



HAL
open science

Synthèse et études conformationnelles de 1:1-[alpha-alpha-Nalpha-Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques

Ralph-Olivier Moussodia

► **To cite this version:**

Ralph-Olivier Moussodia. Synthèse et études conformationnelles de 1:1-[alpha-alpha-Nalpha-Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques. Alimentation et Nutrition. Université de Lorraine, 2012. Français. NNT: 2012LORR0230 . tel-01749392

HAL Id: tel-01749392

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01749392>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



Université de Lorraine (UL)

École Nationale Supérieure des Industries Chimiques
École doctorale Sciences et Ingénierie des Ressources Procédés Produits Environnement (RP2E)
Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire (LCPM) UMR CNRS-INPL 7568

Thèse

en vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Lorraine

Génie des Procédés et des Produits

par

Ralph-Olivier MOUSSODIA

Synthèse et études conformationnelles de 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques

Soutenue publiquement le 16 novembre 2012 devant la commission d'examen :

Membres du jury

Président : Pr. Yves CHAPLEUR (Pr., SRSMC, Université de Lorraine)
Rapporteurs : Dr. Philippe LE GREL (MCF, ICMV, Université de Rennes 1)
Dr. Oleg MELNYK (DR-CNRS, Institut Pasteur de Lille, Université de Lille 2)
Examineurs : Pr. Claude TAILLEFUMIER (Pr., SEESIB, Université Blaise Pascal de Clermont Ferrand)
Pr. Brigitte JAMART-GRÉGOIRE (Pr., LCPM, Université de Lorraine)
Dr. Régis VANDERESSE (CR-CNRS, LCPM, Université de Lorraine)
Membre Invité : Dr. Samir ACHERAR (MCF, LCPM, Université de Lorraine)

LCPM, 1 rue Grandville, BP 451, 54001 Nancy Cedex

Remerciements

Ce présent travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire, UMR CNRS-INPL 7568, de l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques de Nancy, au sein du Groupe Synthèse Organique et Biostructures.

Je voudrais tout d'abord remercier le Professeur Brigitte JAMART-GREGOIRE pour avoir dirigé ma thèse et de m'avoir fait confiance en m'accueillant au sein de son équipe. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance.

Je remercie aussi les Docteurs Régis VANDERESSE et Samir ACHERAR pour avoir co-dirigé cette thèse, pour leur disponibilité notamment lors de la rédaction de ce manuscrit.

Je suis sensible à l'honneur que les Docteurs Philippe LE GREL et Oleg MELNYK m'ont fait en acceptant de juger mon travail en tant que rapporteurs. Je les en remercie vivement.

Je suis également reconnaissant aux Professeurs Yves CHAPLEUR et Claude TAILLEFUMIER d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Je remercie chaleureusement Monsieur le Docteur Claude DIDIERJEAN pour sa collaboration et sans qui les études par diffraction des rayons X n'auraient jamais pu être menées à bien. Je remercie aussi Monsieur Olivier FABRE pour la spectroscopie RMN et Madame Mathilde ACHARD pour la spectrométrie de masse.

Je pense aussi aux personnes qui ont égayé mon passage au laboratoire: Asté, Emelyne, Gayziste, Le bat, Le râleur, Loulou, Papass, Séb, Tchang, Zhounzhoum et Eugénie qui reprend le flambeau.

Je tiens à remercier particulièrement mes amis et vous mes supers topis pour tout votre soutien (Chris, Gaylo, Inox, et les autres...), vous-même vous savez, ainsi que ma mère, mes sœurs, mon cousin Lokiko (Big up !) pour avoir été là pour moi ainsi que Mister and Miss D.

Je finis ces remerciements par toi, Lucie, tout simplement parce que tu es toujours là...

Merci à tous.

Ralph-Olivier

8 octobre 2012 à Nancy

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS	9
INTRODUCTION GÉNÉRALE	13
SYNTHÈSE DES PRÉCURSEURS α-N^α-HYDRAZINOESTERS	22
I.1. Introduction	23
I.2. Méthodes de synthèse des α -hydrazinoacides et esters	23
I.2.1. La N -amination d'acides α -aminés	23
a. Le réarrangement de Shestakov d'une urée en hydrazine	24
b. Réduction d'un dérivé N -nitroso	24
c. N -amination par la méthode à l'oxaziridine	25
I.2.2. Amination réductrice d' α -cétoesters	27
I.2.3. Amination électrophile d'énolates chiraux par des azodicarboxylates d'esters ..	27
I.2.4. La réaction de Mitsunobu	28
I.2.5. La substitution nucléophile d'ordre 2 (S_N2)	30
a. Via un dérivé bromé	30
b. Via un α -oxyester	30
I.3. Préparation des précurseurs α - N^α -Bn-hydrazinoesters	31
I.3.1. Introduction	31
I.3.2. Préparation des N' -alkyl/benzyl <i>tert</i> -butyl carbazates 4	34
I.3.3. Préparation des α -hydroxyesters 11	38
I.3.4. Synthèse des précurseurs α - N^α -hydrazinoesters 12 par un mécanisme S_N2	39
I.4. Conclusion	41
SYNTHÈSE DES OLIGOMÈRES LINÉAIRES 1:1-[α/α-N^α-Bn-HYDRAZINO]ESTERS ET AMIDES	42
II.1. Introduction	43
II.1.1. Réactivité d'un α -hydrazinoacide dans une chaîne peptidique	43

II.1.2. Choix du monomère	43
II.1.3. Choix des conditions de couplage	44
a. Méthode à l'HATU/NMM	46
b. Méthode à l'EDC/HOBT	46
c. Méthode à l'EDC/HOAT	47
II.2. Synthèse des dimères hétéro- et homochiraux 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]esters 15a et 15b	48
II.3. Synthèse des tétramères hétéro- et homochiraux 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]esters 18a et 18b	49
II.4. Synthèse de l'hexamère hétérochiral 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]ester 20a	50
II.5. Synthèse de l'octamère hétérochiral 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]ester 22a	51
II.6. Synthèse du décimère hétérochiral 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]ester 24a	52
II.7. Conclusion.....	54
II.8. Amidation du monomère 12c et des oligomères 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]esters..	54
II.8.1 Introduction	54
II.8.2. Les méthodes d'amidation.....	54
a. Aminolyse d'acide.....	54
b. Aminolyse d'ester par l'ammoniac	55
c. Aminolyse d'ester par l'hydroxyde d'ammonium	55
II.8.3. Conclusion	57
SYNTHÈSE DES CYCLO 1:1-[α/α-N^α-Bn-HYDRAZINO]MÈRES	58
III.1. Introduction.....	59
III.1.1. Les macrocycles	59
III.1.2. Les nanotubes	62
a. Introduction	62
• Les <i>D,L</i> - α -cyclopeptides.....	62
• Les β -cyclopeptides	64

• Les α/β -cyclopeptides	66
b. Applications	68
• Antibactériens	68
• Canaux ioniques	69
• Biomatériaux	70
• Biocapteurs	71
III.2. Méthodes de cyclisation d'oligomères pseudopeptidiques	72
III.2.1. Les aza- β^3	72
III.2.2. Les α -aminoxy	73
III.2.3. Les oligo-urées	73
III.3. Choix de la méthode et synthèse des cyclo 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha$ -Bn-hydrazino]mères	74
III.4. Conclusion	76
ÉTUDES CONFORMATIONNELLES DES 1:1-$[\alpha/\alpha-N^\alpha$-Bn-HYDRAZINO]MÈRES LINÉAIRES ET CYCLIQUES	77
IV.1. Introduction	78
IV.2. Notation et aspects conformationnels en série peptidique	80
IV.2.1. Introduction	80
IV.2.2. Les hélices	81
IV.2.3. Les feuillets β	81
IV.2.4. Les coudes ou turn	82
a. Les coudes γ ou C_7	82
b. Les coudes β ou C_{10}	83
IV.3. Aspects conformationnels en série pseudopeptidique	84
IV.3.1. Aspects conformationnels en série pseudopeptidique: les dérivés des α -peptides	84
a. Les azapeptides	84
b. Les N -aminopeptides	85

IV.3.2. Aspects conformationnels en série pseudopeptidique : les dérivés des β -peptides.....	86
a. Les β -peptides	86
b. Les α -aminopeptides	87
c. Les aza- β^3 -peptides	90
d. Les hydrazinopeptides.....	91
IV.4. Méthodes d'analyses conformationnelles.....	94
IV.4.1. Le dichroïsme circulaire (CD)	94
IV.4.2. La diffraction des rayons X.....	95
IV.4.3. La modélisation moléculaire.....	95
IV.4.4. La spectroscopie d'absorption infrarouge (IR).....	96
IV.4.5. La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN).....	96
a. La RMN à 1 dimension (RMN 1D)	97
b. La RMN à 2 dimensions (RMN 2D).....	98
IV.4.6. Conclusion	99
IV.5. Analyses structurales du monomère 26a et des oligomères 1:1-[α/α -N $^\alpha$ -Bn-hydrazino]amides.....	99
IV.5.1. Etudes structurales du monomère amide 26a	99
a. Introduction	99
b. Détermination du $\Delta\delta$ pour le monomère α -N $^\alpha$ -Bn-hydrazinoamide 26a	101
c. Influence du DMSO- d_6	102
d. Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du monomère amide 26a en solution dans CDCl $_3$	104
e. Analyse par IR du monomère amide 26a	105
f. Analyse par diffraction des rayons X du monomère amide 26a	110
IV.5.2 Analyses structurales des dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b	111
a. Mesure du $\Delta\delta$	112
b. Influence du DMSO- d_6	112

c.	Analyse par IR des dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b	114
d.	Structuration en C ₇ type γ -turn.....	119
IV.5.3.	Analyses structurales des tétramères hétéro- et homochiraux 27a et 27b	123
a.	Mesure du $\Delta\delta$	123
b.	Influence du DMSO- <i>d</i> ₆ :	124
c.	Analyse par IR des tétramères hétéro- et homochiraux 27a et 27b	126
IV.5.4.	Analyses structurales de l'hexamère hétérochiral 28a	128
a.	Mesure du $\Delta\delta$	128
b.	Analyse par IR de l'hexamère hétérochiral 28a	129
IV.5.4.	Conclusion	130
IV.6.	Analyses structurales des cyclo 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino]mères.....	130
IV.6.1.	Introduction	130
IV.6.2.	Analyses structurales des cyclotétramères hétéro- et homochiraux 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino] 30a et 30b	132
a.	Cyclotétramère hétérochiral 30a	132
•	Analyse par diffraction des rayons X du cyclotétramère hétérochiral 30a ..	132
•	Analyse par RMN: influence de la concentration sur le cyclotétramère hétérochiral 30a dans CDCl ₃	137
•	Analyse par IR: influence de la concentration sur le cyclotétramère hétérochiral 30a dans le CHCl ₃	138
•	Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du cyclotétramère 30a en solution dans CDCl ₃	140
•	Analyse conformationnelle du cyclotétramère hétérochiral 30a sous forme de gel	
–	Analyse conformationnelle par IR: influence de la température sur gélateur cyclotétramère hétérochiral 30a dans le toluène	144
–	Analyse conformationnelle du gélateur cyclotétramère hétérochiral 30a en RMN ¹ H dans le toluène- <i>d</i> ₈	147
b.	Cyclotétramère homochiral 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino] 30b	150

• Analyse par RMN ¹ H: influence de la concentration sur le cyclotétramère homochiral 30b dans CDCl ₃	151
• Analyse par IR: influence de la concentration sur le cyclotétramère homochiral 30b dans CHCl ₃	153
• Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du cyclotétramère 30b en solution dans CDCl ₃	154
IV.6.3. Analyses structurales du cyclohexamère hétérochiral 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino] 31a	155
a. Analyse par RMN ¹ H en solution: influence de la concentration sur le cyclohexamère 31a dans CDCl ₃	156
b. Analyse par IR: influence de la concentration sur le cyclohexamère hétérochiral 31a dans CHCl ₃	157
c. Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du cyclohexamère 31a en solution dans CDCl ₃	159
d. Conclusion.....	160
CONCLUSION GÉNÉRALE	161
GENERAL METHODS	165
EXPERIMENTAL PART	167
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	201

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Å : angström

AA : résidu acide aminé

AcOEt : acétate d'éthyle

Ala : résidu alanine

Arg : résidu arginine

ATR : Single Reflexion Attenuated Total Reflectance

Boc : *tert*-butyloxycarbonyle

Boc₂O : dicarbonate de di-*tert*-butyle

Bz : benzyle

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

COSY : COrrélation SpectroscopY

CH₂Cl₂ : dichlorométhane

DCC : dicyclohexylcarbodiimide

DEAD : diéthylazodicarboxylate

DIPEA : N,N'-diisopropyléthylamine

DMAP : 4,4-diméthylaminopyridine

DMF : N,N'-diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

EDC : 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl)-carbodiimide

equiv. : équivalent

Et : éthyle

Et₂O : éther diéthylique

EtOH : éthanol

Fmoc : 9-fluorénylméthylèneoxycarbonyle

Gly : résidu glycine

HATU : *N*-[(diméthylamino)-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5,*b*]pyridin-1-yl-méthylène]-*N*-méthylméthanaminium hexafluorophosphate *N*-oxyde

HBTU : *N*-[(1*H*-benzotriazole-1-yl)(diméthylamino)méthylène]-*N*-méthylmethanaminium hexafluorophosphate *N*-oxyde

His : histidine

HOBt : *N*-hydroxybenzotriazole

HRMS (ESI) : High Resolution Mass Spectrometry (ElectroSpray Ionization)

***i*-Bu** : isobutyle

***i*-Pr** : isopropyle

IR : infrarouge

Leu : résidu leucine

Lys : résidu lysine

M : molaire

Me : méthyle

mmol : millimole

NMM : *N*-méthylmorpholine

NOE : Nuclear Overhauser Effect

NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

Ph : phényle

pH : potentiel hydrogène

p-ether : éther de pétrole

Phe : résidu phénylalanine

Pht : phtalimide

Piv : pivaloyle

ppm : partie par million

Pro : résidu proline

Rdt : rendement

R_f : rapport frontal

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

ROESY : Rotation frame nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

RT : room temperature

RX : rayons X

TA : température ambiante

TBTU : *N*-[(1*H*-benzotriazole-1-yl)(diméthylamino)méthylène]-*N*-méthylmethanaminium
tétrafluoroborate *N*-oxyde

tBu : *tert*-butyle

TFA : acide trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

TLC : Thin Layer Chromatography

TNFR : Tumor Necrosis Factor Receptor

TOCSY : TOtally Correlated Spectroscopy

Trp : résidu tryptophane

UV : ultraviolet

Val : résidu valine

Z : benzyloxycarbonyle

ZOSu : benzyloxycarbonyle-*N*-hydroxysuccinimide

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les peptides sont des molécules constituées par l'enchaînement covalent d'acide α -aminés reliés entre eux par des liaisons amide. Il existe 20 résidus aminoacides dits protéinogéniques. Les peptides et protéines sont des éléments primordiaux au bon fonctionnement de l'organisme ; ils interviennent dans de nombreux processus biologiques, contrôlent et régulent diverses fonctions physiologiques. Les peptides jouent donc un rôle important dans le vivant en tant que neurotransmetteurs, hormones ou neuromodulateurs et contrôlent une série de fonctions vitales telles que la respiration, la digestion, la reproduction et les défenses immunitaires. Ainsi, ces molécules bioactives représentent un enjeu important au niveau biologique, chimique et surtout pharmaceutique.¹

Des études pharmacocinétiques ont montré que l'utilisation directe des peptides comme agents thérapeutiques s'avérait limitée par leur biodégradabilité (les peptides sont dégradés par les peptidases dans le système digestif ou dans les fluides biologiques), leur flexibilité conduisant à une multiplicité d'action et enfin leur caractère lipophile qui les empêche parfois de franchir les barrières physiologiques.^{1,2}

On comprend donc aisément l'intérêt que suscite la conception de nouvelles substances analogues de ces peptides bioactifs. Une approche largement utilisée en pharmacochimie consiste à introduire des modifications chimiques dans le squelette peptidique ou au niveau des chaînes latérales dans le but d'accroître l'activité biologique, la sélectivité, la résistance à l'hydrolyse par les protéases ou d'accentuer le caractère lipophile. Par le biais de pseudopeptides, il est possible d'agir sur la résistance à la protéolyse (d'où une plus grande stabilité *in vivo*), la balance hydrophilie/hydrophobie permettant le passage des barrières physiologiques (d'où une meilleure diffusion lors des traitements thérapeutiques), la sélectivité/spécificité par la modification de la structure secondaire du peptide qui, tout en gardant les chaînes latérales intactes responsables de la reconnaissance avec le site actif, permet d'adopter une conformation conduisant à une meilleure affinité et une meilleure spécificité avec le récepteur ou un site actif de l'enzyme. De plus, un peptide peut éventuellement interagir avec plusieurs récepteurs sous des conformations distinctes. Il est donc nécessaire, pour concevoir des substances thérapeutiques, si possible sélectives, de connaître précisément l'arrangement spatial du peptide au moment de sa liaison au récepteur (docking, simulation). Celle-ci peut être approchée en créant des mimes plus rigides qui orienteront correctement les chaînes latérales indispensables à la reconnaissance moléculaire. Parmi les modifications possibles, celles introduites au niveau du squelette peptidique ont la faveur des pharmacochimistes car elles laissent intactes les chaînes latérales, généralement nécessaires à une bonne reconnaissance par le site actif des protéines cibles. On parle alors de pseudopeptides. Par introduction de motifs pseudopeptidiques, il est généralement possible de modifier la structure secondaire du peptide de façon à ce qu'il adopte une conformation permettant une meilleure affinité et une plus grande spécificité avec le récepteur. Pour orienter les chaînes latérales, une stratégie possible consiste à cycliser le segment peptidique bioactif afin d'obtenir des cyclo-pseudopeptides de conformations parfaitement définies.

La synthèse de pseudopeptides a donc reçu une attention particulière au cours des dernières décennies. Leur développement rapide s'explique par le fait qu'ils peuvent éventuellement

remplacer à la fois les α -peptides qui servent de substrats aux enzymes mais aussi ceux qui servent de récepteurs aux protéines. Ils peuvent aussi adopter des structures secondaires bien définies, une caractéristique nécessaire qui en fait d'excellents candidats à la conception de médicaments. Nombreuses sont les méthodes pour modifier le squelette peptidique: celles-ci peuvent impliquer des isostères ou des unités d'échange isoélectroniques (peptoïdes, azapeptides, azatides...) ou encore l'introduction d'un fragment additionnel (hydrazinopeptides, β -peptides, α -aminoxy, sulfonopeptides, oligo-urées...); il est cependant relativement difficile d'en dresser une liste exhaustive.³

Dans cette optique, le « Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire » s'est intéressé à la conception, la synthèse et l'étude structurale de composés bis-azotés, donnant lieu à de nombreuses études menées sur les hydrazinopeptides,^{4,5,6} les *N*-aminopeptides,⁷ et les azapeptides⁸ (Figure 1).

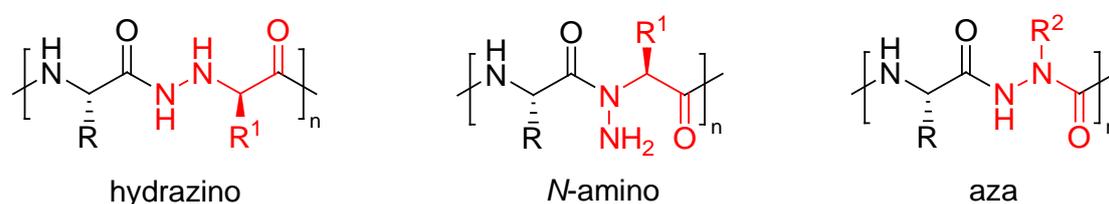


Figure 1: Différents liens pseudopeptidiques.

Plus récemment et grâce notamment aux travaux de Gellmann, un nouvel intérêt des pseudopeptides a pu voir le jour dans l'élaboration de foldamères. Le terme « foldamère » proposé par Gellmann est la contraction de « fold » repliement et « oligomer », et désigne tout nouvel oligomère de synthèse capable de s'auto-organiser en une structure spatiale compacte bien définie et prévisible en solution.⁹

Parmi les différents types de foldamères étudiés, on retrouve ceux formés à partir de β -peptides. En effet, c'est en 1996 que Gellmann et Seebach ont montré l'aptitude inattendue des β -peptides à adopter des conformations hélicoïdales pouvant s'avérer être plus stables que celles des α -peptides.^{10,11}

Le choix des β -peptides de Seebach et Gellmann n'est donc pas dû au hasard. Dans le cas de Seebach, il a été guidé par les similitudes du squelette des β -peptides avec celui de l'acide poly-(*R*)-3-hydroxybutanoïque, un biopolymère de conformation hélicoïdale droite avec trois unités par tour.¹² Quant à lui, Gellman a été motivé par l'absence de liaisons hydrogène à moyenne distance dans les dérivés de la β -homoglycine (β -HGly). Cette absence s'avère être un critère primordial pour évaluer la propension du squelette des β -peptides à être stabilisé par des liaisons hydrogène grâce à des repliements.¹³

Ces études pionnières ont donc motivé le départ des travaux portant sur les β -peptides possédant une, deux, voire plus de chaînes latérales, cycliques ou non cycliques, placées sur les carbones C^α et C^β , et avec des configurations absolues et des dispositifs stéréochimiques variés.

Ainsi, on dénombre cinq formes hélicoïdales de β -peptides, différant par la taille et l'orientation du pseudocycle qu'elles forment par liaisons hydrogène. Celles-ci dépendent à la fois des motifs de substitution des résidus et de la stéréochimie, illustrant ainsi la

remarquable diversité structurelle de ces oligomères synthétiques. Parmi elles se trouvent les hélices 14- et 12- (les plus fréquentes au sein des β -peptides), les 10- (pour les β -peptides dérivant de monomères possédant un cycle à quatre atomes dans leur squelette carboné), les 8- (présentes au sein de petits oligomères achiraux, mais aussi dans les α -aminopeptides¹⁴) et les hélices mixtes 12/10- (pour les β -peptides alternant les résidus β^2 - et β^3 -, ceci observé dans les peptides synthétiques¹⁵ et certaines protéines¹⁶) (Figure 2).

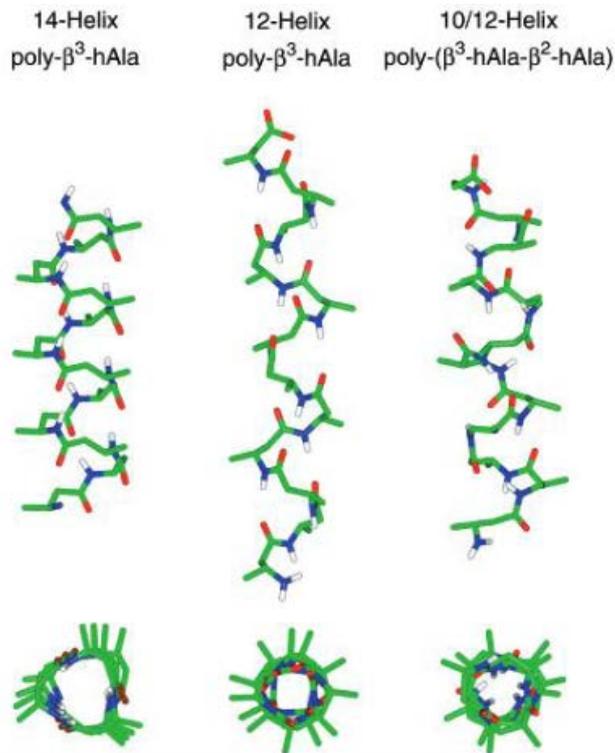


Figure 2: Exemples de structures hélicoïdales dans les β -peptides.

Par la suite, des études complémentaires ont révélé que les β -peptides s'avèrent être plus stables à la dégradation protéolytique *in vitro* et *in vivo*.^{11,17,18}

Les premières études sur les foldamères se concentraient donc essentiellement sur les oligomères comprenant un seul type de sous-unités monomériques.^{10,11,12,13}

Les études sur les oligomères dits hybrides ou mixtes comportant des squelettes alternant des acides aminés de type α/β , β/γ ou α/γ ,^{19,20,21} ont généré un intérêt considérable au cours de ces dernières années, principalement en raison des possibilités innombrables qu'ils présentent pour le design de foldamères. Dans la conception de squelette hétérogène, on peut donc obtenir facilement une certaine diversité structurelle et conformationnelle que l'on ne pourrait atteindre avec un squelette homogène. On notera cependant que les foldamères hétérogènes ne comportant pas d'acides α -aminés naturels dans leur squelette (β/γ , β/δ , γ/δ , etc..) ^{22,23,24} ont reçu une attention plus que limitée en raison de la grande disponibilité commerciale des d'acides α -aminés naturels comparés aux acides aminés non naturels.

Les oligomères mixtes α/β présentent donc l'avantage d'ajouter un résidu β qui fournit une préorganisation conformationnelle tandis que le résidu α autorise l'introduction de

nombreuses chaînes latérales variées à des positions spécifiques. En effet, par analogie avec les protéines, il existe un lien fort entre la séquence du résidu acide α -aminé et son arrangement tridimensionnel, qui conduit donc à l'adoption d'une conformation spécifique et qui permet aux protéines de disposer d'un très grand nombre de fonctions potentielles. L'activité biologique des foldamères est donc fortement liée à l'arrangement tridimensionnel de ses groupes fonctionnels. Ainsi les foldamères hétérogènes ont montré de nombreux avantages par rapport à leurs homologues homogènes, ceci incluant l'accès à de nombreuses nouvelles structures moléculaires, basées sur les variations dans la stoechiométrie et les motifs des sous-unités combinatoires.^{19,20}

Ainsi on peut trouver par exemple dans la nature la dolastatine 11,²⁵ qui est un peptide cyclique naturel portant un squelette hétérogène (Figure 3).

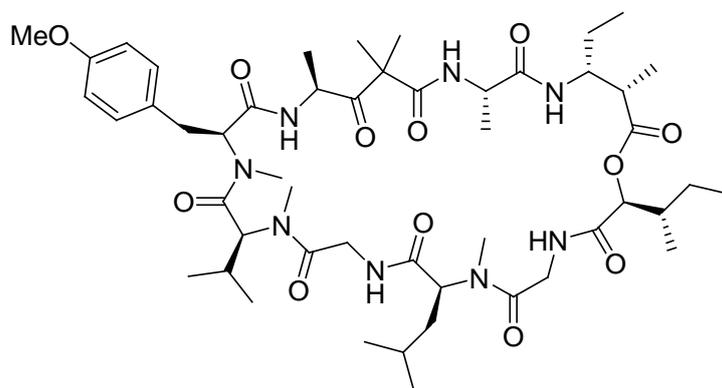


Figure 3: Un peptide hétérogène cyclique naturel, la dolastatine 11.

L'utilisation de motifs α -hydrazinoacides dans l'élaboration de foldamères paraissait intéressante du fait de la présence d'un atome d'azote supplémentaire capable d'engendrer de nouvelles structurations par formation de liaisons hydrogène.

En effet, Marraud et al. ont démontré que l'introduction d'un lien hydrazino dans un peptide, induisait une conformation particulière appelée « hydrazinoturn », correspondant à une liaison hydrogène bifide formée entre le NH du résidu $i+2$, le carbonyle du résidu i et l'azote alpha du lien hydrazidique (Figure 4).^{26,27}

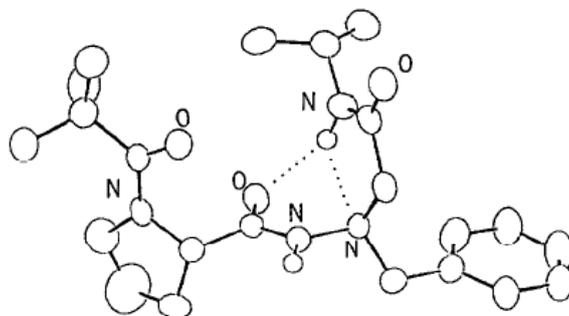


Figure 4: Structure cristalline d'un des premiers α -hydrazinopeptides (Piv-Pro- N^{β} H- N^{α} Bn-CH₂-CO-NH i Pr).

La difficulté d'obtenir des α -hydrazinoacides énantiomériquement purs ainsi que l'absence de méthode efficace pour leur incorporation dans les peptides ont cependant limité, pendant plusieurs décennies, l'utilisation de ces motifs pseudopeptidiques. Seule l'équipe de Seebach a travaillé sur des composés purement hydrazino et a mis en évidence par cristallographie l'auto-structuration de ces composés en hydrazinoturn.¹⁸

Parallèlement, l'équipe de Le Grel a démontré que des oligomères formés par l'enchaînement de motifs « aza- β^3 », qui sont en fait des α -hydrazinoglycines (dépourvus donc de carbone asymétrique), étaient dotés du même type d'auto-structuration (Figure 5).²⁸

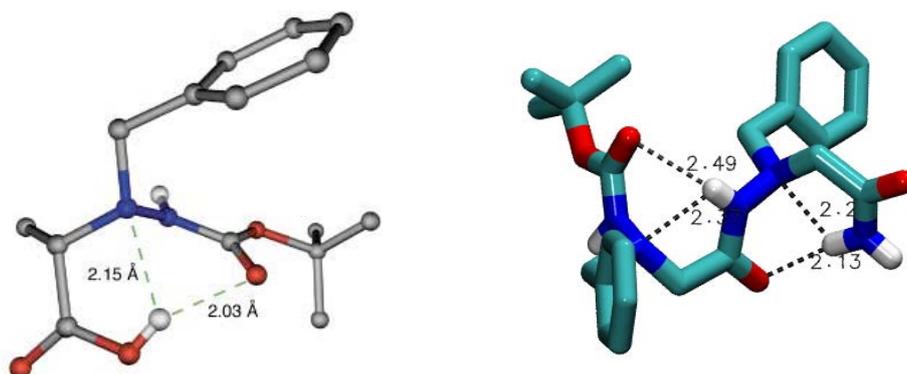


Figure 5: Structure cristalline d'un α -hydrazinoacide de Seebach (à gauche), et d'un dimère amide aza- β^3 de Le Grel (à droite).

La mise au point au LCPM d'une méthode de synthèse simple et efficace d' α -hydrazinoesters énantiomériquement purs a permis d'envisager l'utilisation de ces motifs dans l'élaboration de foldamères.

Ces travaux ont débuté, au cours de la thèse de Bouillon (2006), par la synthèse et l'étude structurale d'oligomères mixtes alternant un acide α -aminé naturel et un α -hydrazinoacide protégé sur l'azote N^α par un groupement benzyloxycarbonyle (groupement Z) (Figure 6). Bien que précurseur dans le domaine, nous nous sommes heurtés à différents problèmes comme le manque de réactivité de l'azote N^β limitant le rendement des réactions de couplage, mais également aux perturbations structurales occasionnées par la présence du groupement Z qui nous a empêché de conclure sur l'auto-structuration des oligomères mixtes obtenus.

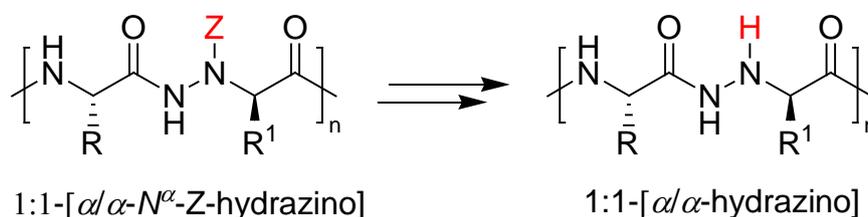


Figure 6: Oligomère mixte 1:1-[α/α - N^α -Z-hydrazino] et son homologue 1:1-[α/α -hydrazino].

La synthèse des oligomères mixtes entièrement déprotégés sur l'azote N^α n'a cependant pas permis de résoudre nos problèmes.

Il s'est avéré impossible d'oligomériser ces molécules au-delà du tétramère acide en raison de l'insolubilité du motif α -hydrazino.

La première partie des travaux décrits dans cette thèse s'inscrit donc dans la continuité des travaux entrepris au laboratoire.

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'obtention de motifs α - N^α -hydrazinoesters énantiomériquement purs judicieusement protégés afin de permettre leur oligomérisation et leur auto-structuration en solution générant ainsi une nouvelle famille de foldamères: les 1:1- $[\alpha/\alpha$ - N^α -hydrazino]esters.

Dans un deuxième temps, nous avons envisagé d'utiliser ces oligomères linéaires comme précurseurs de macrocycles. En effet, partant d'acides α -aminés naturels, nous avons pu envisager la synthèse d'oligomères linéaires mixtes alternant des unités acide α -aminé et α -hydrazinoacide, dont les carbones asymétriques respectifs sont de configuration absolue R et S . D'après les travaux d'Hassall, de De Santis et de Ghadiri, cette alternance R/S est susceptible de favoriser la cyclisation des oligomères.^{29,30,31}

De plus, la présence de telles structurations dans des oligomères linéaires ainsi que la possibilité de conserver des contacts intramoléculaires à courte distance dans les composés cycliques correspondants, devraient permettre de concevoir des cyclofoldamères. Ceux-ci sont des oligomères macrocycliques de conformation parfaitement définie pouvant conduire à des empilements supramoléculaires appelés « nanotubes ». Ces nanotubes résultant de l'association des macrocycles par des liaisons hydrogène intermoléculaires.

Ainsi, Hassall,³² en s'appuyant sur des études poussées en RMN, a proposé lors d'une conférence l'idée de nanotubes, en prédisant que des térapeptides composés d'une alternance d'acides α - et β -aminés, devraient être capables de se cycliser puis à terme, de s'associer. Il s'en est suivi des analyses théoriques de De Santis *et al.*³⁰ démontrant, quant à elles, que des peptides comprenant un même nombre d'acides α -aminés, alternant entre les configurations D et L , devaient favorablement former des cyclopeptides (avec toutes les chaînes latérales orientées vers l'extérieur du cycle). Ces cyclopeptides adopteraient alors une forme plane et seraient capables de s'empiler, grâce à l'établissement de liaisons hydrogène N-H---O=C, elles-mêmes perpendiculaires au plan du cycle. On parlera alors d'empilement en feuillets β (β -sheet stacking).

Par la suite, ceci a été corroboré en partie à partir des données cristallographiques d'un des premiers cyclotérapeptides possédant un squelette hétérogène de l'équipe d'Hassall.²⁹ Les travaux de Ghadiri *et al.*³¹ ont ensuite confirmé que des oligomères cycliques comprenant des acides α -aminés naturels, alternant entre les configurations D et L , adoptaient une conformation telle qu'ils étaient capables de s'auto-assembler et de former des nanotubes, ceci formant un réseau contigu de feuillets β (Figure 7).

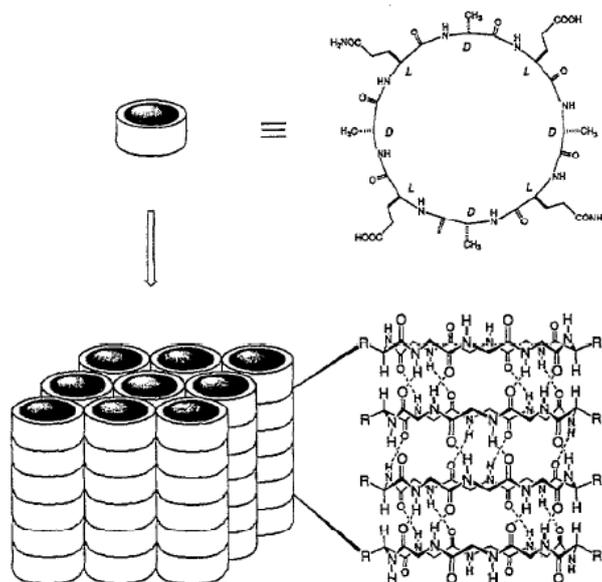


Figure 7: Formation d'un nanotube par auto-assemblage.³¹

Plus tard, ceux-ci ont démontré que ces nanotubes, sous certaines conditions, étaient capables de former de véritables canaux transmembranaires permettant le passage sélectif de différents ions,³³ ceux-ci rivalisant avec les canaux transmembranaires naturels tels que la Gramicidine A.³⁴

Ainsi, lors de la formation d'un nanotube, les liens amide NH et C=O sont alignés parallèlement à la longueur du tube tandis que leurs chaînes latérales sont projetées en position pseudoéquatoriale vers l'extérieur du nanotube. Cette conformation, autorisant cet arrangement vertical des donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, est fondamentale dans le processus d'auto-assemblage en feuillets β et est un élément primordial à prendre en considération pour le design de peptides cycliques et donc pour la formation de nanotubes.

Ces analyses nous fournissaient donc une base de travail pour la synthèse de nanotubes à partir de nos 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$ mères.

Cependant, les études structurales réalisées par l'équipe de Le Grel sur des aza- β^3 -cyclopeptides,^{35,36} des analogues dépourvus de carbone asymétrique de nos α -hydrazinopeptides, ont montré que ceux-ci adoptaient une conformation organisée où il est possible d'observer un réseau dense de liaisons hydrogène intramoléculaires (hydrazinoturn), impliquant tous les groupements hydrazidiques du cycle. Ainsi les chaînes latérales occupent les positions équatoriales et pointent alternativement vers la face supérieure et la face inférieure du macrocycle tandis que tous les liens hydrazidiques sont orientés dans la direction opposée et impliqués dans des hydrazinoturns successifs (Figure 8).

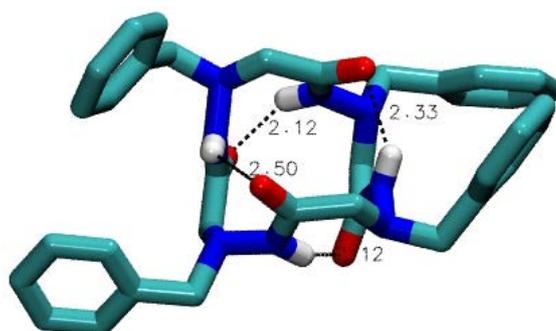


Figure 8: Auto-structuration d'un cyclotétrapeptide α - N^α -Bn-aza- β^3 .

Ce haut degré de structuration du macrocycle induit une déformation du squelette aza- β^3 qui ne peut adopter une forme plane, empêchant l'association des macrocycles en feuillets β .

Nous nous proposons donc de voir si nous pouvons obtenir des nanotubes à partir de nos 1:1-[α / α - N^α -Bn-hydrazino]mères, s'il était possible de prendre avantage de l'ajout supplémentaire d'un azote potentiellement fonctionnalisable dans le squelette, et si l'ajout d'une unité régulière acide α -aminé dans le squelette ainsi que le carbone asymétrique pouvait avoir une influence dans l'auto-assemblage par rapport à ce qui a été observé pour les aza- β^3 .

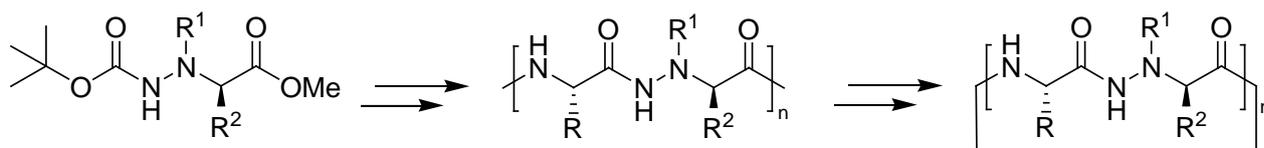


Figure 9: Synthèse des oligomères linéaires et cycliques 1:1-[α / α - N^α -Bn-hydrazino] à partir des monomères α - N^α -hydrazinoesters.

Ce manuscrit s'articulera donc en quatre parties:

- I. Synthèse des précurseurs α - N^α -hydrazinoesters
- II. Synthèse des oligomères linéaires 1:1-[α / α - N^α -Bn-hydrazino]esters et amides
- III. Synthèse des cyclo 1:1-[α / α - N^α -Bn-hydrazino]mères
- IV. Études conformationnelles des 1:1-[α / α - N^α -Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques

I
SYNTHÈSE DES PRÉCURSEURS α -N^α-HYDRAZINOESTERS

I.1. Introduction

Le premier objectif de cette étude était de trouver une synthèse générale des α - N^α -hydrazinoesters énantiomériquement purs, judicieusement substitués permettant de générer les oligomères puis les macrocycles correspondants.

Notre choix s'est donc porté sur la synthèse des monomères α - N^α -Bn-hydrazinoesters. Compte tenu des résultats précédemment obtenus au laboratoire, nous avons choisi de synthétiser des α - N^α -Bn-hydrazinoesters protégés sur l'azote N^α par un groupement benzyle et sur l'azote N^β par un groupement Boc. Ces groupes protecteurs sont en effet dits orthogonaux, c'est-à-dire qu'il devrait être possible de libérer l'azote N^β pour l'impliquer dans des réactions de couplage sans toucher au groupement benzyle. De plus, la présence du groupement benzyle devrait permettre d'augmenter la lipophilie des molécules obtenues et de faciliter leur solubilisation dans des solvants organiques. Enfin, il pourrait être retiré à façon afin de générer un atome d'azote fonctionnalisable et ce à différents stades de la synthèse (Figure 10).

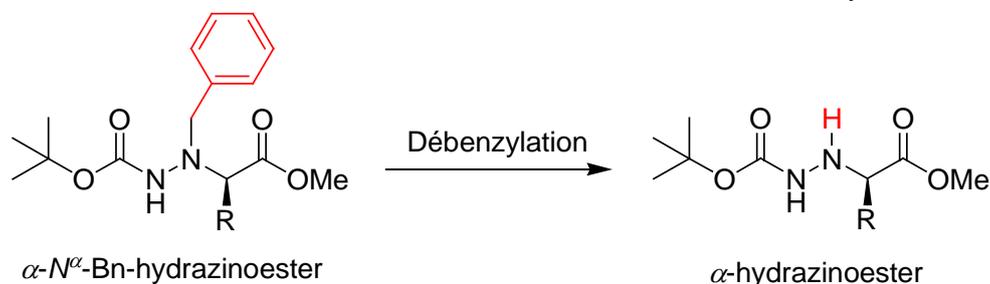


Figure 10: Débenzylation des monomères α - N^α -Bn-hydrazinoesters.

Afin de trouver la méthode la plus adéquate pour obtenir les α - N^α -Bn-hydrazinoesters, nous avons effectué une étude bibliographique, bien évidemment non exhaustive, que nous résumons ici.

I.2. Méthodes de synthèse des α -hydrazinoacides et esters

C'est en 1896, que l'on doit à Traube³⁷ les premiers α -hydrazinoacides obtenus par réduction des α -nitrosohydroxylamines dérivées des acides α -aminés correspondants. Cette voie de synthèse a été reprise plus tard par Darapsky³⁸ dans les années 1920. Depuis, de nombreuses méthodes ont été décrites pour la préparation d' α -hydrazinoacides. Cependant, celles-ci se sont avérées laborieuses à mettre en œuvre et/ou difficilement généralisables. Nous dressons ici une liste non-exhaustive des principales méthodes de synthèse utilisées pour la préparation d' α -hydrazinoacides et/ou d' α -hydrazinoesters énantiomériquement purs.

I.2.1. La N -amination d'acides α -aminés

Les réactions de N -amination respectant la configuration absolue du centre asymétrique représentent une solution intéressante pour obtenir des α -hydrazinoacides optiquement actifs.

a. *Le réarrangement de Shestakov d'une urée en hydrazine*

A l'origine du réarrangement éponyme, Shestakov en 1903 a œuvré sur l'urée, puis cette méthode a été appliquée par Gustafsson *et al.*³⁹ sur la *L*-alanine. En effet, lors de cette transposition, les acides α -aminés sont d'abord transformés en acides hydantoïques puis en α -hydrazinoacides optiquement purs, la réaction se faisant avec rétention de configuration (Schéma 1).

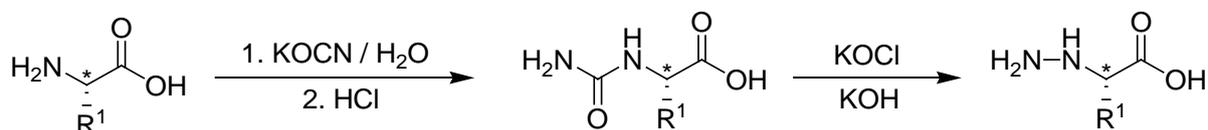


Schéma 1: Réarrangement de Shestakov.

Bien que cette méthode donne de bons rendements, que l'on peut augmenter en remplaçant l'hypochlorite de sodium ($NaOCl$) par l'hypochlorite de potassium ($KOCl$)⁴⁰ et des produits d'une haute pureté optique, elle ne constitue cependant pas une méthode directe de synthèse d' α -hydrazinoacides N^α - ou N^β -protégés.

b. *Réduction d'un dérivé N-nitroso*

La nitrosation directe d'un acide α -aminé n'a été réalisée que sur la proline⁴¹ dont l'azote est secondaire. Ainsi, on peut préparer les *L*- et *D*- α -hydrazinoprolines (Schéma 2).

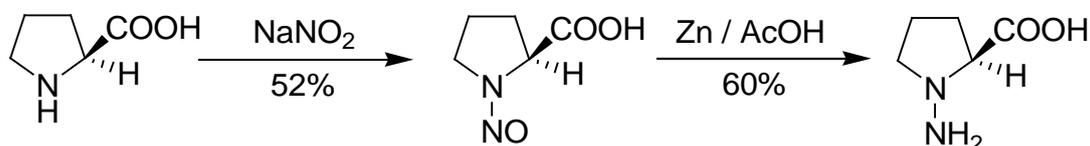


Schéma 2: Nitrosation de la proline.

Afin d'éviter la désamination, l'amine primaire des autres acide α -aminés doit être monoprotégée avant nitrosation. On doit à Achiwa et Yamada⁴² l'application de cette méthodologie à plusieurs α -aminoesters N^α -protégés par un benzyle (Schéma 3).

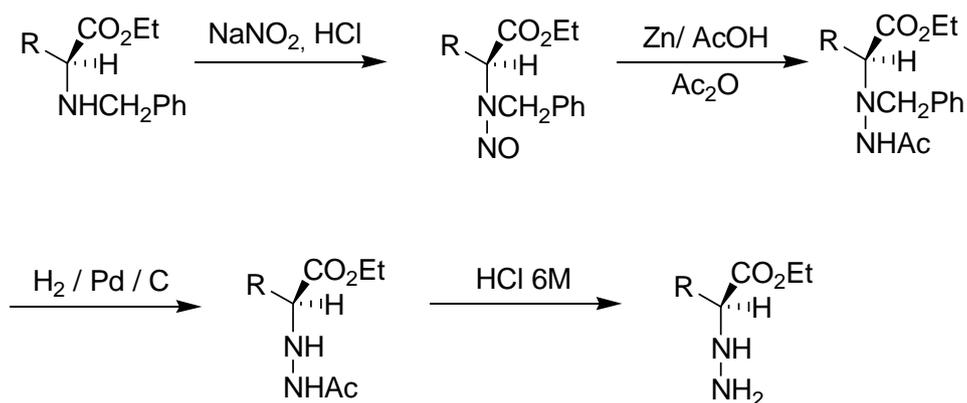


Schéma 3: Mécanisme général de nitrosation des α -aminoesters N^α -Bn protégés.

Après déprotection, cette synthèse a conduit à des L - α -hydrazinoacides optiquement purs avec cependant des rendements moyens.

Cette méthode a ensuite été reprise en 2002 par Oguz *et al.*⁴³ En effet, en partant d'un sel de L - α -aminoester N^α -protégé par un benzyle (par amination réductrice), ce composé sera nitrosé avec la *tert*-butylnitrite puis réduit en utilisant Zn/HCl pour générer l' α -hydrazinoacide pur avec de très bons rendements (Schéma 4). Cette méthode constitue une bonne manière de préparer des α -hydrazinoesters N^α -protégé.

Cependant, les hydrazines obtenues s'oligomérisent très rapidement d'où un problème de stockage lorsque l'on veut travailler à grande échelle. L'étape avec le Zn/HCl est fastidieuse: on travaille avec du HCl concentré (8 équivalents) suivi de l'ajout de Zn qui est un solide à -78°C . Cette étape nécessite donc de filtrer l'excès de Zn à froid ce qui peut s'avérer compliqué.

Bien que les rendements soient convenables, la mise en œuvre de cette méthode s'avère peu compatible avec une synthèse à grande échelle.

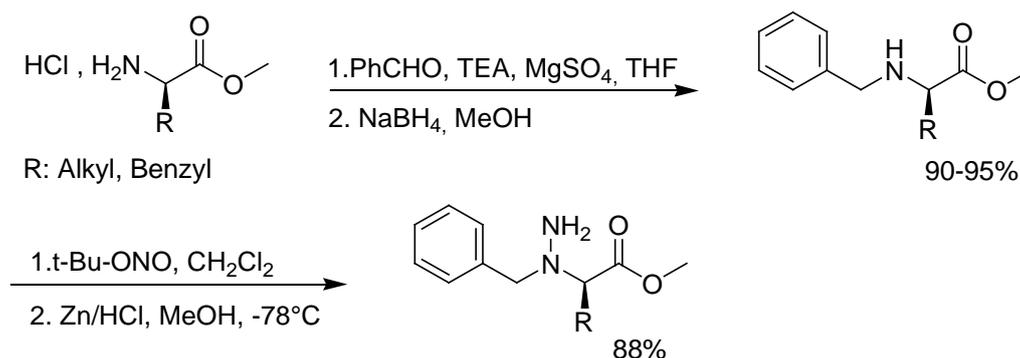


Schéma 4: Nitrosation des α -aminoesters N^α -Bn protégés.

c. *N*-amination par la méthode à l'oxaziridine

Schmitz *et al.*⁴⁴ ont développé comme réactif de *N*-amination, l'oxaziridine de la cyclohexanone. Le transfert du groupement NH_2 sur différents α -aminoesters méthylés est de

l'ordre de 60 %. Toutefois le produit isolé n'est pas l' α -hydrazinoacide mais l'hydrazone avec la cyclohexenone issue de l'oxaziridine initiale (Schéma 5).

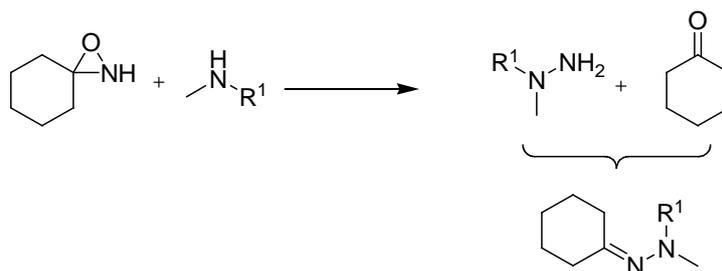


Schéma 5: N-amination d' α -aminoesters par l'oxaziridine de la cyclohexanone.

Dans la perspective de la synthèse peptidique, Collet *et al.* ont développé des oxaziridines *N*-substituées par des carbamates. Ainsi, des réactifs comme la *N*-Boc-3-(4-cyanophényl)oxaziridine ou la *N*-Boc-3-trichlorométhylloxaziridine permettent d'obtenir directement des α -hydrazinoacides N^{β} -protégé par un Boc optiquement purs.⁴⁵ Ces oxaziridines, composés solides stables, sont en effet capables de transférer leur fragment azoté protégé à un centre nucléophile (Schéma 6).

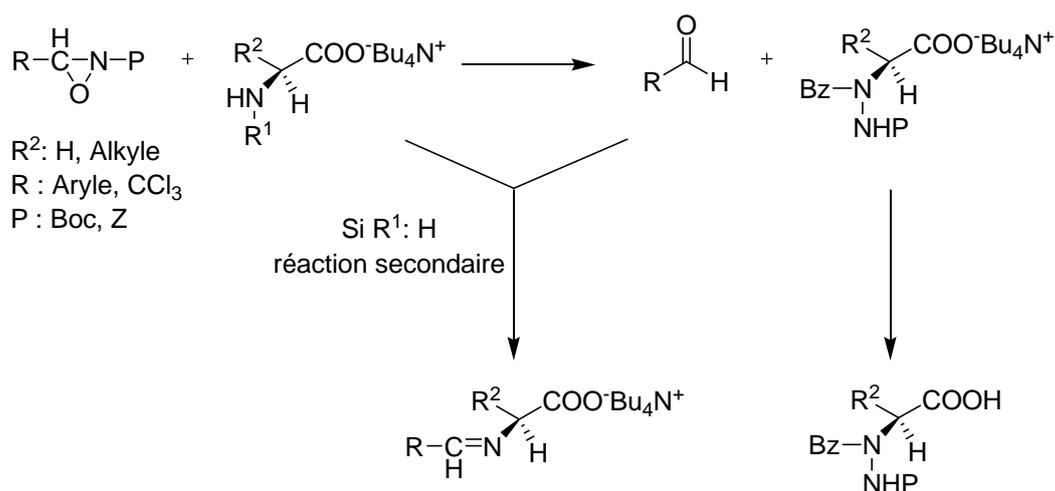


Schéma 6 : N-amination d'acides α -aminés par des oxaziridines *N*-substituées.

Bien que les rendements soient bons et qu'il y ait très peu de racémisation, cette méthode présente quelques limitations. D'une part, cette méthode ne concerne que les amines secondaires (type proline et acides α -aminés benzylés), les amines primaires ($R^1 = H$) conduisant à de faibles rendements dus à la formation d'une base de Schiff. Ceci peut être dû au fait que le cyanoaldéhyde relâché, quand l'oxaziridine transfère son groupement *N*-Boc, peut à son tour réagir avec le produit de départ pour donner la base de Schiff correspondante ou avec le produit attendu pour donner des hétérocycles oxazolidinone. D'autre part, cette méthode est fort coûteuse (coût de l'oxaziridine) et lorsque l'oxaziridine doit être synthétisée *in situ*, elle nécessite une dizaine d'étapes fastidieuses pour des rendements d'oxaziridine relativement faibles (Collet et coll. Brevet WO 97/09303).⁴⁶

I.2.2. Amination réductrice d' α -cétoesters

Burk *et al.*⁴⁷ ont préparé en 1994 des α -hydrazinoesters chiraux par amination réductrice d' α -cétoesters suivi d'une induction asymétrique en réalisant une hydrogénation énantiosélective de la liaison C=N de la *N*-acylhydrazone obtenue, catalysée par un complexe au Rhodium (DuPHOS-Rh), avec le 1,2-bis(phospholano)benzène comme ligand (Schéma 7).

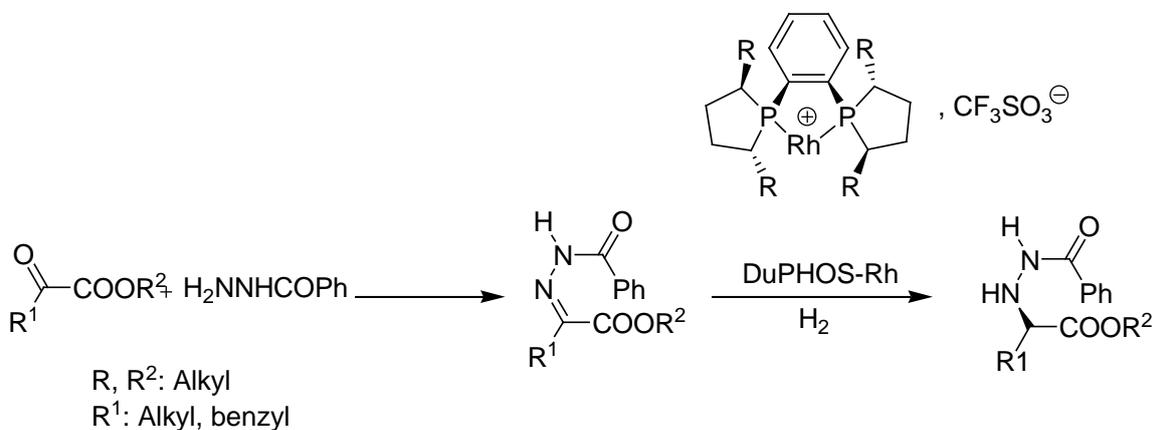


Schéma 7: Amination réductrice et hydrogénation sélective d' α -cétoesters.

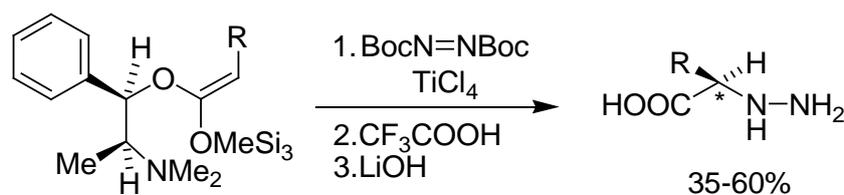
Cette synthèse asymétrique a permis d'obtenir les produits désirés avec des excès énantiomériques satisfaisants (l'ester de l' α -hydrazinoalanine, R¹ = CH₃, est formé avec un excès énantiomérique de 89 %).

Non seulement cette synthèse est très coûteuse, ceci dû à l'utilisation d'un catalyseur au rhodium particulier, mais elle impose aussi de travailler avec une hydrazine substituée sur l'azote N ^{β} , ici par un groupement acylé, pour former la *N*-acylhydrazone correspondante afin que celle-ci soit réduite. Il n'est donc pas possible d'utiliser une hydrazine monosubstituée sur l'azote N ^{α} comme réactif de départ et par conséquent d'obtenir directement les α -hydrazinoesters N ^{α} -alkylé. De plus, les composés obtenus sont des α -hydrazinoesters N ^{β} -acétylé et non substitués sur l'azote alpha. Ainsi, la préparation des α -N ^{α} -hydrazinoesters recherchés imposerait donc de travailler tout d'abord à partir du *tert*-butyl carbazate afin d'avoir directement l'azote N ^{β} protégé en Boc et de procéder à l'alkylation ultérieure de l'azote alpha, ce qui conduirait donc à des problèmes de régiosélectivité et de réactivité, dus à la présence de l'azote supplémentaire.

I.2.3. Amination électrophile d'énolates chiraux par des azodicarboxylates d'esters

Dans la littérature, il existe d'autres méthodes de synthèses asymétriques. On y trouve divers exemples d'aminations électrophiles d'énolates chiraux portant un auxiliaire chiral (Schémas 8 et 9). Les auxiliaires chiraux les plus utilisés sont :

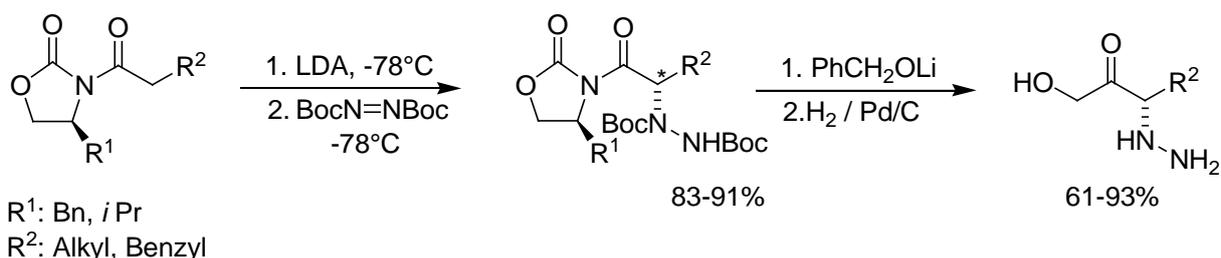
- la (1*R*,2*S*)-*N*-méthyléphédrine (Schéma 8),⁴⁸



R: Alkyl, Benzyl

Schéma 8: Amination électrophile de la *N*-méthyléphédrine par des azodicarboxylates d'ester de type *tert*-butyl azodicarboxylate (DBAD).

- les 4-isopropyl-⁴⁹ ou 4-benzyl-*N*-acyl-2-oxazolidinones (Schéma 9).⁵⁰



R¹: Bn, *i*Pr

R²: Alkyl, Benzyl

Schéma 9: Amination électrophile d'oxazolidinones par des azodicarboxylates d'esters de type *tert*-butyl azodicarboxylate (DBAD).

Ces méthodes permettent d'obtenir avec de bons rendements et de bons excès énantiomériques des composés *N*^α- et *N*^β-protégés par un groupement Boc (voire de très bons rendements supérieurs à 90 % et avec un excès énantiomérique supérieur à 95 % avec la 4-benzyl-*N*-acyl-2-oxalidinones).

Bien qu'efficace, cette méthode requiert l'utilisation d'un azodicarboxylate *N*^α- et *N*^β-protégés en Boc comme dérivé hydrazino de départ. On ne peut donc pas alkyler l'azote *N*^α- à façon afin d'obtenir directement les *α*-hydrazinoesters *N*^α-alkylé. Les composés obtenus étant des *α*-hydrazinoesters *N*^α- et *N*^β-protégés en Boc, il sera donc impossible de déprotéger sélectivement l'azote *N*^α afin de pouvoir procéder à son alkylation dans l'hypothèse de former les *α*-*N*^α-hydrazinoesters escomptés.

