DE SYNTHÈSE</u>	9
C1 - Phase liquide	9
C2 - Phase solide	9
<u>D - RACEMISATION</u>	10
<u>E - PROTECTION DES THIOLS</u>	11
E1 - Préparation des thioéthers	12
E2 - Synthèse et déprotection des autres groupes protecteurs	15
<u>F - DESCRIPTION DES SYNTHÈSES</u>	21
F1 - Schéma de synthèses	21
F2 - Techniques analytiques	21
F3 - Préparation du t-BOC	22
F4 - S-triphényl méthyl-L-cystéine	22
F5 - BOC-S-trityl-cystéine	23

F6 - Préparation de l'ester actif	23
F7 - Couplage de l'ester actif avec la glycine	24
F8 - Coupure du BOC	24
F9 - Coupure du trityle	25
<i>Références bibliographiques</i>	27

## Chapitre II

### THEORIES ET METHODES EXPERIMENTALES

Introduction	31
A - TRANSITIONS ELECTRONIQUES DES PEPTIDES LIBRES	32
A1 - Chromophores amide et acide	32
A2 - Chromophore amine	33
A3 - Chromophores soufrés	33
B - TRANSITIONS d-d	33
C - TRANSITIONS DE TRANSFERT DE CHARGE	37
D - SPECTROSCOPIE U.V. VISIBLE	38
E - DICHROISME CIRCULAIRE	39
F - POTENTIOMETRIE	42
G - R.M.N.	43
<i>Références bibliographiques</i>	47

## Chapitre III

### ETUDE DE LA COMPLEXATION AVEC LE NICKEL II DE PEPTIDES CONTENANT LA CYSTEINE

Introduction	49
A - L-CYSTEINE	50
B - L-CYSTEINYLGLYCINE	54
C - GLYCYL-L-CYSTEINE	67

D - GLYCYLGLYCYL-L-CYSTEINE	78
E - GLUTATHION	80
CONCLUSION	84
<i>Références bibliographiques</i>	86

#### Chapitre IV

### ETUDE DE LA COMPLEXATION DE PEPTIDES CONTENANT LA CYSTEINE AVEC LE PALLADIUM II

Introduction	88
A - L-CYSTEINE	88
B - L-CYSTEINYLGLYCINE	99
C - GLYCYL-L-CYSTEINE	107
D - GLYCYLGLYCYL-L-CYSTEINE	109
CONCLUSION	113
<i>Références bibliographiques</i>	114
<b>CONCLUSION</b>	116

--0000000--

--0000000--

## **INTRODUCTION**

--0000000--

De nombreuses études biochimiques ont permis depuis une vingtaine d'années de mettre en évidence le rôle essentiel des métaux dans les organismes vivants. Dans certaines molécules impliquées, le soufre joue un rôle déterminant qu'illustrent les exemples suivants.

L'étude des protéines du métabolisme soufre-fer a donné lieu à de nombreuses revues (1 et bibliographie). Les principaux sites de complexation sont de type rubredoxine (quatre atomes de soufre liés au fer) ou ferredoxine (deux des atomes de soufre du complexe précédent sont liés à un autre atome de fer), cet ensemble intervenant essentiellement dans les mécanismes de réduction comme le laissent envisager les propriétés d'oxydo-réduction du fer et du soufre.

Les "protéines bleues du cuivre" que l'on trouve comme leur nom l'indique, complexées au cuivre ont fait l'objet de plusieurs études de complexation avec d'autres métaux comme le nickel et le cobalt<sup>6-7</sup>. Ces études ont montré que les sites de complexation étaient de deux sortes : les sulfures de la cystéine et les azotes imidazoles de l'histidine, qui conduisent à un complexe de type tétraédrique. On trouve généralement trois types de ces protéines : la stellacyanine, les plastocyanines et les azurines qui jouent essentiellement un rôle dans les mécanismes d'oxydo-réduction.

Les métallothionéines contiennent une quantité inhabituellement élevée de soufre et de métaux. Ces molécules qui ont été découvertes comme constituants d'un tissu, sont responsables de l'accumulation du cadmium dans l'organisme humain<sup>3</sup>. Le cadmium n'est pas le seul métal contenu dans ces protéines : le zinc représente la majeure partie des métaux contenus dans celles-ci. Contrairement aux "protéines bleues du cuivre", l'imidazole

n'intervient pas dans la complexation.

Le glutathion est un peptide naturel abondant dans les organismes vivants. Ce tripeptide a fait l'objet de nombreuses études biochimiques et sa complexation par les métaux de transition a déjà donné lieu à beaucoup de publications (2 et bibliographie). Cependant, les études effectuées avec le nickel (II) sur ce peptide n'ont pas encore permis de bien définir la structure des complexes obtenus<sup>9</sup>.

Les complexes du nickel peuvent se trouver sous différentes géométries<sup>8</sup> et il est difficile de différencier celles-ci spectroscopiquement quand elles sont présentes dans une solution. Pourtant l'étude des complexes du nickel (II) est intéressante en raison de la toxicité de ce métal. De nombreuses études ont permis de montrer qu'une augmentation importante du nickel dans un organisme pouvait conduire à une cancérogénèse. Une étude récente a montré l'intérêt de la détoxification par le glutathion<sup>10</sup>.

Il nous a paru intéressant d'entreprendre l'étude de la complexation en milieu aqueux de la cystéine et d'oligopeptides possédant un groupe thiol avec le nickel (II). Le nickel forme généralement avec les aminoacides des complexes octaédriques mais avec l'histidine et la cystéine on obtient plus souvent des complexes plan-carrés et même parfois tétraédriques<sup>6</sup>. Pour compléter cette étude, nous avons comparé les résultats obtenus pour le nickel avec ceux des complexes du palladium.

Aussi, nous nous proposons d'exposer dans ce mémoire d'abord les méthodes de synthèse peptidique où nous nous attacherons à présenter la protection des thiols. Nous présenterons ensuite les résultats obtenus dans la synthèse de GlyCys et de CysGly et dans le second chapitre, les méthodes expérimentales que nous avons utilisées pour étudier les complexes.

Dans la seconde partie, nous avons interprété les résultats obtenus par potentiométrie, et par spectroscopie U.V. visible, de dichroïsme circulaire et de R.M.N. avec les complexes de la cystéine, de deux peptides synthétisés et de deux tripeptides commerciaux (le glutathion et GlyGlyCys).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

--0000000--

- 1) B.A. AVERILL et W.H. ORME JOHNSON  
*Metal Ions in Biol. Systems* Vol. 7 p 127 (1978)
- 2) D.L. RABENSTEIN  
*Metal Ions in Biol. Systems* Vol 9 p 103 (1979)
- 3) M. VASAK et J.H.R. KAGI  
*Metal Ions in Biol. Systems* Vol 15 p 213 (1983)
- 4) B. SARKAR  
*Chemica Scripta* 21, 101 (1983)
- 5) M. VASAK, J.H.R. KAGI, B. HDMQUIST et B. VALLEE  
*Biochemistry* 20, 6659 (1981)
- 6) E.I. SOLOMON, K.W. PENFIELD et D.E. WILCOX  
*Structure and bonding* 53, 1 (1983)
- 7) D.L. TENNENT et D.R. Mac MILLIN  
*J.A.C.S.* 101, 2307 (1979)
- 8) L. SACCONI  
*Trans. Met. Chem.* 4, 199 (1968)
- 9) G. FORMICKA-KOZLOWSKA, P.M. MAY et D.R. WILLIAMS  
*Inorg. Chim. Acta* 46, L51 (1980)
- 10) F.W. SUNDERMAN Jr, O.ZAHARIA, M.C. REID, J.F. BELLIVEAU, G.P. O'LEARY Jr et M. GRIFFIN  
*Toxicology* 32, 11 (1984)
- 11) M. JONES, M.A. BASINGER et A.D. WEAVER  
*J. Inorg. Nucl. Chem.* 43, 1705 (1981)

--0000000--

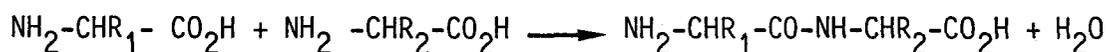
--0000000--

**CHAPITRE I**

--0000000--

## I - PRINCIPES GENERAUX DE LA SYNTHÈSE PEPTIDIQUE

C'est la formation d'une liaison amide entre deux acides aminés selon le schéma réactionnel suivant :



Les acides aminés possédant les deux fonctions amine et acide et une fonction latérale dans certains cas, il est nécessaire pour former une liaison peptidique de neutraliser les fonctions non impliquées durant le couplage.

Ainsi trois étapes sont nécessaires :

- o la **protection** des fonctions non réactives,
- o le **couplage** lui-même qui nécessite l'activation des fonctions acide ou amine et la présence d'agent de couplage,
- o la **déprotection** de tous les groupements du peptide formé.

## A - PROTECTION ET DEPROTECTION

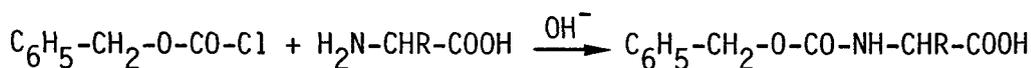
Les groupes protecteurs doivent être faciles à mettre en place, stables chimiquement durant les différentes étapes de la synthèse peptidique et s'éliminer facilement et sélectivement.

### A-1) PROTECTION N TERMINALE

Parmi les nombreux groupes protecteurs de la fonction amine décrits dans la littérature<sup>1,2,3</sup>, nous ne présenterons ici que les deux plus employés.

Le groupe benzyloxycarbonyle (Z)  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-O-CO}$

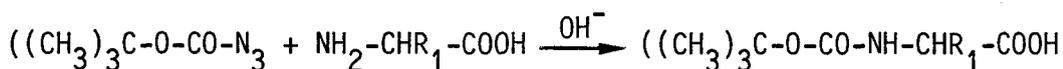
On l'obtient facilement en faisant réagir le chlorure de benzyl-oxycarbonyle sur l'acide aminé suivant le schéma réactionnel suivant<sup>2</sup> :



La déprotection se fait soit par hydrogénolyse catalytique sur Pd/charbon 10% (difficilement utilisable dans le cas des amino-acides soufrés en raison de l'empoisonnement du catalyseur par le soufre, bien que certaines conditions le permettent<sup>44</sup>), soit par action de l'acide bromhydrique dans l'acide acétique<sup>5</sup>, soit par coupure dans l'acide fluorhydrique anhydre<sup>6</sup>.

### Le groupe tertiobutyloxycarbonyle (BOC) $(\text{CH}_3)_3\text{C-O-CO-}$

La fonction amine terminale est protégée par réaction avec le tertiobutylazidoformiate en milieu basique.



Pour mener à bien cette protection, nous avons utilisé la méthode de SCHNABEL<sup>7</sup> où le pH est maintenu constant grâce à un auto-titrateur. La déprotection se fait par l'acide chlorhydrique 4N dans le dioxanne à 0°C<sup>8</sup>, par l'acide chlorhydrique normal dans l'acide acétique<sup>9</sup>, par l'acide trifluoroacétique<sup>10</sup> ou par le trifluorure de bore - Complexe d'Ether<sup>11</sup>.

Ce groupe est très stable à l'hydrogénolyse et s'avère être un excellent complément du groupement benzyloxycarbonyle qui, lui, est stable dans les conditions de coupure du BOC.

## A-2) PROTECTION DES GROUPES CARBOXYLIQUES

Dans la plupart des cas, la protection carboxylique intervient par la formation d'ester d'alkyle ou de benzyle<sup>1,2,4</sup>.

Les esters d'alkyle sont mis en place par estérification carboxylique avec l'alcool correspondant en présence d'acide chlorhydrique anhydre<sup>12</sup> ou le chlorure de thionyle  $(\text{SOCl}_2)$ <sup>13</sup>. La protection est facilement retirée par une saponification dans l'acétone, le méthanol

ou le dioxanne à température ambiante.

Les esters de tertibutyle sont préparés par réaction de l'isobutylène en présence d'un catalyseur acide (généralement  $H_2SO_4$ )<sup>14</sup>. Les mêmes acides forts que ceux utilisés pour le BOC<sup>15</sup> les coupent facilement.

Les esters benzyliques sont obtenus par estérification de la fonction carboxylique de l'acide aminé par l'alcool benzylique en présence de catalyseur acide (A.paratoluène sulfonique<sup>16</sup>, A.benzène sulfonique<sup>17</sup> et A.polyphosphorique<sup>18</sup>) en tant qu'agent de déshydratation.

La déprotection se fait soit par saponification comme précédemment soit par hydrogénolyse sur Pd. Cette dernière méthode est d'ailleurs préférable à la saponification car elle présente moins de risque de racémisation.

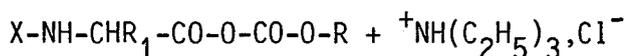
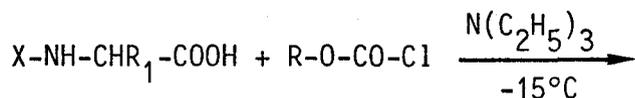
## B - METHODE DE COUPLAGE

Après la protection des aminoacides en vue du couplage, il faut activer l'une des fonctions libres restantes en raison de leur faible réactivité<sup>18</sup>. L'activation de l'acide carboxylique, la plus utilisée, sera la seule décrite ci-dessous.

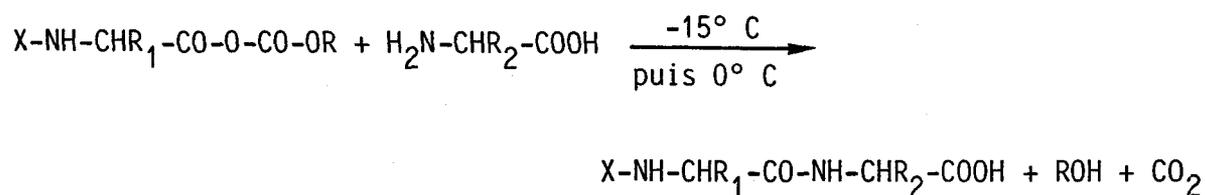
### **B-1) METHODES AUX ANHYRIDES MIXTES<sup>19</sup>**

Le couplage se passe en deux étapes.

D'abord, l'activation de la fonction acide est obtenue par formation d'un anhydride mixte sur le premier aminoacide avec un chloroformiate d'alkyle en présence de triéthylamine dans un solvant rigoureusement anhydre à basse température (-15°C).



Ensuite, la formation de la liaison se produit par réaction du deuxième acide aminé sur l'anhydride mixte :



(X étant un groupement protecteur)

Cette méthode présente plusieurs avantages : peu de racémisation à basse température et en faible excès de base, rapidité du couplage, suppression de la protection C terminale.

### B-2 METHODE AUX AZIDES<sup>20</sup>

C'est une des plus anciennes méthodes de synthèse peptidique. La préparation de l'azide de l'acide aminé est analogue à celle du tertio-butylazidoformiate. Au cours de cette réaction, la racémisation est importante.

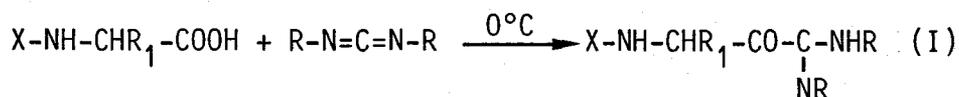
### B-3 METHODES A LA DICYCLOHEXYLCARBODIIMIDE (DCCI)

Ces méthodes sont les plus utilisées actuellement<sup>3</sup>.

Elles impliquent la formation d'un intermédiaire réactif entraînant une augmentation de la réactivité de la fonction carboxylique par accroissement du caractère électrophile de l'atome de carbone du carboxyle.

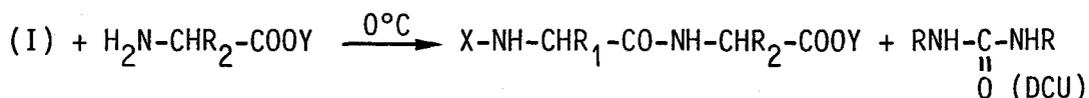
La méthode directe permet la formation de liaison peptidique entre deux acides aminés protégés sur leurs fonctions non réactives.

La DCCI en réagissant d'abord avec le groupe carboxyle forme un agent acylant très réactif, l'Oacylurée non isolable :



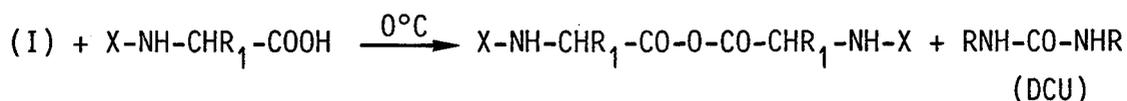
A partir de cet intermédiaire, plusieurs schémas réactionnels sont possibles :

o Soit l'attaque du second aminoacide sur l'intermédiaire réactif pour former une liaison peptidique :



R=C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>, X et Y étant 2 groupes protecteurs.

o Soit la formation d'un anhydride symétrique par réaction avec un autre aminoacide N protégé :

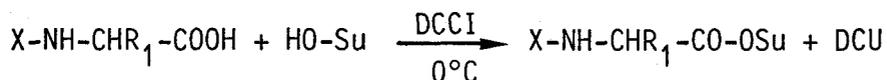


qui est ensuite aminolysé par l'acide aminé C protégé comme dans la méthode aux anhydrides mixtes.

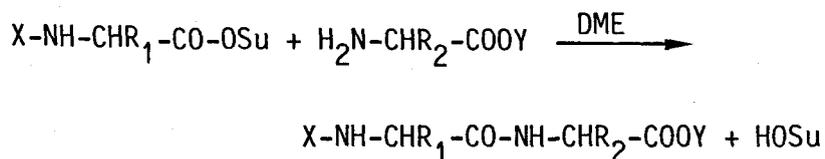
o Soit la formation de 5(4H)-oxazolone qui est responsable de la racémisation.

La méthode aux esters actifs permet la transformation de l'acide aminé N protégé en un ester porteur d'un groupe électro-attracteur activant la fonction C terminale dans l'aminolyse<sup>21</sup>. Il existe de nombreuses sortes d'esters actifs<sup>3</sup> mais c'est l'introduction d'hydroxylamines substitués qui a provoqué le développement de cette méthode. Le plus utilisé est le N hydroxysuccinimide<sup>22</sup> dont nous décrivons l'utilisation ci-dessous.

On forme d'abord l'ester actif :



Ensuite l'ester actif réagit avec un deuxième aminoacide :



X = groupe protecteur

Y = H ou groupe protecteur

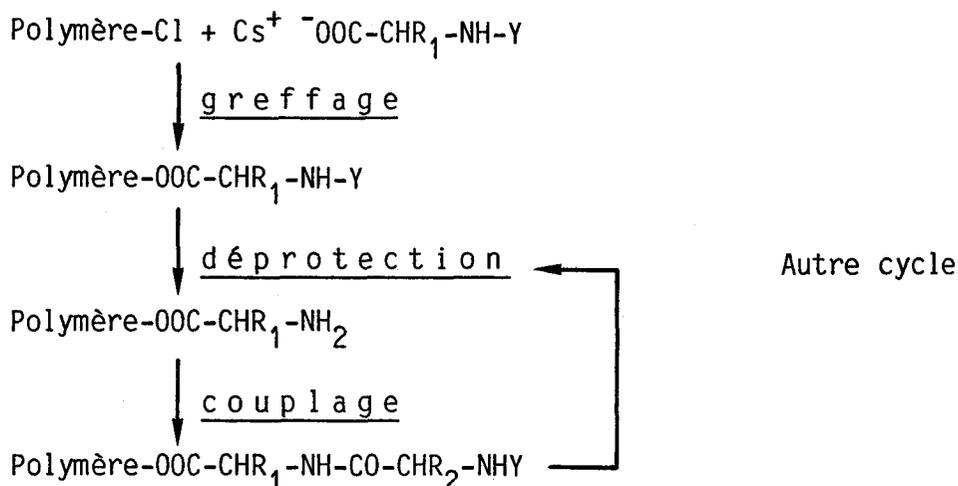
## C - STRATEGIE DE SYNTHÈSE

### C-1 PHASE LIQUIDE

Toutes ces méthodes de couplage, de protection et de déprotection sont utilisées dans la synthèse en phase liquide. C'est la méthode la plus simple à mettre en oeuvre car elle ne nécessite aucun appareillage particulier. Les réactions sont suivies par chromatographie sur couche mince. Après chaque réaction, les peptides sont extraits par un solvant organique. Les produits n'ayant pas réagi sont éliminés par des lavages acides et basiques. Ils sont ensuite purifiés par cristallisation à chaque étape, le peptide final étant purifié par chromatographie. Cette méthode permet la préparation de quantités importantes, la synthèse par fragment et donne une bonne pureté des produits finaux grâce aux purifications intermédiaires. Néanmoins, elle reste longue à effectuer et les étapes de cristallisation sont parfois difficilement réalisables.

### C-2 PHASE SOLIDE

La répétitivité des étapes a entraîné le besoin d'automatiser cette synthèse pour les grands peptides. C'est MERRIFIELD<sup>23</sup> qui l'a mise au point en utilisant la stratégie de synthèse "pas à pas" en fixant le premier aminoacide par son groupe C terminal sur un polymère insoluble gonflé dans les solvants organiques. Celui-ci est le plus souvent du polystyrène réticulé par du divinylbenzène (1 à 2%) et partiellement chlorométhylé sur lequel on greffe le premier aminoacide sous forme de sel de triéthylamine ou de césium. Les couplages se font le plus souvent par la méthode directe à la DCCI et les protections par le groupe BOC.



En fin de synthèse, le peptide est coupé du support polymérique par un traitement acide<sup>25,26</sup> qui s'avère délicat. Pratiquement les couplages qui devraient théoriquement être quantitatifs ne le sont pas. Il est donc nécessaire de pratiquer une purification après déprotection. Son principal avantage est la rapidité du couplage qui est d'environ 4 heures par cycle d'opération. La microporosité du polymère limite l'accroissement de la chaîne peptidique à 50 aminoacides.

#### D - RACEMISATION

La racémisation est un des problèmes délicats de la synthèse peptidique. De nombreuses études ont été menées dans ce sens et ont été rassemblées dans les articles de J. KOVACS et D.S. KEMPS<sup>26</sup>.

L'introduction de groupe protecteur, comme le BOC ou le Z, de même que les méthodes de déprotection utilisées n'entraînent pas de racémisation sauf avec l'utilisation de bases fortes dans le cas des esters méthyliques.

En fait, la formation d'esters actifs et le couplage à la DCCI sont les réactions qui sont les plus aptes à y conduire.

La présence de base en forte concentration permet la formation de l'intermédiaire oxazolone entraînant le départ du proton porté sur le carbone assymétrique du cycle qui conduit ainsi à la racémisation.

L'utilisation de solvant polaire tel que le DMF favorise cette réaction et augmente la vitesse de racémisation. Lors du couplage

entre deux aminoacides, l'effet de dilution entraîne une augmentation de la durée du couplage, à peu près dix fois plus pour une concentration de 0,01 M par rapport à 0,13 M. Cette durée est aussi favorable à la racémisation.

Les températures élevées peuvent favoriser cette réaction ce qui nous oblige à travailler à basse température.

Des inhibiteurs de racémisation, comme 1-hydroxybenzotriazole, permettent de rendre la racémisation négligeable pour la méthode à la DCCI.

Un mécanisme de  $\beta$  élimination a été plusieurs fois proposé comme mécanisme de racémisation qui est favorisée en présence de base forte, de bon groupe partant ou à haute température<sup>26</sup>.

## E - PROTECTION DES THIOLS DANS LA SYNTHÈSE PEPTIDIQUE

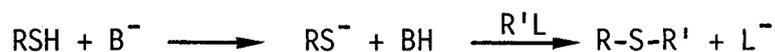
L'importance de la cystéine et de la cystine dans les polypeptides naturels comme sites actifs et dans la stabilisation conformationnelle a entraîné la nécessité de développer la synthèse et la déprotection des groupes protecteurs de thiols. Bien qu'elle n'ait pas toujours été utilisée<sup>28</sup>, la protection du soufre durant la synthèse peptidique est fortement recommandée à cause du haut degré de nucléophilie de l'atome de soufre et de la facilité d'oxydation des thiols en disulfure. Beaucoup de synthèses ont porté sur les peptides soufrés comportant des ponts disulfures et ont entraîné leurs auteurs à pratiquer une protection sélective des groupes thiolés. Les groupes les plus couramment utilisés sont les thioéthers dont nous étudierons la préparation et les différentes méthodes de déprotection. Parmi les autres groupes utilisés, les thiazolidines avec notamment le groupe acétamidométhyl et les dérivés sulfényles nous ont paru être les plus intéressants. Nous parlerons enfin de deux groupes dont l'utilisation semble diminuer : les thioacétals et les thioesters.

## E-1 PREPARATION DES THIOETHERS

o Depuis les travaux de du VIGNEAUD<sup>29</sup>, les thioéthers sont devenus les groupes protecteurs les plus utilisés. Ils sont généralement préparés par substitution nucléophile dans laquelle l'atome de soufre sert de nucléophile.

Ces réactions réclament :

◊ soit un catalyseur basique pour générer un ion sulfure plus nucléophile :



La S-benzyl cystéine<sup>30</sup> et la S paraméthoxybenzylcystéine ont ainsi été préparées par alkylation du sel de sodium.

◊ soit un catalyseur acide pour générer un cation qui réagit avec le thiol :



Nous avons choisi cette méthode pour la synthèse de la S-triphénylméthyl-L-cystéine en utilisant le triphénylméthanol pour générer le cation et l'acide trifluoroacétique<sup>31</sup> ou le trifluorure de bore complexe d'éther<sup>33</sup> comme catalyseur. L'action de l'acide sur des alcools, des ofélines ou des alogénures conduisent en fait à la synthèse d'un carbocation qui réagit sur le thiol pour conduire au produit protégé<sup>28</sup>.

La S tertiobutyl cystéine a été synthétisée soit avec l'acétate de tertiobutyle soit avec l'isobutène<sup>32</sup>. Dans le cas des thioéthers préparés à partir de cations très stabilisés comme le trityle ( $\text{P}k\text{R}^+ = -6,63$ ) la réaction conduit à une coupure importante acidocatalysée.

Dans cette situation, les conditions d'équilibre<sup>34</sup> sont atteintes rapidement et la réaction doit être menée à terme soit par évaporation d'un acide volatil (TFA ou HBr) soit par diminution de la concentration d'acide.

### o Déprotection Sodium/Amine, Sodium/Ammoniac

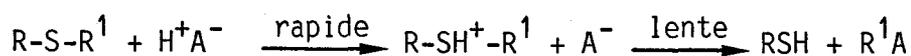
La coupure réductive des liaisons carbone-soufre a été durant de nombreuses années avec l'utilisation du benzyle comme groupe protecteur le principal procédé de déprotection dans la synthèse de peptides souffrés.

Les thioéthers de type S-trityl, S-benzhydryl et S-benzyl sont coupés par les combinaisons sodium/amine pour donner des thiols<sup>35</sup>. Cette méthode est utilisée sans changement significatif dans la synthèse peptidique depuis sa création<sup>28</sup>. Cependant, il a été montré que des réactions secondaires se produisent lorsque le temps de déprotection du peptide est prolongé<sup>36</sup>.

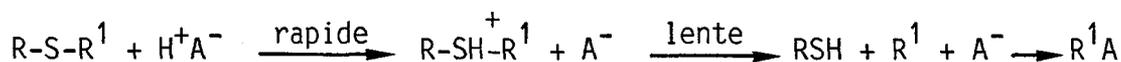
La mise en oeuvre assez délicate et la réduction par le sodium peu sélective nous ont amenés à éliminer cette méthode.

### o Déprotection par les acides

La coupure des thioéthers par voie acide peut se faire soit par réaction directe :



ou par l'intermédiaire d'un ion carbonium :



Bien que les deux types de réactions soient connus, la seconde semble être la plus représentative<sup>37</sup>. D'ailleurs, une étude sur les différents groupes protecteurs montre qualitativement la relation entre la vitesse d'une réaction  $SN_1$  et la stabilité de l'ion carbonium. Il en découle que le déblocage des groupes thioéthers par un acide se fait en trois étapes : la première, rapide de formation de l'acide conjugué, la seconde, lente déterminant la vitesse de déprotection en formant l'ion carbonium et la troisième où l'ion carbonium réagit soit irréversiblement avec un cation fixateur (scavenger), soit réversiblement avec la base conjuguée comme dans l'équation ci-dessus ou avec un nucléophile ajouté<sup>39</sup>.

Une étude sur la compétition entre un solvant (alcool) et un

agent nucléophile ( $Y^-$ ) en fonction des ions carboniums utilisés montre que plus la stabilité du cation est grande, plus l'énergie d'activation requise pour sa transformation est élevée<sup>40</sup>. Ainsi, l'utilisation de scavengers comme le phénol et l'anisole dans la déprotection du benzhydryle permet une augmentation notable du rendement de la réaction, alors que dans la déprotection acidocatalysée du trityle, cela a peu d'effet sur le rendement de la coupure.

Ces résultats peuvent être attribués à la très grande stabilité du cation trityle comparée à celle du benzhydryle<sup>28</sup>.

Les thioéthers d'alkyle ne sont pas touchés par les coupures acides sauf le t.butyle qui est enlevé quantitativement par un acide fort en présence d'un scavenger (HF, Anisole)<sup>38</sup>.

La S-benzyl -cystéine est, elle aussi, inerte aux acides comme l'acide trifluoroacétique ou l'acide bromhydrique dans l'acide acétique mais le groupe benzyle est coupé par HF en présence d'anisole.

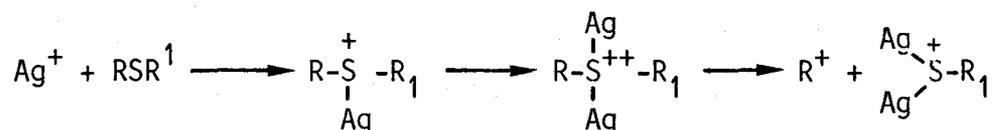
Dans les mêmes conditions, les groupes paraméthoxybenzyle et benzhydryle sont coupés plus rapidement du fait de la stabilité de leurs ions.

La coupure de nombreux groupes protecteurs a été effectuée avec l'acide trifluoroacétique en présence de phénol en améliorant largement le rendement de la réaction<sup>28</sup>.

### o Coupure par les métaux lourds

L'affinité du soufre comme accepteur de métal est connue depuis longtemps et lui a valu son appellation de mercaptan. PEARSON<sup>42</sup> considère que les thiols et les métaux donnent des réactions "douces".

SAVILLE<sup>43</sup> a étudié la solvolysé de plusieurs thioethers d'allyle avec le nitrate d'argent et conclu que deux ions  $Ag^+$  sont nécessaires dans la réaction de déprotection :



Elle est plus attractive car la précipitation des mercaptides la rend irréversible. De plus, la simplicité de sa mise en oeuvre et sa sélectivité sont des atouts supplémentaires. Elle a permis dans nos synthèses une purification du peptide en éliminant tous les éléments non soufrés.

La réaction avec les alkylthioéthers est difficile et seul le t-butyl a été déprotégé par action de  $\text{HgCl}_2$  à reflux dans l'eau<sup>32</sup>. Plus récemment, la synthèse de la somatostatine<sup>44</sup> a été effectuée en utilisant le StBu qui est ensuite coupé par  $\text{Hg(II)}$  à pH4.

Dans les groupes aryles, le trityle, le diphenylméthyle et le benzhydryle ont été les plus étudiés pour la déprotection. Le trityle a même pu être coupé sans toucher le groupe benzhydryle<sup>45-46</sup>.

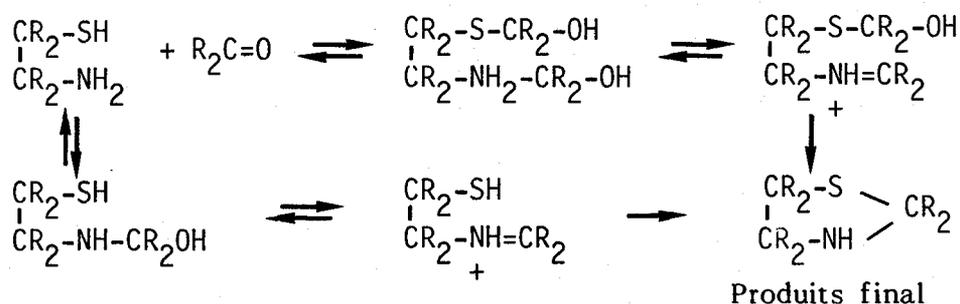
La démétallation des sulfures d'argent ou de mercure peut s'obtenir par action de l'acide chlorhydrique (47) pour donner un précipité de chlorure d'argent ou du sulfure d'hydrogène<sup>48</sup> pour donner le sulfure d'argent.

## E-2 SYNTHÈSE ET DEPROTECTION DES AUTRES GROUPES PROTECTEURS DES THIOLS

### o Les thiazolidines et leurs dérivés

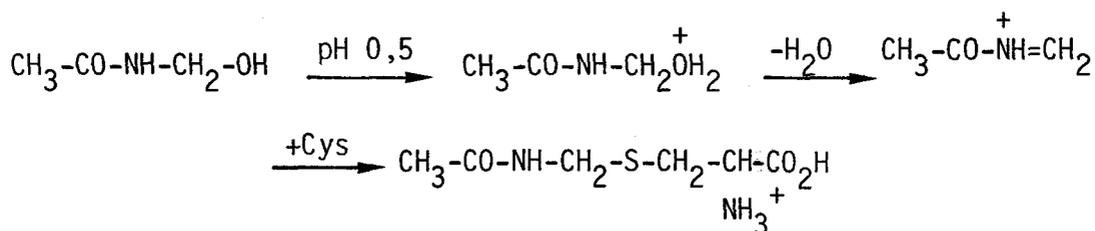
Bien que les thiazolidines ne soient pas très utilisées, l'utilisation de l'acétamidométhyle s'est développée dans les synthèses<sup>49</sup> avec sa déprotection par le mercure.

La réaction de la cystéine avec les aldéhydes a été utilisée vers le milieu du siècle pour donner les dérivés du 4-carboxy-thiazolidine. De nombreux aldéhydes et cétones ont été utilisés<sup>50</sup>. Le mécanisme de formation étudié par KALLON<sup>51</sup> est montré ci-dessous :



Le deuxième équilibre se produisant lorsque les états thermodynamiques de l'hémithioacetal ne sont pas favorisés<sup>52</sup>.

L'acétamidométhyl (Acm) passe aussi par un intermédiaire iminium résultant de la déshydratation du réactif carbinolamine, l'acétamidométhanol, à pH 0,5<sup>49</sup> :



Dans les deux cas, le groupe thiol fortement nucléophile réagit sur le carbone sp<sup>2</sup> plus rapidement que l'amine, l'oxygène du groupe carboxylique ou le solvant<sup>53</sup> pour donner dans un cas les thiazolidines et dans l'autre, les dérivés S-Acm.

CHAKRAVARTY et OLSEN<sup>54</sup> ont obtenu un mélange avec la protection par le groupe Acm et ont trouvé une bonne alternative en utilisant le groupe S.benzamidométhyle.

La présence d'eau entraîne la décomposition du cycle thiazolidine alors que le groupe Acm est stable et résiste même à des conditions très dures comme HF à 0°C et des pH allant de 0 à 13. Il peut cependant être déprotégé de façon irréversible par action de l'ion mercurique en milieu aqueux<sup>55</sup>.

Les groupes thiazolidines donnent des rendements de 30 à 70% alors que le groupe Acm donne 95% de rendement<sup>28</sup>.

L'acétamidométhyle est assez couramment utilisée par exemple pour la synthèse de modèles proches des métallothionéines<sup>56</sup> de même que pour des séquences de la ribonucléase A. Cette déprotection n'a pu se faire qu'avec une solution aqueuse d'acide acétique à 50% en présence d'ion mercurique avec un peptide contenant huit motifs cystéine<sup>52</sup>.

L'Acm peut donner directement des disulfures par action de l'iode ou des thiocyanogènes<sup>1</sup>.

### o Les thioesters et leurs dérivés

Cette série de groupes protecteurs comprend en plus des alkyl et aryl thioesters, les alkyloxy-carboxyles ( $\text{ROCOSR}_1$ ), les alkylthio-carbamates ( $\text{R-NH-CO-SR}_1$ ) et les dithiocarbonates ( $\text{R-S-CO-SR}_1$ ).

La réaction des mercaptans avec les acides acétique et benzoïque donnent seulement 15% de thioester ce qui a conduit à les préparer par action soit des halogénures d'acide, soit des anhydrides sur le thiol.

Les synthèses de la S.acétyl et de la S.benzoyl cystéine ont été menées à partir d'anhydride acétique et de chlorure de benzoyle<sup>57</sup>.

On retiendra en particulier la synthèse de la S.carbamoyl cystéine par action de l'isocyanate d'éthyle sur la cystéine<sup>58</sup>.

Le problème essentiel de la S.aryl et de la S.alkoxy-carboxy-L-cystéine, est la migration  $\text{S} \rightarrow \text{N}$  acyle qui résulte de la présence d'une amine libre sur le résidu<sup>28</sup>.

Ce type de problème a été rencontré lors de la préparation mais aussi lors des réactions de couplage aussi bien en phase liquide qu'en phase solide. La synthèse et l'utilisation du groupe éthylcarbamoyl par contre n'a pas posé ce type de problème.

Les thioesters sont facilement déprotégés par réaction du sodium dans l'ammoniac liquide. Dans une étude sur la déprotection du groupe éthylcarbamoyl, GUTTMAN<sup>58</sup> montre que l'on pourrait aussi obtenir le thiol avec l'ammoniac seul. En fait, ces groupes se coupent facilement par action basique comme le S.benzoyl par action de la soude 0,2N<sup>57</sup> mais de sérieuses réactions secondaires peuvent se produire : les composés contenant la cystine conduisent après déprotection à un mélange de polymères<sup>59</sup>. Cette labilité aux bases est un problème supplémentaire lors de la synthèse peptidique.

La coupure acide du groupe benzoyl est faible avec HBr dans l'acide acétique ou l'acide trifluoroacétique en présence de phénol<sup>57</sup> alors que le groupe paraméthoxybenzyloxy-carboxyle est coupé par le TFA à température ambiante et HBr 0,2N dans l'acide acétique<sup>60</sup>.

Les métaux lourds ont aussi été utilisés. Le groupe benzoyl a été coupé aussi bien par l'argent (I) et le mercure (II) que par le

cuivre (II) et le plomb (II)<sup>28</sup>. L'étude de l'hydrolyse de différents éthylthiobenzoates para substitués montre que l'argent et le mercure sont plus efficaces que l'ion hydroxonium et que l'argent fait intervenir un système bimoléculaire alors que le mercure réagit unimoléculairement.

Le groupe éthylcarbamoyle a été utilisé pour la synthèse de peptides dans lequel la récupération du thiol a été effectuée par le chlorure mercurique<sup>28</sup>.

### o Les thioacétals

Les dérivés sont préparés avec un bon rendement soit par catalyse acide soit par catalyse basique. Seulement on obtient dans certains cas un mélange de diastéréoisomères<sup>28</sup>. Leur compatibilité avec les autres groupes protecteurs durant la synthèse peptidique a été démontrée dans la synthèse de l'insuline bovine<sup>62</sup>.

Les coupures acides ont été signalées mais n'ont pas été utilisées car le rendement était faible.

Seule la coupure par les métaux lourds paraît intéressante. Ainsi, la S-(2-tétrahydropyranyl)-L-cystéine a été rapidement convertie en sulfure d'argent et la  $\delta$  hydroxyvaléraldéhyde par le nitrate d'argent dans l'eau<sup>63</sup>. Seulement dans certains cas la coupure opérée par les métaux lourds pose des problèmes de solubilité qui rendent leur utilisation moins attrayante<sup>28</sup>.

L'utilisation d'électrophiles tels que les thiocyanogènes permet une conversion directe en disulfure<sup>27</sup>.

### o Les sulfényles et leurs dérivés

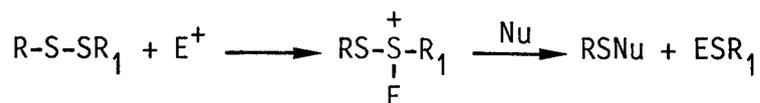
On retrouve dans ces composés entre autres les sulfonates, les disulfures et certains métaux lourds qui servent pour la protection des thiols lors de la synthèse peptidique.

Les plus utilisés sont les sulfonates ; ils sont synthétisés à partir soit de disulfure par oxydation soit de sulfites et de cuivre (II)<sup>28</sup>. Ils

sont particulièrement utiles dans la synthèse et la purification de grands peptides<sup>1</sup>. Les iodures de sulfényles sont trop réactifs pour être utilisés comme groupe protecteur et leur nature insoluble les rend difficilement utilisables<sup>28</sup>.

Par contre, les groupes aryle, éthyle et t-butyle sont plus facilement utilisables. Ils sont très stables aux conditions de la synthèse peptidique et sont récupérés en présence de mercaptans comme le mercaptoéthanol<sup>64</sup>.

Les disulfures intrachaines sont peu utilisables car leur solubilité est faible. Leur déprotection est obtenue en présence de sodium dans l'ammoniac liquide. En milieu acide les sulfonates sont stables alors que les composés disulfurés peuvent être séparés surtout si la coupure est activée par la présence d'électrophiles.



Les métaux lourds peuvent aussi jouer le rôle d'électrophiles et couper les ponts disulfures en présence de nucléophile.

La plupart des composés sulfénylés peuvent être déprotégés par action de mercaptans. Cette méthode est pratique car la réaction est rapide, spécifique et accomplie dans des conditions douces.

