

SUR L'HYDROLYSE COMPARÉE DANS HCl CONCENTRÉ DES DÉRIVÉS BENZOYLÉS DE L'ALANINE ET DE LA SÉRINE

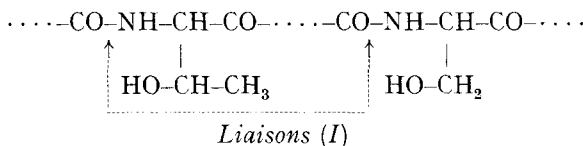
par

P. DESNUELLE, M. ROVERY ET G. BONJOUR

Laboratoire de Chimie Biologique. Faculté des Sciences, Marseille (France)

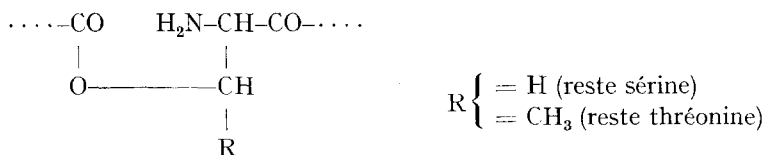
On sait depuis BERGMANN que le chlorure de thionyle provoque la cyclisation en oxazolines substituées des dérivés N-benzoylés de certaines α oxyamines (N-benzoyl-sérine, par exemple¹). Les cycles ainsi formés sont facilement rompus par HCl dilué au niveau de leur double liaison carbone-azote, laissant fixé à l'oxygène le radical benzoylé primitivement accroché à l'azote. Partant d'une liaison amide stable à l'hydrolyse acide, cette transposition donne ainsi naissance à une liaison ester beaucoup plus labile.

D'autre part, nous avons montré récemment² que, dans les protéines, HCl concentré hydrolyse à 30° les liaisons (I) de la sérine et de la thréonine notablement plus vite que



les autres liaisons peptidiques. Cette sensibilité particulière des liaisons (I), on peut tenter de l'expliquer par une transposition analogue à celle décrite par BERGMANN. Il suffit d'ailleurs d'admettre que HCl concentré soit capable de former des cycles oxazoline au niveau de ces liaisons. La cyclisation une fois réalisée, l'acide achèvera facilement la rupture des liaisons (I):

1. en faisant apparaître des structures (II) par ouverture des cycles;
2. en hydrolysant les liaisons ester que renferment ces structures.



Structure (II)

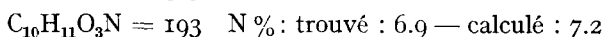
Notre hypothèse réclame évidemment que le processus intermédiaire le plus lent — qui impose sa vitesse à l'ensemble du phénomène — se déroule dans les conditions expérimentales utilisées, plus rapidement que l'hydrolyse des liaisons peptidiques restées sous la forme amide. En ce qui concerne les protéines, ce processus paraît être le dernier de la série, c'est-à-dire la scission des liaisons ester des structures (II). Nous avons en effet rendu probable, quoique de façon assez indirecte, l'accumulation de ces structures dans les premiers instants de l'hydrolyse protéique. Autrement dit, la stabilité des

liaisons (I) vis-à-vis de HCl concentré serait en dernière analyse celle manifestée par des liaisons ester et il ne serait pas étonnant qu'elle soit bien inférieure à la stabilité des autres liaisons peptidiques.

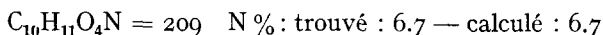
Ces considérations, il nous a paru intéressant de chercher jusqu'à quel point elles s'appliquent à des molécules simples et nous avons comparé, au cours du présent travail, le comportement dans HCl concentré à 30° de la N-benzoylalanine ainsi que de la N- et de la O-benzoylsérine. Ces trois substances ont été prises respectivement comme modèle de la structure protéique au niveau des liaisons peptidiques ordinaires, des liaisons (I) et des esters aminés hypothétiques (II).

OBTENTION DES SUBSTANCES-MODÈLES UTILISÉES

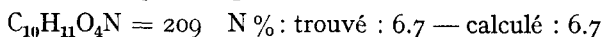
La N-benzoylalanine a été préparée par la méthode classique. P.F. du produit après 2 cristallisations dans l'eau: 165°5.



La N-benzoylsérine a été obtenue par condensation de la sérine et du chlorure de benzoyle en milieu fortement alcalin d'après SÖRENSEN³. Après 2 cristallisations dans l'eau, le produit fond à 170°.



Pour la préparation de la O-benzoylsérine, la technique décrite récemment par SYNGE⁴ a été utilisée, car elle est plus facile à mettre en oeuvre que celle de BERGMANN¹; son rendement est cependant peu satisfaisant. Si, en effet, il est aisé d'obtenir la N-acétyl O-benzoylsérine intermédiaire, il semble plus délicat de trouver les conditions expérimentales exactes permettant l'élimination sélective du radical acétyle. Après 3 cristallisations dans l'eau, le produit présente la teneur en azote suivante:



RÉSULTATS OBTENUS

On place dans un thermostat à 30° trois tubes rodés contenant 7 ml de HCl 10 N et un poids connu de l'un des dérivés précédents. A intervalles réguliers, on prélève une partie aliquote des liquides et après neutralisation à froid, on effectue sur elle, soit un dosage d'azote aminé (N-benzoylalanine), soit un dosage de sérine libre (N- ou O-benzoylsérine). On suit ainsi dans chaque cas la scission hydrolytique des radicaux benzoyles en fonction du temps (Tableau I).