I.2.4. La réaction de Mitsunobu

Une tentative de synthèse d'*α*-hydrazinoesters chiraux protégés *via* un protocole dérivé de celui de Mitsunobu a été réalisée par Di Grandi.⁵¹ Contrairement à la procédure classique, il n'y a pas de partenaire acide ; le DBAD joue à la fois le rôle d'activant et de nucléophile. Cette réaction conduit tout d'abord à l'*α*-hydrazinoester déhydrogéné correspondant **A'** et nécessite une étape supplémentaire de réduction par hydrogénation catalytique pour obtenir l'*α*-hydrazinoester **A** (Schéma 10). Le produit est obtenu sous forme racémique.

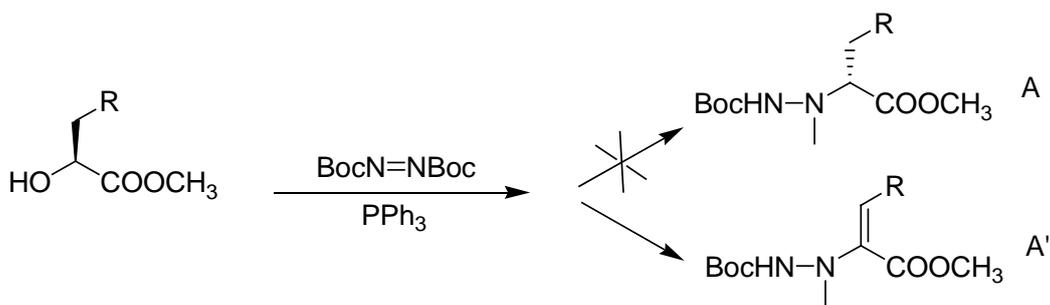


Schéma 10: Protocole de Di Grandi dérivé de Mitsunobu.

Au laboratoire, la découverte de nouveaux partenaires acides pour la réaction de Mitsunobu, les alkyloxy-carbonyl-*N*-aminophtalimides, a ouvert la voie à un nouveau mode de préparation d'alkylhydrazines.^{52,53} Ces *N*-aminophtalimides ont la particularité de posséder un proton acide dû à la présence de trois groupements électroattracteurs et de présenter un encombrement stérique limité de par l'implication des deux groupements carbonyles dans le motif phtalimide. Ces propriétés ont permis de considérer ce type de molécules en tant que partenaires acides dans des réactions de Mitsunobu. La réaction est connue pour être stéréospécifique et s'effectue avec une inversion du centre de chiralité de l'atome de carbone porteur de la fonction hydroxyle. Une application particulièrement intéressante de ce travail consiste en la conversion d' α -hydroxyesters en α -hydrazinoesters *N* ^{β} -phtaloylé chiraux selon le schéma suivant:

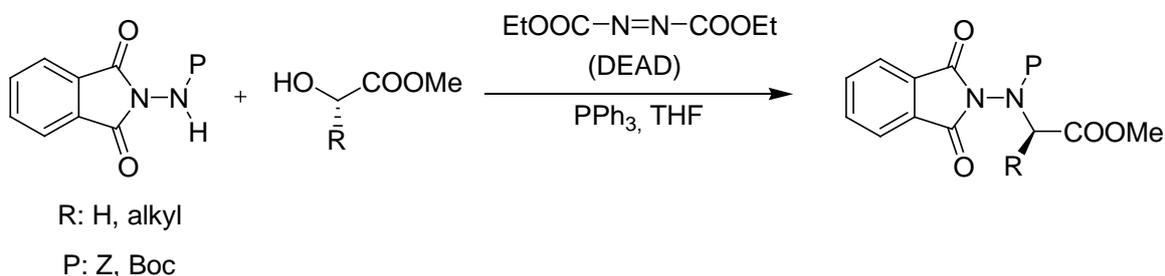


Schéma 11: Réaction de Mitsunobu utilisant un alkyloxy-carbonyl-*N*-aminophtalimide.

Cette méthode permet d'aboutir en peu d'étapes à des α -hydrazinoesters dont les deux azotes sont orthogonalement protégés et ce, avec de bons rendements.

L'excès énantiomérique obtenu s'est avéré supérieur à 98 %. La réaction se fait donc avec une complète inversion de configuration.

Celle-ci constitue donc une bonne méthode pour obtenir des α -hydrazinoesters orthogonalement protégés.

I.2.5. La substitution nucléophile d'ordre 2 (S_N2)

a. Via un dérivé bromé

Une première méthode de synthèse d' α -hydrazinoacides à partir d'acides α -halocarboxyliques a été réalisée avec de bons excès énantiomériques par Carmi⁵⁴ mais avec de faibles rendements (Schéma 12), puis reprise par Sawayama⁵⁵ pour la synthèse de l'hydrazinoornithine. La synthèse passant par une S_N2 permet de former l' α -hydrazinoornithine avec un très bon excès énantiomérique mais avec des rendements toujours très faibles (17,5 %).

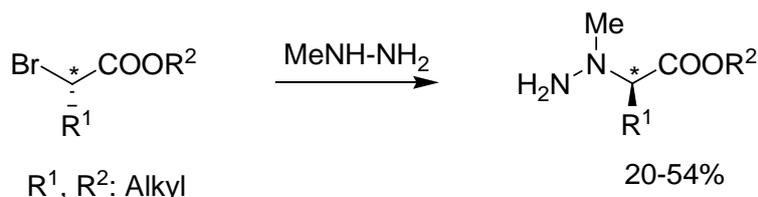


Schéma 12: Synthèse d' α -hydrazinoacides à partir d'acides α -halocarboxyliques selon Carmi.

Plus tard, Cheguillaume *et al.*^{56,57} ont montré qu'il était possible de synthétiser des α -hydrazinoglycines N^β -protégé à partir des α -halogénoesters correspondants et ceci avec des rendements quasi-quantitatifs en solution ou sur support solide, selon que l'on fasse varier les groupements R¹ et R².

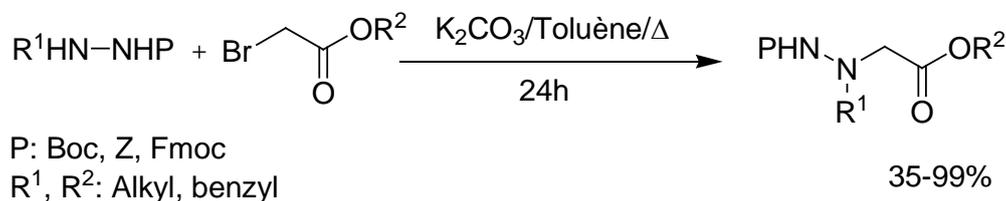


Schéma 13: Réaction S_N2 via un dérivé bromé.

Cette méthode trouve néanmoins sa limite dans le fait qu'elle n'est pas applicable à la synthèse d' α -hydrazinoesters chiraux.

b. Via un α -oxyester

Une des autres stratégies visant la synthèse d' α -hydrazinoesters implique une réaction de type S_N2 entre une hydrazine protégée (par un groupement noté P) et un α -oxyester optiquement actif comportant un groupe partant (noté X) en α du groupe fonctionnel (Schéma 14).

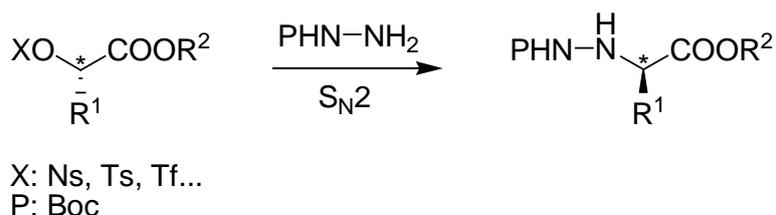


Schéma 14: Réaction S_N2 via un α -oxyester.

Hoffman,⁵⁸ après avoir effectué la S_N2 d'un nosylate (X = Ns) par le *tert*-butylcarbazate (P = Boc) avec une perte importante de la pureté optique, a privilégié la S_N2 d'un triflate (X = Tf) avec cette fois de bons excès énantiomériques et de bons rendements.

Cette méthode semblait donc constituer une bonne voie de synthèse d' α -hydrazinoesters *N* ^{α} -protégés.

I.3. Préparation des précurseurs α -*N* ^{α} -Bn-hydrazinoesters

I.3.1. Introduction

Parmi les méthodes de synthèse décrites ci-dessus, nous avons tout d'abord privilégié celle développée au laboratoire qui consiste à mettre en jeu un partenaire acide de type *N*-aminophthalimide et un α -hydroxyester puis à réaliser une transprotection afin de remplacer le groupement phthalimide par un groupement Boc (Schéma 11).

Nous avons tout d'abord tenté d'adapter les conditions opératoires de cette réaction afin de permettre l'obtention des α -*N* ^{α} -Bn-hydrazinoesters. Malheureusement, le remplacement du groupement Z par un groupement benzyle diminue l'acidité du proton et ne permet pas de réaliser la réaction de Mitsunobu (Schéma 15).

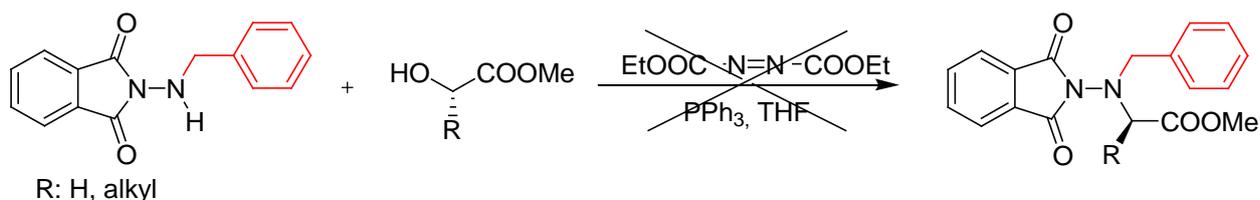


Schéma 15: Remplacement du groupement Z par un groupement Bn dans la réaction de Mitsunobu.

Nous avons, par la suite, déprotégé l'azote *N* ^{α} des composés *N*-aminophthalimides et tenté mais sans succès d'alkyler ou de benzyler cette position (Schéma 16).

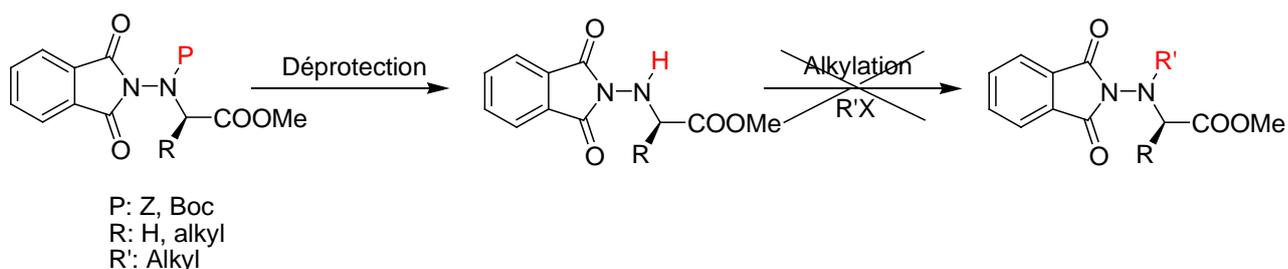


Schéma 16: Tentative d'alkylation de l'azote alpha déprotégé des composés *N*-aminophthalimides.

Nous nous sommes alors intéressés à la méthode décrite par Hoffman⁵⁸ qui consiste en une substitution nucléophile d'un motif triflate par le *tert*-butyl carbazate (Schéma 17).

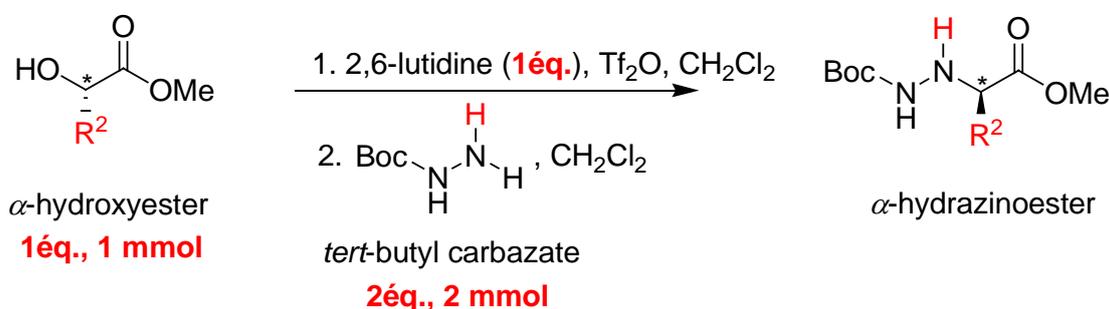
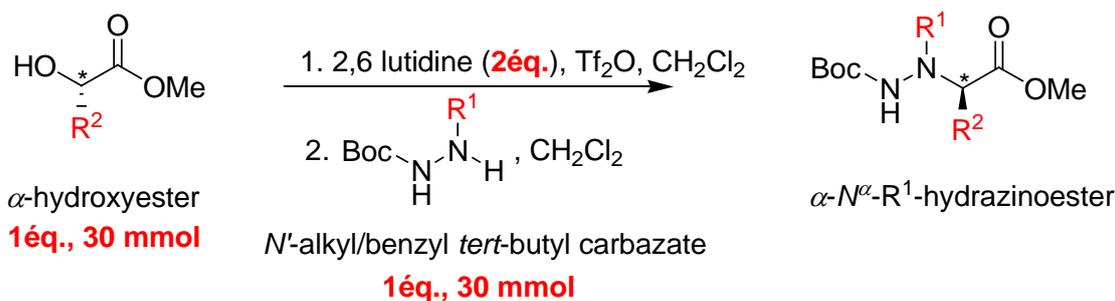


Schéma 17: Réaction $\text{S}_{\text{N}2}$ selon Hoffman pour la préparation d' α -hydrazinoesters.

Il nous semblait en effet possible, de remplacer le *tert*-butyl carbazate par un *N'*-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazate. Il s'est avéré que cette méthode ne donnait de bons rendements que si l'on travaillait uniquement sur des petites quantités (1 mmol). En effet, appliquée à grande échelle, les rendements avaient tendance à baisser significativement. Cette méthode ne permettait donc pas néanmoins d'obtenir des quantités de produits suffisantes en un seul run pour nous permettre la suite de nos travaux.

Des travaux entrepris récemment au laboratoire ont cependant permis de montrer que ce protocole pouvait être amélioré.

En effet, dans la réaction proposée par Hoffman et Kim, l' α -hydroxyester est traité par un équivalent de Tf_2O , l'équivalent de 2,6-lutidine servant à piéger le premier équivalent d'acide triflique libéré au cours de la formation du triflate *in situ*. Deux équivalents de *tert*-butyl carbazate sont alors ajoutés, le premier servant à réagir avec le dérivé triflate par une réaction $\text{S}_{\text{N}2}$ et le second à piéger le deuxième équivalent d'acide triflique généré (Schéma 17).



R^1 , R^2 : Alkyl, benzyl

Schéma 18: Réaction $\text{S}_{\text{N}}2$ selon Acherar appliquée à la synthèse α - N^{α} - R^1 -hydrazinoesters.

La méthode améliorée, proposée au laboratoire par Acherar et Jamart-Grégoire,^{59,60} a consisté à introduire non pas un mais deux équivalents de 2,6-lutidine pour pouvoir piéger les deux équivalents d'acide triflique libérés dans le milieu tout au long de la réaction (Schéma 18). Cette modification permet de s'affranchir de l'utilisation d'un excès de N^{α} -alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazate, réactif qu'il est nécessaire de synthétiser au préalable car non commercial. Cette réaction est de plus réalisée à l'échelle du multigramme, en exécutant la synthèse non pas sur 1 mmol, comme dans le protocole d'Hoffman, mais sur 30 mmol de réactifs de départ. Une autre modification du protocole opératoire a consisté à l'ajout d'éther diéthylique en fin de réaction afin de faire précipiter tout le sel de triflate de 2,6-lutidinium formé au cours de la réaction ; sel que l'on pourra récupérer par filtration. Cette étape facilite la purification par chromatographie sur colonne de silice qui s'ensuit. Enfin, un lavage rapide à l'eau après filtration permet d'éliminer les traces de sel qui n'auraient pas précipité grâce à l'éther diéthylique. Cette étape est ici possible, car contrairement à la méthode décrite par Hoffman, l'azote N^{α} est substitué dans notre cas, ce qui a pour conséquence d'augmenter l'hydrophobie et donc de rendre le lavage à l'eau possible.

Ce nouveau protocole a permis d'obtenir les α - N^{α} - R^1 -hydrazinoesters désirés avec de bons rendements et de travailler à l'échelle du multigramme.

Compte tenu de sa facilité de mise en œuvre et de la possibilité d'obtenir plusieurs grammes de produits en une seule réaction, nous avons décidé d'utiliser ce protocole pour obtenir les α - N^{α} - R^1 -hydrazinoesters fonctionnalisés sur l'azote N^{α} par un groupement alkyle ou benzyle.

Afin de mesurer les potentialités de ce protocole, nous avons réalisé une étude systématique qui a consisté à faire réagir quatre α -hydroxyesters chiraux avec quatre N^{α} -alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates soit seize réactions au total.

Comme toute $\text{S}_{\text{N}}2$, cette réaction est sensible à l'encombrement stérique et c'est ce facteur que nous nous sommes proposé de mesurer.

Pour cela, nous avons décidé de tester un ensemble de chaînes latérales R^1 et R^2 plus ou moins encombrantes sur les α -hydroxyesters chiraux et N^{α} -alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates dérivant de l'alanine, leucine, phénylalanine et valine.

En effet, ces quatre groupements sont:

- le méthyle, le plus simple et le moins encombré,
- le benzyle, dont l'encombrement stérique ne devrait pas poser problème de part le fait que le phényle est plan, et qui devrait, par son caractère hydrophobe, permettre d'augmenter la lipophilie de la molécule finale,
- l'isobutyle, introduisant une première forme d'encombrement, limité cependant par le CH₂ permettant une flexibilité du groupement terminal,
- l'isopropyle, le plus encombré et très contraint, qui devrait limiter l'accès au carbone asymétrique lors de la S_N2.

Ceci nous permettra non seulement de connaître les groupements qui sont les plus compatibles avec cette méthode mais aussi de choisir ceux dont nous nous serviront par la suite dans notre étude. Nous effectuerons en plus ces réactions à l'échelle du multigramme, c'est-à-dire sur 30 mmol de chaque α -hydroxyester chiral et *N'*-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazate afin de démontrer l'efficacité de notre méthode par rapport à celle d'Hoffman.

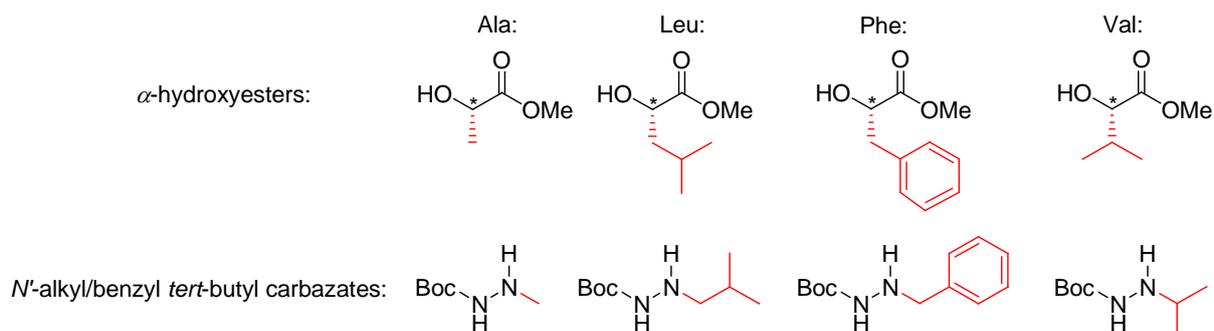


Figure 11: Différents α -hydroxyesters chiraux et *N'*-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates utilisés pour notre méthodologie.

I.3.2. Préparation des *N'*-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates 4

Parmi les méthodes existantes dans la littérature pour la synthèse de carbazates, nous avons choisi la méthode développée par Melendez et Lubell⁶¹ qui permet de préparer facilement des *N'*-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates (Schéma 19).

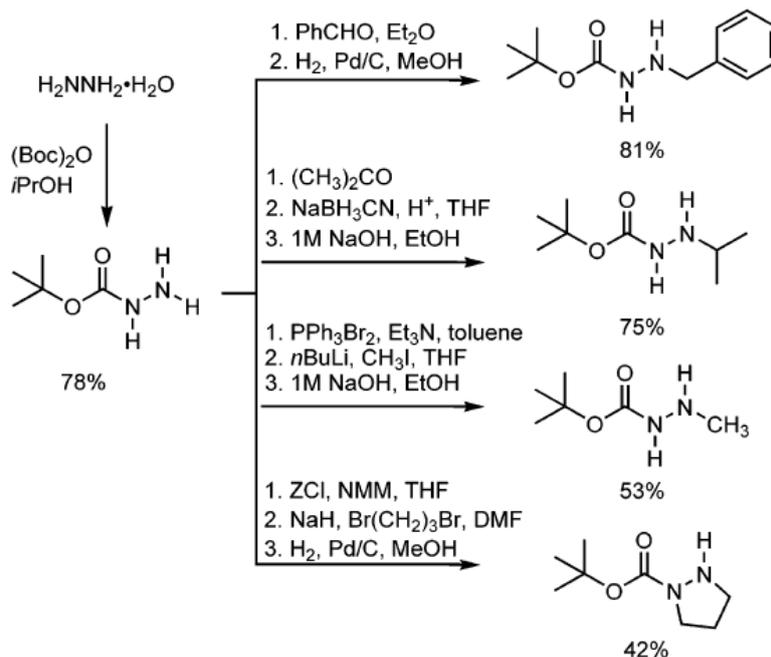


Schéma 19: Synthèse des *N'*-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates décrite par Melendez et al.⁶¹

Ces *N'*-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates sont en effet préparés par condensation du *tert*-butyl carbamate **1** avec un aldéhyde ou une cétone donnant intermédiairement l'hydrazone acylée correspondante qui est ensuite réduite par hydrogénation catalytique ou par l'addition d'un hydrure.

Ainsi, nous avons tenté d'obtenir par cette méthode le *N'*-benzyl *tert*-butyl carbamate **4a**. La condensation du *tert*-butyl carbamate **1** avec le benzaldéhyde **2a** conduit à la benzylhydrazone **3a** correspondante. Malheureusement, l'hydrogénation catalytique préconisée par Melendez et Lubell a donné lieu à une déprotection totale du groupement benzyle porté par l'azote du composé **3a** et ceci même en variant les conditions de réaction.

Une solution à ce problème a été l'utilisation de NaBH₃CN, qui a permis de réduire **3a** avec un excellent rendement (> 90 %), bien supérieur à celui obtenu par hydrogénation catalytique dont les détails de réaction sont donnés dans le schéma 20. C'est pourquoi, nous avons décidé d'en faire notre méthode de choix pour la réduction des différentes hydrazones acylées **3** que nous devons synthétiser.

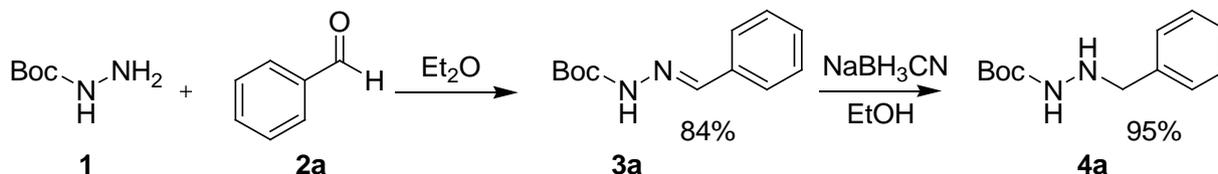


Schéma 20: Synthèse du *N'*-benzyl *tert*-butyl carbamate **4a.**

En remplaçant, le benzaldéhyde **2a** par l'acétone **2b**, il était aussi possible d'accéder au *N'*-isopropyl *tert*-butyl carbazate **4b** en passant par les mêmes étapes avec un rendement global de 82% (91% pour la formation de l'isopropylhydrazone **3b**, puis 90% après réduction par NaBH₃CN).

De la même manière, nous avons pu synthétiser le *N'*-isobutyl *tert*-butyl carbazate **4c** par la méthode décrite par Bailey *et al.*⁶² Cette méthode, similaire à celle employée par Melendez et Lubell,⁶¹ décrit la synthèse du composé **4c** nécessaire à la suite de notre étude. Ainsi, le *tert*-butyl carbazate **1** est dissout dans du toluène à chaud puis est condensé sur l'isobutyraldéhyde **2c** pour donner l'isobutylhydrazone **3c** correspondante. Cette hydrazone est ensuite réduite au moyen de NaBH₃CN dans l'éthanol comme précédemment. Le produit désiré **4c** est enfin isolé avec un rendement global de 80% (Schéma 21).

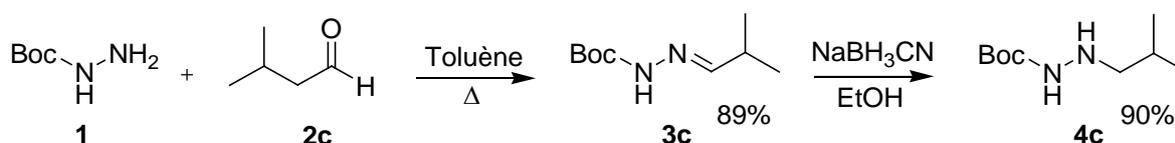


Schéma 21: Synthèse du *N'*-isobutyl *tert*-butyl carbazate **4c.**

A cette étape, il nous restait alors à synthétiser le *tert*-butyl *N'*-méthyl carbazate **4d**. Cependant, les conditions décrites par Melendez et Lubell, soit par condensation de **1** sur le formaldéhyde **2d** suivi d'une réduction, ou bien par l'alkylation de **1** avec l'iodométhane, n'ont pas donné le produit désiré **4d**. La méthode alors utilisée par Melendez et Lubell induisait des rendements relativement moyens (53 % au mieux). Ainsi, après quelques recherches bibliographiques, nous avons décidé d'utiliser la méthode décrite par André *et al.*⁶³ pour la préparation de **4d** à partir de la méthylhydrazine **5**. En raison de la réactivité de tous les protons NH présents dans **5**, ceux-ci devaient être protégés orthogonalement. En effet, il n'est pas possible d'introduire sélectivement un groupement Boc sur l'azote *N*^β. Ainsi, la méthylhydrazine **5** a donc été protégée sur l'azote *N*^α (le plus réactif) à l'aide de ZOSu, puis le sel de chlorhydrate **6** obtenu a été précipité dans l'AcOEt avec un rendement de 75%. Après libération de son sel en milieu basique, la *N*^α-Z-méthylhydrazine est protégée sur l'azote *N*^β par réaction avec Boc₂O. Le groupement Z est ensuite retiré par hydrogénolyse catalytique avec des rendements de l'ordre de 20 % (Schéma 22).

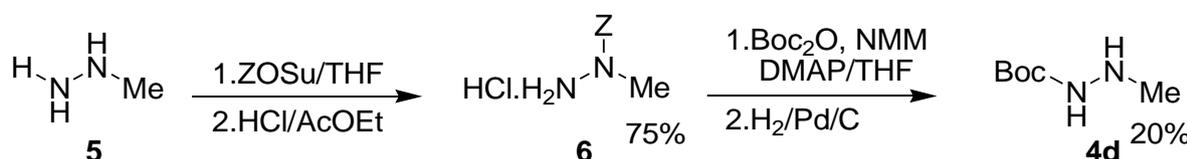


Schéma 22: Synthèse du *N'*-méthyle *tert*-butyl carbazate **4d.**

Cette méthode n'a pas donné lieu aux résultats escomptés pour la synthèse de **4d**. En effet, au cours de cette réaction, nous avons rencontré des problèmes de réactivité liés à l'azote *N*^β. En effet, après libération du sel de chlorhydrate en milieu basique, l'azote *N*^β a la possibilité de

réagir en donnant à la fois des produits mono- et di-protégés (respectivement **7** et **8**) qu'il est difficile de séparer autrement que sur colonne de silice (Schéma 23).

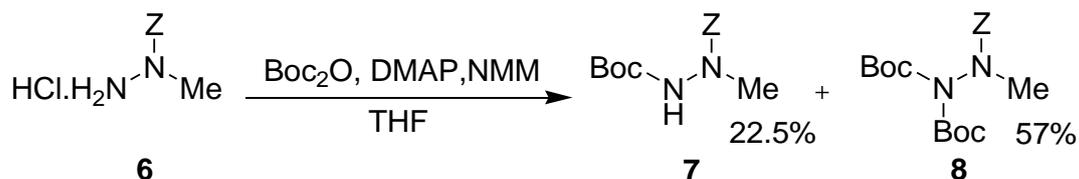


Schéma 23: Réactivité de l'azote bêta: compétition mono- et di-protection.

Aussi, nous nous sommes tournés vers une autre méthode afin de réaliser la protection de l'azote N^β de **6**, puisque celui-ci avait été obtenu dans des rendements satisfaisants avec la méthode précédente (>70 %).

La méthode choisie a consisté à réaliser la monoprotection de **6** par Boc_2O dans un mélange à 50/50 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ en présence de DMAP.⁶⁴ Ceci nous a permis d'obtenir de meilleurs rendements (~82%). Après séparation sur colonne de silice, le produit a enfin été traité par hydrogénation catalytique afin de se débarrasser du groupement protecteur Z puis d'isoler le N' -méthyle *tert*-butyl carbazate **4d** avec des rendements moyens (~55 %) (Schéma 24).

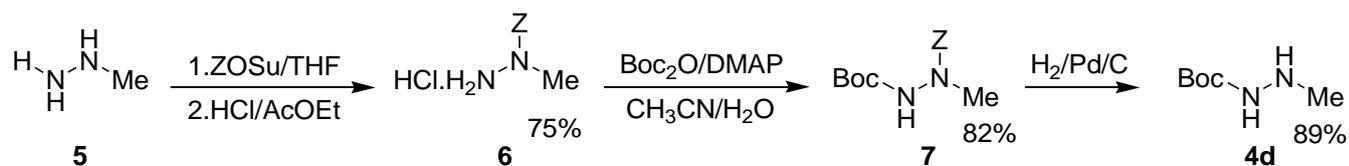


Schéma 24: Synthèse du N' -méthyle *tert*-butyl carbazate **4d.**

Les rendements obtenus lors de ces différentes synthèses sont regroupés dans le tableau 1:

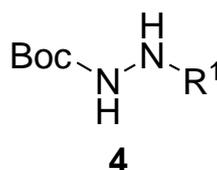


Figure 12: N' -alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates **4.**

Produits 4	R^1	Rendement (%) ^(a)
4a	$-\text{CH}_2\text{Ph}$	80
4b	$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	80
4c	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	81
4d	$-\text{CH}_3$	55

(a) Rendements déterminés à partir des hydrazines **1** ou **5**

Tableau 1: Rendements en N' -alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates **4.**

Les différents *N*'-alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates **4** ont donc été obtenus avec des rendements relativement corrects et ont pu être synthétisés en grandes quantités.

I.3.3. Préparation des α -hydroxyesters **11**

La réaction S_N2 se réalise avec une inversion de configuration en partant d' α -hydroxyesters de configuration absolue *S* (les plus simples à obtenir car partant des *L*-acides α -aminés naturels). Plusieurs composés n'étant pas disponibles commercialement ou ayant un coût élevé, il nous semblait primordial de définir une voie d'accès efficace à ce type de composés.

Nous nous sommes d'abord intéressés à la préparation d' α -hydroxyesters porteurs notamment d'une chaîne latérale plus ou moins encombrée. Plusieurs méthodes sont décrites dans la littérature pour leur synthèse et reposent sur une réaction de nitrosation d'acides α -aminés naturels.^{65,66}

Il a été montré que cette réaction se faisait avec une rétention de configuration. Parmi les voies réactionnelles envisagées, celle qui nous a donné les meilleurs résultats avait déjà été testée au laboratoire. Cette réaction permet à partir d'un *L*-acide α -aminé **9** d'obtenir l' α -hydroxyester **11** correspondant en deux étapes.⁶⁵ La première étape consiste à former l' α -hydroxyacide acétylé **10** à partir du *L*-acide α -aminé **9** en utilisant NaNO_2 dans de l'acide acétique glacial. Ce composé est ensuite soumis à l'action du chlorure de thionyle à très basse température (-40°C) dans du méthanol (Schéma 25). Les α -hydroxyesters **11** sont obtenus purs. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 2.

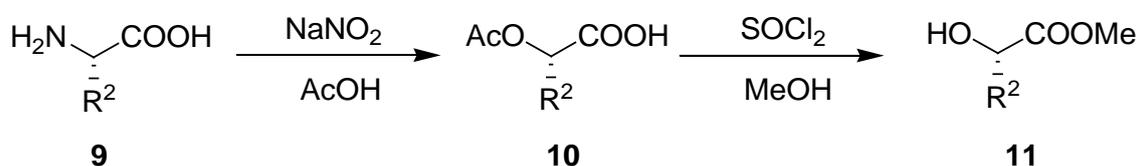


Schéma 25: Synthèse des α -hydroxyesters **11**.

Produits	R^2	Rendements (%) ^(a)
11a	$-\text{CH}_2\text{Ph}$	91
11b	$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	84
11c	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	83
11d	$-\text{CH}_3$	50

(a) Rendements déterminés à partir des acides α -aminés **9**

Tableau 2: Rendements en α -hydroxyesters **11**.

Cette méthode nous a donc permis de préparer une série d' α -hydroxyesters **11** de configuration absolue *S* dérivés de *L*-acides α -aminés **9** avec de bons rendements.

I.3.4. Synthèse des précurseurs α - N^α -hydrazinoesters **12** par un mécanisme S_N2

La synthèse des monomères **12** s'effectue par une réaction de type S_N2 développée par Hoffman et Kim⁵⁸ et améliorée au laboratoire.^{59,60}

Une fois, les quatre α -hydroxyesters **11** et les quatre N' -alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazates **4** synthétisés, il s'agissait alors de réaliser des combinaisons des deux unités synthétiques **4** et **11** par réaction S_N2 .

Les résultats concernant la synthèse des différents précurseurs **12** sont consignés dans le tableau 3.

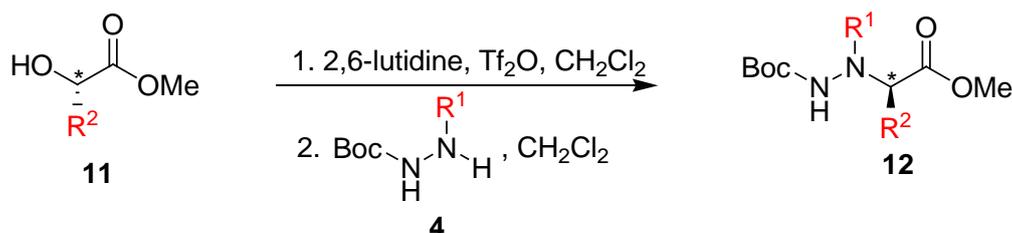


Schéma 26: Synthèse des monomères α - N^α -hydrazinoesters **12** par un mécanisme S_N2 .

Produits	R^2	R^1	Rendements (%) ^(a)
12a	-CH ₃	-CH ₃	87
12b	-CH ₂ Ph	-CH ₃	84
12c	-CH ₃	-CH ₂ Ph	83
12d	-CH ₂ Ph	-CH ₂ Ph	82
12e	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	-CH ₃	80
12f	-CH ₃	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	80
12g	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	-CH ₂ Ph	78
12h	-CH ₂ Ph	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	78
12i	-CH ₃	-CH(CH ₃) ₂	62
12j	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	62
12k	-CH ₂ Ph	-CH(CH ₃) ₂	60
12l	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	-CH(CH ₃) ₂	58
12m	-CH(CH ₃) ₂	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	22*
12n	-CH(CH ₃) ₂	-CH ₃	15*
12o	-CH(CH ₃) ₂	-CH ₂ Ph	10
12p	-CH(CH ₃) ₂	-CH(CH ₃) ₂	0

(a) Rendements déterminés après purification sur colonne de silice à partir de **4** et **11**

Tableau 3: Rendements en monomères α - N^α -hydrazinoesters **12** par S_N2 .

Comme cela était prévisible, la réaction S_N2 est sensible à l'encombrement stérique. En effet, nous avons obtenu les meilleurs rendements en travaillant avec des groupements peu encombrés comme le méthyle et le benzyle (CH_3 et CH_2Ph) qu'ils soient portés sur les composés **4** ou **11** (produits **12a-d**).

Nous avons pu observer ensuite une baisse des rendements lorsque l'on passe à des groupements plus encombrés comme l'isobutyle ($CH_2CH(CH_3)_2$), les rendements restant relativement moyens voire bons pour certains (produits **12e-l**) quelque soit la position des groupements sur l'azote ou le carbone asymétrique.

Lorsque le composé **11** est très encombré avec l'isopropyle ($R^2 = CH(CH_3)_2$), on observe une baisse très importante des rendements (produits **12m-o**).

On notera par ailleurs que la réaction entre **11b** et **4b** n'a tout simplement pas lieu (composé **12p**). Nous avons cependant remarqué que les rendements restaient corrects voire relativement bons quand le groupement isopropyle était porté par l'azote (composé **4b**).

Ces observations montrent que l'encombrement stérique du composé **11** a plus d'influence sur le rendement que celui du composé **4**.

Ces résultats obtenus, il s'agissait aussi de vérifier si la réaction S_N2 , que nous avons améliorée, ne donnait pas lieu à une racémisation partielle. Aussi, nous avons décidé de comparer les pouvoirs rotatoires de certains de nos produits avec ceux, optiquement purs, décrits dans la littérature et synthétisés par des méthodes autrement plus onéreuses, notamment par la méthode à l'oxaziridine.⁸

Nous avons donc synthétisé l'ester méthylique du monomère **12g** ainsi que l'acide **13c** par déprotection de l'ester **12c** par une réaction de saponification (Schéma 27).

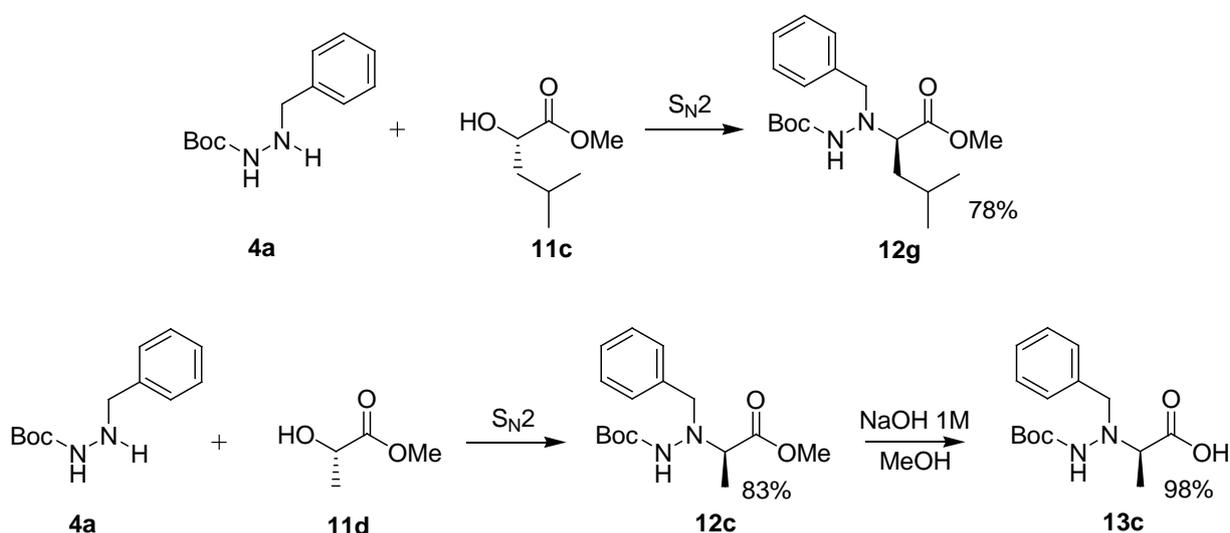


Schéma 27: Synthèse de l' α - N^α -hydrazinoester **12g et de l' α - N^α -hydrazinoacide **13c**.**

Une fois les deux composés obtenus, nous avons ensuite mesuré puis comparé leur pouvoir rotatoire à ceux décrits dans la littérature (énantiomères *S*).^{18,46}

Les résultats obtenus ont été consignés dans le tableau 4.

Produits	Pouvoir rotatoire expérimental (littérature) (Énantiomères <i>S</i>) $[\alpha]_D^{25}$	Pouvoir rotatoire expérimental (mesuré) (Énantiomères <i>R</i>) $[\alpha]_D^{25}$
12g	+ 25.4 (<i>c</i> = 0,99 ; CHCl ₃) ¹⁸ (<i>c</i> en g/100 ml)	- 24.6 (<i>c</i> = 0,99 ; CHCl ₃)
13c	+ 22.8 (<i>c</i> = 1,14 ; MeOH) ⁴⁶ (<i>c</i> en g/100 ml)	- 21.7 (<i>c</i> = 1,14 ; MeOH)

Tableau 4: Comparaison des pouvoirs rotatoires expérimentaux des composés 12g et 13c.

Les résultats des pouvoirs rotatoires obtenus avec notre méthode se sont avérés très proches (~1°) de ceux décrits dans la littérature.^{18,46}

Ils nous ont donc permis de prouver que notre approche permettait la synthèse des composés α -*N* ^{α} -hydrazinoesters **12** de configuration *R* optiquement purs.

I.4. Conclusion

Parmi toutes les méthodes permettant la synthèse d' α -hydrazinoesters, très peu sont à la fois efficaces, peu onéreuses, faciles à mettre en œuvre et applicables à l'échelle du multigramme. Nous nous étions donc imposés comme objectif de réussir à synthétiser spécifiquement des monomères α -*N* ^{α} -hydrazinoesters **12** optiquement purs.

Nous avons pour ce faire révisité et amélioré la méthode décrite par Hoffman afin d'obtenir les monomères **12** à l'échelle du multigramme. La mesure et la comparaison des pouvoirs rotatoires de nos composés **12g** et **13c** avec ceux décrits dans la littérature, nous ont donné la confirmation de l'énantiosélectivité de notre nouveau protocole de synthèse.

II
**SYNTHÈSE DES OLIGOMÈRES LINÉAIRES 1:1-[α / α -N ^{α} -Bn-
HYDRAZINO]ESTERS ET AMIDES**

II.1. Introduction

II.1.1. Réactivité d'un α -hydrazinoacide dans une chaîne peptidique

Des travaux au laboratoire ont montré que le remplacement de la fonction amine des acides α -aminés par un motif α -hydrazino pouvait conduire à une diminution de la réactivité rendant plus difficile le couplage avec un acide α -aminé. En effet, la présence de deux azotes N^α et N^β pose un problème de régiosélectivité lors du couplage peptidique. L'acylation d'un α -hydrazinoacide peut en effet conduire à 3 types de composés: α -monoacylé (I), β -monoacylé (II) et α, β -diacylés (III) (Schéma 28).

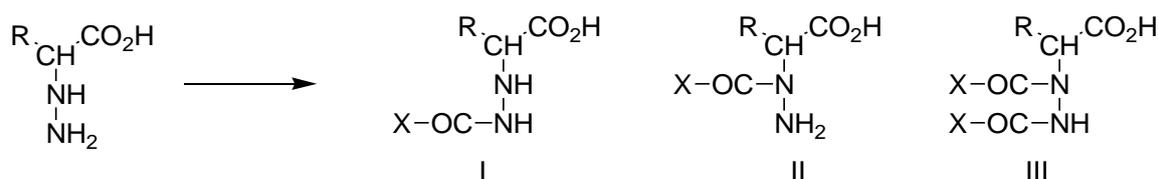


Schéma 28: Réactivité des N^α et N^β d'un α -hydrazinoacide.

Le premier problème des α -hydrazinoacides en synthèse peptidique provient donc de la réactivité des deux azotes vis-à-vis des réactifs d'acylation.

Lors de leurs travaux sur la synthèse et l'étude d' α -hydrazinopeptides, Seebach et Lelais¹⁸ ont montré qu'il était possible de contourner cette contrainte en travaillant avec des α -hydrazinoacides N^α -protégé. Au laboratoire, lors d'une étude réalisée par Bouillon sur la synthèse d' α -hydrazinopeptides, celle-ci a montré que les rendements obtenus lors des couplages peptidiques étaient fortement dépendants de la nature des agents de couplage mais aussi de la nature de la protection de l'azote N^α présent dans la chaîne peptidique. Ainsi les meilleurs résultats ont été obtenus en travaillant avec des groupements protecteurs sur l'azote N^α , notamment le groupement Z, même s'il s'est avéré plus tard que celui-ci, de par les effets stéréoelectroniques qu'il exerce, c'est-à-dire l'effet inductif attracteur conjugué à son encombrement stérique, avait pour effet de diminuer les propriétés nucléophiles de l'azote N^α . Ceci concordant avec les résultats de Seebach, il nous a donc paru logique que l'oligomérisation de nos précurseurs α - N^α -hydrazinoesters **12** imposait donc de protéger l'azote N^α par un groupement protecteur approprié dans l'optique d'avoir les meilleurs résultats possibles.

II.1.2. Choix du monomère

Comme nous l'avons présenté auparavant, la stratégie de synthèse que nous avons choisi d'adopter nécessitait la préparation de dimères 1:1-[α/α - N^α -hydrazino]esters. Nous avons donc décidé de synthétiser ces derniers à partir des monomères **12** préparés par la méthode développée par Acherar et Jamart-Grégoire au laboratoire.^{59,60}

Pour ce faire, nous devons choisir avec précaution le monomère que nous allons utiliser. Celui-ci devait répondre en effet à plusieurs critères importants:

- comporter un groupement protecteur benzyle sur le N^α pour accroître sa lipophilie,
- comporter des chaînes latérales compatibles avec la cyclisation, c'est-à-dire qui minimise la gêne stérique, tout en facilitant l'étude conformationnelle,
- être synthétisé dans des rendements satisfaisants.

Nous avons choisi de travailler sur le dimère 1:1- $[\alpha\text{-Leu}/\alpha\text{-}N^\alpha\text{-Bn-hydrzinoalanine}]$ ester formé à partir d'un acide α -aminé naturel, la leucine et du monomère **12c**.

Il est à noter que l'on peut observer des problèmes de réactivité dus à la présence des deux azotes dans les monomères $\alpha\text{-}N^\alpha$ -hydrzinoesters **12**, l'azote alpha ayant tendance à baisser la réactivité de l'azote bêta.

Pour palier à ce problème, nous avons décidé de placer l'acide α -aminé du côté N -terminal et l' α -hydrzinoacide du côté C -terminal afin de n'avoir à réaliser qu'une seule fois le couplage peptidique du coté N -terminale de l'unité α -hydrzinoacide.

L'oligomérisation de ces deux unités de base devrait conduire aux oligomères mixtes. Ainsi, nous nous proposons de réaliser la synthèse des oligomères mixtes 1:1- $[\alpha\text{-Leu}/\alpha\text{-}N^\alpha\text{-Bn-hydrzinoalanine}]$ esters (Figure 13).

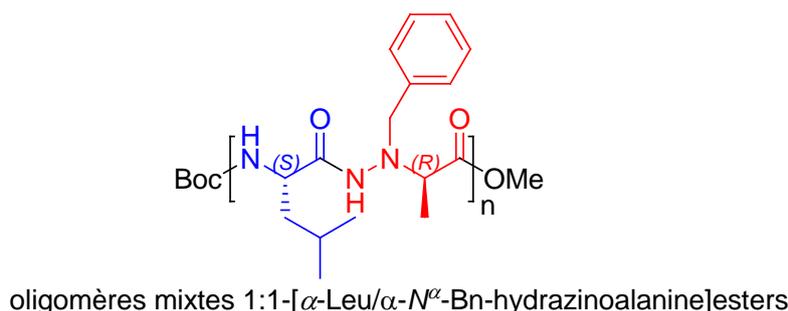


Figure 13: Les oligomères mixtes 1:1- $[\alpha\text{-Leu}/\alpha\text{-}N^\alpha\text{-Bn-hydrzinoalanine}]$ esters.

Afin de vérifier l'influence de la chaîne latérale sur la structuration de ces oligomères mixtes, nous avons décidé de travailler à la fois en série hétérochirale, en utilisant comme acide α -aminé de départ la L -Leucine, tandis que l'utilisation de la D -leucine nous donnera accès aux oligomères de la série homochirale.

II.1.3. Choix des conditions de couplage

Comme pour la synthèse pas à pas de peptides, la synthèse des dimères puis des oligomères fait appel à une succession d'étapes de protection, activation, couplage et déprotection. L'unité de départ peut donc être dans ce cas soit l'acide α -aminé, soit le précurseur $\alpha\text{-}N^\alpha$ -hydrzinoesters **12** (Schéma 29).

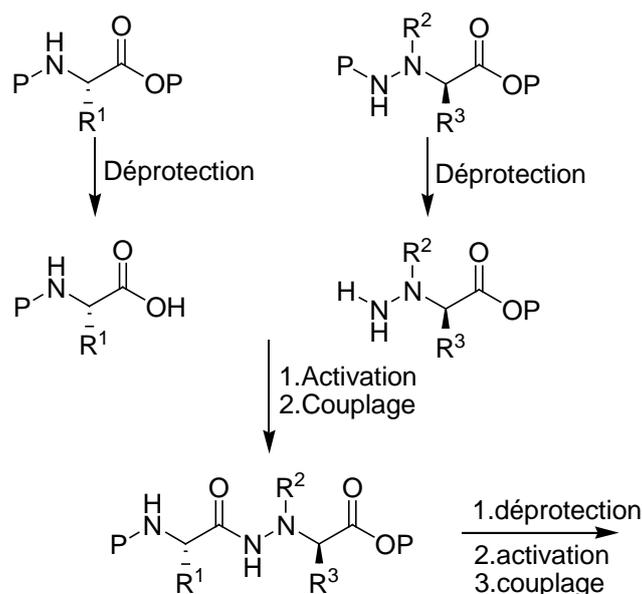


Schéma 29: Oligomérisation en phase liquide.

Pour allonger la chaîne peptidique, deux stratégies peuvent être envisagées :

- L'élongation pas à pas consiste à condenser chaque unité successivement sur la chaîne peptidique de l'extrémité C- vers l'extrémité N-terminale.
- Le couplage de fragments consiste à synthétiser deux fragments séparément, puis à les coupler l'un à l'autre.

Pour réaliser ces couplages pseudopeptidiques particuliers, les réactifs de synthèse les plus utilisés sont les sels de phosphonium et les carbodiimides:

- Le plus connu est le réactif de Castro, l'hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium ou BOP.⁶⁷ Cependant, au cours du couplage, ce dernier libère de l'hexaméthylphosphorotriamide (HMPT), un composé cancérigène. Ainsi, il peut être remplacé par de nombreux réactifs tels que le HBTU (*N*-[(1*H*-benzotriazole-1-yl)(diméthylamino)méthylène]-*N*-méthylméthanaminium hexafluorophosphate *N*-oxyde) ou le HATU (*N*-[(diméthylamino)-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5,*b*]pyridin-1-yl-méthylène]-*N*-méthylméthanaminium hexafluorophosphate *N*-oxyde)^{68,69} qui, non seulement ne requièrent pas de conditions particulières de mise en œuvre, mais permettent surtout d'obtenir des rendements satisfaisants.
- Les carbodiimides: agents de couplage très employés en synthèse peptidique. Parmi les plus connus, nous trouvons la DCC (dicyclocarbodiimide)⁷⁰ générant une urée peu soluble dans l'eau, la dicyclohexylurée (DCHU), d'où son remplacement par l'EDC (1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl)carbodiimide),⁷¹ dont l'urée formée est facilement éliminée à l'eau rendant les purifications plus simples. Ces carbodiimides sont en général associés avec des amines hydroxylées comme le 1-

hydroxybenzotriazole (HOBt)⁷² ou le 7-Aza-1-hydroxybenzotriazole (HOAt)⁷³ afin de réaliser le processus d'activation lors du couplage peptidique.

a. Méthode à l'HATU/NMM

Seebach et Lelais ont fait de cette dernière leur méthode de choix pour réaliser leurs couplages peptidiques lors de leurs synthèses de polyhydrazinopeptides à partir d' α -hydrazinoacides N^α -protégés (Schéma 30).¹⁸ Il est en effet connu que la présence du HATU comme activant, accélère les réactions de couplage des acides α -aminés, probablement par catalyse basique intramoléculaire.⁷⁴

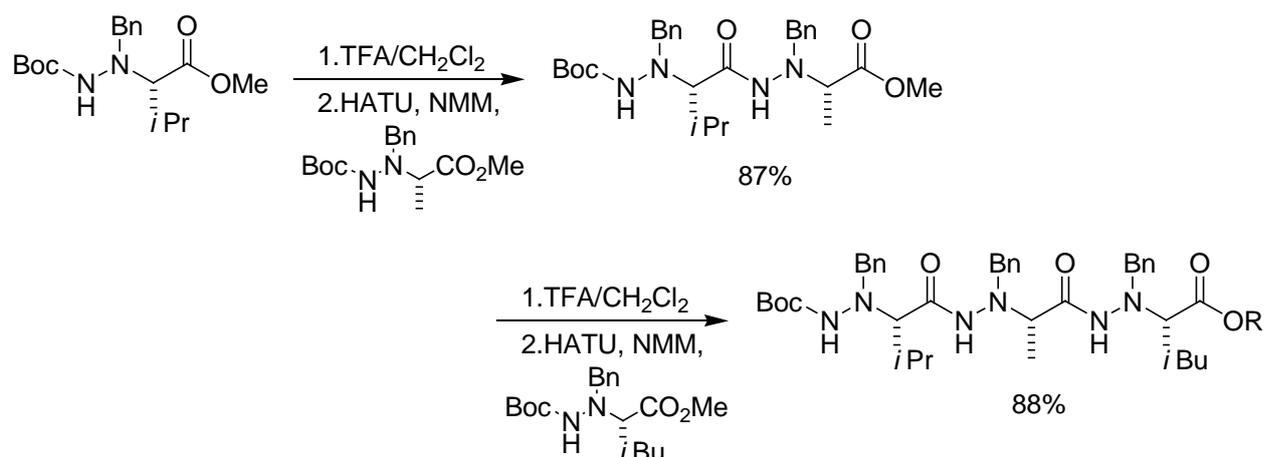


Schéma 30: Synthèse de polyhydrazinopeptides décrite par Seebach et Lelais.

Ces couplages qui ont pour la plupart été réalisés dans le CH_2Cl_2 et/ou le DMF ont permis d'obtenir efficacement les dimères et trimères α - N^α -Bn-hydrazinoesters avec des rendements respectifs de 87 % et 88%. Cependant, il leur a été impossible de synthétiser l'hexapeptide correspondant en utilisant cette même méthode.

Il est à noter d'ailleurs que des études ont montré que le remplacement de HATU par HBTU, lors des couplages peptidiques, entraînait une baisse des rendements et donc une diminution de l'efficacité de ces réactions, ceci étant dû à la réactivité accrue de HATU par la présence d'un azote supplémentaire dans le système aromatique par rapport au HBTU.⁷⁴

b. Méthode à l'EDC/HOBT

L'équipe de Le Grel a, quant à elle, basé sa synthèse de composés aza- β^3 -peptides sur l'utilisation du couple DCC/DMAP lors d'une première étude.⁷⁵

Cependant, en raison de la difficulté à se débarrasser du DCC qui nécessitait une filtration sur célite ainsi qu'une purification par chromatographie sur colonne de silice, les auteurs ont décidé de procéder à quelques aménagements. Ainsi, en variant les conditions de couplage et en utilisant le couple EDC/HOBt, ils ont pu augmenter les rendements des produits synthétisés, tout en simplifiant les purifications des produits obtenus (en effet, l'urée formée

par l'EDC est hydrosoluble tandis que HOBt précipite à l'ajout de HCl lors des lavages aqueux).²⁸

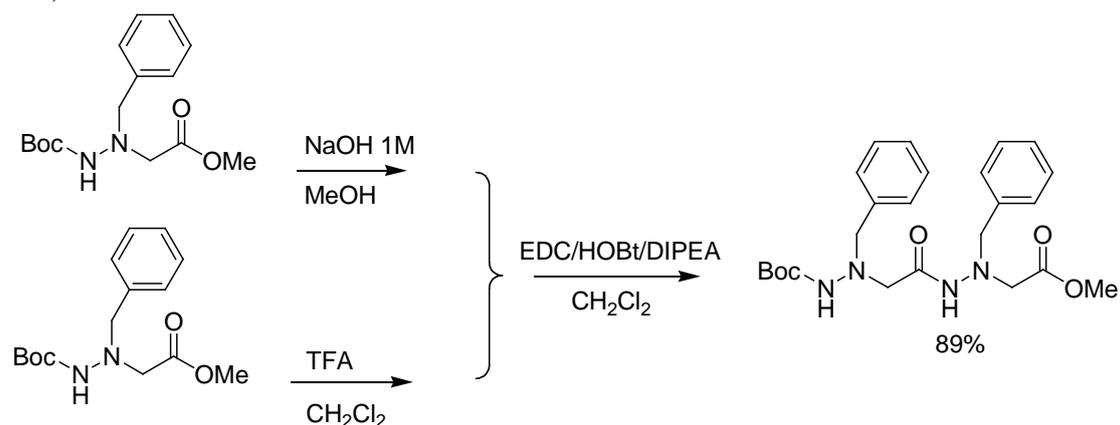


Schéma 31: Synthèse d'un aza- β^3 -dipeptide selon l'équipe de Le Grel.

Par cette méthode, ils ont pu synthétiser un aza- β^3 -dipeptide avec des rendements de 89% (Schéma 31). Le même procédé leur a permis d'obtenir les aza- β^3 -tétra- et pentapeptide avec des rendements de 78 % chacun.

c. Méthode à l'EDC/HOAT

Une méthode analogue a permis les couplages d'unités pseudopeptidiques α -aminoxysters qui sont les analogues des α -hydrazinoesters pour lesquels l'atome d'azote N^{β} a été remplacé par un atome d'oxygène.

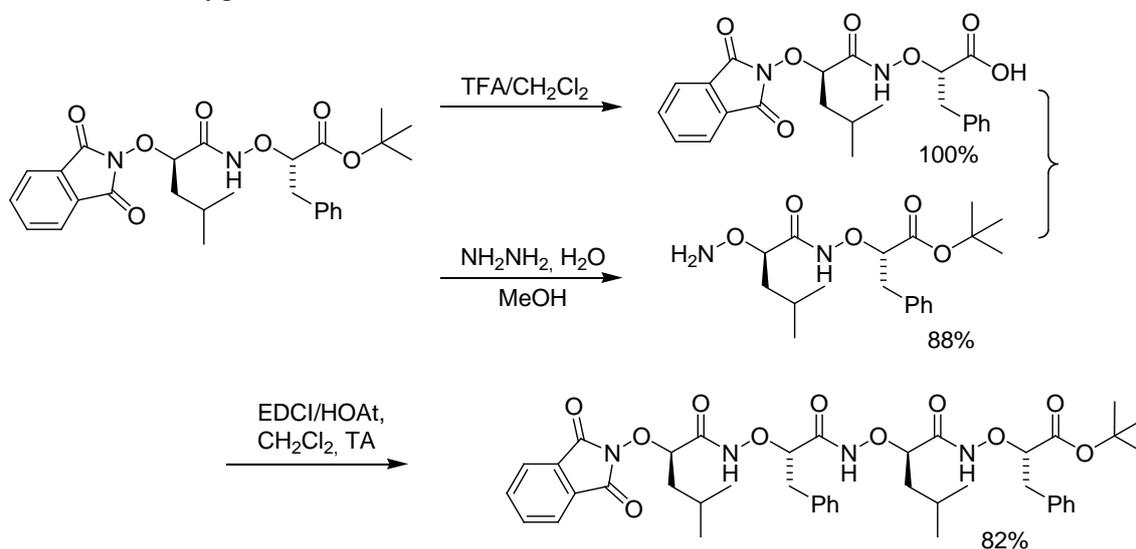


Schéma 32: Synthèse d'un α -aminoxypeptide décrite par l'équipe de Yang.

Yang *et al.* ont réussi à obtenir par couplage peptidique à l'aide du couple EDC/ HOAt, les tétra- et hexamères α -aminoxysters avec des rendements satisfaisants de 82% et 77% respectivement.⁷⁶

Selon une étude, il semblerait que de par sa structure (semblable à l'HOBt avec cependant un azote en plus dans le système aromatique), l'HOAt présenterait une plus grande réactivité, en augmentant les rendements de couplage et en minimisant les risques de racémisation.⁷⁴

Pour la synthèse de nos 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères, nous avons donc décidé de privilégier l'utilisation de l'agent de couplage HATU en raison des bons résultats obtenus avec cette méthode sur des α -hydrazinopeptides C^α -substitué de Seebach.