COMPOSES	Utilisation	Coupure	Acide	Na/NH <sub>3</sub>	Métaux lourds	Basique
<b>Thioéthers</b>						
: Alkyls	--		-	-	-	-
: Aryls	++		+	+	+	-
<b>Thiazolidines</b>						
: $\begin{array}{c} \text{CR}_2-\text{S} \\   \quad \diagdown \\ \text{CR}_2 \\   \quad \diagup \\ \text{CR}_2-\text{NH} \end{array}$	-		-	-	-	-
: S-acétamidométhyl	++		+	-	+	-
<b>Thioéthers</b>						
: RO-						
: RNH- } CO-SR	+		+	+	+	-
: RS-						
<b>Thioacétals</b>						
: RS-CH <sub>2</sub> -O-R						
: RS-CH <sub>2</sub> -S-R	-		-	-	+	-
<b>Sulfényles</b>						
: R-S-SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	+	(a)	-	+	+	-
: R-S-S-R'	+	(a)	-	+	+	-

(a) déprotection possible avec les mercaptans.

**TABLEAU I : RECAPITULATIF DES PROTECTIONS EN THIOLS EN SYNTHÈSE PEPTIDIQUE ET DE LEURS MÉTHODES DE DEPROTECTION ; ++ très utilisé, + utilisé, - et -- peu ou pas utilisé.**





des vapeurs chlorhydriques avant la pulvérisation pour libérer la fonction amine. La pureté des produits thiolés a été contrôlée par H.P.C.L. sur colonne en phase inverse (WATERS BONDAPACK C18) en utilisant un programme de gradient avec de l'eau et du méthanol.

### F-3 PREPARATION DU TERTIOBUTYLAZIDOFORMIATE

Cette synthèse s'effectue sous hotte car le tertiobutylazidoformiate est un hypotenseur.

On introduit dans un ballon bicol 36,5 ml d'eau et 22,5 ml d'acide acétique glacial. La solution étant refroidie à 0°C, on ajoute progressivement 0,2 mole (26,4 g) de carbazate de tertiobutyle. Après dissolution, on additionne, en maintenant la température entre 9 et 13°C, une solution de 0,22 mole (15,16 g) de nitrite de sodium dans 150 ml d'eau. Après avoir laissé la solution une heure sous agitation, on ajoute 40 ml d'eau et on recueille la phase organique. L'azide restant dans la phase aqueuse est extrait trois fois par 50 ml d'éther éthylique.

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

### F-4 S.TRIPHENYLMETHYL-L-CYSTEINE (S.trityl-cystéine)

La S.trityl-cystéine est préparée par catalyse acide. On dissout le mélange de cystéine  $5 \cdot 10^{-3}$  mole (0,6 g) et de triphénylméthanol  $5 \cdot 10^{-3}$  mole (1,3 g) dans 9 ml d'acide trifluoroacétique. La solution est laissée sous agitation 30 minutes puis l'acide trifluoroacétique est évaporé sous vide jusqu'à l'obtention d'un résidu visqueux que l'on dissout dans 100 ml d'éther éthylique. On ajoute à la solution obtenue une solution aqueuse de 10% d'acétate de sodium jusqu'à pH7 où la S.trityl-cystéine précipite. Le précipité est ensuite filtré, lavé deux fois à l'eau puis plusieurs fois à l'éther chaud et séché sous vide.

### F-5 BOC S.TRITYL-CYSTEINE (BOC GLYCINE)

Les deux BOC aminoacides sont synthétisés par la méthode de SCHNABEL. On ajoute à une suspension de 0,02 mole (7,27 g) de S.trityl-cystéine dans 20 ml d'eau et 20 ml de dioxane, 0,022 mole de tertiobutylazidoformiate. Le pH de la solution est maintenu constant à 10,2 par une solution de soude 4N à l'aide d'un autotitrateur. La réaction dure 24 heures et conduit à une solution limpide.

On extrait l'azide restant deux fois par 50 ml d'éther éthylique. Ensuite, la solution est acidifiée jusqu'à pH2 avec de l'acide chlorhydrique à 1%. Le BOC S-trityl-cystéine est extrait deux fois par l'acétate d'éthyle et deux fois par l'éther éthylique. Les phases organiques sont ensuite lavées successivement par une solution saline, de l'acide chlorhydrique à 1%, de l'eau et séchée sur sulfate de magnésium. La solution est filtrée puis évaporée sous pression réduite. On obtient une huile puis une mousse que l'on arrive à précipiter difficilement dans un mélange éther sec-hexane (1-1).

Pour le BOC-glycine, le pH de travail est 10. L'acidification de la solution aqueuse se fait avec l'acide citrique à pH3. La poudre obtenue après évaporation est dissoute dans un peu de dichlorométhane avant d'être précipitée dans l'hexane.

### F-6 PREPARATION DE L'ESTER ACTIF DU BOC STRITYL-L-CYSTEINE

On dissout dans 20 ml de chloroforme fraîchement distillé et refroidi à  $-10^{\circ}\text{C}$  (glace dans l'acétone), 0,01 mole (4,6 g) de BOC S-Tritylcystéine, 0,011 mole d'hydroxysuccinimide (1,3 g) et 0,011 mole de DCCI. On laisse la solution à  $-10^{\circ}\text{C}$  durant une heure et à température ambiante la nuit et on vérifie l'avancement de la réaction par chromatographie sur couche mince.

La réaction terminée, on filtre sur büchner et lave avec du chloroforme la dicyclohexylurée formée. Le filtrat est lavé successivement par du bicarbonate de sodium à 5%, de l'eau, de l'acide chlorhydrique à 1%, de l'eau, puis séché sur sulfate de magnésium, filtré et évaporé sous pression réduite pour donner un résidu mousseux que l'on utilisera directement pour le couplage.

Avec la glycine, on obtient un solide blanc que l'on recristallise dans l'isopropanol pour obtenir des cristaux blancs que l'on sèche sous vide.

#### F-7 COUPLAGE DE L'ESTER ACTIF DU BOC S-TRITYLCYSTEINE AVEC LA GLYCINE ( ET BOC GLYCINE AVEC LA S.TRITYLCYSTEINE)

On dissout dans 20 ml de diméthoxyéthane  $4 \cdot 10^{-3}$  mole (2,242 g) de BOC S.Tritylcysteine ester actif. A cette solution, on ajoute une solution de  $5 \cdot 10^{-3}$  mole (0,375 g) de glycine et de  $5 \cdot 10^{-3}$  mole de triéthylamine (0,7 ml) dans 10 ml d'eau. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince et dure environ trois heures.

La solution est ensuite acidifiée jusqu'à pH3 par de l'acide citrique puis extraite deux fois par 50 ml d'acétate d'éthyle et deux fois par 50 ml d'éther éthylique. Les phases organiques sont recueillies, lavées successivement par une solution d'acide chlorhydrique à 1% et de l'eau puis séchées sur du sulfate de magnésium. La solution est ensuite filtrée puis évaporée sous pression réduite.

Le résidu est repris par de l'éther éthylique sec auquel on ajoute  $5 \cdot 10^{-3}$  mole (1 ml) de dicyclohexylamine. La solution est mise au froid et le sel de dicyclohexylamine formé est filtré puis lavé plusieurs fois à l'éther éthylique avant d'être séché sous vide.

#### F-8 COUPURE DU GROUPE BOC DU BOC S.TRITYLCYSTEINYLGLYCINE (ET DU BOC GLYCINYL-S.TRITYLCYSTEINE)

$5 \cdot 10^{-3}$  mole (3,5 g) de BOC S.Tritylcystéinyglycine est dissous dans 25 ml d'acide acétique. Après dissolution, on rajoute lentement 2 ml de trifluorure de bore, complexe d'éther et on laisse la solution sous agitation durant une heure. La solution est alors versée dans une solution glacée d'acétate de sodium (18 g dans 100 ml d'eau).

Le gel formé est filtré, lavé deux fois avec de l'eau et quatre fois avec l'éther éthylique. Le précipité est ensuite séché sous pression réduite.

F-9 COUPURE DU TRIPHENYLMETHYL PAR L'ARGENT PUIS LE SULFURE  
D'HYDROGENE DANS S.TRITYLCYSTEINYLGLYCINE (ET GLYCYL S.TRITYL  
CYSTEINE)

On ajoute à une solution chaude saturée de  $3 \cdot 10^{-3}$  mole (1,26 g) de S.Tritylcystéinyglycine dans le méthanol, une solution de  $3 \cdot 10^{-3}$  mole (0,51 g) de nitrate d'argent et de  $3 \cdot 10^{-3}$  mole (0,24 ml) de pyridine dans 10 ml de méthanol. On obtient immédiatement un précipité jaune et laisse la solution une heure. Le précipité est filtré, lavé trois fois par du méthanol puis séché sous vide.

Le sulfure d'argent ainsi obtenu est mis en suspension dans 10 ml de méthanol à travers lequel on fait passer un courant de sulfure d'hydrogène produit par action de l'acide chlorhydrique sur le sulfure de fer. Après 30 minutes, le précipité a pris la couleur noire du sulfure d'argent. On le filtre sur büchner et le lave soigneusement avec du méthanol. Le filtrat est évaporé sous pression réduite, repris dans un peu de méthanol et précipité dans une solution d'éther avec de 0,1% de mercaptoéthanol. Le précipité est filtré puis lavé deux fois par la solution d'éther sec à 0,1% de mercaptoéthanol sans laisser le précipité à sec.

Après le dernier lavage, le précipité de chlorhydrate de cystéinyglycine (ou de glycylocystéine) est immédiatement séché dans un dessiccateur sous vide.

COMPOSE	Rendement	Point de fusion	Rf Couche Mince	Rf Papier
BOC	83%	-	-	-
S.Tri-Cys	98%	182°C	0,38	0,84
BOC Gly	82%	85°C	0,55	-
BOC S.Tri Cys	68%	126°C	0,77	-
BOC Gly ester actif	63%	164°C	0,67	-
BOC S.Tri Cys ester actif	80%	-	0,85	-
BOC Gly S.Tri Cys DCHA	75%	129°C	0,61	-
BOC S.Tri Cys Gly DCHA	70%	114°C	0,66	-
Gly S.Tri Cys	88%	165°C	-	0,80
S.Tri Cys Gly	90%	116°C	-	0,73
Gly S Ag Cys	84%	141°C(2)	-	-
S Ag Cys Gly	87%	145°C(2)	-	-
Gly Cys HCl	67%	-	0,35(1)	-
Cys Gly HCl	77%	-	0,37(1)	-



(2) Pt de décomposition thermique

(1) Avec le mélange méthanol-eau-acide acétique-pyridine avec 0,1% de mercaptoéthanol.

**TABLEAU II : RESULTATS DES SYNTHES EN PHASE HOMOGENE.**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chapitre I

--0000000--

- 1) BODANSKY M., KLAUSNER V.S. et ONDETTI M.A.  
*Peptides Synthesis Wiley Interscience (1976)*
- 2) WUNSCHÉ., DEFFNER N., DEIMER K-H, JAEGER E., STEZEL P.,  
THAMM P. et WENDLBERGER G.  
*Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl) VolXV - Mueller E.  
et Als., eds. Thieme, Stuttgart.*
- 3) GROSS E. et MEIEN HOFFER J.  
*The peptides Vol 1 Academic Press*
- 4) GROSS E. et MEIEN HOFFER J.  
*The Peptides Vol 3 Academic Press*
- 5) BEN ISHAR D. et BERGER A.  
*J. Org. Chem. 17, 1564 (1952)*
- 6) SAKAKIBARA S., SHIMONISHI Y., KISHIDA Y., OKADA M. et  
SUGIHARA H.  
*Bull. Chem. Soc. Japn 40, 2164 (1967)*
- 7) SCHNABEL E.  
*Liebigs Ann. Chem. 702, 188 (1967)*
- 8) STERVART J.M. et WOOLEY D.W.  
*Nature 206, 619 (1965)*
- 9) MERRIFIELD R.B.  
*J.A.C.S. 86, 304 (1964)*
- 10) KAPPELER H. et SCHWYZER R.  
*Helv. Chim. Acta. 43, 1453 (1960)*
- 11) HISKEY R.G., BEACHAM L.M., MATL V.G., SMITH J.N.,  
WILLIAMS, Jr E.B., THOMAS A.M. et WOLTERS E.T.  
*J. Org. Chem. 36, 488 (1971)*
- 12) CURTIS Th. et GOEBEL F  
*J. Prakt. Chem. 37, 150 (1888)*
- 13) BRENNER M. et HUBER W.  
*Helv. Chim. Acta 36, 1109 (1953)*
- 14) ANDERSON G.W. et CALLAHN F.M.  
*J.A.C.S. 82, 3359 (1960)*

- 15) TASCHNER E.  
Ang. Chemie, 71, 743 (1959)  
Ang. Chemie, 646, 119 (1961)
- 16) BRAND E., ERLANGER B.F., SACHS H. et POLATNICK J.  
J.A.C.S. 73, 3510 (1951)
- 17) MILLER H.K. et WAILSCH H.  
J.A.C.S. 74, 1092 (1952)
- 18) ERLANGER B.F. et HALL R.M.  
J.A.C.S. 76, 5781 (1954)
- 19) BOISSONAS R.A.  
Helv. Chim. Acta 34, 874 (1951)
- 20) CURTIS T.  
Ber. Dtsch. Chem. Ges. 35, 3226 (1902)
- 21) ELLIOT D.F. et RUSSEL D.W.  
Biochem. J. 66, 49P (1957)
- 22) ANDERSON G.W., ZIMMERMAN J.E. et CALLAHAN F.M.  
J.A.C.S. 85, 3039 (1963)
- 23) MERRIFIELD R.B.  
J.A.C.S. 85, 2149 (1963)
- 24) BARANG G. et MERRIFIELD R.B.  
The peptides Vol 2 chapitre 1 Academic Press
- 25) STEWART J.M. et YOUNG J.D.  
Solid Phase. Peptide Synthesis - Freeman Wi H. et company
- 26) KEMP D.S. The Peptides I chap. 7, 315 (1979)  
KOVACS J. The peptides III chap. 8, 485 (1979)
- 27) HISKEY G.  
The peptides Vol3 Chap. 3 Academic Press 1981
- 28) HISKEY, V.R. RAO et W.G. RODES  
Prot. Groups. Org. Cham. 1973, 235 Chap. 7 Protection of Thiols
- 29) DU VIGNEAUD  
Chem. Soc. (London) Spec. Publ. N° 2, 49 (1955)
- 30) SIFFERT R.H. et DU VIGNEAUD V.  
J. Biol. Chem. 108 (1)753 (1935)  
C.R. HARRINGTON et T.M. MEAD  
Biochem. J. 29, 1602 (1935)
- 31) PHOTAKI I., TAYLOR PAPADIMITRIOU J., SAKARELLOS C.,  
MAZARAKIS P. et ZERVAS L.  
J. Chem. Soc. (C) 2683 (1970)

- 32) CALLAHAN F.M., ANDERSON G.W., ZIMMERMAN R.P. et J.E.  
J.A.C.S. 85, 201 (1963)
- 33) HISKEY R.G. et ADAMS Jr J.B.  
J. Org. Chem., 30, 1340 (1965)
- 34) ZERVAS L. et PHOTOKI I.  
J.A.C.S. 84, 3887 (1962)
- 36) ZAHN H., KANHO W. et GUTTI B.  
Z. Naturforsch 21b, 763 (1966)
- 37) OLEH G.A., O'BRIEN D.G. et PITTMAN Jr C.V.  
J.A.C.S. 89, 2996 (1967)
- 38) SAKAKIBARA S., SHIMONISHI Y., KISHIDA Y., OKADA M. et  
SUGIHARA H.  
Bull. Chem. Soc. Jpn 40, 2164 (1967)
- 39) DENO N.C., JANZELSKI J.J. et SCHRIESHEIM A.  
J.A.C.S. 77, 3044 (1955)
- 40) STREIT WIESER Jr A.  
Solvolytic Displacement Reactions Mc Graw-Hill 1962
- 41) YAJIMA H., SHINAI N. et KISO Y.  
Chem. Pharm. Bull., 19, 1900 (1971)
- 42) PEARSON R.G.  
J.A.C.S. 85, 3533 (1963)
- 43) SAVILLE B.  
J. Chem. Soc. 4062 (1962)
- 44) FELIX A.M., JIMENEZ M.H. et MEIENHOFFER J.  
Peptides, Proceedings of the Fifth American Peptide Symposium 532,  
Wiley
- 45) ZERVAS L., PHOTOKI I., COSMATOS A. et BOROVAS D.  
J.A.C.S. 87, 4922 (1965)
- 46) HISKEY R.G. et ADAMS Jr J.B.  
J. Org. Chem. 31, 2179 (1966)
- 47) HIROTSU Y., SHIBA T. et KANEBO T.  
Bull. Chem. Soc. Japan 40, 2950 (1967)
- 48) HISKEY R.G., MIZOGUSHI T. et IGETA H.  
J. Org. Chem. 31, 1188 (1966)
- 49) VEBER D.F., MILKOWSKI J.D. , BENKEWALTER R.G. et  
HIRSCHMANN R.  
Tetrahedron Letters 26, 3057 (1968)
- 50) SCHUBERT M.P.  
J. Biol. Chem. 114, 341 (1936)

- 51) KALLEN R.G.  
J.A.C.S. 93, 6227 (1971)
- 52) LIENHARD G.E. et JENKS W.P.  
J.A.C.S. 88, 3982 (1966)
- 53) KALLEN R.G. et JENKS W.P.  
J. Biol. Chem. 241, 5851 (1966)
- 54) CHAKRAVARTY et OLSEN R.K.  
J. Org. Chem. 43, 1270 (1978)
- 55) VEBER D.G., MILKOWSKI J.D., VARGA S.L., DENKEWALTER  
R.G. et HIRSCHMANN R.  
J.A.C.S. 94, 5456 (1972)
- 56) UYEMA N., NAKATA M. et NAKAMURA A.  
Bull. Chem. Soc. Jpn 58, 464 (1985)
- 57) ZERVAS L., PHOTAKI I. et GHELIS  
J.A.C.S. 85, 1337 (1963)
- 58) GUTTMANN St.  
Helv. chim. Acta 49, 83 (1966)
- 59) HISKEY R.G., DAVIS G.W., SAFDY M.E., INUI T., UPHAM R.A. et  
JONES Jr W.C.  
J. Org. Chem. 35, 1118 (1970)
- 60) PHOTAKI I.  
J. Chem. Soc. P 2687 (1970)
- 61) HISKEY R.G. et TUCKER W.P.  
J.A.C.S. 87, 4789 (1962)
- 62) WITTINGHOFFER A.  
Justus Liebig's Ann. Chem. 290 (1974)
- 63) HOLLAND G.F. et COHEN L.A.  
J.A.C.S. 80, 3765 (1958)
- 64) INUKAI N., NAKAMO K. et MURAKAMI M.  
Bull. Chem. Soc. Japan 40, 2913 (1967)

--0000000--

## CHAPITRE II

--0000000--

**THEORIES ET METHODES  
EXPERIMENTALES**

--oooOooo--

Ce chapitre présente les différentes techniques spectrochimiques et électrochimiques que nous avons employées. Nous y montrerons l'intérêt que peut avoir la R.M.N., la potentiométrie, le dichroïsme circulaire et la spectroscopie électronique U.V.-visible dans la détermination des complexes.

Pour ces deux dernières techniques, la présentation des différentes transitions impliquées dans le domaine U.V.-visible est menée dans le cas de la complexation de peptides thiolés avec le Nickel(II) et le Palladium(II) c'est-à-dire les transitions électroniques des chromophores du ligand, d-d du métal et de transfert de charge.

## A - TRANSITIONS ELECTRONIQUES DES PEPTIDES LIBRES

Les chromophores symétriques deviennent optiquement actifs dans un environnement moléculaire asymétrique.

### A-1 Chromophores amide et acide

Les différentes transitions entre les électrons non liants de l'oxygène ou de l'azote et les orbitales  $\sigma$  et  $\pi$  du groupe carbonyle sont présentées ci-dessous.

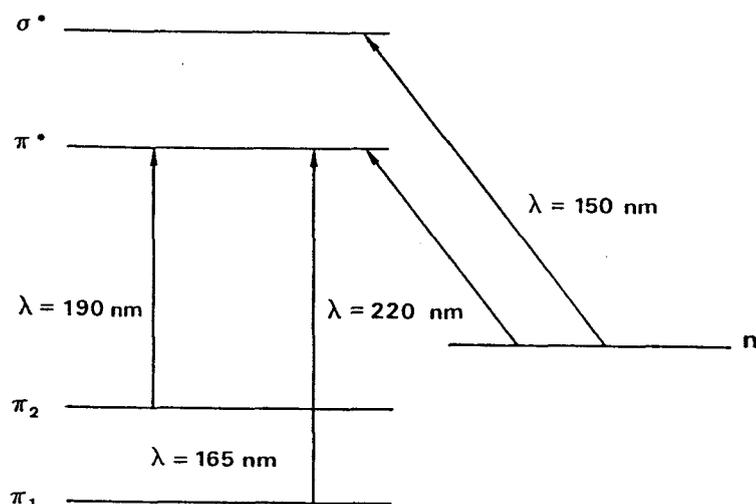


Figure 1

*Transitions du groupe carbonyle*

L'interaction existant entre les orbitales non liantes et celles du groupe carbonyle a pour effet d'augmenter l'énergie de l'orbitale antiliante  $\pi^*$  et de séparer l'orbitale  $\pi$  liante en deux orbitales  $\pi_1$  et  $\pi_2$ . Pour le chromophore amide, on observe une bande  $n \rightarrow \pi^*$  vers 220 nm avec  $\epsilon$  assez faible.

Les bandes  $\pi_1 \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi_2 \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \pi^*$  avec un  $\epsilon$  de  $10^{+3}$  à  $10^{+4}$  se trouvent respectivement vers 165 nm, 190 nm et 150 nm et sont de ce fait difficilement observables.

Dans le chromophore acide, on observe une transition  $n \rightarrow \pi^*$  que

l'on situe vers 207 nm et qui varie en intensité et en position de  $\lambda$  maximum en fonction du pH. Cette transition est souvent masquée par la présence de la bande  $\pi_2 \rightarrow \pi^*$  du chromophore amide. La bande  $\pi_1 \rightarrow \pi^*$  vers 170 nm est difficilement observable.

### A-2 Le chromophore amine

On note essentiellement la transition  $n \rightarrow \sigma^*$  qui se situe vers 200 nm et se confond avec la transition  $\pi_2 \rightarrow \pi^*$  du chromophore amide.

### A-3 Les chromophores soufrés (sulfhydryle et disulfure)<sup>1-3</sup>

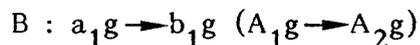
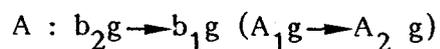
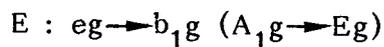
Une bande vers 200 nm est observée pour différentes molécules possédant un groupe sulfhydryle et est attribuée à la transition  $n \rightarrow \sigma$ . Lors de la déprotonation du thiol, cette bande passe à 240 nm<sup>1</sup>. Dans les spectres de disulfure, une bande centrée à 250 nm est observée avec un coefficient d'extinction molaire relativement important en milieu acide. Une autre transition vers 190 nm a été observée sous forme d'un épaulement de la bande  $n \rightarrow \pi^*$  de l'amide.

## B - LES TRANSITIONS d-d

Dans l'ion métallique, les 5 orbitales d sont équivalentes. La présence de charges dues aux ligands lève cette dégénérescence à cause de la perte de symétrie sphérique. La dégénérescence des niveaux d'énergie de l'ion complexé donne une mesure de la symétrie et de son environnement. Le remplacement d'un atome par un autre produit un effet bathochrome ou hypsochrome des bandes d-d.

Les deux métaux étudiés ici, le nickel(II) et le palladium(II) forment des complexes de symétrie  $D_4h$  de type carré-plan. La dégénérescence de ce complexe donne lieu à 4 niveaux d'énergie  $e_g$ ,  $a_{1g}$ ,  $b_{2g}$  et  $b_{1g}$  comme le montre la figure 2. On obtient donc trois

transitions :



Cette dernière transition est interdite et ne sera donc pas observable<sup>4</sup>.

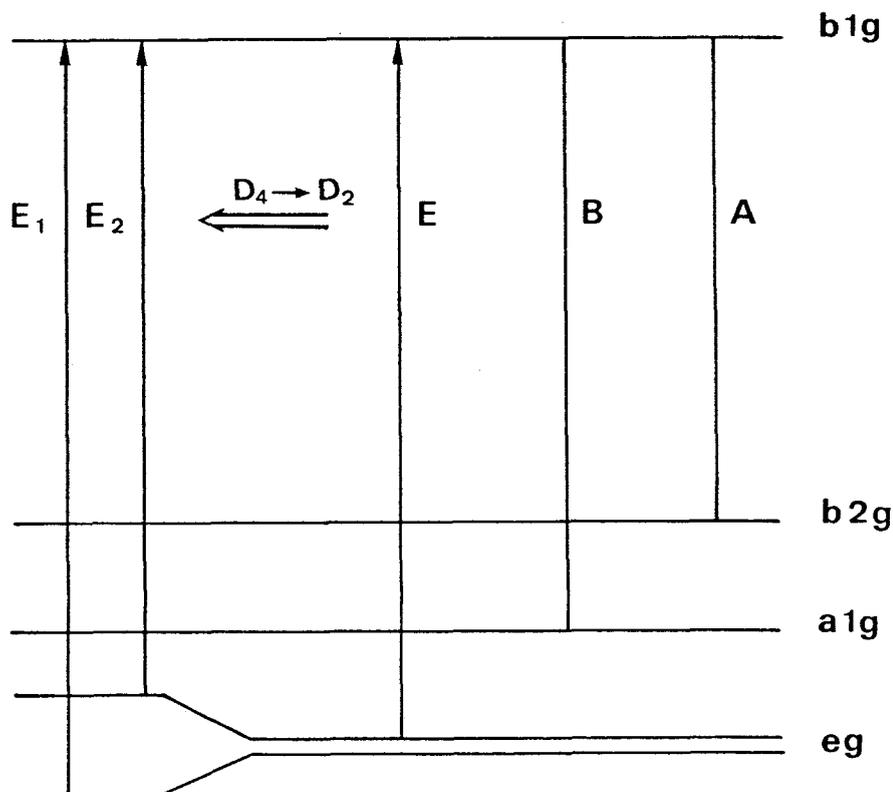


Figure 2

*Transitions d-d des complexes plan-carrés*

Comme on peut le voir sur la figure 2, le passage d'une symétrie  $D_{4h}$  à  $D_2$  entraîne une levée de dégénérescence du niveau  $eg$  donnant deux transitions  $E_1$  et  $E_2$ <sup>8</sup>. La substitution du chlorure par un groupe fonctionnel entraîne une variation hypsochrome qui exprime la somme des contributions individuelles de chaque groupe participant à la complexation<sup>23</sup>. Les paramètres  $\delta x$  qui expriment cette contribution ont été évalués empiriquement par comparaison des spectres d'absorption de complexes du  $Pd(II)$ <sup>9</sup>.

Fonction	$\delta x$ (KK)
H <sub>2</sub> O	6,6
Cl <sup>-</sup>	5,3
S <sup>-</sup>	5,3
NH <sub>2</sub>	8,1
N <sup>-</sup> 1er peptide	7,5
N <sup>-</sup> 2ème "	8,3
COO <sup>-</sup>	9,4

**TABLEAU III : CONTRIBUTION DES FONCTIONS SUR LA VALEUR DU MAXIMUM DE LA BANDE d-d DES COMPLEXES DU PALLADIUM (II).**

Le palladium est le métal qui a la plus grande capacité à déprotoner une fonction amide (pK : 2,4 pour les petits peptides)<sup>10</sup>.

Les maximums des bandes d-d du palladium sont situés entre 300 et 500 nm, ce qui les fait le plus souvent apparaître sous forme d'épaulement des bandes de transfert de charge.

La figure 3 présente les différentes dégénérescences de niveaux de l'ion libre dans les symétries rencontrées avec la complexation du nickel (II) auxquelles il ne manque que la symétrie D<sub>3h</sub> caractéristique de la géométrie bipyramidale trigonale<sup>2-24</sup>. Parmi ces géométries, les plus couramment rencontrées sont l'octaédrique, la pseudo-octaédrique (C<sub>4v</sub>)(bleu-vert) et les complexes plan-carrés (jaune-rouge). Ces derniers donnent les mêmes transitions que le palladium (II) et sont principalement formés avec des ligands de forte liaison covalente ou possédant un fort caractère de liaison  $\pi$ <sup>2</sup>. Dans le cas des complexes octaédriques, les distorsions géométriques ou la présence de donneurs différents détruisant la géométrie n'entraînent que peu de variations dans le spectre U.V. visible<sup>11</sup>.

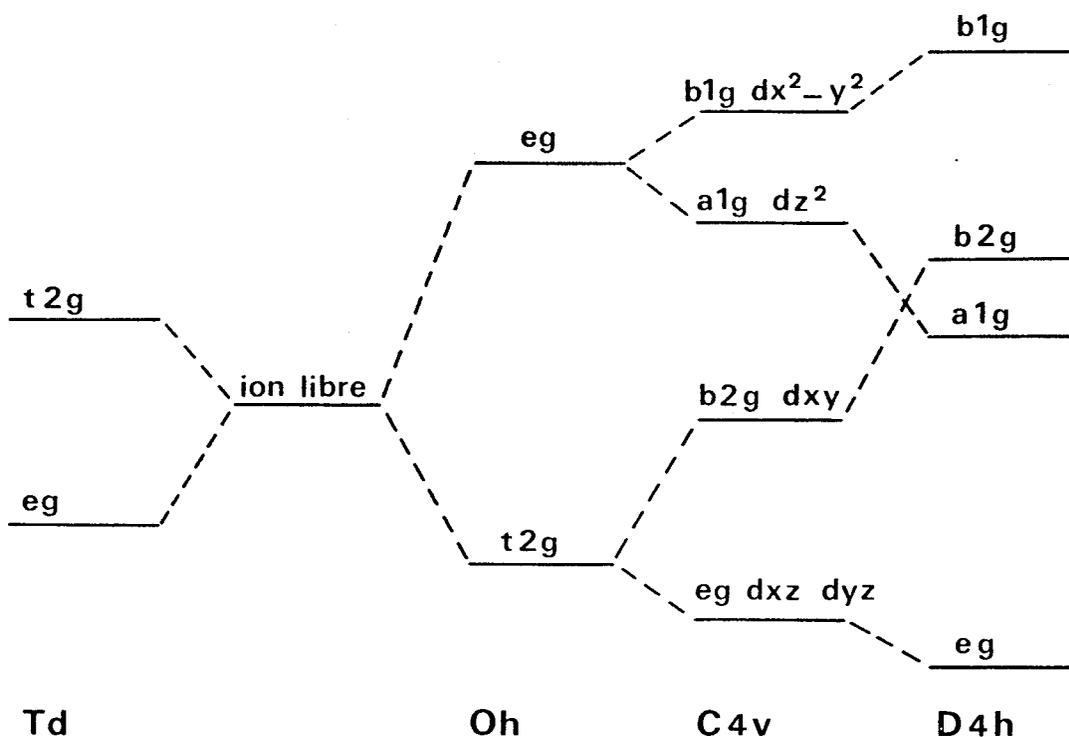


Figure 3

Eclatement des niveaux énergétiques suivant la symétrie dans le cas du nickel (II)

Les transitions observées pour le complexe octaédrique sont celles des états triplets présentés ci-dessous<sup>4</sup> :

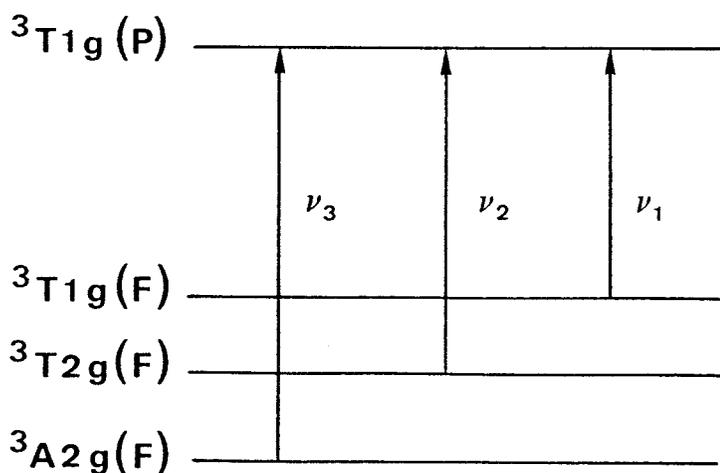
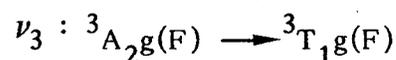
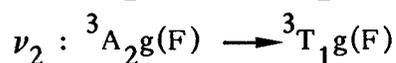
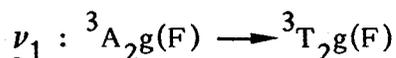


Figure 4

Transitions d-d des complexes octaédriques



La transition  $\nu_2$  est magnétiquement interdite et ne sera pas visible en dichroïsme circulaire.

Dans le cas du complexe avec l'eau, la bande  $\nu_2$  est dédoublée. Avec le soufre, les complexes les plus observés sont carrés plans mais ceux-ci sont proches de la symétrie tétraédrique<sup>21</sup> et peuvent en avoir certaines propriétés<sup>5</sup>. On peut de même noter l'effet néphélauxétique provoqué par la présence du soufre qui rend mal aisé l'interprétation de certains spectres<sup>2</sup>. Les bandes d-d du nickel sont situées entre 350 et 1200 nm ce qui permet de les observer assez facilement et de connaître la structure du complexe dans la plupart des cas.

### C - TRANSITIONS DE TRANSFERT DE CHARGE

Ces transitions très énergétiques sont dues aux transferts électroniques entre les ligands et le métal. Elles sont de deux sortes, d'abord les plus courantes, qui vont du ligand vers le métal à partir des états  $\sigma$  ou  $\pi$  vers les niveaux d libres. Les secondes, qui vont des niveaux d occupés du métal vers l'état  $\pi^*$  du ligand, ne sont généralement pas observées sauf dans quelques cas particuliers comme celui de  $\text{Ni}(\text{CN})_4^{2-}$ <sup>19</sup>. Les bandes ligand  $\longrightarrow$  métal sont comprises entre 400 et 200 nm pour le nickel et 200 à 300 nm pour le palladium. Elles ont des coefficients d'extinction molaire de l'ordre de  $10^3$  à  $10^4$  et ne sont interdites ni par la multiplicité ni au sens de LAPORTE.

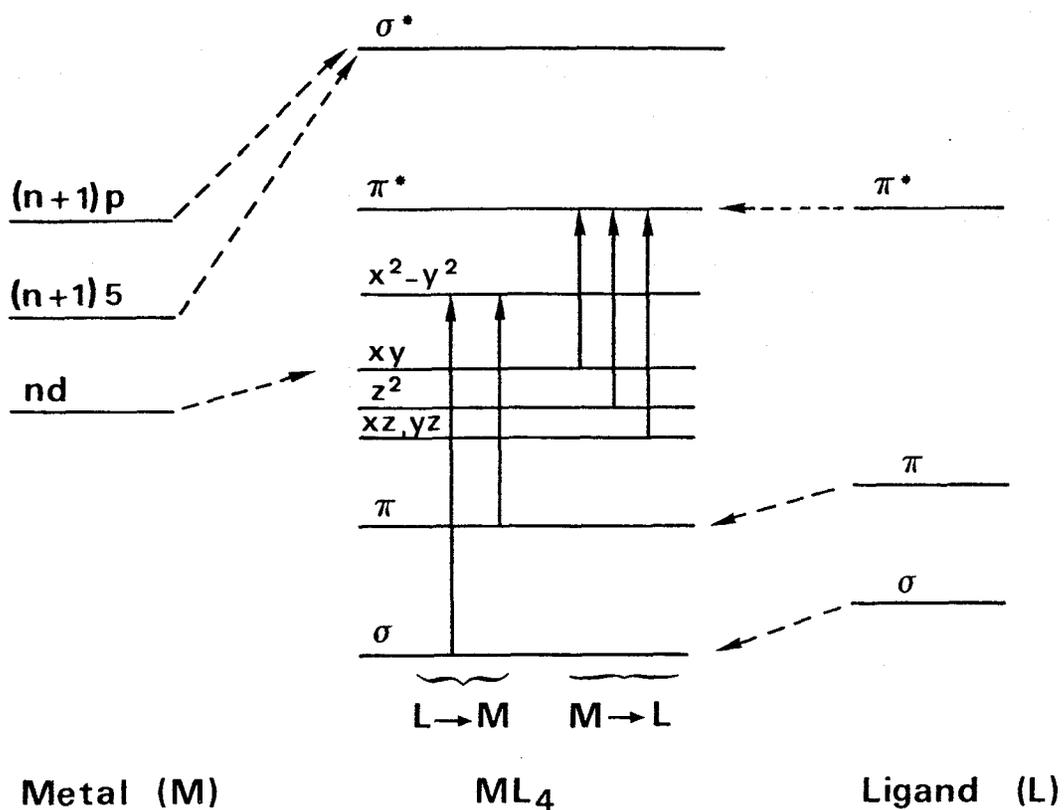


Figure 5

*Transitions de transfert de charge  
entre un ligand et un métal*

D - SPECTROSCOPIE U.V. -VISIBLE

Elle a été effectuée sur un spectrophotomètre Cary 219 en utilisant des cuves en quartz de trajet optique de 0,1 et 1 cm. Chaque série de spectres a été effectuée avec des solutions fraîchement préparées. La concentration du perchlorate de nickel était  $5 \cdot 10^{-3}$  molaire pour toutes les solutions et celle de palladium  $10^{-3}$  molaire pour tous les rapports étudiés.

## E - DICHROISME CIRCULAIRE<sup>6,13</sup>

Une onde électromagnétique linéairement polarisée peut être considérée comme la résultante des deux composantes gauche et droite circulairement polarisées. Lorsque cette onde traverse un milieu contenant des chromophores optiquement actifs, l'indice de réfraction des deux composantes diffère, entraînant une rotation du plan de polarisation d'un angle  $\alpha$ . On observe alors le phénomène de dispersion optique rotatoire. Si l'onde se trouve sur une bande d'absorption optiquement active, le coefficient d'extinction de chacune des composantes sera différent. Alors le rayon émergent sera elliptiquement polarisé (figure 6) et le milieu présente le phénomène de dichroïsme circulaire. La combinaison de l'absorption différentielle et de la différence de vitesse de transmission de la lumière polarisée droite ou gauche dans la région spectrale où se manifeste une bande d'absorption optiquement active est appelée "effet Cotton". Il se manifeste en dichroïsme circulaire par une variation de  $\Delta \epsilon$  positive ou négative.

L'ellipticité  $\psi$  est reliée aux coefficients d'absorption droit ou gauche  $K_G$  et  $K_D$ .

$$\psi = (K_G - K_D) 1/\lambda \quad \text{avec } \psi \text{ en radians.}$$

$\text{tg } \psi = a/b$ , a et b étant respectivement les grand et petit axes de l'ellipse.

Deux grandeurs ont été introduites pour exprimer l'ellipticité d'une solution :

### **L'ellipticité spécifique**

$$[\psi] = \psi / lc$$

avec en degrés, l en dm et c en g/ml.

### **L'ellipticité molaire**

$$[\theta] = [\psi] M/100$$

M étant la masse molaire de la solution.

Le coefficient d'absorption K est relié au coefficient d'extinction molaire par la relation :  $K = 2,303 \lambda c/4$ .

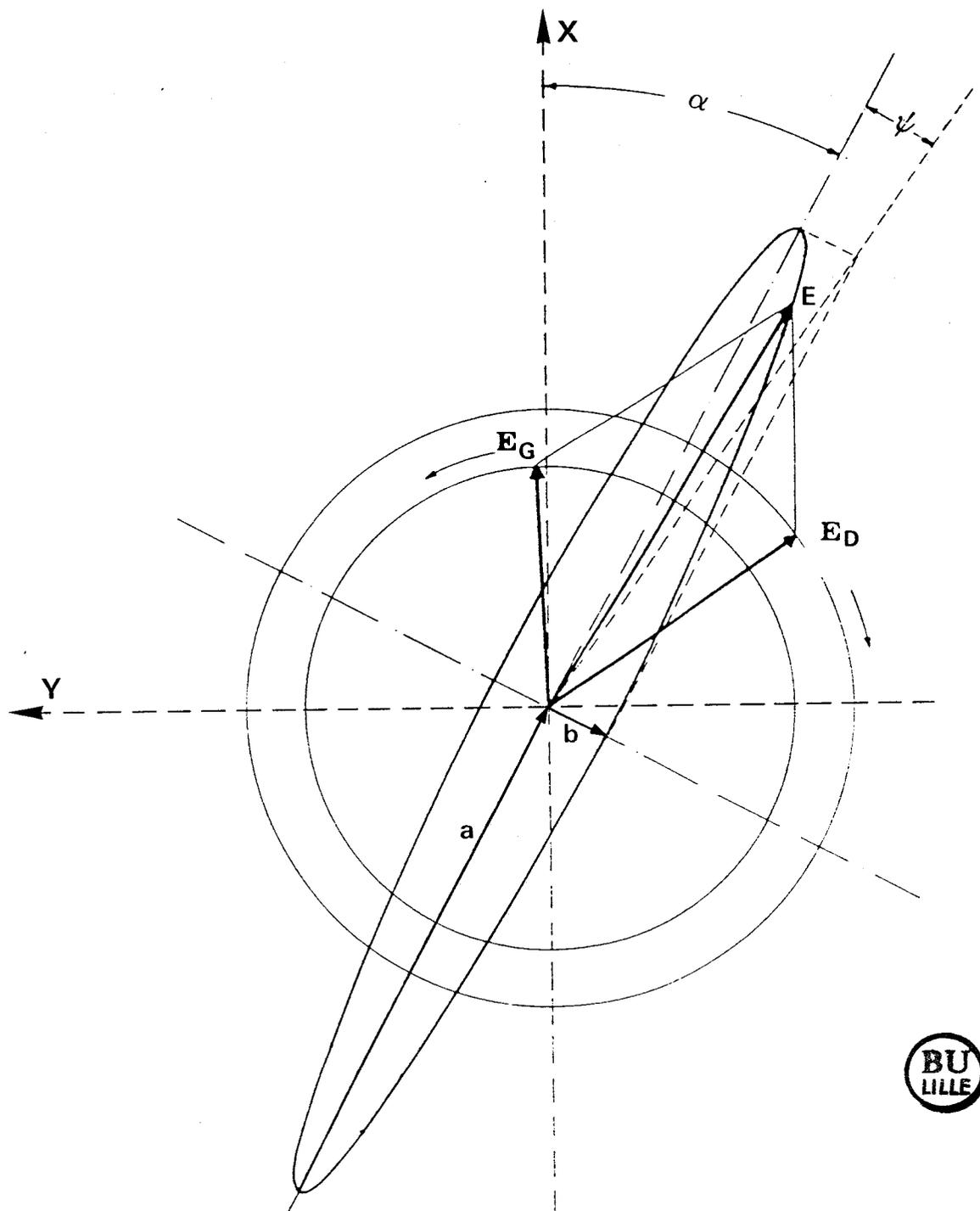


Figure 6

*Schéma du phénomène de dichroïsme circulaire*

Ce qui entraîne que :

$$[\theta] = 3300 \Delta\epsilon \quad (\text{en degrés.cm}^2 \text{ décimole}^{-1})$$

Le dichrographe fournit directement la différence de densité optique :

$$\Delta A = A_G - A_D$$

On obtient donc  $\theta = 3300 M \Delta A/lc$  avec  $c$  en  $g/l$  et  $l$  en  $cm$ .