TABLEAU I
SCISSION À 30° PAR HCl CONCENTRÉ DES RADICAUX BENZOYLES

Durée de l'hydrolyse (jours)	Hydrolyse (%) de la		
	N-benzoyl-alanine*	N-benzoylsérine	O-benzoylsérine
2	5	16.7	41.8
4	6	27.1	58.0
6	13	35.5	69.0
10	13	62.1	92.0

* Les résultats de cette colonne sont peu précis car les quantités d'azote aminé contenues dans les échantillons analysés sont extrêmement faibles. Leur exactitude est cependant largement suffisante pour permettre de suivre la marche générale du phénomène.

Bibliographie p. 136.

Aux chiffres du tableau I, on peut faire les quelques remarques suivantes:

1. La N-benzoylsérine est hydrolysée à froid par HCl concentré beaucoup plus vite que la N-benzoylalanine. Dans ces dérivés acylés simples comme au sein des protéines, la fonction $-OH$ labilise donc de façon très notable la liaison $-CO-NH-$ située à son voisinage immédiat.

2. La N-benzoylsérine par contre est plus résistante à l'hydrolyse acide que son isomère O-benzoylé. Si le radical benzoylé était fixé à une amine ou à un alcool simple, ce fait paraîtrait évident et ne mériterait aucune mention spéciale. Mais la structure α oxyaminée des deux molécules étudiées lui confère un certain intérêt et permet en particulier une comparaison utile avec les résultats obtenus dans le domaine des protéines.

Si le dérivé N-benzoylé de la sérine se comportait en effet comme semblent se comporter les protéines au niveau de leurs liaisons (I), il devrait s'hydrolyser aussi vite que le dérivé O-benzoylé. Or tel n'est pas le cas. Cette observation n'implique d'ailleurs nullement que l'effet labilisateur exercé par la fonction $-OH$ sur la liaison N-benzoylée de la N-benzoylsérine ne puisse être attribuée à la formation transitoire de l'acide 2-phényl-oxazoline-4-carboxylique. Mais on est alors obligé de supposer que, par suite de l'état différent des tensions régnant dans les molécules protéiques, d'une part, et les dérivés benzoylés de la sérine, d'autre part, le processus intermédiaire le plus lent du schéma de BERGMANN ne soit plus l'hydrolyse de la liaison ester mais, fort probablement, la cyclisation.

RÉSUMÉ

Dans HCl 10 N à 30°, la stabilité des dérivés benzoylés de l'alanine et de la sérine décroît dans l'ordre suivant: N-benzoylalanine, N-benzoylsérine, O-benzoylsérine. L'effet labilisateur d'une fonction $-OH$ sur la liaison amide située en α , déjà noté chez les protéines et attribué à une cyclisation en oxazoline substituée selon BERGMANN, est donc retrouvé. Certains points concernant la cinétique des réactions intermédiaires proposées pour rendre compte de cet effet, sont par ailleurs discutés.

SUMMARY

In 10 N HCl the stability of benzoyl derivatives of alanine and serine decreases in the following order: N-benzoylalanine, N-benzoylserine, O-benzoylserine. The labilising effect of an OH-group on the amide linkage in the α -position, already noted in the proteins and attributed by BERGMANN to cyclisation to a substituted oxazoline, is thus observed again. Certain points in the kinetics of intermediary reactions proposed to explain this effect are further discussed.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Stabilität der benzylierten Derivate des Alanins und des Serins in HCl 10 N bei 30° nimmt ab in der Reihenfolge: N-Benzoylalanin, N-Benzoylserin, O-Benzoylserin.

Die Labilisierende Wirkung einer OH-Gruppe auf die Amidbindung in der α -Position, die bei den Eiweisskörpern bereits bemerkt worden war und einer Zyklisierung zu substituierten Oxazolen nach BERGMANN zugeschrieben wurde, wird hier wiedergefunden. Einige Punkte, die die Kinetik der Zwischenreaktionen, die zur Erklärung dieses Effekts vorgeschlagen waren, betreffen, werden ausserdem diskutiert.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ M. BERGMANN ET A. MIEKELEY, *Z. physiol. Chem.*, 140 (1924) 128.
- ² P. DESNUELLE ET A. CASAL, *Biochim. Biophys. Acta*, 2 (1948) 64.
- ³ S. P. L. SÖRENSEN ET A. C. ANDERSEN, *Z. physiol. Chem.*, 56 (1908) 297.
- ⁴ R. L. M. SYNGE, *Biochem. Journ.*, 33 (1939) 1924.

Reçu le 24 Décembre 1947