II.2. Synthèse des dimères hétéro- et homochiraux 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]esters 15a et 15b

La synthèse des dimères nécessitait préalablement la déprotection coté *N*-terminale du monomère **12c** et *C*-terminale de l'acide α -aminé naturel. Dans notre cas, l'étape de déprotection du monomère **12c** a été réalisée selon les conditions classiques conduisant à des rendements quasi-quantitatifs. La partie *N*-terminale est donc libérée de son groupement protecteur Boc en milieu acide au moyen d'acide trifluoroacétique (TFA) en proportion 40/60 dans du CH_2Cl_2 . Pour des raisons pratiques, le précurseur est conservé sous forme de sel de TFA **14**, car lorsque l'on réalise des lavages aqueux avec NaHCO_3 , l'amine libérée peut se solubiliser en phase aqueuse et on ne récupère pas le produit désiré dans la phase organique.

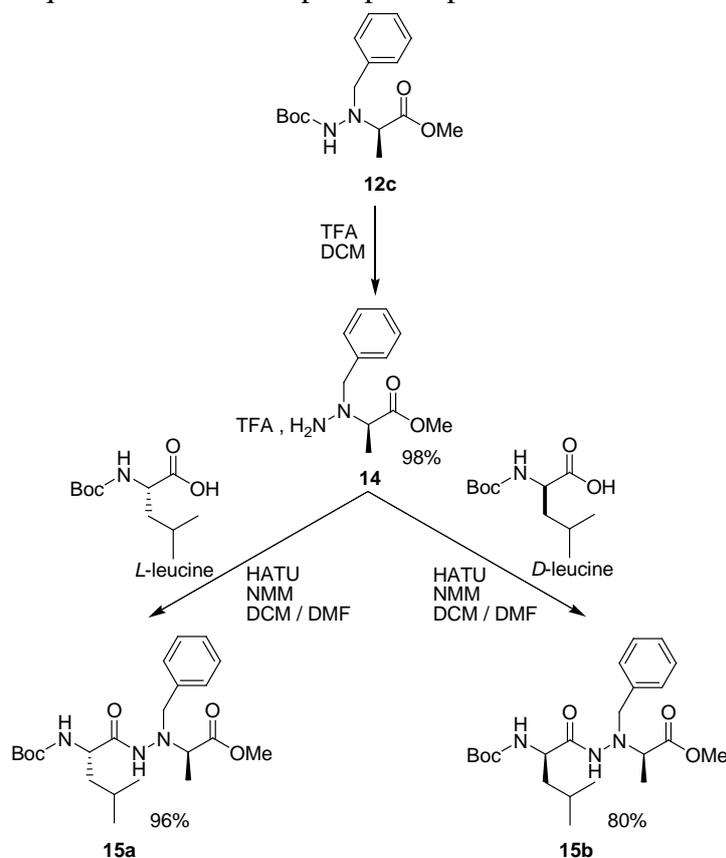


Schéma 33: Synthèse des dimères hétéro- et homochiraux 15a et 15b.

Nous avons par la suite testé différentes méthodes de couplage afin d'obtenir les meilleurs rendements selon les conditions évoquées plus tôt. Les résultats des dimères hétéro- et homochiraux sont consignés dans le tableau 5.

Conditions de couplage	Dimère hétérochiral 15a (rendement en %) ^(a)	Dimère homochiral 15b (rendement en %) ^(a)
EDC/HOBt/Et ₃ N	88	-
HBTU/DIPEA	79	-
HATU/NMM	94-96	80

(a) Rendements après purification par chromatographie sur colonne de silice par rapport à **14**

Tableau 5 : Rendements en dimères hétéro- et homochiraux 15a et 15b.

Parmi les méthodes utilisées, celle utilisant l'HATU comme agent de couplage nous a donné les meilleurs résultats pour **15a** (94 à 96%).

Il est à noter cependant que le HATU et le HBTU ne sont pas très solubles dans le CH₂Cl₂ et nécessitent l'ajout de DMF dans le milieu réactionnel, un solvant dont il est difficile de se débarrasser notamment en raison de son haut point d'ébullition. Sur ce point, la méthode utilisant le couple HOBt/EDC présente l'avantage de faciliter les purifications par chromatographie sur colonne de silice. En effet, l'HOBt forme un sel qui précipite en milieu acide (après ajout de HCl lors des lavages), tandis que l'urée produite par l'EDC après le couplage, est soluble en milieu aqueux et donc facilement éliminée par extraction. D'ailleurs des tentatives de « trituration » des bruts réactionnels ont été réalisées conformément à ce qui avait été obtenu pour d'autres couplages, mais n'ont pas donné lieu à des résultats satisfaisants permettant de se passer d'une purification par chromatographie sur colonne de silice.

Le HATU a donc été également utilisé pour la synthèse du dimère homochiral obtenu dans ces conditions avec un rendement de 80%.

II.3. Synthèse des tétramères hétéro- et homochiraux 1:1-[α/α -N^{*α*}-Bn-hydrazino]esters **18a** et **18b**

Nous avons ensuite envisagé la synthèse des tétramères hétéro- et homochiraux **18a** et **18b** en utilisant les dimères hétéro- et homochiraux **15a** et **15b** comme synthons de départ.

Les étapes de déprotection des extrémités N- et C-terminales des dimères **15a** et **15b** ont été réalisées en utilisant respectivement un mélange TFA/CH₂Cl₂ en proportion volumique de 2/3, avec un rendement quantitatif pour la déprotection du Boc, composés **17** (conservés sous forme de sel de TFA pour les raisons énoncées plus tôt), et NaOH 1N dans le méthanol pour la déprotection de l'ester méthylique, composés **16** (Schéma 34).

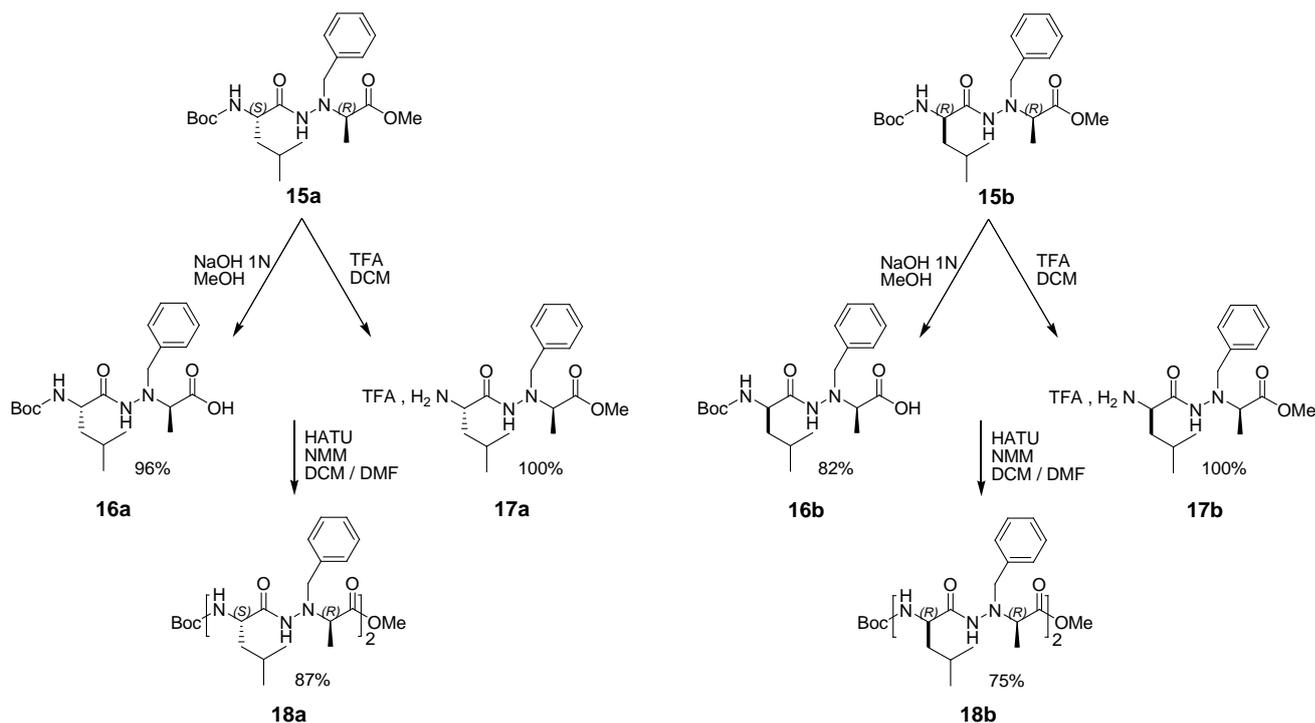


Schéma 34: Synthèse des tétramères hétéro- et homochiraux 18a et 18b.

Nous avons ensuite testé deux méthodes dont les résultats sont présentés dans le tableau 6.

Conditions de couplage	Tétramère hétérochiral 18a (rendement en %) ^(a)	Tétramère homochiral 18b (rendement en %) ^(a)
HBTU/DIPEA	70-80	-
HATU/NMM	87	75

(a) Rendements après purification par chromatographie sur colonne de silice par rapport à **16**

Tableau 6: Rendements de synthèse des tétramères hétéro- et homochiraux 18a et 18b.

La méthode utilisant le HATU permet d'obtenir les tétramères hétéro- et homochiraux **18a** et **18b** avec de bon rendements.

II.4. Synthèse de l'hexamère hétérochiral 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-}N^{\alpha}\text{-Bn-hydrazino}]$ ester **20a**

La synthèse de l'hexamère a été réalisée par couplage [4+2]. En effet, le tétramère hétérochiral déprotégé côté C-terminal **19a** est couplé au dimère hétérochiral déprotégé côté N-terminal **17a** à l'aide du HATU (nous n'avons pas essayé les autres méthodes de couplage pour des raisons de temps), afin d'obtenir l'hexamère hétérochiral **20a** avec un bon rendement

de 83% après purification par chromatographie sur colonne de silice. Des couplages [2+4] (dimère *C*-déprotégé avec un tétramère *N*-déprotégé) ont été réalisés et ont donné les mêmes résultats.

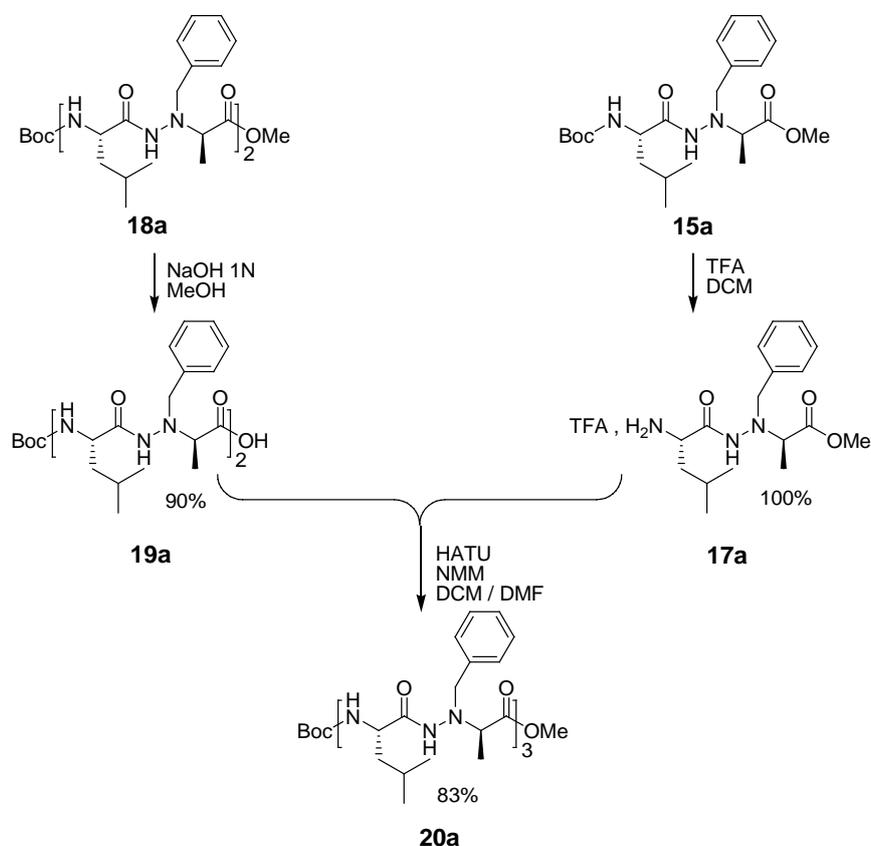


Schéma 35: Synthèse de l'hexamère hétérochiral **20a**.

II.5. Synthèse de l'octamère hétérochiral 1:1-[α/α -*N* ^{α} -Bn-hydrazino]ester **22a**

Pour l'octamère hétérochiral, un couplage 4+4 de deux tétramères hétérochiraux a été privilégié. Le même protocole appliqué aux tétramères déprotégés **19a** et **21a** permet d'obtenir l'octamère hétérochiral **22a** avec un rendement de 77%, après chromatographie sur colonne de silice.

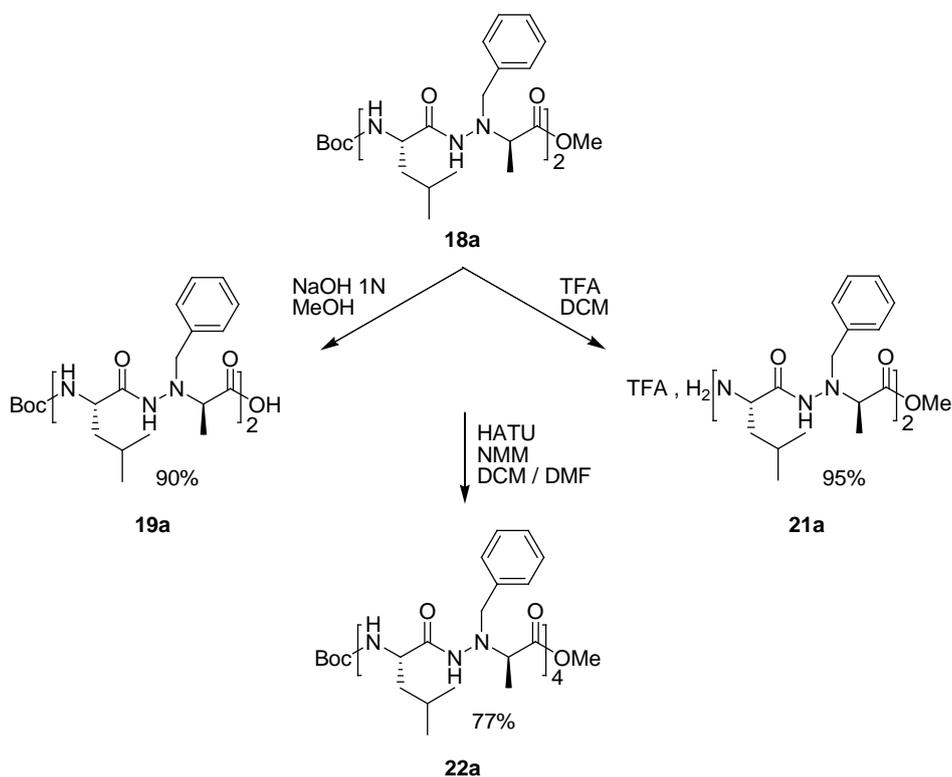


Schéma 36: Synthèse de l'octamère hétérochiral 22a.

II.6. Synthèse du décimère hétérochiral 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-}N^{\alpha}\text{-Bn-hydrasino}]$ ester 24a

Le décimère **24a** est obtenu selon les mêmes conditions par un couplage 6+4 faisant réagir l'hexamère C-déprotégé **23a** sur le dimère N-déprotégé **21a** avec des rendements moyens de 49% (Schéma 37).

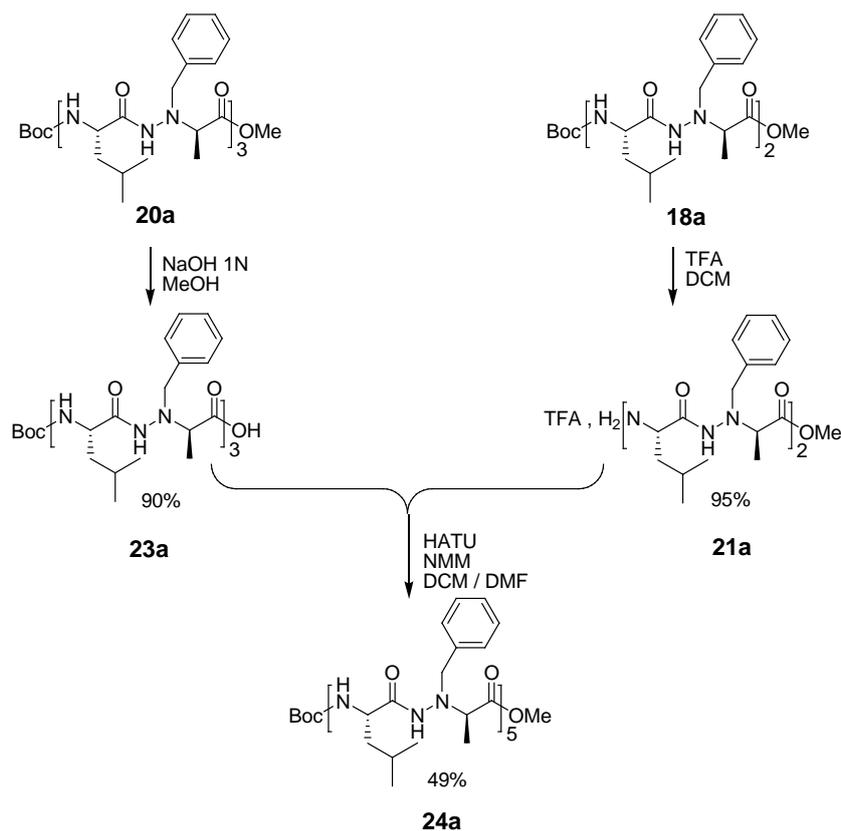


Schéma 37: Synthèse du décamère hétérochiral 24a.

En raison de sa forte insolubilité, il a été relativement difficile d'arriver à purifier ce produit, que ce soit par chromatographie sur colonne de silice ou par des « triturations » car celles-ci ne permettaient pas de solubiliser les impuretés.

Au cours de ces différentes synthèses, nous avons remarqué une diminution des rendements à mesure que l'on augmente la longueur du squelette pseudopeptidique. Ceci avait déjà été observé par Abbas au laboratoire sur les oligomères 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ esters pour lesquels elle s'était aperçue que le temps de réaction des étapes de déprotection était proportionnel à la taille du composé à déprotéger et correspondait au temps nécessaire aux réactifs de déprotection pour atteindre leur cible. Ceci montre donc clairement une difficulté croissante à atteindre les extrémités *N*- et *C*-terminale lors des déprotections ou des couplages peptidiques qui s'ensuivent. Cela pourrait être expliqué par la présence d'une auto-structuration régulière au sein même des oligomères en solution. Bouillon, durant sa thèse avait elle aussi observé les mêmes phénomènes et avait choisi quant à elle d'utiliser des solvants déstructurants afin de contourner ce phénomène. Dans le cadre de cette thèse, nous avons tenté de réaliser le couplage peptidique du tétramère **18a** dans la DMF, connu pour être un solvant déstructurant. Cependant, la difficulté occasionnée par la présence de la DMF lors des différents lavages (en effet, la DMF est soluble à la fois dans l'eau mais aussi dans certains solvants organiques), mais surtout la difficulté à s'en débarrasser, ceci pour les raisons évoquées plus tôt, ont rendu

cet essai peu concluant. Il a été en effet relativement difficile d'en tirer des conclusions pertinentes vis-à-vis de l'utilisation de ce solvant dans nos couplages peptidiques.

II.7. Conclusion

Nous avons abordé la synthèse des oligomères mixtes 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$ esters avec pour objectif principal d'aller au-delà du tétramère acide de la série $[\alpha/\alpha\text{-hydrazino}]$ ester démarré lors d'un stage post doctoral réalisé au laboratoire par Salaün.

Notre choix d'utiliser un groupement benzyle sur l'azote N^α afin d'augmenter la solubilité de ces oligomères s'est donc avéré fructueux et c'est seulement à partir du décimère **24a** que l'on a pu se heurter aux premiers problèmes de solubilité. Cette synthèse a donc été un réel succès et nous a permis à partir du monomère ester **12c**, d'accéder par une série de couplages peptidiques classiques aux oligomères 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$ esters, notamment les dimères et tétramères hétéro- et homochiraux **15a**, **15b**, **18a** et **18b**, mais aussi aux hexamère, octamère et décimère hétérochiraux **20a**, **22a**, et **24a** avec des rendements satisfaisants.

II.8. Amidation du monomère **12c** et des oligomères 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$ esters

II.8.1 Introduction

Après la synthèse des oligomères mixtes 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$ esters, nous avons décidé de nous intéresser à la synthèse de leurs homologues amide.

En effet, selon différentes études, de nombreuses informations structurales sont à tirer de dérivés α -hydrazinopeptides amidiques.^{77,78} La présence d'un motif amide primaire permet de mimer la présence d'un acide α -aminé supplémentaire dans le squelette pseudopeptidique et donc de faire une étude conformationnelle sur de plus petits composés, ce que nous avons envisagé dans la dernière partie de ce manuscrit.

Pour parvenir à obtenir les dérivés amidiques, nous avons donc plusieurs méthodes à disposition.

II.8.2. Les méthodes d'amidation

Pour cela, nous avons procédé à des essais préliminaires sur le dimère ester **15a** afin de déterminer la méthode la plus adaptée qui nous permettrait de synthétiser efficacement les dérivés amides pour la suite de notre étude.

a. Aminolyse d'acide

La première méthode que nous avons testée consistait en l'amidation du dérivé acide **16a** obtenu par saponification du dimère ester **15a**.

Le dérivé acide **16a** a été traité par Boc_2O , et de la pyridine en milieu basique (Schéma 38).⁷⁹

Cette méthode, qui a donné lieu à des rendements moyens (54%), se déroulait dans un solvant dont il est difficile de se débarrasser ; la DMF.

De plus, cette méthode impose une étape supplémentaire après le couplage peptidique. En effet, elle nécessite le passage de l'oligomère de sa forme ester à sa forme acide. On ne peut donc pas le synthétiser directement!

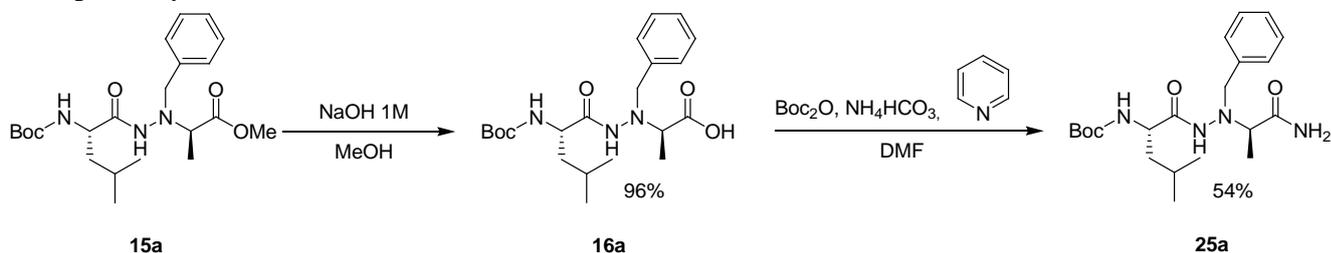


Schéma 38: Synthèse du dimère hétérochiral 1:1- $[\alpha/\alpha-N^{\alpha}$ -Bn-hydrazzino]amide 25a par aminolyse d'acide.

b. Aminolyse d'ester par l'ammoniac

La méthode mise au point par l'équipe de Ramsby consistait en l'aminolyse du dimère ester **15a** par une solution d'ammoniac NH₃ (7N) dans du méthanol.⁸⁰

Ramsby utilisait dans sa méthode un catalyseur au cyanure NaCN, mais en raison de la toxicité de celui-ci, nous avons souhaité nous en passer. Ceci ne nous a pas empêché d'obtenir de bons rendements.

Néanmoins, cette méthode utilise une grande quantité d'ammoniac, qu'il est nécessaire d'évaporer sous une hotte.

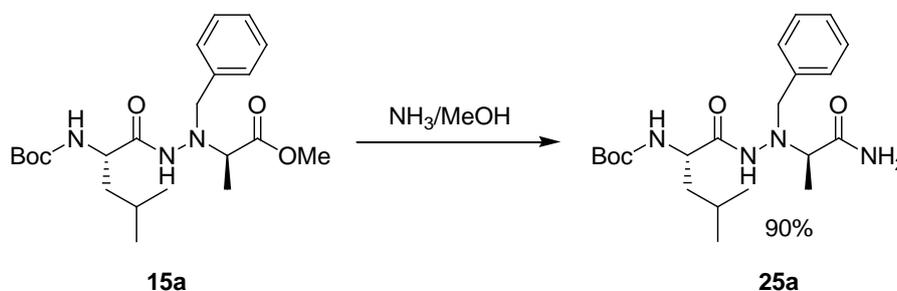


Schéma 39: Synthèse du dimère amide 25a par aminolyse à l'aide de NH₃.

c. Aminolyse d'ester par l'hydroxyde d'ammonium

Cette méthode a consisté en l'aminolyse du dimère ester **15a** dans le toluène.⁸¹

Elle s'est cependant avérée infructueuse malgré la solubilité de notre produit dans le toluène. Une alternative consistait à chauffer le mélange pendant 48h.⁸² Cependant, aucun changement n'a été observé lors du suivi de réaction après 48h de chauffage pour six jours de réaction.

La littérature faisait état de la possibilité de favoriser la formation de NH_3 *in situ* avec la base appropriée dans des mélanges comme le méthanol, ce que préconisait la procédure de Ramsby, évoquée précédemment.⁸⁰

Nous avons donc décidé de tester les mêmes conditions que celles utilisées dans le toluène, en remplaçant cette fois le solvant de réaction par du méthanol.

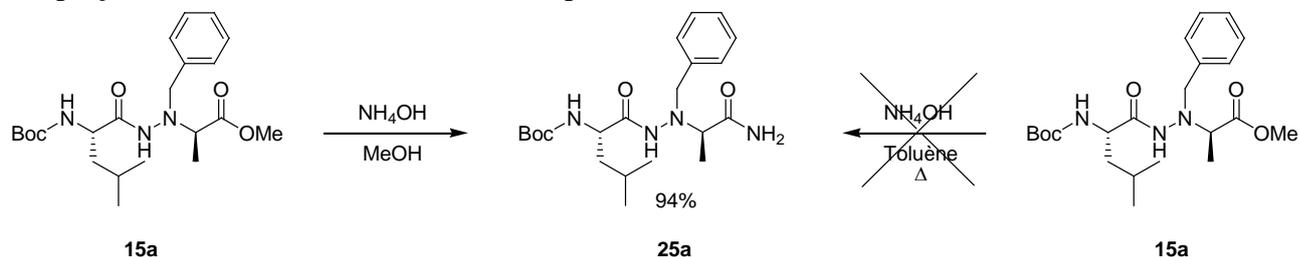


Schéma 40 : Synthèse du dimère amide 25a par aminolyse au moyen de NH_4OH .

Cette nouvelle réaction s'est révélée bien plus efficace que les précédentes et a donc constitué notre méthode de choix pour la synthèse des différents amides nécessaires pour poursuivre cette étude (Schéma 41).

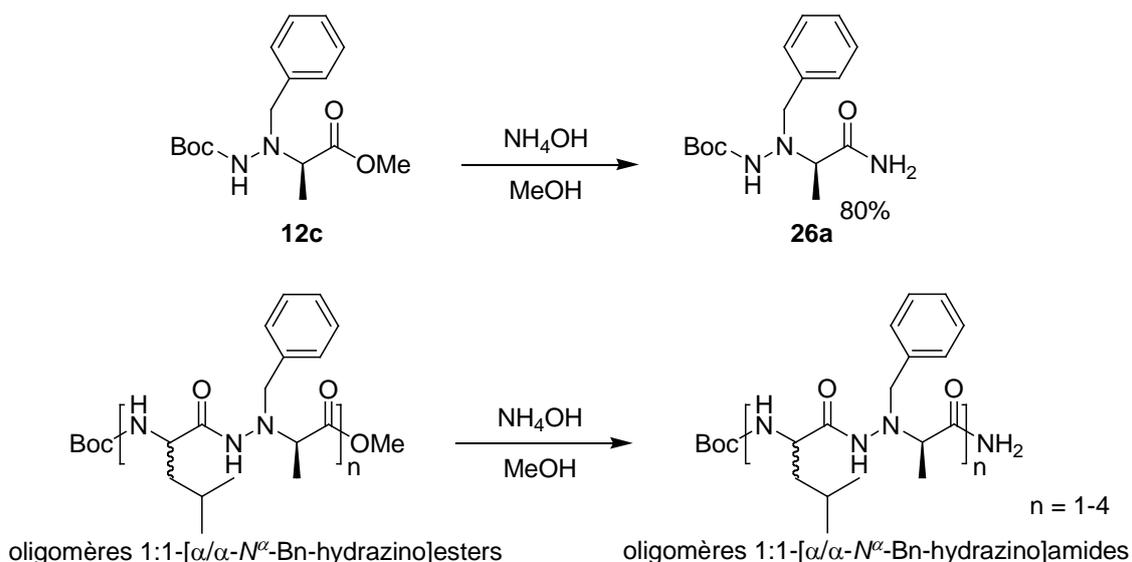


Schéma 41: Synthèse du monomère amide 26a et des oligomères amides par aminolyse à l'aide de NH_4OH dans le MeOH.

Les résultats des différentes synthèses du monomère amide **26a** et des oligomères 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]amides ont été consignés dans le tableau 7.

Produits (amide)	Rendements (%) ^(a)
monomère 26a	80
Dimère hétérochiral 25a	95
Dimère homochiral 25b	65
Tétramère hétérochiral 27a	63
Tétramère homochiral 27b	93
Hexamère hétérochiral 28a	53
Octamère hétérochiral	0

(a) Rendements après purification sur colonne de silice ou trituration par rapport aux esters de départ

Tableau 7 : Rendements en monomère amide 26a et en oligomères 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$ amides.

De nombreuses différences ont été observées dans l'obtention des différents dérivés amidiques, certains ne nécessitant pas de purification par chromatographie sur colonne de silice mais juste une trituration dans l'éther diéthylique (ceci uniquement observé pour la série homochirale avec le dimère **25b** et le tétramère **27b**), tandis que d'autres nécessitaient obligatoirement une purification sur silice pour avoir des produits satisfaisant les exigences de pureté nécessaires à leur étude structurale.

Il est à noter que des essais ont été effectués sur l'octamère hétérochiral **22a** mais n'ont pas donné lieu à la formation du dérivé amide, le dérivé ester **22a** n'ayant pas réagi, même après plusieurs jours de réaction.

De la même manière, une tentative d'amidation a été réalisée sur le décimère hétérochiral **24a**, mais en raison de la forte insolubilité de celui-ci dans la plupart des solvants organiques, notamment dans le méthanol nécessaire pour la réaction, il n'a donc même pas été possible de réaliser la réaction.

II.8.3. Conclusion

Dans cette seconde partie de synthèse, nous avons donc réussi à synthétiser et à obtenir avec des rendements satisfaisants le monomère amide **26a** et les différents oligomères 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$ amides qui serviront à l'analyse conformationnelle des oligomères.

III
SYNTHÈSE DES CYCLO 1:1- $[\alpha/\alpha$ - N^{α} -Bn-HYDRAZINO]MÈRES

III.1. Introduction

III.1.1. Les macrocycles

Dans la nature existent des macrocycles qui présentent parfois des activités biologiques, et nombreux de ces composés (ou leurs dérivés) sont utilisés pour la conception de médicaments.⁸³

La diversité chimique de ces macrocycles naturels est immense et varie selon divers facteurs, à savoir leur taille, leur distribution moléculaire ou même la fréquence des motifs structuraux communs. Ainsi, de nombreuses équipes se sont attelées à la synthèse de macrocycles pseudo-peptidiques car ils présentent en effet l'avantage d'avoir leur diamètre modulable par le nombre d'unités présentes dans le squelette, mais aussi de posséder des propriétés chimiques spécifiques en fonction des chaînes latérales qu'ils contiennent.

Ainsi, nous devons à Sheehan et Richardson le premier peptide macrocyclique, c'est-à-dire contenant plus de deux acides α -aminés. En effet, ceux-ci avaient mis au point une méthode pratique pour cycliser des polypeptides en partant de l'ester éthylique de la phtaloyltriglycine pour obtenir le cyclo-(triglycyl), qu'ils ont réussi à isoler par recristallisation dans l'eau avec un rendement de 42 %.⁸⁴

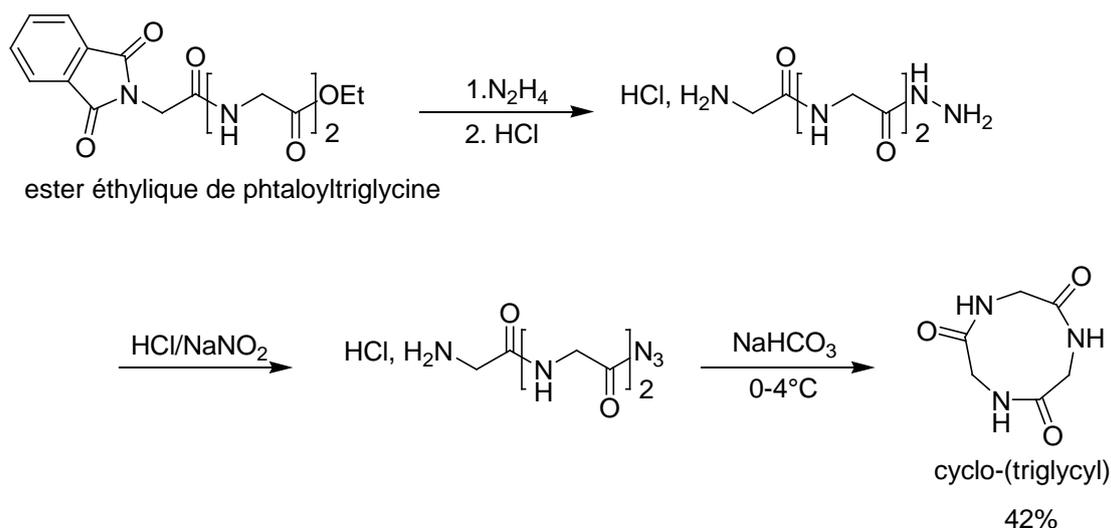


Schéma 42: Synthèse du premier macrocycle peptidique par Sheehan.

Par la suite, Karle *et al.* ont décrit le premier cyclotétrapeptide à quatorze atomes, formé par un squelette hétérogène α/β à partir du *p*-nitrophénylester linéaire avec un rendement de 55 % (Schéma 43).²⁹ Ce macrocycle a par la suite été identifié par diffraction des rayons X.

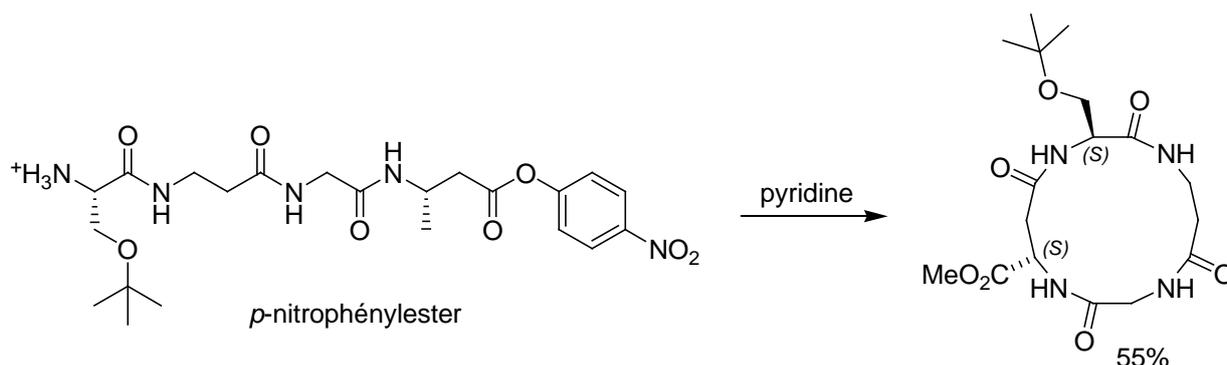


Schéma 43: Synthèse du premier cyclotétrapeptide par Karl

Depuis, de nombreuses méthodes de synthèse de macrocycles pseudopeptidiques ont fait appel à de nouveaux agents de couplage qui ont été présentés précédemment lors de la synthèse peptidique en phase liquide.

L'équipe de Le Grel a réalisé la synthèse et l'étude structurale des aza- β^3 -cyclotétra- (16 atomes) et -cyclohexapeptides (24 atomes).^{35,36}

Les études structurales et spectroscopiques ont montré que les aza- β^3 -cyclopeptides adoptaient une conformation organisée où la configuration relative de l'azote sp^3 est alternée. En effet, on y observe un réseau dense de liaisons hydrogène intramoléculaires (hydrazinoturn) impliquant tous les groupements NH et C=O du cycle. De plus, les chaînes latérales sont projetées en position équatoriale autour du macrocycle. Cette conformation, existant déjà au sein de leurs analogues linéaires, permet ainsi de rapprocher les deux extrémités C- et N-terminale dans la molécule linéaire et donc de favoriser la cyclisation. Ces composés révèlent aussi une inversion lente de l'atome d'azote pyramidal seulement observée à ce jour sur des petits systèmes cycliques comprenant de trois à cinq atomes. Ces aza- β^3 -cyclopeptides possèdent une symétrie C_3 , ce qui en fait des composés très intéressants au niveau biologique. En effet, certains cyclopeptides ayant cette symétrie se sont avérés être des mimés fonctionnels de la molécule CD40L qui est un ligand d'un membre de la famille des TNF (facteur de nécrose tumorale) impliqués dans la réponse immunitaire.⁸⁵ De plus, il a été récemment montré que les liaisons hydrogène intramoléculaires au sein de certains cyclopeptides avaient tendance à augmenter leur capacité à traverser des modèles de membranes cellulaires et la possibilité de faire du ciblage intracellulaire.⁸⁶

Cependant, il est important de noter que ce haut degré d'auto-structuration au sein des aza- β^3 -cyclopeptides favorise les contacts intra- au détriment des intermoléculaires.^{35,36}

L'équipe de Yang a étudié les α -aminoxypeptides et a réalisé la synthèse d' α -aminoxycyclohexapeptides.⁷⁶

Il s'est avéré que ce squelette macrocyclique reposait sur une succession de liaisons hydrogène intramoléculaires de type « N-O turn » basé sur le même modèle que l'hydrazinoturn, comme cela avait pu être observé sur leurs homologues linéaires,⁸⁷ le N-O turn étant l'équivalent de l'hydrazinoturn pour les α -aminoxycyclohexapeptides où l'oxygène remplace l'azote. Ces α -aminoxycyclohexapeptides présentent une cavité interne polaire, puisque tous les protons NH des résidus α -aminoxycyclohexapeptides pointent vers l'intérieur du cycle, tandis que les chaînes

latérales sont orientées vers l'extérieur, perpendiculairement au plan du macrocycle, cette conformation défavorisant les contacts intermoléculaires. Ces macrocycles se sont cependant avérés capables de se lier sélectivement à des anions (les ions chlorure Cl^-), le squelette adoptant alors une forme plane de symétrie C_3 .^{76,88} Ces résultats ouvraient donc la voie à la synthèse de nouveaux récepteurs d'ions Cl^- et à de nouvelles perspectives comprenant la conception de transporteurs ou de capteurs d'ions Cl^- ,^{14,76} les ions Cl^- étant impliqués dans de nombreux processus biologiques.⁸⁹

Des études complémentaires de cette équipe ont démontré que les cyclohexamères mixtes (21 atomes) alternant régulièrement une unité acide α -aminé et un résidu α -aminoxy s'avéraient être de meilleurs récepteurs d'ions Cl^- . En effet, ces macrocycles mixtes sont structurés par un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires alternant N-O turn et γ -turn comme cela avait pu être observé sur les homologues mixtes linéaires.⁹⁰

Le squelette du cyclohexamère mixte 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-aminoxy}]$ serait donc plus flexible que son homologue pur α -aminoxy, le N-O turn étant plus stable que le γ -turn.⁸⁸ Il semblerait donc que les liaisons hydrogène intramoléculaires assurant le γ -turn puissent être facilement rompues afin de permettre l'établissement de liaisons hydrogène avec les ions Cl^- (et ce de manière sélective), ces résultats ont été validés par des calculs théoriques et des analyses d'extraction d'anions.^{88 76}

Plus récemment, l'équipe de Guichard a réalisé la synthèse de macrocycles à partir d'oligomères linéaires oligo-urées. Elle a ensuite réussi à synthétiser un oligo-urée-cyclotétramère (comportant 20 atomes) puis à en obtenir des cristaux.⁹¹ Dans sa structure cristalline, le macrocycle forme des nanotubes grâce à l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires entre tous les groupements NH (orientés dans un même sens) et O=C (orientés dans la direction opposée), on parlera alors d'auto-assemblage parallèle, phénomène observé dans les β^3 -cyclopeptides (Figure 14).⁹²

Par la suite, cette équipe a obtenu, à partir des dipeptides linéaires correspondants, des cyclotétramères mixtes 1:1- $[\alpha/\text{urée}]$. Ces cyclotétramères s'empilent eux aussi pour former des nanotubes, mais cette fois avec les groupements NH et C=O orientés aléatoirement, on parlera alors d'empilement antiparallèle.⁹³

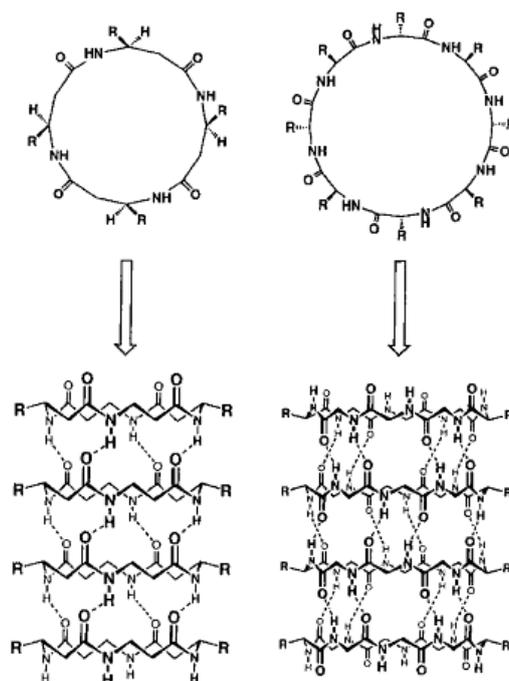


Figure 14: Deux exemples d'auto-assemblage: auto-assemblage parallèle (à gauche), auto-assemblage antiparallèle (à droite) sur des macrocycles modèles.⁹²

Des études récentes ont montré que ces oligomères mixtes 1:1-[α /urée] pouvaient se substituer à leurs homologues oligoamides (β - et δ -peptides) car ils présenteraient des propriétés améliorées (foldamères antibactériens, récepteurs d'anions avec une forte sélectivité pour les oxyanions⁹⁴).

III.1.2. Les nanotubes

a. Introduction

- Les *D,L*- α -cyclopeptides

Au cours de ces 40 dernières années, de nombreuses méthodes visant la synthèse et la conception de structures tubulaires ont reçu une attention particulière et notamment la conception d'un système basé sur l'auto-assemblage de macrocycles. En effet, c'est en 1972 que Hassall³² a proposé l'idée de nanotubes, en prédisant que des cyclotérapeptides composés d'une alternance d'acides α - et β -aminés devraient s'associer. Cette hypothèse a été reprise et confirmée par les analyses théoriques de De Santis et al.³⁰ qui ont montré que des peptides comprenant un même nombre d'acides α -aminés alternant entre les configurations *D* et *L* devraient favorablement former des cyclopeptides, et que ceux-ci seraient capables de s'empiler en feuillets β (avec les chaînes latérales orientées vers l'extérieur). C'est suite à cette étude, en 1993, appuyée par la microscopie, la diffraction électronique, l'IR et la modélisation moléculaire, que Ghadiri et al.³¹ ont fourni la première preuve de la formation de structures peptidiques tubulaires basées sur l'auto-assemblage (Figure 15).

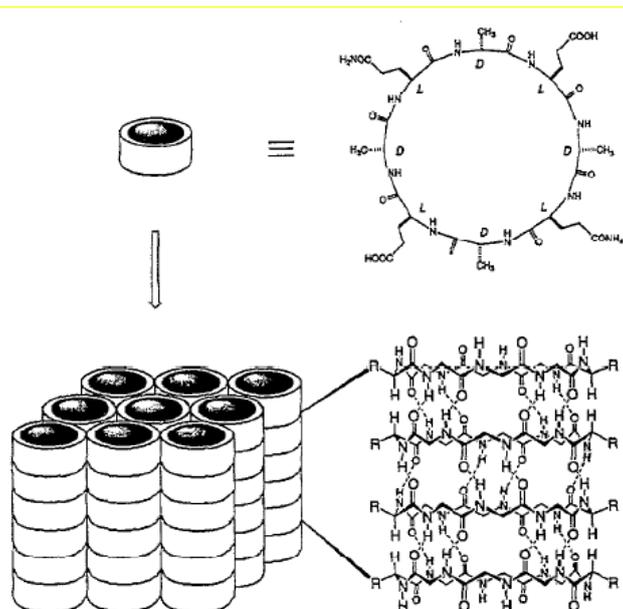


Figure 15: Formation d'un nanotube par auto-assemblage de cyclopeptides selon les travaux de Ghadiri.³¹

Pour cela, Ghadiri a étudié l'influence de la variation de pH sur la formation de nanotubes, ceci en travaillant sur le cyclo[-(*D*-Ala-Glu-*D*-Ala-Gln)₂-], dont l'état d'ionisation de l'acide glutamique (Glu) dépend du pH.

A pH alcalin, les carboxylates chargés défavorisent l'empilement des cycles en raison des interactions électrostatiques intermoléculaires répulsives tandis qu'ils favorisent leur dissolution dans l'eau. Une acidification de la solution protonne les ions carboxylates, faisant disparaître les interactions électrostatiques défavorables mais favorisant dans le même temps les interactions entre les chaînes latérales (par abaissement de leur solubilité) ceux-ci produisant des agrégats microcristallins.

Cette stratégie a donné lieu à la formation de structures nanotubulaires dans laquelle les *D,L*- α -cyclooctapeptides s'empilent en feuillets β anti-parallèles par l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires. Ces nanotubes présentent un diamètre interne de 7.5 Å et une distance entre chaque sous-unité cyclique de 4.73 Å.³¹

Des études ultérieures ont ensuite montré que des cyclopeptides portant les chaînes latérales appropriées, étaient capables de s'auto-assembler dans des bicouches lipidiques et de former des canaux transmembranaires efficaces.^{33,95,92}

En effet, Ghadiri et al. ont montré qu'un *D,L*- α -cyclooctapeptide portant des chaînes latérales hydrophobes, le cyclo[-(Trp-*D*-Leu)₃-Gln-*D*-Leu], était capable de se disperser dans une suspension aqueuse de liposomes et ensuite de s'auto-assembler en canaux transmembranaires (Figure 16).

En plus du transport de protons, ces canaux transmembranaires se sont avérés être capables de transporter efficacement des ions K⁺ et Na⁺.³³

Ce mécanisme est similaire à celui mis en jeu dans la Gramicidine A, un peptide linéaire composé d'acide α -aminés hydrophobes alternant une configuration *D* et *L*, qui est connue pour former une structure dimérique de canal ionique transmembranaire.³⁴

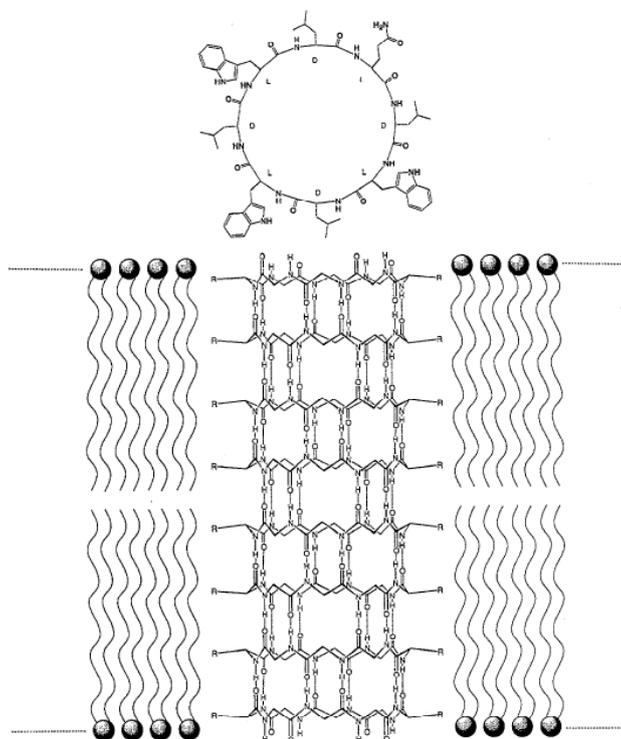


Figure 16: Formation d'un canal transmembranaire selon les travaux de Ghadiri.³⁴

Selon Ghadiri, pour former des nanotubes à partir d' α -cyclopeptides, de nombreuses conditions doivent être remplies. Il faut qu'un nombre pair d'acides α -aminés de configuration *D* et *L* alternée forment le macrocycle. Comme illustré sur la figure 15, l'orientation des liaisons amide (N-H et C=O), qui sont perpendiculaires au plan du cycle, conduit à la protrusion (position avancée) des chaînes latérales des acides α -aminés en position équatoriale (orientées vers l'extérieur pour minimiser les interactions stériques transannulaires entre les chaînes latérales) lui conférant alors une forme plane et permettant l'empilement en feuillets β nécessaire pour former des nanotubes.

De nombreuses études ont établi par la suite qu'il était possible d'obtenir des nanotubes à partir de *D,L*- α -cyclohexa-,^{96,97} octa-,^{31,97} déca-⁹⁸ et dodécapeptides.⁹⁹

Une étude récente a par ailleurs montré que des *D,L*- α -cyclotétrapeptides, les cyclo(*D*-Ala-Dap)₂ (Dap: L-2,3-diaminopropionic acid) et cyclo(*D*-Ala-Glu)₂ étaient capables de s'auto-assembler afin de former des canaux ioniques efficaces, ceux-ci évalués par des mesures de conductance.¹⁰⁰

- Les β -cyclopeptides

Des assemblages de cyclopeptides dans lesquels tous les acides α -aminés sont remplacés par des acides β -aminés cycliques^{101,102} ou chiraux^{103,104} peuvent aussi être formés. L'utilisation

de tels résidus augmente grandement le répertoire des nanotubes notamment au niveau de leurs dimensions et propriétés.

Le premier assemblage de cyclopeptides composés uniquement de résidus acides β -aminés a été étudié par l'équipe de Seebach.^{103,104}

Les travaux de cette équipe ont montré, par diffraction des rayons X sur des poudres, que des β^3 -cyclotétrapeptides homochiraux, formés à partir d'acide 3-aminobutanoïque, étaient capables de s'empiler pour former des nanotubes puis que les β^3 -cyclotétrapeptides hétérochiraux correspondants donnaient lieu aux mêmes types de structures à l'état solide (Figure 17).¹⁰³

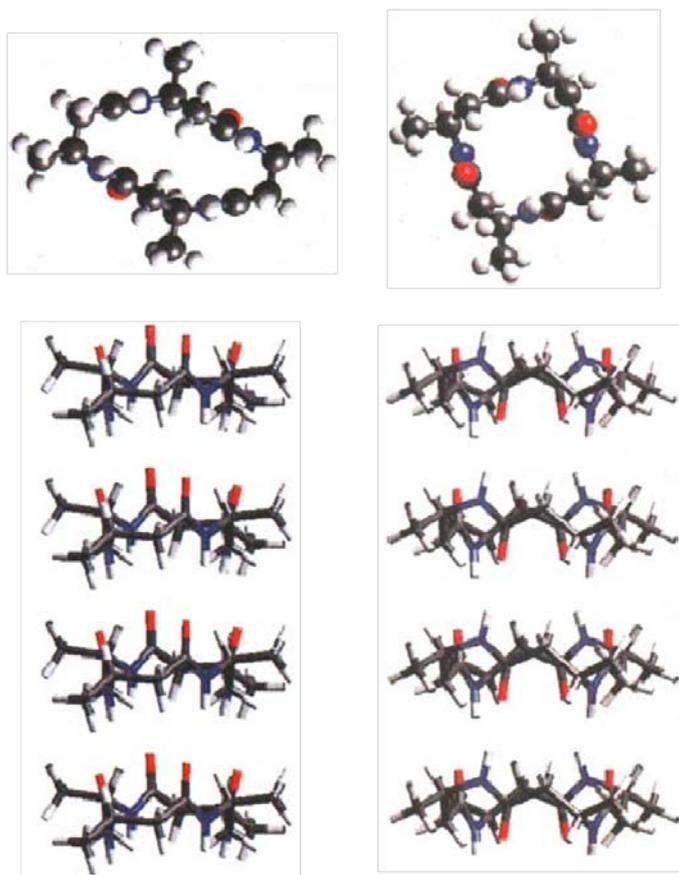


Figure 17: Formation de nanotubes à partir de β^3 -cyclotétrapeptides.

Dus à leur carbone additionnel dans le squelette de chaque résidu, de nombreux conformères de β^3 -cyclopeptides peuvent permettre l'établissement de liaisons hydrogène, ainsi des nanotubes peuvent être formés à partir de macrocycles avec ou sans chiralité alternée comme cela était requis pour l'auto-assemblage des α -cyclopeptides.¹⁰³ Ceci infirmant de ce fait la versatilité conformationnelle des β^3 -cyclopeptides.

Il est à noter qu'en contraste avec l'empilement antiparallèle formés par les D,L - α -cyclopeptides, l'assemblage des β^3 -cyclopeptides peut conduire à un empilement parallèle (les groupements amide sont dirigés de manière unidirectionnelle, c'est-à-dire avec tous les NH et C=O se trouvant respectivement sur les faces opposées du macrocycle). Cette caractéristique fait alors apparaître un moment dipolaire tubulaire, qui s'est avéré être bénéfique pour le

transport d'ions^{92,103} en influençant la conductance par effet sur le courant¹⁰⁵ «current rectification» (Figure 18).

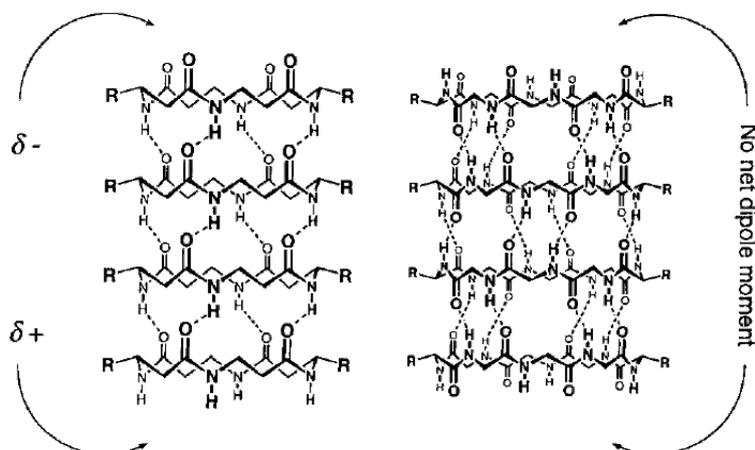


Figure 18: Formation préférentielle d'un macrodipôle décrit par Clark.⁹²

- Les α/β -cyclopeptides

Des nanotubes formés à partir de peptides ou pseudopeptides cycliques mixtes ont été pour la première fois proposés en 1972 par Hassall qui a prédit que des cyclotérapeptides composés d'une alternance d'acides α - et β -aminés pouvaient s'assembler par des liaisons hydrogène intermoléculaires afin de former des structures creuses cylindriques.³²

En 1974, des analyses par diffraction des rayons X ont partiellement validé ces prédictions, permettant à l'équipe d'Hassall de mettre clairement en évidence la conformation du cyclotérapeptide mixte *L*-Ser(*O*-*t*Bu)- β -Ala-Gly-*L*- β -Asp(OMe).²⁹

Dans le cristal, chaque cyclotérapeptide est associé au précédent par deux liaisons hydrogène intermoléculaires NH---O=C de 2.86 Å, permettant la formation d'un véritable nanotube. Les auteurs ont également constaté que contrairement à leurs prévisions, la structure cristalline met en évidence la présence de deux groupements NH ne participant pas au réseau de liaisons hydrogène intermoléculaires. Cependant, ils ont noté que ces deux atomes d'azote étaient relativement proches des C=O non impliqués dans le réseau intermoléculaire (et donc dans la formation du nanotube) avec une distance N---O moyenne de 2.9 Å. Ceci leur laissant envisager la formation de liaisons intramoléculaires au sein donc d'un même cyclotérapeptide, refermant ainsi un pseudocycle à six chaînons (Figure 19).

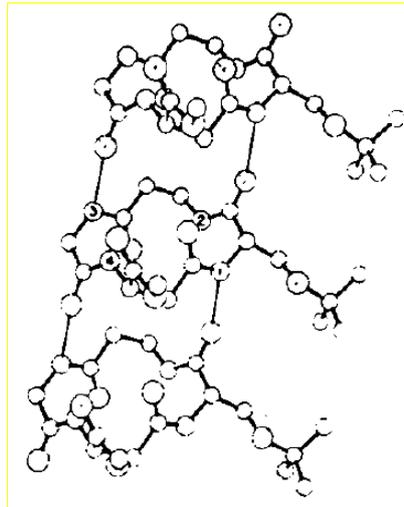


Figure 19: Diagramme d'assemblage des α/β -cyclotétrapeptides L-Ser(O-*t*Bu)- β -Ala-Gly-L- β -Asp(OMe) au moyen de deux liaisons hydrogène intermoléculaires.

Il existe bien évidemment de nombreux types de nanotubes qui diffèrent selon le mode d'empilement:

- Des molécules en forme d'hélice peuvent ainsi être enroulées pour former des structures creuses (ce processus est par exemple utilisé dans la formation de nanotubes de carbone).¹⁰⁶
- Des molécules en forme de bâtonnets peuvent s'assembler en une forme de tonneau (molecular bundle). Parmi ceux-ci, on peut citer les pores transmembranaires formés par des protéines en forme de tonneau comme par exemple, l'alpha-hémolysine.¹⁰⁷
- Des macrocycliques peuvent s'empiler pour former des tubes.
- Des molécules en forme de portions de camembert peuvent s'assembler en disques qui vont s'organiser ultérieurement pour former des cylindres continus similaires à des macrocycles (processus mis en œuvre par exemple dans l'auto-assemblage de la protéine enveloppe du virus de la mosaïque du tabac).¹⁰⁸

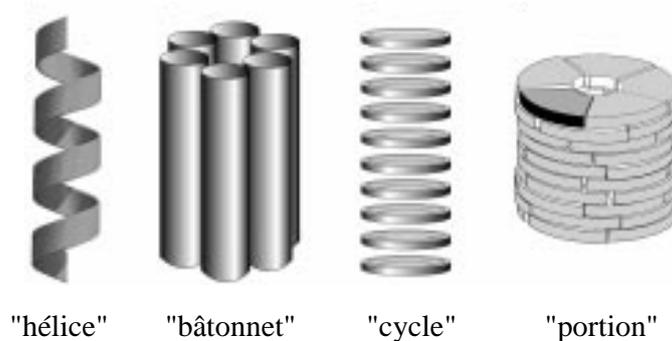


Figure 20: Quatre stratégies possibles pour l'assemblage moléculaire de matériaux tubulaires.¹⁰⁹

Parmi toutes ces approches variées et basées sur des matériaux organiques, l'auto-assemblage de macrocycles en nanotubes stabilisés par des liaisons hydrogène a suscité le plus d'attention en raison de la facilité avec laquelle il est possible de doter le nanotube de propriétés structurales et fonctionnelles. Ainsi, nombreux sont les nanotubes conçus à partir de cyclopeptides et cyclopseudeptides préparés par alternance d'acides α -aminés *D,L*,^{31,70} d'acides β -aminés,^{92,110} d'une alternance d'acides α - et β -aminés,²⁹ d'une alternance d'acides α - et γ -aminés,¹¹¹ d'acides δ -aminés,¹¹² d'oligo-urée^{91,113} ainsi que d'autres macrocycles tels que les sérophanes,¹¹⁴ cystine,¹¹³ phénylacétylène,¹¹⁵ carbohydrate.^{116,117}

La conception d'unités cycliques appropriées et l'optimisation des conditions d'auto-assemblage permettent donc la préparation de nanotubes adaptés à des applications spécifiques.

b. Applications

Introduire des fonctionnalités est important pour faire progresser les applications des nanostructures.

Ainsi, l'avantage majeur que présente l'utilisation de nanotubes par auto-assemblage de macrocycles est la facilité à pouvoir contrôler les fonctionnalités extérieures. En effet, lors de leur formation, les nanotubes ont leurs chaînes latérales orientées vers l'extérieur. Ceci donne l'avantage de pouvoir facilement modifier leurs propriétés de surface, en remplaçant les chaînes latérales (notamment par les nombreux acides aminés commerciaux existants).