La force rotationnelle  $R_K$  permet de mesurer les interactions entre un chromophore et son entourage asymétrique. Les phénomènes d'absorption et de dichroïsme circulaire sont produits par des déplacements de charges induits par une onde électromagnétique en créant des dipôles électriques et magnétiques. Elle correspond à l'aire de la bande en dichroïsme circulaire.

L'équation de  $R_K$ , en prenant une transition située entre les états électroniques  $a$  et  $b$  est :

$$R_K = I_m (a | \mu_e | b) (b | \mu_m | a)$$

c'est à dire la partie imaginaire du produit scalaire des moments de transition dipolaire électrique  $\mu_e$  et magnétique  $\mu_m$ .

L'équation devient en prenant  $\gamma$  comme angle entre les moments magnétique ( $\mu$ ) et électrique ( $\rho$ ) (1) :

$$R_K = \rho \mu \cos \gamma$$

La transition sera active en dichroïsme circulaire si  $R_K$  est non nul. Les mesures de dichroïsme circulaire ont été effectuées sur un dichrographe JOBIN et YVON MARK III équipé d'un système d'acquisition des données couplé avec un ordinateur APPLE II. Le traitement des données fournit un spectre représentant la longueur d'onde ( $\lambda$ ) en fonction de la différence d'absorption ( $\Delta \epsilon$ ).

Les mesures ont été effectuées avec des cellules en quartz de trajet optique de 1,0.1 et 0.01  $cm$ .

Les solutions ont été préparées dans les mêmes conditions que pour l'U.V. visible.

## F - LA POTENTIOMETRIE

L'apport de l'informatique dans le traitement des courbes potentiométriques a permis l'affinement des constantes obtenues et une meilleure connaissance des espèces en solution. De ce fait, la potentiométrie constitue un moyen de vérifier la validité des hypothèses faites à partir des méthodes spectroscopiques. La complexation s'accompagne le plus souvent du départ de protons, ce qui permet de suivre son évolution par pHmétrie.

Après traitement des courbes de titration, les constantes de formation des espèces permettent de tracer les courbes de répartition de celles-ci en fonction du pH et ainsi de connaître la zone d'existence des espèces en solutions. Les études potentiométriques ont été réalisées à l'Institut de Chimie Inorganique et Analytique de l'Université LAJOS KOSSUTH à DEBRECEN (Hongrie).

Les mesures ont été effectuées dans une cellule thermostatée à  $298 \pm 0,1$  K sous atmosphère d'argon.

Les rapports ligand/métal des solutions allaient de 1 à 4, l'ion métallique se trouvant à une concentration voisine de  $10^{-3}$  mole/litre. Un pHmètre Radiometer PHM64 équipé d'électrodes de verre (Radiometer G2040B) et de calomel (Radiometer K4040) a été utilisé pour effectuer les mesures. Une autoburette ABU13 ou ABU80 a servi à ajouter la potasse 0,1 molaire. La force ionique de la solution était stabilisée par l'utilisation d'une solution de KCl 0,2 molaire permettant ainsi de travailler avec un coefficient d'activité presque constant.

Le pHmètre a été calibré avec une solution 0,05 molaire d'hydrogénéphthalate de potassium.

Les constantes de protonation et de stabilité des complexes ont été calculées à partir des courbes de titration à l'aide du programme PSEQUAD<sup>22</sup>. Il consiste à affiner l'écart-type entre les points expérimentaux et les points calculés à partir des constantes de stabilité et de protonation des différentes espèces que l'on a introduites dans les données. Il permet en plus d'affiner différents types de grandeurs dépendant soit des constituants chimiques soit des chaînes de mesures. Dans les résultats, on note L le ligand ayant perdu tous ses

protons ionisables à l'état libre. Lorsqu'on forme un complexe  $MpLqHr$ , il est caractérisé par sa constante de formation globale  $\beta_{pqr}$  et sa constante d'équilibre  $K_{pqr}^L$  définie comme suit :

$$\beta_{pqr} = \frac{(MpLqHr)}{(M)^p(H)^r(L)^q}$$

pour l'équilibre  $pM + qL + rH \longrightarrow MpLqHr$

$$K_{pqr}^L = \frac{(MpLqHr)}{(MpLq - 1Hr)(L)}$$

pour l'équilibre  $MpLq - 1Hr + L \longrightarrow MpLqHr$

A partir de ces constantes, on peut tracer des courbes de répartition des espèces qui nous permettent de visualiser les espèces en fonction du pH.

## G - ETUDE PAR RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE<sup>12</sup>

La R.M.N. permet grâce à la mesure du déplacement chimique de connaître la déprotonation en fonction du pH<sup>14,15</sup>. La déprotonation d'une fonction entraîne le blindage des protons en fonction de leur proximité. La mesure du déplacement chimique des protons en fonction du pH permet donc de connaître le ou les centres de déprotonation et de pouvoir évaluer la valeur du pK de ceux-ci. La comparaison des spectres du peptide libre et complexé permet de confirmer et d'approfondir les hypothèses émises à partir des spectres d'absorption et de dichroïsme circulaire. L'unité  $CH-CH_2$  des amino-acides présentant une activité optique est susceptible d'introduire la non équivalence des protons géminés par une dissymétrie moléculaire. Les protons  $\alpha$  et  $\beta$  donnent un spectre de type ABC (figure 7).

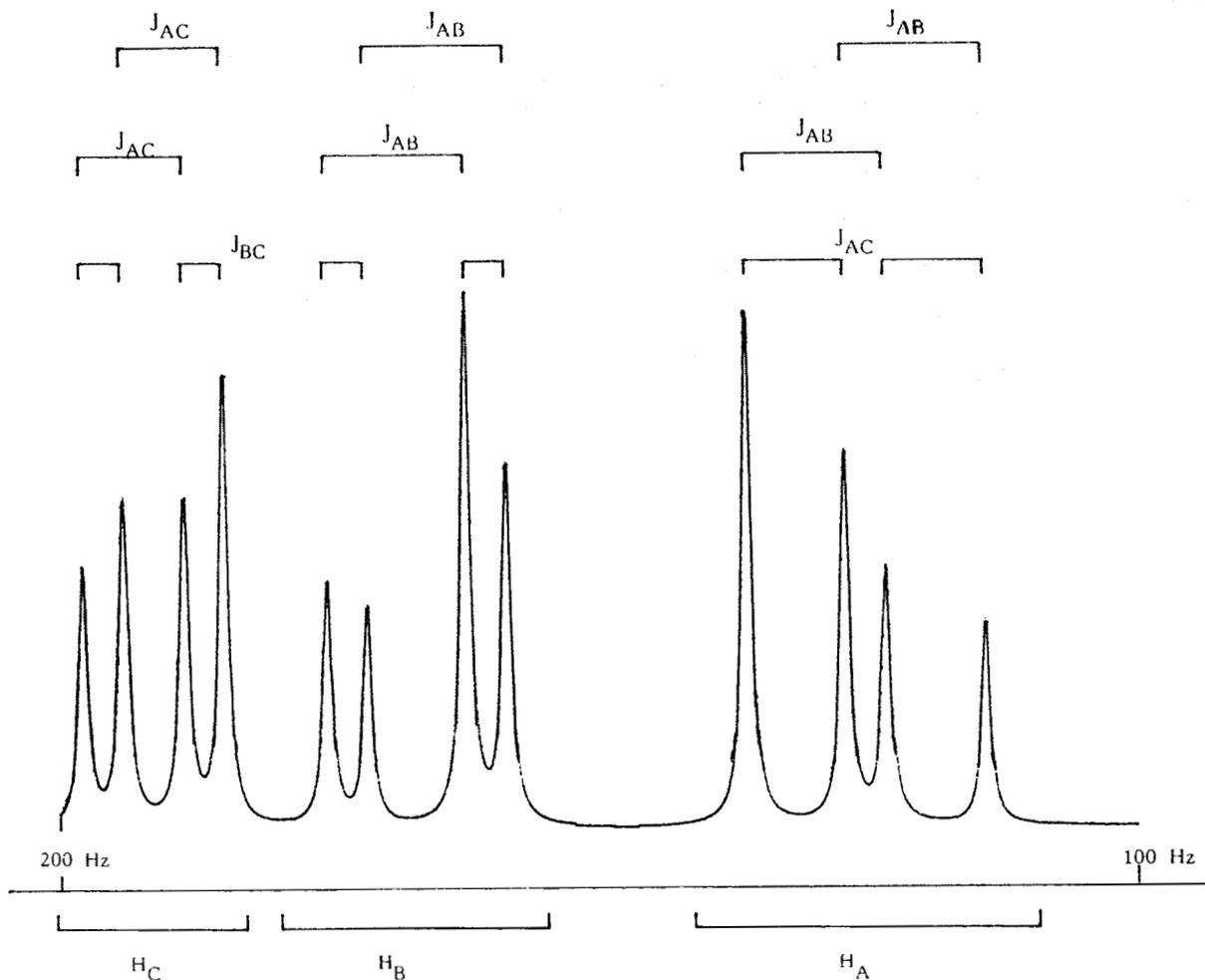


Figure 7

Spectre R.M.N. de type ABC de la cystéine<sup>20</sup>

En solution, un équilibre rapide s'établit entre les trois rotamères représentés ci-dessous :

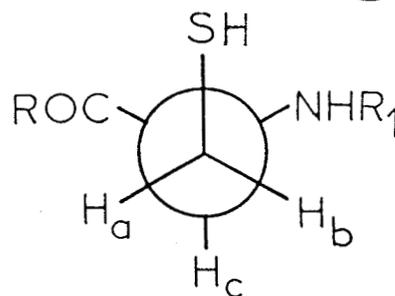
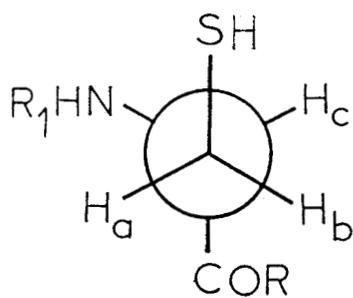
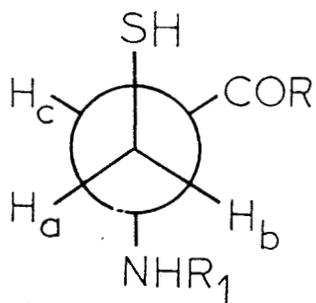


Figure 8

Notation des rotamères de résidus thiols d'acides-amino

On peut déterminer les constantes de couplage et les déplacements chimiques de ces trois protons mais seuls la constante  $J_{AB}$  et le déplacement  $\delta_C$  sont obtenus avec assez de précision. Les autres valeurs étant approximatives, il est nécessaire d'utiliser une méthode de calcul pour les affiner par itération. Dans le cas du mélange des rotamères, les déplacements chimiques et les constantes de couplage représentent la moyenne de ceux-ci pour chaque rotamère<sup>16</sup>. KARPLUS a proposé une méthode d'approximation des constantes de couplage vicinales en fonction des angles de liaison CH de CH-CH<sub>2</sub> pour les trois rotamères<sup>17</sup>. L'évaluation des constantes de couplage gauche et trans permet alors de déduire la population des trois rotamères,  $J_{AC}$  et  $J_{BC}$  pouvant être exprimés en fonction des fractions molaires des trois rotamères et des paramètres  $J_g$  et  $J_t$ .

Equation de PACHLER :

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

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

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

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

On obtient donc les populations en fonction des constantes de couplage :

$$P_I = \frac{J_{BC} - J_g}{J_t - J_g}, \quad P_{II} = \frac{J_{AC} - J_g}{J_t - J_g}, \quad P_{III} = \frac{J_{BC} - J_{AC}}{J_t - J_g}$$

Plusieurs jeux de valeurs ont été utilisés<sup>16,18</sup>, nous utiliserons celui de PACHLER ( $J_g = 2,56$  Hz et  $J_t = 13,6$  Hz).

Les mesures des spectres du proton et du carbone 13 ont été effectuées sur BRUCKER WP80 ou BRUCKER AM 400. Les spectres ABX ont été traités sur HP 9826 avec les programmes LAOCN et ROTAMERE, adaptés au calculateur par T. TATAROWSKI et Z.

SIATECKI. Les solution ont été préparées dans  $D_2O$  avec comme référence le sel de sodium de l'acide 3-triméthylsilyl-1-propane sulfonique et les pH ont été ajustés avec DCl et NaOD.

--oooOooo--

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### Chapitre II

--0000000--

- 1) D.L. COLEMAN et E.R. BLOUT  
J.A.C.S. 90, 2405 (1968)
- 2) L. SACCONI  
Trans. Met. Chem. 4, 199 (1968) Ed. M. DEKKER, N.Y.
- 3) J.J. CASEY et R.B. MARTIN  
J.A.C.S. 94, 6141 (1972)
- 4) R.B. MARTIN  
Met. Ions in Biol. Systems 1, 129 Ed. WILEY
- 5) F.A. COTTON et G. WILKINSON  
Advanced Inorganic Chemistry Ed. WILEY
- 6) P. CRABBE  
Applications de la dispersion optique rotatoire et du dichroïsme circulaire optique en Chimie Organique - Ed. GAUTHIER-VILLARS, Paris.
- 7) W.D. CLOSON et P. HARY  
J.A.C.S. 86, 2384 (1964)
- 8) C.J. HAWKINS  
Absolute Configuration of Metal Complexes 5, 179 (1971) Ed. WILEY
- 9) B. JEZOWSKA-TREBIATOWSKA, G. FORMICKA-KOZŁOWSKA et H. KOZŁOWSKI  
Bull. Acad. Pol. Sci. 26, 561 (1976)
- 10) H. SIEGEL et R.B. MARTIN  
Chem. Rev. 82, 385 (1982)
- 11) O. BOSTRUP et C.K. JORGENSEN  
Acta Chem. Scand. 11, 1223 (1957)
- 12) F.A. BOVEY  
High Resolution N.M.R. of Macromolecules Chap. 13 Acad. Press

- 13) F. CIARDELLI et P. SALVADORI  
*Optical Rotary Dispersion and Circular Dichroism* - Ed. HEYDEN
- 14) T.H. HUCKERBY, A.J. TUDOR et J.G. DAUBER  
*J. Chem. Soc. PERKIN Trans. II* 759 (1985)
- 15) J. FEENEY, P. PARTINGTON et G.G.K. ROBERTS  
*J. Magn. Res.* 13, 268 (1974)
- 16) K.G.R. PACHLER  
*Spectrochimica Acta* 19, 2085 (1963) et 20, 281 (1964)
- 17) N. KARPLUS  
*J.A.C.S.* 85, 2870 (1963)
- 18) J. FEENEY  
*J. Magn. Res.* 21, 473 (1976)
- 19) H.B. GRAY  
*Trans. Met. Chem.* 1, 239 (1965)
- 20) A. ALLAIN  
*Thèse de Doctorat WROCLAW* 1979
- 21) L.L. LOHR Jr.  
*J.A.C.S.* 100, 1093 (1978)
- 22) A. GERGELY et I. NAGYPAL  
*Computational Methods for determination of stability constants* -  
Ed. D. LEGGETT PLENUM PRESS, N.Y. (1985)
- 23) R. TSUCHIDA  
*Bull. Chem. Soc. Japan* 13, 388 et 436 (1938)
- 24) C.J. BALLHAUSEN et A.D. LIEHR  
*J.A.C.S.* 81, 538 (1959)

--0000000--

--=000O000=-

### CHAPITRE III

--=000O000=-

**ETUDE DE LA COMPLEXATION AVEC LE NICKEL(II)  
DE PEPTIDES CONTENANT LA CYSTEINE.**

--0000000--

**INTRODUCTION**

La plupart des peptides donnent avec le nickel (II) des complexes octaédriques<sup>1,2,8</sup>. Cependant avec des résidus comme la cystéine et l'histidine, on obtient dans la plupart des cas des complexes plan-carrés<sup>1,2,5</sup> ou tétraédriques<sup>3,4</sup>. La structure des complexes thiolés n'est pas toujours bien établie<sup>10,25,26,27</sup>. Nous avons donc mené une étude spectroscopique de différents peptides thiolés pour nous permettre de mieux comprendre cette complexation. Pour cela, nous avons utilisé les spectroscopies d'absorption U.V. visible et de dichroïsme circulaire ainsi que la R.M.N. lorsque cela était possible. En parallèle, une étude potentiométrique nous a permis de connaître l'importance des espèces en solution.

## A - LA CYSTEINE

La complexation de ligands soufrés avec le nickel (II) donne lieu à la formation de complexes plan-carrés dans la plupart des cas<sup>2,14,15,16,18</sup>. Ces complexes présentent une bande d-d facilement détectable dans les spectres d'absorption située entre 400 et 600 nm<sup>11</sup> suivant les groupes fonctionnels coordonnés. Il semble acquis que l'on ait une coordination avec deux azotes et deux soufres lorsque l'on observe une bande centrée à 460 nm. C'est le cas de la L-cystéine, de la D-penicillamine et d'autres composés du même type<sup>7,9,10,20,21</sup>. Nous observons cette espèce à haut pH et à fort rapport ligand/métal ( 2). Cependant, en U.V. visible et en dichroïsme circulaire, nous observons une diminution de la bande d'absorption située à 370 nm lorsque le pH ou le rapport ligand/métal augmentent. Cette bande a déjà été observée avec d'autres ligands<sup>7,11</sup>. Elle est due à la formation du complexe  $Ni_3L_4$  où deux complexes  $NiL_2$  mettent leurs quatre soufres en commun pour former un complexe central  $NiS_4$  qui a déjà été décrit pour différents composés contenant une fonction amine et une fonction thiolée<sup>6,7,9,23</sup>.

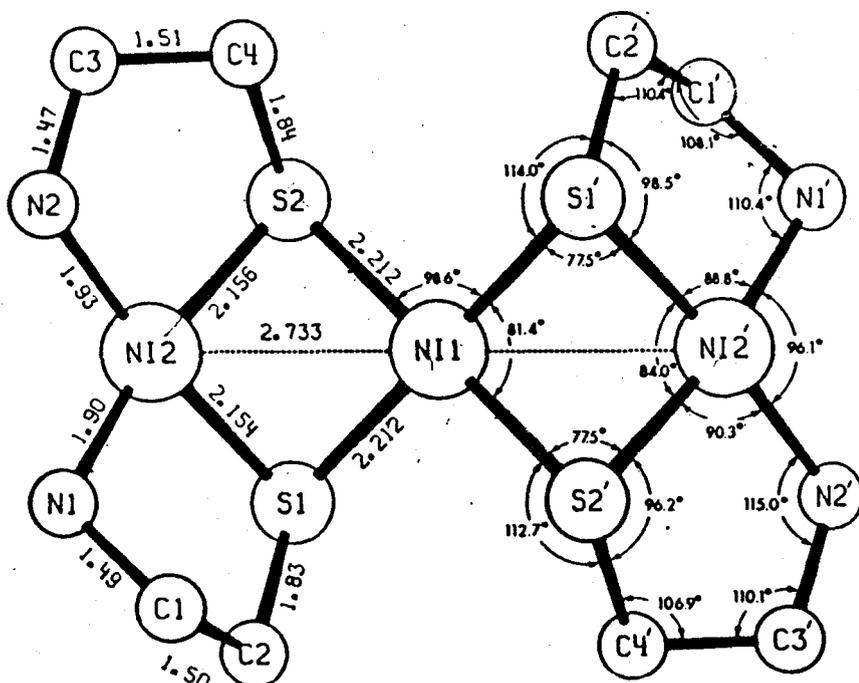


Figure 9

Structure du complexe  $Ni_3L_4$  avec le 2-aminoéthanthiol<sup>6</sup>

Dans les spectres de la cystéine (tableau III), on observe pour l'espèce polynucléaire, une bande d-d à 490 nm, une bande à 370 nm correspondant à la transition S (liaison centrale)  $\rightarrow$  Ni, deux bandes à 310 nm et 270 nm correspondant respectivement aux transitions  $\pi xS \rightarrow$  Ni et  $\sigma S \rightarrow$  Ni dues aux deux ions de nickel périphériques. Le dichroïsme circulaire permet d'observer deux bandes d-d à 523 et 438 nm respectivement attribuées aux transitions A et E et quatre bandes de transfert de charge dues aux deux types de complexation du soufre, la complexation de l'atome de nickel central induisant des transitions électroniques d'énergie plus faible.

Cela se vérifie dans les études cristallographiques effectuées sur le 2-aminoéthanthiol<sup>6</sup> où la distance Ni-S du nickel interne est supérieure à celle du nickel périphérique (2,156 Å). Lorsque l'on augmente le pH ou le rapport ligand/métal, on obtient alors le spectre de l'espèce NiL<sub>2</sub>, ce qui est normal puisque les liaisons nickel central-soufre dans le polymère sont de stabilité inférieure à celle des liaisons nickel-soufre dans NiL<sub>2</sub>. Dans le cas de cette espèce, on observe dans le spectre d'absorption deux bandes d-d à 580 et 467 nm qui sont dues aux bandes A et E du complexe plan-carré. Elles se situent dans les spectres dichroïques à 533 et 449 nm (figure 16). Ces deux bandes sont en bonne concordance avec une coordination de deux azotes et deux soufres. L'étude de la région de transfert de charge confirme que la bande à 370 nm provient de liaison Ni-S du nickel central de l'espèce polynucléaire, puisque celle-ci disparaît alors que les deux autres à 270 et 310 nm sont encore plus importantes. En dichroïsme circulaire, on observe trois bandes centrées à 337, 272 et 250 nm que l'on peut attribuer d'après les travaux de SOLOMON aux trois transitions  $S \pi x \rightarrow$  Ni,  $S \sigma y \rightarrow$  Ni et  $S \sigma z \rightarrow$  Ni que nous exposerons dans le chapitre sur le palladium.

Les études potentiométriques<sup>9,23</sup> ne montrent que l'existence de l'espèce NiL<sub>2</sub>. L'absence de l'espèce Ni<sub>3</sub>L<sub>4</sub> peut s'expliquer car les deux espèces donnant la même déprotonation du ligand, elle ne peut pas être visualisée en pHmétrie. Seule l'utilisation d'électrodes spécifiques du nickel permettrait de connaître l'importance relative des deux espèces. On obtient avec la cystéine un système très stable avec un chélate à cinq chaînons<sup>28\*</sup>

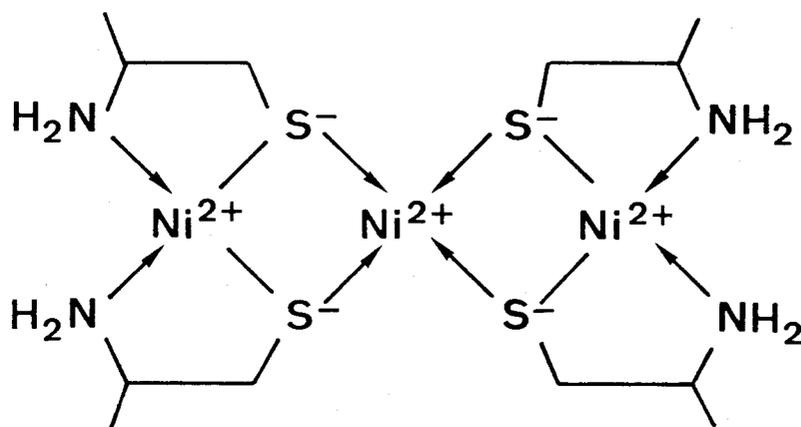


Figure 10

Structure du complexe  $Ni_3Cys_4$

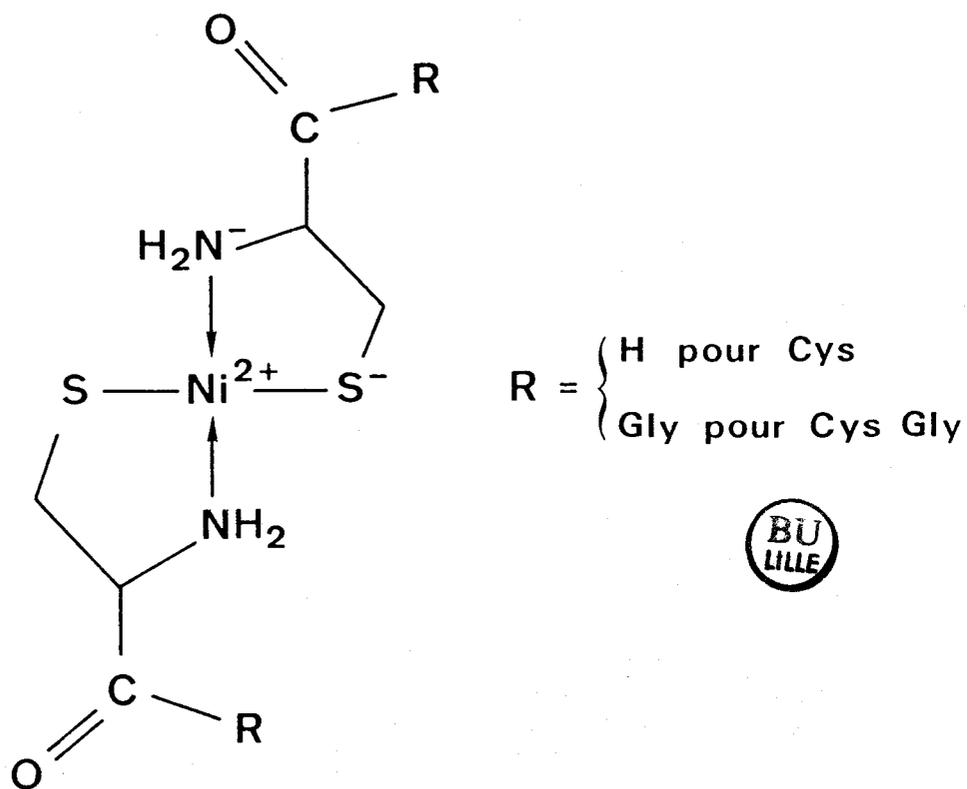


Figure 11

Structure du complexe  $NiL_2$  pour Cys et CysGly

pH	DICHROISME CIRCULAIRE			U.V. VISIBLE		
	$\lambda$	$\Delta\epsilon$	Attribution	$\lambda$	$\epsilon$	Attribution
<b>Rapport 1</b>						
5,6	526	+ 0,08	A			
	453	- 0,09	E d-d	490e	148	d-d
	362	- 0,35	$\pi\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	370	522	$\pi\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$
	322	- 0,60	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	310	1600	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	290	+ 0,59	$\sigma\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	270	3540	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	259	- 1,05	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$			
	216	+ 1,25	C=0			
8,5	523	+ 0,17	A			
	444	- 0,13	E d-d	490e	184	d-d
	362	- 0,42	$\pi\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	370e	620	$\pi\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$
	320	- 0,65	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	310e	1820	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	294	+ 1,37	$\sigma\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	270	4020	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	260	- 1,07	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$			
	218	+ 1,86	C=0			
9,8	532	+ 0,12	A			
	449	- 0,18	E d-d	470	188	d-d
	340	+ 0,26	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	370e	520	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	271	- 2,49	C=0	270	4020	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
<b>Rapport 2</b>						
5,6	519	+ 0,38	A			
	440	- 0,13	E	492	188	d-d
	360	- 0,58	$\pi\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	370e	640	$\pi\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$
	322	- 0,86	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	310e	1050	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	292	+ 2,22	$\sigma\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	270	5520	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	258	- 2,54	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$			
8,0	211	+ 2,92	C=0			
10,0	532	+ 0,20	A	570e	40	A
	447	- 0,28	E	465	108	E
	338	+ 0,36	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	310e	940	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	272	- 4,74	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	270	10800	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	218	+ 4,48	C=0			
<b>Rapport 4 pour C.D. et 10 pour U.V. visible</b>						
6,3	524	+ 0,47	A	570e	38	A
	449	- 0,44	E	467	108	E
	374	- 0,22	$\pi\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	310e	2550	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	338	+ 0,41	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	270	30600	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	318	- 0,29	$\sigma\text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$	220e	34800	C=0
	269	- 8,28	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$			
	212	+ 9,84	C=0			
8,1	534	+ 0,29	A	580e	40	A
	449	- 0,54	E	467	118	E
	337	+ 1,10	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	310e	2520	$\pi\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	272	- 9,88	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$	270	14400	$\sigma\text{S} \rightarrow \text{Ni}$
	214	+12,32	C=0	230e	31200	C=0



**TABLEAU IV** : Valeur des maxima en dichroïsme circulaire et en U.V. visible de la cysteine avec Ni(II)  
e : épaulement

B - L - CYSTEINYLGLYCINE

La complexation de ce ligand est semblable à celle de la cystéine. Les bandes d-d en absorption à 475 puis 464 nm et 600 nm sont caractéristiques de la coordination avec deux amines et deux sulfures. L'espèce  $Ni_3L_4$  est présente en solution mais elle est vite remplacée par l'espèce  $NiL_2$  lorsque le pH devient basique. Cette faible stabilité est sûrement due à l'encombrement du résidu glycine bien que celui-ci ne soit pas coordonné<sup>9</sup>. Dans les bandes de transfert de charge, on observe les mêmes bandes qu'avec la cystéine mais celles provenant de l'espèce polynucléaire disparaissent à un pH plus bas que pour la cystéine confirmant la faible stabilité de l'espèce  $Ni_3L_4$  pour Cys-Gly. Lorsque le rapport ligand/métal dépasse l'unité, l'espèce polynucléaire est peu stable et disparaît très rapidement. Les études potentiométriques montrent l'importance de l'espèce  $NiL_2$  alors que l'espèce  $NiL$  est faiblement représentée (figure 24). La faible importance de celle-ci n'a pas permis d'en connaître les données spectroscopiques.

ESPECES	Log( $\beta$ ) Cys-Gly	Log( $\beta$ ) Cys <sup>9-30</sup>
LH	9,37	10,36
LH <sub>2</sub>	16,31	18,62
LH <sub>3</sub>	19,44	20,90
Ni <sub>3</sub> L <sub>4</sub>		44,51
NiL <sub>2</sub>	17,77	19,61
NiL	7,94	8,7

TABEAU V : Log( $\beta$ ) des espèces en solution de L-Cys-Gly avec le nickel(II)

La potentiométrie n'a pas permis de différencier les deux espèces  $Ni_3L_4$  et  $NiL_2$  puisque celles-ci ne présentent pas de différence dans leur déprotonation. Comme avec la cystéine, on obtient un système chélaté à cinq chaînons qui est le plus stable<sup>29</sup>.

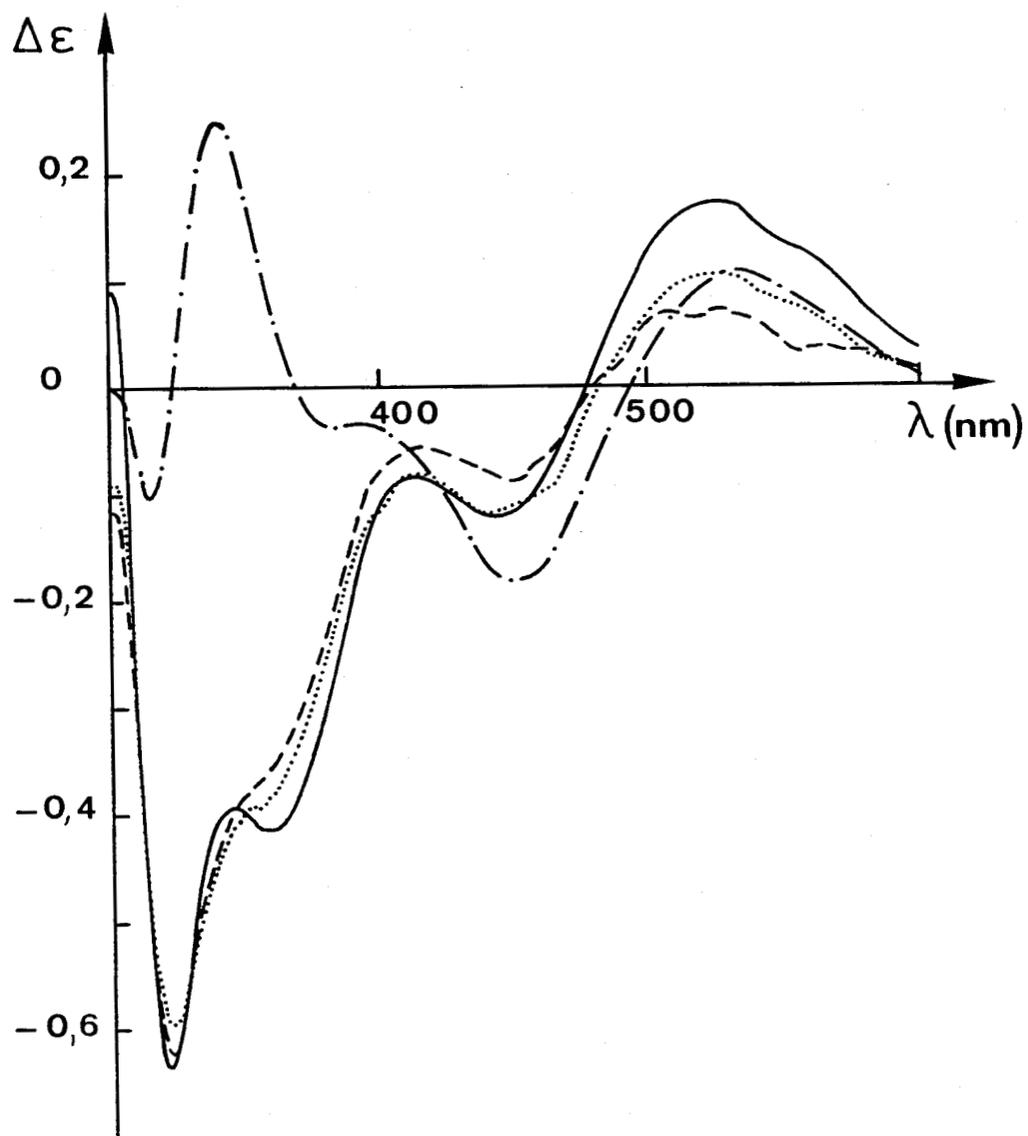


Figure 12

Spectre dichroïque visible de Cys avec Ni(II) rapport 1  
pH 9,8 --- 8,5 — 7,5 ..... 5,6 ---

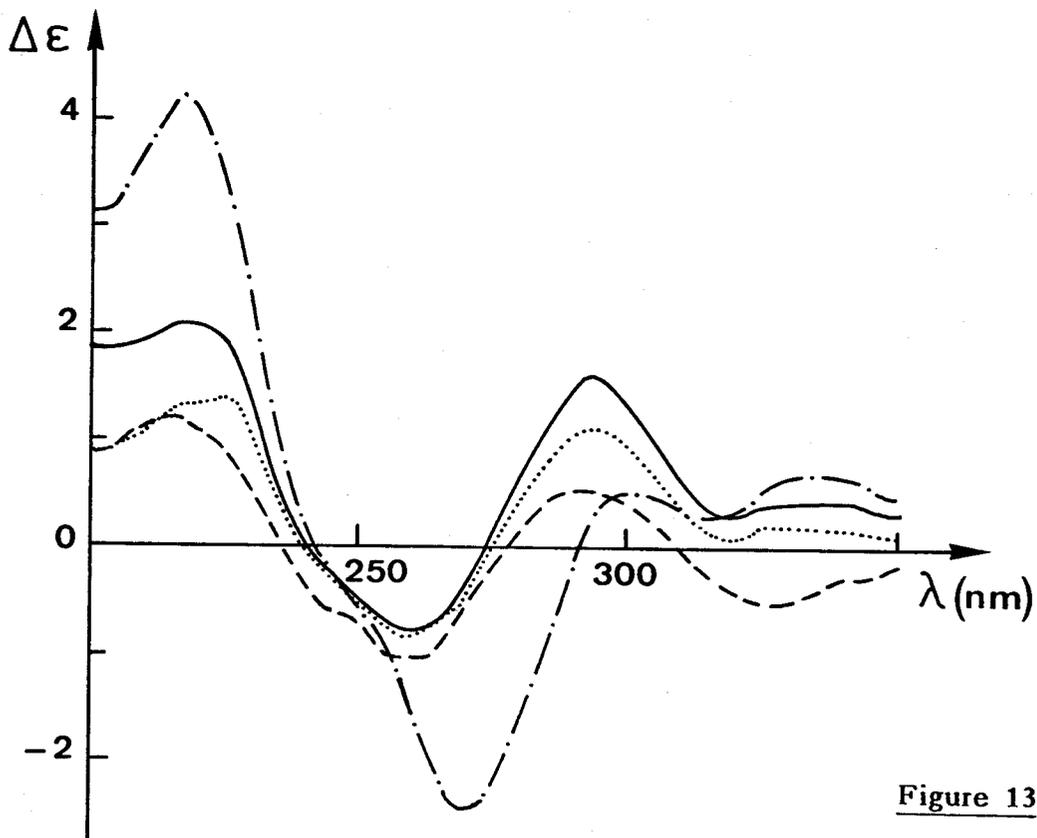


Figure 13

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Ni(II) rapport 1  
pH 9,8 --- 8,5 — 7,5 ..... 5,6 ---

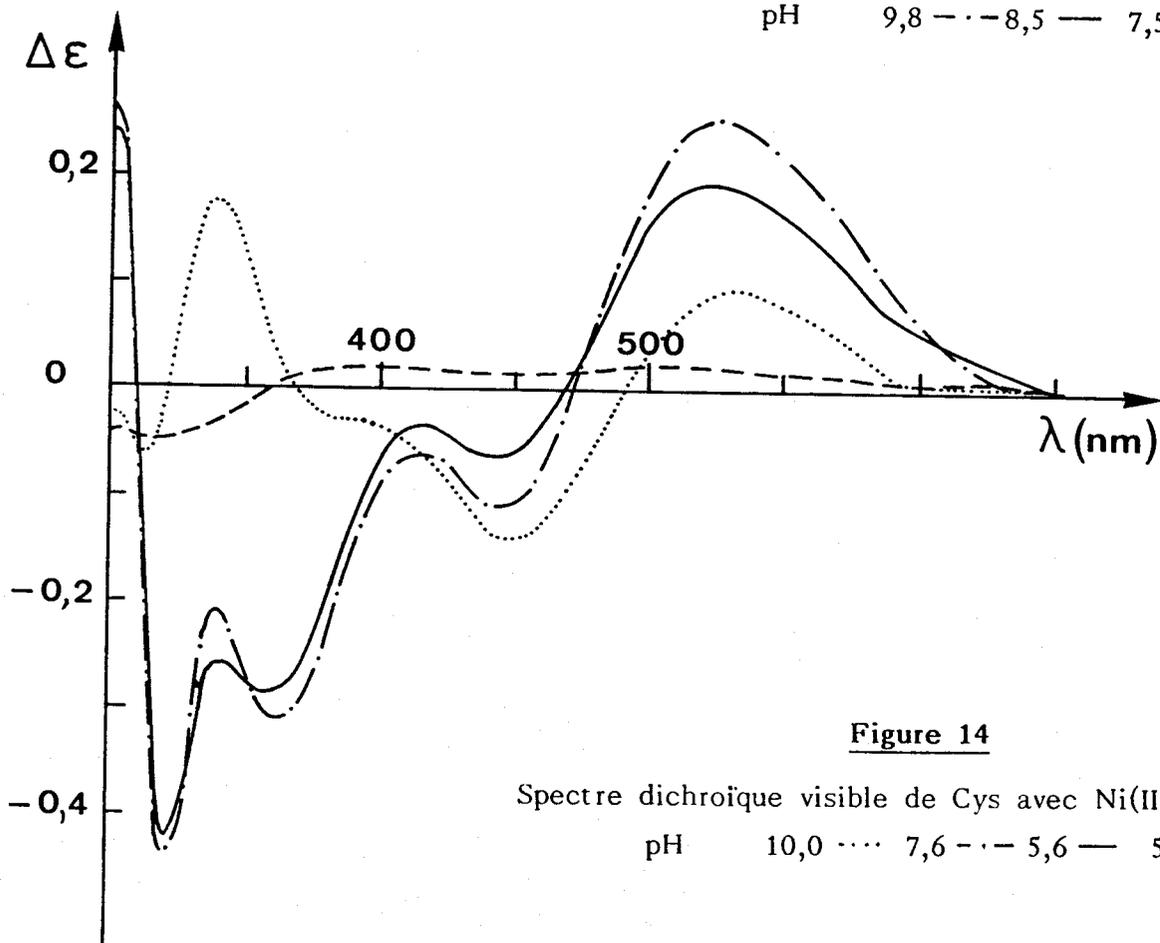


Figure 14

Spectre dichroïque visible de Cys avec Ni(II) rapport 2  
pH 10,0 ..... 7,6 --- 5,6 — 5,1 ---