Mais aussi, il est possible de modifier leur diamètre interne en ajustant le nombre et la séquence des sous-unités de la chaîne polypeptidique (déterminée par synthèse peptidique conventionnelle) afin de leur conférer des propriétés appropriées à leur utilisation dans différents domaines.

Les principales applications des nanotubes sont donc présentées dans la suite de ce travail.

- Antibactériens

Les nanotubes formés à partir de cyclopeptides présentent un intérêt particulier comme antibactériens car ils sont protéolytiquement stables. De plus, les nanotubes cyclopeptidiques se forment rapidement dans les membranes bactériennes,⁹⁶ ceci sans cibler de protéines ni de récepteurs spécifiques. Ainsi, les bactéries ne peuvent pas acquérir de résistance aussi facilement que contre les antibiotiques ordinaires.¹¹⁸

Par exemple, l'activité antibactérienne de nanotubes vis-à-vis de souches bactériennes comme *Staphylococcus aureus* (MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) est gouvernée par plusieurs facteurs comme la taille du cycle (qui est de six à huit acides α -aminés), le type d'acide α -aminé inclu dans le peptide ainsi que le nombre et le type d'acide α -aminé basique dans la séquence peptidique.

Il est à noter de plus que la sélectivité membranaire est d'une importance primordiale afin de contrôler l'activité antibactérienne de nanotubes. En effet, cette sélectivité est typiquement évaluée en soumettant le peptide cyclique à des tests d'hémolyse, qui ne devraient idéalement pas produire à une même concentration la même activité antibactérienne.

Des *D,L*- α -cyclopeptides amphipatiques composés de trois résidus consécutifs hydrophiles et de répétition de *L*-tryptophane et *D*-leucine se sont avérés être capables de s'empiler dans des membranes bactériennes afin de former des nanotubes avec un angle de 20° par rapport au plan de la membrane. (Figure 21).⁹⁶

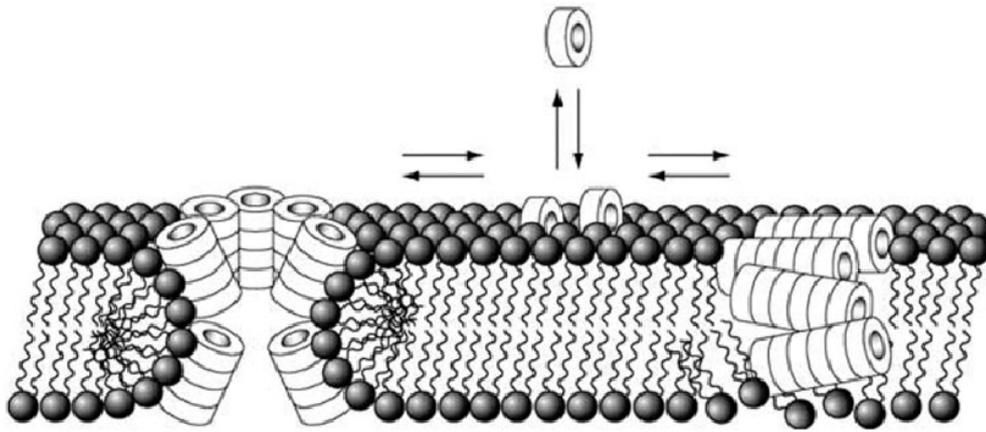


Figure 21: Modes plausibles d'auto-assemblage de cyclopeptides dans une membrane: l'auto-assemblage sous forme de canaux transmembranaires (à gauche), et d'antibactériens (à droite).¹¹⁹

Sur ce modèle, les chaînes latérales hydrophobes des cyclopeptides sont insérées dans les composants lipidiques de la membrane tandis que les résidus hydrophiles exposés aux composants hydrophiles de la membrane cellulaire.

Les nanotubes sont alors supposés pénétrer la membrane par un mécanisme de tapis « carpet like » et conduire à une mort rapide des cellules.⁹⁶

Comme ceci a été démontré par Fernandez-Lopez et al., les nanotubes formés à partir de cyclopeptides ont une activité bactérienne accrue par rapport à leurs homologues linéaires. Ils ont de plus montré qu'en augmentant le nombre de résidus basiques dans le cyclopeptide, il était possible d'augmenter l'activité antibactérienne, tandis que changer la chiralité des acides α -aminés basiques (comme l'histidine, lysine ou arginine) n'avait quant à elle aucun effet.⁹⁶

- Canaux ioniques

La capacité qu'ont les cyclopeptides à s'insérer dans les bicouches lipidiques en interrompant/perturbant les membranes font d'eux d'intéressants candidats à la conception de canaux ioniques (Figure 21).

Ghadiri et al. ont montré les premiers qu'en dehors du fait que tous les *D,L*- α -cyclopeptides ne soient pas capables d'être incorporés dans les membranes, certains se sont avérés capables de transporter des ions K^+ et Na^+ au travers de celles-ci en s'empilant afin de former des canaux ioniques transmembranaires.³³

Des cyclopeptides peuvent aussi moduler le comportement de transporteur d'ions de protéines transmembranaires naturelles comme l' α -hémolysine. Sanchez et Quesada ont en effet montré que des cyclopeptides *N*-substitué ou possédant une charge nette positive ou négative pouvaient se loger au cœur de protéines transmembranaires naturelles (the α -hemolysin β -

barrel channel lumen) et modifier ainsi les propriétés du canal. Par exemple, de l'addition de cyclopeptides chargés négativement à l' α -hémolysine résulte un canal transmembranaire sélectif de cations alors que des cyclopeptides cationiques augmentent la sélectivité anionique.¹²⁰

De plus, le nombre d'acides α -aminés qui forment le cyclopeptide est important pour le transport sélectif de molécules organiques comme le glucose⁹⁸ et les acides glutamiques qui requièrent des diamètres internes plus grands.¹²⁰

Granja et Ghadiri ont évalué puis démontré la capacité des D,L - α -cyclodécapeptides (cyclo[-(L-Trp-D-Leu)₄-L-Gln-D-Leu-]) à transporter du glucose, partitionnés dans des liposomes (LUV: Large unilamellar vesicle).⁹⁸

Ces canaux transmembranaires artificiels sont naturellement sélectifs selon la taille des espèces qu'ils transportent. Les D,L - α -cyclooctapeptides nanotubulaires décrits par Ghadiri et al.³³ ont un diamètre interne d'environ 7 Å, empêchant le passage du glucose (nécessitant un diamètre interne de 9 Å pour transiter) alors que les D,L - α -cyclodécapeptides, avec un diamètre interne de 10 Å, montrent un transport efficace du glucose et des acides glutamiques.⁹⁸

Comme leurs équivalents D,L - α -, certains β^3 -cyclopeptides comme les cyclo-[(β^3 -HTrp-)₄] et cyclo-[(β^3 -HTrp- β^3 -Leu-)₂] peuvent eux aussi s'associer dans les bicouches lipidiques pour former des canaux ioniques efficaces (transport de K⁺).⁹²

- Biomatériaux

Le groupe de Biesalski a utilisé des nanotubes peptidiques comme modèle structurellement défini pour préparer des nanostructures hybrides peptide-polymère.¹²¹

Cette stratégie est basée sur l'auto-assemblage de D,L - α -cyclopeptides portant des groupements initiateurs sur les chaînes latérales, afin de former un nanotube avec les groupes initiateurs orientés vers l'extérieur du nanotube. Ceci permet par une polymérisation de surface d'envelopper le nanotube peptidique par une coquille polymérique (formée par des liaisons covalentes) (Figure 22).

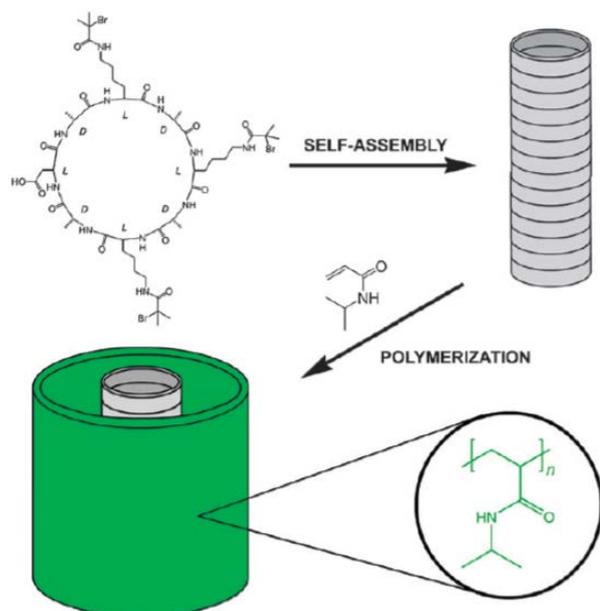


Figure 22: Préparation d'un hybride peptide-polymère nanotubulaire.

Cette méthode permettrait donc la préparation d'un grand nombre de matériaux hybrides robustes, ce qui est difficilement accessible par une autre technique. De plus, cette approche permet de transférer de l'information structurale dérivée d'un module biologique à un polymère synthétique.

- Biocapteurs

Motesharei et Ghadiri ont montré qu'une surface d'or pouvait bénéficier d'une protection par une monocouche de thioéthers, ponctuée par des empilements de *D,L*- α -cyclooctapeptides (Figure 23).¹²² La présence de ces nanotubes permet de capter sélectivement des ions en fonction de leur taille.

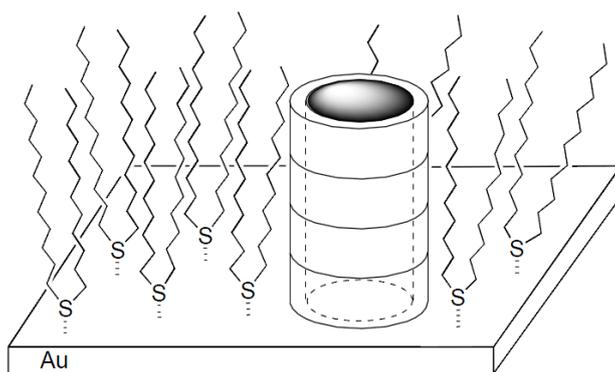


Figure 23: Représentation d'un biocapteur basé sur des nanotubes et intégré sur une surface d'or.

Ces études ont montré initialement une activité sélective d'oxydoréduction pour de petits complexes $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ comparé à $[\text{Mo}(\text{CN})_8]^{4-}$, ceci dû à la présence des canaux peptidiques.

Cette liste est bien évidemment non exhaustive: il est possible de trouver d'autres applications comme les matériaux photosensibles, ou des appareils électriques pour construire des nanofils ou être le siège de réactions en espace fermé (comme c'est le cas notamment des protéines chaperonnes).¹²³

III.2. Méthodes de cyclisation d'oligomères pseudopeptidiques

La cyclisation est une méthode simple qui requiert deux paramètres cruciaux pour son succès:

- le milieu réactionnel doit impérativement être très dilué, de l'ordre de 1 mM.
- l'ajout du composé à cycliser doit se faire par un goutte à goutte très lent.

Grâce à ces paramètres, il est possible de favoriser les réactions intra- au détriment des réactions intermoléculaires.

Seules quelques équipes travaillent sur la synthèse de macrocycles pseudopeptidiques, ainsi avons nous décidé de présenter les principales méthodes de couplages peptidiques intramoléculaires décrites dans la littérature pour réaliser la synthèse de macrocycles.

III.2.1. Les aza- β^3

L'équipe de Le Grel qui travaille sur les aza- β^3 -peptides^{28,75,77,35,36}, utilise le couple EDC/HOBt, pour la synthèse des oligomères linéaires. Cette même méthode a été adaptée à la synthèse des homologues cycliques notamment en travaillant à haute dilution (~1 mM).

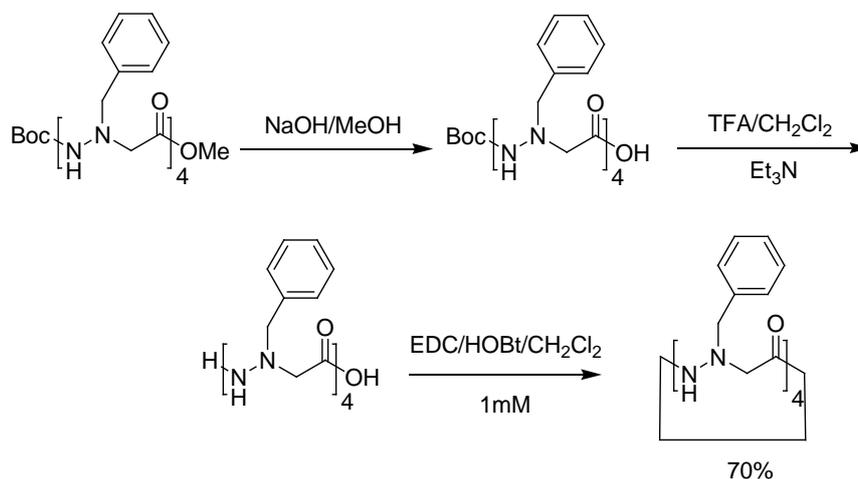


Schéma 44: Synthèse d'un cyclotétramère aza- β^3 par Le Grel.

De manière générale, le tétramère linéaire aza- β^3 est libéré successivement sur sa partie C-terminale par NaOH dans le MeOH puis sur sa partie N-terminale par le TFA.

Le tétramère ainsi déprotégé est mis en présence de EDC/HOBt pendant 48h pour donner le cyclotétramère aza- β^3 avec un bon rendement de 70%, après trituration du brut réactionnel dans l'Et₂O.³⁶

III.2.2. Les α -aminoxy

Parallèlement à cela, le groupe de Yang *et al.* s'est intéressé à la synthèse d' α -aminoxy cyclopeptides comportant un squelette mixte (alternant régulièrement une unité acide α -aminé et α -aminoxyacide) ou non.^{76,88}

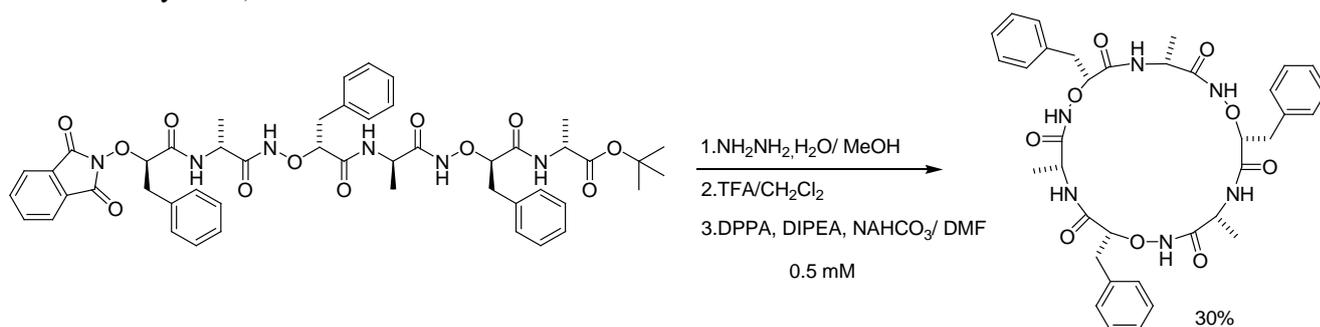


Schéma 45: Synthèse d'un cyclohexamère mixte 1:1-[α/α -aminoxy] par Yang.

En partant du dérivé linéaire mixte 1:1-[α/α -aminoxy] qui est déprotégé successivement par l'hydrazine puis par un traitement avec le TFA dans le CH₂Cl₂, ils obtiennent le dérivé linéaire totalement déprotégé. Après la réaction de cyclisation en présence de diphenylphosphorylazide (DPPA) en milieu très dilué (0.5 mM), le cyclohexamère mixte 1:1-[α/α -aminoxy] est obtenu avec un rendement global de 30%.⁸⁸

III.2.3. Les oligo-urées

De son côté, l'équipe de Guichard est parvenu à synthétiser une cyclooligo-urée par simple traitement de l'oligo-urée linéaire correspondante avec la DIPEA. A noter l'utilisation du *N*-succinimide dans cette réaction qui sert ici d'activant au groupement carbonyle terminal.

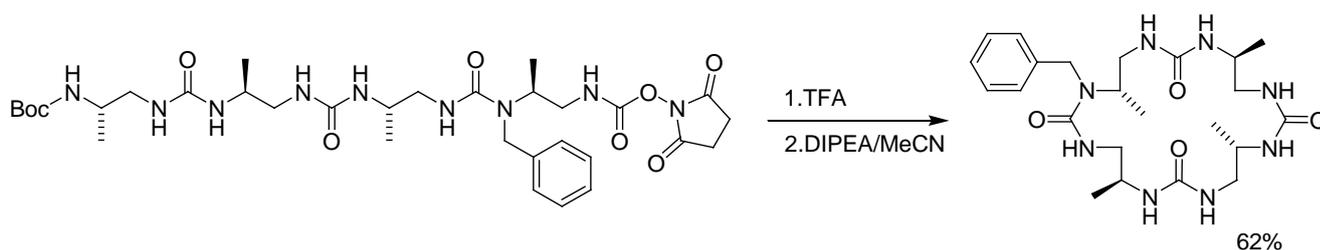


Schéma 46: Synthèse d'une cyclooligo-urée par Guichard.

Le dérivé linéaire qui est déprotégé successivement par le TFA, puis ajouté à une solution diluée DIPEA dans le MeCN, permet d'obtenir la cyclooligo-urée correspondante avec un rendement de 62%.⁹¹

III.3. Choix de la méthode et synthèse des cyclo 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino]mères

Dans le cadre de notre synthèse, nous nous sommes inspirés de la méthode employée par l'équipe de Le Grel pour la synthèse de nos macrocycles en raison des grandes similitudes structurales qu'ils partagent au niveau du squelette.

Au moment où nous comptons tester les conditions de couplages peptidiques intramoléculaires selon la méthode de Le Grel, il n'était pas possible de se fournir en HOBt. Ainsi nous avons décidé d'utiliser un autre agent de couplage le HBTU, dont l'efficacité est avérée mais qui demeure moins efficace que le HATU utilisé pour nos couplages intermoléculaires. Ce n'est que plus tard que nous avons pu enfin avoir accès à l'HOBt.

Ainsi, dans un souci de favoriser les couplages peptidiques intra- au détriment des intermoléculaires, nous avons décidé d'utiliser l'HBTU, réputé agent de couplage moins réactif que l'HATU, pour la suite de cette étude.

Les extrémités N- et C-terminales de nos oligomères linéaires étant protégées, il s'agissait alors, dans une première étape, de saponifier l'extrémité C-terminale, ceci réalisé avec NaOH 1N dans le MeOH. Puis, dans une deuxième étape, le groupement Boc a été retiré de la partie N-terminale à l'aide du TFA dans du CH₂Cl₂.

Les cyclisations ont été ensuite effectuées dans du CH₂Cl₂ anhydre contenant l'HBTU en ajoutant de la DMF pour permettre la solubilisation de l'HBTU dans le milieu réactionnel.

L'oligomère linéaire entièrement déprotégé est obtenu après traitement du sel de TFA par la DIPEA, puis il est ajouté au milieu réactionnel sous agitation et sous flux azote par un goutte à goutte très lent, de façon à obtenir une concentration finale dans le mélange d'environ 1 mM (Schéma 47).

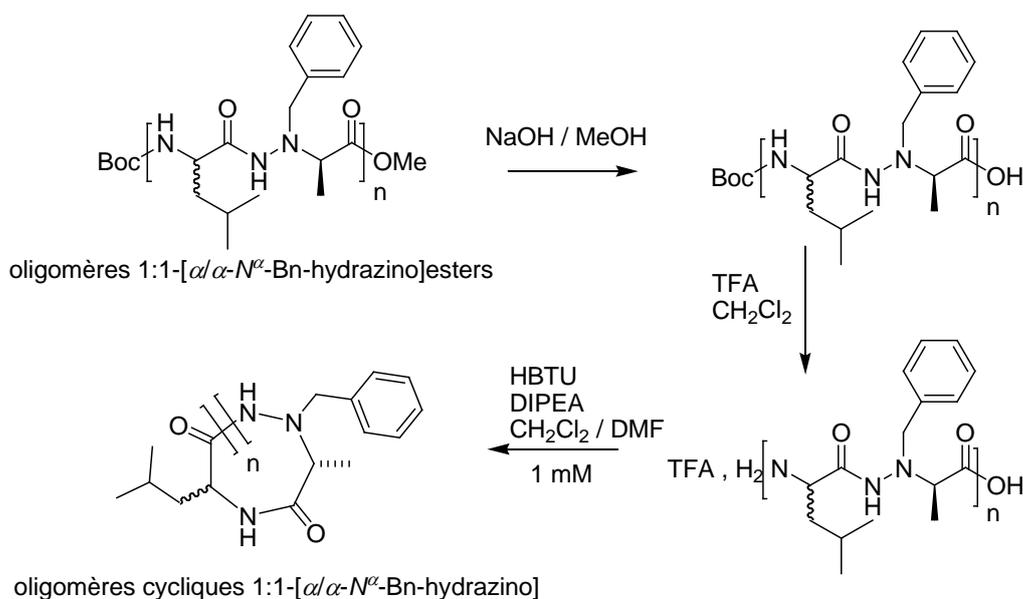


Schéma 47: Cyclisation des 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino]mères.

Nous avons réalisé la synthèse du cyclodimère jusqu'au cyclooctamère 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]. Pour le décamère **24a**, il n'a pas été possible de mener à bien la cyclisation, celle-ci imposant les déprotections des extrémités *N*- et *C*-terminale dans des solvants dans lesquels le décamère **24a** s'est révélé être insoluble.

Nous avons donc réussi à identifier et à isoler cinq cyclo 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères (Tableau 8).

Produits	n	Configuration absolue de CH α de Leu	Rendements (%) ^(a)
Cyclodimère hétérochiral 29a	1	S	HBTU/DIPEA : 25
			HOBt/EDC/Et ₃ N : 20
			HATU/NMM : 0
Cyclotétramère hétérochiral 30a	2	S	HBTU/DIPEA : 40
			HOBt/EDC/Et ₃ N : 37
Cyclotétramère homochiral 30b	2	R	HBTU/DIPEA : 31
Cyclohexamère hétérochiral 31a	3	S	HBTU/DIPEA : 33
			HOBt/EDC/Et ₃ N : 30
Cyclooctamère hétérochiral 32a	4	S	HBTU/DIPEA : 20
			HOBt/EDC/Et ₃ N : 13

(a) Rendements après purification par chromatographie sur colonne de silice par rapport aux oligomères totalement déprotégés

Tableau 8: Rendements en cyclo 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères.

Comme nous pouvons le voir dans le tableau 8, nous avons pu tester différentes méthodes de cyclisation.

Le couple HOBt/EDC permet d'une part de nous affranchir de la présence de la DMF et de rendre les purifications par chromatographie sur colonne de silice plus aisées.

Cependant, les rendements obtenus à l'aide de ce couple se sont avérés quasi-similaires à ceux obtenus à l'aide du couple HBTU/DIPEA.

De la même manière, nous avons tout de même tenté la cyclisation du dimère **15a** en utilisant l'HATU. Cet essai n'a toutefois pas donné lieu au cyclodimère **29a**, ainsi nous n'avons pas fait d'essais supplémentaires avec cette méthode.

III.4. Conclusion

Nous avons donc réussi à atteindre le deuxième objectif de cette étude, à savoir la synthèse des premiers cyclo 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères.

Ces macrocycles seront ensuite utilisés dans la quatrième partie de cette thèse afin de réaliser leurs études structurales.

IV
ÉTUDES CONFORMATIONNELLES DES 1:1- $[\alpha/\alpha-N^\alpha\text{-Bn-}$
HYDRAZINO]MÈRES LINÉAIRES ET CYCLIQUES

IV.1. Introduction

Les peptides sont constitués d'un enchaînement de résidus d'acides α -aminés (squelette peptidique) définissant sa structure primaire. Bien que des contraintes stériques induites par les chaînes latérales de ces peptides génèrent des contraintes spatiales, ils jouissent cependant d'une grande liberté rotationnelle. Celle-ci peut conduire certaines structures primaires à adopter un repliement local de la chaîne principale, conférant à la molécule une conformation supérieure et favorisée par des contacts intra- et intermoléculaires. On parlera alors de structures secondaires, parmi lesquelles ont été caractérisées des repliements en hélices, feuillets et coudes qui ont pour fonction de réguler l'activité biologique du peptide. Ce sont ces structures secondaires qui sont responsables de la reconnaissance moléculaire par le biais de laquelle nos cellules véhiculent et échangent des informations.

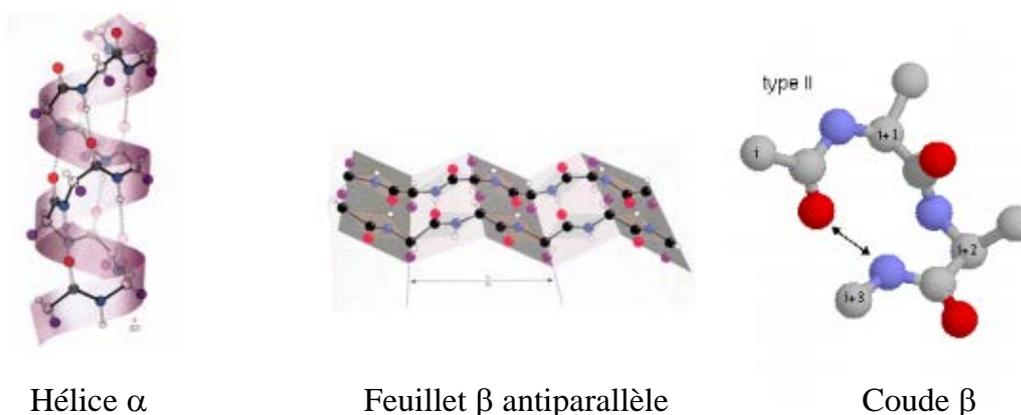


Figure 24: Exemples de structures secondaires.

Comme expliqué plus tôt, l'utilisation des peptides est limitée par leur biodégradabilité et leur multiplicité d'action. On comprend mieux l'essor que connaît la synthèse de nouvelles molécules pseudopeptidiques destinées à mimer les propriétés structurales et fonctionnelles de leurs homologues biologiques. Une modification pseudopeptidique peut être introduite soit à un endroit ciblé dans une séquence comme par exemple au niveau d'un site de coupure d'un substrat, soit de façon régulière tout au long de la séquence.

Récemment, un nouveau concept de pseudopeptides a vu le jour: Gellmann, Seebach et DeGrado^{17,124} ont montré que les β -peptides (contenant dans leur squelette un carbone supplémentaire), en dépit d'une flexibilité *a priori* encore plus grande que celle des α -peptides, étaient le siège de structures secondaires variées, séquence-contrôlable et que des effets biologiques cibles pouvaient être obtenus. Ces pseudopeptides ont par ailleurs l'avantage de montrer une très grande résistance à la protéolyse. Gellmann a proposé d'utiliser le terme « foldamère », contraction de « fold » et « oligomer », pour désigner tout nouvel oligomère de synthèse capable de s'auto-organiser en une structure spatiale compacte bien définie et prévisible en solution.⁹

Théoriquement, les interactions moléculaires trouvées dans les oligomères peuvent provenir d'un grand nombre de forces non covalentes:

- les liaisons hydrogène
- les répulsions stériques
- les interactions électrostatiques
- les interactions aromatiques π - π stacking
- la coordination à un ion métallique
- les effets hydrophobes

L'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires est le plus souvent à la base de la conception de foldamères car en plus d'introduire une structuration locale au sein d'un oligomère, elles représentent aussi, dans la plupart des cas, les plus fortes des interactions faibles.

Les oligomères ayant cette tendance à adopter ces conformations spatiales spécifiques sont de bons candidats à la conception de foldamères. Ainsi, ils peuvent mimer les propriétés structurales et fonctionnelles de leurs homologues protéinogéniques. Ces travaux pionniers ont ainsi motivé d'autres équipes à s'intéresser à cette thématique en devenir.

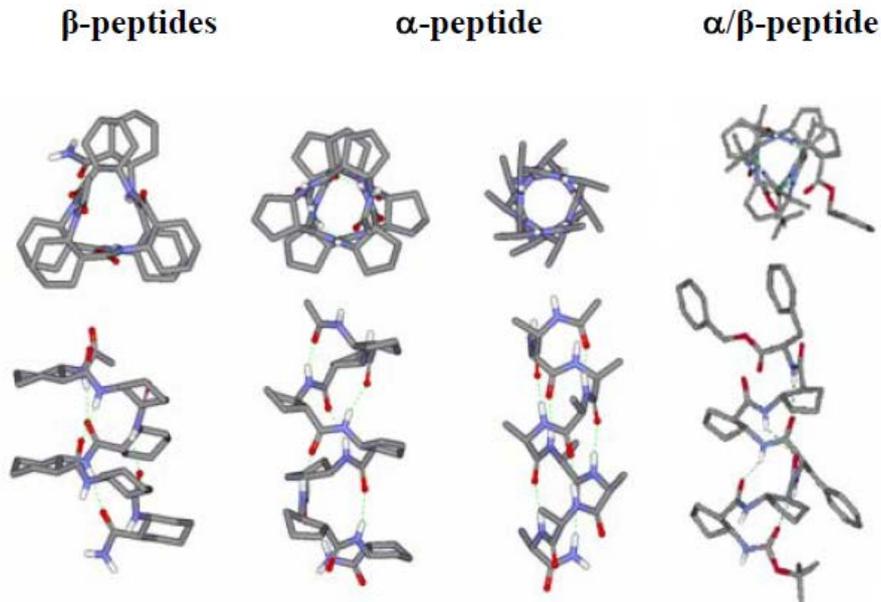


Figure 25: Structures cristallines d'hélices dans les α -, β - et α/β -peptides.

IV.2. Notation et aspects conformationnels en série peptidique

IV.2.1. Introduction

Par convention, on décrit l'arrangement spatial des peptides (géométrie du squelette) selon trois angles dièdres notés ψ , ω , Φ . Ceux-ci représentent les angles de torsion autour des liaisons C^α -CO, CO-NH et NH- C^α et sont comptés positivement lorsque, orientée de l'extrémité *N*-terminale (à gauche) vers l'extrémité *C*-terminale (à droite), la partie en aval tourne dans le sens des aiguilles d'une montre (Figure 26). L'angle nul correspond à la disposition éclipsée des atomes.

Les six atomes du lien amide C^α , C, O, N, H, C^α sont situés dans le même plan. La valeur de l'angle ω est donc voisine de 0° ou de 180° selon que le lien peptidique est respectivement *cis* ou *trans*. Bien que seuls les angles Φ et ψ puissent prendre des valeurs intermédiaires, toutes les valeurs des angles des couples (Φ , ψ) ne sont cependant pas permises stériquement. Le diagramme de Ramachandran représente les zones énergétiquement favorables.¹²⁵

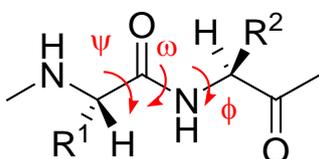


Figure 26: Représentation des angles dièdres caractérisant la structure du squelette peptidique.

Une liaison hydrogène au sein d'un peptide s'établit donc entre le site donneur de proton NH appartenant au résidu *i* et le site accepteur de proton C=O du résidu *i+x*: on note aussi cette interaction $i \rightarrow i+x$. La force de cette interaction se manifeste par une distance N...O (séparant le site donneur du site accepteur), qui est optimale entre 2.8 et 3.3 Å et quand les trois atomes sont colinéaires (lorsque l'angle (N-H,O) a une valeur comprise entre -20° et $+20^\circ$). Le pseudocycle formé est noté C_n où *n* représente le nombre d'atomes consécutifs et caractérise différentes structures secondaires (Figure 27).

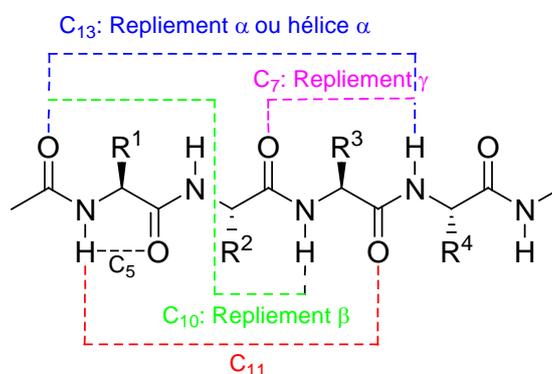


Figure 27: Représentation des principales interactions rencontrées dans les peptides.

Les méthodes d'analyse conformationnelle comme la diffraction des rayons X, la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectroscopie infrarouge (IR) et le dichroïsme circulaire (CD) ont permis de mettre en évidence différentes interactions intramoléculaires dans le squelette peptidique.

IV.2.2. Les hélices

La répétition de pseudocycles par l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires conduit à la formation d'hélices. On utilise l'écriture « hélice a_b », où a et b représentent respectivement le nombre de résidus acide α -aminé par pas d'hélice et le nombre d'atomes qui participent à la formation du pseudocycle. Le pas de l'hélice est caractérisé par sa longueur en Å et par son enroulement vers la gauche (M) ou vers la droite (P).

Dans les protéines, l'hélice α est caractérisée par un pas droit de 5.4 Å ce qui correspond dans cette nomenclature à l'hélice-3,6₁₃.

Les peptides représentent les mêmes types d'hélices que les protéines. On distingue donc trois grandes classes d'hélices qui diffèrent par le nombre de résidus d'acides α -aminés par tour et par le pas de l'hélice: hélice α , hélice 3₁₀ et hélice π (Figure 28).

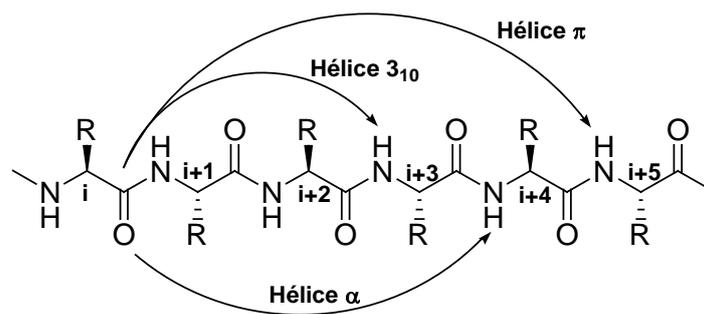


Figure 28: Type de liaisons hydrogène dans les différentes hélices.

IV.2.3. Les feuillets β

Des liaisons hydrogène peuvent se former à plus longue distance dans l'enchaînement peptidique entre atomes d'oxygène et d'hydrogène amidiques.

On parle alors de brins β , structures proches des structures étendues avec des valeurs d'angles standards dièdres de $\Phi = -120^\circ$ et $\psi = +120^\circ$.

Deux ou plusieurs brins β peuvent s'associer en feuillet β grâce à des liaisons hydrogène caractéristiques. Il en existe entre autres deux types principaux, le feuillet β antiparallèle dont l'orientation des brins successifs est inversée avec des angles dièdres $\Phi = -139^\circ$ et $\psi = +135^\circ$ et le feuillet β parallèle dont l'orientation des brins successifs est la même, avec des angles dièdres $\Phi = -119^\circ$ et $\psi = +113^\circ$.

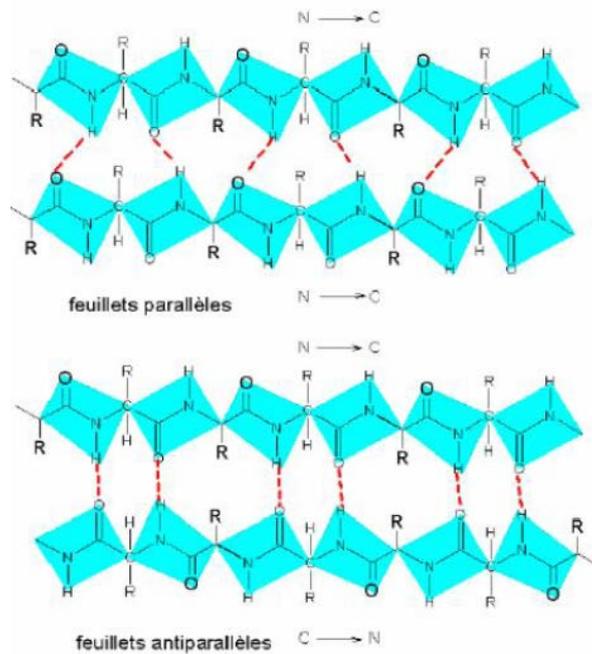


Figure 29: Schéma de feuillets β parallèles et antiparallèles.

IV.2.4. Les coudes ou turn

Ce sont des éléments de structures secondaires induisant un repliement particulier du squelette peptidique. Il en existe plusieurs types, caractérisés par le nombre d'atomes présents dans le pseudocycle.

a. Les coudes γ ou C_7

Ce type de conformation a été mis en évidence lors d'études spectroscopiques de dipeptides en solution et de protéines.^{126,127} Ces coudes sont ainsi caractérisés par la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire de type $i \rightarrow i+2$ stabilisant un pseudocycle à sept atomes. Ce repliement existe sous deux formes, à savoir le γ -turn classique rencontré le plus fréquemment dans les protéines (orientation pseudo-axiale) et le γ -turn inverse (orientation pseudo-équatoriale) (Figure 30).

Repliement γ

Repliement γ inverse

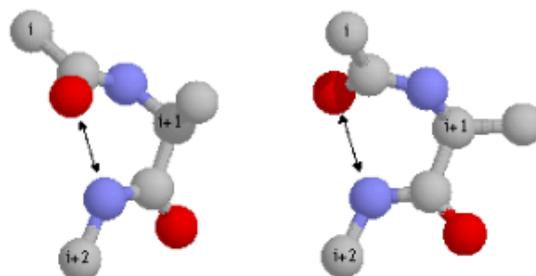


Figure 30: Repliements γ

b. Les coudes β ou C_{10}

Le repliement β caractérise toute liaison hydrogène refermant un pseudocycle à dix atomes de type $i \rightarrow i+3$ ainsi que toute forme repliée dans les peptides à condition que les C^α des résidus i et $i+3$ ne soient pas distants de plus de 7 Å.¹²⁸ Ce repliement permet d'inverser la direction de propagation d'une chaîne peptidique. L'existence de ce genre de structure a fait l'objet de nombreuses études expérimentales et théoriques qui ont permis de mettre en lumière dix modes de repliement β à partir des structures cristallines des protéines. Les six repliements β les plus courants sont caractérisés par l'établissement d'une liaison hydrogène entre les sites NH du résidu $i+3$ et le C=O du résidu i et sont rassemblés dans le tableau 9.

Les deux catégories les plus souvent rencontrées dans les acides α -aminés sont les β -turns de type I et II (Figure 31).

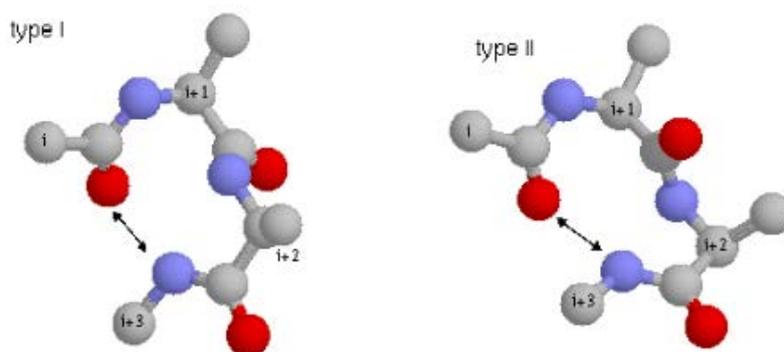


Figure 31: Coudes β de type I et II.

Type	Résidu $i+1$		Résidu $i+2$	
	Φ	Ψ	Φ	Ψ
β_I	-60	-30	-90	0
β_I'	60	30	90	0
β_{II}	-60	120	80	0
β_{II}'	60	-120	-80	0
β_{III}	-60	30	-60	-30
β_{VI}	-60	120	-120	60

Tableau 9: Valeurs moyennes des angles de torsions pour les six principaux modes de repliement β caractérisés par une liaison hydrogène du type $i \rightarrow i+3$.

Le coude β se révèle ainsi être un élément architectural primordial dans les structures tridimensionnelles des protéines globulaires. Les causes de l'existence de structures repliées

ont ainsi fait l'objet d'un grand nombre d'études tendant à montrer qu'il s'agit d'une disposition intrinsèquement stable de l'enchaînement peptidique.

IV.3. Aspects conformationnels en série pseudopeptidique

L'étroite relation entre les propriétés conformationnelles des peptides bioactifs et leurs activités biologiques est une des raisons qui ont motivé l'étude d'analogues pseudopeptidiques, d'où l'intérêt d'étudier l'influence des modifications chimiques du squelette peptidique sur les propriétés conformationnelles des pseudopeptides résultants.

IV.3.1. Aspects conformationnels en série pseudopeptidique : les dérivés des α -peptides

Les exemples suivants concernent les éléments de structure secondaire que peuvent présenter différents pseudopeptides bis-azotés synthétisés au laboratoire.

a. Les azapeptides

La structuration de ces pseudopeptides, dont l'atome de carbone C^α d'un acide α -aminé a été remplacé par un atome d'azote a été beaucoup étudiée par notre laboratoire en collaboration avec le Laboratoire de Cristallographie, Résonance Magnétique et Modélisation (CRM2) de Nancy. En effet, le LCPM par l'équipe de Marraud, a détaillé la synthèse du plus simple azadipeptide, le Piv-Pro-AzaAla-NHi-Pr, capable d'adopter une conformation en β -turn (généralement rencontrée dans son analogue naturel *i*-PrCOPro-Ala-NHi-Pr). La structure cristalline de l'azadipeptide a ensuite été résolue par l'équipe d'Aubry qui a mis en évidence la formation d'une liaison hydrogène intramolécule refermant un pseudocycle en C_{10} , avec une distance (*i*-Pr)N---OC(*t*-Bu) de 3.06 Å, du même ordre que celle du *i*-PrCO-Pro-*L*-Ala-NHi-Pr (3.05 Å) ou du *i*-PrCOPro-*D*-Ala-NHi-Pr (3.10 Å). Ceci est donc en accord avec les résultats des peptides présentant un β -turn.¹²⁹

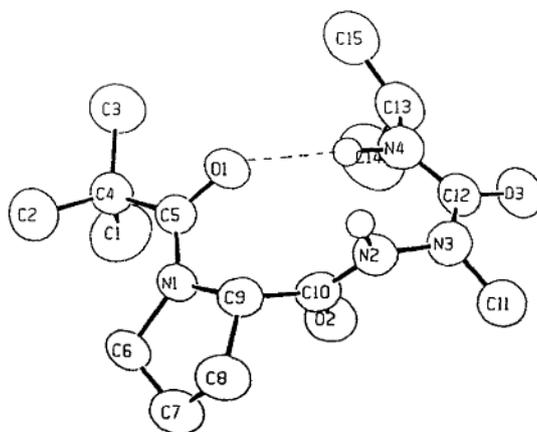


Figure 32: Structure cristalline du Piv-Pro-AzaAla-NHi-Pr.

Ces travaux pionniers ont établi les bases géométriques des acides aza-aminés, à savoir que les liens amide CO-N sont allongés tandis que les liaisons $N-N^\alpha$ et N^α -CO sont raccourcies par rapport à $N-C^\alpha$ et C^α -CO. De plus, l'atome d'azote de substitution N^α adopte un caractère pyramidal de type sp^3 et possède donc une chiralité.

Plus récemment, des pseudopeptides mixtes alternant un lien aza et deux liens amide, de type 2:1-[α /aza]-peptides, ont été synthétisés au laboratoire dans le cadre de la thèse d'Abbas-Quinternet.^{8,130}

Les études RMN et IR en solution, ainsi que la modélisation moléculaire, ont permis d'envisager la formation d'un réseau de liaisons hydrogène s'établissant entre les protons NH $i+2$ des résidus alanine et le groupement carbonyle i du résidu phénylalanine, formant des pseudocycles en C_7 d'une part, et entre les protons NH $i+3$ d'un résidu alanine et le carbonyle i du résidu phénylalanine refermant un pseudocycle en C_{10} . Ces structurations sont présentées sur des 2:1-[α /aza]-hexamères (Figure 33).

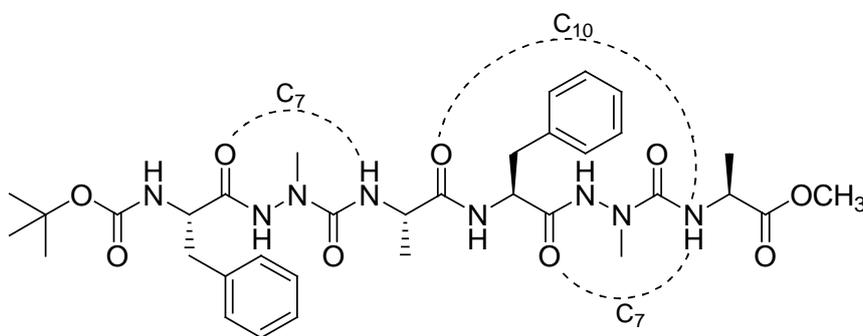


Figure 33: Liaisons hydrogène pouvant s'établir au sein des 2:1-[α /aza]-hexamères.

Des monocristaux des 2:1-[α /aza]-hexamères ont ensuite été obtenus et ont permis de déterminer quels types de repliements prenaient place dans ce pseudopeptide. L'auteur a donc trouvé deux coudes: le premier, proche d'un coude β de type I et le deuxième d'un type II, par formation d'un pseudocycle à dix atomes de type $i \rightarrow i+3$, ceci démontrant que ces composés n'avaient pas forcément le même comportement en solution qu'à l'état cristallin.

b. Les N-aminopeptides

Les N -aminopeptides sont les analogues d' α -peptides naturels pour lesquels l'atome d'hydrogène de l'azote de la liaison peptidique est remplacé par une fonction amine primaire. Ces composés ont été peu étudiés au niveau structural ; c'est ainsi que l'on doit leurs premières études à Marraud du LCPM, sur le dérivé Piv-Pro- $N^\alpha(N^\beta H_2)$ -Gly-NHiPr. Les données obtenues par diffraction des rayons X ainsi que les travaux RMN en solution ont mis en lumière la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire, refermant un cycle à dix atomes, entre l'atome d'hydrogène du groupement NHiPr (résidu $i+3$) et l'atome d'oxygène du groupement Piv (résidu i). La liaison hydrogène, caractérisée par une distance (iPr)N---OC(tBu) de 3.10 Å, a été comparée à celle du dipeptide naturel parent, le Piv-Pro-Gly-NHiPr, avec 2.97 Å et s'est révélée être caractéristique d'une conformation en coude β de type II.^{131,26,27}

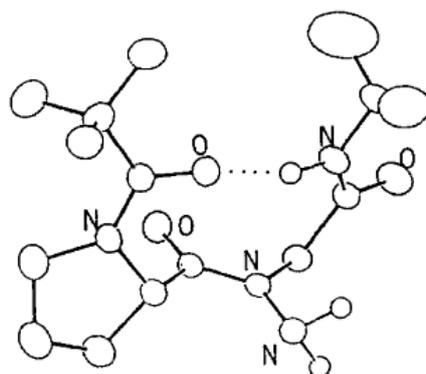


Figure 34: Structure cristalline du Piv-Pro- $N^\alpha(N^\beta H_2)$ -Gly-NHi-Pr.

Plus récemment, dans le cadre d'une thèse au laboratoire, Dautrey a étudié des pseudo-peptides mixtes alternant un lien amide et un lien N -amino. Ces composés ont la particularité d'être protégés sur le groupement NH_2 du lien amino par un groupement phtalimide. Les études conformationnelles de ces pseudo-peptides ont mis en évidence leur capacité à s'auto-structurer en solution *via* la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires en C_8 , entre les fonctions carbonyles des groupements phtalimides et les atomes d'hydrogène des groupements NH des liaisons amides (Figure 35).¹³²

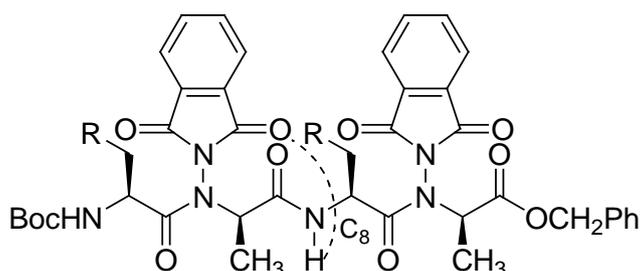


Figure 35: Exemple de formation d'une liaison hydrogène en C_8 sur un 1:1-[α/N -amino]-tétramère.

IV.3.2. Aspects conformationnels en série pseudo-peptidique : les dérivés des β -peptides

a. Les β -peptides

Les β -peptides sont donc constitués de l'assemblage d'acides β -aminés, homologues supérieurs des acides α -aminés naturels. Par rapport à ces derniers, le squelette d'un acide β -aminé incorpore un carbone supplémentaire. De ce fait, une ou plusieurs chaînes latérales peuvent être introduites sur les C^α et C^β de la chaîne carbonée avec des stéréochimies contrôlées. Le squelette β -peptidique autorise donc une grande modulation structurale qui a été largement exploitée.¹²⁴

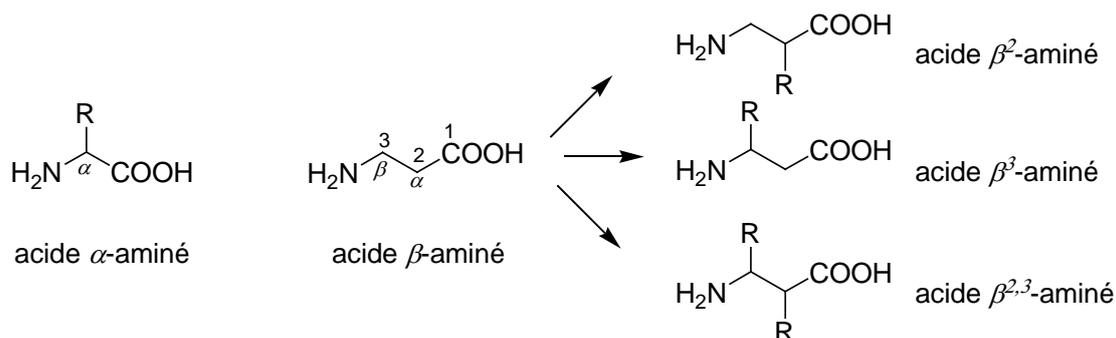


Figure 36: Différents types d'acides α - et β -aminés.

De manière générale, les peptides d'origine naturelle comptant moins de dix résidus acides α -aminés ne possèdent pas de structures secondaires bien définies. De plus ils sont sensibles à la dégradation protéolytique. Les peptidomimétiques ont donc été conçus pour offrir une plus grande stabilité, dont les β -peptides sont les plus importants représentants dans les foldamères, notamment par de très nombreuses études menées par les groupes de Seebach, DeGrado et Gellmann.^{9,10,11,17,12,13}

Ils ont notamment montré que contrairement aux α -peptides, même des β -peptides très courts (moins de six résidus), pouvaient adopter des structures secondaires bien définies comme des hélices, feuilletts et coudes. Ils ont ainsi identifié de nombreuses structurations possibles dont la plus favorable est l'hélice 3_{14} , obtenue par la formation d'un réseau de liaisons hydrogène CO---HN de direction opposée à celle de l'hélice α (Figure 37).

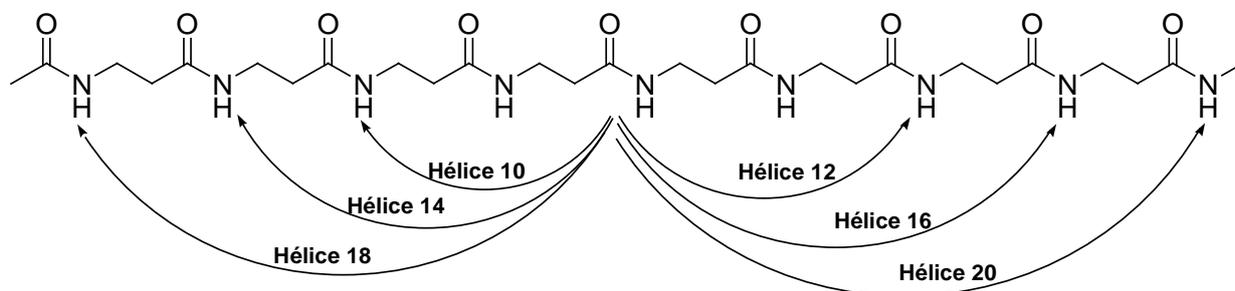


Figure 37: Liaisons hydrogène possibles dans un β -peptide.

b. Les α -aminopeptides

Au cours des deux dernières décennies, les équipes de Yang et Wu ont travaillé sur les α -aminopeptides, qui sont en fait des analogues des β -peptides dans lesquels le carbone β est remplacé par un atome d'oxygène.

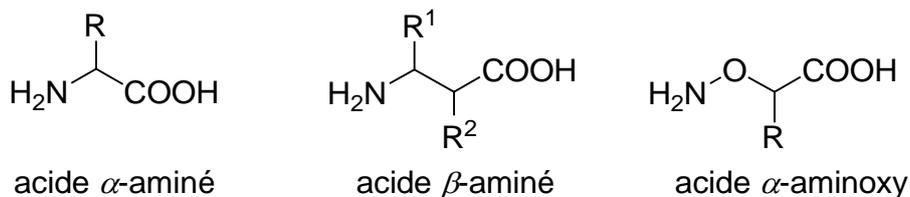


Figure 37: Représentation des acides α , β -aminés et α -aminoxy.

C'est en 1996, que leurs groupes ont mis en évidence un nouveau type de structure dans les peptides contenant des acides α -aminoxyacétiques.⁸⁷ En effet, ils ont montré lors de leurs premières études que l'introduction d'un motif α -aminoxyacide dans un squelette peptidique induisait une conformation particulière. Pour illustrer cela, ils ont effectué des calculs théoriques sur l' α -aminoxydiamide suggérant que celui-ci adoptait de manière la plus favorable une structure rigide formée d'un pseudocycle à huit chaînons. La force de la liaison hydrogène a été confirmée par une courte distance O---H (2.02 Å) et la « presque » colinéarité de l'angle OHN (159°).

Les auteurs ont ensuite démontré que chaque proton NH amidoxydique était lié par une liaison hydrogène intramoléculaire grâce à des expériences RMN en solution dans le CDCl_3 et le CD_2Cl_2 . En effet, ces protons NH se sont avérés peu sensibles aux interactions intermoléculaires. Ces résultats ont été confirmés par IR sur trois types de modèle, deux diamides et un triamide (Figure 39).⁸⁷

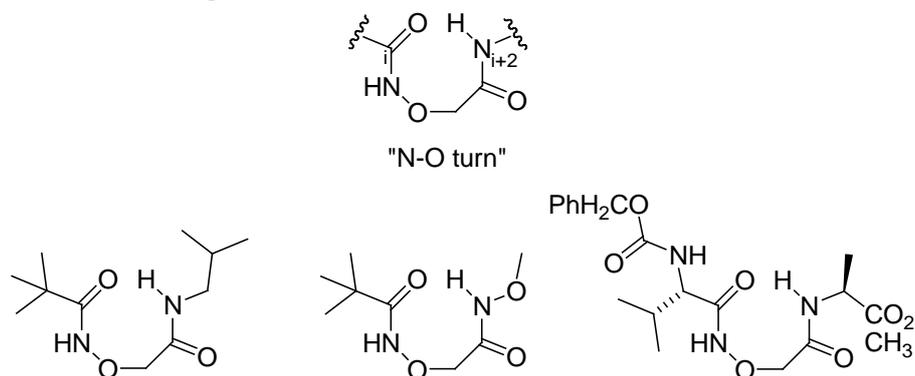


Figure 39: Exemples de N-O turn sur trois types de dérivés α -aminoxy.

Le pseudocycle à huit chaînons, induit par la présence d'un résidu acide α -aminoxy ($-\text{NH}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-$), représentait donc un nouveau type de conformation du squelette qualifié de N-O turn par Yang et Wu.

Dans le CDCl_3 , les expériences ROESY, réalisées sur le triamide constitué de la *D*-aminoxy leucine suivi de la *L*-aminoxy phénylalanine, corroborent la formation de N-O turns consécutifs par la présence de couplages dipolaires intenses entre les protons NH_i et HC^α_{i+1} et faibles entre les protons NH_i et HC^α_{i-1} .⁷⁸

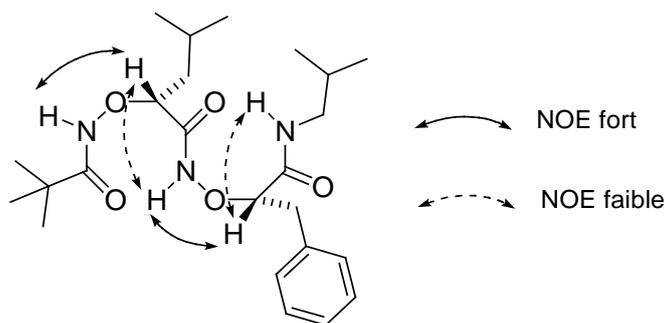


Figure 40: Couplages dipolaires présents au sein d'un α -aminoxytriamide.

Des cristaux de cette molécule ont par ailleurs pu être obtenus, et la structure cristalline résultante, par diffraction des rayons X, a confirmé les résultats des expériences RMN en solution.⁷⁸

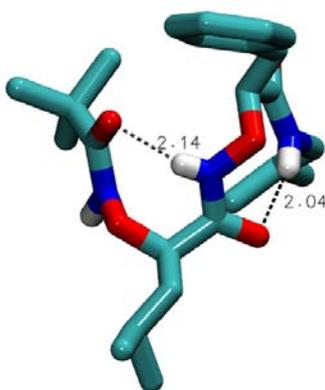


Figure 41: Structure cristalline du α -aminoxytriamide.

Ces mêmes équipes se sont ensuite tournées vers la conception d'oligomères mixtes amide/ α -aminoxy. Il s'est avéré être possible dans ces oligomères d'initier un γ -turn par la présence d'un N-O turn, cette conformation donnant accès à une nouvelle forme d'hélice selon des calculs théoriques.⁹⁰ Il était donc possible d'introduire un γ -turn dans des séquences courtes de peptides en y ajoutant un α -aminoxyacide directement après un acide α -aminé particulier, entre le NH du résidu $i+2$ de l' α -aminoxy et le O=C du résidu i . Ces études théoriques ont été confirmées par des études RMN 2D en solution (Figure 42).

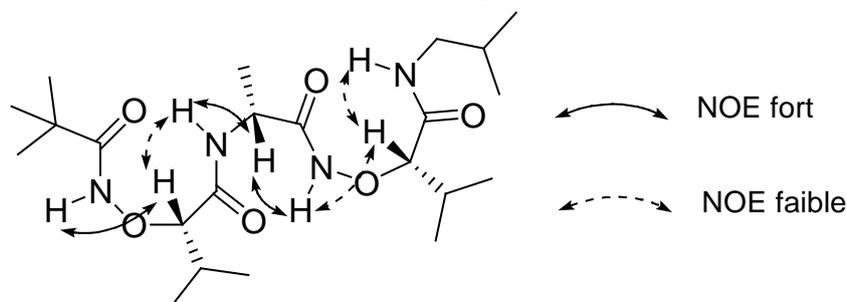


Figure 42: Résumé des NOE observées sur un 1:1-[α / α -aminoxy]mère.

Cependant, il n'a pas été possible pour eux d'obtenir des structures cristallines de ces composés.

c. Les aza-β³-peptides

Plus récemment, l'équipe de Le Grel a synthétisé et étudié la structuration de dérivés de l'acide hydrazinoacétique N^α-substitué.⁵⁷ Ces unités, plus communément appelées aza-β³ peptides, sont des hydrazinopeptides où la chiralité est portée par un atome d'azote.

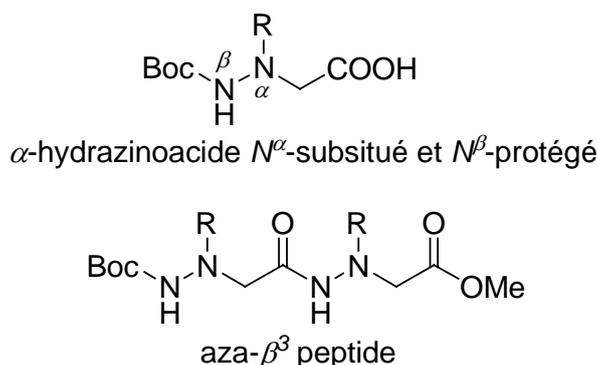


Figure 43: Représentation d'un aza-β³ peptides dérivés de l'acide hydrazinoacétique N^α-substitué.

Les premiers spectres RMN ¹H de ces composés présentaient des signaux NH bien définis et suffisamment discriminés, laissant penser qu'ils adoptaient une structuration privilégiée en solution. Sur la base de ces éléments, l'équipe a suggéré que le squelette des aza-β³ peptides pourrait générer un réseau de liaisons hydrogène, reposant sur une succession de pseudocycles à huit chaînons, comme cela avait été observé dans le cas des α -aminopeptides abordé plus tôt dans cette partie.⁷⁸

Une structuration de ces composés par formation de pseudocycles en C₈ et C₅, obtenus par un réseau de liaisons hydrogène bifides, a finalement pu être observée et caractérisée sur de petites unités de type amide primaire. Les études structurales en RMN 2D qui ont suivi ont permis de mettre en évidence les corrélations NOE au sein de la molécule et confirment la présence de l'hydrazinoturn.⁷⁵

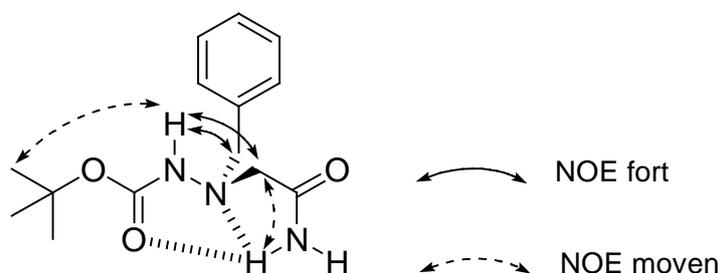


Figure 44: Résumé des NOE au sein d'un monomère amide aza-β³ peptide.

Des cristaux ont ensuite pu être obtenus sur des unités plus longues et ont mis en évidence l'auto-structuration de ce type de composés par une succession d'hydrazinoturn au sein d'un dimère amide aza- β^3 peptide.

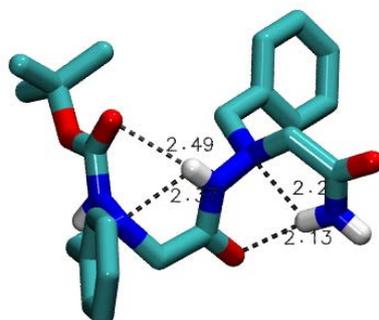


Figure 45: Structure cristalline d'un dimère amide aza- β^3 peptide.

Des études structurales supplémentaires ont montré que l'atome d'azote N^α de ces molécules peut adopter deux conformations privilégiées, la première étirée, faisant apparaître une configuration absolue identique des atomes d'azote N^α , la seconde cyclique, faisant apparaître une alternance de configurations R, S des atomes d'azote N^α .^{28,35,36}

d. Les hydrazinopeptides

Les hydrazinopeptides sont des analogues azotés de β -peptides, dans lesquels l'atome de carbone β est remplacé par un atome d'azote.

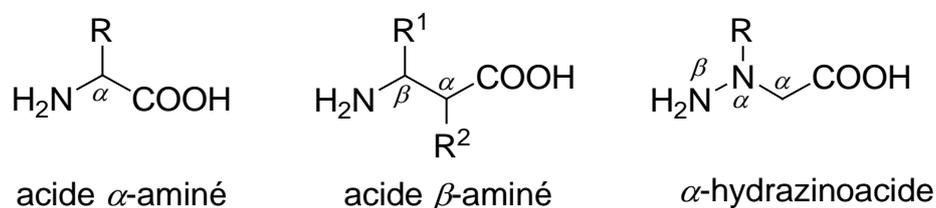


Figure 46: Représentation d'un hydrazinoacide.

Nous devons en effet aux équipes du LCPM, les premières études structurales sur les hydrazinopeptides. Celles-ci ont ainsi travaillé sur l'influence d'un lien bis-azoté hydrazino sur la structuration (en β -turn) de dipeptides naturels modèles. Ces dipeptides ont été formés à partir d'un résidu azaGly, aza- L ou aza- D -Ala avec un résidu Proline en amont de ce résidu aza (Piv-Pro-Y-NHi-Pr avec Y = Gly, L -Ala, D -Ala) puis dans un second temps sur les hydrazinopeptides correspondants, portant un groupement benzyle sur le N^α (Piv-Pro- N^β H- N^α Bn-CH₂-CO-NHi-Pr). Lors de cette étude, ces hydrazinopeptides se sont avérés être capables d'adopter une conformation particulière. Les premières études structurales par diffraction des rayons X sur ces composés, réalisées en collaboration avec l'équipe d'Aubry sur des séquences de deux ou trois résidus, ont montré que le site donneur de proton NHi-Pr interagissait à la fois avec le groupement carbonyle de l'hydrazide pour former un cycle à huit

atomes et avec la paire électronique libre de l'atome d'azote N^α (hybridation sp^3), fermant ainsi un cycle à cinq atomes. Le NH^i -Pr, lié par deux liaisons hydrogène intramoléculaires au $C=O$ de la proline et au N^α de l'hydrazide, a fait alors apparaître une liaison bifide l'hydrazinoturn.^{131,26,27}

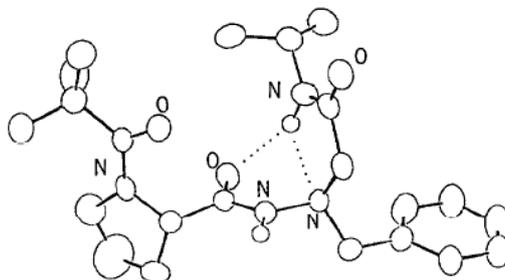


Figure 47: Structure cristalline du Piv-Pro- N^β H- N^α Bn-CH₂-CO-NHi-Pr.

A travers une étude théorique, Günther et Hofmann proposent en 2001 une extension du concept des β -peptides à travers les hydrazinopeptides.¹³³ Ces pseudopeptides sont des aza-analogues des β -peptides puisque leur squelette est constitué de résidus hydrazinoacétiques dont les atomes sont respectivement notés C^α , N^α et N^β .

La présence du groupement HN^α ouvre de nouvelles possibilités pour l'établissement de structures secondaires, celui-ci pouvant agir à la fois comme accepteur et/ou donneur de liaison hydrogène et combiner son action à celle des contacts CO---HN classiques.

Les auteurs ont ainsi envisagé l'ensemble des réseaux de liaisons hydrogène intramoléculaires possibles dans les hydrazinopeptides et modélisé les conformations résultantes.

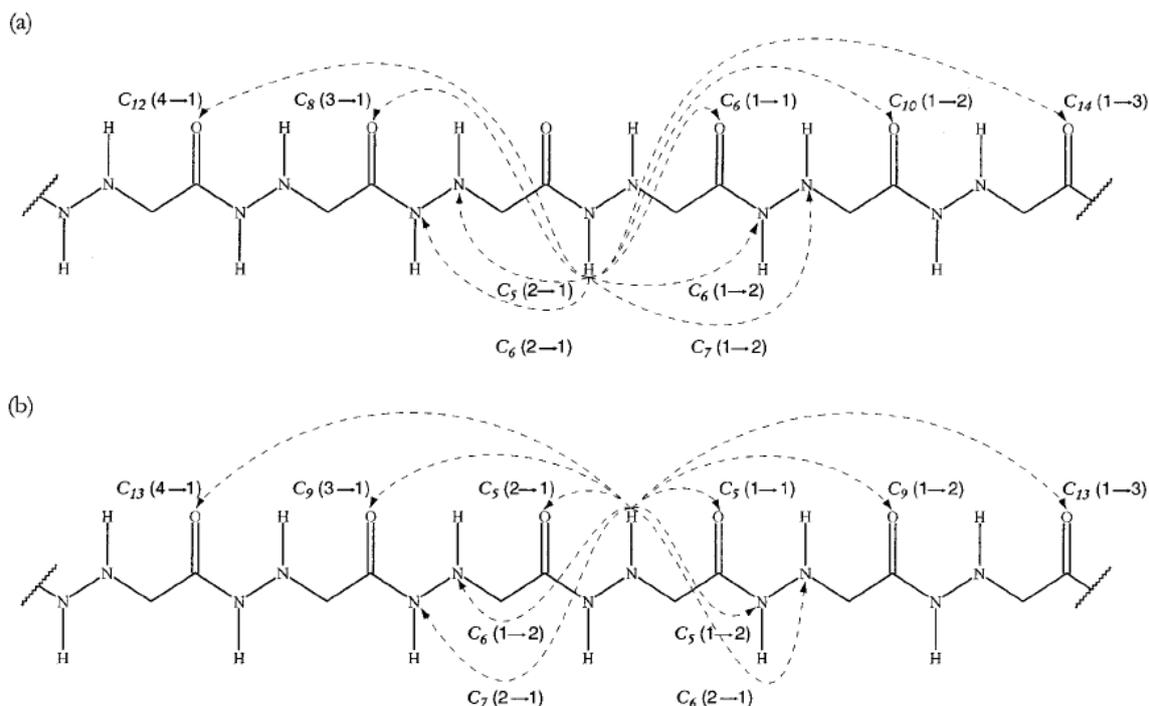


Figure 48: Réseaux de liaisons hydrogène possibles dans les hydrazinopeptides.

Différents modes de calcul des énergies relatives font ressortir une structure en hélice-3.3₁₄ (H₁₄ type II) comme la conformation la plus favorable. La topologie distincte de celle-ci par rapport à l'hélice-3₁₄ (H₁₄ type I) des β -peptides, se justifierait par une interaction supplémentaire en C₅ impliquant le doublet non liant de l'atome d'azote N ^{α} . Une autre hélice-1.75₈, reposant sur une interaction classique CO---HN entre résidus adjacents et possédant une énergie proche de la précédente est également possible.

Il est à noter que la difficulté d'obtenir des α -hydrazinoacides énantiomériquement purs ainsi que l'absence de méthode efficace pour leur incorporation dans les peptides ont limité pendant plusieurs décennies l'utilisation de ces motifs pseudopeptidiques.

En effet, l'obtention d'hydrazinopeptides C ^{α} -substitué nécessite la préparation préalable des monomères correspondants sous forme optiquement pure tandis que leur oligomérisation impose la protection de l'atome d'azote N ^{α} . De nombreux travaux ont été consacrés à ce sujet, mais la synthèse de ces unités reste malgré tout laborieuse.

Seuls Seebach et Lelais ont réussi à contourner ces obstacles et à travailler sur des composés α -hydrazino énantiomériquement purs. Ils ont publié en 2003 une première étude portant sur la synthèse et l'analyse conformationnelle d'un α -hydrazinohexapeptide C ^{α} -substitué porteur de chaînes latérales alkylées. Ils ont ensuite mis en évidence par diffraction des rayons X l'auto-structuration en hydrazinoturn sur ce type de composés.¹⁸

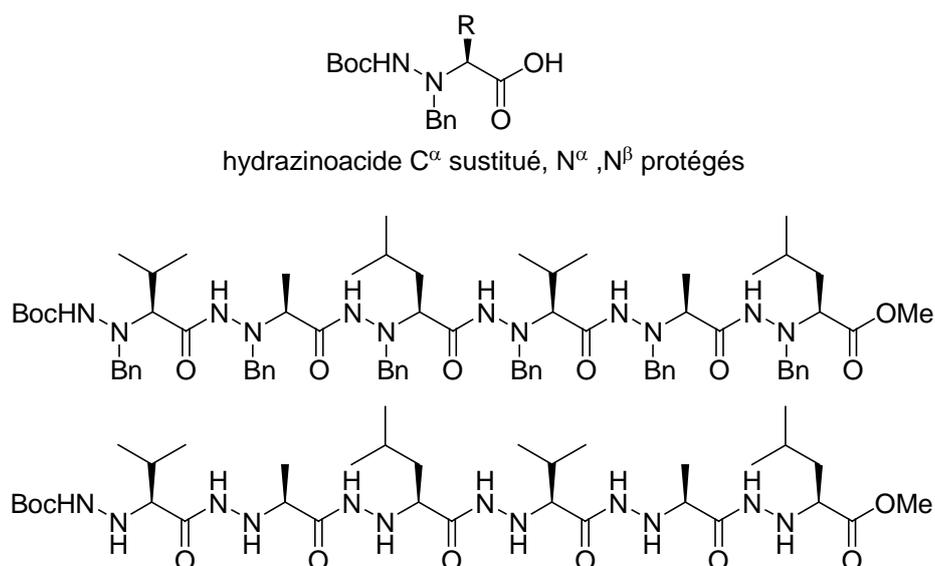


Schéma 49: Le premier α -hydrazinohexapeptide C ^{α} -substitué.

A l'inverse de la courbe de dichroïsme circulaire de l'hexamère perbenzylé, qui ne révèle aucune structuration particulière, l'allure de celle du dérivé déprotégé évoque la courbe CD associée à l'hélice-3₁₄ (P) observé pour le (L)- β^2 -peptide correspondant. Cependant, en dépit de nombreuses mesures effectuées sous différentes conditions (variations de solvants, travail à basse température), il s'est avéré difficile de caractériser ces hydrazinopeptides par RMN ¹H, les signaux des HN ^{β} étant superposés et mal définis, tandis que les signaux des HN ^{α} sont tout simplement absents. Une étude conformationnelle s'avérait donc difficile pour ce type de motif pur hydrazino.

L'intérêt du laboratoire pour la chimie des hydrazinopeptides a conduit à l'étude de pseudo-peptides mixtes alternant un lien amide et un lien hydrazino. En effet, dans le cadre d'une thèse, Bouillon a étudié des pseudo-peptides mixtes 1:1- $[\alpha/\alpha-N^{\alpha}\text{-Z-hydrazino}]$ esters c'est-à-dire C^{α} -substitué par des alkyles et N^{α} protégé par un groupement Z. Celle-ci a ensuite effectué des simulations en mécanique et dynamique moléculaire qui ont démontré que ces molécules pouvaient s'auto-structurer par établissement de liaisons hydrogène. La conformation la plus probable serait issue de la formation d'un pseudocycle à douze chaînons inversés dû à la liaison hydrogène entre le HN^{β} du résidu i avec le CO du groupement Z du résidu $i+2$. La particularité de ce composé réside dans le fait de l'implication du groupement CO du motif Z et non d'un CO du squelette peptidique (Figure 50).

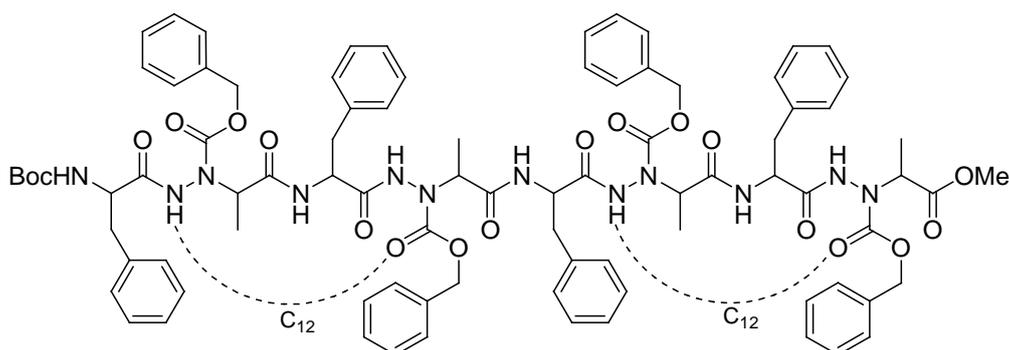


Figure 50: Réseau de liaisons hydrogène possibles dans l'octamère 1:1- $[\alpha/\alpha-N^{\alpha}\text{-Z-hydrazino}]$ ester.

Ces résultats n'ont pu être confirmés par des expériences RMN en solution (différents solvants et températures) en raison de l'allure des spectres obtenus, constitués de signaux larges et mal définis. Des études IR ont cependant confirmé l'existence de liaisons hydrogène intramoléculaires au sein de la molécule mais se sont révélées insuffisantes pour conclure quant à la conformation exacte de la molécule étudiée.

IV.4. Méthodes d'analyses conformationnelles

Nous allons dans cette partie décrire succinctement les outils d'analyses physico-chimiques permettant la mise en évidence des interactions responsables de la structuration d'un oligomère.

IV.4.1. Le dichroïsme circulaire (CD)

Le dichroïsme circulaire est une technique spectroscopique qui repose sur la capacité qu'ont les structures optiquement actives d'absorber de façon inégale la lumière polarisée circulairement à droite et à gauche, ceci dû à une asymétrie structurale.

L'absence de réponse en dichroïsme circulaire ou l'absence d'organisation régulière des chromophores des molécules à étudier conduit à un spectre de dichroïsme circulaire avec un

signal d'intensité nulle, alors qu'une structuration conduit à un spectre avec des bandes positives et/ou négatives, appelées effet Cotton.

C'est une méthode très largement utilisée pour l'analyse conformationnelle des peptides et des protéines, dont les signaux dichroïques des différentes structures secondaires sont connus. Ainsi il est possible d'associer un signal à une organisation en hélice α , feuillet β , coude ou une structure désorganisée. Cette technique a notamment été utilisée dans l'étude de pseudopeptides.

IV.4.2. La diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X est une méthode qui permet de fournir des informations très précises quant à l'existence d'une conformation privilégiée au sein d'une molécule. Ces informations concernent:

- les paramètres géométriques tels que les longueurs et les angles de liaisons,
- le type d'interactions, intra- et intermoléculaires (liaisons hydrogène),
- les conformations moléculaires adoptées.

Néanmoins, l'usage de la diffraction des rayons X reste dépendant de l'obtention de monocristaux de bonne qualité. De plus, la conformation d'une molécule dans la maille cristalline dépend des forces d'empilement et de cohésion du cristal pouvant s'exercer au détriment des interactions intramoléculaires potentielles existantes dans la même molécule isolée ou en solution très diluée. Il est ainsi possible d'observer des différences entre la conformation déterminée à l'état solide et en solution.

IV.4.3. La modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est un outil qui permet, au moyen de modèles mathématiques, de prévoir en simulant la structure et la réactivité des molécules en représentant les propriétés et réactions chimiques d'un système et en manipulant les structures tridimensionnelles des molécules.

Il existe différentes méthodes:

- les méthodes quantiques: reposent sur la résolution d'équations de la mécanique quantique par le recours aux méthodes *ab initio* et les méthodes semi-empiriques, dont la complexité augmente avec le nombre d'atomes. Elles sont donc plus souvent appliquées à des systèmes de petite taille,
- la mécanique et la dynamique moléculaire: reposent sur l'utilisation des lois de mécanique classique pour déterminer le comportement d'un système. Des paramètres sont introduits, décrivant aussi bien les interactions liées que non liées définissant le champ de force. Ces paramètres peuvent provenir de données expérimentales de

spectroscopie vibrationnelle, de données de diffraction des rayons X ou de valeurs obtenues par les méthodes *ab initio* (si l'on dispose des champs de force des modifications pseudopeptidiques).

Cette méthode peut donc s'avérer très utile dans la recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques.

IV.4.4. La spectroscopie d'absorption infrarouge (IR)

Les spectres d'absorption infrarouge (IR) des molécules peptidiques contiennent des informations relatives aux vibrations d'élongation et de déformation du lien amide.

Celui-ci est donc exploité en IR par la présence des bandes qui correspondent aux mouvements d'élongation de ses deux vibreurs:

- Liaison N-H : bande Amide A dans le domaine $3520-3200\text{ cm}^{-1}$ et notée $\nu(\text{N-H})$.
- Liaison C=O : bande Amide I, dans le domaine $1800-1580\text{ cm}^{-1}$ et notée $\nu(\text{C=O})$.

Ces deux vibreurs jouent un rôle très important dans la détermination de liaisons hydrogène de type N-H---O=C.

En effet, il est admis que lorsque les vibreurs sont impliqués dans de telles interactions, celles-ci entraînent une diminution de la fréquence des deux vibreurs concernés et les variations relatives des fréquences reflètent la force des interactions mises en jeu.

De plus, la littérature fait état qu'un vibreur NH amidique lié par liaison hydrogène à une bande d'absorption IR d'Amide A en dessous de 3400 cm^{-1} .¹³⁴

Cependant, le champ d'application de cette méthode spectroscopique est souvent limité par la transparence des solvants dans les zones de fréquences explorées, la solubilité des molécules dans ces solvants transparents, mais aussi l'auto-association éventuelle dans ces mêmes milieux ou encore la multiplicité et le chevauchement des bandes N-H ou C=O, rendant difficile une attribution précise de ces bandes.

Ce problème peut être cependant contourné dans certains cas par une déconvolution des bandes qui est réalisée grâce à des programmes informatiques et des algorithmes mathématiques.

De plus, l'IR, par son temps d'expérience très court, peut permettre de visualiser des phénomènes conformationnels intermittents impossibles à visualiser à l'échelle de temps de la RMN.

Pour résumer, L'IR est donc un outil permettant de mettre en évidence des interactions et de confirmer l'existence ou non d'une conformation unique en solution.

IV.4.5. La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est la méthode physico-chimique de choix qui a permis d'étendre nos connaissances sur les propriétés des molécules en solution. Grâce à la variété de ses techniques expérimentales, elle apporte des informations primordiales pour la détermination des structures:

- déplacements chimiques,
- constantes de couplage,
- effet Overhauser nucléaire,
- temps de relaxation.

Ainsi ces informations permettent l'étude des propriétés conformationnelles des peptides par le biais notamment de la mise en évidence de liaisons hydrogène et de la détermination des angles de torsion.

Il est à noter que la spectroscopie RMN ne permet pas de détecter les différentes conformations qui participent aux équilibres conformationnels rapides. On observe alors un signal moyen pondéré selon les populations des divers conformères.

D'un point de vue conformationnel, les informations obtenues diffèrent entre la RMN 1D où l'on s'intéresse à un seul noyau et la RMN 2D où l'on visualise les interactions spatiales et covalentes entre les atomes.

a. La RMN à 1 dimension (RMN 1D)

Lors de l'étude de pseudopeptides par RMN 1D, on s'intéresse principalement aux déplacements chimiques des groupements amines et/ou amides de la molécule qui peuvent établir des liaisons hydrogène intra- ou intermoléculaires. La recherche de liaisons hydrogène par spectroscopie RMN peut se faire au travers de plusieurs méthodes:

- Influence de la température: Cette méthode est basée sur l'interprétation des effets de la température sur un composé. Dans un solvant accepteur de liaisons hydrogène, une élévation de température provoque la rupture de liaisons hydrogène intermoléculaires sous l'effet de l'agitation thermique. *A contrario*, le déplacement chimique d'un proton NH intramoléculairement lié restera quasi indépendant de la température tant que celle-ci ne sera pas suffisante pour briser ce type d'interaction.¹³⁵
- Influence du solvant: Méthode très employée au laboratoire, elle consiste à étudier l'évolution des déplacements chimiques des protons NH en fonction de la composition d'un mélange solvant peu polaire (CDCl₃) et solvant très polaire (DMSO-*d*₆), dans lequel le composé étudié est gardé à concentration constante. En augmentant la proportion de DMSO-*d*₆, les signaux des protons NH en interaction avec le solvant se déplacent vers les champs faibles. Inversement, les protons NH liés par liaisons hydrogène intramoléculaires seront peu affectés par le changement de la composition du milieu.¹³⁶ La variation relative du déplacement chimique est d'autant plus faible que l'interaction intramoléculaire est forte.
- Influence de la concentration: La dilution permet d'observer ou non l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires. En effet, en milieu concentré, la probabilité d'établir des liaisons hydrogène intermoléculaires augmente. Ainsi, un proton NH

impliqué dans une liaison hydrogène intermoléculaire sera très sensible aux variations de concentration, ceci se traduisant par une augmentation de son déplacement chimique vers les champs faibles. Au contraire, un proton NH impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire y sera très peu sensible et son déplacement chimique ne variera que très peu.

- Mesure du $\Delta\delta$: Récemment, l'équipe de Le Grel a montré qu'il était possible, par la mesure de la différence de déplacement chimique ($\Delta\delta$) entre deux protons d'un amide terminal, de tirer des informations quant à la présence de liaisons hydrogène.⁷⁷ Cette différence, résultant de l'implication d'un des protons NH de l'amide dans une liaison hydrogène, va conduire à un déblindage du signal de ce dernier. A noter qu'un $\Delta\delta = 0$ indique l'absence de liaisons hydrogène.

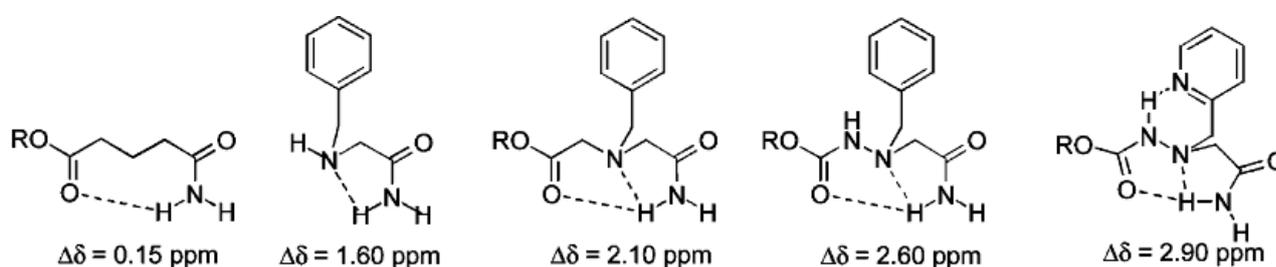


Figure 51: Valeurs de différentes mesures de $\Delta\delta$ d'amides primaires.

Ces travaux ont permis de mieux appréhender la conformation en « hydrazinoturn » des $\alpha\beta^3$ peptides en démontrant que le $\Delta\delta$ était fonction de la force de la liaison hydrogène et en mettant en évidence le caractère bifide de l'hydrazinoturn.⁷⁷

b. La RMN à 2 dimensions (RMN 2D)

L'attribution univoque des signaux et éventuellement le séquençage ultérieur des pseudopeptides sont établis grâce aux techniques particulières de la RMN à deux dimensions. La séquence COSY (CORrelated SpectroscopY) permet de corréler les signaux provenant de noyaux couplés scalairement et éloignés de deux ou trois liaisons (2J , 3J), dont la valeur de la constante de couplage n'est pas nulle. Elle est utilisée pour identifier ou repérer les systèmes de spins intra-résidus, sans toutefois pouvoir effectuer une attribution univoque lorsque plusieurs résidus identiques sont présents.^{137,138} Cette expérience est souvent associée à une méthode plus sophistiquée, la séquence TOCSY (TOTally CORrelated SpectroscopY), qui permet l'attribution de tous les spins au sein d'un même résidu.

Pour l'établissement de la séquence d'un peptide comportant une dizaine de résidus (ou plus) parfois identiques, on a recours à d'autres méthodes expérimentales, à savoir la séquence ROESY (Rotating frame Overhauser Effect SpectroscopY) ou NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY).¹³⁹ L'effet Overhauser repose sur les couplages dipolaires (interactions dipôle-dipôle) entre noyaux, à travers l'espace. Ces couplages dipolaires ne sont observables que pour les distances interprotoniques inférieures à 5 Å. Cette technique renseigne sur les

distances interatomiques de groupements non directement liés de façon covalente. Ainsi la recherche des corrélations $C^{\alpha}Hi / NHi$ et $C^{\alpha}Hi / NHi+1$ dans une carte NOESY permet le séquençage univoque de l'enchaînement peptidique étudié et donc l'attribution de tous les signaux présents sur le spectre.

IV.4.6. Conclusion

L'établissement de la structure secondaire d'une molécule ne peut donc être en aucun cas le résultat d'une seule de ces techniques. Celles-ci sont en effet complémentaires. Seule la cohérence des données obtenues par l'utilisation de plusieurs outils, peut permettre de définir une structuration d'autant plus qu'il peut exister une divergence entre les données récoltées à l'état solide et celles obtenues en solution.

IV.5. Analyses structurales du monomère 26a et des oligomères 1:1-[$\alpha/\alpha-N^{\alpha}$ -Bn-hydrazino]amides

IV.5.1. Etudes structurales du monomère amide 26a

a. Introduction

Au cours de la synthèse d'un hexamère α -hydrazinopeptide énantiomériquement pur, Seebach et Lelais ont pu isoler un monocristal du composé $\alpha-N^{\alpha}$ -Bn-hydrazinoacide (Figure 52), et observer par diffraction des rayons X un repliement de la molécule. Celui-ci forme un pseudocycle à huit chaînons de type hydrazinoturn entre le OH du résidu $i+2$, le CO du résidu i et le N^{α} du lien hydrazidique.¹⁸

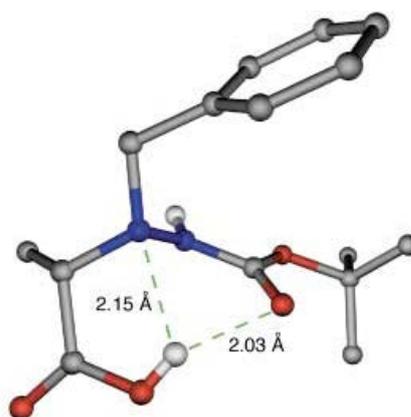


Figure 52: Structure cristalline d'un $\alpha-N^{\alpha}$ -Bn-hydrazinoacide.

Les mêmes caractéristiques ont été observées par l'équipe de Le Grel qui a démontré que des oligomères amides formés par l'enchaînement de motifs aza- β^3 étaient dotés du même type de structuration en hydrazinoturns successifs (Figure 53).²⁸

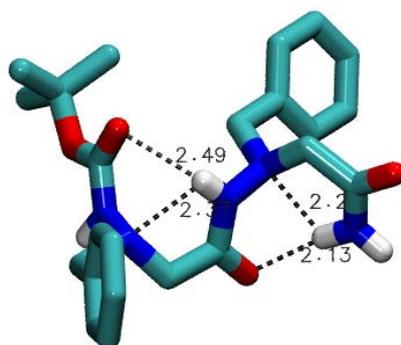


Figure 53: Structure cristalline d'un dimère amide α -N ^{α} -Bn-aza- β ³.

Cette équipe a aussi montré par de nombreuses analyses que cette structuration visible à l'état solide pouvait non seulement coexister à l'état solution mais qu'il était surtout possible de la caractériser par des études RMN en solution.

En effet, la présence d'un motif amide primaire dans une molécule de ce type permet de mimer la présence d'un acide α -aminé supplémentaire en position C-terminale et de faire une étude conformationnelle sur de plus petits composés.^{77,78}

Pour cela, cette équipe s'est basée sur l'analyse de la différence de déplacement chimique appelée ici $\Delta\delta$ entre les deux protons NH d'un amide terminal pour une série de composés appropriés. Cette approche repose sur l'hypothèse que la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire avec un des protons NH amidiques entraîne un ralentissement de la rotation autour de la liaison CO-NH. Ce phénomène permet de différencier les deux protons amidiques puisque, d'une part, il prolongera leur durée de vie dans des environnements distincts et que d'autre part, l'implication d'un proton NH dans une liaison hydrogène provoque un déblindage du signal correspondant. Ainsi, il est possible d'imaginer que la différence de déplacement chimique $\Delta\delta$ entre les deux protons NH amidiques reflète l'équilibre entre une forme liée et une forme libre.

Nous appellerons NH_{lié} un proton NH qui participe à la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire et NH_{non lié} un proton NH qui n'y participe pas. Cette distinction reste cependant purement formelle puisque dans le temps, chaque proton NH contribue à la formation de cette interaction. En effet, il faut garder à l'esprit qu'à l'échelle de temps de la spectroscopie RMN ¹H, le signal moyen observé résultera des contributions respectives des formes liées et libres (Figure 54).

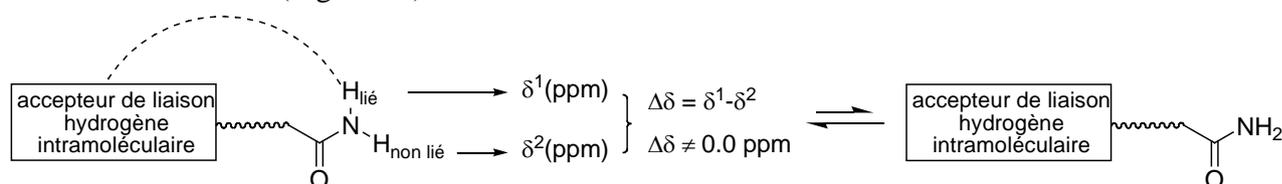


Schéma 54: Concept du $\Delta\delta$.

Nous appuierons l'analyse de la mesure de $\Delta\delta$, par l'étude de l'influence d'un solvant sur le déplacement chimique des protons NH de notre précurseur.

En effet, cette méthode repose sur les propriétés qu'ont les protons NH à former des liaisons hydrogène intermoléculaires avec le DMSO- d_6 . En effet, un proton NH qui est déjà impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire verra son déplacement chimique peu affecté par la présence du DMSO- d_6 dans le milieu.

b. Détermination du $\Delta\delta$ pour le monomère α - N^α -Bn-hydrazinoamide **26a**

Nous avons donc décidé de réaliser, dans cette première partie, l'étude structurale de notre précurseur de départ, le monomère amide **26a** et de comparer ces résultats avec ceux décrits par l'équipe de Le Grel sur le monomère amide α - N^α -Bn-aza- β^3 **26b**.

Par souci de cohérence avec les travaux effectués par l'équipe de Le Grel, nous avons donc décidé d'effectuer les mesures de $\Delta\delta$ à la même concentration, c'est-à-dire 10 mM dans $CDCl_3$.

En effet, cette concentration suffisamment diluée permet de s'affranchir de l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires qui fausseraient cette étude. Les spectres RMN 1H ont donc été réalisés à température ambiante sur des échantillons à 10 mM.

Le spectre RMN 1H du monomère amide **26a** présente deux signaux distincts d'égale intensité à $\delta_1 = 8.04$ ppm et $\delta_2 = 5.33$ ppm. La différence de déplacement chimique $\Delta\delta = 2.71$ ppm reflète donc un environnement chimique fortement différencié pour chacun de ces deux protons NH amidiques (Figure 55).

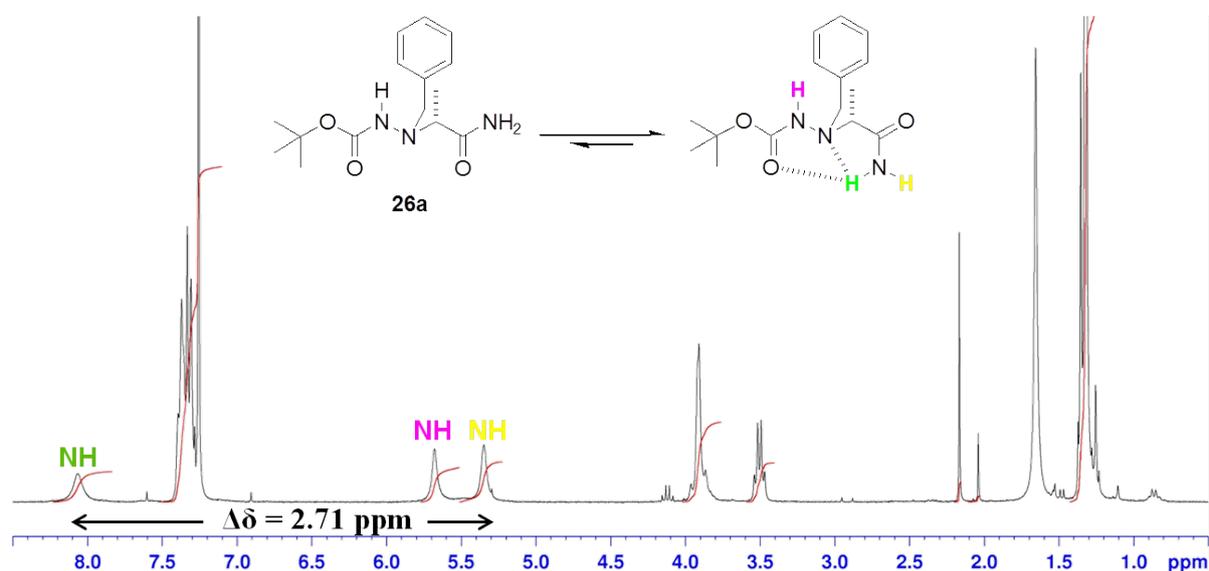


Figure 55: Spectre RMN du monomère amide **26a** ($CDCl_3/10$ mM).

La valeur de 2.71 ppm est proche de celle observée par l'équipe de Le Grel pour le composé **26b** ($\Delta\delta = 2.60$ ppm) et pour lequel elle avait conclu à la présence d'un hydrazinoturn.⁷⁷

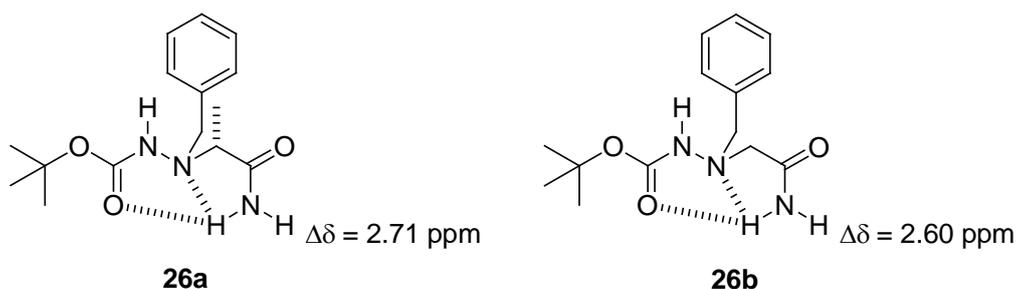


Figure 56: Comparaison des $\Delta\delta$ des monomère amides **26a et **26b**.**

Les valeurs mesurées sont donc :

- $\Delta\delta = 2.71$ ppm ($\delta_1 = 8.04$ ppm et $\delta_2 = 5.33$ ppm) pour le monomère amide **26a**.
- $\Delta\delta = 2.60$ ppm ($\delta_1 = 8.00$ ppm, $\delta_2 = 5.40$ ppm) pour le monomère amide **26b**.

c. Influence du DMSO- d_6

L'implication du proton NH amidique qui résonne à champ faible ($\delta_1 = 8.04$ ppm) dans une liaison hydrogène intramoléculaire a été confirmée par l'étude de la variation du déplacement chimique des protons NH en fonction du pourcentage de DMSO- d_6 .

L'expérience a été réalisée sur un échantillon de concentration $c = 10$ mM dans CDCl_3 . A cette solution est ajoutée une quantité croissante de DMSO- d_6 (de 0 à 100%) de manière à ce que le composé étudié reste à concentration constante.

Les données de cette étude sont représentées sur la figure 57.

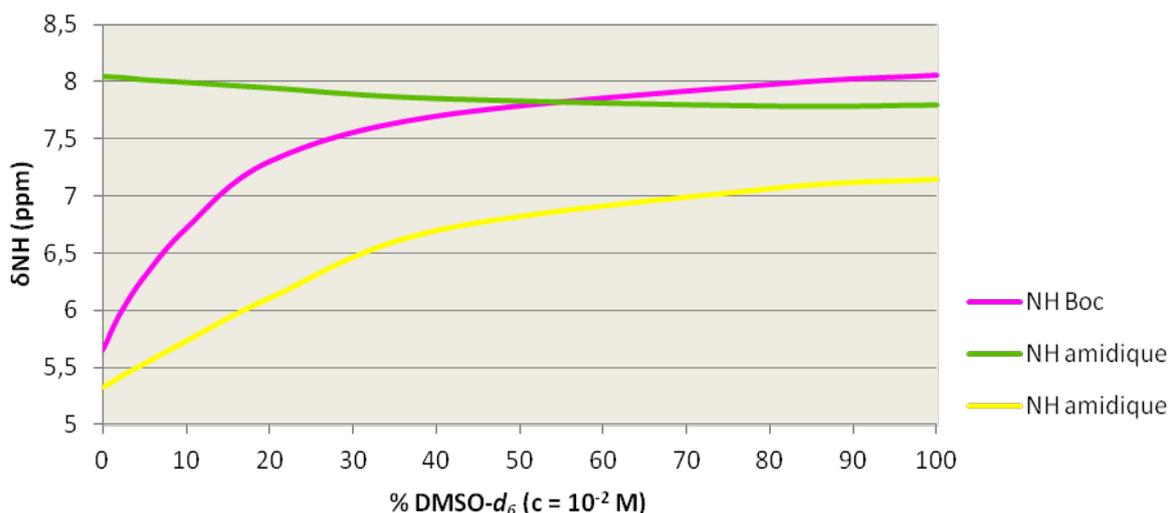


Figure 57: Evolution du déplacement chimique des protons NH du monomère amide **26a en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%) / 10 mM.**

L'augmentation progressive de DMSO- d_6 provoque une différence de déplacement chimique qui atteint un maximum de:

- + 2.40 ppm vers les champs faibles pour le signal du NH Boc à 5.65 ppm à 0% de DMSO- d_6
- + 1.82 ppm vers les champs faibles pour le signal du NH amidique à 5.33 ppm à 0% de DMSO- d_6
- 0.25 ppm vers les champs forts pour le signal du NH amidique à 8.04 ppm à 0% de DMSO- d_6

Nous pouvons remarquer que le déplacement chimique du proton NHBoc est très sensible à l'ajout croissant de DMSO- d_6 , et se comporte très clairement comme un proton NH non lié. Le signal du proton NH amidique à champ fort ($\delta = 5.33$ ppm) varie significativement vers les champs faibles et apparaît comme subissant l'action du DMSO- d_6 et donc ne semble pas lié par une liaison hydrogène intramoléculaire.

Par contre, nous observons que le déplacement chimique du proton NH amidique situé vers les champs faibles ($\delta = 8.044$ ppm) est très peu sensible aux fluctuations de DMSO- d_6 dans le milieu et se comporte comme un proton NH fortement lié.

Nous avons ensuite comparé ces valeurs à celles obtenues par l'équipe de Le Grel sur le monomère amide **26b** qui avait réalisé leur étude avec une quantité croissante de DMSO- d_6 allant de 0-10% à une concentration constante de $c = 10$ mM.

Les résultats sont présentés dans le tableau 10 et montrent l'évolution du déplacement chimique des protons NH en fonction d'une quantité de DMSO- d_6 allant de 0 à 10%.

Produit	δ_{NHBoc} (ppm)	$\delta_{\text{NH amidique}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NH amidique}}$ (ppm)
26a	5.65 (+ 1.06)	5.33 (+ 0.40)	8.04 (- 0.05)
26b	5.68 (+ 1.20)	5.42 (+ 0.34)	8.0 (- 0.03)

() Variation de déplacement chimique en ppm de 0% à 10% de DMSO- d_6

Tableau 10: Comparaison de l'évolution du déplacement chimique des protons NH des monomères amides 26a et 26b en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-10%) / 10 mM.

Sont représentés en gras les déplacements chimiques des différents protons NH en ppm dans le CDCl_3 à une concentration de 10 mM. Entre parenthèse est notée l'évolution du déplacement chimique de ces protons, quand on passe de 0 à 10% de DMSO- d_6 . Les chiffres positifs correspondent à une variation vers les champs faibles tandis que les négatifs à une variation vers les champs forts.

Les résultats de cette étude montrent clairement que d'une part les déplacements chimiques des différents protons NH des monomères amides **26a** et **26b** sont très proches, mais d'autre part que l'ajout progressif de DMSO- d_6 (de 0 à 10%) provoque quasiment les mêmes variations de déplacement chimique sur ces mêmes protons NH.

Les résultats observés dans le cas du monomère amide **26b** sous l'influence de l'ajout de DMSO- d_6 (0 à 10%) à une concentration de $c = 10$ mM, ont démontré que seul le proton NH amidique à 8.0 ppm, insensible à l'ajout progressif de DMSO- d_6 dans le milieu et qui voyait son déplacement chimique être légèrement déplacé vers les champs forts (-0.03 ppm), était celui impliqué dans la formation de l'hydrazinoturn. Ceci est explicitement le même cas pour le proton NH amidique de notre monomère amide **26a** à 8.04 ppm qui voit son déplacement chimique légèrement déplacé vers les champs forts (-0.05 ppm). Ces résultats nous encouragent fortement à envisager le même type de structuration en hydrazinoturn au sein de notre monomère amide **26a**.

d. Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du monomère amide 26a en solution dans $CDCl_3$

Lors de ses études, l'équipe de Le Grel s'était attachée à analyser les couplages dipolaires présents dans le monomère amide **26b** par des expériences NOESY en RMN 2D dans l'optique de mettre en évidence la conformation adoptée par celui-ci en solution par l'analyse des principaux pics de corrélation NOE au sein de cette molécule.

L'équipe a alors constaté que la NOE observée entre le NH carbazidique et le fragment *tert*-butyle indiquait que la géométrie *Z* de la liaison carbazidique était favorisée (caractéristique de l'hydrazinoturn). Ce proton NH présentait également des couplages dipolaires intenses avec les protons des deux méthylènes indiquant qu'il est orienté vers ces groupements dans la conformation majoritaire. Aucune corrélation NOE n'a été observée pour le signal $NH_{non\ lié}$ contrairement au signal $NH_{lié}$ qui présente une NOE avec les protons méthyléniques de la chaîne acétamide. Cette plus grande proximité résulte de l'orientation de ce dernier imposée par l'interaction avec le doublet de l'azote N^α . Ces informations ont mis en évidence le repliement en hydrazinoturn.

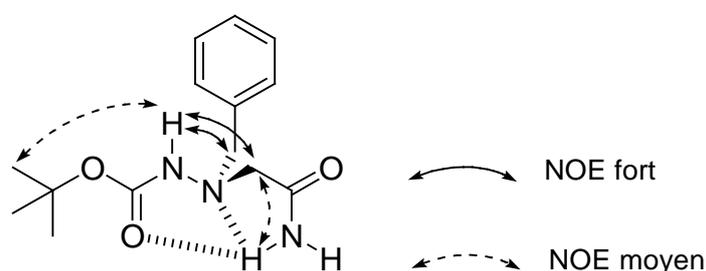


Figure 58: Couplages dipolaires qui caractérisent le monomère amide 26b en solution dans $CDCl_3$ / 10 mM.

Nous avons voulu réaliser le même type d'expérience sur notre monomère amide **26a** en utilisant la RMN 300MHz dont dispose le laboratoire.

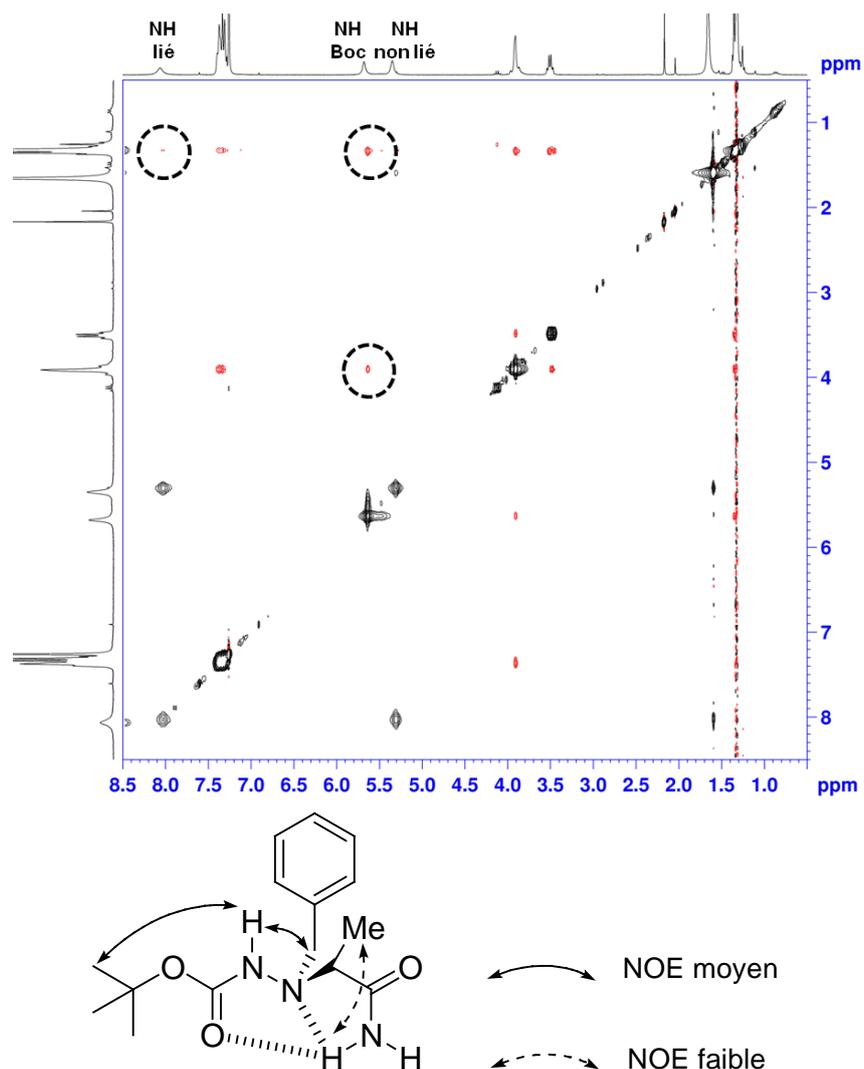


Figure 59: Carte 2D NOESY du monomère amide **26a en solution dans CDCl_3 / 10 mM.**

Nous pouvons observer une corrélation NOE entre le NH carbazidique et le fragment *tert*-butyle qui indique donc la géométrie *Z* de la liaison carbazidique. Le proton $\text{NH}_{\text{amidique}}$ lié présente également des couplages avec les protons du méthyle alors qu'aucune corrélation NOE n'a été observée pour le signal $\text{NH}_{\text{amidique}}$ non lié. Cette proximité résulte de l'orientation de ce dernier imposée par l'interaction avec le doublet de l'azote N^α . Ces informations sont proches de celles observées pour le monomère amide **26b** et confortent donc la présence d'un repliement en hydrazinoturn au sein du monomère **26a**.

e. Analyse par IR du monomère amide 26a

Le précurseur amide **26a** a ensuite été étudié par IR.

Pour cela, nous avons enregistré les spectres sur un spectromètre FTIR Bruker (modèle Tensor 27). La cellule utilisée a des parois en fluorure de calcium et un chemin optique de 500 μm . Ces spectres IR ont été réalisés sur des monomères à une concentration $c = 10 \text{ mM}$ afin de rester homogène tout au long de ces études conformationnelles, puis traités à l'aide du

programme OPUS de Bruker. Les expériences ont été réalisées à température ambiante dans CHCl_3 .

Il a été montré que les vibrations d'élongation des liaisons NH au-delà de 3400 cm^{-1} correspondent à des fonctions NH libres tandis que celles en deçà appartiennent à des fonctions NH liées par liaisons hydrogène.¹³⁴ Cependant, l'étude IR ne permet pas de conclure quant à la nature intra- ou intermoléculaire de la liaison hydrogène. Pour cela, on fait jouer la concentration, ici à 10 mM, pour s'affranchir des liaisons hydrogène intermoléculaires.

Pour notre étude, nous avons dans un premier temps travaillé sur des acides α -aminés, la Boc-Ala-OH et la H-Ala-OMe qui sont en fait les analogues α -aminés de notre précurseur amide **26a**. Ces molécules qui sont trop courtes pour présenter de la structuration, nous permettent donc de connaître les vibrations d'élongation des liaisons qui peuvent nous intéresser pour l'étude IR du monomère amide **26a**.

Les mesures ont été effectuées à une concentration de $c = 10\text{ mM}$ et dans CHCl_3 par cohérence avec le reste de l'étude.

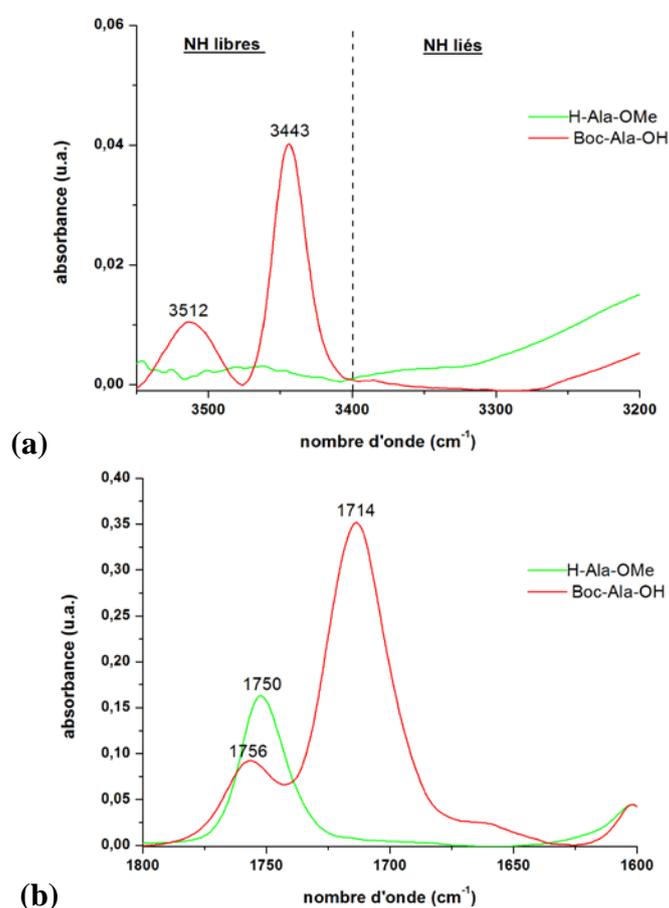


Figure 60: Spectres IR des acides α -aminés Boc-Ala-OH et H-Ala-OMe (CHCl_3 / 10 mM).

Le spectre (a) de la figure 60 correspond au domaine d'élongation de la liaison N-H, et il y est possible de voir deux bandes de vibrations pour la Boc-Ala-OH. L'étude des tables IR nous

indique que la bande à 3512 cm^{-1} correspond au vibreur OH tandis que celle à 3443 cm^{-1} correspond au vibreur NH non lié.

Le spectre (b) correspond au domaine d'élongation de la liaison C=O. On y distingue deux bandes de vibrations pour la Boc-Ala-OH. Les tables IR indiquent que le vibreur C=O d'un Boc a un nombre d'onde moins élevé que celui d'un acide. Ainsi, la bande à 1714 cm^{-1} correspond donc à un C=O de Boc non lié, tandis que celle à 1756 cm^{-1} correspond à celle d'un C=O d'acide non lié. Parallèlement à cela, on note la présence d'une seule bande à 1750 cm^{-1} pour H-Ala-OMe correspondant au vibreur C=O d'ester non lié.

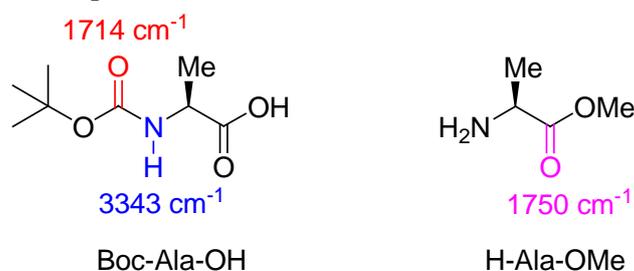


Figure 61: Valeurs des vibreurs NH et C=O non liés des acides α -aminés Boc-Ala-OH et H-Ala-OMe.

Nous avons ensuite réalisé les spectres IR du monomère amide **26a** présentés sur la figure 62.

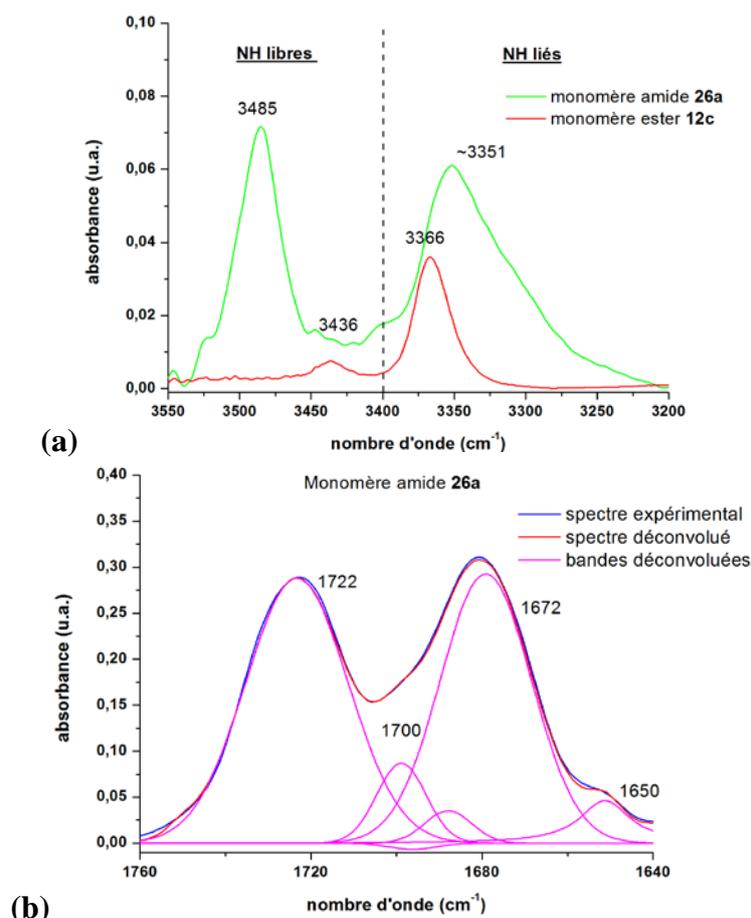


Figure 62: Spectres IR des monomères amide et ester 26a et 12c (CHCl_3 / 10 mM).

Le spectre (a) présente le domaine d'élongation du vibrateur N-H.

Le monomère amide **26a** présente deux bandes nettes à 3485, 3351 cm^{-1} ainsi que deux épaulements à 3436 et 3400 cm^{-1} .

L'étude précédente sur la Boc-Leu-OH nous a montré qu'un vibrateur NH de Boc correspondait à une valeur d'environ 3443 cm^{-1} , ceci pouvant expliquer la présence du petit épaulement trouvé pour **26a** à 3436 cm^{-1} .

Afin de confirmer cela, nous avons superposé les spectre IR du monomère ester **12c** (qui ne possède qu'un seul NH dans son squelette) et du composé **26a**. Nous y avons observé deux bandes, l'une à 3436 et l'autre à 3366 cm^{-1} pour le seul vibrateur NH du Boc. Ceci traduit donc deux états pour ce même vibrateur à savoir l'état lié (3366 cm^{-1}) et non lié (3436 cm^{-1}) dans le monomère ester **12c** et nous confirme que l'épaulement à 3436 cm^{-1} pour le monomère amide **26a** correspond bien au vibrateur NHBoc (Tableau 11).

Produit	v(N-H)Boc non lié (cm^{-1})	v(N-H)amidique non lié (cm^{-1})	v(N-H)amidique lié (cm^{-1})
Boc-Leu-OH	3443	-	-
Monomère ester 12c	3436	-	-
Monomère amide 26a	3436	3485	3351

Tableau 11: Valeurs des nombres d'onde des vibrateurs NH pour la Boc-Leu-OH et les monomères amide et ester 26a et 12c.

Il est donc plus facile d'attribuer les bandes restantes qui ne sont pas présentes dans le monomère ester **12c** et qui correspondent aux vibrateurs NH amidiques du monomère amide **26a**. Les deux autres bandes observées sur **26a** correspondent donc aux vibrateurs NH amidique non lié pour la bande à 3485 cm^{-1} (vibrateur NH amidique libre) et lié pour la bande large à 3351 cm^{-1} (vibrateur NH amidique impliqué dans l'hydrazinoturn). On notera que pour cette dernière, il est fort probable qu'elle soit due au chevauchement de deux bandes (vu la forme) qui pourrait correspondre à un autre vibrateur NHBoc lié comme cela a pu être observé dans le cas du monomère ester **12c** (Figure 63).

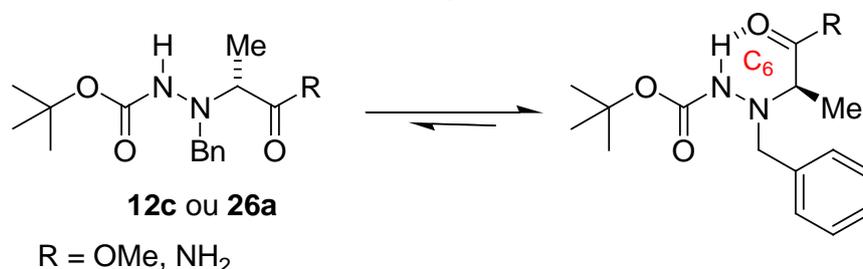


Figure 63: Liaison hydrogène intramoléculaire possible pour le NHBoc dans les monomères ester et amide 12c et 26a.

L'épaulement à 3400 cm^{-1} pourrait être attribué à du NH- π , comme cela avait été observé dans la thèse de Dautrey au laboratoire.¹⁴⁰

Le spectre (b) présente le domaine d'élongation du vibreur C=O du monomère amide **26a**. Etant donné la multitude de carbonyles différents, il n'existe pas de limite libre/lié pour les vibreurs C=O, contrairement à ce qui est observé pour les vibreurs NH. En revanche, l'intervention dans une liaison hydrogène intramoléculaire conduit à un glissement des bandes libres vers les faibles nombres d'onde de 5 à 20 cm^{-1} . Le traitement après acquisition de déconvolution des bandes dans la zone de vibration des C=O dans le programme OPUS de Bruker a été réalisé d'après la méthode de Levenberg-Maquard. Les bandes d'absorption de la zone des C=O ont été extraites par calcul de la dérivée seconde du spectre expérimental. L'ajustement de la somme des pics est effectué suivant un modèle Gaussien/Lorentzien.