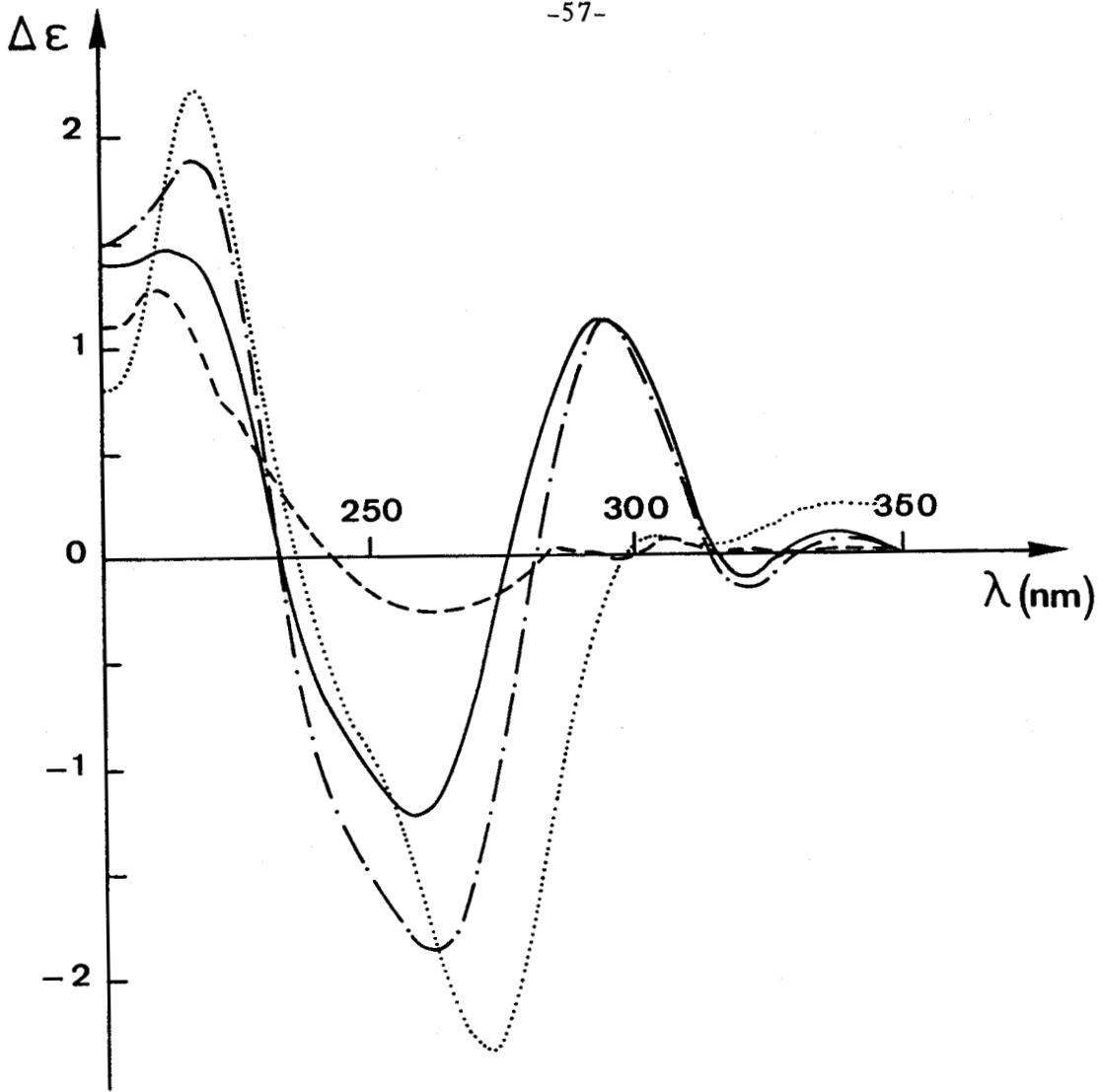


Figure 15

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Ni(II) rapport 2  
pH 10,0 ..... 7,6 --- 5,6 — 5,1 - - -

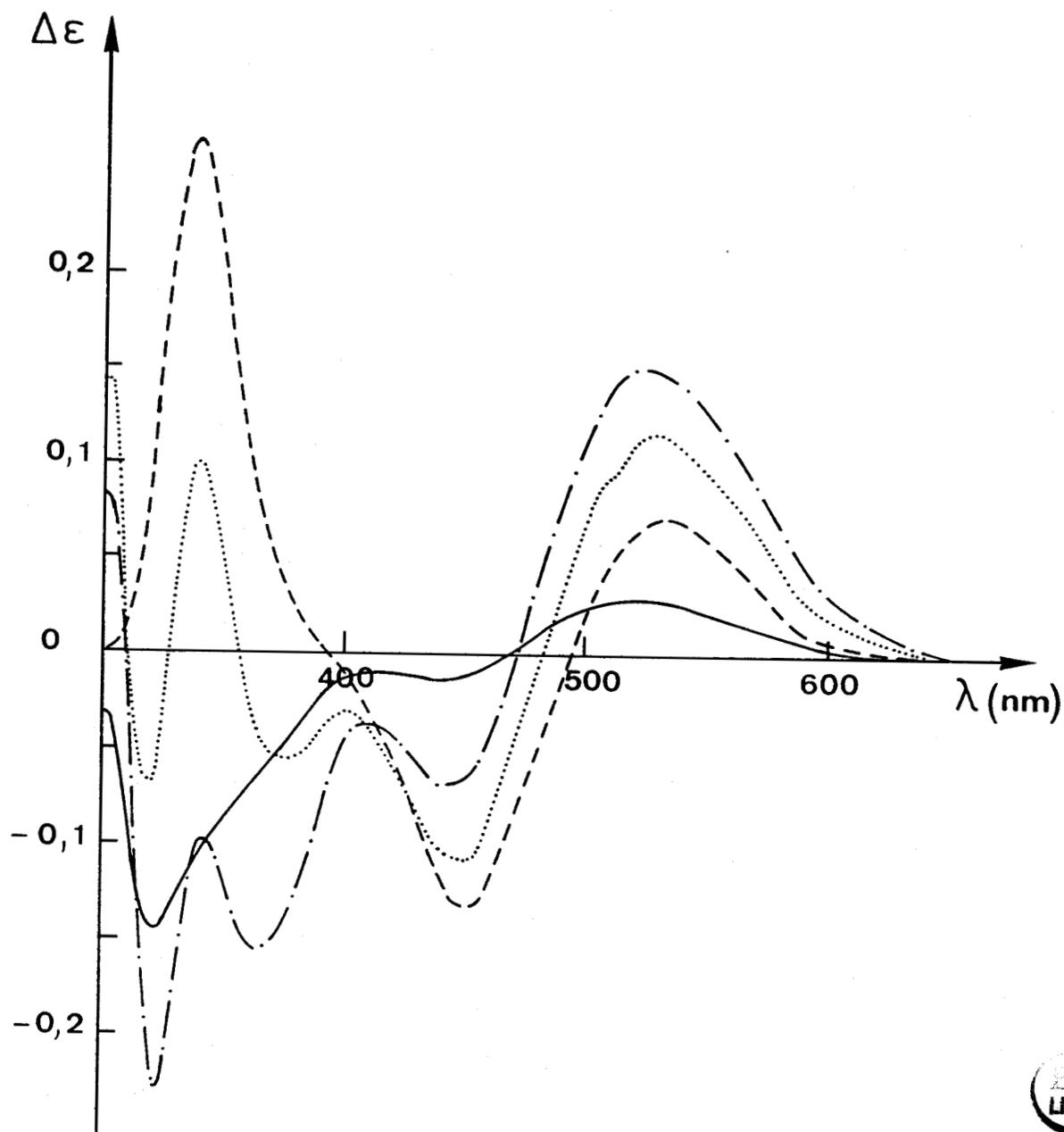
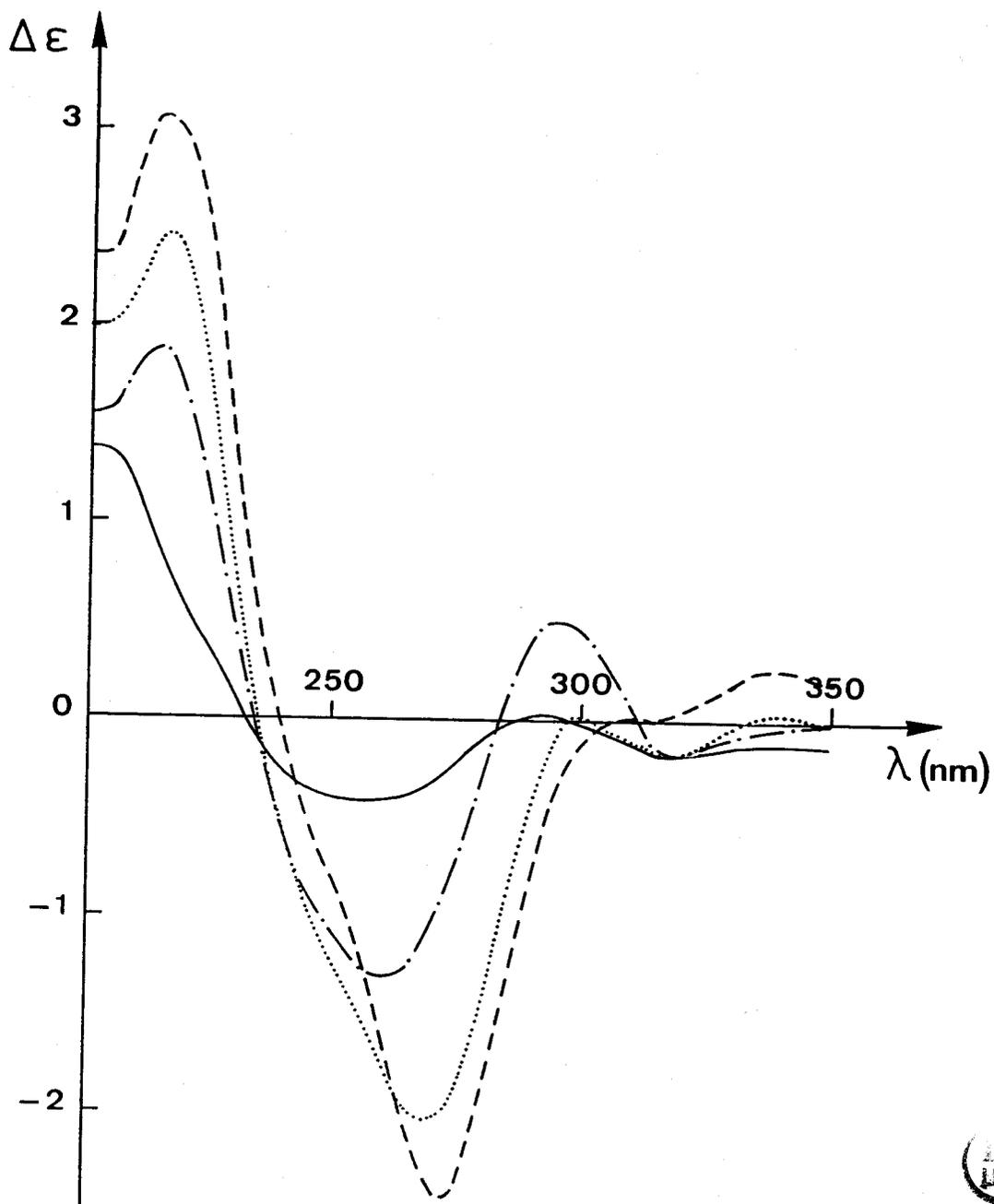


Figure 16

Spectre dichroïque visible de Cys avec Ni(II) rapport 4  
pH 11,2 à 8,1 - - - 6,3 ···· 5,8 - · - 5,1 —



**Figure 17**

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Ni(II) rapport 4  
pH 11,2 à 8,1 --- 6,3 ..... 5,8 --- 5,1 —



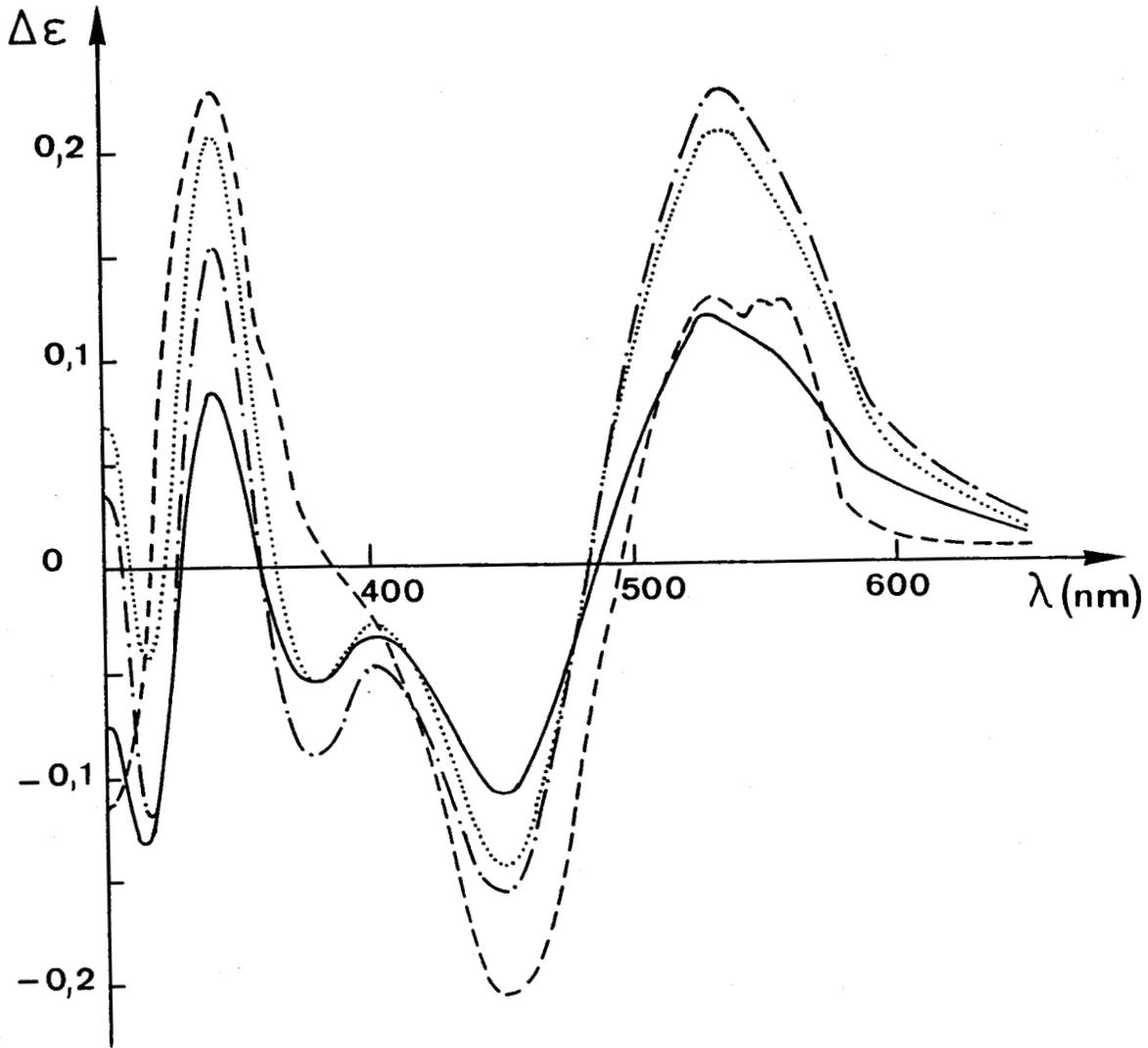


Figure 18

Spectre dichroïque visible de CysGly avec Ni(II) rapport 1

pH 9,3 ---- 8,1 ..... 6,6 ---- 5,1 —

DICHROISME CIRCULAIRE				U.V. VISIBLE		
pH	$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution	$\lambda$	$\epsilon$	Attribution
<b>Rapport 1</b>						
6,3	532	+ 0,23	A			
	449	- 0,16	E d-d			
	378	- 0,09	$\pi \text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$			
	341	+ 0,16	$\pi \text{S} \rightarrow \text{Ni}$			
	316	- 0,12	$\sigma \text{Sb} \rightarrow \text{Ni}$			
	266	- 2,34	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$			
9,3	244	- 0,70	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$			
	529	+ 0,13	A			
	451	- 0,21	E d-d			
	340	+ 0,47	$\pi \text{S} \rightarrow \text{Ni}$			
	278	- 1,77	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$			
244	+ 0,44	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$				
<b>Rapport 2</b>						
6,2	537	+ 0,62	A			
	448	- 0,52	E d-d	475	138	d-d
	340	+ 0,64	$\pi \text{Sx} \rightarrow \text{Ni}$	380e	330	Sb $\rightarrow$ Ni
	270	- 2,58	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$	310e	2300	$\pi \text{Sx} \rightarrow \text{Ni}$
	246	+ 0,40	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$	270	7400	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$
10,0				245e	6600	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$
	538	+ 0,23	A	600e	46	A
	452	- 0,32	E	464	134	E
	339	+ 0,66	$\pi \text{Sx} \rightarrow \text{Ni}$	310e	2300	$\pi \text{Sx} \rightarrow \text{Ni}$
	284	- 1,11	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$	270	7100	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$
246	+ 0,35	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$	245e	6600	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$	
<b>Rapport 4</b>						
5,9	534	+ 0,47	A			
	450	- 0,64	E			
	338	+ 1,66	$\pi \text{Sx} \rightarrow \text{Ni}$			
	278	- 4,68	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$			
10,0	246	+ 0,76	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$			
	531	+ 0,44	A			
	457	- 0,66	E			
	338	+ 1,66	$\pi \text{Sx} \rightarrow \text{Ni}$			
	278	- 3,92	$\sigma \text{Sy} \rightarrow \text{Ni}$			
246	+ 1,72	$\sigma \text{Sz} \rightarrow \text{Ni}$				



**TABEAU VI** : Valeur des maxima en dichroïsme circulaire et en U.V. visible pour L-cystéinyglycine avec Ni(II).  
e : épaulement.

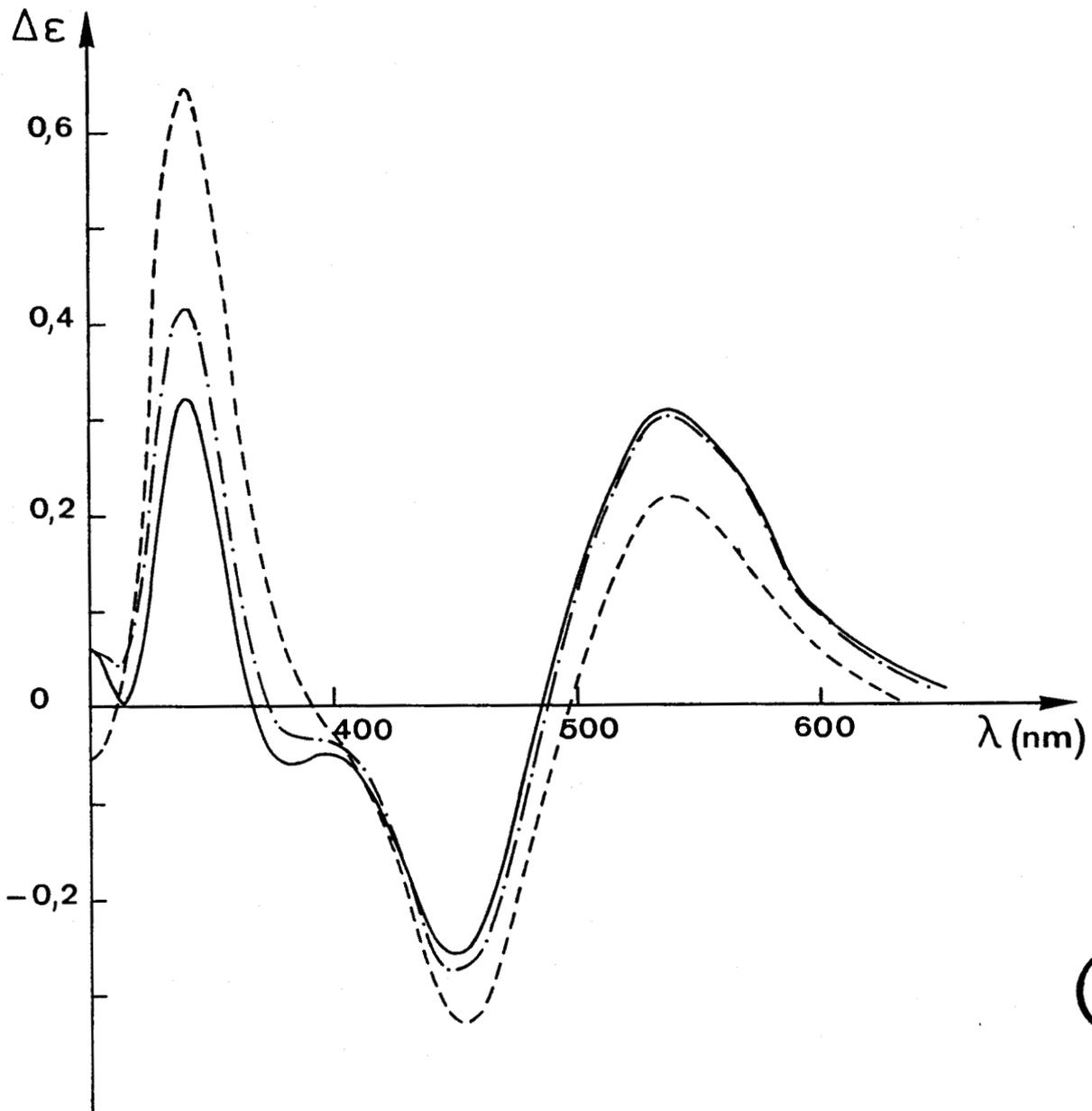
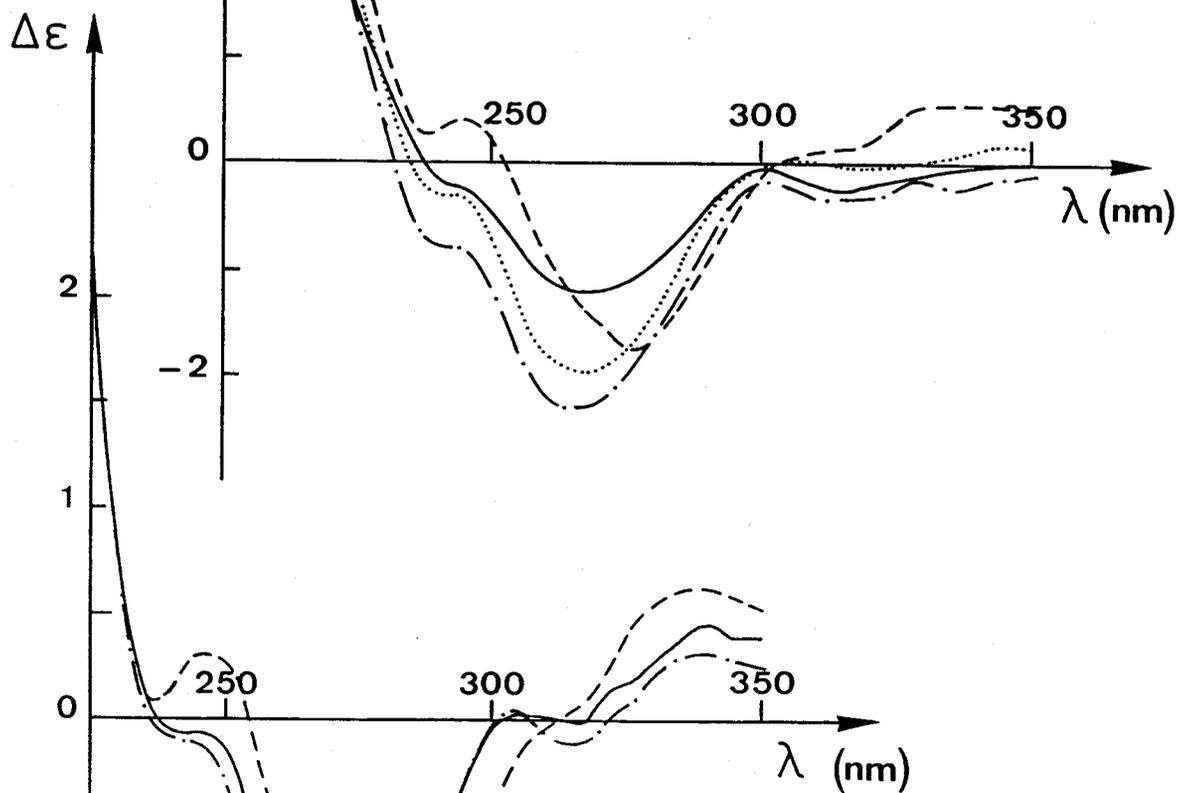
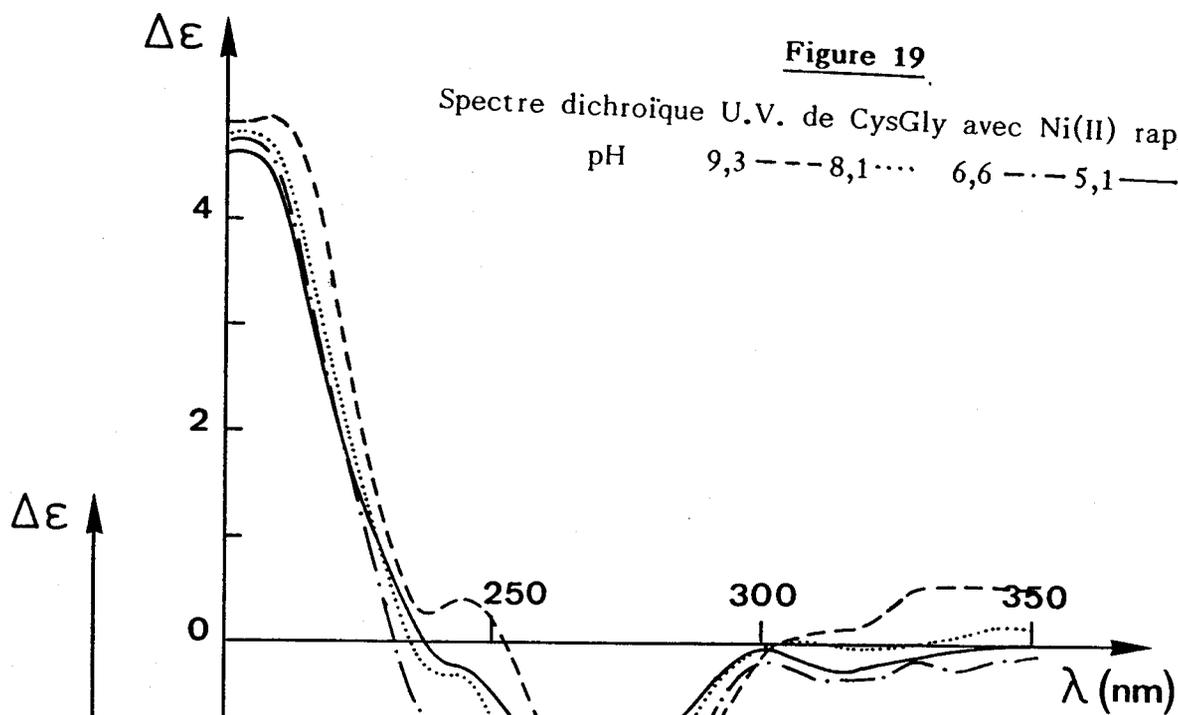


Figure 20

Spectre dichroïque visible de CysGly rapport 2  
pH 10,0 ---- 8,3 -.-.- 6,2 —



**Figure 21**  
Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Ni(II) rapport 2  
pH 10,0 --- 8,3 -.- 6,2 —

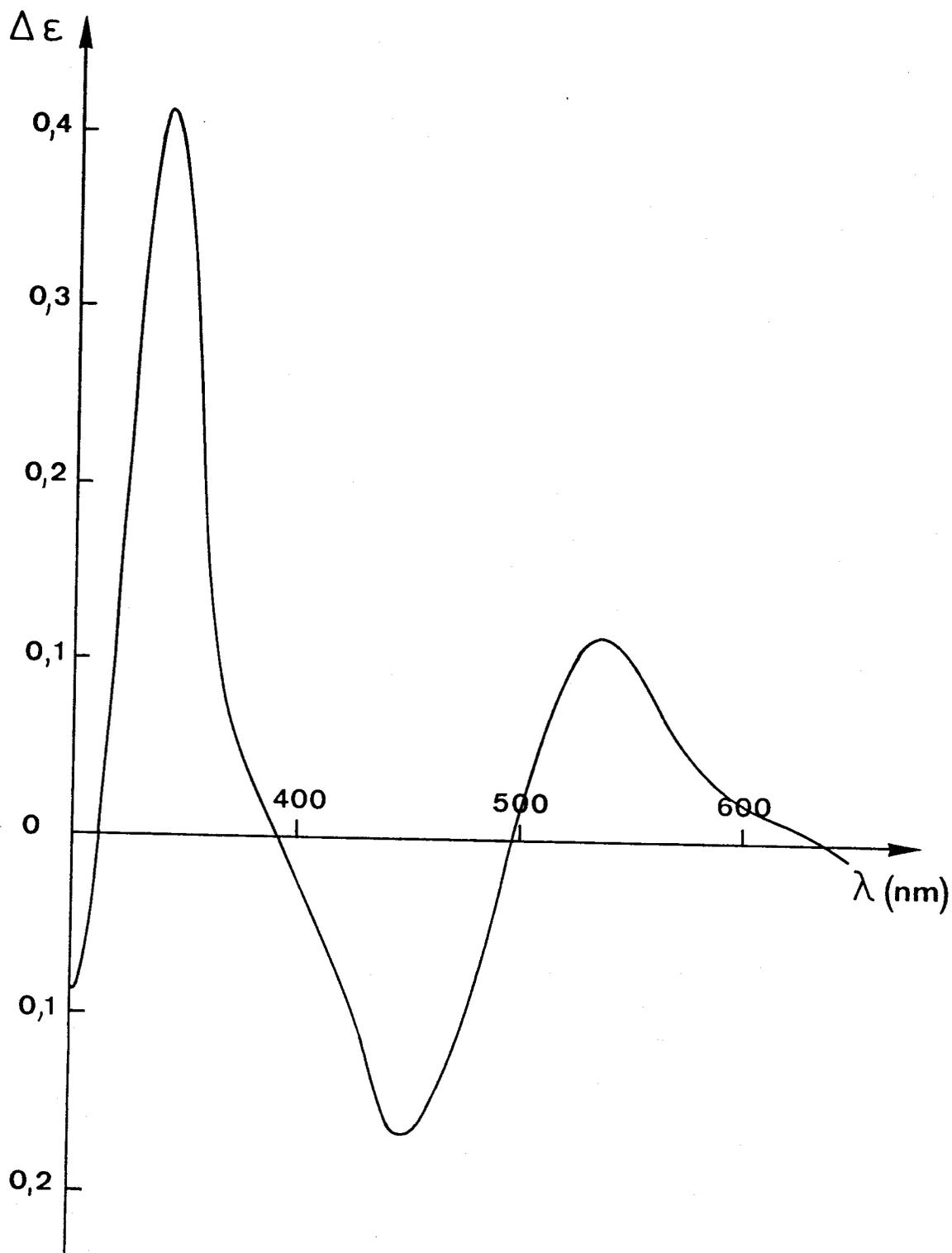
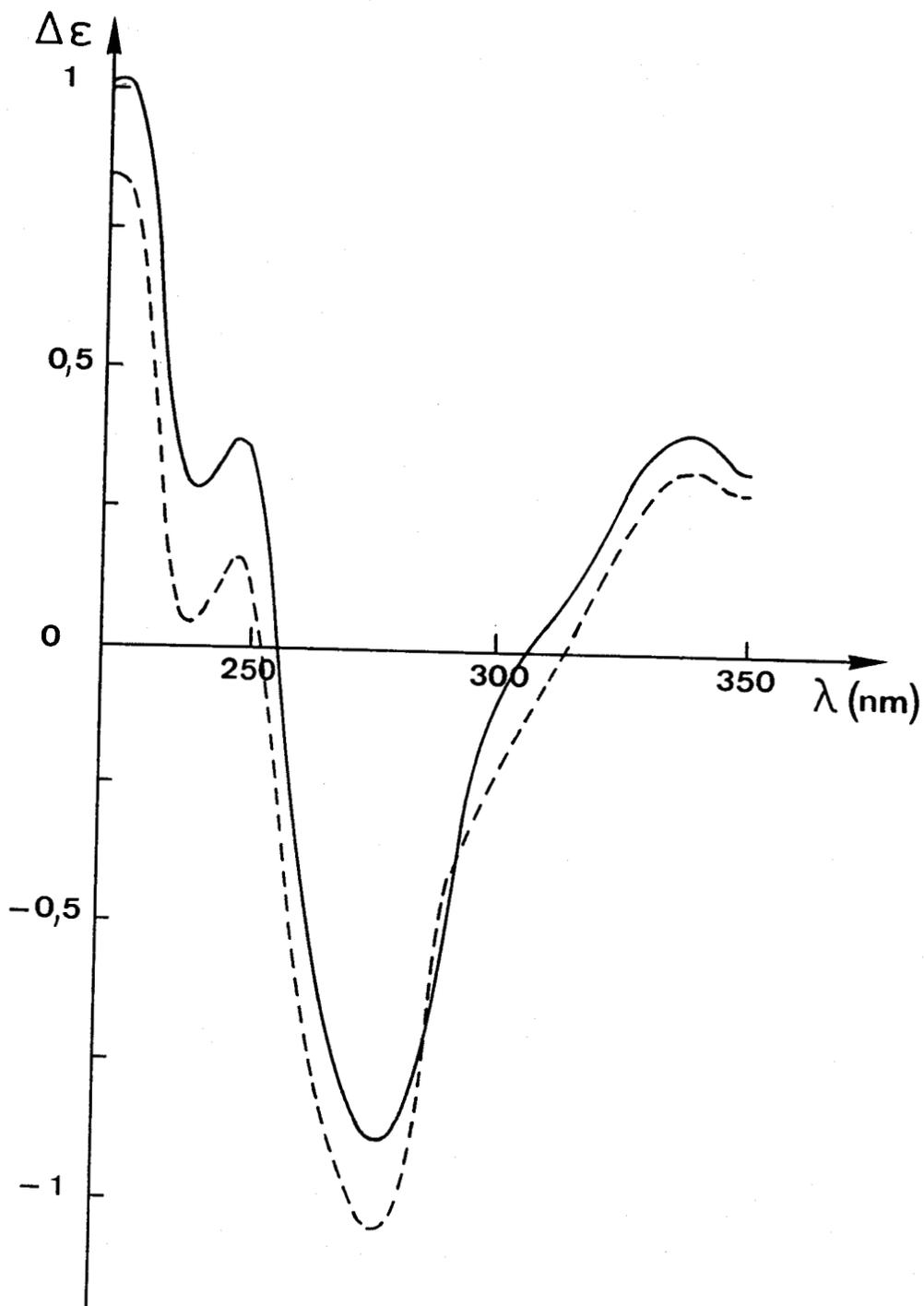


Figure 22

Spectre dichroïque visible de CysGly avec Ni(II) rapport 4  
pH 10,0 à 5,9 —



**Figure 23**

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Ni(II) rapport 4  
pH 10,0 à 8,1 — 5,9 ---

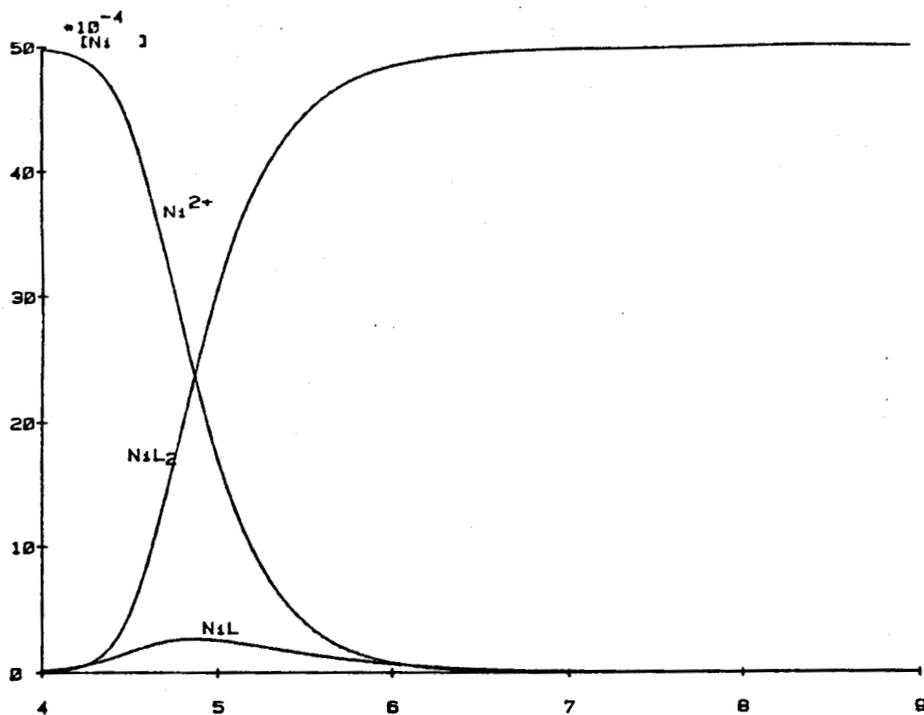


Figure 24

Courbes de répartition des espèces de CysGly avec Ni(II)  
Rapport 2

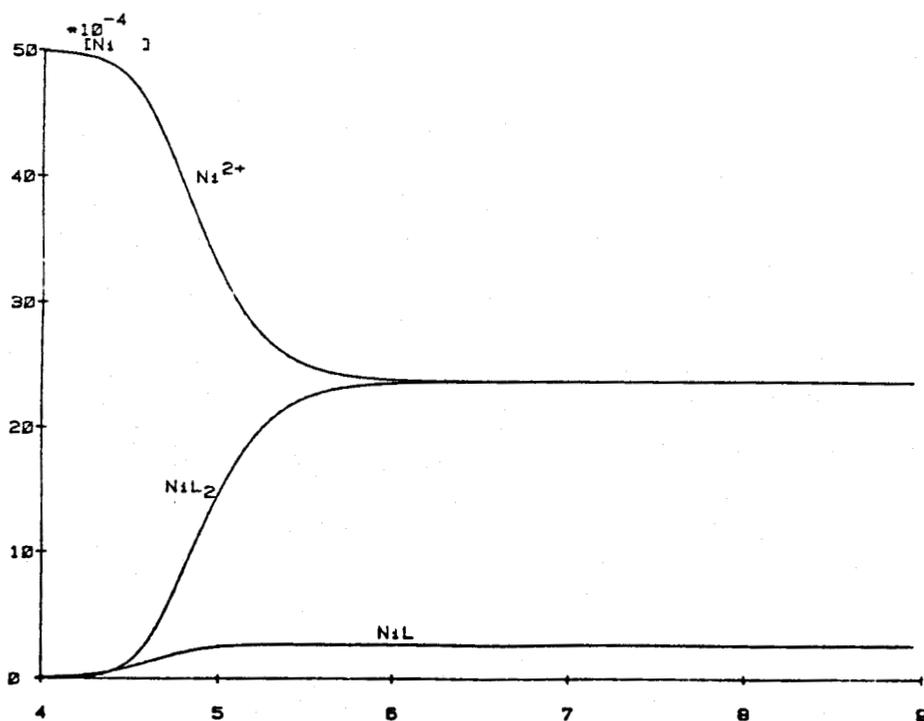


Figure 25

Courbes de répartition des espèces de CysGly avec Ni(II)  
Rapport 1

### C - GLYCYL L - CYSTEINE

Dans le cas de ce peptide, la complexation se fait par l'amine, l'amide et le thiolate. Le dernier point de coordination est occupé par le soufre d'un autre ligand. Dans le cas où le métal et le ligand sont en rapport égal, le seul soufre pouvant intervenir est celui d'un ligand déjà complexé avec un autre nickel et on obtient un pont soufré entre les deux atomes métalliques qui donne l'espèce dimérique  $Ni_2L_2H_{-2}$  présentée ci-dessous.

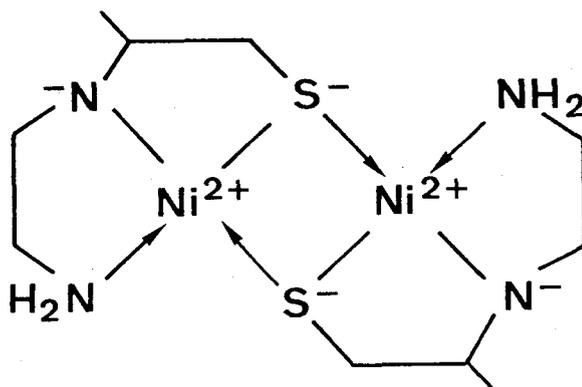


Figure 26

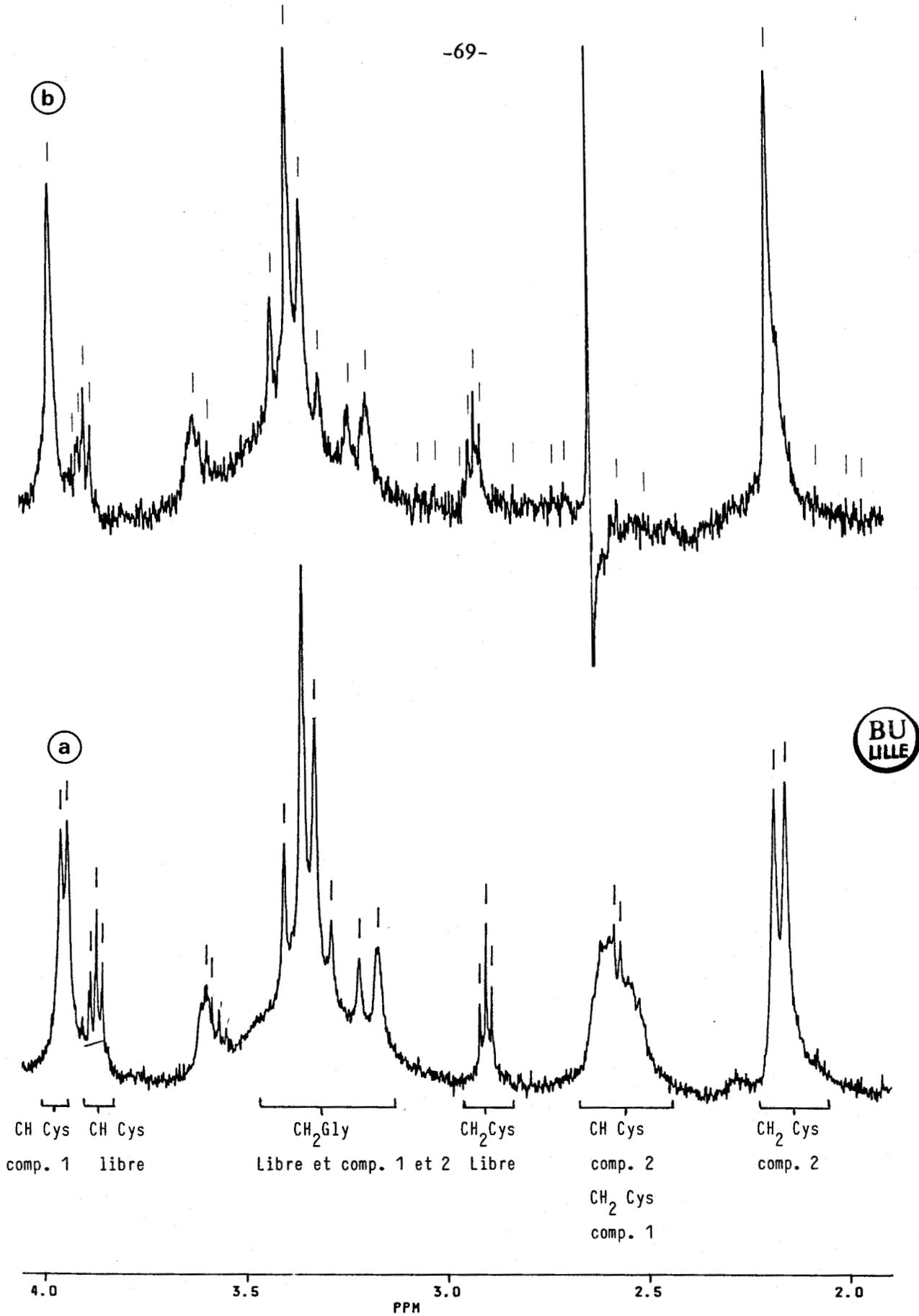
Structure du complexe  $Ni_2L_2H_{-2}$

Lorsque le rapport ligand/métal et le pH augmentent, les espèces  $NiL_2$  puis  $NiL_2H_{-1}$  apparaissent. La liaison dative d'un thiolate libre étant plus stable que la liaison covalente du soufre dans le dimère. Les deux espèces ont le même type d'environnement, la déprotonation de l'amide du second ligand ne changeant rien dans la complexation. La structure des différentes espèces est semblable : c'est à dire que l'on a une coordination avec deux soufres et deux azotes sur le nickel. Cela se traduit par deux bandes d-d dans tout le domaine de pH à 480 et 410 nm correspondant aux transitions A et E en dichroïsme circulaire (figures 28 et 30). L'existence de l'espèce binucléaire est confirmée par la présence d'une bande à 335 nm en U.V. visible qui subit un déplacement bathochrome par rapport aux transitions datives de transfert de

charge. Ce genre de complexes a déjà été signalé dans la littérature pour un ligand possédant trois groupes soufrés complexants<sup>24</sup>. Avec l'augmentation du rapport ligand/métal, cette espèce décroît comme le montre la figure 33. On note que l'espèce binucléaire est assez stable et on observe une décroissance importante lorsqu'on dépasse le rapport deux. Ce changement peu important dans les spectres dichroïques est plus notable dans les spectres d'absorption pour un rapport ligand/métal égal à 4 nous permettant d'obtenir à un pH supérieur à 10 le spectre de l'espèce  $NiAH_{-1}A$ . Dans le spectre d'absorption, on observe mieux la bande à 460 nm avec un épaulement à 540 nm lorsque la bande à 335 nm correspondant à l'espèce binucléaire disparaît. Les spectres dichroïques présentent deux bandes d-d A et E à 483 et 408 nm. La bande à 356 nm serait due au dédoublement de la transition E. Dans le domaine de l'ultra-violet, on a trois transitions de transfert de charge à 310 nm ( $\pi Sx \rightarrow Ni$ ), 280 nm ( $\sigma Sy \rightarrow Ni$ ) et 235 nm ( $\sigma Sz \rightarrow Ni$ ). La bande à 265 nm est une bande de transfert de charge amide  $\rightarrow$ nickel. Pour confirmer ce type de complexes, on a étudié l'influence d'ajouts de cystéine à une solution de glycylocystéine et de nickel en rapport égal. En spectroscopie d'absorption, la bande à 335 nm disparaît totalement lorsque l'on atteint un ajout d'un équivalent de cystéine confirmant la dépendance de cette bande avec l'espèce binucléaire  $Ni_2A_2H_{-2}$ . En dichroïsme circulaire (figure 32), on observe peu de changement dans la partie visible sauf avec un fort ajout de cystéine, celle-ci substituant la cystéinylglycine car le spectre ressemble à celui de la cystéine. Dans la région de transfert de charge, on a une inversion de la bande à 270 nm qui correspond au changement de coordination produit avec l'arrivée de la cystéine. Il semble donc que l'on ait la coordination d'un ligand avec l'amine, l'amide et le thiol avec Ni(II) et du soufre d'un second ligand soit en liaison covalente ( $Ni_2L_2H_{-2}$ ) soit en liaison dative ( $NiL_2$  et  $NiL_2H_{-1}$ ).

Le spectre R.M.N. à pH 12 (figure 27a) en rapport L/M 2 a permis de déterminer l'existence de trois types de système ABC de la cystéine, le système libre dû à l'excès de ligand donnant un quadruplet à 3.88 ppm et un triplet à 2.91 ppm. Les deux autres systèmes n'ont pu être compris que par irradiation sélective à 2.59 ppm comme le montre la figure 27b.

Les deux doublets à 3.96 et 2.18 ppm sont couplés avec le massif centré à 2.6 ppm. Le second doublet représente les protons  $\beta$



**Figure 27**

Spectre R.M.N. de glycylcystéine avec Ni(II) à pH 12 (a) avec découplage à 2,6 ppm (b) (comp. 1 lié par le soufre, comp. 2 lié par le soufre, l'amide et l'amine)

CH<sub>2</sub> du complexe lié à l'amine, l'amide et le thiolate (comp 2) dont le proton αCH est situé dans le massif à 2.6 ppm. Ces trois protons sont fortement déplacés vers les champs faibles. Le proton α CH du complexe 1 lié donne un doublet à 3,9 ppm et les protons β CH<sub>2</sub> donnent probablement un système AB, situé dans le massif à 2,6 ppm, les déplacements chimiques de ces trois protons sont plus proches de ceux du produit libre que ceux du complexe 2 où il y a un chélate. La superposition des deux systèmes ne permet pas de les résoudre. Ce spectre montre que l'on a en présence deux espèces de cystéine coordonnées ce qui est en corrélation avec les résultats obtenus en dichroïsme circulaire, en U.V. visible et en potentiométrie. Les complexes obtenus forment deux chélates à cinq chaînons d'une bonne stabilité<sup>29</sup>. Le deuxième chélate étant moins stable que le premier comme le montre l'expérience avec la cystéine.

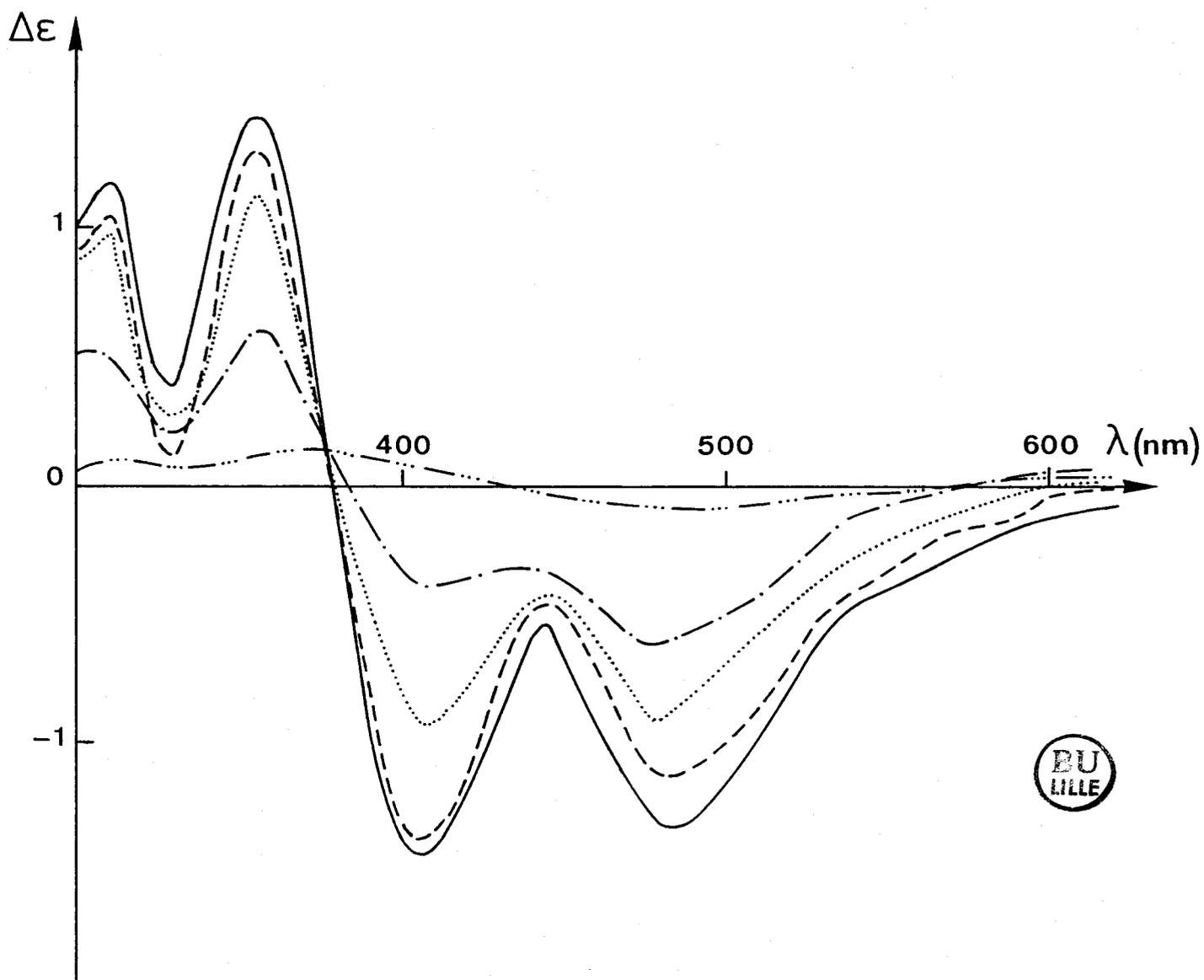
ESPECES	Log(β)
AH	9,48
AH <sub>2</sub>	17,52
AH <sub>3</sub>	20,25
Ni <sub>2</sub> A <sub>2</sub> H <sub>-2</sub>	6,85
NiA <sub>2</sub>	14,91
NiA <sub>2</sub> H <sub>-1</sub>	6,42

TABLEAU VII : Log (β) des espèces en solution de GlyCys(L) et du Ni(II)

pH	DICHROISME CIRCULAIRE			U.V. VISIBLE		
	$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution	$\lambda$	$\epsilon$	Attribution
<b>Rapport 1</b>						
6,0	478	- 0,92	A			
	408	- 0,93	E <sub>1</sub>			
	356	+ 1,16	E <sub>2</sub>			
	308	+ 0,98	S $\pi_x \rightarrow Ni$			
	280	+ 2,00	S $\sigma_y \rightarrow Ni$			
11,0	264	+ 3,19	N <sup>-</sup> $\rightarrow Ni$			
	234	- 1,91	S $\sigma_z \rightarrow Ni$			
<b>Rapport 2</b>						
6,0	481	- 1,76	A	460e	330	d-d
	409	- 1,41	E <sub>1</sub>	335	2320	S $\pi_x \rightarrow Ni$
	356	+ 1,86	E <sub>2</sub>	280e	2000	S $\sigma_y \rightarrow Ni$
	308	+ 1,37	S $\pi_x \rightarrow Ni$	240e		S $\sigma_z \rightarrow Ni$
	280	+ 2,13	S $\sigma_y \rightarrow Ni$			
11,0	268	+ 3,74	N <sup>-</sup> $\rightarrow Ni$			
	234	- 4,34	S $\sigma_z \rightarrow Ni$			
<b>Rapport 4</b>						
7,0	481	- 1,59	A	460e	360	d-d
	406	- 1,87	E <sub>1</sub>	335e	2460	S $\pi_x \rightarrow Ni$
	356	+ 2,10	E <sub>2</sub>	280e	4000	S $\sigma_y \rightarrow Ni$
	310	+ 2,08	S $\pi_x \rightarrow Ni$	234e	14400	S $\sigma_z + N^{\cdot-} \rightarrow Ni$
	280		S $\sigma_y \rightarrow Ni$			
	266	+ 4,08	N <sup>-</sup> $\rightarrow Ni$			
10,0	234	- 3,89	S $\sigma_z \rightarrow Ni$			
	489	- 1,63	A	540e	90	A
	405	- 2,16	E <sub>1</sub>	460	220	E <sub>1</sub> + E <sub>2</sub>
	356	+ 2,46	E <sub>2</sub>			
	308	+ 2,00	S $\pi_x \rightarrow Ni$			
	280		S $\sigma_y \rightarrow Ni$			
	266	+ 5,18	N <sup>-</sup> $\rightarrow Ni$			
234	- 4,32	S $\sigma_z \rightarrow Ni$				



**TABEAU VIII** : Valeurs des maxima en dichroïsme circulaire et en U.V. visible pour GlyCyl-L-cystéine avec Ni(II).  
e : épaulement.



**Figure 28**

Spectre dichroïque visible de GlyCys avec Ni(II) rapport 1  
pH 10,5 --- 8,0 — 6,3 ..... 6,0 - - - 5,6 - · - -

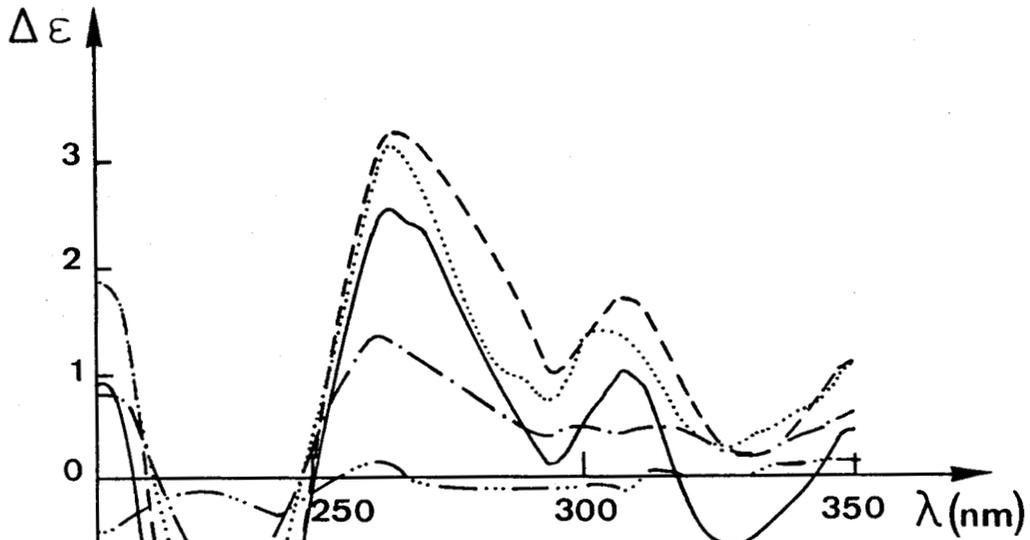


Figure 29

Spectre U.V. visible de GlyCys avec Ni(II) rapport  
pH 10,5 — 8,6 --- 6,3 ..... 6,0 - - - 5,6 - - - -

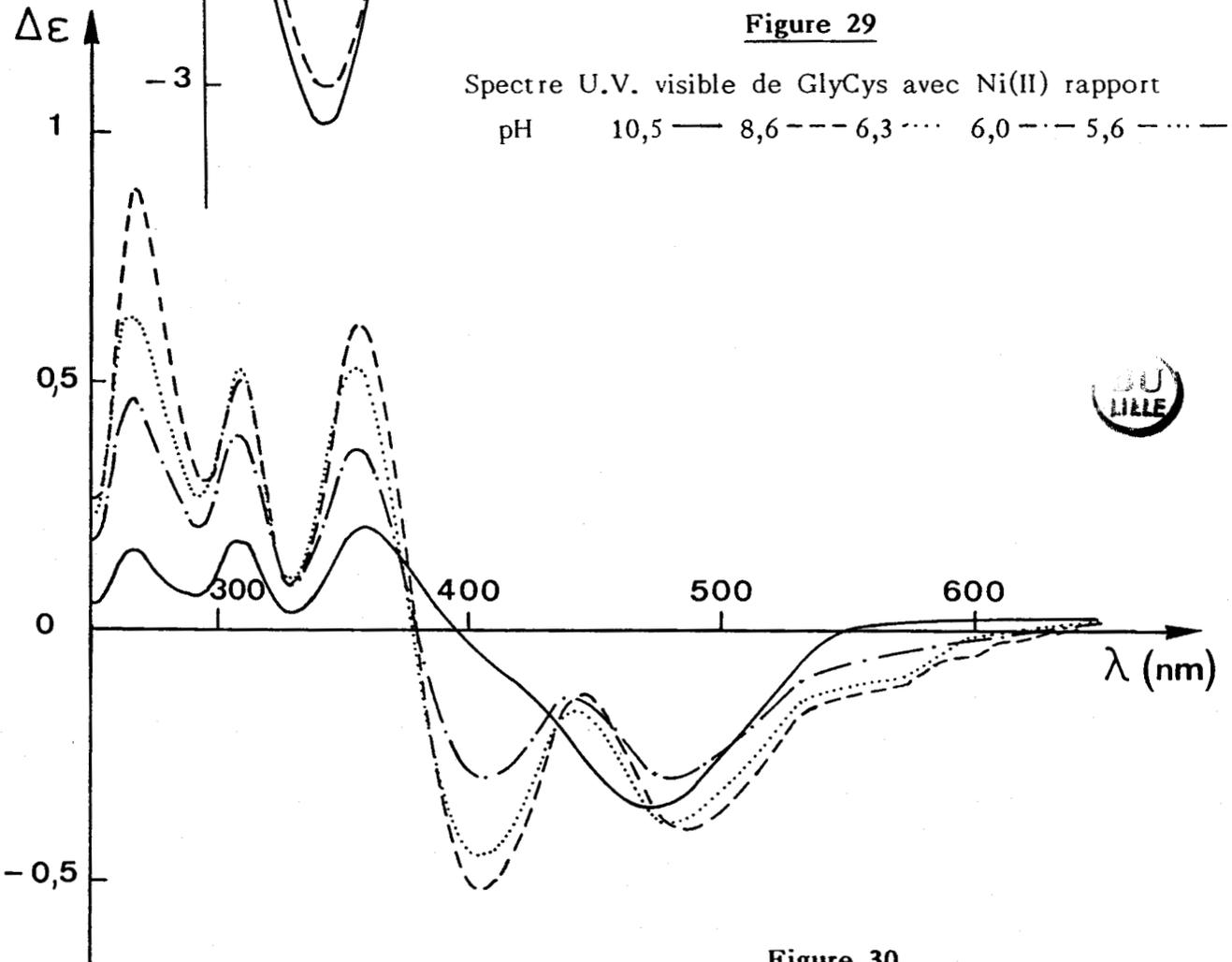
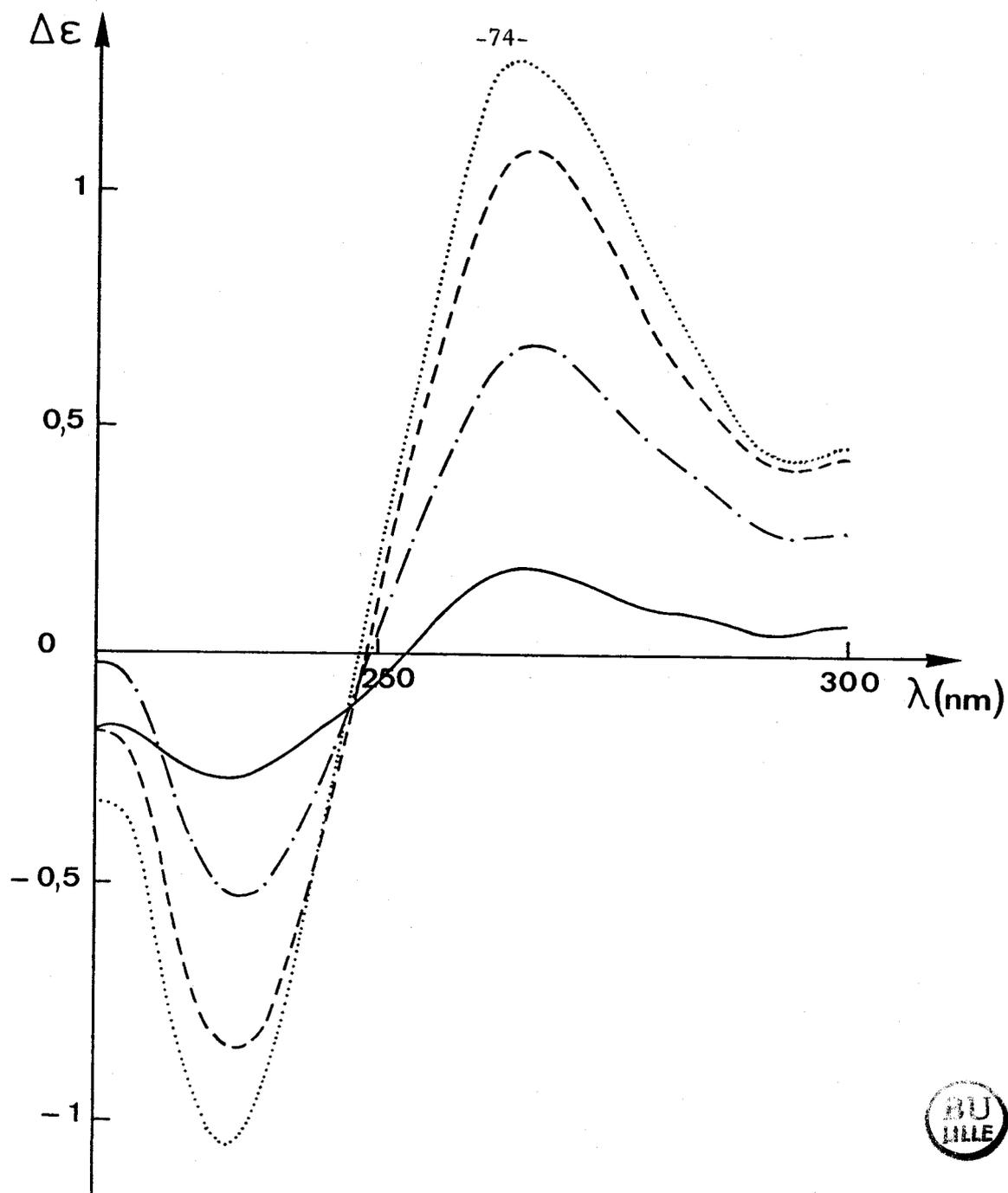


Figure 30

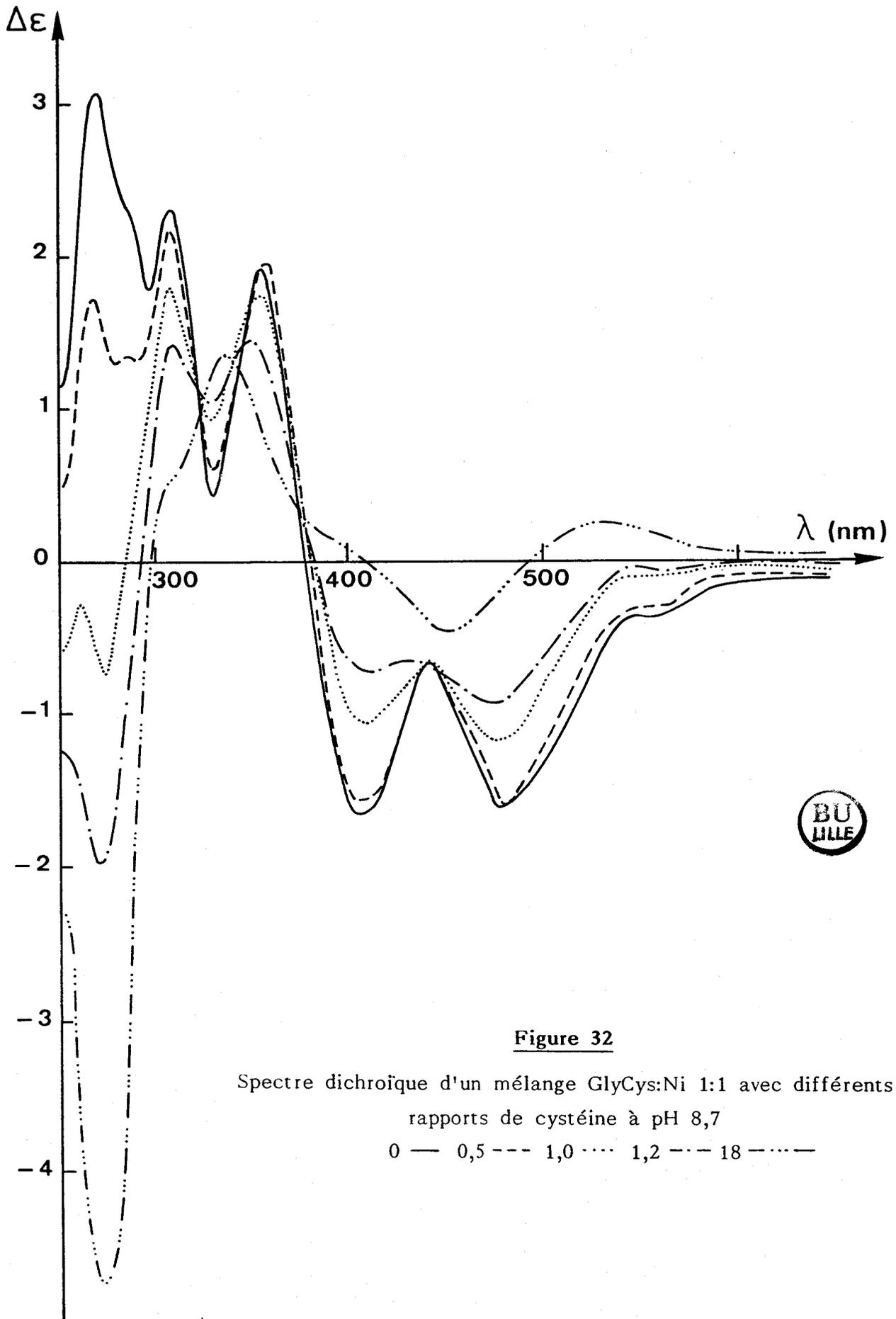
Spectre dichroïque visible de GlyCys avec Ni(II) Rapport 4  
pH 10,0 --- 8,2 ..... 6,7 - - - 6,0 —



**Figure 31**

Spectre dichroïque U.V. de GlyCys avec Ni(II) Rapport 4

pH 10,0 ..... 8,2 ---- 6,7 - - - 6,0 —



**Figure 32**

Spectre dichroïque d'un mélange GlyCys:Ni 1:1 avec différents rapports de cystéine à pH 8,7

0 — 0,5 --- 1,0 ..... 1,2 - - - 18 - - - -

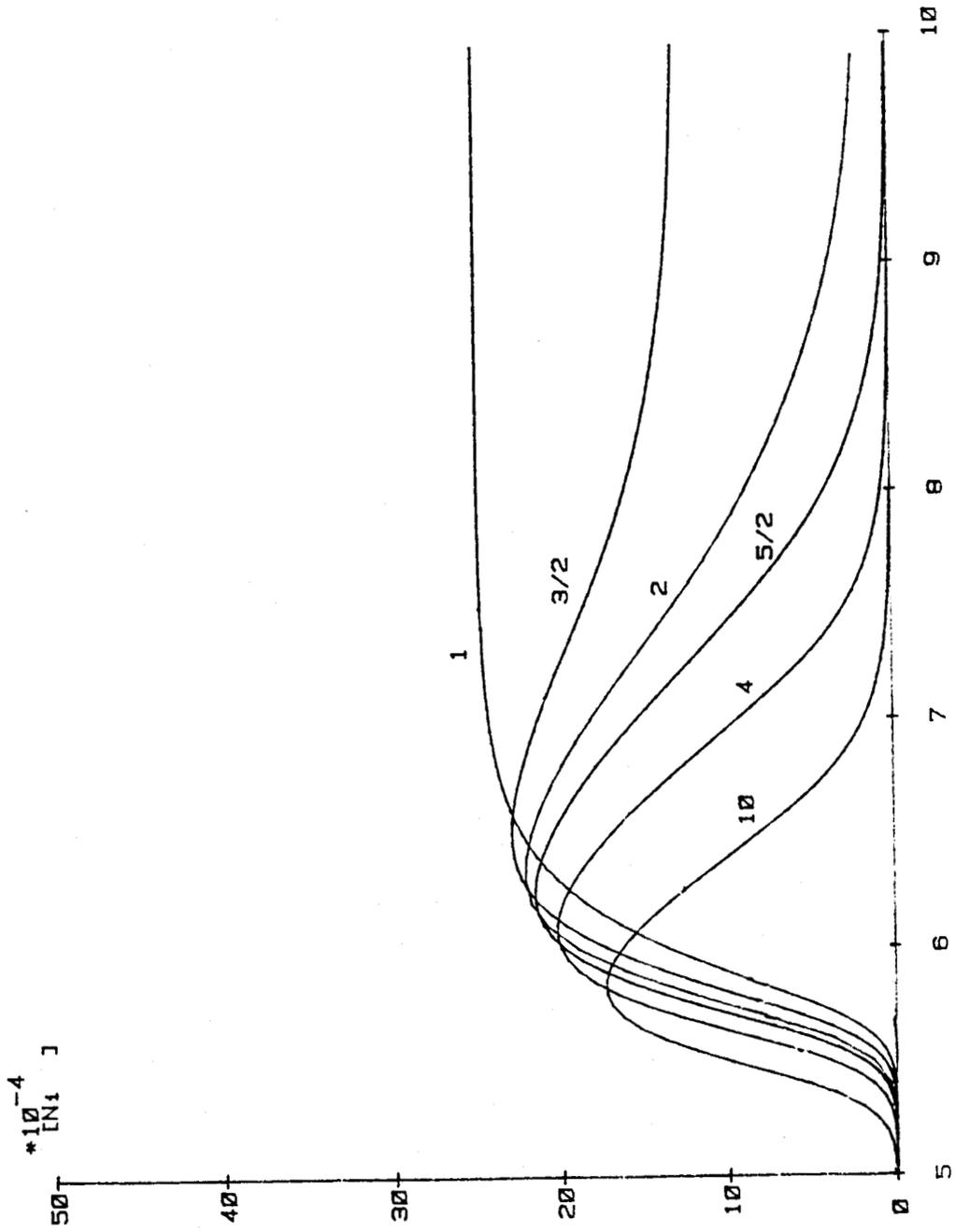
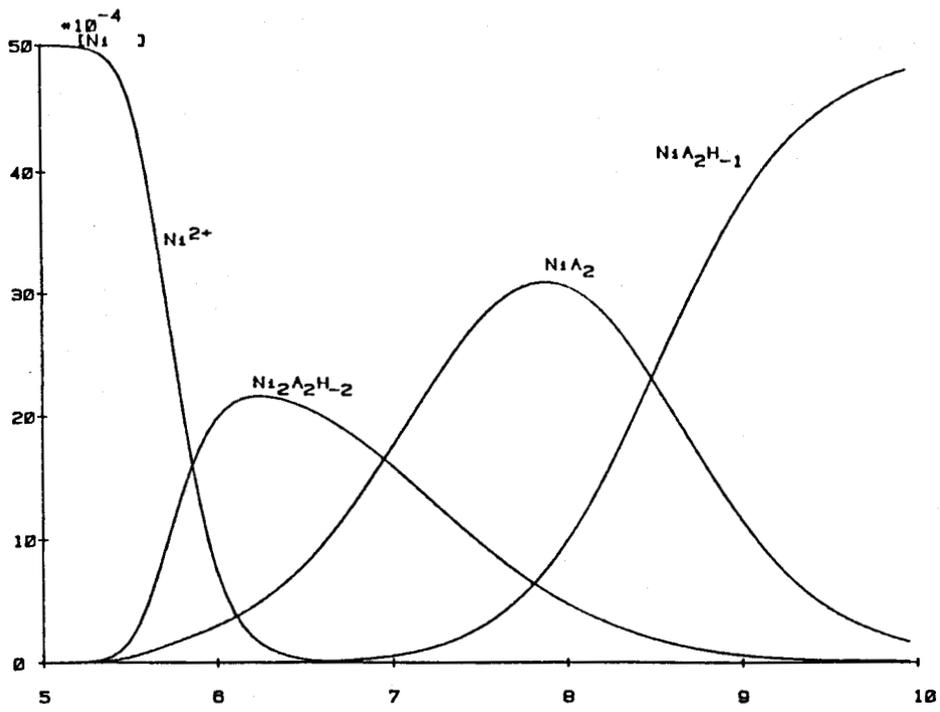


Figure 33

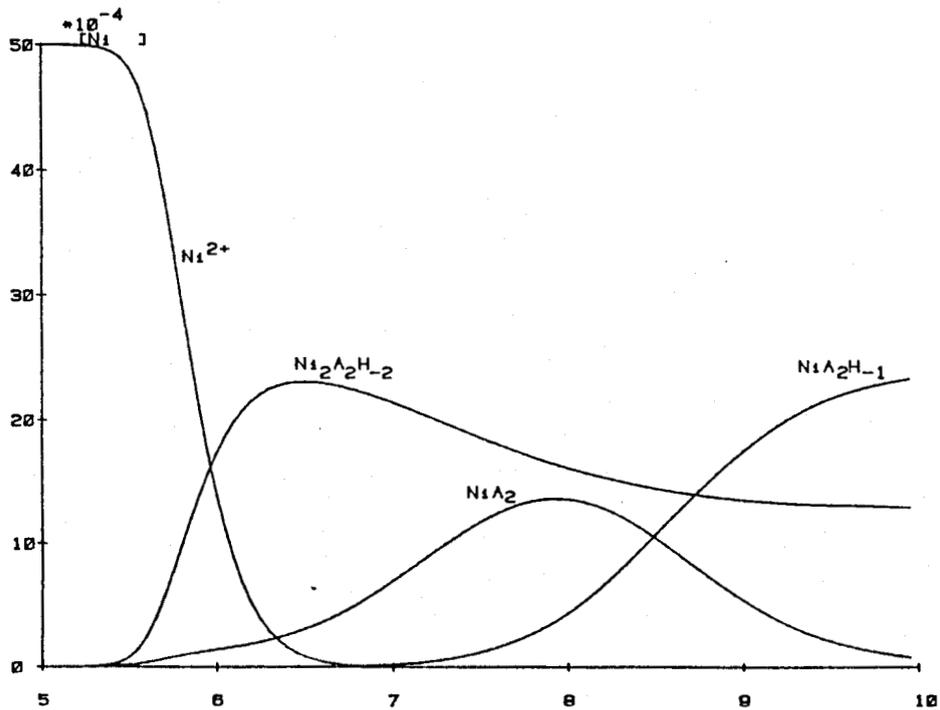
Courbes de l'espèce  $Ni_2L_2H_{-2}$   
en fonction du rapport ligand/métal





**Figure 34**

Courbes de répartition des espèces du mélange GlyCys avec Ni(II) dans le rapport 2,4



**Figure 35**

Courbes de répartition des espèces du mélange GlyCys avec Ni(II) dans le rapport 1,5

D - GLYCYLGLYCYL-L-CYSTEINE (GLYGLYCYS)

Les études spectroscopiques ont été contrariées par l'apparition d'un léger précipité dû à la faible solubilité des peptides comprenant plusieurs résidus glycine.

La spectroscopie d'absorption a permis de déterminer le spectre de l'espèce  $\text{NiAH}_{-2}$  qui est coordonnée par trois azotes ( $\text{NH}_2, 2\text{N}^-$ ) et un soufre. Ceci est en bon accord avec les longueurs d'onde des bandes d-d qui sont inférieures à celles des complexes précédents (520 et 410 nm). Le spectre dichroïque est faible en signal et de plus mal résolu. On a pu quand même relever une bande d-d à 474 nm et trois bandes à 310, 270 et 230 nm que l'on peut attribuer aux transitions de transfert de charge de l'amide et du soufre. Les études potentiométriques ont fait apparaître une espèce qui se trouve sous la géométrie octaédrique car elle n'est pas visible en spectroscopie :  $\text{NiAH}$ . De plus, sa faible stabilité ne permet pas de l'observer puisqu'elle est rapidement transformée en l'espèce  $\text{NiAH}_{-2}$  qui correspond à la déprotonation des deux amides et du thiol. La présence de quatre groupes fonctionnels coordinants sur le ligand interdit toute existence de complexe possédant plusieurs ligands. De plus, cette coordination donne lieu à la formation de trois chélates à cinq chaînons relativement stables.

U.V. visible

$\lambda$	$\epsilon$	Attribution
520 e	72	A d-d
410	336	E d-d
335 e	304	$\pi \text{S} \longrightarrow \text{Ni}$
250 e	9600	$\text{N}^-, \sigma \text{S} \longrightarrow \text{Ni}$

DICHROISME CIRCULAIRE

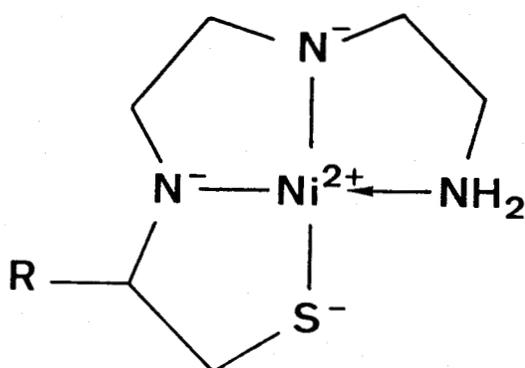
$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution
474	- 0,03	A+E d-d
310	- 0,45	S $\pi_x \rightarrow$ Ni
270	- 0,60	N <sup>-</sup> , S $\sigma_y \rightarrow$ Ni
230	- 0,60	S $\sigma_z \rightarrow$ Ni

POTENTIOMETRIE

ESPECES	Log ( $\beta$ )
HA	9,48
H <sub>2</sub> A	17,30
H <sub>3</sub> A	20,37
NiAH	13,67
NiAH <sub>-2</sub>	- 5,36

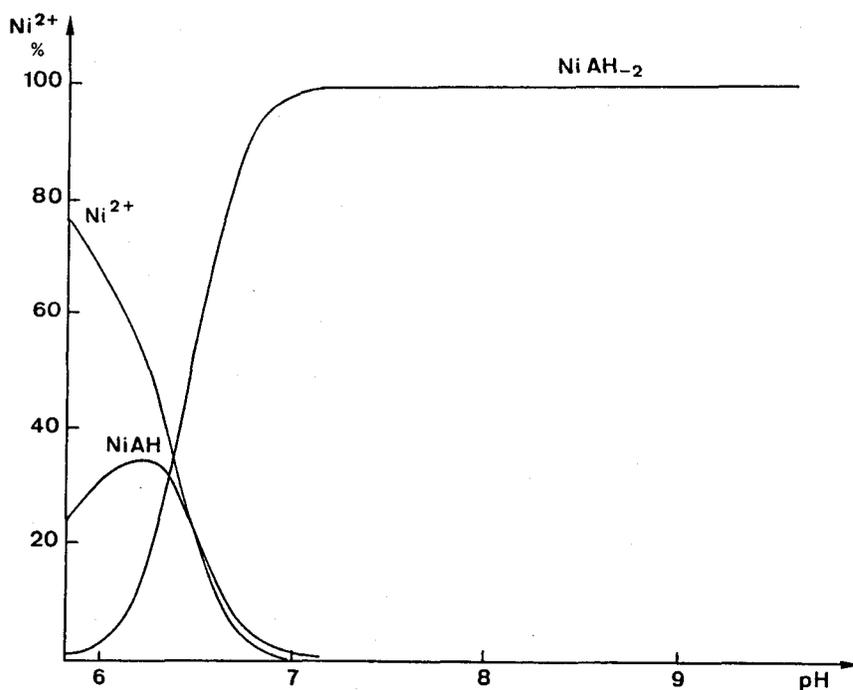


**TABLEAU IX** : Données spectroscopiques et potentiométriques du nickel (II) avec glyglycys.



**Figure 36**

Structure du complexe du Ni(II) avec GlyGlyCys



**Figure 37**

Courbes de répartition des espèces de GlyGlyCys avec le nickel dans le rapport 1

### E - GLUTATHION

Les spectres dichroïques du glutathion ont permis de confirmer la coordination du soufre avec le nickel (II) à partir de pH 6 dans le rapport ligand/métal 10. L'existence de complexes plan-carrés à pH 6,9 et 12 semble évidente. A pH 12, cette structure était déjà signalée précédemment<sup>27</sup> et le spectre U.V. visible la met en évidence avec deux bandes caractéristiques des complexes plan-carrés à 590 et 480 nm.