Dans le cas du monomère **26a**, on distingue plusieurs bandes (par déconvolution) à 1723, 1700, 1672 et 1650 cm^{-1} .

L'analyse précédente nous a montré qu'un C=O du Boc non lié (pour la Boc-Leu-OH) se situait vers 1714 cm^{-1} .

Ainsi, les bandes que l'on observe à 1723 et 1700 cm^{-1} correspondraient aux deux états, lié et non lié du vibreur C=OBoc, ce qui confirme la formation de l'hydrazinoturn. Les deux autres bandes observées correspondent donc forcément aux vibreurs C=O amidique libre et lié, et confirme donc les observations faites sur l'étude des vibreurs NH, à savoir la présence d'une autre conformation en solution (Figure 63).

Il semblerait donc que la structuration en hydrazinoturn observé en RMN ne soit pas la seule population en solution.

L'analyse IR du monomère amide **26a** nous laisse sans aucun doute envisager une structuration en hydrazinoturn et en C₆.

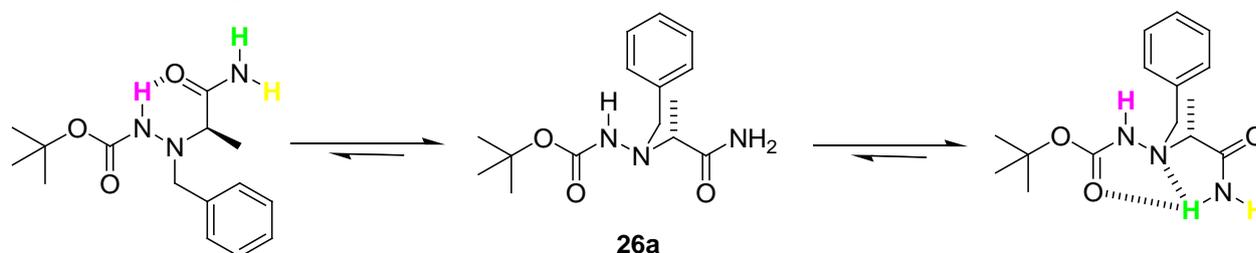


Figure 64: Formation de liaisons hydrogène intramoléculaire dans le monomère amide **26a en solution.**

Ces études nous ont donc montré la possibilité d'une structuration en C₆ comme cela a pu être observé d'après les spectres IR réalisés dans le cas de monomère ester **12c**.

Cette structuration en C₆ avait déjà été mise en évidence par diffraction des rayons X sur l'un de nos monomères, l'amide de l' α -N ^{α} -Me-hydrazinovaline **26c** (Figure 65).

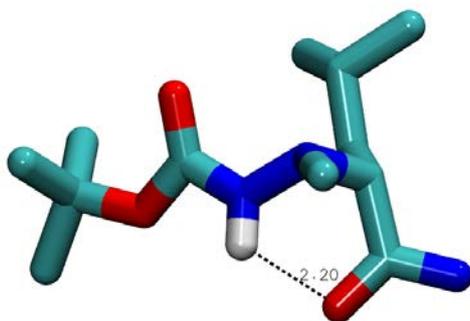


Figure 65: Structure cristalline en C₆ présente au sein de l'amide de l' α -N ^{α} -Me-hydrazinovaline 26c.

La structure cristalline montre en effet la présence d'une liaison hydrogène intramoléculaire forte (2.09 Å) entre le NH et le C=O d'un même résidu.

f. Analyse par diffraction des rayons X du monomère amide 26a

Des monocristaux ont été obtenus par évaporation lente dans un mélange MeOH/H₂O. Son analyse par diffraction des rayons X a été effectuée par l'équipe de Claude Didierjean dans le groupe Biocristallographie au laboratoire CRM2 de la faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Lorraine. La structure cristalline est représentée sur la figure 66.

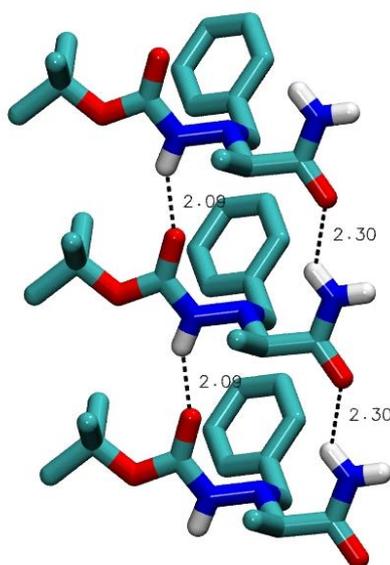


Figure 66: Structure RX du précurseur amide 26a.

Pour des raisons de commodité, seuls les protons impliqués dans une liaison hydrogène sont visibles.

Ce cliché cristallin nous permet de rassembler un ensemble d'informations sur le résidu **26a** à l'état solide vis-à-vis des possibilités d'interactions inter- et intramoléculaires.

A l'état solide, il semblerait que contrairement à ce qui avait été observé en solution par les études RMN et IR, le monomère amide **26a** ne présente pas de liaisons hydrogène intramoléculaires. En effet, le cliché montre la présence de liaisons hydrogène intermoléculaires très fortes entre le proton NHBoc et le C=O du Boc (2.09 Å) et entre le proton NH amidique et le C=O de l'amide (2.30 Å).

La présence de ces liaisons fortes intermoléculaires peut dans certains cas se faire au détriment de liaisons intramoléculaires assurant ainsi la cohésion et surtout l'établissement de l'édifice cristallin.

Ces résultats ne semblent pas remettre en cause les résultats des analyses conformationnelles faites en solution. En effet, la valeur du $\Delta\delta$ (2.71 ppm) mesurée pour **26a** est très proche de celle mesurée sur le monomère amide **26b** qui révélait la présence d'un hydrazinoturn. De plus si le $\Delta\delta$ ne correspondait pas à une liaison intramoléculaire mais à une différence de déplacement chimique entre un NH libre et un NH lié par liaisons intermoléculaires comme le propose la structure cristalline, nous aurions attendu une valeur plus petite. En effet, au laboratoire, Allix a montré sur des composés amidiques similaires, que le $\Delta\delta$ observé entre un NH libre et un NH lié par des liaisons hydrogène intermoléculaires était d'environ 0.8 ppm. Enfin, les analyses RMN NOESY en solution dans CDCl₃, ont montré des corrélations NOE similaires à celles observées sur le monomère **26b**, en particulier la présence d'une géométrie Z de la liaison carbazidique (caractéristique de l'hydrazinoturn), et qui ont mis en évidence le repliement en hydrazinoturn dans le monomère **26b**. Ces observations nous permettent de conclure que la conformation du composé **26a** est différente en solution et à l'état solide.

IV.5.2 Analyses structurales des dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b**

La première partie de cette étude nous a permis de mettre en évidence la présence d'une auto-structuration de type « hydrazinoturn » au sein de notre monomère amide **26a**. Elle nous donne aussi une base de travail pour l'étude conformationnelle des oligomères de plus grande taille.

Nous nous sommes attachés à vérifier si:

- cette auto-structuration était conservée ou pas au sein des oligomères de plus grande taille,
- la taille pouvait influencer leur auto-structuration,
- la nature du carbone asymétrique avait une influence sur la structuration.

Ainsi nous avons donc étudié l'auto-structuration au sein de deux dimères 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino]amides. Il s'agissait en effet d'étudier les dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b** car nous voulions analyser l'influence de la configuration absolue des carbones asymétriques au sein de ces derniers.

a. Mesure du $\Delta\delta$

Le spectre RMN ^1H du dimère hétérochiral **25a** présente deux signaux distincts à $\delta_1 = 7.98$ ppm et $\delta_2 = 5.24$ ppm. La différence de déplacement chimique $\Delta\delta = 2.74$ ppm reflète donc un environnement chimique différent pour chacun de ces deux protons NH amidiques.

De la même manière, on trouve deux signaux $\delta_1 = 7.99$ ppm et $\delta_2 = 5.40$ ppm pour une différence de déplacement chimique $\Delta\delta = 2.59$ ppm pour le dimère homochiral **25b** (Figure 67).

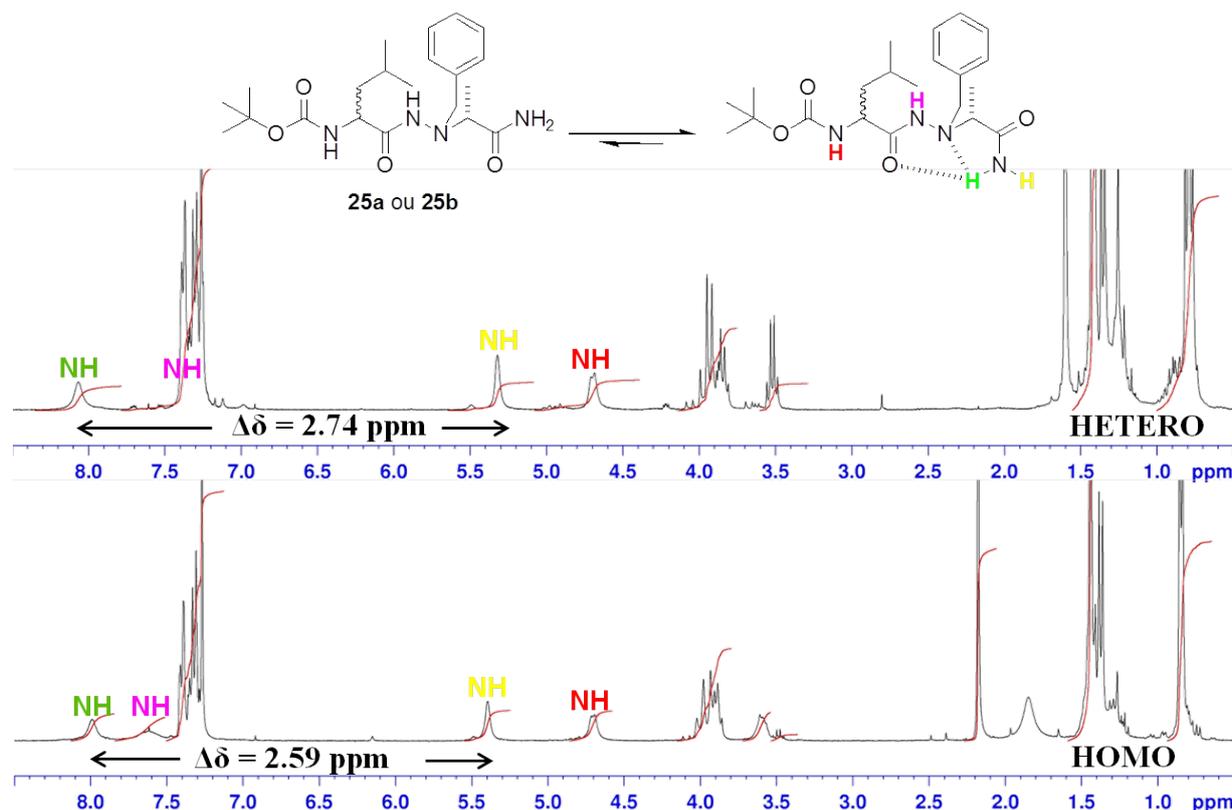


Figure 67: Spectres RMN ^1H des dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b** (CDCl_3 / 10 mM).

Les valeurs $\Delta\delta$ mesurées sont donc en accord avec celle mesurée lors de l'étude du monomère de référence **26a** et confirment donc la présence d'un hydrazinoturn dans le cas des dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b**. Nous observons cependant que le $\Delta\delta$ est plus élevé dans le cas du dimère hétérochiral **25a** qui témoigne d'un déblindage légèrement plus fort.

b. Influence du $\text{DMSO}-d_6$

L'expérience a été réalisée sur des échantillons de concentration $c = 10$ mM dans CDCl_3 . A cette solution est ajoutée une quantité croissante de $\text{DMSO}-d_6$ (de 0 à 100%).

Les données de cette étude figurent sur le graphique de la figure 68.

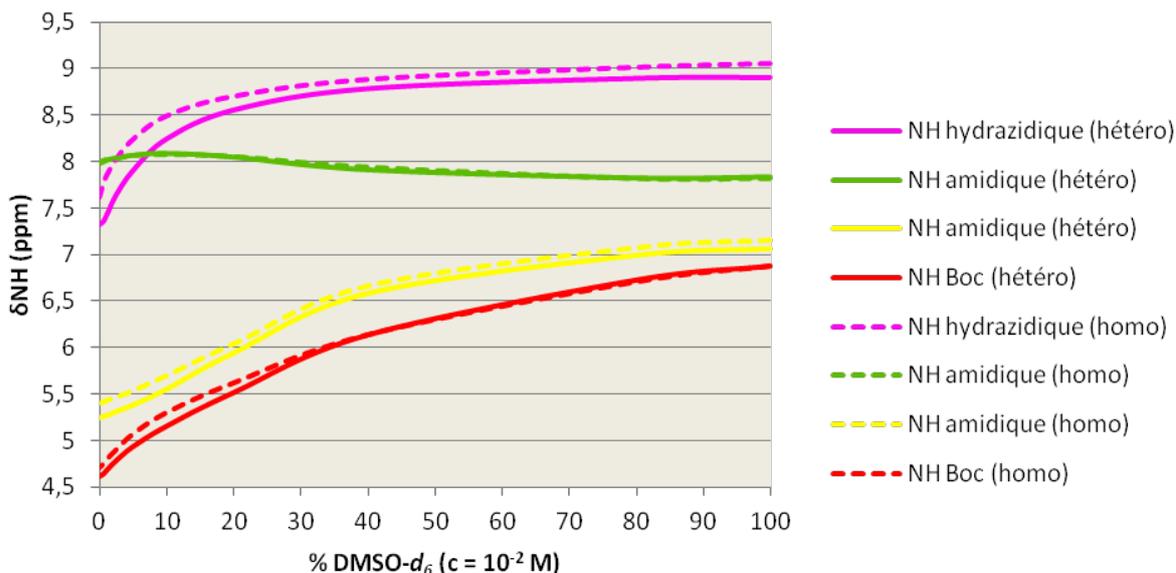


Figure 68: Evolution du déplacement chimique des protons NH des dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%) / 10 mM.

Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau 12:

Produit	$\delta_{\text{NH Boc}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NH hydrazidique}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NH amidique}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NH amidique}}$ (ppm)
dimère hétérochiral 25a	4.62 (+ 2.26)	7.32 (+ 1.58)	5.24 (+ 1.82)	7.98 (- 0.15)
dimère homochiral 25b	4.71 (+ 2.27)	7.62 (+ 1.43)	5.40 (+ 1.75)	7.99 (- 0.17)

() Variations de déplacement chimique en ppm de 0% à 100% de DMSO- d_6

Tableau 12: Comparaison de l'évolution du déplacement chimique des protons NH des dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%) / 10 mM.

Nous pouvons remarquer que trois protons NH subissent l'influence du DMSO- d_6 , il s'agit des protons NHBoc, NH hydrazidique et un des protons NH amidique. Il semblerait donc qu'ils ne soient pas ou peu impliqués dans une liaison hydrogène intramoléculaire. Ceci dit, le fort déblindage observé pour le NH hydrazidique (7.32 et 7.62 ppm) nous laisse penser une implication de celui-ci dans une liaison hydrogène qui serait faible car subissant l'influence du DMSO- d_6 . *A contrario*, un proton NH semble peu affecté par les variations de la

concentration en DMSO- d_6 . Il s'agit du proton NH amidique *a priori* impliqué dans l'hydrazinoturn. Nous aurions alors droit à un équilibre (Figure 69).

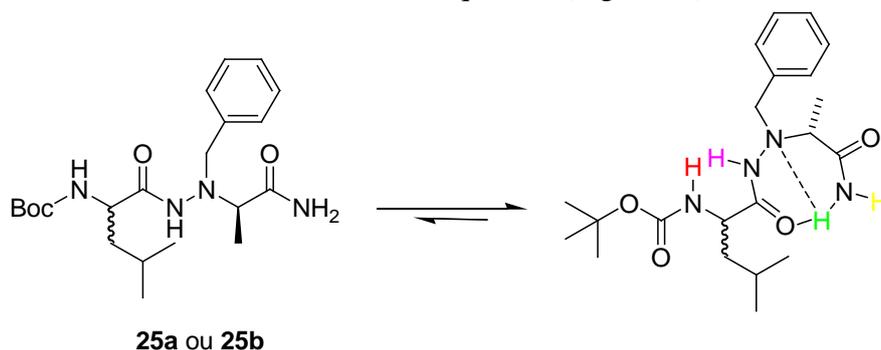


Figure 69: Formation d'un hydrazinoturn dans les dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b en solution.

Il est aussi intéressant de noter que les déplacements chimiques des protons NH sont relativement proches, que l'on soit en série hétéro- ou homochirale, ce qui se ressent aussi sur les variations de déplacement chimique sous l'influence du DMSO- d_6 .

Il est à noter que dans le cas du dimère homochiral **25b**, les déplacements chimiques des protons NH sont légèrement plus déblindés, ce qui semble indiquer un environnement chimique légèrement différent. Il semblerait donc que la position de la chaîne latérale (projetée vers l'avant ou vers l'arrière), bien qu'elle joue un rôle moindre (la différence mesurée est relativement faible), influence dans une moindre mesure la structuration au sein des dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b** en solution.

La configuration absolue n'a donc que peu d'incidence sur la structuration au sein de ces composés.

c. Analyse par IR des dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b

Ces spectres IR ont été réalisés sur les dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b** dans CHCl_3 à une concentration $c = 10 \text{ mM}$ dont les résultats sont représentés sur la figure 70.

En raison des grandes similitudes entre les deux spectres IR, nous nous contenterons simplement de décrire avec précision le spectre IR correspondant au dimère hétérochiral **25a**.

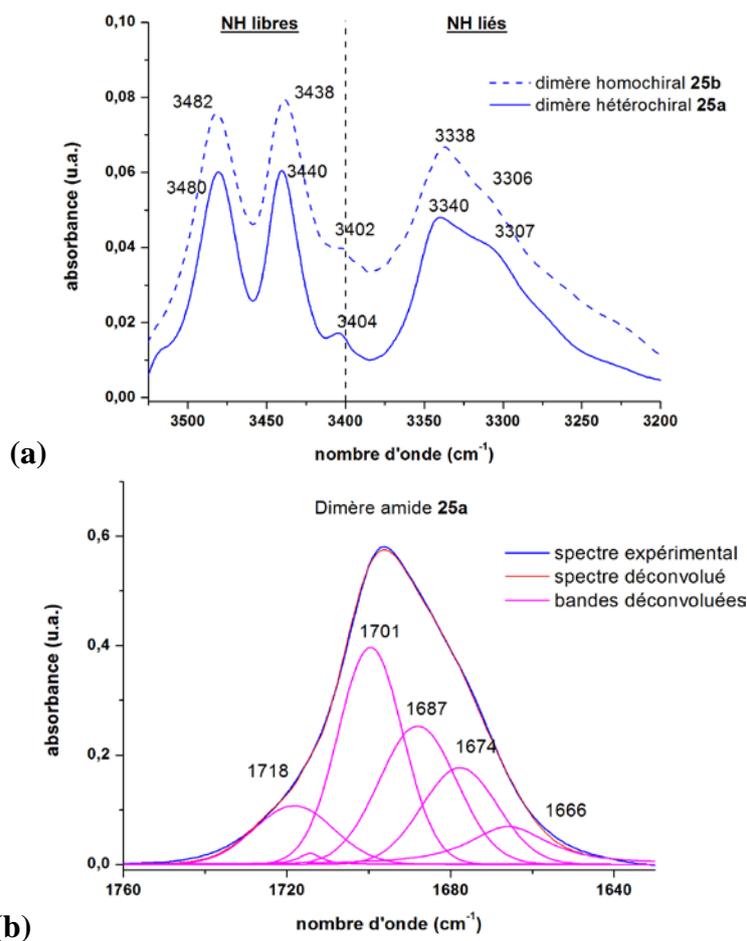


Figure 70: Spectres IR des dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b (CHCl₃ / 10 mM).

Le spectre (a) de la figure 70 montre deux bandes vers 3480 cm⁻¹ et 3440 cm⁻¹ dans la zone d'élongation des NH libres. Il est aussi possible de distinguer deux épaulements vers 3340 cm⁻¹ et 3307 cm⁻¹, qui correspondraient donc aux vibrateurs NH liés (impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires).

Cependant, on observe aussi un épaulement à la limite de la zone des NH libres et des NH liés situé vers 3400 cm⁻¹.

Afin d'assigner ces signaux, nous avons décidé de superposer les spectres du dimère hétérochiral **25a**, du monomère amide **26a**, dont nous avons interprété le spectre IR précédemment, ainsi que celui de la Boc-Leu-OH, acide α -aminé de départ.

Les spectres IR des dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b** étant similaires, cette étude sera seulement décrite pour le dimère hétérochiral **25a**.

Les résultats sont présentés sur la figure 71.

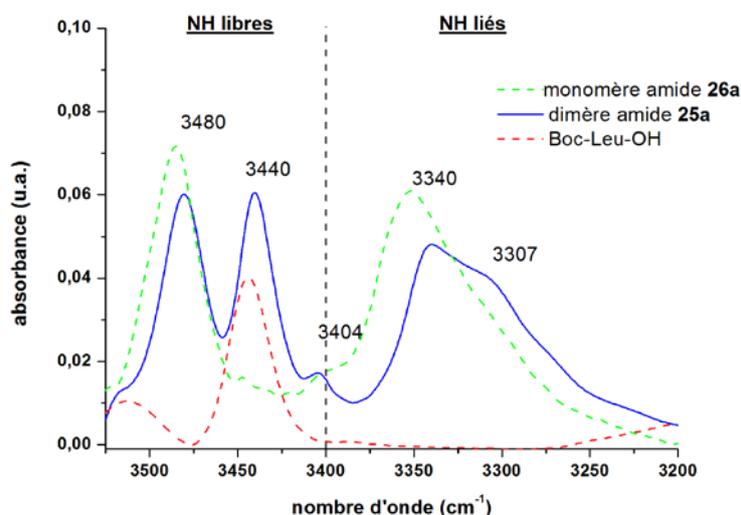


Figure 71: Spectres IR du dimère hétérochiral 25a, monomère amide 26a et la Boc-Leu-OH (CHCl₃ / 10 mM).

Dans le domaine d'élongation de la liaison N-H, la Boc-Leu-OH présente deux bandes au-delà des 3400 cm⁻¹. La première, aux alentours des 3500 cm⁻¹, est attribuée sans équivoque à la présence du vibrateur OH. La deuxième, vers 3440 cm⁻¹, est assignée au proton NHBoc. La bande à 3480 cm⁻¹ dans le dimère **25a** peut donc être attribuée au vibrateur NH amidique non lié si l'on se réfère aux résultats IR obtenus sur le monomère amide **26a**.

Lors de cette même étude, nous avons observé une bande vers 3350 cm⁻¹ pour ce monomère **26a** qui correspondait au vibrateur NH amidique lié. Nous retrouvons aussi une bande vers 3340 cm⁻¹ dans le cas du dimère hétérochiral **25a**, mais aussi une bande supplémentaire vers 3307 cm⁻¹. Bien qu'il soit difficile d'attribuer sans équivoque ces bandes en dessous de 3400 cm⁻¹, nous pouvons cependant conclure que dans le cas du dimère **25a**, deux vibreurs NH semblent liés. Ces deux vibreurs correspondent donc aux protons NH hydrazidique et amidique liés avec les valeurs suivantes 3340 et 3303 cm⁻¹.

Produit	$\nu(\text{N-H})$ Boc non lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{N-H})$ hydrazidique lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{N-H})$ amidique non lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{N-H})$ amidique lié (cm ⁻¹)
Boc-Leu-OH	3443	-	-	-
Monomère amide 26a	3436	-	3485	3351
Dimère amide 26a	3440	3340 ou 3307	3480	3340 ou 3307

Tableau 13: Valeurs des nombres d'onde des vibreurs NH de La Boc-Leu-OH, le monomère 26a et le dimère amide 25a.

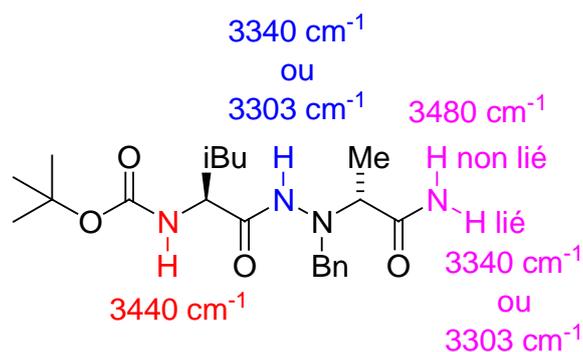


Figure 72: Attribution des valeurs des vibrateurs NH au sein du dimère amide 25a.

Le spectre (b) de la figure 70 nous présente le domaine d'élongation de la liaison C=O. Pour le dimère amide **25a**, on y trouve un certain nombre de bandes de vibration déterminées par la déconvolution.

Nous nous sommes donc appuyés sur l'analyse réalisée sur le monomère amide **26a** pour attribuer les bandes aux différents vibrateurs C=O. Nous avons donc pu facilement attribuer les bandes correspondant aux vibrateurs C=OBoc avec deux états libre et lié.

On trouve une bande identique à celle trouvée dans le cas du monomère amide **26a** à 1674 cm^{-1} correspondant au vibrateur C=O amidique non lié.

Il reste donc deux nouvelles bandes (non présentes dans le monomère **26a**) correspondant donc au dernier vibrateur C=O hydrazidique à 1687 et 1666 cm^{-1} .

La différence de nombre d'onde entre les deux valeurs nous indique donc la présence d'un vibrateur impliqué dans une liaison hydrogène correspondant donc à l'hydrazinoturn que nous avons observé en RMN.

Produit	$\nu(\text{C}=\text{O})$ Boc non lié (cm^{-1})	$\nu(\text{C}=\text{O})$ Boc lié (cm^{-1})	$\nu(\text{C}=\text{O})$ hydrazidique non lié (cm^{-1})	$\nu(\text{C}=\text{O})$ hydrazidique lié (cm^{-1})	$\nu(\text{C}=\text{O})$ amidique non lié (cm^{-1})	$\nu(\text{C}=\text{O})$ amidique lié (cm^{-1})
Monomère amide 26a	1722	1700	-	-	1672	1650
Dimère amide 25a	1718	1701	1687	1666	1674	-

Tableau 14: Valeurs des nombres d'onde des vibrateurs C=O de la Boc-Leu-OH, le monomère 26a et le dimère amide 25a.

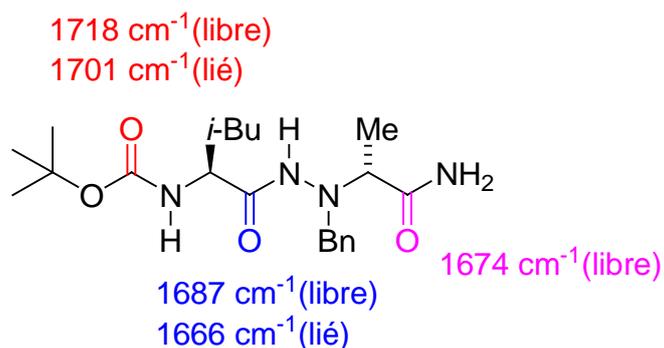


Figure 73: Attribution des valeurs des vibrateurs C=O au sein du dimère amide **25a**.

Une question reste malgré tout en suspens. L'implication du proton NH hydrazidique du dimère amide **25a** dans une liaison hydrogène intramoléculaire ainsi que la présence du vibrateur C=O Boc lié à 1701 cm⁻¹, nous poussent à envisager deux types de structuration au sein du dimère amide **25a**: un pseudocycle en C₈ correspondant à l'hydrazinoturn, et un nouveau type de pseudocycle en C₇ entre le NH hydrazidique du résidu i+2 et le C=O du Boc du résidu i. On parlera alors de γ -turn^{126,127} (Figure 74).

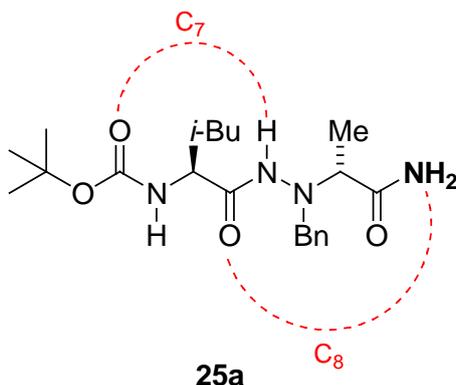


Figure 74: Possibilités de structuration au sein du dimère hétérochiral **25a**.

Ce type de structuration en γ -turn a déjà pu être observé dans des analogues d' α -hydrazinopeptides, les α -aminoxypeptides, avec les travaux de Yang.⁹⁰

Ceux-ci avaient en effet montré sur des oligomères mixtes 1:1-[α/α -aminoxy]esters que la présence d'un acide α -aminé au sein d'un oligomère α -aminoxy induisait la présence d'un γ -turn au sein de cet oligomère.

Il serait donc fortement probable dans le cas du dimère amide **25a** que l'implication du proton NH hydrazidique dans une liaison hydrogène intramoléculaire se fasse par le biais d'un pseudocycle en C₇ de type γ -turn.

Nous sommes donc partis de l'hypothèse d'une structuration de ce type au sein de nos dimères hétéro- et homochiraux **25a** et **25b** (Figure 75).

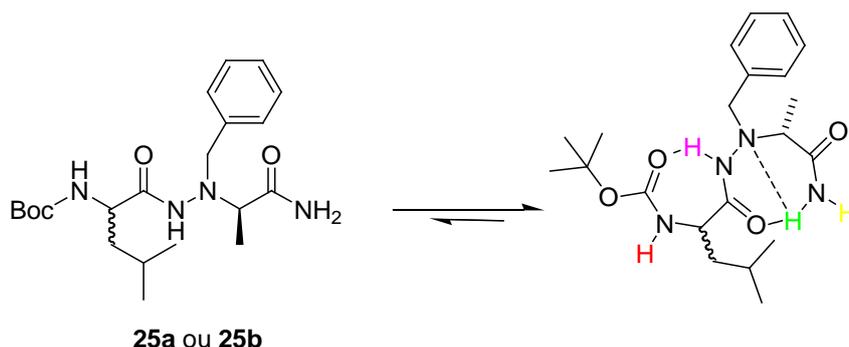


Figure 75: Structuration au sein des dimères hétéro- et homochiraux 25a et 25b.

d. Structuration en C₇ type γ -turn

Afin d'étayer notre hypothèse sur le γ -turn, nous nous sommes intéressés à l'analyse du dimère hétérochiral ester **15a**.

Le dimère hétérochiral amide **25a** est l'unité minimale nécessaire pour avoir une structuration en C₈ de type hydrazinoturn. Ainsi, il n'est pas possible d'envisager ce type d'auto-structuration dans le dimère ester **15a** (Figure 76).

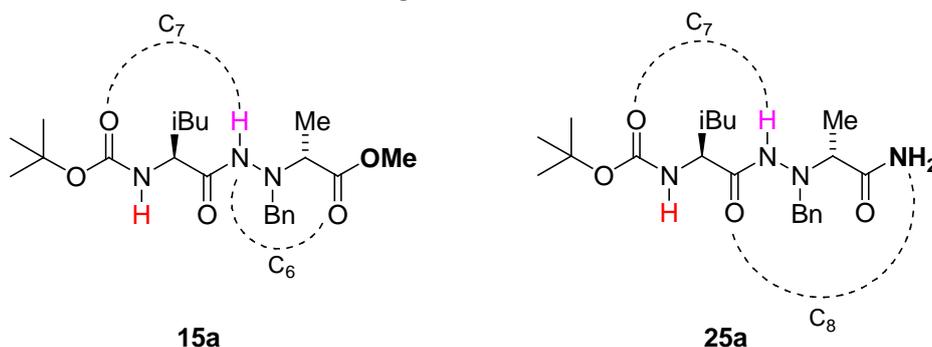


Figure 76: Liaisons hydrogène intramoléculaires possibles dans les dimères ester et amide 15a et 25a.

Nous avons donc étudié l'influence du DMSO-*d*₆ sur les deux protons NH du dimère ester **15a** afin de vérifier une quelconque implication dans des liaisons hydrogène intramoléculaires dont les résultats sont présentés sur la figure 77.

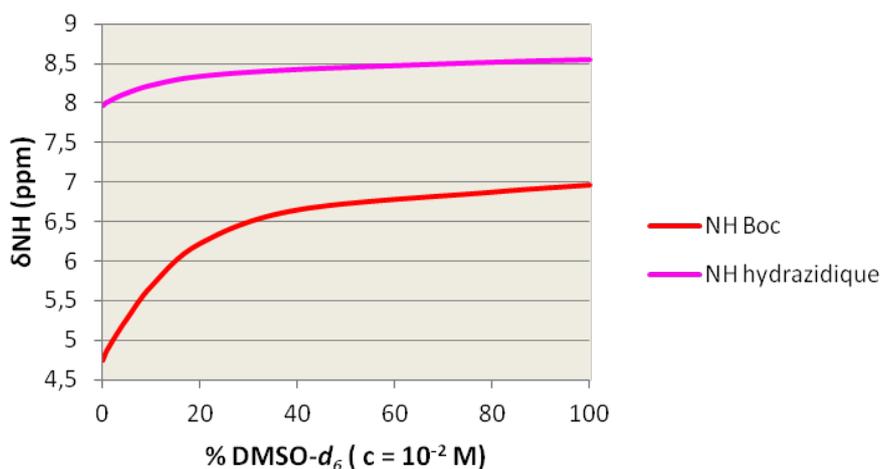


Figure 77: Evolution du déplacement chimique des protons NH du dimère ester **15a en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%) / 10 mM.**

L'augmentation progressive de DMSO- d_6 provoque une différence de déplacement chimique de:

+ 2.23 ppm vers les champs faibles pour le signal du NH Boc à 4.74 ppm à 0% de DMSO- d_6
 + 0.51 ppm vers les champs faibles pour le signal du NH hydrazidique à 7.97 ppm à 0% de DMSO- d_6

Nous pouvons remarquer que le déplacement chimique du proton NHBoc est très faible (4,74 ppm dans le $CDCl_3$) et qu'il est de plus très sensible à l'ajout croissant de DMSO- d_6 . Il se comporte donc comme un proton NH non impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire.

Le signal du proton NH hydrazidique, quant à lui, présente un déplacement chimique de 7.97 ppm dans le $CDCl_3$, ce qui est relativement élevé pour un proton de ce genre (environ 6.5 ppm à l'état libre).

De plus la variation de déplacement chimique suite à l'ajout de DMSO- d_6 n'est que de 0,50 ppm vers les champs faibles. Ces deux observations nous incitent à penser que ce proton NH hydrazidique pourrait être impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire peu stabilisée.

Nous avons décidé de compléter cette étude par des mesures en IR en solution ($CHCl_3$ / 10 mM) du dimère hétérochiral **15a** afin de vérifier l'implication de ce proton NH hydrazidique dans une liaison hydrogène (Figure 78).

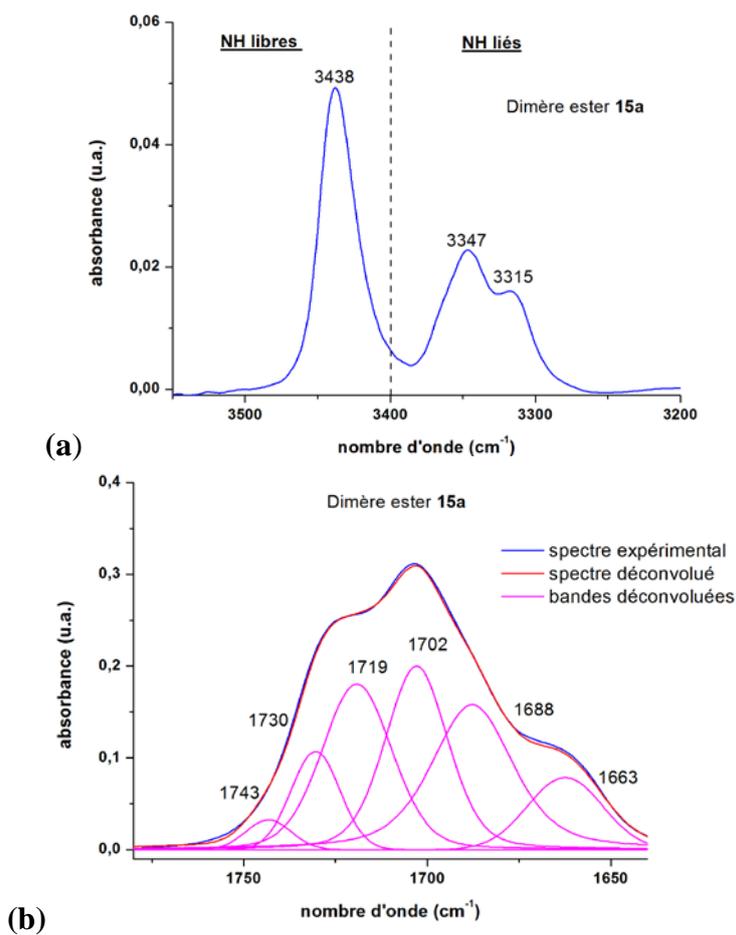


Figure 78: Spectres IR du dimère hétérochiral **15a (CHCl_3 / 10 mM).**

Les mesures ont été effectuées à une concentration de $c = 10$ mM, par cohérence.

Sur le spectre (a) dans le domaine d'élongation des N-H, on y retrouve trois bandes de vibration pour le dimère ester **15a** respectivement à 3438, 3347 et 3315 cm^{-1} .

La comparaison avec les analyses précédentes nous permet d'attribuer la bande à 3438 cm^{-1} au vibreur NHBoc non lié.

Les deux autres bandes, situées en deçà de 3400 cm^{-1} à 3347 et 3315 cm^{-1} , confirment la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires au sein de la molécule. Il semblerait donc que ces deux bandes correspondent au vibreur NH hydrazidique du dimère **15a**. La présence de celles-ci indiquent donc l'existence de deux conformations liées pour le seul vibreur NH hydrazidique. Il semblerait donc que le proton NH hydrazidique du dimère ester **15a** soit impliqué dans des liaisons hydrogène intramoléculaires, l'une impliquant la formation d'un pseudocycle en C_7 (γ -turn) et l'autre en C_6 comme cela avait été proposé précédemment (Figure 76).

Le spectre (b) nous présente le domaine d'élongation des C=O dont nous avons fait la déconvolution. Ainsi, il est possible d'attribuer les bandes de vibration en nous appuyant sur les analyses précédentes. On remarquera dans le cas du dimère ester **15a**, l'apparition de deux nouvelles bandes correspondant au vibreur C=O ester à 1743 et 1730 cm^{-1} , en plus des deux déjà présentes dans les monomère **26a** et dimère amide **25a** et qui correspondaient aux

vibrateurs C=O Boc libre (1719 cm^{-1}) et lié (1702 cm^{-1}) que nous avons attribué sur la figure 79.

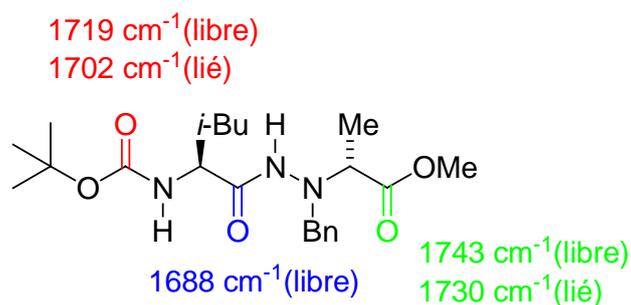


Figure 79: Attribution des valeurs des vibrateurs C=O au sein du dimère ester 15a.

Nous remarquons une bande à 1663 cm^{-1} qui peut correspondre à un conformère (C=O hydrazidique lié (peu probable)).

Ces résultats nous ont conduits donc à envisager l'auto-structuration du dimère ester **15a** comme étant un équilibre entre un pseudocycle en C_7 (γ -turn) et C_6 (Figure 80).

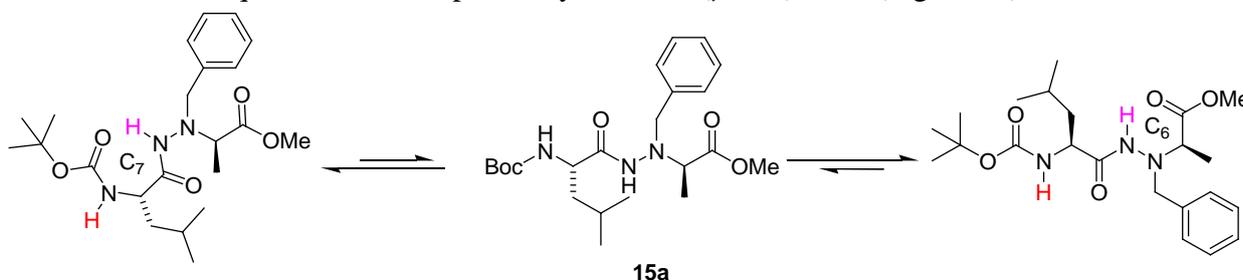


Figure 80: Structurations possibles au sein du dimère hétérochiral 15a.

Ces informations nous ont donc démontré que la structuration en γ -turn existait donc à la fois au sein des dimères ester et amide **15a** et **25a**.

L'analyse complémentaire du monomère amide **26a** a montré la coexistence d'une structuration en C_6 avec une autre en C_8 (hydrazinoturn), tout comme le dimère ester **15a** nous a montré la coexistence d'une structuration en C_6 avec une autre en C_7 (impliquant le NH hydrazidique). Cependant l'analyse du dimère amide **25a** ne nous a pas révélé l'existence d'une structuration en C_6 (absence d'une bande de vibrateur C=O amidique lié en IR), ce qui nous conduit à penser qu'un NH hydrazidique impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire dans une molécule capable de former un hydrazinoturn, avait tendance à préférentiellement adopter une structuration en γ -turn plutôt qu'en C_6 .

Cette structure sous forme de γ -turn a par ailleurs pu être observée par diffraction des rayons X sur le dimère hétérochiral acide **16a**.

La structure cristalline montre en effet la présence d'une liaison hydrogène intramoléculaire relativement faible (2.93 \AA) entre le NH du résidu $i+2$ et le C=O du résidu i (Figure 81).

Sur la figure 81, Le cliché cristallin de gauche révèle la présence d'un coude (γ -turn) en C_7 , tandis que le cliché de droite montre la présence d'une molécule d'eau qui assure le maintien de la stucture cristalline en joignant deux dimères acides **16a**.

Cependant, comme on peut le voir sur ce cliché, la présence de cette molécule d'eau défavorise la formation du γ -turn. En effet, alors que le C=O de la fonction acide pointe dans la direction du H de la molécule d'eau avec un angle OHO (C=O---H-O) de 178° (colinéarité), on mesure un angle de 118° HOH (NH---O-H) pour le NH hydrazidique avec l'O de la molécule d'eau.

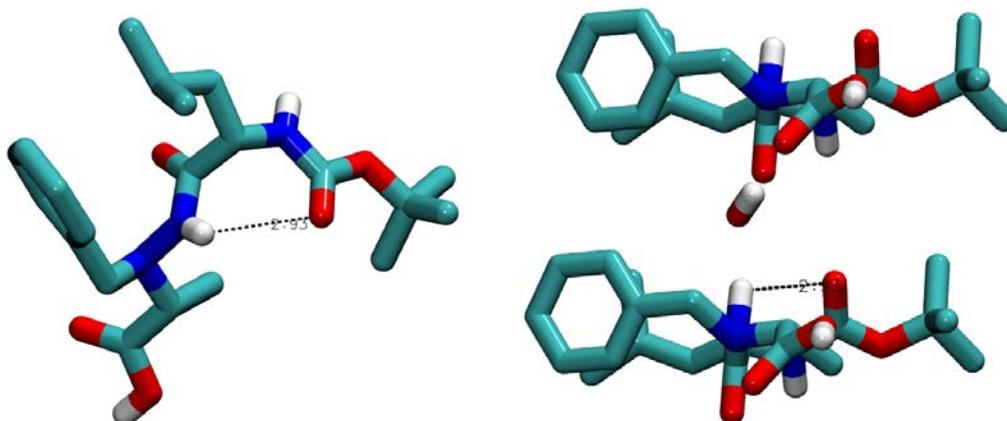


Figure 81: Mise en évidence du γ -turn au sein du dimère acide 16a.

De plus, il est possible de voir que le C=O du *tert*-butyle pointe dans la direction du NH hydrazidique sans que celui-ci ne soit influencé par des liaisons hydrogène. La distance correspondant au γ -turn de 2.93 \AA correspond donc à une liaison hydrogène faible ce qui peut expliquer l'influence du DMSO- d_6 en RMN sur le proton NH hydrazidique. Ceci est en accord avec les résultats observés par l'équipe de Yang⁹⁰ (par modélisation moléculaire) ainsi qu'avec les analyses réalisées en solution sur le dimère ester **15a**.

IV.5.3. Analyses structurales des tétramères hétéro- et homochiraux **27a** et **27b**

a. Mesure du $\Delta\delta$

Le spectre RMN ^1H du tétramère hétérochiral **27a** présente deux signaux distincts d'égale intensité à $\delta_1 = 8.12 \text{ ppm}$ et $\delta_2 = 5.37 \text{ ppm}$. La différence de déplacement chimique $\Delta\delta = 2.75 \text{ ppm}$ reflète donc un environnement chimique fortement différencié pour chacun de ces deux protons NH amidiques.

De la même manière, on trouve deux signaux $\delta_1 = 7.84 \text{ ppm}$ et $\delta_2 = 5.26 \text{ ppm}$ pour un déplacement chimique $\Delta\delta = 2.58 \text{ ppm}$ pour le tétramère homochiral **27b**.

On remarque que ces valeurs restent très proches des valeurs des dimères **25a** et **25b**:

- $\Delta\delta = 2.74 \text{ ppm}$ pour le dimère hétérochiral **25a** contre $\Delta\delta = 2.75 \text{ ppm}$ pour le tétramère **27a**,
- $\Delta\delta = 2.59 \text{ ppm}$ pour le dimère homochiral **25b** contre $\Delta\delta = 2.58 \text{ ppm}$ pour le tétramère **27b**.

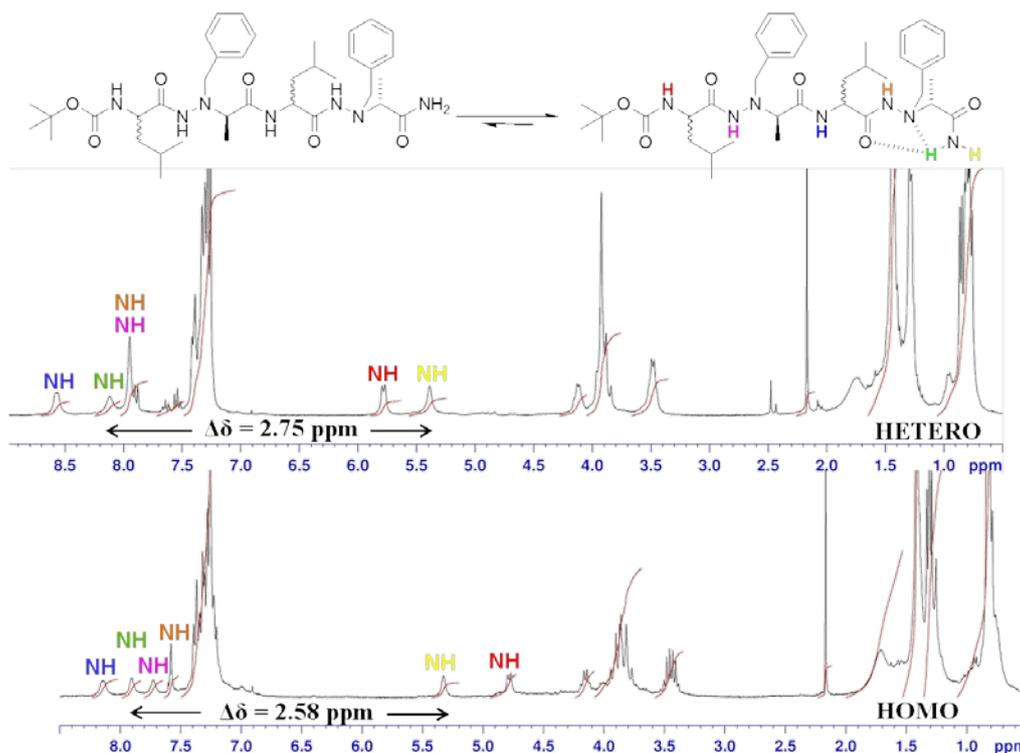


Figure 82: Spectres RMN ^1H des tétramères hétéro- et homochiral 27a et 27b (CDCl_3 / 10 mM).

b. Influence du $\text{DMSO-}d_6$:

L'expérience a été réalisée sur des échantillons de concentration $c = 10 \text{ mM}$ dans CDCl_3 . A cette solution est ajoutée une quantité croissante de $\text{DMSO-}d_6$ (de 0 à 100%).

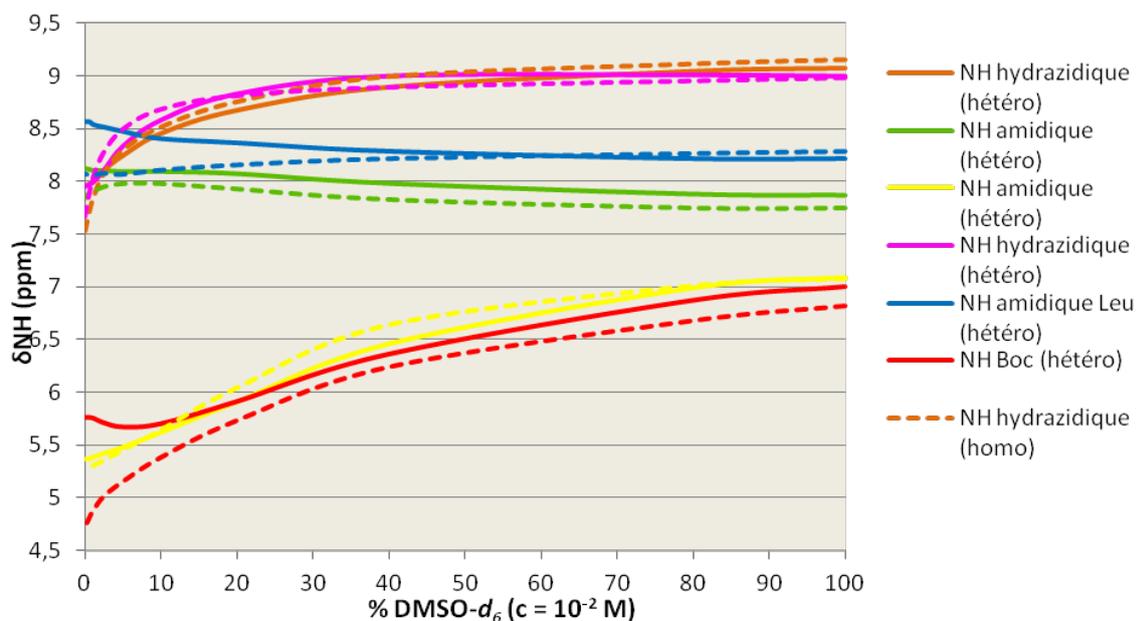


Figure 83: Evolution du déplacement chimique des protons NH des tétramères hétéro- et homochiraux 27a et 27b en fonction d'une quantité croissante de $\text{DMSO-}d_6$ (0-100%) / 10 mM.

Les résultats ont ensuite été consignés dans le tableau 15:

Produit	δ_{NHoc} (ppm)	$\delta_{\text{NHamidique}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NH hydrazidique}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NH hydrazidique}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NHamidique}}$ (ppm)	$\delta_{\text{NHamidique Leu}}$ (ppm)
tétramère hétérochiral 27a	5.76 (+ 1.24)	5.37 (+ 1.72)	7.95 (+ 1.05)	7.95 (+ 1.12)	8.12 (- 0.25)	8.57 (- 0.35)
tétramère homochiral 27b	4.71 (+ 2.11)	5.26 (+ 1.82)	7.51 (+ 1.65)	7.65 (+ 1.33)	7.84 (- 0.09)	8.07 (+ 0.22)

Tableau 15: Comparaison de l'évolution du déplacement chimique des protons NH des tétramères hétéro- et homochiraux 27a et 27b en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%) / 10 mM.

Nous pouvons remarquer que quatre protons NH subissent clairement l'influence du DMSO- d_6 , il s'agit donc des protons NHBoc, des deux NH hydrazidiques et d'un des protons NH amidique. Il semblerait donc qu'ils ne soient pas ou peu impliqués dans une liaison hydrogène intramoléculaire. Comme observé précédemment dans le cas des dimères **15a**, **25a** et **25b**, le fort déblindage des protons hydrazidiques laisse envisager la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires faibles (car sensible aux variations de DMSO- d_6). *A contrario*, deux protons NH semblent peu affectés par les variations de la concentration en DMSO- d_6 . Il s'agit donc du proton NH amidique *a priori* lié ainsi que le proton NH amidique de la leucine. Il semblerait que ces deux protons NH soient impliqués dans la formation de liaisons intramoléculaires et formeraient donc deux hydrazinoturns au sein des tétramères (Figure 84).

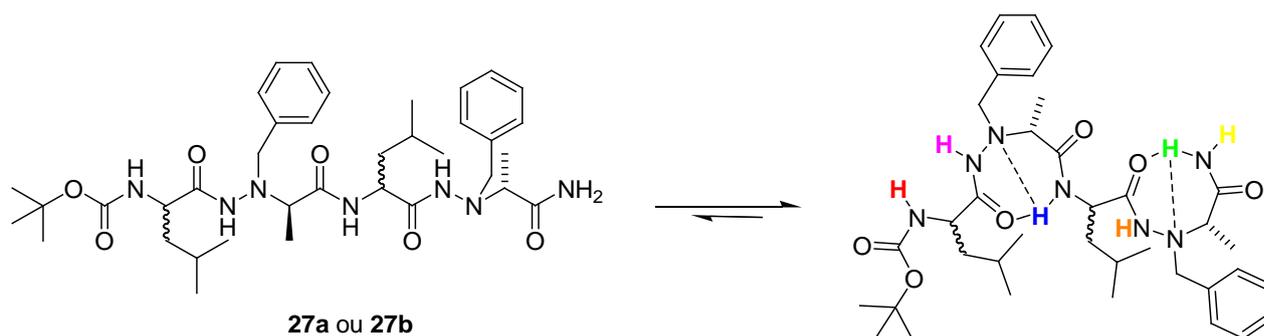


Figure 84: Formation d'hydrazinoturn dans les tétramères hétéro- et homochiraux 27a et 27b en solution.

Il est aussi intéressant de noter que les déplacements chimiques des protons NH sont relativement proches que l'on soit en série hétéro- ou homochirale, ce qui se ressent aussi sur les variations de déplacement chimique sous l'influence du DMSO- d_6 .

c. Analyse par IR des tétramères hétéro- et homochiraux **27a** et **27b**

Ces spectres IR ont été réalisés sur les tétramères hétéro- et homochiraux **27a** et **27b** à une concentration $c = 10$ mM dans CHCl_3 dont les résultats sont représentés sur la figure 85.

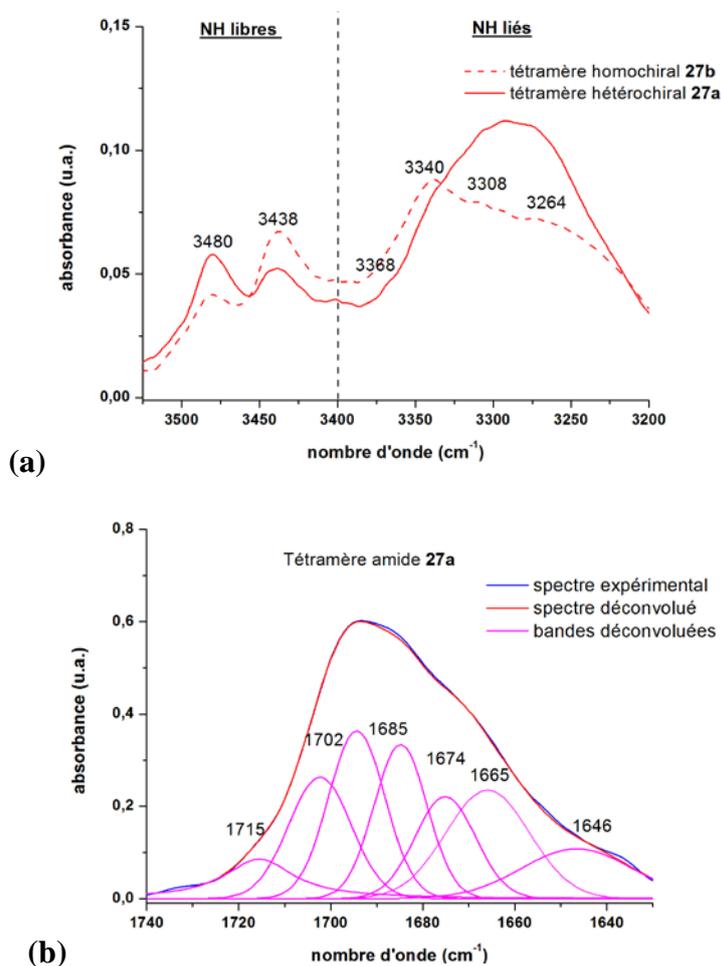


Figure 85: Spectres IR des tétramères hétéro- et homochiraux **27a** et **27b** (CHCl_3 / 10 mM).

Le spectre (a) nous montre deux bandes nettes dans la zone des NH libres à 3480 cm^{-1} et 3438 cm^{-1} . Notre précédente étude sur les dimères **25a** et **25b** nous a montré que ces bandes correspondaient respectivement au vibreur NHBoc libre pour la première (3480 cm^{-1}) et au vibreur NH amidique libre pour la seconde (3438 cm^{-1}).

Ensuite, il est relativement difficile d'attribuer clairement les vibreurs NH liés en raison de l'allure du spectre IR, les bandes se chevauchant.

La pseudo-attribution a pu être réalisée à partir des spectres IR des dérivés secondes pour lesquels l'on pouvait distinguer seulement deux bandes de vibration pour les vibreurs NH au delà des 3400 cm^{-1} . Ceci signifiant qu'il existe bien quatre vibreurs NH liés au sein des tétramères amides ce qu'il est possible d'observer pour le tétramère **27b** ($3368, 3340, 3308, 3264 \text{ cm}^{-1}$).

Le spectre (b) nous présente le domaine d'élongation de la liaison C=O. En raison de la similitude des spectres des tétramères **27a** et **27b** dans la zone des C=O, la déconvolution a été réalisée uniquement sur le tétramère hétérochiral **27a**.

Nous avons donc attribué les différentes bandes à l'aide de l'analyse faite sur le dimère **25a**. Dans le cas du tétramère **27a**, on trouve une nouvelle bande à 1646 cm⁻¹ qui devrait correspondre au C=O amidique lié (leucine) présent uniquement au sein de notre tétramère **27a** (ce C=O n'est pas présent dans les dimères) et qui confirme donc la formation d'une structuration supplémentaire de type γ -turn en solution.

Produit	$\nu(\text{C=O})$ Boc non lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{C=O})$ Boc lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{C=O})$ hydrazidique non lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{C=O})$ hydrazidique lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{C=O})$ amidique non lié (cm ⁻¹)	$\nu(\text{C=O})$ amidique lié (cm ⁻¹)
Tétramère amide 27a	1715	1702	1685	1665	1674	1646
Dimère amide 25a	1718	1701	1687	1666	1674	-

Tableau 16: Valeurs des nombres d'onde des vibrateurs C=O du dimère 25a et du tétramère 27a.

La conformation que l'on pourrait envisager, suite à l'étude IR du tétramère amide **27a**, qui démontre la présence successive d'un γ -turn suivi d'un hydrazinoturn, comme cela avait été observé dans le cas des dimères amides **25a** et **25b** ainsi que dans les cas des α -aminopeptides⁹⁰, est présentée sur la figure 86.

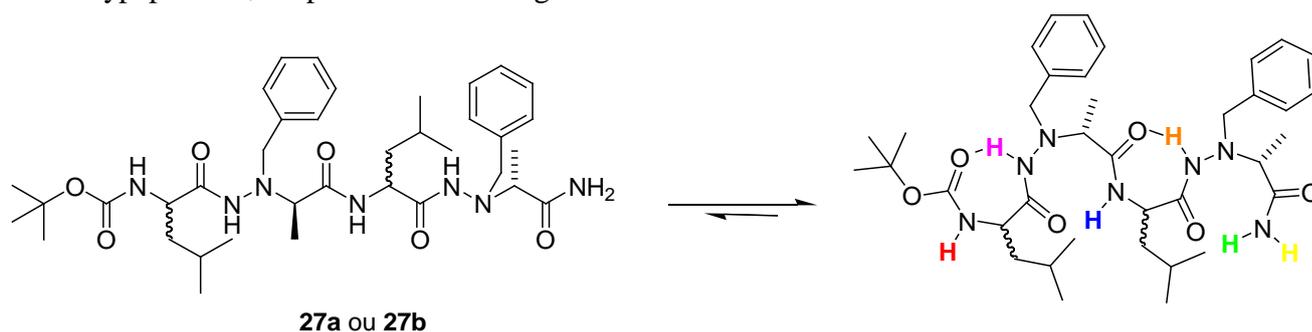


Figure 86: Structuration au sein des tétramères hétéro- et homochiraux 27a et 27b.