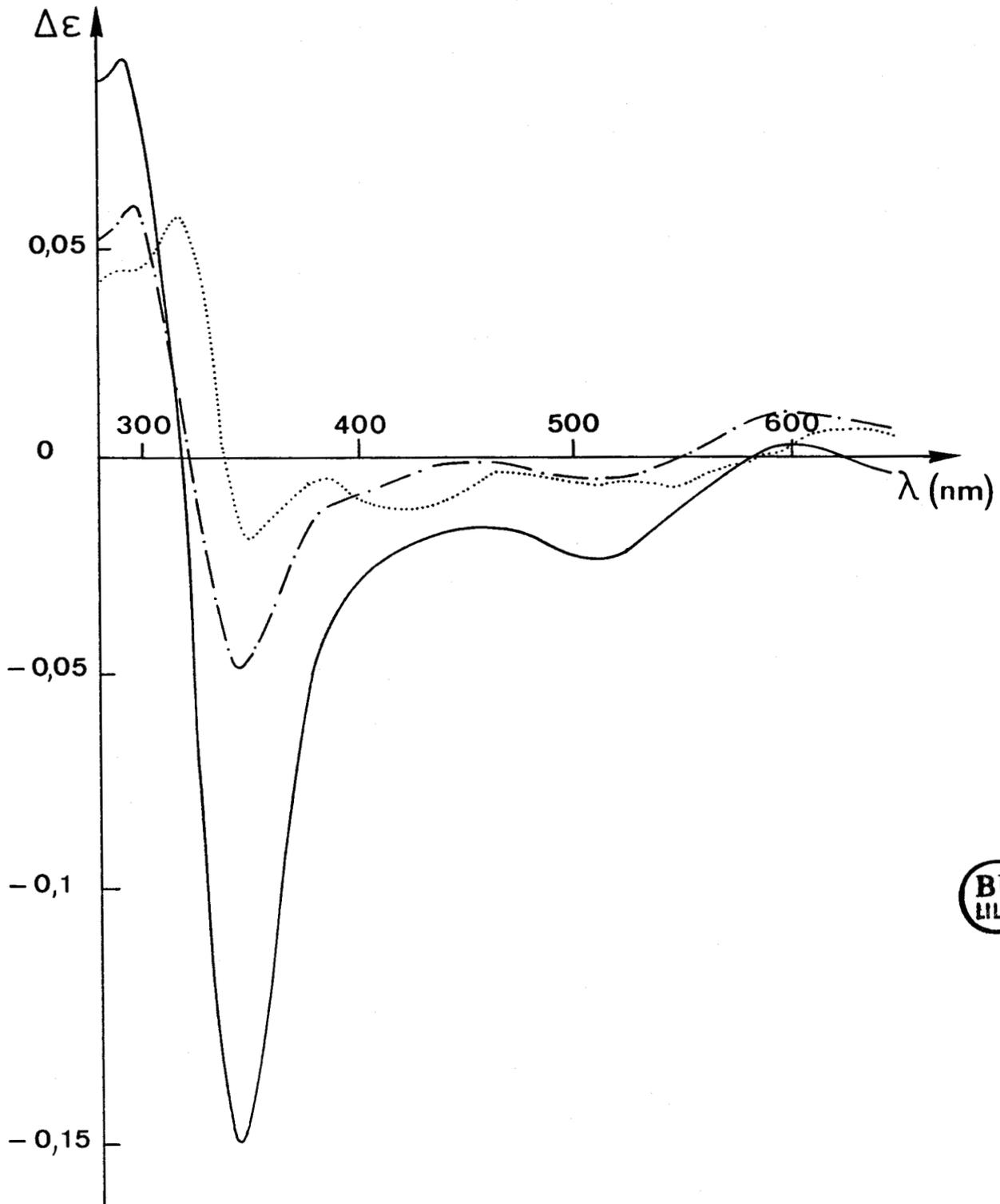
Ces valeurs sont voisines de celles obtenues pour la complexation avec deux azotes et deux sulfures obtenues auparavant. Le déplacement bathochrome vient probablement de l'encombrement stérique dû à la taille de la molécule. Dans les pH intermédiaires, les spectres sont mal définis et l'existence de complexes plan-carrés est assez faible. Le complexe pourrait alors prendre une structure octaédrique à cause des

contraintes stériques comme cela a déjà été suggéré. Cette structure serait de plus compatible avec les spectres dichroïques puisque si on exclut les faibles bandes dues aux complexes plan-carrés, on observe aucune bande dichroïque d-d, ce qui est le cas des complexes de géométrie octaédrique. On doit en fait passer par plusieurs types de complexes et de structures qui ne sont pas stables dans un domaine de pH suffisamment grand pour pouvoir les déterminer spectroscopiquement.

$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution
507	- 0,16	d-d
342	- 1,55	S $\pi_x \rightarrow$ Ni
285	+ 2,50	S $\sigma_y \rightarrow$ Ni
260 e	- 1,50	N <sup>-</sup> $\rightarrow$ Ni
245	- 4,00	S $\sigma_z \rightarrow$ Ni

**TABLEAU X** : Données dichroïques du complexe nickel (II) glutathion à pH 12.

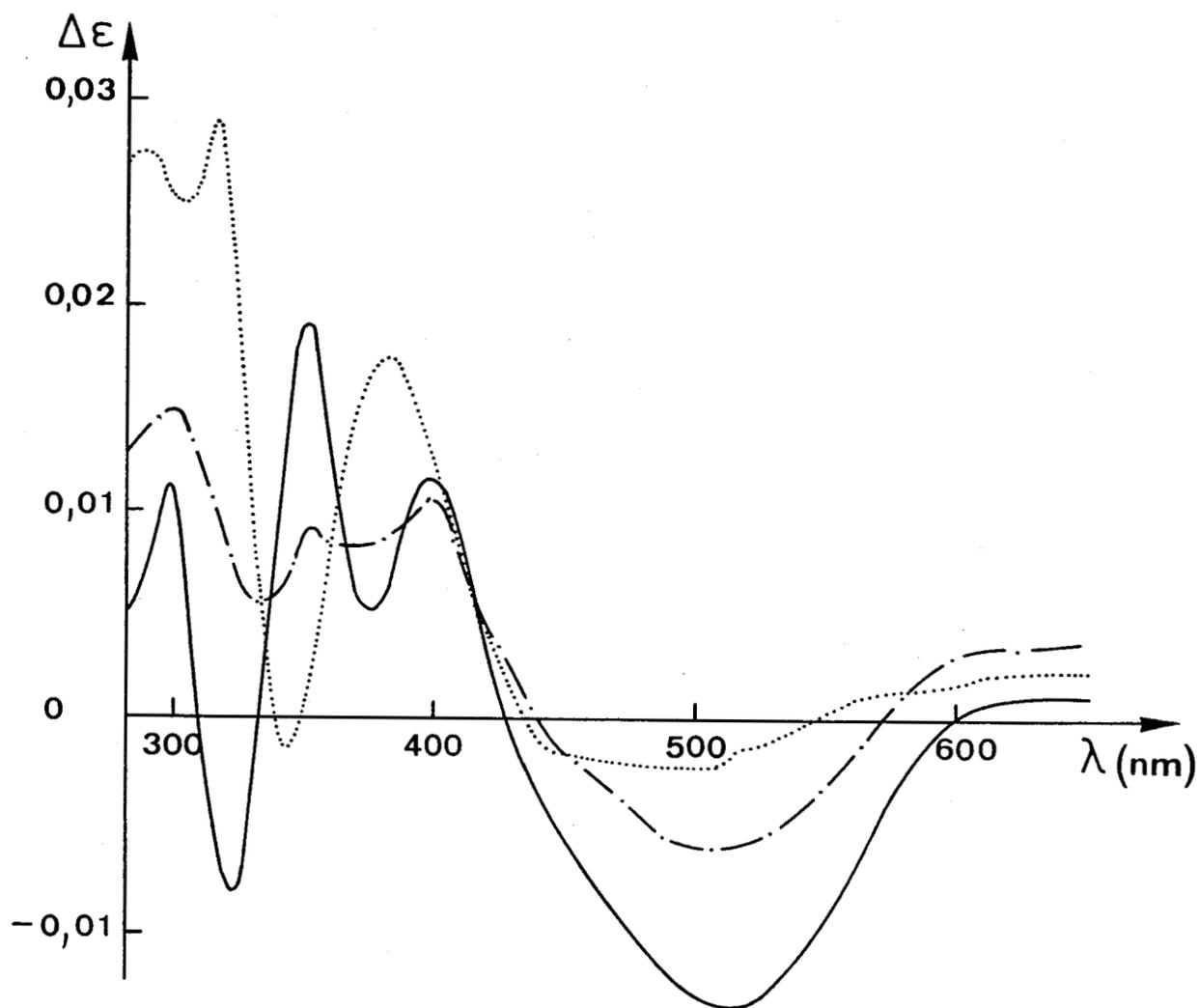
Dans le spectre, on observe trois bandes de transfert de charge du soufre (3) à 342, 285 et 245 nm que l'on expliquera dans l'étude du palladium. Le complexe serait coordonné par deux soufres et deux amides provenant de la cystéine comme le montre la figure ci-dessous.



**Figure 38**

Spectre visible du glutathion avec Ni(II)

pH 12,1 — 11,4 --- 8,9 ···



**Figure 39**

Spectre visible du glutathion avec Ni(II)

pH 8,3 ..... 7,7 --- 6,9 —

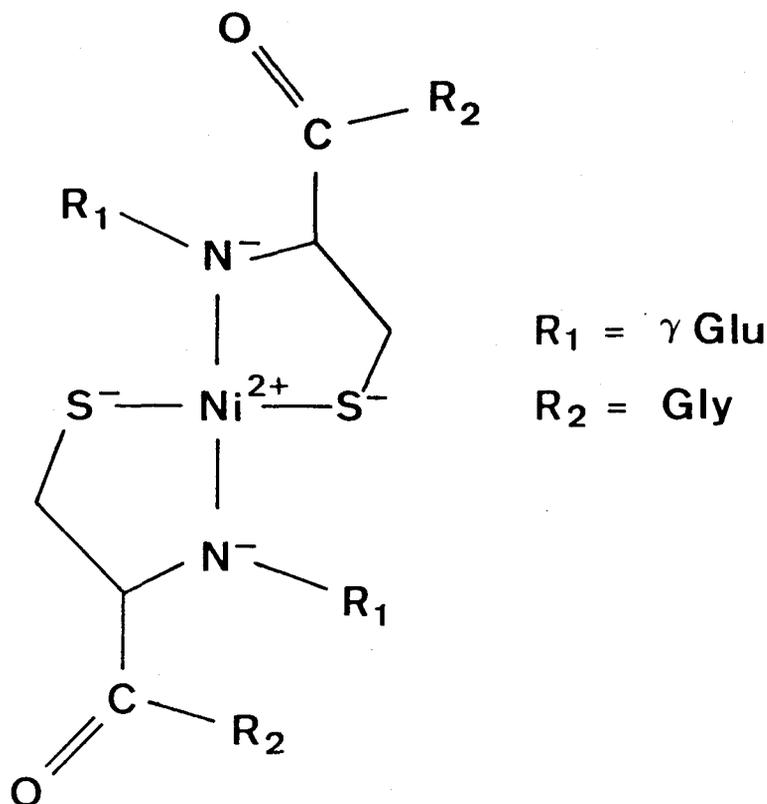


Figure 40

Structure du complexe du glutathion avec Ni(II) à pH 12<sup>25</sup>

## CONCLUSION

Cette partie du travail sur la complexation des thiols par le nickel (II) a permis de confirmer l'hypothèse de SOLOMON<sup>3</sup> sur les bandes de transfert de charge du soufre avec un métal. Il semble que la coordination de ligands bidentés et tridentés conduise à la formation de complexes polynucléaires ( $\text{Ni}_3\text{L}_4$  avec la cystéine et  $\text{Ni}_2\text{L}_2$  avec GlyCys) lorsque l'on se trouve en présence de ligands thiolés. Le premier ( $\text{Ni}_3\text{L}_4$ ) a déjà été observé en cristallographie<sup>6</sup> et le second ( $\text{Ni}_2\text{L}_2$ ) avec un ligand portant trois sulfures<sup>24</sup>. Le complexe de l'éthanedithiol donne un complexe hexamérique sous forme hexagonale de type  $\text{NiL}_2$  confirmant la facilité que le soufre a pour former des liaisons covalentes avec le nickel. Lorsqu'on a des groupes sur le ligand qui gênent stériquement cette complexation, on obtient peu ou pas d'espèce polynucléaire comme on a pu le constater avec CysGly.

Cependant, ces complexes ne peuvent plus être stables si l'on a des rapport ligand/métal supérieurs à deux et/ou un pH basique. L'espèce mononucléaire est d'une stabilité plus grande dans ces cas. L'existence de quatre points d'ancrage possibles dans le ligand ne permet plus la création d'espèce polynucléaire comme on a pu le remarquer dans le cas de GlyGlyCys. L'étude dichroïque du glutathion a permis de mettre en évidence la complexation du soufre à partir de pH 6, l'existence de complexes plan-carrés à pH 7 et 12. La zone située entre ces deux points montre que ce type de complexe n'y est pas important et que l'on a en présence plusieurs complexes dont la zone d'influence est trop faible pour qu'on puisse les déterminer.

--oooOooo--

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chapitre III

--0000000--

- 1) L. SACCONI  
*Trans. Métal Chem.* 4, 199 (1968)
- 2) R.H. HOLM  
*J.A.C.S.* 82, 5632 (1960)
- 3) E.I. SOLOMON, J.W. HARE, D.M. DOOLAY, J.H. DAWSON, P.J. STEPEHNS  
et H.B. GRAY  
*J.A.C.S.* 102, 168 (1980)
- 4) V. LUM et H.B. GRAY  
*Israël J. of Chem.* 21, p 23 (1981)
- 5) Y. SUGIURA  
*Inorg. Chem.* 17, 2176 (1978)
- 6) C.H. WEI et L.F. GAHL  
*Inorg. Chem.* 9, 878 (1970)
- 7) J. SUADES, X. SOLANS et M. FONT-ALTABA  
*Polyhedron* 3, 1227 (1984)
- 8) R.C. ROSENBERG, C.A. ROOT et H.B. GRAY  
*J.A.C.S.* 97, 21 (1975)
- 9) I. SOVAGO, A. GERGELY, B. HARMAN et T. KISS  
*J. Inorg. Nucl. Chem.* 41, 1629 (1979)
- 10) I. SOVAGO et R.B. MARTIN  
*J. Inorg. Nucl. Chem.* 43, 425 (1981)
- 11) Y. SUGIURA et Y. HIRAYAMA  
*Inorg. Chem.* 15, 679 (1976)
- 12) Y. SUGIURA, Y. HARAYAMA, H. TANAKA et H. SAKUAI  
*J. Inorg. Nucl. Chem.* 37, 2367 (1975)
- 13) J.W. CHANG et R.B. MARTIN  
*J. of Phys. Chem.* 73, 4277 (1969)
- 14) R. PANOSSIAN, M. ASSO et M. GUILIANO  
*Spectroscopy Letters* 16, 463 (1983)
- 15) P.H. DAVIS, L.K. WHITE et R.L. BELFORD  
*Inorg. Chem.* 14, 1753 (1975)
- 16) M.J. HYNES et P.F. BRANWICK  
*Proc. Royal Irish Acad.* 77B, 479 (1977)

- 17) R.E. WAGNER et J.C. BAILAR  
J.A.C.S. 97, 533 (1975)
- 18) A. VOGLER, H. KUNDELY, J. HLAVATSCH, A. MERZ  
Inorg. Chem. 23, 506 (1984)
- 19) D.D. PERRIN et I.G. SAYCE  
J. Chem. Soc.(A) 53 (1968)
- 20) S.T. CHOW, C.A. Mac AULIFFE et B.J. SAYLE  
J. Inorg. Nucl. Chem. 35, 4349 (1973)
- 21) W. LEVASON et C.A. Mac AULIFFE  
Inorg. Nucl. Chem. Letters 13, 123 (1977)
- 22) H. LIU et C.S. CHUNG  
Inorg. Chem. 23, 1803 (1984)
- 23) J.H. RITSMA et F. JELLINEK  
Rec. Trav. Chim. 91, 923 (1972)
- 24) J. HARLEY-MASON  
J. Chem. Soc. 31, 146 (1952)
- 25) G. FORMICKA-KOZLOWSKA, P.M. MAY et D.R. WILLIAMS  
Inorg. Chim. Acta 46, L51 (1980)
- 26) S.T. CHOW, C.A. Mac AULIFFE et B.J. SAYLE  
J. Inorg. Nucl. Chem. 37, 451 (1975)
- 27) B. JEZOWSKA-TRZEBIATOWSKA, G. FORMICKA-KOZLOWSKA et H. KOZLOWSKI  
Chem. Phys. Letters 42, 242 (1976)
- 28) P. WOODWARD, L.F. DAHL, E.W. ABEL et B.C. CROSSE  
J.A.C.S. 87, 5251 (1965)
- 29) H. SIGEL et R.B. MARTIN  
Chem. Rev. 82, 385 (1982)
- 30) S.K. SRIVASTAVA, E.V. RAJU et H.B. MATHUR  
J. Inorg. Nucl. Chem. 35, 2 53 (1973)

--0000000--

--0000000--

## CHAPITRE IV

--0000000--

## INTRODUCTION

Le palladium(II) forme des complexes plan-carrés avec les peptides<sup>1</sup>. Leur spectre d'absorption U.V. visible est souvent réduit à une large bande due aux transitions de transfert de charge et sur laquelle se trouvent sous forme d'épaulement les transitions d-d du métal. Ces dernières permettent de connaître en partie les groupes fonctionnels coordonnés car les complexes du Pd(II) répondent aux règles de TSUSHIDA<sup>2,3</sup>.

L'étude des spectres dichroïques nous a permis de mieux comprendre ces transitions grâce à la meilleure résolution des bandes de transfert de charge du soufre. Les spectres de R.M.N. du proton et du carbone nous ont permis dans certains cas de confirmer les conclusions tirées à partir des spectres.

### A - LA CYSTEINE

La cystéine<sup>4,5</sup>, les dérivés S-substitués<sup>6,7</sup> et les dérivés thiolés comme la mercaptoéthylamine<sup>8</sup> et la D-penicillamine donnent une coordination par l'azote et le soufre dans les rapports ligand/métal 1 et 2 avec le palladium(II).

La complexation commence vers pH 2 avec l'amine et le thiol. Avant, on observe seulement le complexe  $\text{PdCl}_4^{2-}$  en solution (figures 41 et 42).

Pour le rapport 1, les spectres d'absorption donnent une bande centrée à 270 nm avec un  $\epsilon$  de 7000 correspondant aux transitions de transfert de charge. L'épaulement situé à 340 nm avec un  $\epsilon$  plus faible correspond aux transitions d-d du métal (tableau X). Sur les spectres dichroïques, les bandes situées à 430 et 340 nm correspondent respectivement aux transitions A et E. Elles sont, comme en spectros-

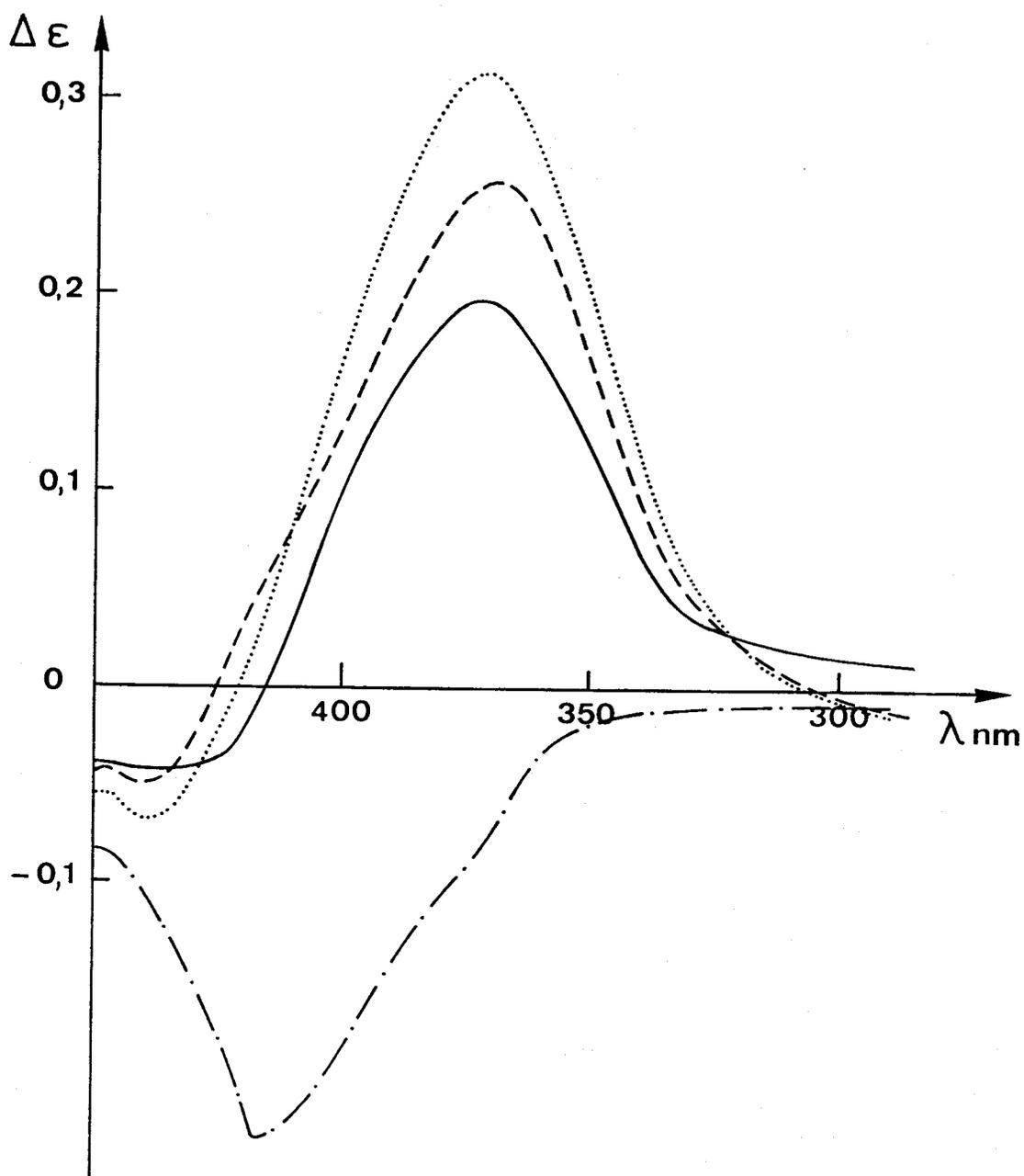


Figure 41

Spectre dichroïque visible de Cys avec Pd(II) au rapport 1

pH 10,5 — 8,9 --- 5,3 ..... 1,6 ---

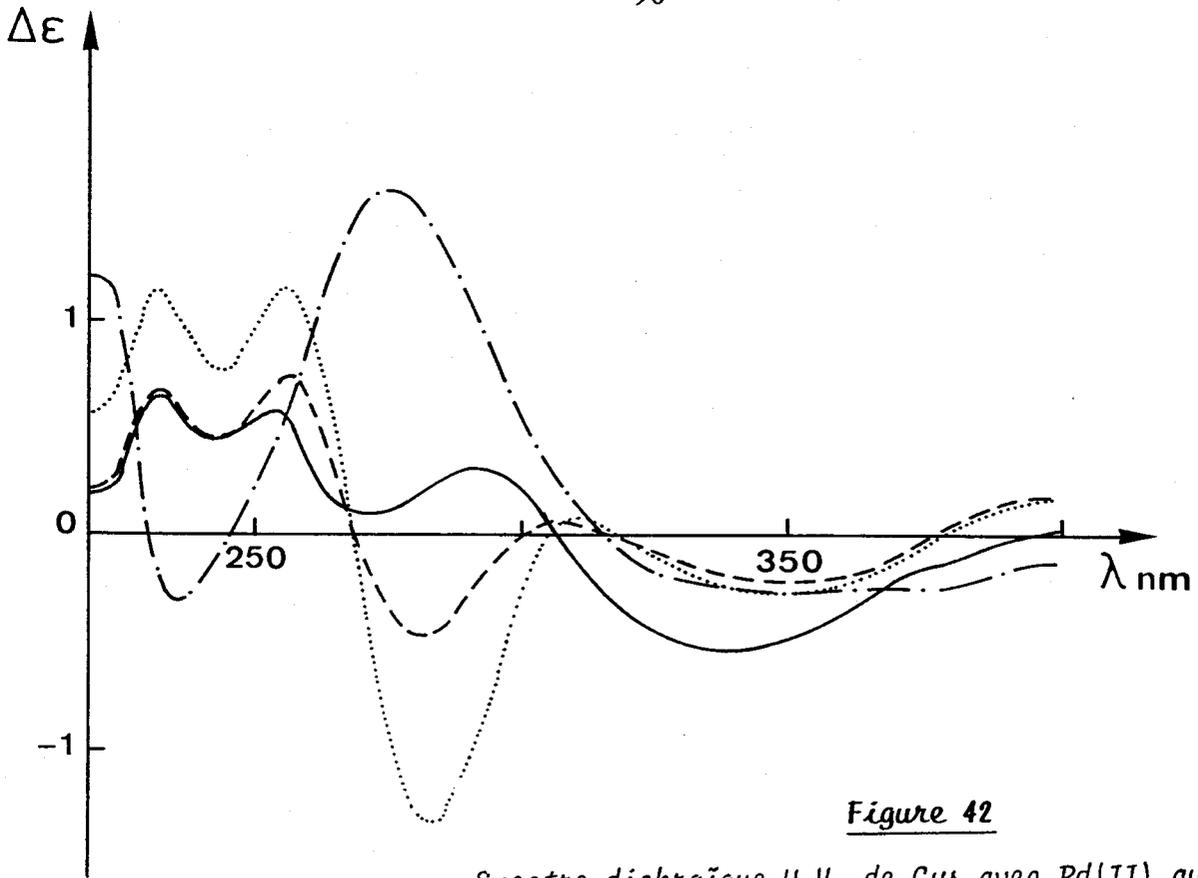


Figure 42

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Pd(II) au rapport 1  
pH 10,5 --- 8,9 --- 5,3 ..... 1,6 —

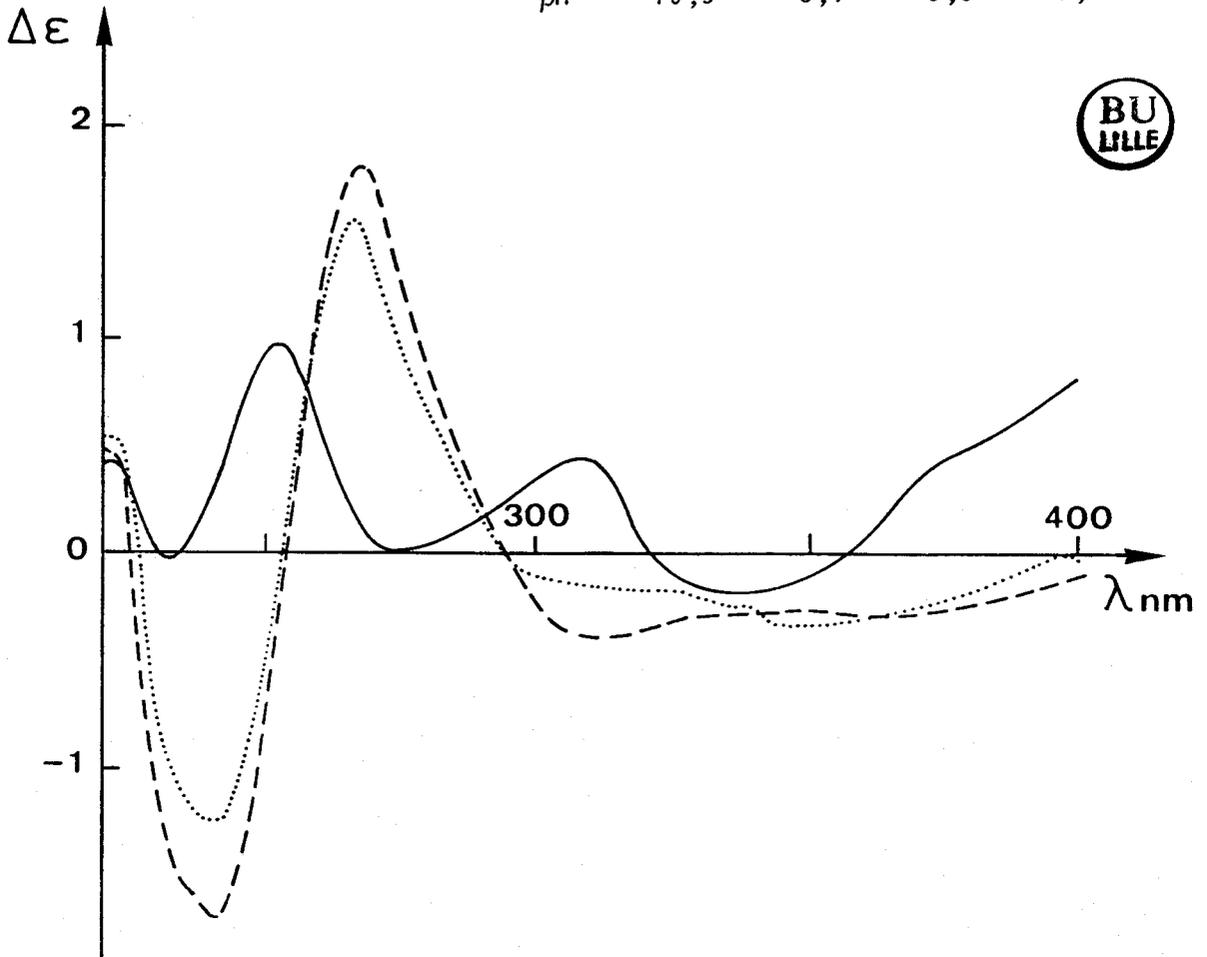


Figure 44

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Pd(II) au rapport 2  
pH 11,4 --- 7,0 ..... 5,8 —

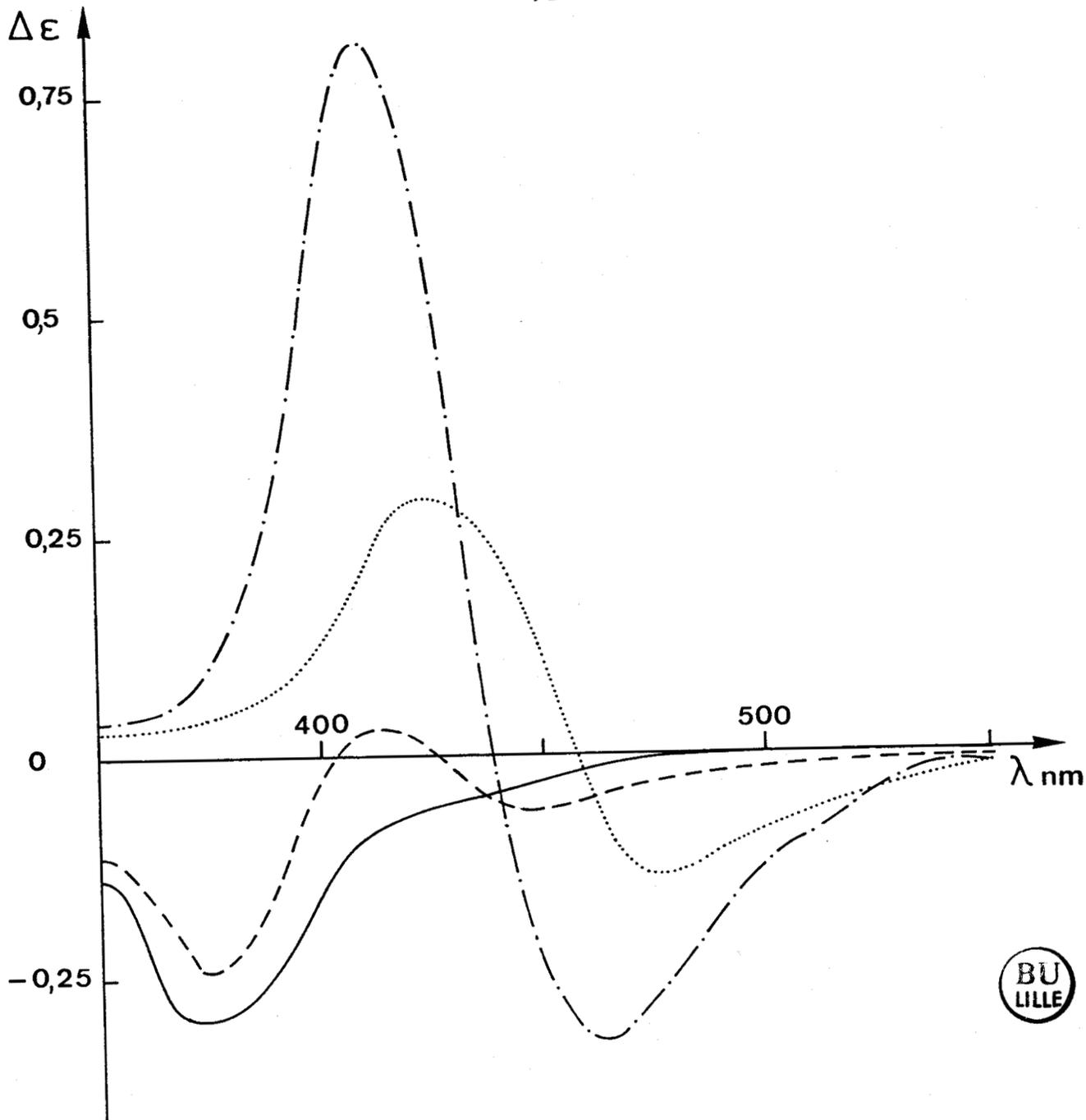


Figure 43

Spectre dichroïque visible de Cys avec Pd(II) au rapport 2  
pH 11,4 — 7,0 --- 5,8 - - - 2,3 .....

pH	DICHROISME CIRCULAIRE			U.V. VISIBLE					
	$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution	$\lambda$	$\epsilon$	Attribution			
<b>Rapport 1</b>									
5,4	428	+ 0,31	A	350e	1768	d-d			
	352	- 0,29	E						
	284	- 1,35	$\pi S \rightarrow Pd$				272	6640	S $\rightarrow$ Pd
	256	+ 1,17	$Py \rightarrow Pd$						
	232	+ 1,15	$(\alpha S + Pz) \rightarrow Pd$						
9,4	432	+ 0,26	A	345e	2200	d-d			
	344	- 0,27	E						
	282	- 0,49	$\pi S \rightarrow Pd$				270	7080	s $\rightarrow$ Pd
	256	+ 0,78	$PyS \rightarrow Pd$						
	232	+ 0,69	$(\alpha S + Pz) \rightarrow Pd$						
10,6	428	+ 0,20	A	341e	2520	d-d			
	333	- 0,50	E						
	292	+ 0,34	$\pi S \rightarrow Pd$				267	7696	S $\rightarrow$ Pd
	250	+ 0,60	$PyS \rightarrow Pd$						
	232	+ 0,70	$(\alpha S + Pz) \rightarrow Pd$						
<b>Rapport 2</b>									
5,8	464	- 0,33	B ou Sing $\rightarrow$ trip.	353	5280	d-d			
	410	+ 0,81	A						
	337	- 0,19	E						
	310	+ 0,45	$\pi S \rightarrow Pd$				245	9300	S $\rightarrow$ Pd
	252	+ 0,98	$Py \rightarrow Pd$						
232	- 0,05	$(\alpha S + Pz) \rightarrow Pd$							
7,1	374	- 0,32	A	337	2520	d-d			
	312	- 0,42	E						
	262	+ 1,81	$\pi S \rightarrow Pd$				244	14320	S $\rightarrow$ Pd
	242	- 1,80	$\sigma S \rightarrow Pd$						
10,7	373	- 0,30	A	337	2440	d-d			
	314	- 0,38	E						
	268	+ 1,79	$\pi S \rightarrow Pd$				243	18000	S $\rightarrow$ Pd
	242	- 1,70	$\sigma S \rightarrow Pd$						



**TABLEAU X** : Valeur des maxima en dichroïsme circulaire et en U.V. visible pour L-cystéine.  
e : épaulement

copie U.V. visible, d'intensité moins importante que les bandes de transfert de charge. Celles-ci sont au nombre de trois que l'on attribue au soufre, celles de l'amide et de l'amine étant à des longueurs d'onde inférieures à 210 nm<sup>10</sup>. Ces trois bandes ne peuvent pas être expliquées par l'hypothèse émise par SCHUGAR<sup>11</sup> mais le sont par l'étude qu'en a faite SOLOMON<sup>12</sup>.

Dans le cas de SCHUGAR<sup>11</sup>, on ne tient compte que de la liaison soufre métal et les deux orbitales Px (perpendiculaire au plan du schéma 45) et Py ont un caractère de liaison  $\pi$  et on obtient dans ce cas seulement deux bandes de transfert de charge. Cette hypothèse qui ne tenait pas compte de la liaison carbone soufre ne pouvait pas expliquer la présence de trois bandes de transfert de charge pour le soufre. Dans l'hypothèse de SOLOMON<sup>12</sup>, l'orbitale  $\sigma$  ( $\alpha S + Pz$ ) se trouve dans l'axe du carbone et l'angle entre le carbone et un métal lié au soufre est de l'ordre de 107°. L'orbitale Py forme une liaison avec le métal et prend en partie l'énergie d'une orbitale  $\sigma$ . Les deux niveaux de la première hypothèse se transforment en trois niveaux énergétiques. Px( $\pi$ ) reste stable, Py( $\sigma$ ) est stabilisée énergétiquement par son interaction avec le métal et  $\alpha S + Pz$  ( $\sigma$ ) perd partiellement l'énergie de la liaison métallique. On obtient alors trois bandes de transfert comme le montre la figure 45 qu'on observe dans le spectre dichroïque à 282, 256 et 232 nm attribuées respectivement aux transitions Px  $\rightarrow dx^2 - y^2$ , Py  $\rightarrow dx^2 - y^2$  et ( $\alpha S + Pz$ )  $\rightarrow dx^2$ . Les variations observées à pH élevé doivent être dues au remplacement de H<sub>2</sub>O par OH<sup>-</sup> ou à la dimérisation des molécules de palladium(II) avec la cystéine<sup>13,14</sup>.

Dans le rapport 2, le spectre d'absorption à pH 5,8 a encore l'aspect de celui du rapport 1. A partir de pH 7,1, les bandes à 337 et 274 nm correspondent à une coordination 2N,2S<sup>1,4,6,7</sup>. Les bandes de transfert de charge des spectres dichroïques traduisent aussi ce changement et si, comme pour les bandes d-d, le spectre à pH 5,8 présente encore les mêmes bandes que pour le rapport 1, on y trouve aussi d'autres bandes qui deviennent prédominantes à un pH supérieur. Ainsi, les deux bandes positives à 232 et 250 nm dans le rapport 1 se confondent pour ne donner qu'une seule bande négative à 242 nm dans le rapport 2. De la même façon, la bande la moins énergétique à 268 nm a changé de sens confirmant ainsi le changement de coordination lorsqu'on passe au rapport 2. Les bandes d-d sont elles aussi assez proches du

rapport 1 à pH 5,8, l'apparition d'une faible bande à 464 nm serait due à une ou plusieurs transitions interdites (B ou singulet  $\rightarrow$  triplet)<sup>15</sup>. A pH plus élevé, les bandes A et E se déplacent vers des énergies plus fortes à 374 et 312 nm, ce qui est conforme aux règles de TSUSHIDA puisqu'on a maintenant une coordination 2N et 2S. La perturbation due aux ions OH<sup>-</sup> à haut pH dans le rapport 1 pour les bandes de transfert de charge n'apparaît plus dans ce cas car les quatre points de coordination du palladium (II) sont déjà occupés.

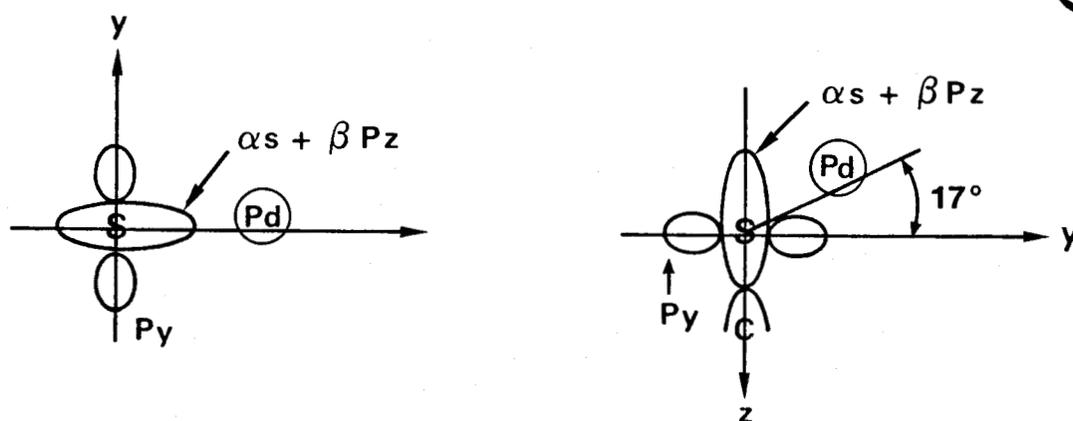
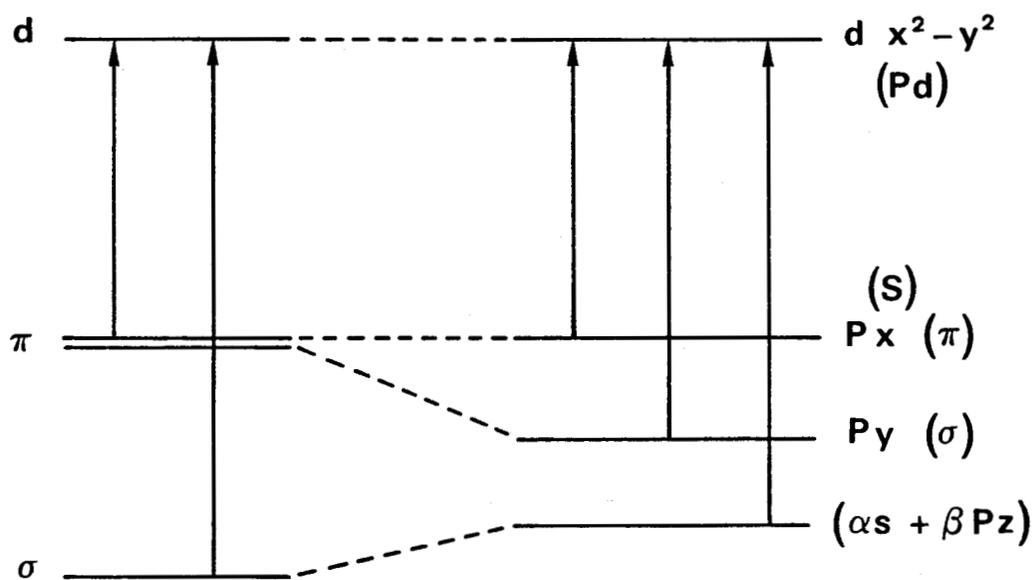
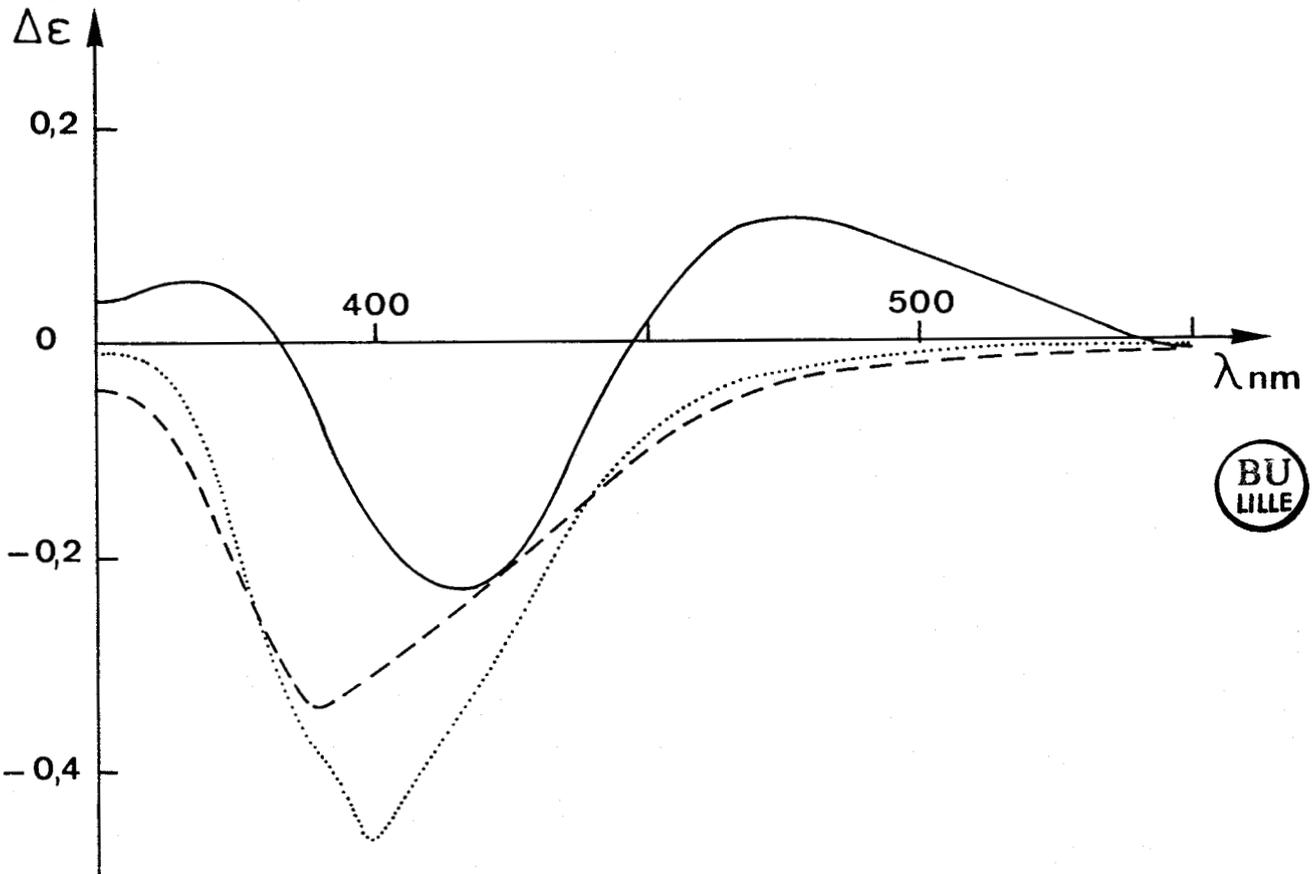
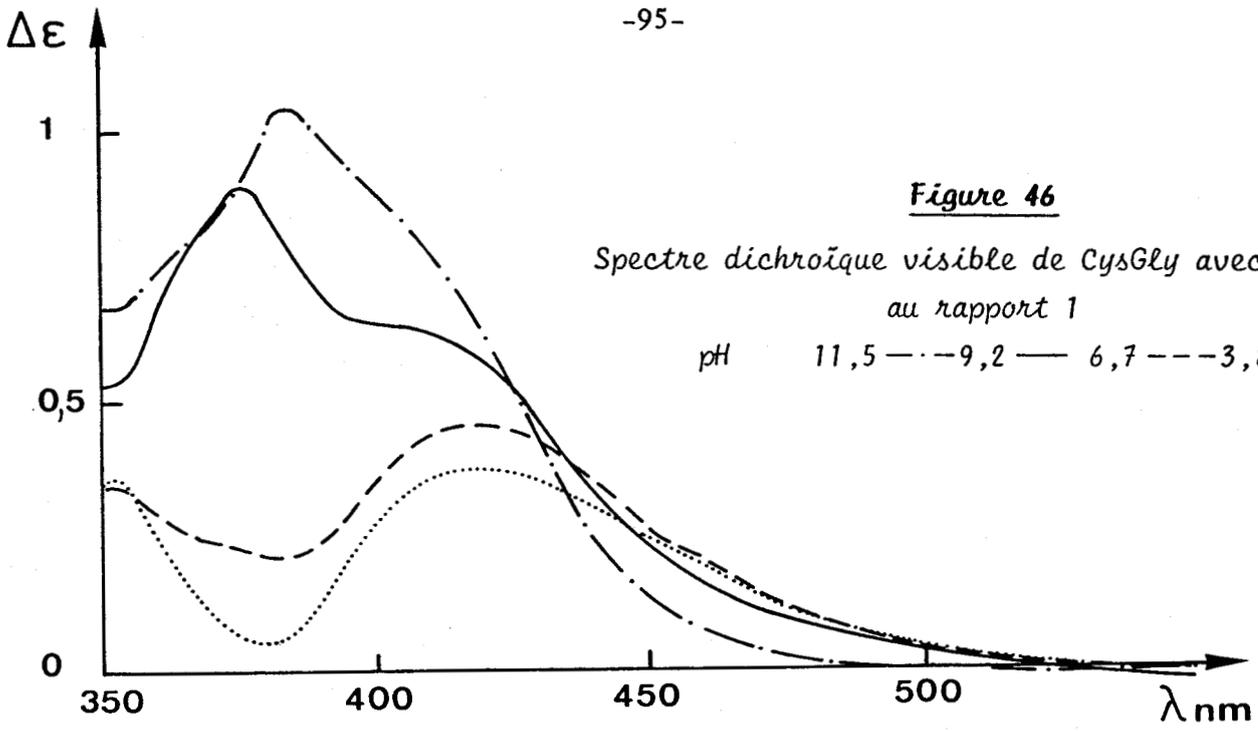


Figure 45

Transitions de transfert de charge entre le soufre et un métal suivant SCHUGAR<sup>11</sup> et SOLOMON<sup>12</sup>



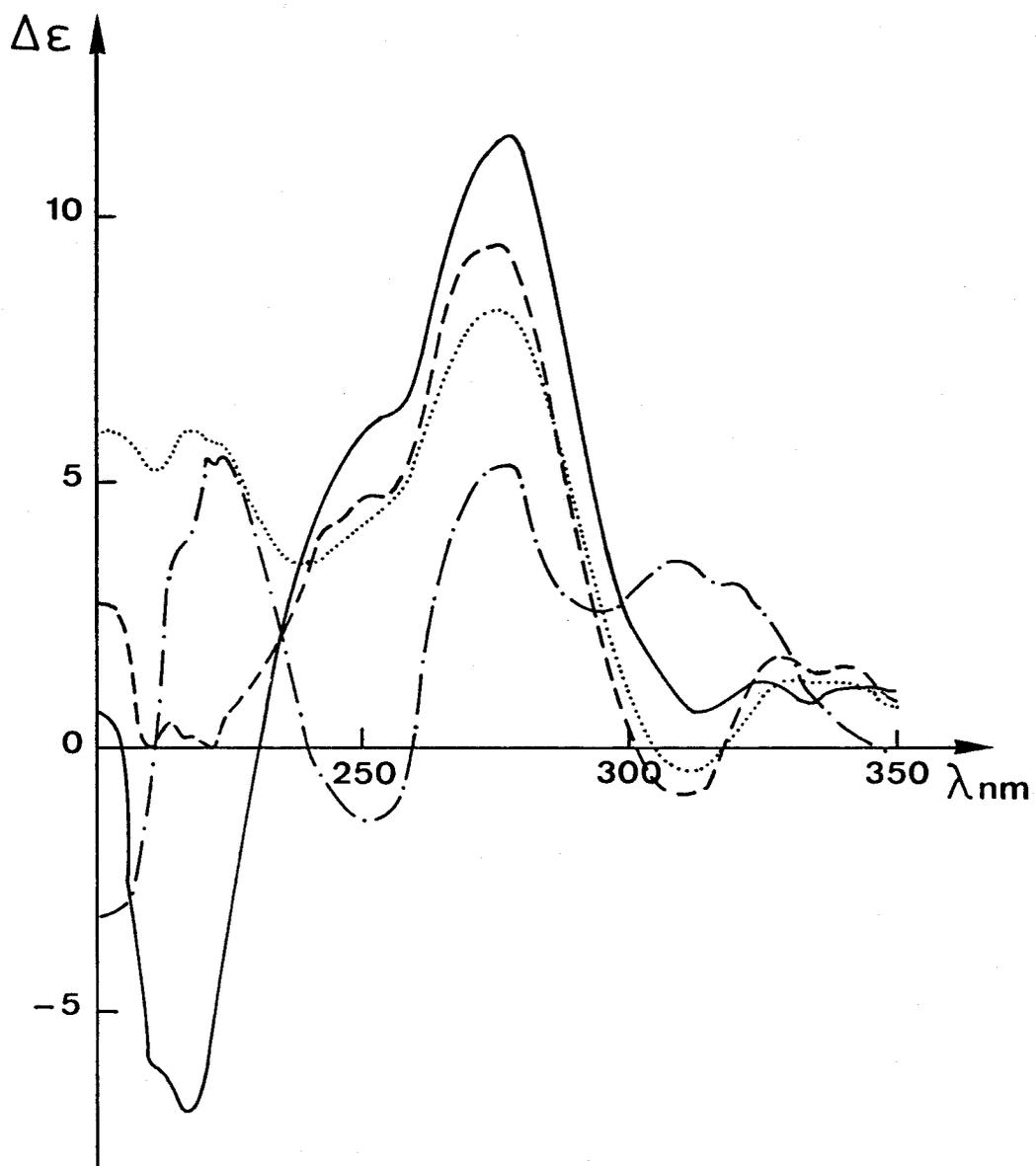


Figure 47

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Pd(II) au rapport 1  
pH 11,5 — 6,8 --- 3,8 ..... 1,0 — — —

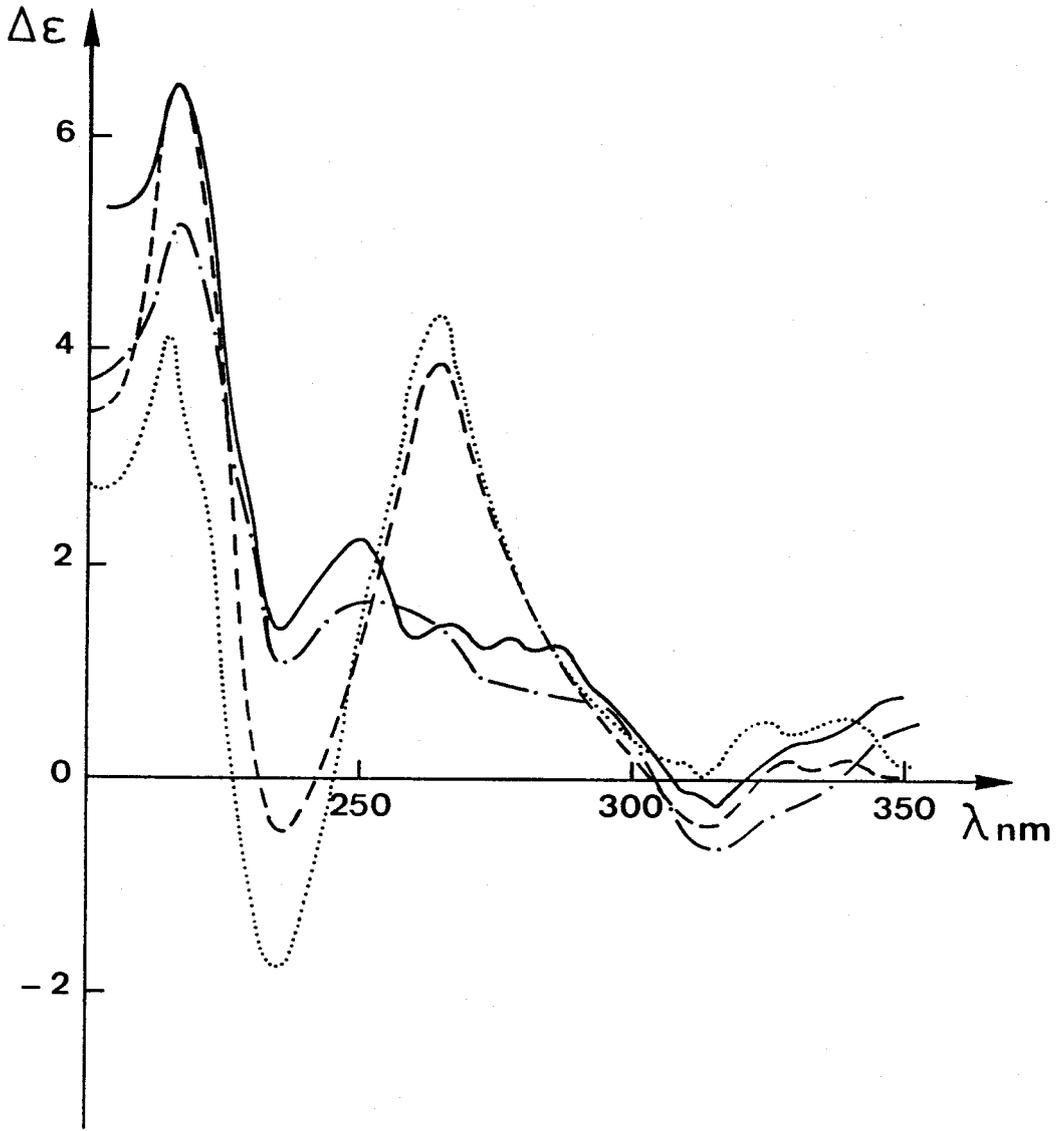


Figure 49

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Pd(II) au rapport 2

pH 11,4 ---- 9,8 — 8,8 ---- 4,0 ----



pH	DICHROISME CIRCULAIRE			U.V. visible					
	$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution	$\lambda$	$\epsilon$	Attribution			
<b>Rapport 1</b>									
4,0	418	+ 0,37	A	348e	1471	d-d			
	336	+ 1,13	E <sub>1</sub>						
	308	- 1,37	E <sub>2</sub>						
	274	+ 8,29	$\pi S \rightarrow Pd$				265	5850	S $\rightarrow$ Pd
	255e	+ 4,60	$\sigma S \rightarrow Pd$						
7,1	412	+ 0,46	A	344e	1474	d-d			
	336	+ 0,93	E <sub>1</sub>						
	308	- 1,57	E <sub>2</sub>						
	276	+ 9,51	$\pi S \rightarrow Pd$				271	6142	S $\rightarrow$ Pd
	252e	+ 4,75	$\sigma S \rightarrow Pd$						
10,3	402	+ 0,65	A	342e	1768	d-d			
	368	+ 1,32	E <sub>1</sub>						
	308	- 0,93	E <sub>2</sub>						
	272	+12,2	$\pi S \rightarrow Pd$				269	6040	S $\rightarrow$ Pd
	255e	+ 6,85	$\sigma S \rightarrow Pd$						
<b>Rapport 2</b>									
5,3	376	- 0,60	A	336e	4724	d-d			
	336	+ 0,21	E						
	262	+ 3,27	$\pi S + PyS \rightarrow Pd$				242	9900	S $\rightarrow$ Pd
	234	- 2,78	$(\alpha S + Pz) \rightarrow Pd$						
6,6	390	- 0,19	A						
	314	- 0,89	E						
	260	+ 2,28	$\pi S \rightarrow Pd$						
	236	- 1,07	$\sigma S \rightarrow Pd$						
8,8	380	- 0,34	A	337	3307	d-d			
	312	- 0,60	E						
	264	+ 3,83	$\pi S \rightarrow Pd$				240	13980	S $\rightarrow$ Pd
	236	- 0,50	$\sigma S \rightarrow Pd$						
9,8	416	- 0,23	A	320	3890	d-d			
	354	+ 0,43	E <sub>1</sub>						
	318	- 0,83	E <sub>2</sub>						
	263	+ 1,42	$\pi S \rightarrow Pd$				241	15600	S $\rightarrow$ Pd
	250	+ 2,27	$\sigma S \rightarrow Pd$						



**TABEAU XI** : Valeur des maxima en dichroïsme circulaire et en U.V. visible pour L-cystéinyl-glycine avec Pd(II).

e : épaulement.

## B - CYSTEINYLGLYCINE

Les spectres d'absorption du rapport 1 qui sont très voisins de celui de la cystéine, suggèrent la coordination  $\text{NH}_2, \text{S}^-$  comme précédemment. Les spectres dichroïques présentent trois bandes d-d à 400 nm attribuée à A, 336 et 308 nm attribuées aux bandes  $E_1$  et  $E_2$  provenant de la dégénérescence de E. Les bandes de transfert de charge apparaissent sous forme d'une large bande centrée à 270 nm avec un épaulement à 250 nm. En fait, cet ensemble correspond aux trois bandes de transfert de charge du soufre que nous obtenions pour la cystéine. Ces changements s'expliquent par les contraintes stériques du résidu glycine branché sur la cystéine. En milieu basique (pH 9), la coordination de l'azote amide entraîne une perturbation des bandes A et E. Dans le rapport 2, on observe le même type de complexe que pour la cystéine jusqu'à pH 9. Lorsqu'on dépasse ce pH, le remplacement d'un atome de soufre par l'amide dans la coordination entraîne une variation des longueurs d'onde vers l'ultraviolet. Le spectre dichroïque appuie cette hypothèse puisque les bandes de transfert de charge du soufre diminuent et les bandes d-d subissent de fortes variations.

Les spectres R.M.N. du proton à pH élevé montrent que les deux conformères I et II sont favorisés lors de la complexation avec le palladium alors que le conformère III disparaît totalement. La coordination entre l'amine et le soufre est favorisée lorsque la liaison amide se situe en position trans comme dans le conformère II. Le conformère I correspondrait plus à une coordination de l'amide et de l'amine avec Pd(II) ce qui expliquerait l'accroissement de sa population entre pH 9 et pH 11 (figure 51). Le spectre de carbone 13 permet de montrer la coordination du soufre et à haut pH, la variation du déplacement chimique de C=O serait due à la coordination du ligand par l'amide. On peut voir que la coordination du soufre et de l'amine ainsi que celle de l'amide et de l'amine forment un cycle à cinq chaînons.

Les deux systèmes Cys-Pd(II) et CysGly-Pd(II) donnent avec un excès de ligand, le complexe avec deux azotes et deux soufres, le second conduisant à la formation du complexe avec l'amide lorsque le pH est élevé, le palladium ayant une plus forte affinité pour les azotes



que pour les sulfures<sup>7</sup>.

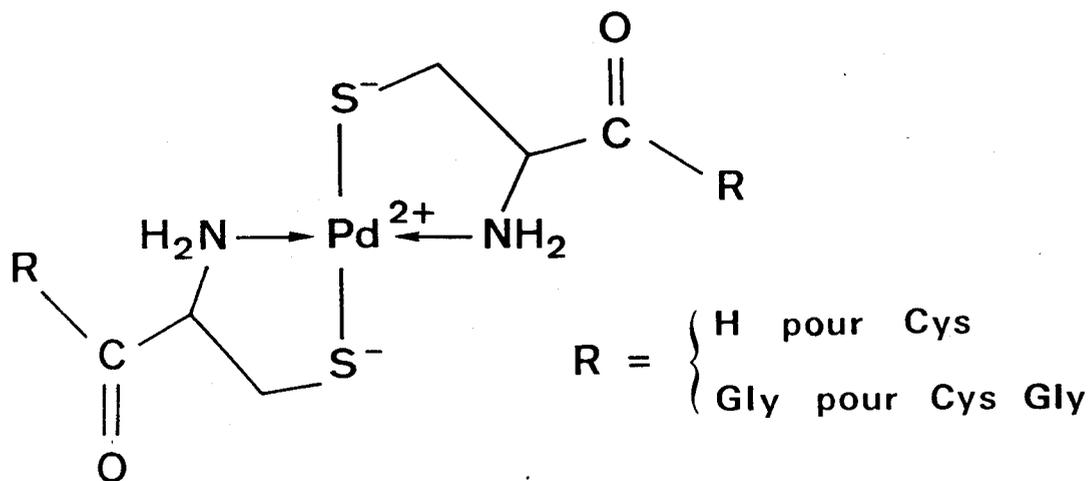


Figure 50

Structure du complexe  $PdL_2$  de Cys et de CysGly

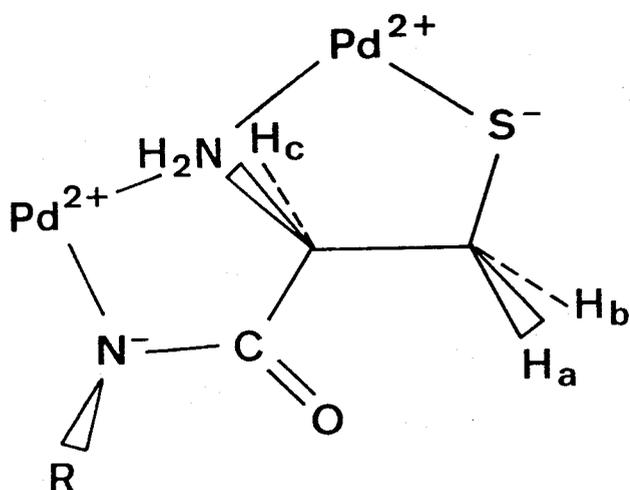
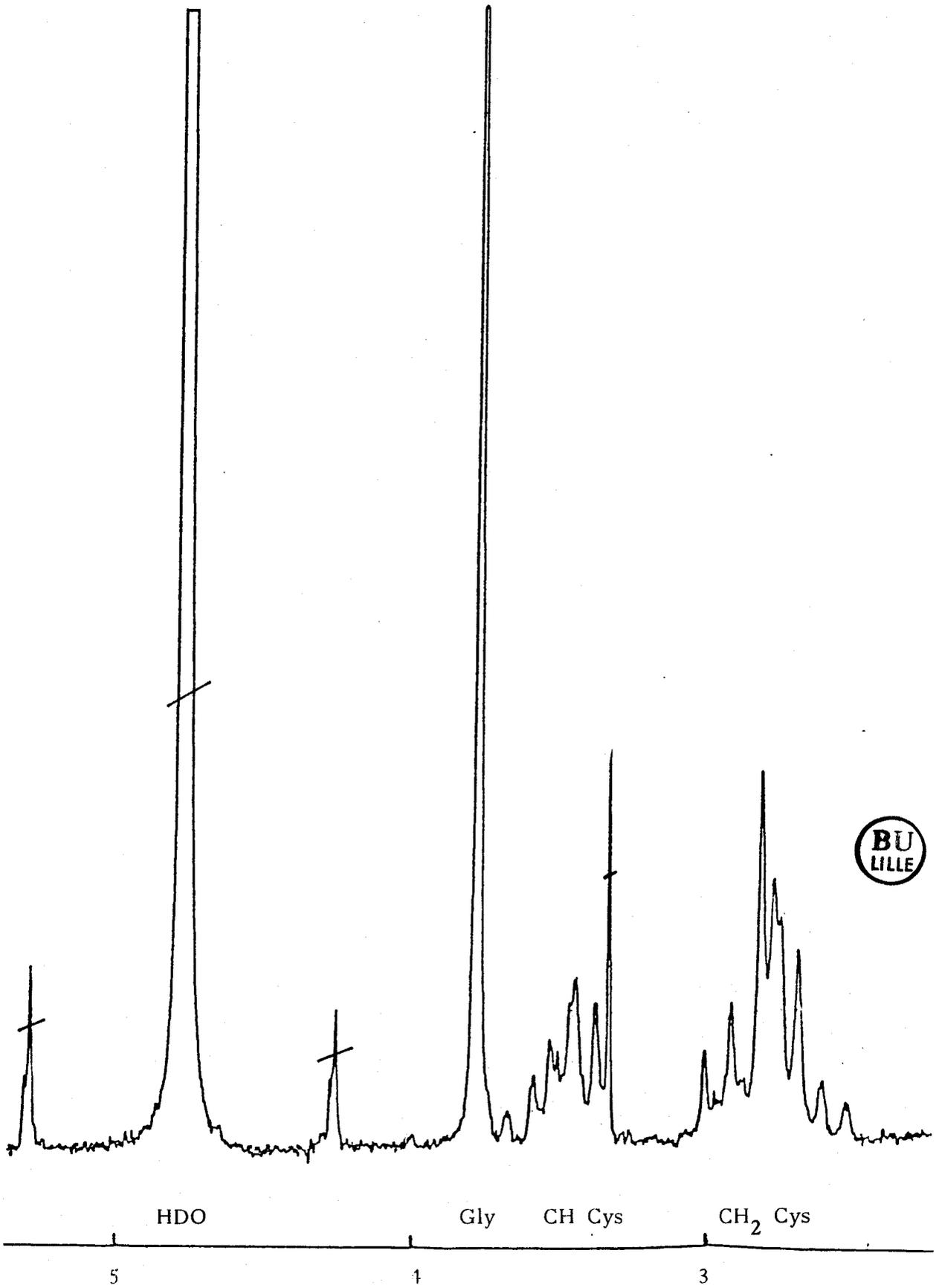


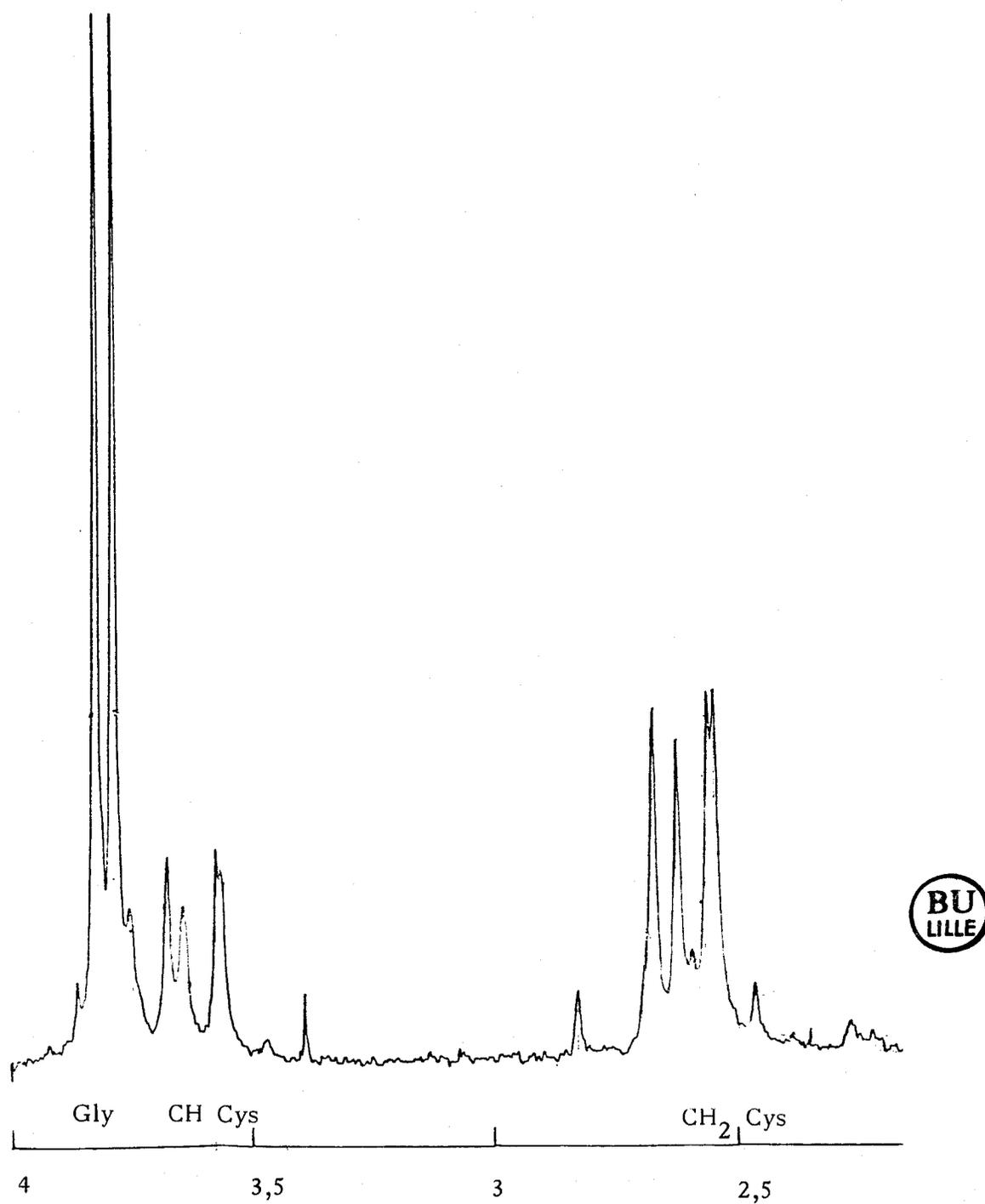
Figure 51

Structure des différents types de complexation de CysGly dans le cas du rotamère I.



**Figure 52a**

Spectres R.M.N. de CysGly



**Figure 52b**

Spectres R.M.N. de CysGly avec Pd(II)

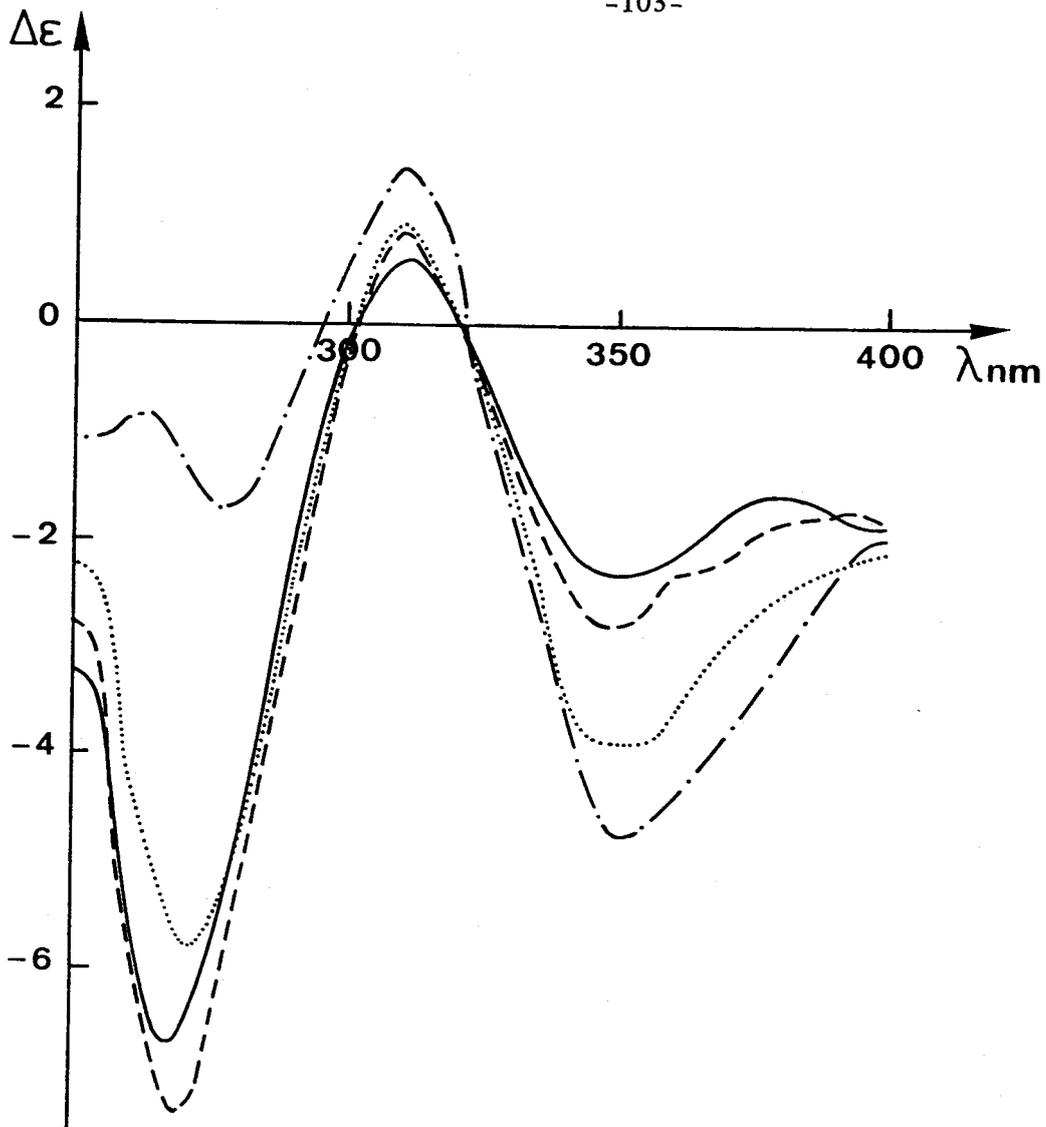
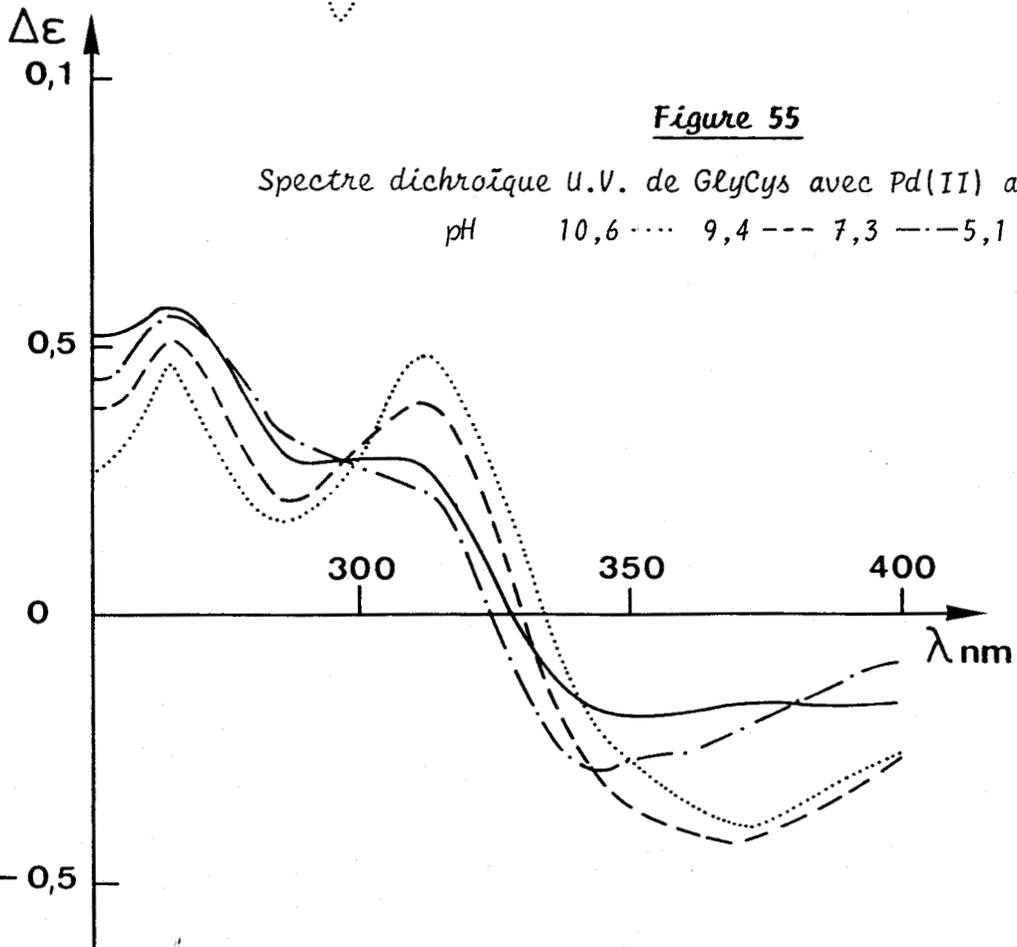
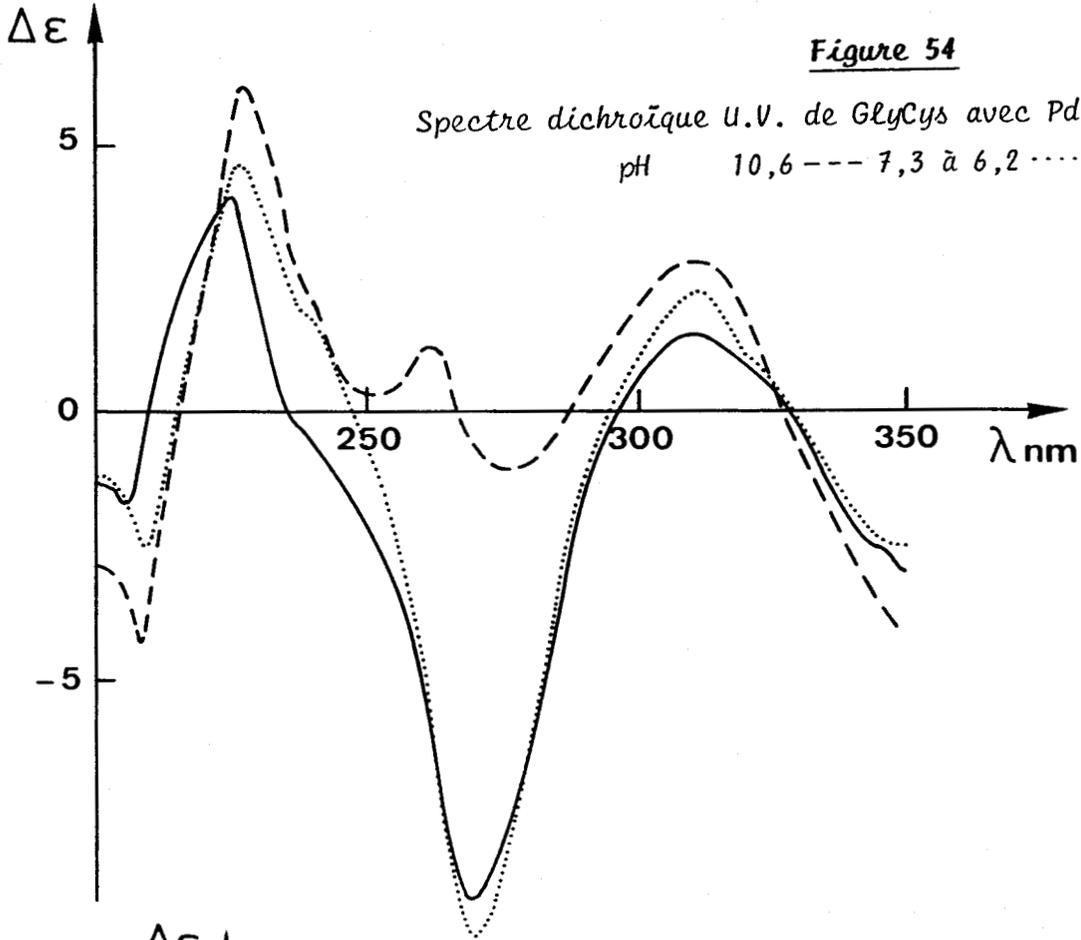


Figure 53

Spectre dichroïque visible de GlyCys avec Pd(II) au rapport 1

pH 10,6 --- 9,4 ..... 7,3 --- 2,9 —





pH	$\delta_A$	$\delta_B$	$\delta_C$	$J_{AB}$	$J_{AC}$	$J_{BC}$	$P_I$	$P_{II}$	$P_{III}$	$\delta A(gly)$	$\delta B(gly)$
CysGly											
9,8	213,0	227,3	272,9	14,0	7,85	4,73	0,20	0,48	0,32	303,5(a)	
11,0	215,6	226,9	276,9	13,1	7,02	5,32	0,25	0,40	0,35	303,0(a)	
Pd(L-CysGly) <sub>2</sub>											
9,0	204,6	212,6	294,1	12,3	7,78	7,81	0,48	0,47	0,05	300,6	311,0(a)
11,0	203,4	211,8	293,3	12,8	6,27	9,80	0,65	0,34	0,01	300,1	310,5(a)
GlyGlyCys											
12,3	220,8	235,8	325,6	12,8	8,68	4,15	0,10	0,65	0,25	275,8	326,3(a)
Pd(GlyGlyCys) <sub>2</sub>											
11,8	224,1	241,9	324,9	11,9	2,78	4,64	0,19	0,02	0,79	277,0	289,5(a)
pH		$\delta CH(Cys)$		$\delta CH_2(Cys)$		$\delta CO$		$\delta CH_2(Gly)$			$\delta COO^-$
CysGly											
7,4		56,9		28,8		174,6		43,6			176,7
12,0		59,1		30,9		177,0		43,6			177,1
Pd(L-CysGly) <sub>2</sub>											
7,4		64,1		31,0		171,1		43,8			177,0
12,0		64,2		32,4		172,6		43,8			177,4

TABLEAU XII : Paramètres des spectres de proton et de carbone 13 pour différents peptides thiolés et leurs complexes avec le Palladium (II).