IV.5.4. Analyses structurales de l'hexamère hétérochiral **28a**

a. Mesure du $\Delta\delta$

Le spectre RMN ^1H de l'hexamère hétérochiral **28a** est relativement difficile à interpréter. Bien qu'il ait été possible d'attribuer certains des signaux des protons NH grâce aux études RMN 2D de type COSY et NOESY, le chevauchement des pics nous a cependant empêché d'effectuer la mesure du $\Delta\delta$ ainsi qu'une étude par influence du $\text{DMSO-}d_6$

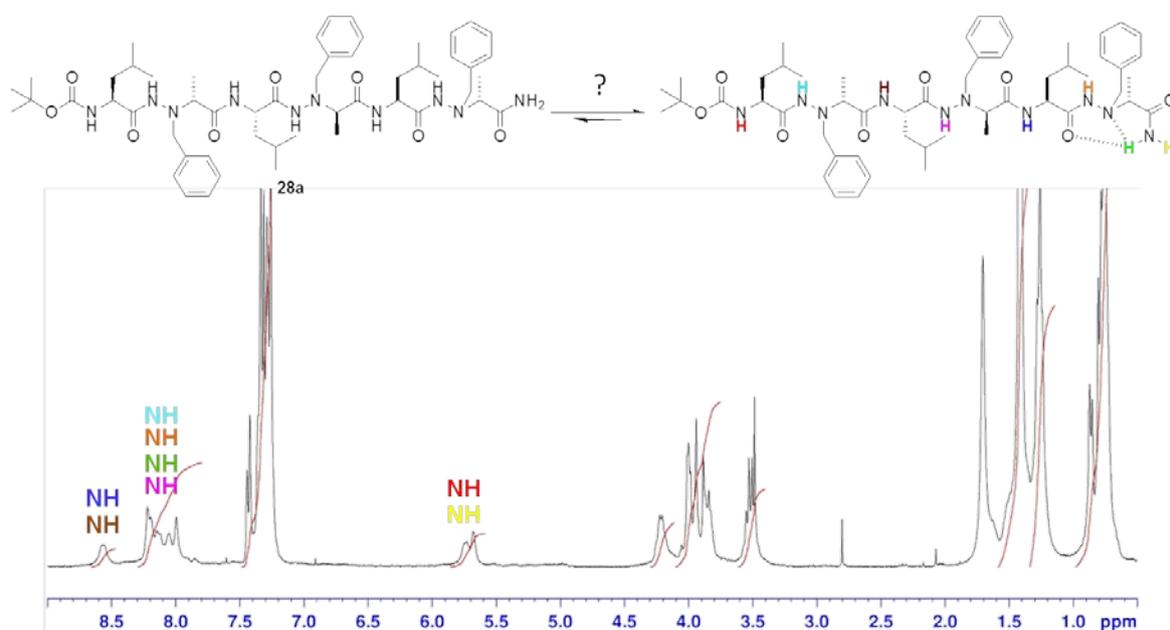


Figure 87: Spectres RMN ^1H de l'hexamère hétérochiral **28a** ($\text{CDCl}_3 / 10^{-2}\text{M}$).

Il est donc à ce jour difficile de conclure quant à une auto-structuration de type hydrazinoturn au sein de l'hexamère amide **28a**.

Cependant, les déplacements chimiques observés restent très proches de ceux observés dans les cas du tétramère hétérochiral **27a** et qui correspondaient à des protons NH impliqués dans des liaisons hydrogène:

- $\delta_{\text{NH Boc}} \approx 5.7$ et 5.76 ppm pour respectivement pour l'hexamère **28a** et le tétramère hétérochiral **27a**.
- $\delta_{\text{NH amidiques}} \approx 5.7$ et 5.37 ppm.
- $\delta_{\text{NH hydrazidiques}} \approx 7.9\text{--}8.2$ et 7.95 ppm
- $\delta_{\text{NH amidiques}} \approx 8.56$ et 8.57 .

Ceci nous laisse donc envisager l'existence d'une structuration au sein de l'hexamère **28a**, c'est ce que nous nous sommes proposés de vérifier en réalisant des études par IR.

b. Analyse par IR de l'hexamère hétérochiral **28a**

Les spectres IR ont été réalisés sur l'hexamère hétérochiral **28a** à une concentration $c = 10$ mM dans CHCl_3 dont les résultats sont présentés sur la figure 88.

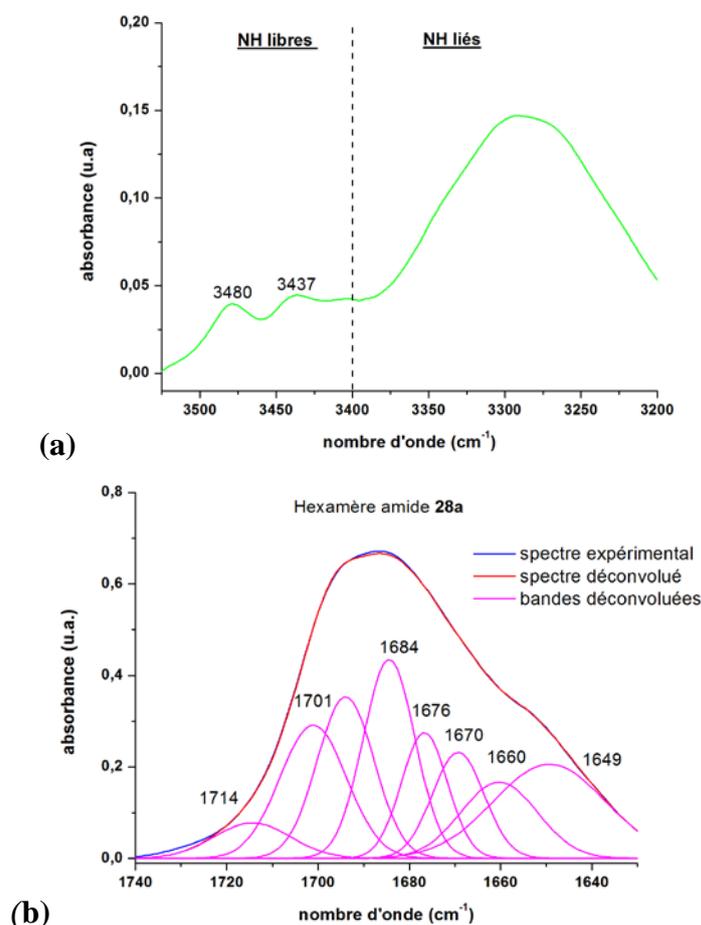


Figure 88: Spectres IR de l'hexamère hétérochiral **28a** (CHCl_3 / 10 mM).

Le spectre (a) illustre le domaine d'élongation de la liaison N-H, et il est possible d'y voir plusieurs bandes de vibration.

En effet, nous pouvons retrouver deux bandes dans la zone des NH libres à 3480 cm^{-1} (vibrateur NHBoc) et 3437 cm^{-1} (vibrateur NH amidique non lié) d'après les études précédentes. Il s'est révélé très difficile d'attribuer les vibrateurs NH de l'hexamère **28a**, ceci dû à l'allure du spectre.

Le spectre (b) illustre le domaine d'élongation de la liaison C=O, et il est possible de voir plusieurs bandes de vibration caractéristiques dont celle des vibrateurs C=O Boc (libre et lié) à 1714 et 1701 cm^{-1} , C=O amidiques (libres et liés) à 1676 et 1649 cm^{-1} , C=O hydrazidiques libres et liés à 1684 et 1660 cm^{-1} , ainsi que d'autres bandes pouvant correspondre à des conformères au sein de l'hexamère **28a**.

Comme l'on pouvait s'y attendre, conformément aux résultats RMN, les spectres IR présentent la même allure que ceux correspondant au tétramère hétérochiral **27a**, ceci

confirmant la possible structuration en γ -turn et hydrazinoturn au sein de notre hexamère hétérochiral **28a** (Figure 89).

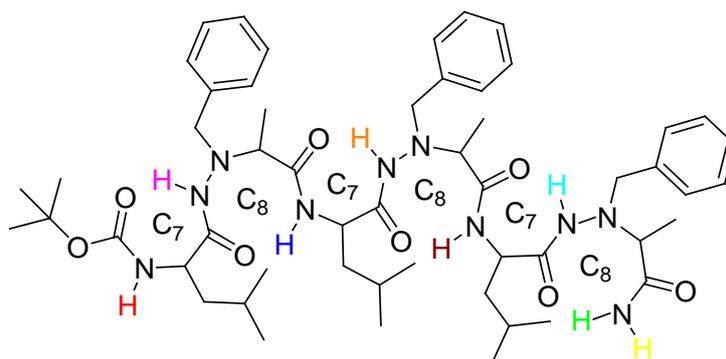


Figure 89: Structuration envisagée au sein de l'hexamère amide 28a.

Cependant, au vu des résultats obtenus sur celui-ci (chevauchement des pics en RMN et interprétation difficile en IR), nous n'avons pas souhaité poursuivre nos investigations en tentant de synthétiser l'hexamère amide homochiral.

IV.5.4. Conclusion

Lors de cette première partie des études structurales, les études RMN et IR nous ont affirmé que des liaisons hydrogène intramoléculaires s'établissaient régulièrement au sein du monomère amide **26a** sous la forme d'un « hydrazinoturn ». Les études suivantes ont démontré que cette structuration était maintenue dans les oligomères 1:1- $[\alpha/\alpha$ - N^{α} -Bn-hydrazino]amides de plus grande taille, que l'on soit en série hétéro- ou homochirale.

Nous avons de plus mis en évidence la présence, à partir des dimères amides **25a** et **25b**, d'une autre structuration de type γ -turn, cette structuration accompagnant la précédente, comme cela avait pu être observé sur les α -aminopeptides.

Nous nous sommes donc par la suite intéressés à l'étude structurale des cyclo 1:1- $[\alpha/\alpha$ - N^{α} -Bn-hydrazino]mères.

IV.6. Analyses structurales des cyclo 1:1- $[\alpha/\alpha$ - N^{α} -Bn-hydrazino]mères

IV.6.1. Introduction

Le processus d'auto-assemblage en feuillet β est a été mis évidence pour plusieurs types de macrocycles pseudopeptidiques. Ainsi, par exemple des nanotubes peuvent être obtenus par ce processus d'association à partir de *D,L*- α -cyclo-, β -cyclo-, α/β -cyclopeptides ainsi que d'autres cyclopeptides comportant un squelette mixte (Figure 90).

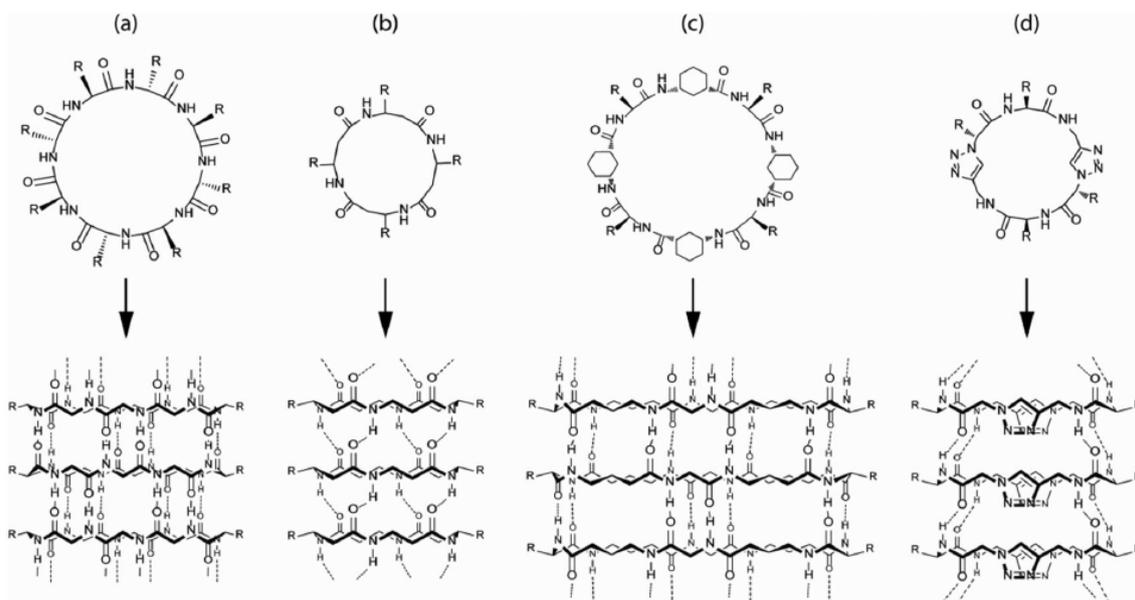


Figure 90: Classes de cyclopeptides qui s'assemblent en nanotubes par des interactions de type feuillets β : D, L - α -cyclopeptides (a), β -cyclopeptides (b), α/γ -cyclopeptides (c) et cyclopeptides hérécycliques par incorporation de acides ϵ -aminés.⁹⁷

Cependant, d'autres exemples décrits dans la littérature démontrent que certains macrocycles ne peuvent s'assembler en nanotubes, c'est le cas notamment des composés analogues des β -peptides, comme les aza- β^3 -cyclo-^{35,36} et les α -aminoxycyclopeptides.^{76,88}

Notamment, les études structurales menées sur les aza- β^3 -cyclotétra- et -cyclohexapeptides a permis de montrer que les chaînes latérales occupent les positions équatoriales et pointent alternativement vers la face supérieure et la face inférieure du macrocycle, tandis que tous les liens hydrazidiques sont orientés dans la direction opposée et impliqués dans un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires (Figure 91).

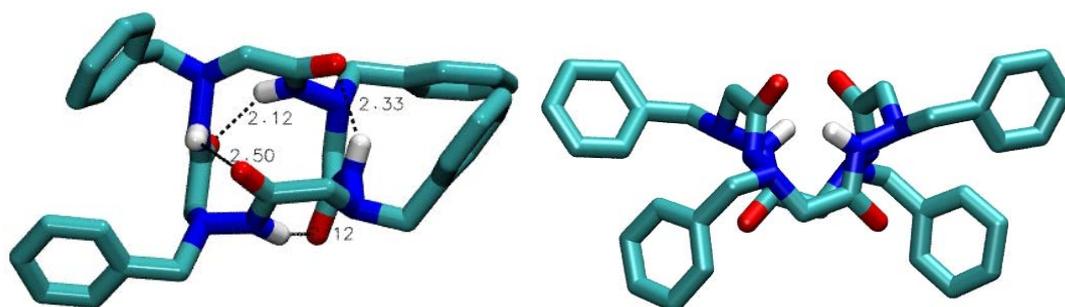


Figure 91: Auto-structuration d'un cyclotétrapeptide α - N^α -Bn-aza- β^3 avec une vue de dessus (à gauche) et vue de côté (à droite).

Ce haut degré de structuration de la molécule induit une déformation du squelette aza- β^3 qui ne peut adopter une forme plane, empêchant l'association des macrocycles en feuillets β .^{35,36} Les molécules que nous avons étudiées sont à la fois des analogues azotés des α/β -cyclopeptides et des analogues des $\alpha/\text{aza-}\beta^3$ -cyclopeptides.

Nous pouvons avoir des doutes quant à la possibilité de nos molécules à s'associer. Nous avons donc réalisé des études en solution et à l'état solide de nos 1:1-[α/α - N^{α} -Bn-hydrazino]mères en série homo- et hétérochirale.

Ainsi avons nous effectué nos études sur les cyclotétramères hétéro- et homochiraux **30a** et **30b** en raison de leur grande rigidité. Ceci en nous basant sur les études de modélisation moléculaire des β^3 -cyclopeptides ayant conduit l'équipe de Ghadiri à travailler préférentiellement sur les β^3 -cyclotérapeptides plutôt que sur des cycles plus grands.⁹²

IV.6.2. Analyses structurales des cyclotétramères hétéro- et homochiraux 1:1-[α/α - N^{α} -Bn-hydrazino] **30a** et **30b**

a. Cyclotétramère hétérochiral **30a**

- Analyse par diffraction des rayons X du cyclotétramère hétérochiral **30a**

Des cristaux du cyclotétramère hétérochiral **30a** ont été obtenus par évaporation lente dans un mélange CH₃CN/EtOH.

Comme nous l'avions présumé, à l'état cristallin, les molécules s'auto-assemblent en formant un réseau de liaisons hydrogène intermoléculaires donnant lieu à la formation d'un nanotube. (Figure 92)

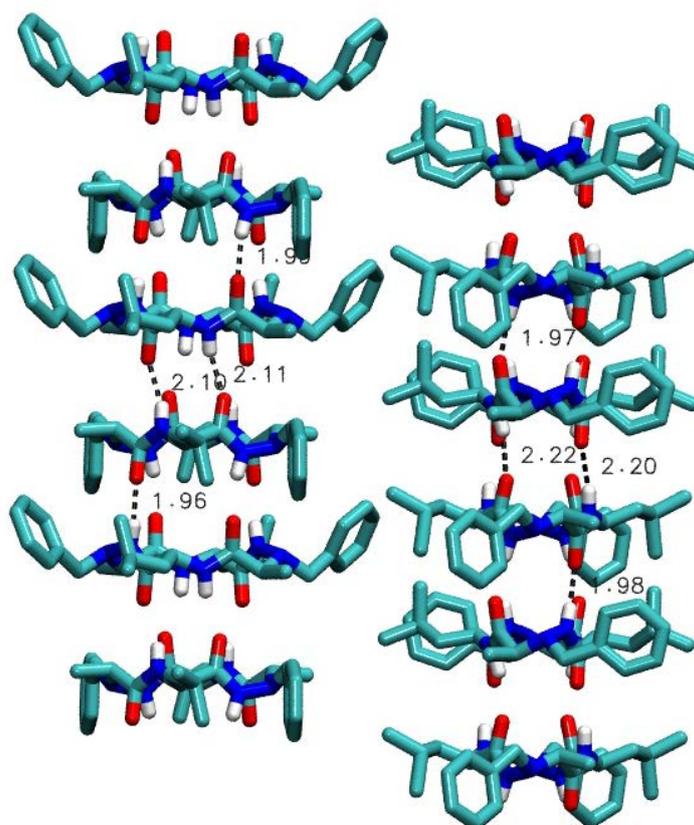


Figure 92: Vue de profil des nanotubes formés par l'auto-assemblage des cyclotétramères hétérochiraux **30a**.

La vue de profil de la structure cristalline du nanotube montre que celui-ci est uniquement stabilisé par des liaisons hydrogène intermoléculaires. Contrairement à ce que nous pouvions penser, la présence des groupements benzyliques ne donnent pas lieu à des interactions de type π - π -stacking entre les nanotubes.

Nous pouvons ensuite remarquer que cette structure cristalline fait apparaître quatre macrocycles, liés deux à deux sous forme de dimères, dans la maille principale du cristal. Chaque dimère, deux macrocycles liés par liaisons intermoléculaires respectivement de 2.1 Å et 2.2 Å, est associé aux autres dimères par des liaisons hydrogène d'environ 1.97 Å, ce qui donne aux nanotubes une structure relativement compacte. Les nanotubes sont donc formés par l'association de dimères.

De part leur squelette hétérogène alternant des unités acide α -aminé et α -hydrazino, les cyclotétramères hétérochiraux **30a** s'empilent en feuillets β antiparallèles, c'est-à-dire que les groupements NH et C=O (perpendiculaires au plan du cycle) pointent de part et d'autre des macrocycles. Cette forme d'empilement empêche donc la formation d'un moment macrodipolaire, rappelant ce qui avait déjà été observé pour les β^3 -cyclopeptides ou même pour l'hélice α .¹⁰⁵

Les chaînes latérales quant à elles pointent vers l'extérieur du nanotube.

Nous avons ensuite décidé de comparer les conformations de nos cyclotétramères **30a** dans le nanotube à ce qui avait déjà été obtenu par l'équipe de Seebach par diffraction des rayons X sur les poudres de cyclo[(- β^3 -HAla)₄-] homo- et hétérochiraux.^{92,103}

L'étude sur les cyclotérapeptides se justifiait quant à elle par le fait que ceux-ci devaient montrer une plus grande rigidité ainsi qu'un haut degré de pré-organisation pour l'auto-assemblage, en comparaison des plus grands β^3 -cyclopenta- ou hexapeptides.⁹²

Pour interpréter la présence d'une cavité au sein du nanotube, nous avons représenté, sur la vue de dessus, la conformation du macrocycle à l'état solide en tenant compte du rayon de Van der Waals des atomes (Figure 93).

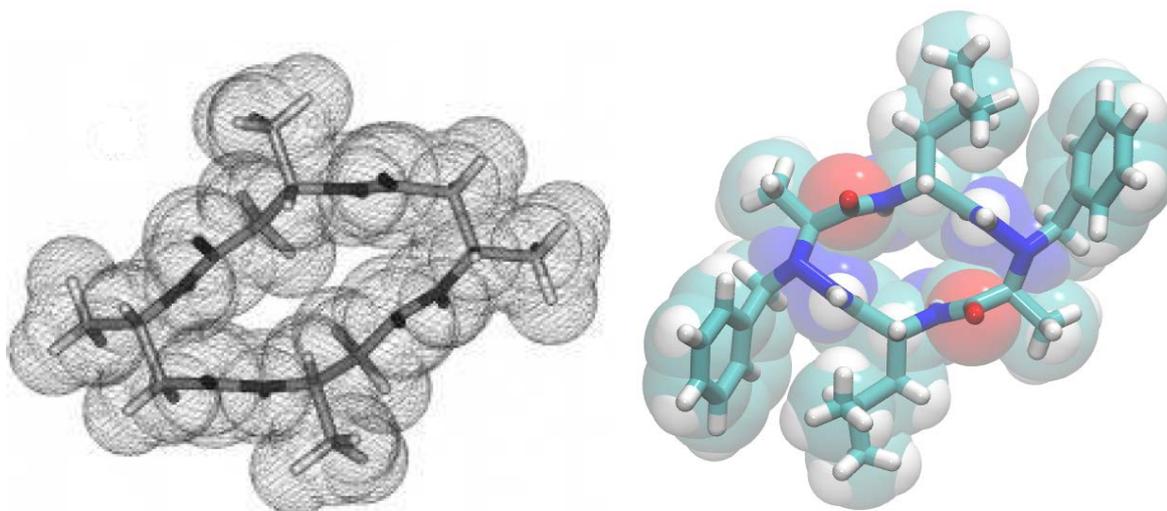


Figure 93: Vue de dessus selon la représentation de la conformation par rayon de Van der Waals du squelette principal cyclo[(- β^3 -HAla)₄-] homochiral dans une symétrie C_2 (à gauche), comparée au cyclotétramère hétérochiral **30a (à droite).**

Cette vue de dessus, selon la représentation de Van der Waals d'un cyclotétramère impliqué dans un nanotube, montre une grande similitude entre les conformations de notre cyclotétramère **30a** et du cyclo[(- β^3 -HAla)₄-] homochiral.

Cette représentation met en évidence le fait que les deux macrocycles existent sous une conformation de symétrie C₂ dans laquelle la cavité centrale est obstruée. Le squelette principal de notre cyclotétramère hétérochiral **30a** est extrêmement compact. Sachant de plus que la taille de notre cyclotétramère hétérochiral est légèrement inférieure à celle du macrocycle [(- β^3 -HAla)₄-] homochiral (14 atomes contre 16), la représentation de Van der Waals montre que la cavité interne est obstruée et ne laisse pas d'espace disponible pour le passage d'espèces comme l'eau ou de petits ions.

Cependant, des calculs de surface de Van der Waals réalisés dans ce laboratoire sur un β^3 -cyclotérapeptide modèle, ont indiqué qu'il existait une conformation alternative, de symétrie C₄, dans laquelle la molécule posséderait un diamètre interne de 2.6-2.7 Å.^{92,103}

Celle-ci impliquerait donc une réorganisation du squelette, par un mouvement de rotation des substituants du macrocycle, permettant à l'axe de rotation C₂ de devenir un axe de rotation C₄. La cavité ainsi créée serait donc assez large pour permettre le passage de molécules d'eau ou de petits ions (Figure 94).¹⁴¹

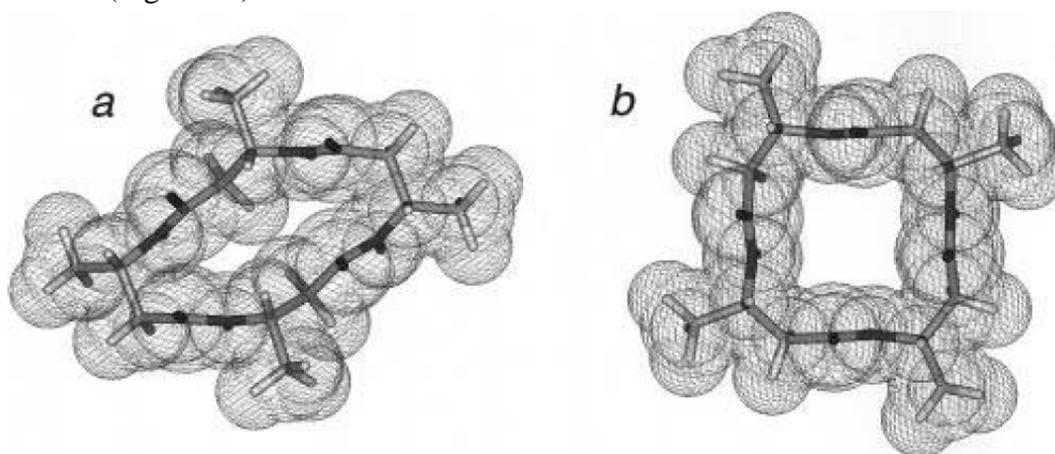


Figure 94: Conformation du squelette principal du cyclo[(- β^3 -HAla)₄-] montrant une symétrie C₂ (a) et une symétrie C₄ alternative (b).

Cette conformation, qui avait déjà pu être observée sur le cyclo[(- β^3 -HAla)₄-] hétérochiral¹⁰³, nous laissait donc envisager la possibilité d'avoir une conformation identique en solution permettant le passage d'espèces au travers.

Par ailleurs, la taille des autres cyclo 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino]mères que nous avons synthétisés, (21 atomes pour le cyclohexamère **31a** et 28 pour le cyclooctamère **32a**), nous laissait entrevoir la possibilité de trouver un diamètre interne sans doute approprié au transit de diverses espèces. Cependant, les très nombreuses tentatives réalisées au laboratoire afin d'en obtenir des cristaux viables pour une analyse par diffraction des rayons X, se sont révélées malheureusement infructueuses. Ceci ne nous a donc pas permis pas de confirmer l'hypothèse que nous avons à ce sujet. De la même manière, nous avons aussi essayé de cristalliser le cyclotétramère homochiral **30b** dans le but d'étudier la versatilité du squelette

mixte à l'état solide. En dépit des nombreux essais effectués au laboratoire, il a été à ce jour impossible d'en obtenir.

La conformation sous forme de nanotubes de notre cyclotétramère hétérochiral **30a** à l'état solide nous a ensuite conduit à nous intéresser aux structures obtenues par l'équipe de Le Grel sur des cyclotétramères analogues, les α - N^α -Bn-aza- β^3 .^{36,35}

Le cyclotétramère α - N^α -Bn-aza- β^3 possède en effet quatre répétitions d'unités α -hydrazino contrairement à notre cyclotétramère hétérochiral **30a** qui en possède uniquement deux couplées à deux autres unités acide α -aminé.

Sur la vue de profil de la figure 95, nous avons souhaité mettre en évidence le type de liaisons hydrogène régissant l'auto-structuration de ces cyclotétramères.

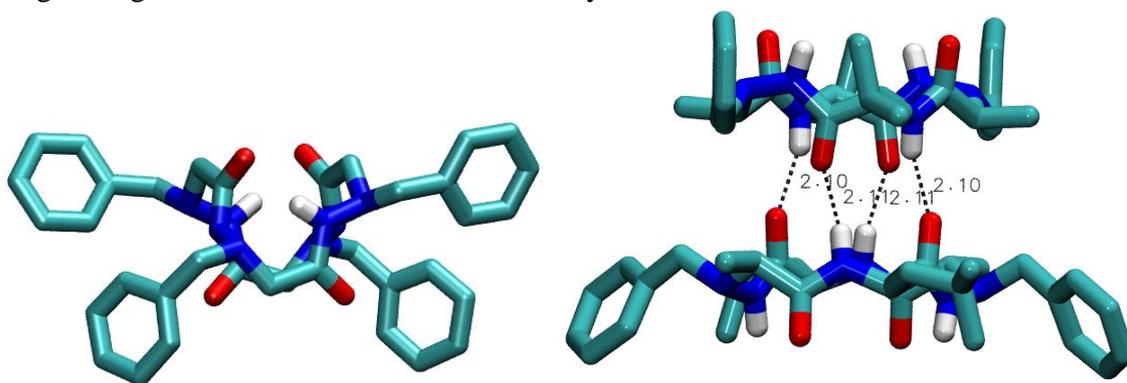


Figure 95: Mise en évidence des interactions au sein de cyclotétramères: liaisons hydrogène intramoléculaires pour l' α - N^α -Bn-aza- β^3 (à gauche) et intermoléculaires pour **30a (à droite).**

Alors que l'on pouvait raisonnablement s'attendre à observer la formation de nanotubes au sein du cyclotétramère α - N^α -Bn-aza- β^3 en raison de la grande similitude du squelette, les auteurs ont montré que chaque cyclotétramère α - N^α -Bn-aza- β^3 , dans la maille cristalline, était structuré par quatre liaisons hydrogène intramoléculaires consécutives. En effet, celui-ci est caractérisé par un réseau d'hydrazinoturn, une isomérisie au niveau du lien hydrazide ainsi que par un phénomène d'inversion pyramidal (responsable de la flexibilité) de l'azote dans le squelette.^{36,35,28} La configuration absolue des quatre centres azotés hybridés sp^3 est alternée (SRSR/RSRS) et la présence des quatre motifs hydrazinoturn se traduit par autant de segments quasi-plans entre deux atomes N^α consécutifs. Ce réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires lui donne une conformation ordonnée qui contrôlent la configuration relative des centres chiraux (les azotes N^α). La vue présentée sur la figure 91 montre que le squelette principal du cyclotétramère α - N^α -Bn-aza- β^3 définit ainsi une figure géométrique qui se rapproche de celle d'un carré.

Enfin, on notera principalement que dans le cas du cyclotétramère α - N^α -Bn-aza- β^3 , les chaînes latérales occupent les positions équatoriales et pointent alternativement vers la face supérieure et la face inférieure du macrocycle tandis que tous les liens hydrazidiques sont orientés dans la direction opposée.

Ceci diffère donc de nos systèmes et de ceux de Seebach¹⁰³ où toutes les chaînes latérales pointent vers l'extérieur du cycle tandis que les NH et C=O sont orientés de manière favorable (perpendiculairement au plan principal du cycle) conduisant à la formation d'assemblages nanotubulaires par des liaisons hydrogène intermoléculaires.

Il semblerait donc que l'auto-structuration sous forme d'hydrazinoturn des α - N^α -Bn-aza- β^3 défavorise l'association des macrocycles entre eux par des liaisons intermoléculaires. Ne possédant *a priori* que deux hydrazinoturn et deux γ -turn possibles dans notre cyclotétramère **30a** (selon les analyses réalisées sur les homologues linéaires), il était peu probable d'obtenir la même déformation observée sur les cyclotétramères α - N^α -Bn-aza- β^3 à l'état solide. Les γ -turns sont en effet des liaisons beaucoup plus fragiles que les hydrazinoturns et plus sujettes à être rompues. De plus, la présence des carbones asymétriques et donc de centres chiraux supplémentaires dans le squelette des oligomères cycliques 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] limite la flexibilité de celui-ci et impose une certaine rigidité. Ceci n'est pas le cas des α - N^α -Bn-aza- β^3 où la chiralité est seulement portée par les atomes d'azote (qui peuvent subir le phénomène d'inversion pyramidal) et permet aux cycles d'adopter des conformations déformées.^{36,35}

Cette grande disparité entre des squelettes pourtant très proches structurellement, mais surtout le faible nombre d'études publiées dans la littérature sur des nanotubes en solution, nous ont conduit à poursuivre nos investigations par l'étude conformationnelle de ces nanotubes en solution.

Nous avons donc dans un premier temps montré que notre cyclotétramère hétérochiral **30a** était capable de s'auto-assembler à l'état solide, permettant ainsi la formation de véritables nanotubes.

Cependant les observations faites sur les cyclopeptides analogues nous ont donc fortement incités à étudier nos systèmes en solution afin, d'une part, de savoir si la structure nanotubulaire était bien conservée en solution, et d'autre part, dans l'affirmative de connaître la conformation des cyclo 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères. Pour cela, nous nous devons de connaître le type exact de liaisons hydrogène existant au sein de nos systèmes, chose que nous pouvions déterminer en jouant sur la concentration de nos composés.

Nous avons donc entrepris des études conformationnelles en concentration en RMN et IR que nous avons réalisé dans le chloroforme deutéré, par souci de cohérence avec les expériences déjà menées sur les oligomères linéaires 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]amides.

Lors des essais de cristallisation dans différents solvants, nous avons pu observer, en chauffant notre cyclotétramère hétérochiral **30a** jusqu'à en obtenir une solubilité complète (spécifiquement dans les deux solvants toluène et dodécane) puis en laissant revenir tranquillement à température ambiante, qu'il était possible de former des gels. Des études bibliographiques nous ont appris que ces gels correspondent à la formation d'assemblages supramoléculaires capables d'emprisonner des solvants, de manière à les empêcher de s'écouler.¹⁴² Ce phénomène fait de nos macrocycles ce que l'on appelle des « organogélateurs ». Nous avons tenté d'exploiter ces résultats dans la suite de notre étude structurale du cyclotétramère hétérochiral **30a**.

- Analyse par RMN: influence de la concentration sur le cyclotétramère hétérochiral **30a** dans CDCl_3

Tout d'abord, nous avons étudié ces systèmes dans le CDCl_3 dans lequel il est possible d'obtenir une solution liquide de nos macrocycles à froid. D'un point de vue général, l'analyse RMN à différentes concentrations permet de mettre en évidence l'établissement éventuel de liaisons hydrogène intermoléculaires à haute concentration. Ainsi, un proton NH impliqué dans une liaison hydrogène intermoléculaire sera très sensible aux variations de la concentration et verra son déplacement chimique tendre vers les champs faibles. Au contraire, si celui-ci est impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire, ceci se traduira par un déplacement chimique quasi constant.

En RMN ^1H dans CDCl_3 , il est possible d'attribuer les différents signaux par des études RMN poussées (COSY, NOESY).

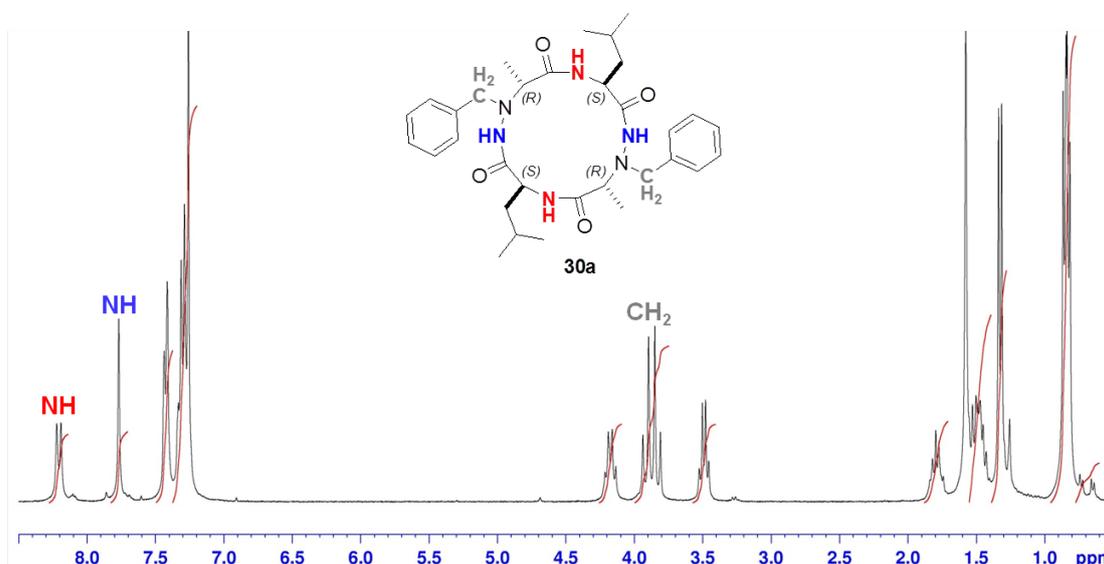


Figure 96: Spectres RMN ^1H du cyclotétramère hétérochiral **30a** (CDCl_3 / 10 mM).

Ainsi, à une concentration $c = 10$ mM, nous observons un seul signal respectivement pour les deux protons NH hydrazidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 7.80$ ppm) et pour les deux protons NH amidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 8.30$ ppm) qui caractérisent le cyclotétramère **30a**. Ceux-ci révèlent une très grande symétrie de la molécule en solution (symétrie C_2). Les quatre résidus du macrocycle sont donc dans un environnement identique deux à deux (Figure 96).

On remarque également que les protons méthyléniques des groupements benzyles sont non-équivalents puisqu'ils donnent un système AB.

Ainsi, nous avons étudié l'influence de la concentration de notre macrocycle dans le CDCl_3 en RMN ^1H , en faisant varier celle-ci de 10^{-6} M à 10^{-2} M. Il n'était cependant pas possible d'aller au-delà de 10^{-2} M, en raison de la faible solubilité du cyclotétramère **30a** dans le CDCl_3 .

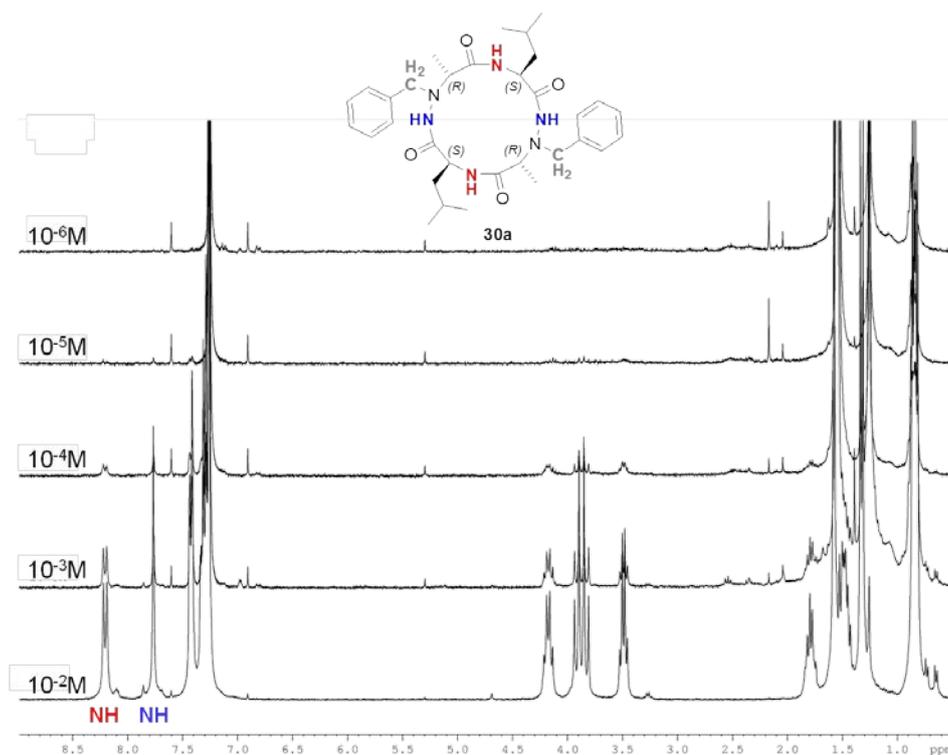


Figure 97: Spectres RMN ^1H du cyclotétramère hétérochiral **30a à différentes concentrations (de 10^{-6} M à 10^{-2} M) dans CDCl_3 .**

A faible concentration (10 mM), les protons NH hydrazidiques du cyclotétramère **30a** ($\delta_{\text{NH}} \approx 7.8\text{ ppm}$) ont des déplacements chimiques proches de ceux trouvés dans le tétramère amide hétérochiral **27a** ($\delta_{\text{NH}} = 7.95\text{ ppm}$). Cette valeur est significative de protons NH hydrazidiques liés comme démontré précédemment.

De la même manière, on trouve des valeurs similaires pour les protons NH amidiques du cyclotétramère **30a** ($\delta_{\text{NH}} \approx 8.3\text{ ppm}$) en comparaison des valeurs trouvées dans le cas du tétramère **27a** ($\delta_{\text{NH}} = 8.57\text{ ppm}$). En diminuant la concentration jusqu'à 10^{-6} M , nous n'observons aucun changement au niveau du déplacement chimique des protons NH hydrazidiques et amidiques. Ces protons NH ne sont donc pas sensibles aux variations de concentration, ce qui semble indiquer qu'ils sont déjà impliqués dans une liaison hydrogène intramoléculaire.

- Analyse par IR: influence de la concentration sur le cyclotétramère hétérochiral **30a** dans le CHCl_3

Nous avons donc réalisé des analyses IR dans le CHCl_3 en faisant varier la concentration de 10^{-2} M à 5.10^{-5} M afin de conforter nos analyses RMN ^1H .

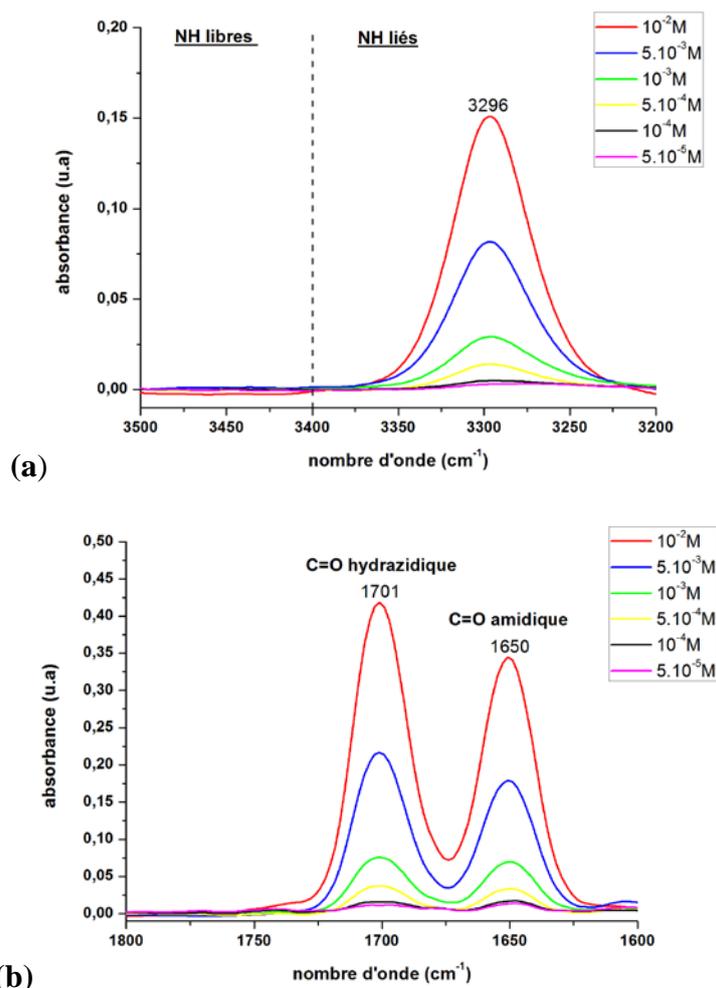


Figure 98: Spectres IR du cyclotétramère hétérochiral 30a à différentes concentrations (de 10⁻² M à 5.10⁻⁵ M) dans CHCl₃.

Nous avons alors observé dans un premier temps la présence d'une bande d'absorption unique dans le domaine d'élongation (a) de la liaison NH ($\nu_{(N-H)} = 3296 \text{ cm}^{-1}$). En effet, cette bande se situe dans la zone des NH liés et indique donc la présence de liaisons hydrogène au sein de nos macrocycles. En baissant la concentration, nous n'avons observé aucune variation de la bande du vibrateur NH. Au contraire, celle-ci subsiste même à de très faibles concentrations (jusqu'à 5.10⁻⁵ M) où la probabilité de faire des liaisons hydrogène intermoléculaires est très faible, voire quasi nulle.

Pour le spectre (b), correspondant au domaine d'élongation de la liaison C=O, nous retrouvons le même comportement quand nous diminuons la concentration. Il est cependant possible de clairement distinguer deux bandes d'absorption correspondant aux deux types de vibrateurs C=O, une correspondant aux C=O hydrazidiques liés, -CO-NHN^α-Bn-, ($\nu_{(C=O)\text{hydrazidique}} = 1701 \text{ cm}^{-1}$) et l'autre correspondant aux C=O amidiques liés, -CO-NH- ($\nu_{(C=O)\text{amidique}} = 1650 \text{ cm}^{-1}$). Ceci est donc en accord avec la présence exclusive de liaisons hydrogène intramoléculaires au sein du macrocycle et vient corroborer les résultats des analyses RMN ¹H en solution.

Il est à noter que contrairement à ce que l'on avait pu observer lors de l'analyse structurale des oligomères linéaires amides, dans le cas du cyclotétramère **30a**, il n'est pas possible de différencier le vibrateur NH hydrazidique, d'un vibrateur NH amidique ($\nu_{\text{N-H}} = 3296 \text{ cm}^{-1}$). L'analyse IR nous a donc révélé la formation de liaisons hydrogène exclusivement intramoléculaires au sein du cyclotétramère hétérochiral **30a** (Figure 99). Ceci confirme donc que la conformation observée sur les homologues linéaires, qui reposait sur une succession de d'hydrazinoturn et de γ -turn serait donc maintenue en solution dans les macrocycles correspondants. Ce type de structuration avait déjà été observé par Yang *et al.* sur des cyclohexamères mixtes 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-aminoxy}]$.⁸⁸

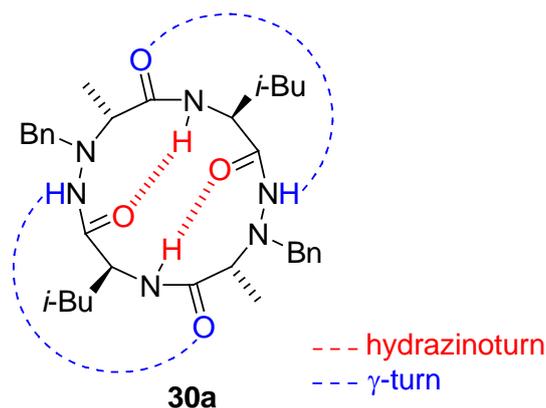


Figure 99: Formation de liaisons intramoléculaires au sein du cyclotétramère hétérochiral 30a.

L'IR se révèle donc être en accord avec les résultats obtenus lors de l'analyse RMN ^1H . Dans ces deux techniques, le signal associé à un proton NH impliqué dans une liaison hydrogène intermoléculaire est sensible aux variations de concentration. Cependant, les études RMN ^1H et IR en concentration nous ont démontré qu'il n'y avait pas de dépendance à celle-ci, que ce soit en RMN, par l'absence de variations de déplacement chimique des protons NH, ou en IR, par celle de variations en nombre d'onde de la bande associée aux vibrateurs NH impliqués dans une liaison hydrogène.

- Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du cyclotétramère **30a** en solution dans CDCl_3

L'équipe de Yang a étudié les α -aminoxycyclopeptides et a réalisé la synthèse d' α -aminoxycyclohexamères.⁷⁶

Elle a montré que ce squelette macrocyclique reposait sur une succession de liaisons hydrogène intramoléculaires de type N-O turn. Cette équipe a ensuite travaillé sur des cyclohexamères mixtes 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-aminoxy}]$ et a démontré, par des études conformationnelles notamment en modélisation moléculaire, qu'ils étaient eux-aussi structurés par un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires alternant N-O turn et γ -turn, comme cela avait pu être observé sur leurs homologues mixtes linéaires (Figure 100).⁹⁰

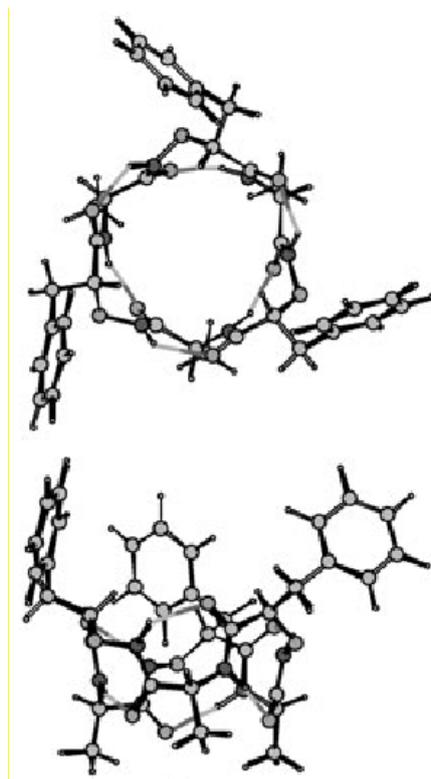


Figure 100: Conformation la plus stable adoptée par le cyclohexamère mixte 1:1-[α/α -aminoxy] par calculs théoriques.

Cette équipe a ensuite analysé les couplages dipolaires présents dans un cyclohexamère mixte 1:1-[α/α -aminoxy] en solution par des expériences NOESY en RMN 2D, dans l'optique de confirmer la conformation mise en évidence par modélisation moléculaire et caractérisant cette auto-structuration spécifique (Figure 101).

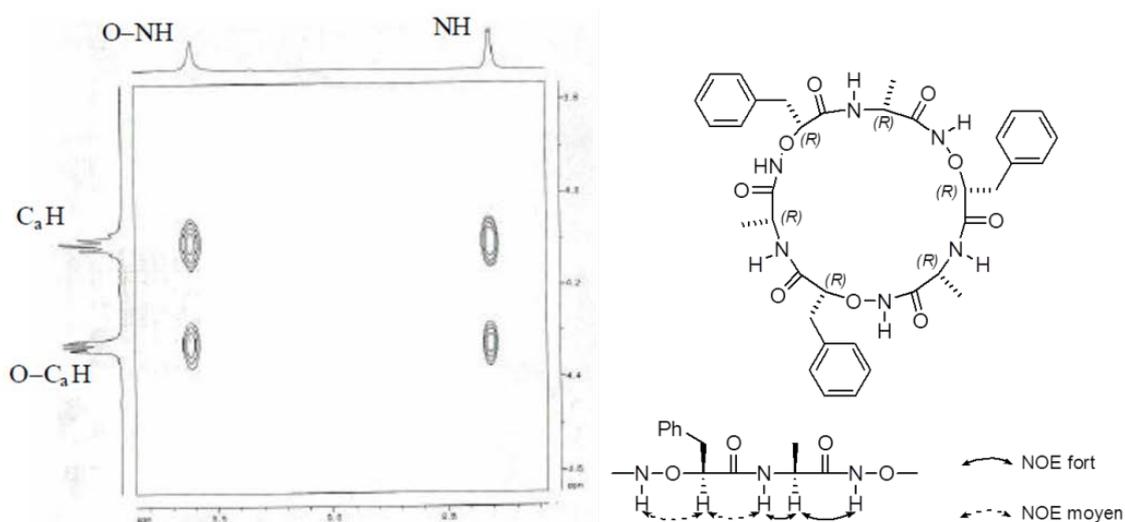


Figure 101: Carte 2D NOESY du cyclohexamère 1:1-[α/α -aminoxy] en solution dans CD_2Cl_2 / 5 mM.

L'équipe de Yang a alors observé une NOE importante entre le NH aminoxy et le fragment méthine indiquant que la géométrie Z de la liaison aminoxydique (O=C-NH-O-) était favorisée et corroborait la présence d'un repliement favorisé (comme cela avait pu être observé dans la série des aza- β^3).

Ce proton NH présente également des couplages dipolaires avec le proton du méthine de l'unité α -aminoxy ceci indiquant qu'il est orienté vers ces groupements dans la conformation majoritaire. Ces informations, couplées à la modélisation moléculaire, ont permis de confirmer la présence de repliements en N-O turn et γ -turn dans le macrocycle.

Afin de confirmer la présence d'une auto-structuration comparable (c'est-à-dire l'alternance d'hydrazinoturn et de γ -turn en solution) au sein de nos cyclo 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino]mères, comme cela a été observé par les études RMN 1D et IR, nous avons analysé de la même manière les couplages dipolaires présents par des expériences NOESY en RMN 2D (Figure 102).

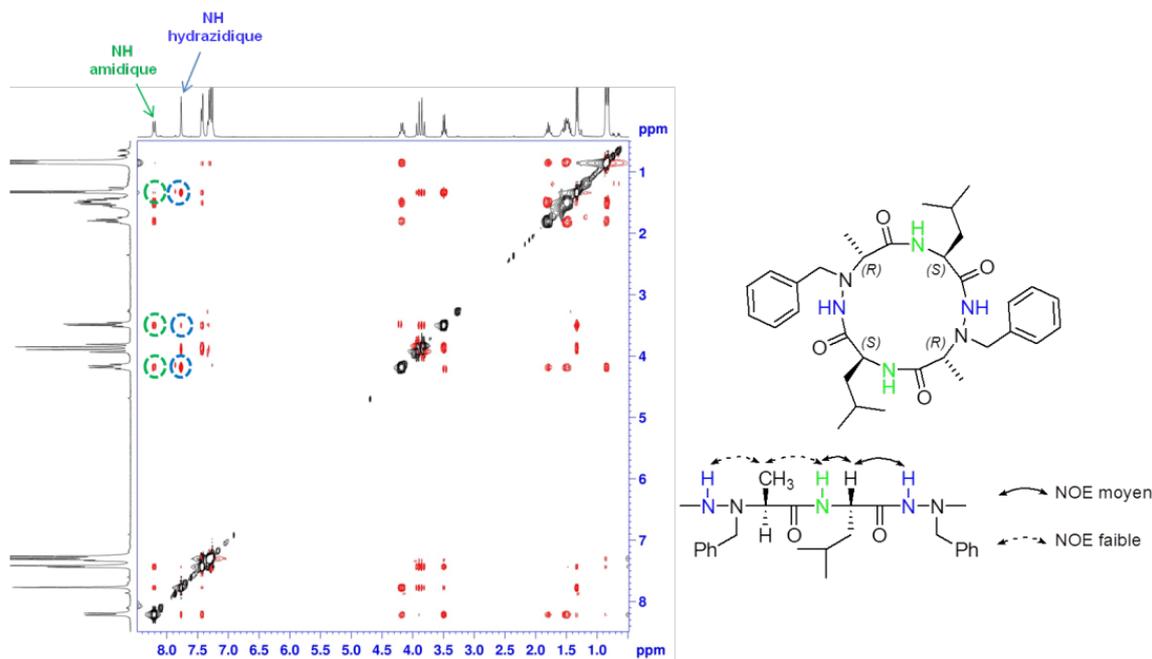


Figure 102: Carte 2D NOESY du cyclotétramère 30a en solution dans CDCl₃ / 10 mM.

Les études structurales réalisées sur le cyclotétramère hétérochiral **30a** montrent une NOE importante entre le NH hydrazidique et le fragment méthine indiquant que la géométrie Z de la liaison carbazidique (O=C-NH-N-) était favorisée et corroborait la présence d'un repliement favorisé (comme pour les aza- β^3 avec l'hydrazinoturn et les α -aminoxy avec le N-O turn).

Ce proton NH présente également des couplages dipolaires avec le proton du méthyle de l'unité α -hydrazino, ceci indiquant qu'il est orienté vers ce groupement dans la conformation majoritaire.

Ces informations, comparées à celles obtenues sur le cyclohexamère mixte 1:1-[α/α -aminoxy] semblent confirmer la présence de repliements de type hydrazinoturn et γ -turn dans le cas de

notre macrocycle **30a**. Celles-ci corroborent donc les résultats obtenus sur ces macrocycles par les études RMN et IR en concentration. Les faibles différences observées entre le cyclotétramère hétérochiral **30a** et le cyclohexamère homochiral 1:1-[α/α -aminoxy] sont probablement dues à la chiralité des carbones asymétriques.

Ces analyses démontrent la présence d'une conformation différente selon que l'on soit à l'état solide ou en solution dans le chloroforme, et donc une dépendance de l'organisation de notre cyclotétramère hétérochiral **30a** à son environnement.

C'est donc cette dépendance que nous nous sommes proposés d'illustrer par la suite, notamment en étudiant le comportement des cyclotétramères **30a** dans différents solvants par le biais des gels.

- Analyse conformationnelle du cyclotétramère hétérochiral **30a** sous forme de gel

Comme nous l'avons signalé précédemment, le chauffage des composés **30a** dans le dodécane et le toluène conduit après refroidissement à un gel. Les gels de molécules de faible masse moléculaire sont généralement dus à des assemblages supramoléculaires, maintenus par des liaisons faibles de type liaisons hydrogène, π - π -stacking etc., capables de piéger un solvant. Ces gels sont généralement thermoréversibles (car dus à l'établissement de liaisons faibles), ce qui en fait d'excellents candidats pour des analyses structurales en température, à la condition d'avoir affaire à des gels humides permettant de visualiser des signaux en RMN à l'état gel.^{143,144}

En effet, dans la plupart des cas reportés dans la littérature, les signaux RMN des gélateurs disparaissent à l'état gel alors qu'ils sont présents à l'état liquide.¹⁴³

Cela s'explique par le fait qu'en considérant les fibres de ces gels comme un cristal de gélateur, la mobilité des molécules dans ce cristal serait donc limitée et les molécules de solvants exclues. Cette disparition des signaux en RMN est un critère de reconnaissance des gels dits « secs ».

Lorsqu'au contraire, il est possible d'observer des signaux bien résolus en RMN, ceci suggère que les molécules gélatrices gardent une bonne mobilité dans les fibres, celles-ci se laissant incorporer par des molécules de solvant. On parlera alors de gel « mouillé ».

Ce phénomène implique donc que le gélateur emprisonne le solvant, en le piégeant dans un réseau de liaisons non covalentes constitué des molécules gélatrices entre-elles. La formation du gel est donc le témoin de l'existence d'une organisation intermoléculaire en solution (donc au sein du gel). Compte tenu de la structure de nos organogélateurs, nous pouvons supposer l'intervention de liaisons hydrogène dans la construction supramoléculaire: il semblerait donc que la formation de cette structure soit en accord avec les résultats présentés à l'état solide, c'est-à-dire la formation de nanotubes.

Ceci constitue donc un phénomène que nous n'avons absolument pas observé dans le cas du chloroforme après chauffage, ceci démontrant une nouvelle fois la dépendance des cyclotétramères hétérochiraux **30a** à l'environnement.

La thermoréversibilité du gel nous a donné la possibilité d'en étudier l'évolution ainsi que certaines de ses propriétés (notamment sa température de transition vitreuse: Tg) en fonction de la température. En effet, les signaux que l'on observe à l'état gel traduisent en fait un

équilibre entre la molécule gélatrice et le système supramoléculaire. L'examen de l'évolution de ces signaux en fonction de la température devrait sans doute nous renseigner sur l'organisation supramoléculaire de nos gélateurs.

C'est donc ce que nous nous sommes proposés d'étudier par les analyses qui suivent.

Nous avons décidé de soumettre le gel à différentes études IR et RMN ^1H en température afin de mettre en évidence le réseau de liaisons hydrogène. Dans cette optique, nous avons alors enregistré des spectres à différentes températures afin de comparer les signaux des vibreurs NH et C=O en IR, et les déplacements chimiques des protons NH en solution par RMN dans le solvant de gélotion toluène. Nous avons à notre disposition un autre solvant de gélotion, le dodécane, dans lequel il était aussi possible d'obtenir des gels. Nous avons dans l'idée de réaliser cette étude dans ces deux solvants de gélotion, afin de vérifier si d'une part nous avons un arrangement différent et d'autre part, d'observer les types d'interactions différentes liés à l'utilisation d'un solvant alcane (liaisons électrostatiques) et d'un aromatique (π - π stacking). Cependant le coût du dodécane deutéré ne nous a pas permis de réaliser l'expérience RMN.

Il nous a donc été juste possible d'étudier le gel dans le toluène en RMN ^1H , celui-ci donnant dans notre cas des signaux bien définis qu'il nous a été possible de comparer avec ceux obtenus dans le CDCl_3 .

- Analyse conformationnelle par IR: influence de la température sur gélateur cyclotétramère hétérochiral **30a** dans le toluène

Comme expliqué plus tôt, les gels sont des assemblages supramoléculaires thermoréversibles car maintenus par des liaisons faibles à une certaine température appelée Tg, température au-delà de laquelle les liaisons se rompent ce qui permet d'obtenir une solution liquide. Il est donc aisé de rompre ces liaisons afin d'obtenir la Tg du gel, c'est-à-dire la température nécessaire pour passer d'un état gel à un état solution.