Les déplacements chimiques et les constantes de couplages sont données en Hz pour le proton et en ppm pour le <sup>13</sup>C.

(a) Pour CysGly seul les protons forment un singulet, avec Pd(II) un doublet. Pour GlyGlyCys A et B représentent les deux singulets que donnent les deux glycines.



pH	DICHROISME CIRCULAIRE			U.V. VISIBLE		
	$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution	$\lambda$	$\epsilon$	Attribution
<b>Rapport 1</b>						
2,9	352	- 2,27	A	305e	4096	d-d
	310	+ 0,66	E			
	270	- 9,26	$\pi S \rightarrow Pd$	260	7440	$S \rightarrow Pd$
	224	+ 4,17	$\sigma S \rightarrow Pd$			
6,8	352	- 2,82	A	306e	3680	d-d
	312	+ 0,77	E			
	271	-10,0	$\pi S \rightarrow Pd$	260	7600	$S \rightarrow Pd$
	226	+ 5,25	$\sigma S \rightarrow Pd$			
9,7	352	- 3,94	A	302e	4016	d-d
	310	+ 0,87	E			
	272	- 7,27	$\pi S \rightarrow Pd$	260	7600	$S \rightarrow Pd$
	228	+ 5,45	$\sigma S \rightarrow Pd$			
11,3	352	- 4,67	A	304e	3696	d-d
	310	+ 1,52	E			
	278	- 1,05	$\pi S \rightarrow Pd$	260	8300	$S \rightarrow Pd$
	262	+ 1,35	$Pys \rightarrow Pd$			
	226	+ 6,17	$\sigma S \rightarrow Pd$			
<b>Rapport 2</b>						
3,30	348	+ 0,19	A + E	360e	3904	d-d
				312e	5488	d-d
	273	+ 0,85	$S \rightarrow Pd$	270	9940	$S \rightarrow Pd$
5,1	354	- 0,46	A	360e	4000	d-d
	304	+ 0,79	E	315e	5576	d-d
	266	+ 1,42	$S \rightarrow Pd$	270	10100	$S \rightarrow Pd$
9,4	376	- 1,04	A			
	312	+ 1,01	E			
	264	+ 1,30	$S \rightarrow Pd$			
10,6	376	- 0,99	A	360e	3330	d-d
	310	+ 1,22	E	317e	4810	d-d
	264	+ 1,18	$S \rightarrow Pd$	262	10600	$S \rightarrow Pd$



**TABLEAU XIII** : Valeur des maxima en dichroïsme circulaire et en U.V. visible pour GlyCys avec Pd(II)  
e : épaulement.

C - GLYCYL - L - CYSTEINE

Les spectres d'absorption et dichroïque de GlyCys sont identiques dans tout le domaine de pH et en accord avec une coordination ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}^-$ ,  $\text{S}^-$ ). Seule la déprotonation de l'eau à haut pH entraîne des variations dans les bandes de transfert de charge avec l'apparition d'une bande positive à 262 nm. Dans le spectre dichroïque, les bandes à 352 et 310 nm sont attribuées aux transitions A et E, alors que les deux bandes à 272 et 226 nm sont dues aux transitions de transfert de charge du soufre, la première recouvrant deux transitions comme le montrent les spectres à pH basique (figure 54). Dans le rapport 2, la complexation avec quatre azotes ( $2\text{NH}_2$ ,  $2\text{N}^-$ ) est favorisée ce qui explique la faible intensité des bandes de transfert de charge du soufre. La valeur de la bande d-d du complexe à 315 nm confirme la prédominance de la coordination avec deux amines et deux amides montrant dans ce cas que le palladium forme plus facilement des liaisons avec des azotes amides qu'avec le thiolate. Les spectres R.M.N. n'étaient pas assez bien définis pour que l'on puisse en tirer les populations de rotamères.

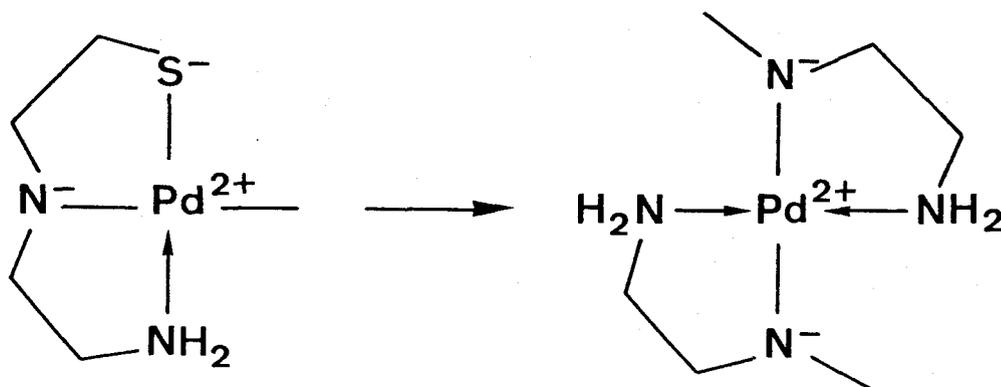


Figure 56

Structure des complexes de GlyCys avec Pd(II)

pH	DICHROISME CIRCULAIRE			U.V. VISIBLE		
	$\lambda$	$\Delta \epsilon$	Attribution	$\lambda$	$\epsilon$	Attribution
<b>Rapport 1</b>						
5,5	352	+ 1,31	A	372e	1824	A
	296	+ 8,29	E	299	4192	E
	266	- 3,52	$\pi S \rightarrow Pd$	240	13200	$S \rightarrow Pd$
	230	+ 3,58	$\sigma S \rightarrow Pd$			
8,7	354	+ 1,27	A	362e	2400	A
	294	+ 5,80	E	300	4680	E
	265	- 2,77	$\pi S \rightarrow Pd$	240e	12320	$S \rightarrow Pd$
	230	+ 6,49	$\sigma S \rightarrow Pd$			
10,5	356	+ 0,65	A	358e	2790	A
	290	- 2,66	E	295e	4384	E
<b>Rapport 2</b>						
3,8	320	+ 0,23	A	370	2040	A
	266	+ 0,35	E	270	7360	E
7,3	313	- 0,66	A	300e	4464	A
	274	+ 0,99	E	244e	5000	E
10,6	312	- 1,43	A	296e	3990	d-d
	272	+ 0,90	E			

**TABLEAU XIV** : Valeur des maxima en dichroïsme circulaire et en U.V. visible pour GlyGlyCys avec Pd(II)

e : épaulement

Les  $\lambda$  sont nm et les  $\epsilon$  en  $\text{mole}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (pour tous les tableaux).



D - GLYCYLGLYCYLCYSTEINE

Avec ce ligand, les bandes de spectroscopie U.V. visible à 300 et 370 nm sont attribuées aux deux transitions d-d respectivement A et E alors que celle se situant à 240 nm est attribuée aux transitions de transfert de charge du soufre. Sa disparition à haut pH nous confirme que la liaison S-Pd est peu stable probablement pour des raisons stériques (3 cycles consécutifs à 5 chaînons) et le soufre est donc facilement remplacé par l'ion hydroxyle à haut pH. Le spectre dichroïque permet de mieux voir ce changement de complexation, les deux bandes de transfert de charge du soufre n'étant plus visibles à haut pH. Les bandes d-d à 354 et 290 nm sont attribuées respectivement aux transitions A et E. Dans le rapport 2, à tout pH, on observe les bandes d-d à 270 et 370 nm qui subissent un déplacement hysochrome vis à vis de celles du rapport 1. Cela correspond à la coordination de deux amines et deux amides qui confirme le peu de stabilité de la complexation du soufre lorsqu'il se trouve en dernière position. Comme dans le rapport 1, dans tout le domaine de pH, les bandes de transfert de charge du soufre sont inexistantes ce qui confirme l'absence du soufre dans la coordination du palladium. Les spectres R.M.N. confirment cette absence car les protons de la cystéine ne subissent que de faibles déplacements. Le fort déplacement des protons d'une des glycines confirme la complexation du peptide par l'amine et la première amide du peptide. On remarquera que la population de rotamères de la cystéine malgré la non coordination de celle-ci varie fortement. Ceci doit être mis au crédit de l'encombrement stérique provoqué par la coordination des deux premiers azotes du peptide.

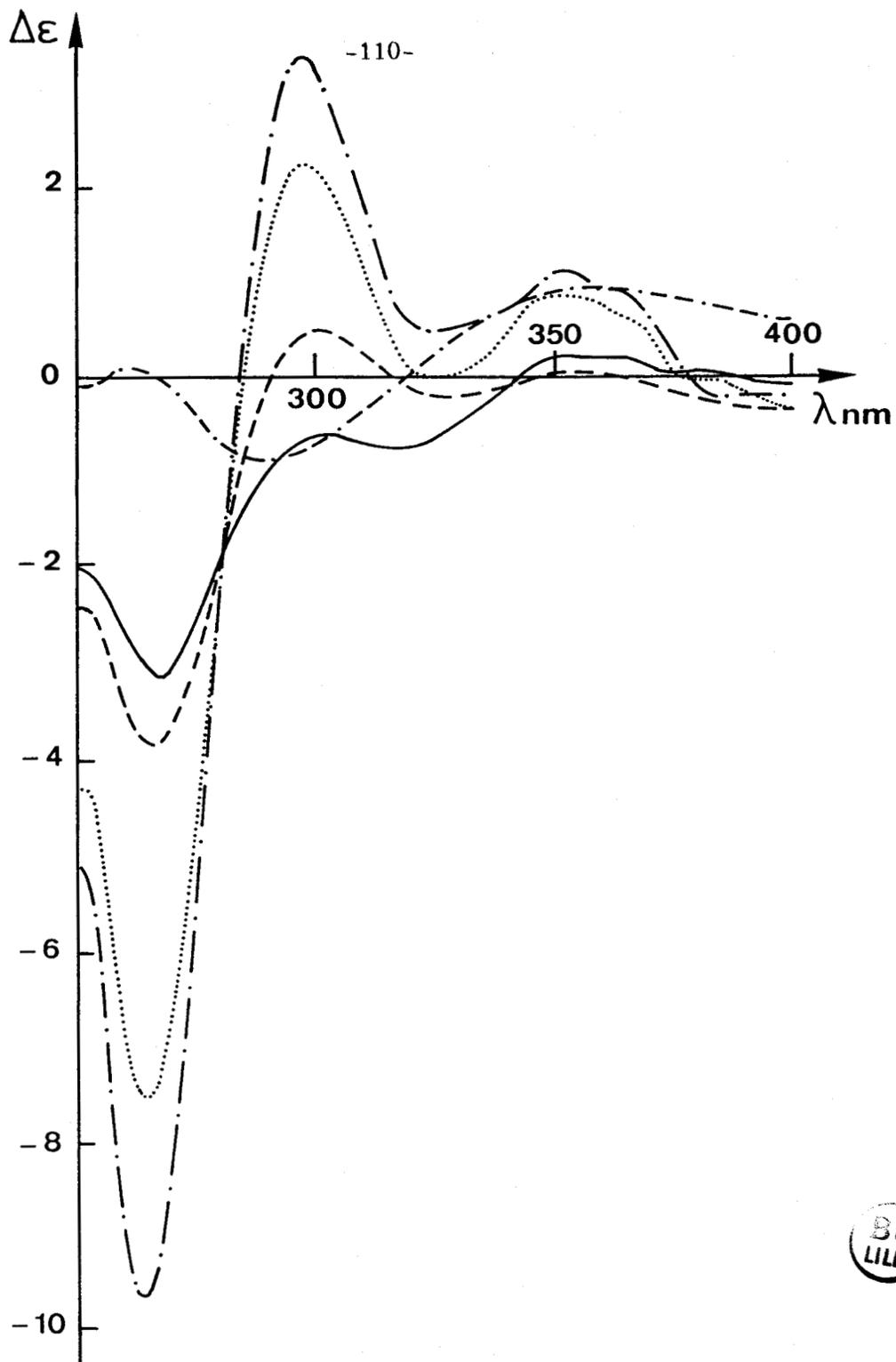


Figure 58

Spectre dichroïque de GlyGlyCys avec Pd(II) au rapport 1  
 pH 10,5 --- 9,0 — 7,8 ... 5,8 --- 3,1 ---

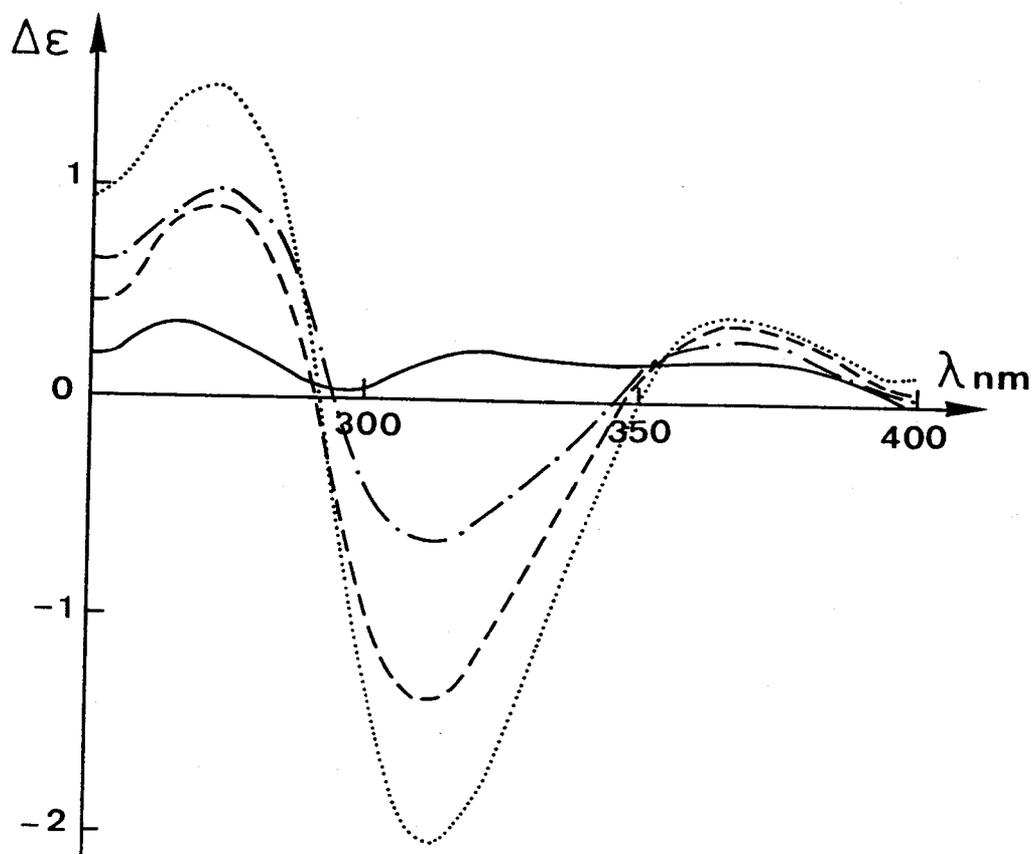


Figure 59

Spectre dichroïque de GlyGlyCys avec Pd(II) au rapport 2  
 pH 10,5 --- 8,6 ..... 7,4 --- 3,8 —

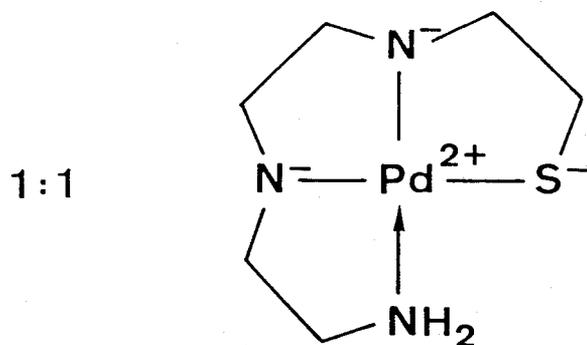


Figure 57a

Structure des complexes de GlyGlyCys avec Pd(II)(PdL)

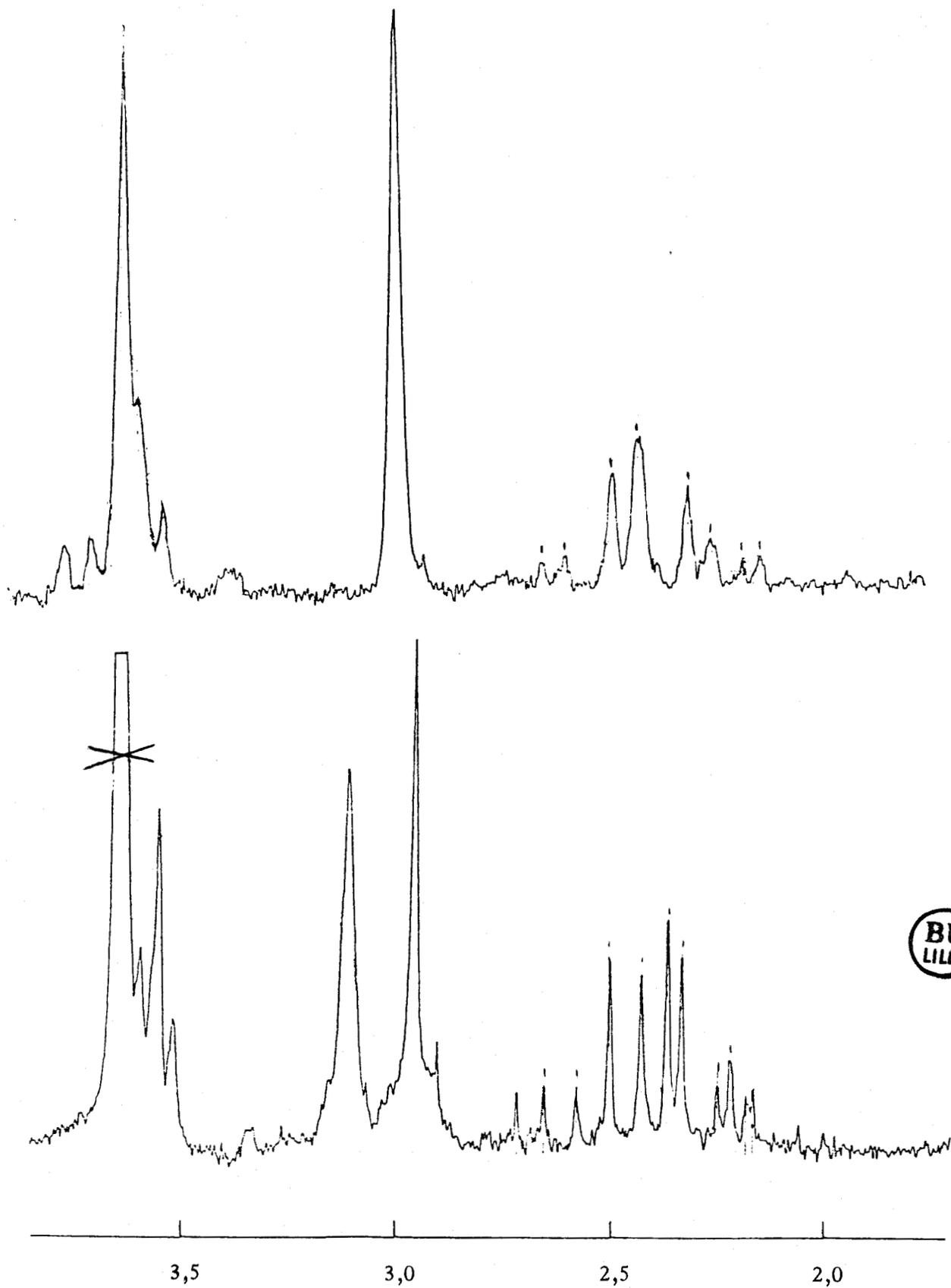


Figure 60

Spectres R.M.N. de GlyGlyCys avec (b) et sans Pd(II) (a)

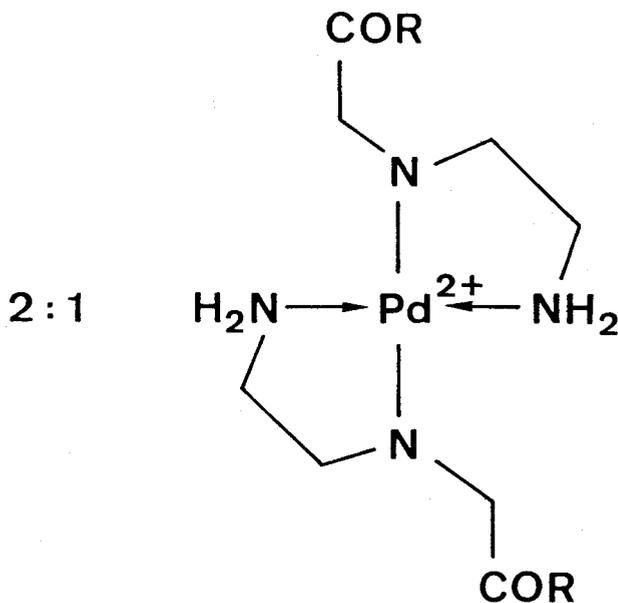


Figure 57b

Structure des complexes de GlyGlyCys avec Pd(II)(PdL<sub>2</sub>)

## CONCLUSION

Dans ce travail, les spectres dichroïques ont permis de mettre en évidence les trois bandes de transfert de charge du soufre comme cela avait été suggéré auparavant<sup>12</sup>. L'utilisation de ces bandes de transfert de charge a été très utile pour montrer l'absence de coordination du soufre. Ce résultat, appuyé par les spectres R.M.N. nous a permis de montrer que le soufre (thiol) n'était pas l'initiateur de complexation des peptides étudiés et que lorsque la distance était trop importante entre l'amine et le thiol celui-ci n'était pas suffisamment lié pour rester coordonné à haut pH ou avec la concurrence d'une autre fonction amine provenant d'un autre ligand. Ceci s'est vérifié surtout dans le cas du tripeptide où l'ion OH<sup>-</sup> dans le rapport 1 et un autre peptide dans le rapport 2 se sont substitués à la complexation du thiol.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### Chapitre IV

--0000000--

- 1) E.W. WILSON Jr. et R.B. MARTIN  
*Inorg. Chem.* 9, 528 (1970)
- 2) E. JORGENSEN et J. BJERRUM  
*Acta Chem. Scand.* 12, 1047 (1958)
- L. RASMUSSEN et C.K. JORGENSEN  
*Acta Chem. Scand.* 22, 2313 (1968)
- 3) B. JEZOWSKA-TRZEBIATOWSKA, G. FORMICKA-KOZLOWSKA et H. KOZLOWSKI  
*Bull. Acad. Pol. Sciences* 26, 561 (1978)
- 4) B. JEZOWSKA-TRZEBIATOWSKA, A. ALLAIN et H. KOZLOWSKI  
*Bull. Acad. Pol. Sciences* 25, 971 (1977)
- 5) W. LEVASON et C.A. Mac AULIFFE  
*Inorg. Nucl. Chem. Letters* 13, 123 (1977)
- 6) B. DECOCK-LE REVEREND, C. LOUCHEUX, T. KOWALIK et H. KOZLOWSKI  
*Inorg. Chim. Acta* 66, 205 (1982)
- 7) H. KOZLOWSKI, B. DECOCK-LE REVEREND, J.L. DELARUELLE, C. LOUCHEUX  
et B. ANCIAN  
*Inorg. Chim. Acta* 78, 31 (1983)
- 8) D.C. JICHA et D.H. BUSCH  
*Inorg. Chem.* 1, 872 et 878 (1964)
- 9) S.T. CHOW, C.A. Mac AULIFFE et B.J. SAYLE  
*J. Inorg. Nucl. Chem.* 35, 4349 (1973)
- 10) K. NAKAYAMA, T. KOMORITA et Y. SHINURA  
*Bull. Chem. Soc. Japan* 57, 1336 (1984)
- 11) J. SCHUGAR dans "Copper coordination chemistry : biological and  
inorganic perspectives" K.D. KARLIN et J. ZUBIETTA eds, Adenine  
Press N.Y. p 43 (1982)
- 12) E.I. SOLOMON, K.W. PENFIELD et D.E. WILCOX  
*Structure and bonding* 53, 1 (1983)

13) M.C. LIM et R.B. MARTIN  
J. Inorg. Nucl. Chem. 38, 1911 (1976)

14) R.F. COLEY et D.S. MARTIN  
Inorg. Chim. Acta 7, 573 (1973)

15) E.W. WILSON Jr. et R.B. MARTIN  
Inorg. Chem. 10, 1197 (1971)

--0000000--

--0000000--

**CONCLUSION**

--0000000--

La première partie de ce travail a consisté à mettre au point la synthèse de peptides thiolés. Nous avons pour cela utilisé le groupe trityle que l'on a coupé par réaction avec de l'argent suivie d'une réduction par  $H_2S$ . Cette méthode nous a permis de synthétiser L-cystéinyl-glycine et glycyl-L-cystéine.

Dans une seconde partie, nous avons étudié la complexation de ces deux dipeptides, de la cystéine et de deux tripeptides, GlyGlyCys et le glutathion, avec le Ni(II) et le Pd(II).

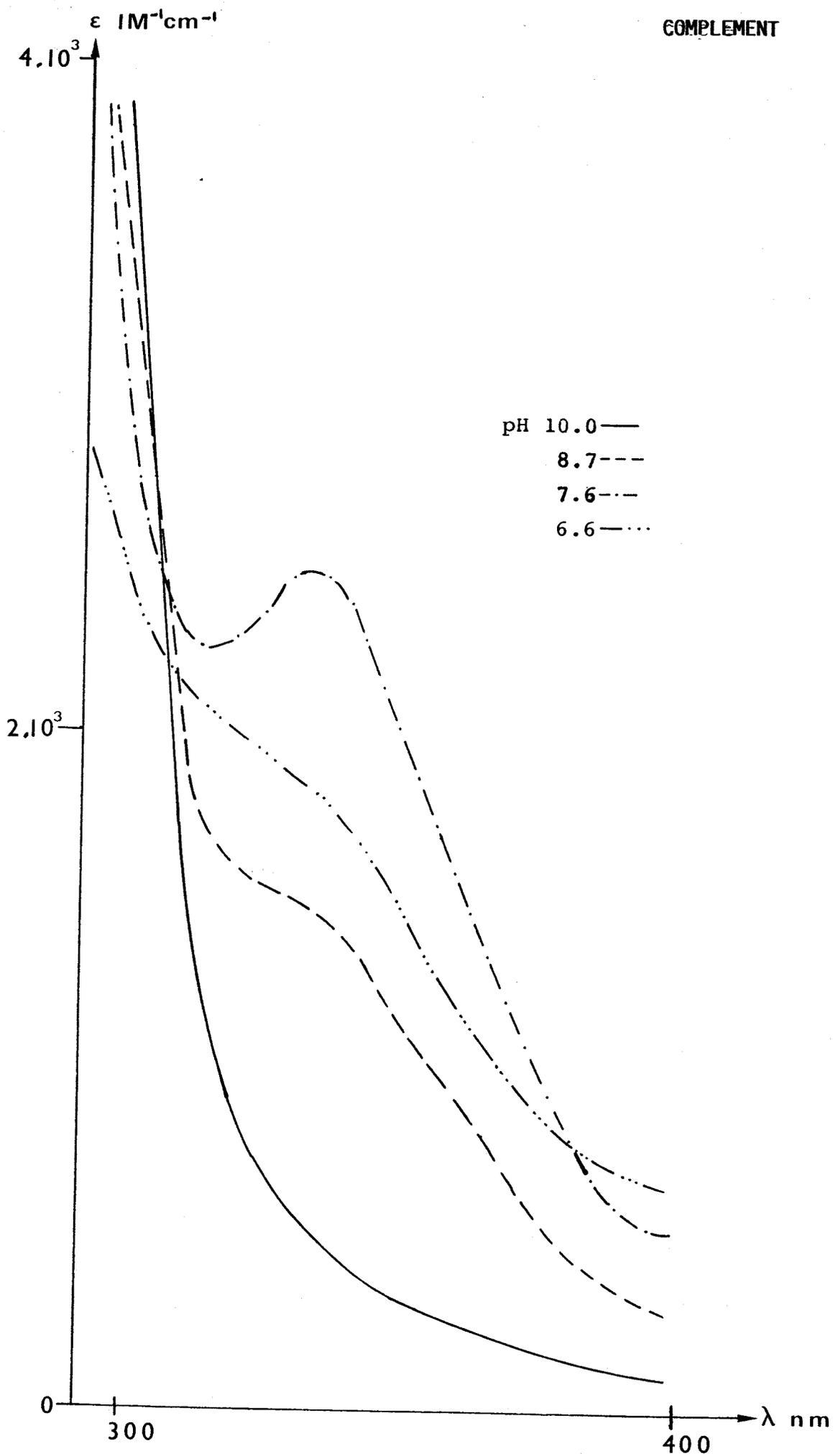
Ainsi, à l'aide de la potentiométrie et des spectroscopies U.V. visible, de dichroïsme circulaire et de R.M.N., nous avons pu déterminer les différents complexes formés en solution aqueuse.

Nous avons obtenus avec les deux métaux étudiés, des bandes de transfert de charge montrant l'existence de trois transitions dues à la liaison soufre-métal, ce qui confirme l'hypothèse émise par SOLOMON. Cela se vérifie notamment dans le cas des systèmes Pd(II) - cystéine et Ni(II) - Cys-gly. la détection de ces bandes dans les spectres électroniques ou dichroïques constitue une preuve de la participation du soufre à la complexation avec ces ions métalliques.

Dans le cas de la complexation avec le nickel, on a montré l'existence d'espèces polynucléaires dont la stabilité dépend du rapport ligand/métal, du pH et de l'encombrement stérique du peptide. Les ligands à deux et trois sites de complexation se sont avérés être les mieux adaptés à la formation de ces espèces.

Pour le glutathion, on a confirmé la présence de complexes plan-carrés à pH 7 et 12 dans le rapport ligand/métal 10. Grâce aux bandes de transfert de charge du soufre, on a pu mettre en évidence la participation du soufre à la complexation entre ces deux pH.

Avec le palladium, nous avons pu constater que le soufre n'est pas le site de complexation le plus favorable dans les peptides : lorsqu'il se trouve dans un système à deux ou trois chélates, en fin de chaîne, il est facilement substitué par l'amine d'une autre molécule ou par l'ion hydroxyle.



Spectre U.V. visible de Gly-Cys:Ni 4:1 à différents pH

Figure 1

Transitions du groupe carbonyle

Figure 2

Transitions d-d des complexes plan-carrés

Figure 3

Eclatement des niveaux énergétiques suivant la symétrie  
dans le cas du nickel (II)

Figure 4

Transitions d-d des complexes octaédriques

Figure 5

Transitions de transfert de charge  
entre un ligand et un métal

Figure 6

Schéma du phénomène de dichroïsme circulaire

Figure 7

Spectre R.M.N. de type ABC de la cystéine<sup>20</sup>

Figure 8

Notation des rotamères de résidus thiols d'acides-amino

## TABLEAUX & FIGURES

### Chapitre III

--0000000--

**Tableau IV** : Valeur des maxima en dichroïsme et en U.V. visible des complexes de la cystéine avec Ni(II).

**Tableau V** : Log( ) des espèces en solution de CysGly(L) avec Ni(II)

**Tableau VI** : Valeur des maxima en dichroïsme et en U.V. visible des complexes de la L-cystéinyglycine(L) avec Ni(II)

**Tableau VII** : Log( ) des espèces en solution de GlyCys(A) avec Ni(II)

**Tableau VIII** : Valeur des maxima en dichroïsme et en U.V. visible des complexes de la GlyCyl-L-cisteine avec Ni(II)

**Tableau IX** : Données spectroscopiques et potentiométriques de GlyGlyCys avec Ni(II)

**Tableau X** : Données dichroïques du complexe du glutathion avec Ni(II) à pH 12.

--0000000--

#### **Figure 9**

Structure du complexe  $Ni_3L_4$  avec le 2-aminoéthanethiol<sup>6</sup>

#### **Figure 10**

Structure du complexe  $Ni_3Cys_4$

#### **Figure 11**

Structure du complexe  $NiL_2$  pour Cys et CysGly

**Figure 12**

Spectre dichroïque visible de Cys avec Ni(II) rapport 1  
pH 9,8 --- 8,5 — 7,5 ..... 5,6 ---

**Figure 13**

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Ni(II) rapport 1  
pH 9,8 --- 8,5 — 7,5 ..... 5,6 ---

**Figure 14**

Spectre dichroïque visible de Cys avec Ni(II) rapport 2  
pH 10,0 ..... 7,6 --- 5,6 — 5,1 ---

**Figure 15**

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Ni(II) rapport 2  
pH 10,0 ..... 7,6 --- 5,6 — 5,1 ---

**Figure 16**

Spectre dichroïque visible de Cys avec Ni(II) rapport 4  
pH 11,2 à 8,1 --- 6,3 ..... 5,8 --- 5,1 —

**Figure 17**

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Ni(II) rapport 4  
pH 11,2 à 8,1 --- 6,3 ..... 5,8 --- 5,1 —

**Figure 18**

Spectre dichroïque visible de CysGly avec Ni(II) rapport 1  
pH 9,3 --- 8,1 ..... 6,6 --- 5,1 —

**Figure 19**

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Ni(II) rapport 1  
pH 9,3 --- 8,1 ..... 6,6 --- 5,1 —

**Figure 20**

Spectre dichroïque visible de CysGly rapport 2  
pH 10,0 --- 8,3 --- 6,2 —

**Figure 21**

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Ni(II) rapport 2  
pH 10,0 ---- 8,3 - - - 6,2 —

**Figure 22**

Spectre dichroïque visible de CysGly avec Ni(II) rapport 4  
pH 10,0 à 5,9 —

**Figure 23**

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Ni(II) rapport 4  
pH 10,0 à 8,1 — 5,9 - - -

**Figure 24**

Courbes de répartition des espèces de CysGly avec Ni(II)  
Rapport 2

**Figure 25**

Courbes de répartition des espèce de CysGly avec Ni(II)  
Rapport 1

**Figure 26**

Structure du complexe  $Ni_2L_2H_{-2}$

**Figure 27**

Spectre R.M.N. de glycylocystéine avec Ni(II) à pH 12 (a) avec  
découplage à 2,6 ppm (b) (comp. 1 lié par le soufre,  
comp. 2 lié par le soufre, l'amide et l'amine)

**Figure 28**

Spectre dichroïque visible de GlyCys avec Ni(II) rapport 1  
pH 10,5 ---- 8,0 — 6,3 ···· 6,0 ---- 5,6 - - - -

**Figure 29**

Spectre U.V. visible de GlyCys avec Ni(II) rapport  
pH 10,5 — 8,6 ---- 6,3 ···· 6,0 ---- 5,6 - - - -

**Figure 30**

Spectre dichroïque visible de GlyCys avec Ni(II) Rapport 4  
pH 10,0 --- 8,2 ..... 6,7 --- 6,0 —

**Figure 31**

Spectre dichroïque U.V. de GlyCys avec Ni(II) Rapport 4  
pH 10,0 ..... 8,2 --- 6,7 --- 6,0 —

**Figure 32**

Spectre dichroïque d'un mélange GlyCys:Ni 1:1 avec différents  
rapports de cystéine à pH 8,7  
0 — 0,5 --- 1,0 ..... 1,2 --- 18 —

**Figure 33**

Courbes de l'espèce  $Ni_2L_2H_{-2}$   
en fonction du rapport ligand/métal

**Figure 34**

Courbes de répartition des espèces du mélange GlyCys  
avec Ni(II) dans le rapport 2,4

**Figure 35**

Courbes de répartition des espèces du mélange GlyCys  
avec Ni(II) dans le rapport 1,5

**Figure 36**

Structure du complexe du Ni(II) avec GlyGlyCys

**Figure 37**

Courbes de répartition des espèces de GlyGlyCys avec le nickel  
dans le rapport 1

**Figure 38**

Spectre visible du glutathion avec Ni(II)  
pH 12,1 — 11,4 --- 8,9 .....

**Figure 39**

Spectre visible du glutathion avec Ni(II)

pH 8,3 ···· 7,7 --- 6,9 —

**Figure 40**

Structure du complexe du glutathion avec Ni(II) à pH 12<sup>25</sup>

--000000--

## TABLEAUX & FIGURES

### Chapitre IV

--0000000--

**Tableau X** : Valeur des maxima en dichroïsme et en U.V. visible pour la L-cystéine avec Pd(II)

**Tableau XI** : Valeur des maxima en dichroïsme et en U.V. visible pour la L-cystéinylglycine avec Pd(II)

**Tableau XII** : Paramètres des spectres de proton et de carbone 13 pour différents peptides thiolés et leurs complexes avec Pd(II).

**Tableau XIII** : Valeur des maxima en dichroïsme et en U.V. visible pour la glycyl-L-cystéine avec Pd(II).

**Tableau XIV** : Valeur des maxima en dichroïsme et en U.V. visible pour la glycylglycyl-L-cystéine avec Pd(II).

--0000000--

#### Figure 41

*Spectre dichroïque visible de Cys avec Pd(II) au rapport 1*

pH 10,5 — 8,9 --- 5,3 .... 1,6 ---

#### Figure 42

*Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Pd(II) au rapport 1*

pH 10,5 --- 8,9 --- 5,3 .... 1,6 —

#### Figure 43

*Spectre dichroïque visible de Cys avec Pd(II) au rapport 2*

pH 11,4 — 7,0 --- 5,8 --- 2,3 ....

Figure 44

Spectre dichroïque U.V. de Cys avec Pd(II) au rapport 2

pH 11,4 --- 7,0 ..... 5,8 —

Figure 45

Transitions de transfert de charge entre le soufre  
et un métal suivant SCHUGAR<sup>11</sup> et SOLOMON<sup>12</sup>

Figure 46

Spectre dichroïque visible de CysGly avec Pd(II)  
au rapport 1

pH 11,5 --- 9,2 — 6,7 --- 3,8 .....

Figure 47

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Pd(II) au rapport 1

pH 11,5 — 6,8 --- 3,8 ..... 1,0 —

Figure 48

Spectre dichroïque visible de CysGly avec Pd(II) au rapport 2

pH 11,4 à 9,8 — 8,0 --- 4,0 .....

Figure 49

Spectre dichroïque U.V. de CysGly avec Pd(II) au rapport 2

pH 11,4 --- 9,8 — 8,8 --- 4,0 .....

Figure 50

Structure du complexe PdL<sub>2</sub> de Cys et de CysGly

Figure 51

Structure des différents types de complexation de CysGly  
dans le cas du rotamère I.

Figure 52

Spectres R.M.N. de CysGly avec (b) ou sans Pd(II) (a).

Figure 53

Spectre dichroïque visible de GlyCys avec Pd(II) au rapport 1  
pH 10,6 --- 9,4 ..... 7,3 --- 2,9 ---

Figure 54

Spectre dichroïque U.V. de GlyCys avec Pd(II) au rapport 1  
pH 10,6 --- 7,3 à 6,2 ..... 2,9 ---

Figure 55

Spectre dichroïque U.V. de GlyCys avec Pd(II) au rapport 2  
pH 10,6 ..... 9,4 --- 7,3 --- 5,1 ---

Figure 56

Structure des complexes de GlyCys avec Pd(II)

Figure 57

Structure des complexes de GlyGlyCys avec Pd(II)  
a) PdL - b) PdL<sub>2</sub>

Figure 58

Spectre dichroïque de GlyGlyCys avec Pd(II) au rapport 1  
pH 10,5 --- 9,0 --- 7,8 ... 5,8 --- 3,1 ---

Figure 59

Spectre dichroïque de GlyGlyCys avec Pd(II) au rapport 2  
pH 10,5 --- 8,6 ..... 7,4 --- 3,8 ---

Figure 60

Spectres R.M.N. de GlyGlyCys avec (b) et sans Pd(II) (a)

--0000000--