Nous avons décidé de travailler avec le toluène pour des raisons pratiques afin de pouvoir ensuite comparer les résultats avec la RMN, ce qu'il n'était pas possible de faire avec le dodécane.

Pour cela, nous avons utilisé le même appareillage que dans le cas des spectres IR de routine avec une cellule adaptée à la montée en température. Dans cette cellule, est placé le gel puis, nous avons étudié l'évolution du spectre IR de celui-ci en fonction de la température de 25 °C à 95 °C (Figure 103).

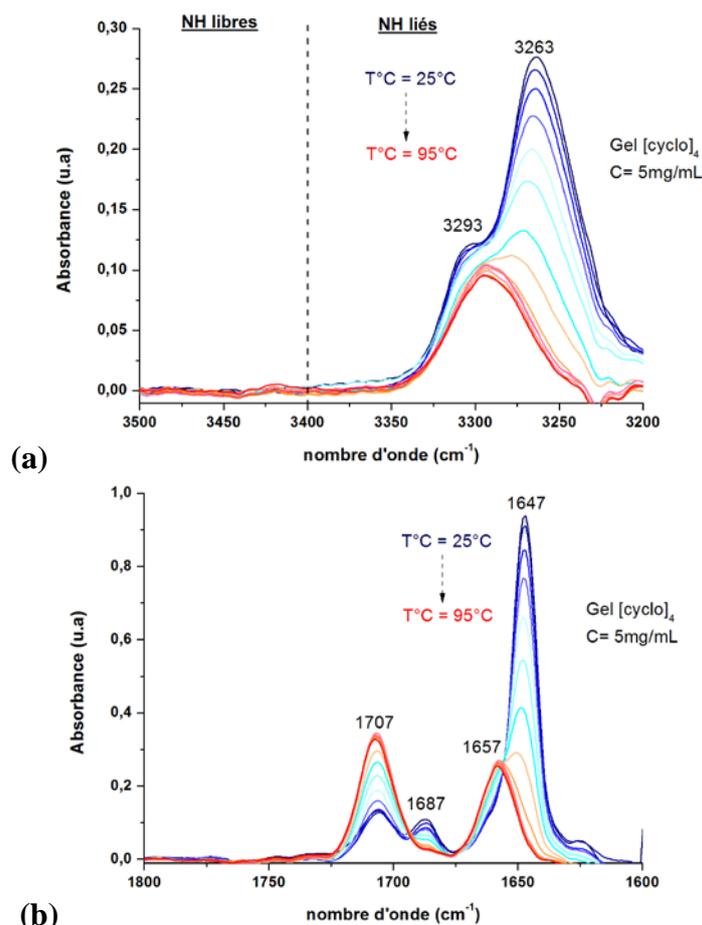


Figure 103: Spectres IR du gélateur 30a en température (25-95 °C) dans le toluène à c = 5mg/mL.

Sur le spectre (a) est représenté le domaine d'élongation des NH. On y observe à température ambiante, deux bandes de vibration, une à 3293 cm⁻¹ et l'autre à 3263 cm⁻¹ qui correspondraient *a priori* à des vibrateurs NH liés (Figure 103). Il est à noter qu'aucun changement significatif sur le positionnement des bandes n'a été observé en chauffant la solution de gel jusqu'à 55°C. A cette température, la bande d'absorption correspondant au nombre d'onde le plus faible, 3263 cm⁻¹, s'effondre au profit de celle se situant à 3293 cm⁻¹ pour n'en former qu'une seule à 55°C, température correspondant à la T_g. Au-delà de la T_g, le gel se casse, ce qui entraîne la rupture des liaisons faibles intermoléculaires qui assurent sa cohésion. On aurait alors pu s'attendre à observer en IR au-delà de la T_g, le passage des bandes de vibration de la zone des NH liés par des liaisons hydrogène vers celle des NH libres et donc à un déplacement vers des nombres d'onde plus élevés (au-delà de 3400 cm⁻¹). Or, dans notre cas, nous remarquons qu'au-delà de la T_g, aucune bande n'apparaît dans la zone supérieure à 3400 cm⁻¹ mais qu'au contraire, une bande de vibration subsiste dans la zone d'élongation des vibrateurs NH impliqués dans une liaison hydrogène. Compte tenu de ces données, nous pouvons émettre l'hypothèse suivante: les deux bandes visibles respectivement à 3293 cm⁻¹ et à 3263 cm⁻¹ à l'état gel correspondent bien à des NH liés par des liaisons hydrogène. Cependant, seule celle à 3263 cm⁻¹ serait impliquée dans le processus de formation du gel. Autrement dit, cette bande représenterait le réseau intermoléculaire de

liaisons hydrogène conduisant à l'association moléculaire en nanotubes. La seconde bande à 3293 cm^{-1} quant à elle, peut être attribuée à une liaison hydrogène intramoléculaire au sein des cycles. En effet, sa valeur, 3293 cm^{-1} , est située dans la même zone que celle obtenue lors des analyses IR en solution dans le CHCl_3 , à 3296 cm^{-1} .

Ainsi le passage de l'état gel à l'état solution correspondrait à la rupture des liaisons hydrogène intermoléculaires au profit de liaisons hydrogène intramoléculaires à l'intérieur des cycles.

Le spectre (b), qui correspond à la zone d'élongation des C=O, répond aux mêmes principes. A 25 °C , sous forme de gel, on observe trois bandes d'absorption à 1707 , 1687 , et 1647 cm^{-1} correspondant donc aux différents vibrateurs C=O impliqués dans des liaisons hydrogène. Quand la température augmente au-delà de la T_g , on ne distingue finalement plus que deux bandes respectivement à 1707 et 1657 cm^{-1} . Ainsi on observe la disparition de deux bandes à 1687 et 1647 cm^{-1} correspondant aux liaisons hydrogène intermoléculaires. Ces bandes sont attribuées au C=O hydrazidique (1687 cm^{-1}) et au C=O amidique (1647 cm^{-1}) comme expliqué dans le cas du cyclotétramère **30a** dans CHCl_3 . La bande à 1707 cm^{-1} quant à elle subsiste, même au-delà de la T_g . Cette valeur est à rapprocher de celle observée lors de l'analyse IR de **30a** dans le CHCl_3 et qui se situait à 1701 cm^{-1} .

La bande présente à 1707 cm^{-1} serait donc due au C=O hydrazidique impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire et encourage fortement l'hypothèse d'un échange très rapide entre liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires. La bande présente à 1657 cm^{-1} correspondrait quant à elle au C=O amidique impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire car proche de celle trouvée pour le C=O amidique de **30a** dans le CHCl_3 (1650 cm^{-1}).

Nous aurions donc un équilibre rapide dans ce cas entre les liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires au sein du nanotube.

Nous pouvons donc penser que le réseau de liaisons hydrogène permettant la cohésion des molécules en nanotube implique donc trois NH et trois C=O des macrocycles (deux amidiques et un hydrazidique pour chaque). Les C=O et NH correspondants à l'autre fonction hydrazidique seraient liés entre eux pour assurer une conformation du cycle relativement plane pouvant permettre l'empilement des molécules en nanotubes. Cette conformation ne serait cependant pas la plus stable à l'état isolé puisque lors de l'éloignement moléculaire et après rupture des liaisons hydrogène intermoléculaires, trois liaisons hydrogène intramoléculaires apparaissent alors dans le cycle (Figure 104).

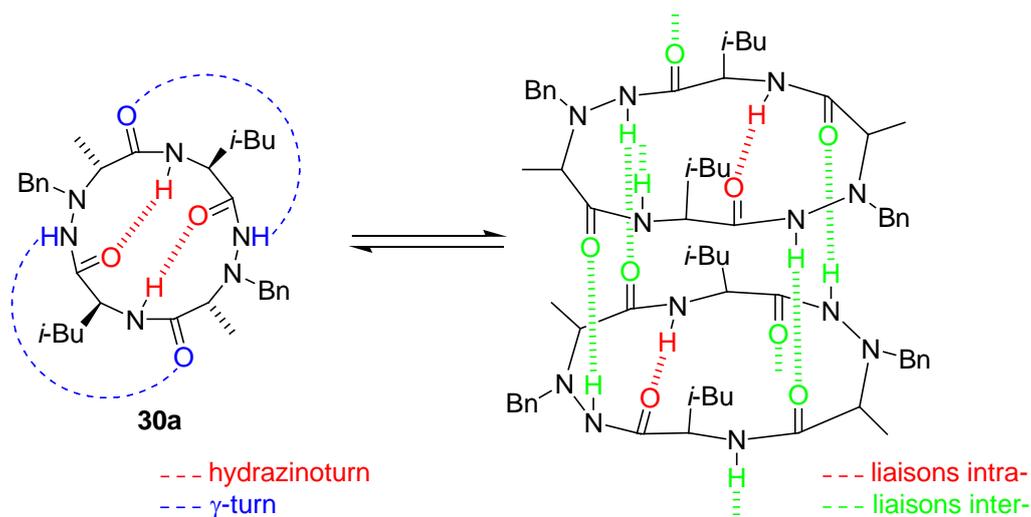


Figure 104: Représentation schématique de l'équilibre entre liaisons hydrogène inter-et intramoléculeaires au sein du gélateur cyclotétramère **30a.**

- Analyse conformationnelle du gélateur cyclotétramère hétérochiral **30a** en RMN ^1H dans le toluène- d_8

Nous nous sommes ensuite attelés aux études du gel en RMN ^1H .

En matière de gel, on qualifie de gel mouillé, un gel dont il est possible de voir les signaux en RMN, et de gel sec, un gel dont la structure fibrillaire empêche le solvant de RMN (ici le toluène- d_8) d'imprégner les fibres.

Les spectres enregistrés à l'état gel montrent des signaux bien résolus confirmant l'état de gel mouillé de **30a**. Il nous a donc été possible de comparer ce spectre à celui obtenu dans le CDCl_3 puis d'observer l'évolution des signaux en fonction de la température. Aussi, dans le but de comparer efficacement les spectres du gel de **30a** dans le toluène- d_8 avec celui du macrocycle « non-gel » **30a** dans le CDCl_3 , il est possible d'attribuer les différents signaux par des études RMN poussées (COSY, NOESY).

Les signaux attribués, nous avons donc comparé les spectres RMN ^1H obtenus (Figure 105).

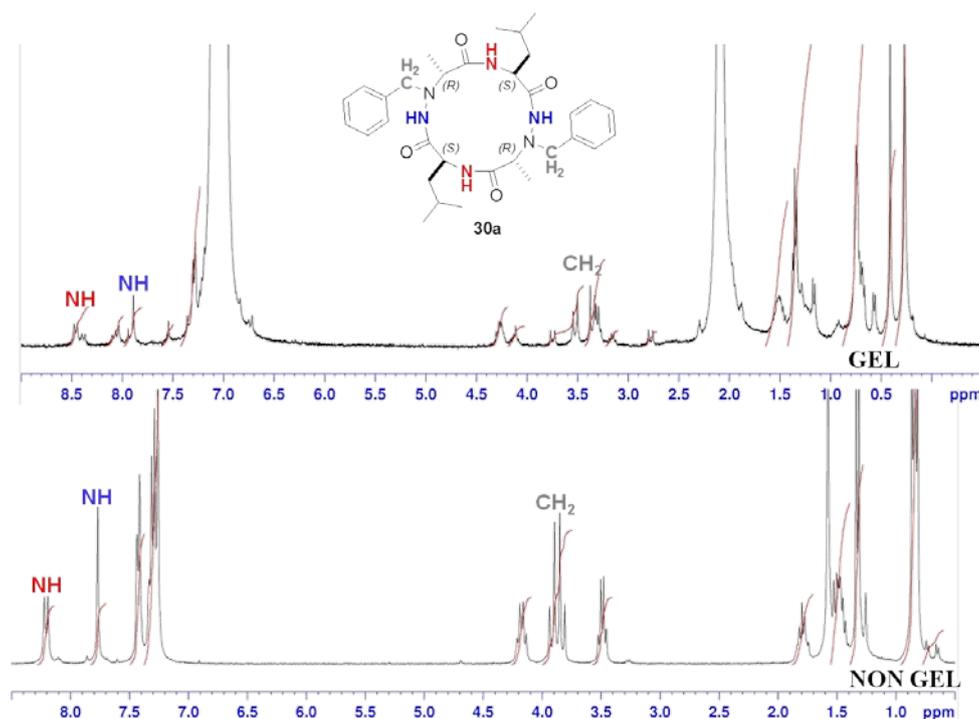


Figure 105: Comparaison des spectres RMN ^1H du gel (Toluène- d_8 / $c = 5\text{mg/mL}$) et du cyclotétramère hétérochiral **30a (CDCl_3 / $c = 10^{-2}\text{ M}$).**

Lors de l'étude du spectre RMN ^1H du cyclotétramère **30a** en solution, nous n'avons observé qu'un seul signal respectivement pour les deux protons NH hydrazidiques et pour les deux protons NH amidiques. *A contrario*, le spectre du gel nous montre l'existence d'un dédoublement des signaux, correspondant à chacun des NH à la fois hydrazidiques et amidiques.

Ceci nous indique que les protons NH hydrazidiques et amidiques du gel ne sont donc pas équivalents entre eux et témoignent d'un environnement chimique différent de celui qui existe en solution où les quatre résidus du macrocycle se trouvaient identiques deux à deux.

Ceci corrobore donc les études IR du gel qui nous avaient démontré l'existence d'une conformation des macrocycles **30a** sous forme de nanotubes, différant de celle en solution, qui reposait sur la formation de liaisons hydrogènes exclusivement intramoléculaires.

De plus, ceci encourage l'hypothèse d'un équilibre entre les molécules gélatrices et le système supramoléculaire puisque les signaux que l'on peut voir correspondraient aux molécules libres dans le gel.

De la même manière, les protons du CH_2 du benzyle qui donnaient un système AB en solution, sont totalement différenciés dans le gel.

Nous avons ensuite décidé d'effectuer une étude comparative en RMN ^1H en fonction de la température afin de visualiser les déplacements chimiques des différents signaux (Figure 106).

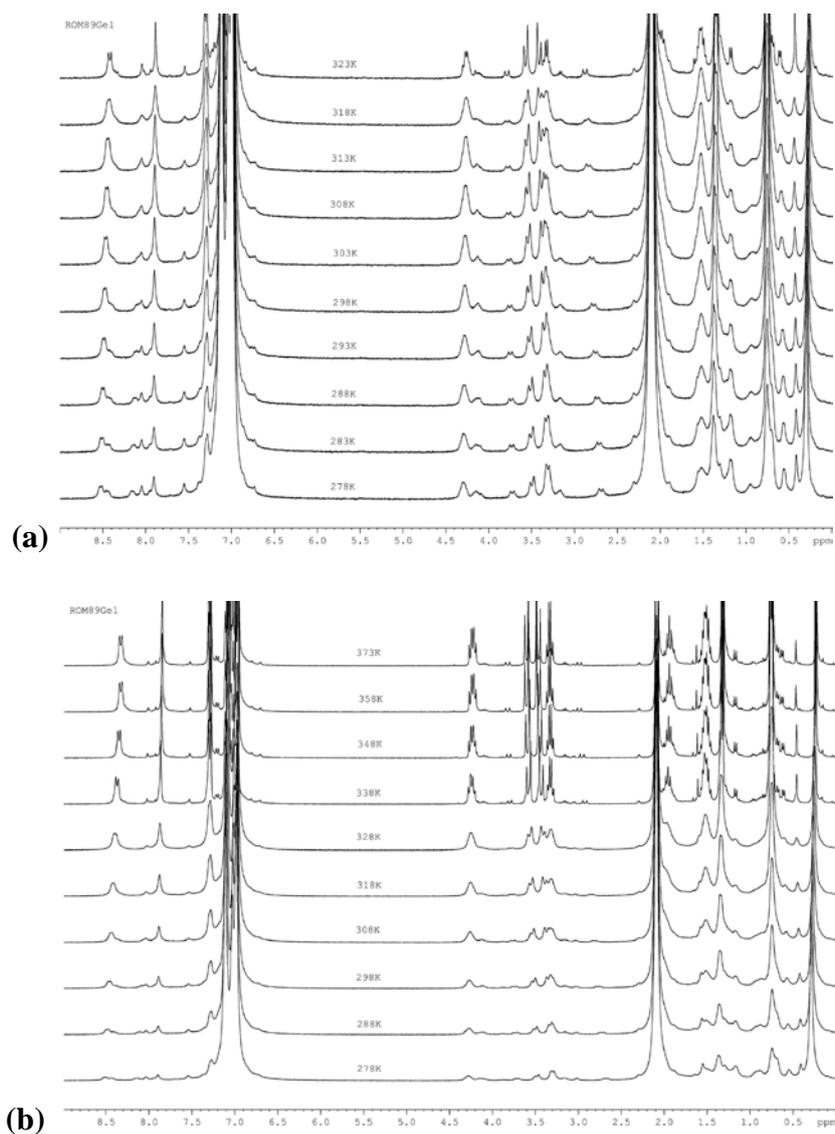


Figure 106: Spectres RMN ^1H du gélateur 30a en température: (a) de 5 °C à 50 °C (incrément 5 °C), (b) de 5 °C à 100 °C (incrément 10 °C) dans le toluène- d_8 .

Des spectres des gélateurs ont été enregistrés dans le toluène- d_8 à différentes températures comprises entre 5°C (état gel) et 100°C (état solution liquide) pour analyser l'évolution des signaux des protons NH quand on passe du gel à la solution.

Nous pouvons observer dans un premier temps, que, à 5°C (état gel), deux pics (signaux) pour un seul proton NH, ce qui est significatif de l'existence de deux conformations. À mesure que la température augmente, nous notons une amélioration progressive de la résolution spectrale et d'un affinement des signaux significatifs juste après 50°C (ceci traduit le comportement liquide des molécules gélatrices). À cela, un phénomène de coalescence, en passant de l'état gel à l'état solution, est observé durant la montée en température du gel ce qui confirme l'existence de deux conformations pour le cyclotétramère **30a**. Cette observation corrobore ainsi les hypothèses que nous avons faites lors des analyses IR du gel, à savoir qu'au sein du

nanotube, subsistait une liaison hydrogène intramoléculaire permettant au cycle d'adopter une conformation plane afin de permettre l'auto-assemblage.

Au-delà des 50°C (ce qui correspond au passage de la Tg trouvée en IR), le spectre RMN ^1H dans le toluène- d_8 prend l'allure de celui que l'on avait dans le CDCl_3 , avec un seul signal pour les deux protons NH hydrazidiques et un seul signal pour les deux protons NH amidiques. On passerait alors à une conformation unique au sein du cyclotétramère **30a**. Nous pouvons alors supposer que, passant la Tg du gel, le nanotube s'effondre par rupture des liaisons hydrogène intermoléculaires, et que les macrocycles adoptent alors la conformation qu'ils avaient dans le CDCl_3 .

De plus, on observe un léger blindage des protons NH amidiques et hydrazidiques pendant la montée en température du gel. Ce phénomène a déjà été observé dans la littérature¹⁴⁵ et décrit par Allix au laboratoire. Il semblerait donc que ce déblindage soit le fait d'un désassemblage de l'édifice supramoléculaire en petits agrégats dans lesquels les protons seraient moins blindés. Dans notre cas, ceci pourrait donc convenir à un certain réarrangement de nos molécules. En effet, lors de l'analyse du gel en IR, nous avons démontré que la montée en température était synonyme de l'effondrement du gel ainsi que du réarrangement des liaisons hydrogène (passant d'inter- à intramoléculaires) au sein des macrocycles.

De même, les protons méthyléniques des groupements benzyles non-équivalents, qui donnaient lieu à un système AB dans le CDCl_3 , forment un système presque AX dans le toluène- d_8 où ces protons se retrouvent dans un environnement chimique permettant de mieux les différencier. Ceci peut être dû à la présence du toluène- d_8 favorisant les interactions de type π - π -stacking avec les benzyles du macrocycle.

Les études RMN ^1H et IR en température réalisées sur le gélateur cyclotétramère **30a** nous ont permis de confirmer que la formation du gel était bien liée à l'auto-assemblage des macrocycles sous forme de nanotubes. Ces études nous ont également montré que cette conformation n'était pas conservée, une fois passée la Tg, mais donnait lieu à une conformation reposant sur la formation d'un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires comme cela avait pu être observé sur les cyclotétramères **30a** en solution dans le CDCl_3 .

L'étude des gels a donc permis de mettre en évidence la dépendance de notre cyclotétramère hétérochiral **30a** à l'environnement chimique. Il s'agissait ensuite de déterminer si le changement de configuration absolue des carbones asymétriques du squelette macrocyclique pouvait lui aussi agir sur sa conformation.

Nous avons alors poursuivi notre étude sur les cyclotétramères homochiraux **30b**.

b. Cyclotétramère homochiral 1:1-[α/α -N ^{α} -Bn-hydrazino] 30b

La structure cristalline du cyclotétramère hétérochiral **30a** ne laissait aucun doute sur l'importance de l'orientation des chaînes latérales dans le macrocycle et donc le rôle primordial que pouvait jouer la configuration absolue des carbones asymétriques. Afin d'évaluer cette importance, nous avons donc décidé de synthétiser le cyclotétramère homochiral **30b**.

Il n'a cependant pas été possible d'en obtenir des cristaux, en dépit des nombreux essais réalisés, afin de confirmer la structure adoptée à l'état solide.

De la même manière, nous avons voulu tester la dépendance à l'environnement du cyclotétramère homochiral **30b**, en particulier aux solvants, comme nous l'avons fait dans le cas du cyclotétramère hétérochiral **30a**. Il n'a cependant pas été possible, sous les mêmes conditions, d'obtenir un gel du cyclotétramère homochiral **30b**, que l'on soit dans le toluène, le dodécane ou d'autres solvants usuels de synthèse organique.

Nous nous sommes donc attachés à étudier sa conformation en solution, en procédant aux mêmes expériences RMN ^1H et IR réalisées sur l'homologue hétérochiral **30a** dans le CDCl_3 et CHCl_3 .

- Analyse par RMN ^1H : influence de la concentration sur le cyclotétramère homochiral **30b** dans CDCl_3

Pour cela nous avons dans un premier temps comparé les spectres RMN ^1H des deux macrocycles ($\text{CDCl}_3 / 10 \text{ mM}$) (Figure 107).

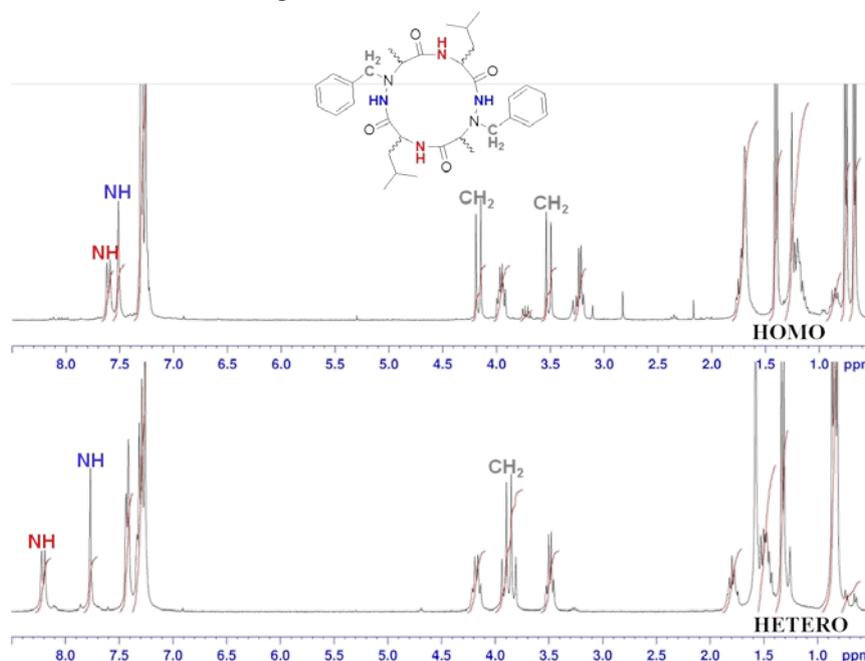


Figure 107: Comparaison des spectres RMN ^1H des cyclotétramères hétéro- et homochiral **30a et **30b** en solution ($\text{CDCl}_3 / 10^{-2} \text{ M}$).**

En comparant les spectres RMN ^1H à une même concentration ($c = 10^{-2} \text{ M}$) des cyclotétramères hétéro- et homochiraux **30a** et **30b**, nous avons observé des déplacements chimiques plus faibles pour les protons NH en série homochirale. Ainsi les NH hydrazidiques sont observés à 7.52 et 7.80 ppm et les NH amidiques à 7.60 et 8.30 ppm respectivement pour l'homo- **30b** et l'hétérochiral **30a**.

Nous avons déjà remarqué ce même type de différences sur les précurseurs tétramères hétéro- et homochiraux **27a** et **27b** et nous avons alors attribué cela à des liaisons hydrogène

intramoléculaires moins fortes dans le cas du tétramère homochiral **27b**. Nous observons cependant que les CH₂ du benzyle qui, dans le cas du cyclotétramère hétérochiral **30a**, donnaient lieu à un système AB (protons non-équivalents), donnent, dans le cas de l'homochiral, un système qui s'apparente à un système AX (protons complètement différents). Ceci signifie donc que l'environnement chimique de ces protons est complètement changé d'un homologue à l'autre, ce qui permet de discriminer plus clairement les deux protons CH₂ du benzyle. Le cyclotétramère homochiral **30b** garde quant à lui une grande symétrie en solution (symétrie C₂) ce qui illustre que les quatre résidus du macrocycle sont dans un environnement identique deux à deux.

Nous avons ensuite décidé d'étudier l'influence de la concentration sur notre cyclotétramère homochiral **30b** en RMN ¹H, en faisant varier celle-ci de 10⁻⁵ M à 10 mM. Il n'était cependant pas possible d'aller au-delà de 10 mM, en raison de la faible solubilité de ce cyclotétramère dans le CDCl₃ (Figure 108).

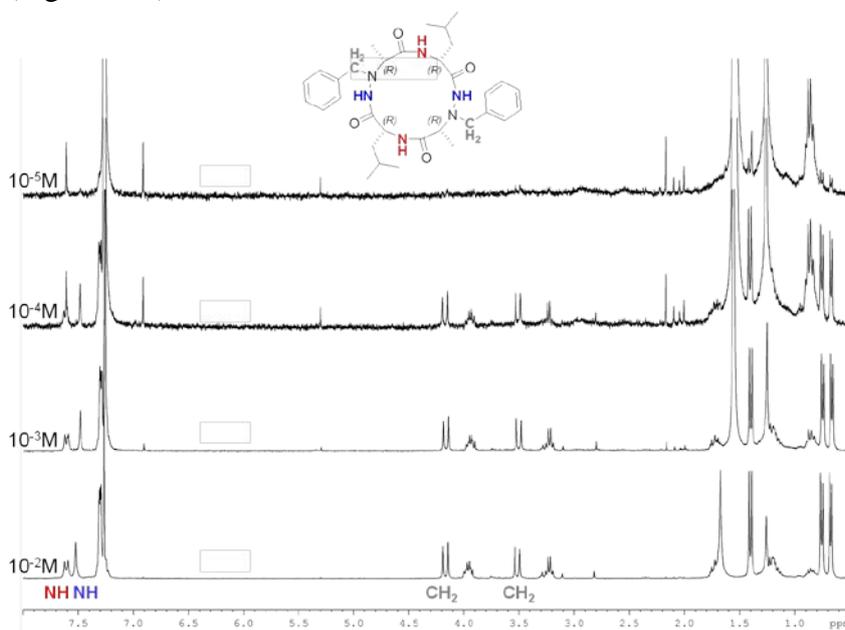


Figure 108: Spectres RMN ¹H du cyclotétramère homochiral **30b à différentes concentrations (de $c = 10^{-5}$ M à $c = 10^{-2}$ M) dans CDCl₃.**

A $c = 10^{-2}$ M, les protons NH hydrazidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 7.52$ ppm) du cyclotétramère homochiral **30b** ont des déplacements chimiques proches de ceux trouvés dans l'homologue linéaire homochiral **27b** ($\delta_{\text{NH}} \approx 7.58$ ppm). Cette valeur est significative de protons NH hydraziques liés comme démontré plus tôt. De la même manière, on trouve des valeurs proches pour les protons NH amidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 7.60$ ppm) du cyclotétramère homochiral **30b** avec des NH amidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 8.07$ ppm) trouvées dans le cas du tétramère homochiral **27b**. En diminuant la concentration jusqu'à 10⁻⁵ M, nous n'observons aucun changement significatif (<0.1 ppm entre 10⁻² M et 10⁻³ M) au niveau du déplacement chimique des protons NH hydrazidiques et amidiques. Ces protons NH sont donc très peu sensibles aux variations de concentration, ceci signifie qu'ils sont impliqués dans un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires.

- Analyse par IR: influence de la concentration sur le cyclotétramère homochiral **30b** dans CHCl_3

Nous avons poursuivi nos investigations par une analyse par IR dans les mêmes conditions que l'homologue cyclique hétérochiral **30a**. Nous avons donc fait varier la concentration de 10 mM à $5 \cdot 10^{-5}$ M dans le CHCl_3 et observé l'allure des spectres IR obtenus (Figure 109).

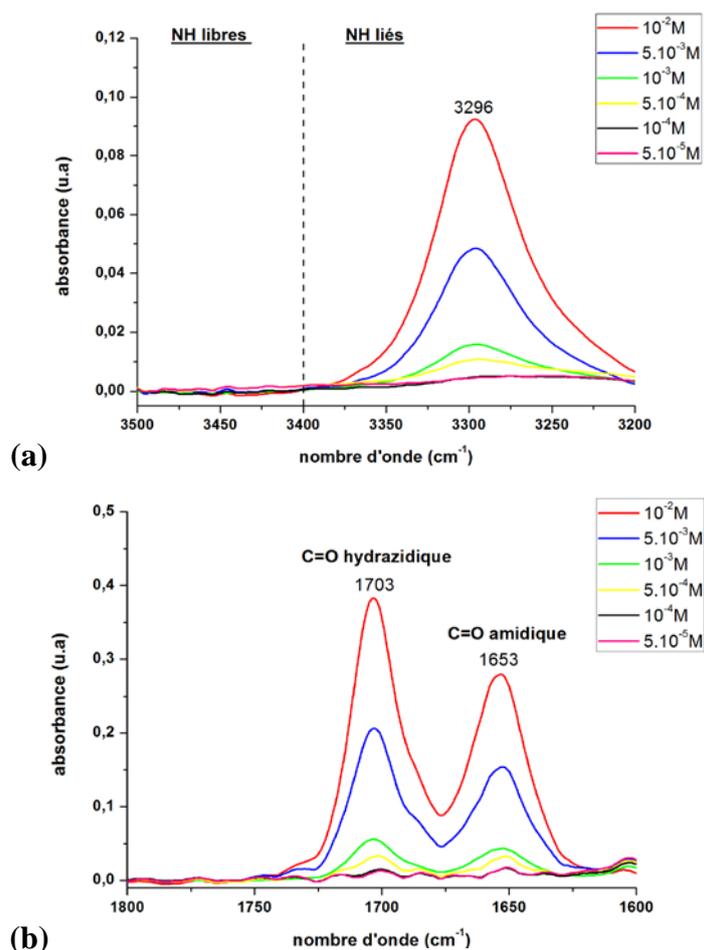


Figure 109: Spectres IR du cyclotétramère homochiral **30b à différentes concentrations (de $c = 5 \cdot 10^{-5}$ M à $c = 10^{-2}$ M) dans CHCl_3 .**

Nous avons observé la présence d'une bande d'absorption unique dans le domaine d'élongation (a) de la liaison NH ($\nu_{\text{N-H}} = 3296 \text{ cm}^{-1}$) qui ne varie pas malgré la diminution de la concentration et indique donc que les protons NH du macrocycle sont impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Nous pouvons remarquer que cette valeur est identique à celle que nous avons pu trouver pour le cyclotétramère hétérochiral **30a** ($\nu_{\text{N-H}} = 3296 \text{ cm}^{-1}$).

De la même manière, nous retrouvons le même comportement sur le spectre (b), correspondant au domaine d'élongation de la liaison C=O, quand nous diminuons la concentration. Il est possible d'y observer deux bandes d'absorption correspondant aux C=O hydrazidiques liés ($\nu_{\text{C=O}}^{\text{hydrazidique}} = 1703 \text{ cm}^{-1}$) et aux C=O amidiques liés ($\nu_{\text{C=O}}^{\text{amidique}} = 1653 \text{ cm}^{-1}$). Ces valeurs sont de plus quasi identiques à celles trouvées

dans le cas de l'homologue hétérochiral **30a**, $\nu_{(C=O)\text{hydrazidique hétérochiral}} = 1701 \text{ cm}^{-1}$ et $\nu_{(C=O)\text{amidique hétérochiral}} = 1650 \text{ cm}^{-1}$. Ces résultats sont donc en accord avec la présence exclusive de liaisons hydrogène intramoléculaires au sein du macrocycle homochiral **30b** et excluent de ce fait la formation de nanotubes dans le CHCl_3 .

- Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du cyclotétramère **30b** en solution dans CDCl_3

Afin de confirmer la présence d'une auto-structuration en hydrazinoturn et γ -turn en solution au sein du cyclotétramère **30b**, comme cela a été observé par les études RMN 1D et IR, nous avons analysé de la même manière les couplages dipolaires présents par des expériences NOESY en RMN 2D au sein du cyclotétramère **30b** (Figure 110).

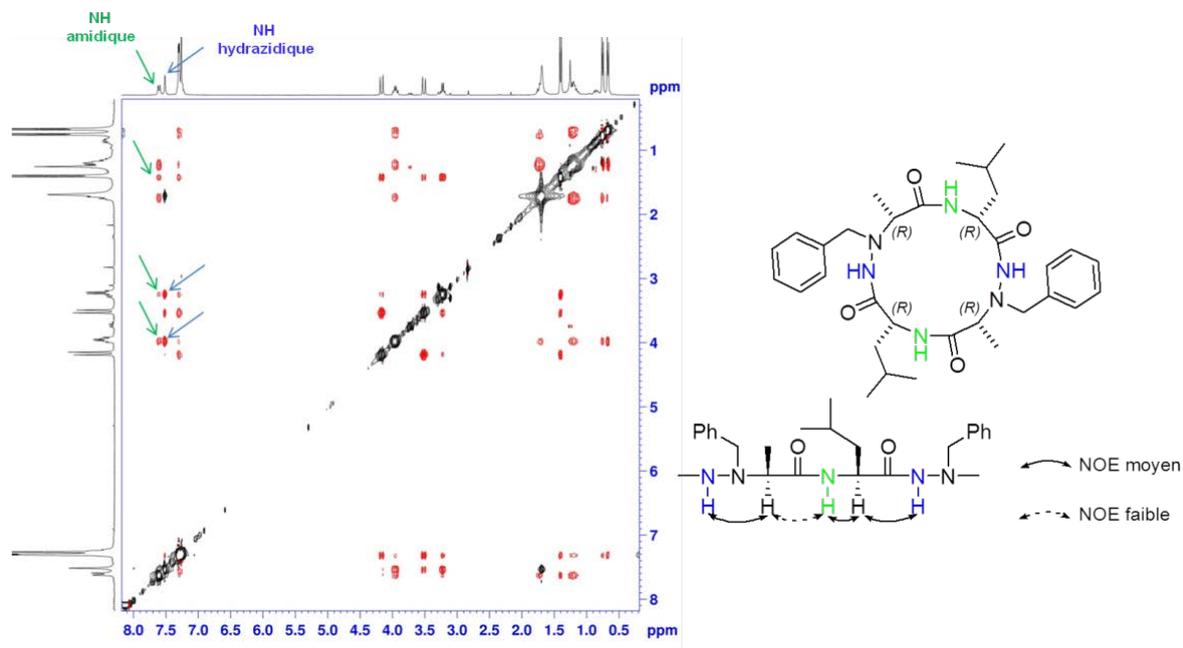


Figure 110: Carte 2D NOESY du cyclotétramère 30b dans CDCl_3 / 10 mM.

Les études structurales réalisées sur le cyclotétramère homochiral **30b** montrent non seulement que la géométrie Z de la liaison carbazidique ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}-\text{N}-$) était favorisée (NOE importante entre le NH hydrazidique et le fragment méthine), mais aussi exactement les mêmes corrélations observées sur le cyclohexamère mixte homochiral 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-aminoxy}]$ qui étaient caractéristiques des protons impliqués dans les repliements en N-O turn et γ -turn. Ceci correspond donc, dans le cas du cyclotétramère **30b**, à la présence de repliements sous forme d'hydrazinoturn et de γ -turn alternés comme cela a pu être observé sur les analyses RMN et IR en concentration.

L'analyse IR réalisée sur le cyclotétramère homochiral **30b** corrobore les résultats obtenus lors de l'analyse RMN ^1H et démontre la formation exclusive de liaisons hydrogène

intramoléculaires au sein de ce cyclotétramère dans le CHCl_3 . Ces analyses montrent de plus un comportement quasi identique des cyclotétramères homo- et hétérochiral **30a** et **30b** dans le CHCl_3 . En IR, nous retrouvons des comportements identiques (une seule bande dans la zone des NH et deux bandes dans la zone des C=O permettant de les discriminer à la fois pour l'homo- **30b** et l'hétérochiral **30a**). Nous observons également des valeurs de nombre d'onde quasi-égales pour les vibrateurs NH, $\nu_{(\text{N-H})} = 3296 \text{ cm}^{-1}$ à la fois pour **30a** et **30b**, et pour les vibrateurs C=O, $\nu_{(\text{C=O})\text{hydrazidique homochiral}} = 1703 \text{ cm}^{-1}$ et $\nu_{(\text{C=O})\text{amidique homochiral}} = 1653 \text{ cm}^{-1}$ pour **30b** contre $\nu_{(\text{C=O})\text{hydrazidique hétérochiral}} = 1701 \text{ cm}^{-1}$ et $\nu_{(\text{C=O})\text{amidique hétérochiral}} = 1650 \text{ cm}^{-1}$ pour **30a**. En RMN ^1H , les déplacements chimiques associés aux protons NH restent relativement proches même s'ils sont moins élevés dans le cas du cyclotétramère homochiral **30b** ; $\delta_{\text{NH hydrazidiques}} \approx 7.52 \text{ ppm}$ et $\delta_{\text{NH amidiques}} \approx 7.60$ pour **30b**, $\delta_{\text{NH hydrazidiques}} \approx 7.80 \text{ ppm}$ et $\delta_{\text{NH amidiques}} \approx 8.30 \text{ ppm}$ pour **30a**. L'étude en concentration révèle le même comportement des protons NH de ces deux séries qui sont peu sensibles aux variations de concentration et sont donc impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Ces affirmations démontrent donc la présence d'une conformation identique en solution selon que l'on soit en série homo- ou hétérochirale basée sur la formation d'un réseau de liaisons hydrogène exclusivement intramoléculaires et nous confirment que la chiralité des carbones asymétriques des chaînes latérales n'a pas de rôle à jouer dans la conformation de nos cyclotétramères homo- et hétérochiraux **30a** et **30b** en solution.

Néanmoins, le fait de ne pas observer de gel pour le cyclotétramère homochiral **30b** montre que les légères variations structurales occasionnées par le changement de chiralité du carbone asymétrique empêchent l'approche des molécules entre elles. La chiralité joue donc un rôle important dans la formation de nanotubes à partir des cyclotétramères **30a** et **30b**.

IV.6.3. Analyses structurales du cyclohexamère hétérochiral 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] **31a**

Comme le démontre l'analyse par diffraction des rayons X du cyclotétramère hétérochiral **30a**, les cavités internes de ces derniers ne permettent pas d'envisager son utilisation pour le transport de particules dans le nanotube. Il était intéressant de savoir si le cyclohexamère hétérochiral **31a** pouvait également adopter cette structuration et permettre ainsi d'obtenir des cavités plus grandes. Nous n'avons malheureusement pas pu obtenir des cristaux analysables par diffraction des rayons X.

Nous avons cependant observé que les cyclohexamères **31a** étaient capables de gélifier le cyclohexane ce qui nous renseigne sur une certaine propension de ces macrocycles à se structurer en réseaux.

Nous avons, suite à cela, décidé d'étudier la conformation du cyclohexamère hétérochiral en solution afin de la comparer d'une part au cyclotétramère **30a** mais aussi afin de vérifier si la taille du cycle pouvait elle aussi influencer sur le maintien de la forme nanotube en solution. Cependant, en raison du coût du cyclohexane deutéré, il n'a pas été possible de poursuivre nos investigations en IR et RMN ^1H en fonction de la température sur le gélateur cyclohexamère **31a**. Nous nous sommes concentrés sur des études conformationnelles en concentration en

RMN ^1H et IR dans le CDCl_3 par souci de cohérence avec les expériences déjà menées sur les oligomères 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-N}^\alpha\text{-Bn-hydrzino}]$ linéaires et cycliques.

a. Analyse par RMN ^1H en solution: influence de la concentration sur le cyclohexamère **31a** dans CDCl_3

Nous avons tout d'abord étudié le cyclohexamère **31a** dans le CDCl_3 .

En RMN ^1H , à une concentration de 10 mM, nous observons un seul signal respectivement pour les trois protons NH hydrazidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 8.40$ ppm) et pour les trois protons NH amidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 9.38$ ppm) qui caractérisent le cyclohexamère **31a** révélant une grande symétrie dans la molécule (symétrie C_3) (Figure 111).

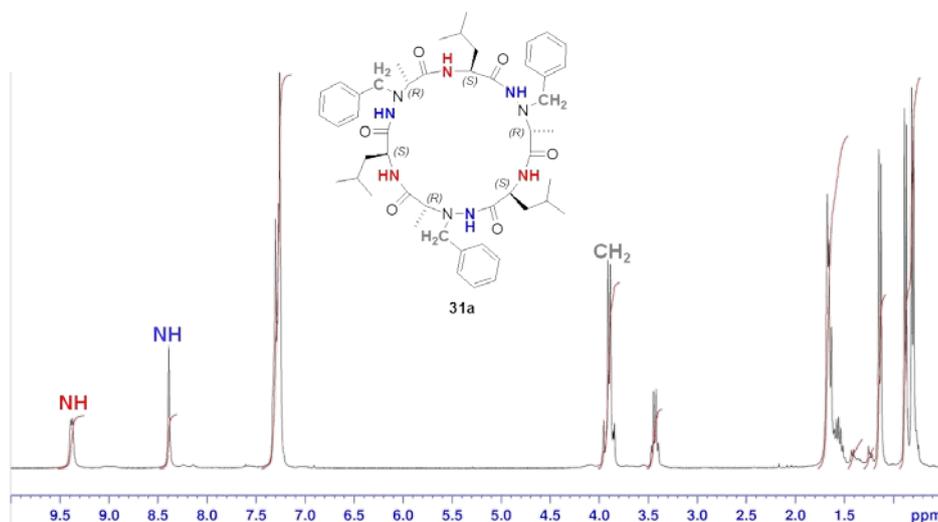


Figure 111: Spectre RMN ^1H du cyclohexamère **31a (CDCl_3 / 10^{-2} M).**

Nous remarquons également un fort déblindage des protons NH, en particulier les amidiques contrairement à ce que nous avons pu observer sur les cyclotétramères homo- et hétérochiraux **30a** et **30b**.

Nous avons ensuite étudié l'influence de la concentration sur notre macrocycle **31a** en RMN ^1H dans le CDCl_3 , en faisant varier celle-ci de 10^{-5} M à 10^{-2} M afin de vérifier la présence, mais aussi de déterminer le type de liaisons hydrogène au sein du macrocycle (Figure 112).

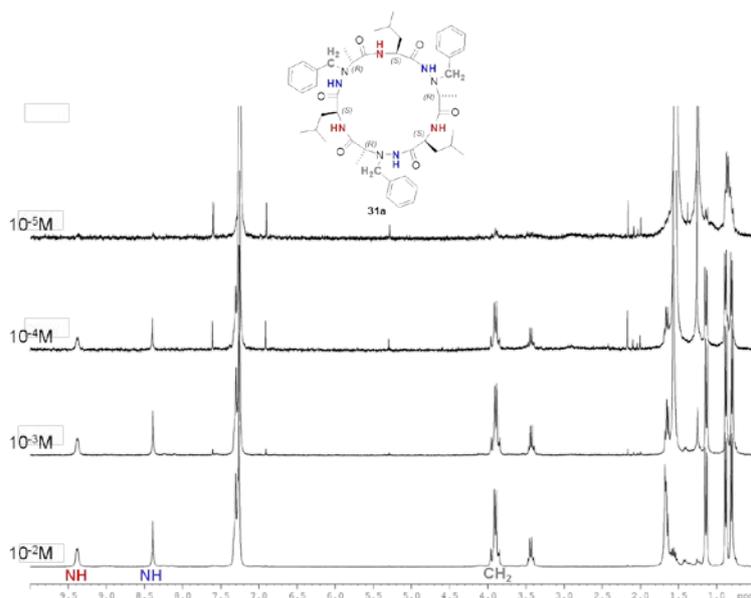


Figure 112: Spectres RMN ^1H du cyclohexamère **31a à différentes concentrations (de $c = 10^{-5}$ M à $c = 10^{-2}$ M) dans CDCl_3 .**

En augmentant la concentration jusqu'à 10^{-2} M, nous n'observons aucun changement au niveau du déplacement chimique des protons NH hydrazidiques et amidiques. Ces protons NH sont très peu sensibles aux variations de concentration. Il n'a cependant pas été possible de comparer les valeurs des protons NH du cyclohexamère **31a** avec celles du précurseur amide linéaire pour en conclure vis-à-vis de l'implication dans des liaisons hydrogène intramoléculaires. Cependant le fort déblindage observé pour les protons NH et en particulier les protons NH amidiques ($\delta_{\text{NH}} \approx 9.38$ ppm) ne laisse aucun doute quant à la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires. En effet, l'équipe de Le Grel avait observé des déplacements chimiques pour les NH (azaPhe) à 10.26 ppm sur le cyclohexamère $\alpha\text{-N}^\alpha\text{-Bn-aza-}\beta^3$. Ceci laissant à penser que dans le cas du cyclohexamère **31a**, les liaisons hydrogène intramoléculaires, en particulier celles responsables de l'hydrazinoturn, seraient donc beaucoup plus robustes et ce qui donnerait *a priori* une structuration de la force de celle observée pour les aza- β^3 .

Il semblerait donc que comme pour les cyclotétramères hétéro- et homochiraux **30a** et **30b**, il n'y ait absolument pas de nanotubes en solution dans ce solvant.

*b. Analyse par IR: influence de la concentration sur le cyclohexamère hétérochiral **31a** dans CHCl_3*

Nous avons travaillé dans les mêmes conditions que les cyclotétramères **30a** et **30b**. Nous avons donc fait varier la concentration de 10^{-2} M à 10^{-4} M dans le CHCl_3 (il n'était pas possible d'aller plus bas en raison de la disparition du signal en IR) et observé l'allure des spectres IR obtenus (Figure 113).

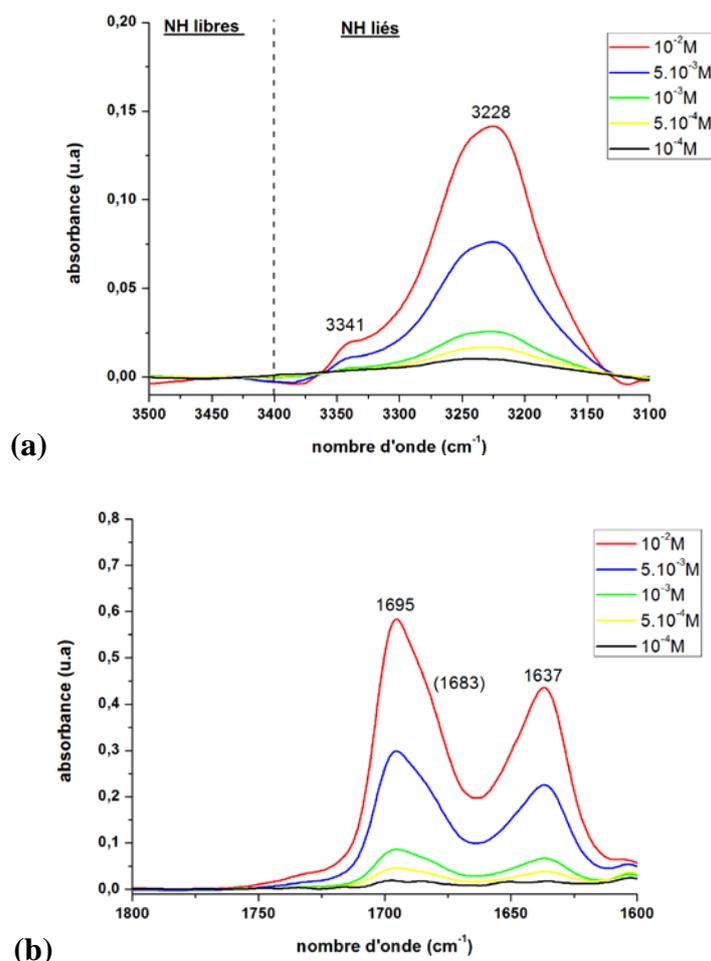


Figure 113: Spectres IR du cyclohexamère 31a à différentes concentrations (de $c = 10^{-4}$ M à $c = 10^{-2}$ M) dans CHCl_3 .

Nous avons observé la présence de deux bandes d'absorption à 3341 et 3228 cm⁻¹ dans le domaine d'élongation de la liaison NH, qui ne varient pas malgré les évolutions de la concentration et indiquent donc que les vibrateurs NH du macrocycle **31a** sont *a priori* impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires. Nous n'avions jusqu'alors jamais observé la présence de deux bandes de vibration dans le domaine d'élongation des NH sur les cyclotétramères homo- et hétérochiraux **30a** et **30b**, sauf dans le cas de l'étude en température du gélateur cyclotétramère hétérochiral **30a** dans le toluène-*d*₈.

Nous les avons alors attribuées à des liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires. Cependant, nous trouvons dans le cas présent, des vibrateurs NH avec des valeurs de nombre d'onde relativement éloignées ($\nu_{\text{(N-H)}} = 3341$ et 3228 cm⁻¹) de celles du gélateur **30a** qui était structuré par des liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires dans le toluène-*d*₈ ($\nu_{\text{(N-H)}} = 3293$ et 3263 cm⁻¹).

De la même manière, les valeurs trouvées ici sont relativement éloignées de celles des cyclotétramères hétéro- et homochiraux **30a** et **30b** dans le CHCl_3 ($\nu_{\text{(N-H)}} = 3341$ et 3228 cm⁻¹ pour le cyclohexamère **31a** contre $\nu_{\text{(N-H)}} = 3296$ cm⁻¹ pour les cyclotétramères **30a** et **30b**). Ceci pourrait nous faire penser à une association sous forme de nanotubes. Cependant, ces deux bandes subsistent même à très faible concentration (donc ne peuvent donc pas être

attribuées à des liaisons intermoléculaires) et sont donc plus en accord avec la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires au sein du macrocycle plutôt qu'à la persistance d'une forme nanotube à faible concentration. Il semblerait qu'il soit possible de discriminer les deux vibrateurs NH hydrazidique et amidique présents dans le cyclohexamère **31a**. La structuration au sein du cyclohexamère **31a** semble donc être la même que celle au sein des cyclotétramères hétéro- et homochiraux **30a** et **30b** en solution, c'est-à-dire reposant sur la formation de liaisons hydrogène exclusivement intramoléculaires.

Il semblerait cependant que, dans le cas de **31a**, l'on puisse soit discriminer les deux types de vibrateurs NH, soit que l'on ait alors deux conformations présentes en solution. Ceci pourrait expliquer que l'on ne visualise pas ce phénomène en RMN ^1H étant donné que le temps d'expérience très court de l'IR peut permettre de visualiser des phénomènes conformationnels intermittents qui sont impossibles à visualiser à l'échelle de temps de la RMN.

c. Expérience NOESY: Analyse des couplages dipolaires du cyclohexamère 31a en solution dans CDCl_3

Les études structurales réalisées sur le cyclohexamère hétérochiral 1:1- $[\alpha/\alpha\text{-}N^\alpha\text{-Bn-hydrazino}]$, montrent une NOE importante entre le NH hydrazidique et le fragment méthine indiquant que la géométrie *Z* de la liaison carbazidique ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}-\text{N}-$) et corroborent la présence d'un repliement favorisé (comme pour le cyclotétramère hétérochiral **30a**)

Ce proton NH présente également des couplages dipolaires avec le proton du méthyle de l'unité α -hydrazino, ceci indiquant qu'il est orienté vers ce groupement dans la conformation majoritaire. Ces informations, identiques à celles obtenues sur le cyclotétramère hétérochiral **30a** ont permis de confirmer la présence de repliements en hydrazinoturn et γ -turn dans le macrocycle **31a** (Figure 114).

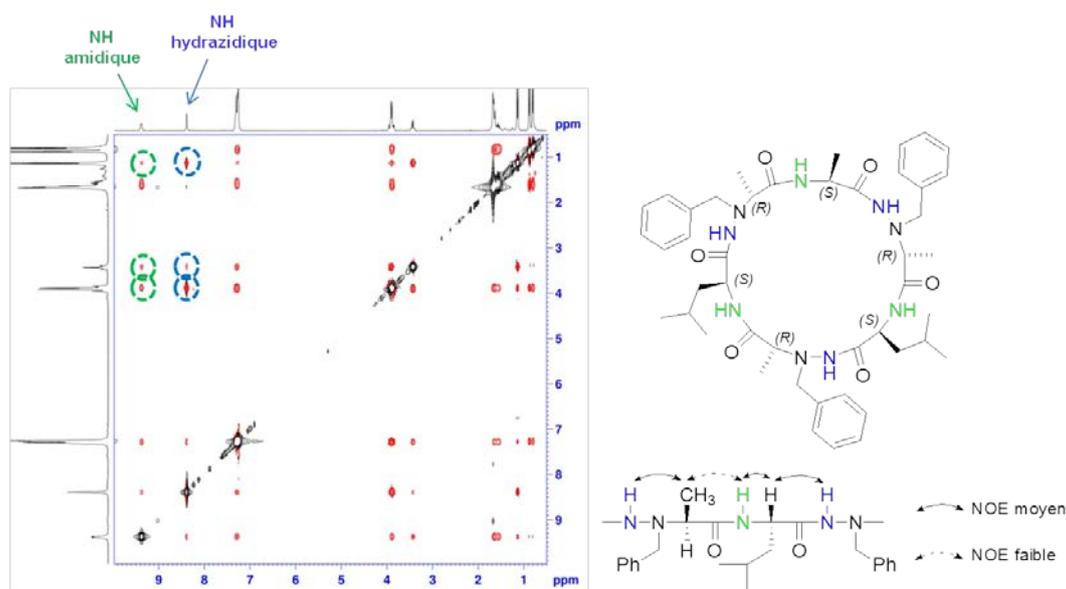


Figure 114: Carte 2D NOESY du cyclohexamère **31a** dans CDCl_3 / 10 mM.

d. Conclusion

L'analyse IR dans le CHCl_3 nous a donc révélé la formation de liaisons hydrogène exclusivement intramoléculaires au sein du cyclohexamère **31a** et se révèle être en accord avec les résultats obtenus lors de l'analyse RMN ^1H 1D et 2D. Ceci exclut la formation de nanotube en solution.

Cette étude nous démontre également qu'il pourrait y avoir coexistence de deux conformations différentes en solution (car deux bandes pour les vibrateurs NH). Ceci pourrait être lié à la taille du cycle car, jouissant d'une plus grande flexibilité, ce macrocycle disposera donc d'un degré de liberté supérieur afin d'adopter d'autres types de conformation.

Le comportement du cyclohexamère **31a** nous indique par ailleurs que comme le cyclotétramère hétérochiral **30a**, il existe une dépendance à l'environnement puisqu'il est possible de former des gels dans le cyclohexane. Ceci confirme la possibilité d'une auto-structuration et indirectement l'existence de nanotubes au sein de ces structures.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit est consacré à la synthèse et à l'étude structurale des 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques.

Dans un premier temps, nous avons mis au point une méthode efficace de synthèse générale en solution des composés α - N^α -alkyl/benzyl-hydrazinoesters reposant sur une réaction de type S_N2 . Cette étape clé, qui fait intervenir la condensation d'un N' -alkyl/benzyl *tert*-butyl carbazate sur un α -hydroxyester, est applicable à l'échelle du multigramme, sans perte d'efficacité, mais au contraire avec des rendements identiques, voire améliorés par rapport au procédé d'Hoffman originel.

Nous avons ensuite procédé à la synthèse du dimère 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]ester par couplage peptidique classique entre un acide α -aminé naturel, la leucine, et l'ester méthylique de l' α - N^α -Bn-hydrazinoalanine. L'oligomérisation de ce dimère nous a permis d'obtenir, dans un deuxième temps, les oligomères 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]esters et amides correspondants.

Bien que les rendements restent moyens, nous avons pu obtenir les cyclo 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères à partir des oligomères linéaires correspondants.

Les études conformationnelles sur les oligomères linéaires 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]esters et amides, ainsi que sur les oligomères cycliques 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] ont été abordées. L'étude des dimères, tétramères et hexamère 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]amides nous a montré l'influence de la présence de l'azote supplémentaire dans la chaîne carbonée. Celui-ci permet l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires sous forme d'hydrazinoturn, comme cela a pu être observé pour des composés analogues tels que les aza- β^3 -peptides par exemple. La présence alternée d'acides α -aminés naturels et d' α -hydrazinoacides induit une auto-structuration des oligomères en γ -turn et hydrazinoturn alternés. Cette auto-structuration est comparable en série homo- et hétérochirale et démontre la faible influence de la nature du carbone asymétrique sur le repliement des oligomères.

Les études conformationnelles des cyclo 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères ont mis en évidence l'établissement de nanotubes à l'état solide pour le cyclotétramère hétérochiral. Cette conformation a ensuite été confirmée dans certains solvants organiques par des études RMN et IR ainsi que par son pouvoir gélateur de certains solvants. Bien que n'ayant pas de preuve de sa structure à l'état solide, le gel formé par le cyclohexamère hétérochiral dans le cyclohexane nous conforte dans l'idée d'une auto-structuration comparable.

Cependant, les analyses RMN 1H et IR en solution « liquide » des cyclotétramères et cyclohexamères hétérochiraux à faible concentration nous ont montré que la conformation sous forme de nanotubes n'était pas maintenue en solution. Notre étude sur le cyclotétramère homochiral a montré quant à elle que bien qu'adoptant la même conformation en solution liquide à faible concentration que les deux précédents, il ne formait pas de gel. Le gel étant révélateur d'une auto-structuration, ceci nous conduit à nous interroger sur la versatilité du squelette macrocyclique 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] (syndiotactique contre isotactique) pour l'établissement de nanotubes.

Il serait alors intéressant de poursuivre les études conformationnelles des cyclo 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères à l'état solide afin de confirmer la formation de nanotube ou non par l'assemblage d'hexamères hétérochiraux et de tétramères homochiraux ainsi que des oligomères de plus grande taille, tels que l'octamère ou le décamère.

La mise au point des composés α - N^α -alkyl/benzyl-hydrazinoesters offre d'ailleurs de nombreuses possibilités de combinaison afin de concevoir des macrocycles (voire des nanotubes) à façon. En effet, il existe une grande diversité potentielle de chaînes latérales que l'on peut introduire en utilisant des acides α -aminés protéinogéniques ou non.

On peut donc imaginer moduler les chaînes latérales des unités α - N^α -alkyl/benzyl-hydrazinoacide ou acide α -aminé pour en modifier les propriétés et les effets. Il serait intéressant d'utiliser des acides α -aminés amphipathiques comme le tryptophane qui s'avère être impliqué dans les peptides et les protéines membranaires naturels par l'interaction des chaînes latérales des groupes NH avec l'interface des membranes. Ainsi, on peut imaginer les utiliser pour construire des canaux transmembranaires à partir des macrocycles de grande taille tandis que les plus petits pourraient être utiles comme antibactériens.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

GENERAL METHODS

Unless otherwise stated, all chemicals were purchased as the highest purity commercially available and were used without further purification.

Dry CH_2Cl_2 was obtained by distillation over diphosphorus pentoxide P_2O_5 , MeOH were purchased in anhydrous form and others reagent grade solvents were used as received.. Dichloromethane was distilled from phosphorous pentoxide under argon atmosphere

Reactions were monitored by thin-layer chromatography (TLC) using aluminium-backed silica gel plates (Macherey–Nagel ALUGRAM[®] SIL G/UV₂₅₄). TLC spots were viewed under ultraviolet light or/and by heating the plate after treatment with a staining solution of phosphomolybdic acid or ninhydrin

Columns chromatographies were carried out on Geduran 60 H Silica Gel silica gel (0.04-0.063 μm). All yields were calculated from pure isolated products.

^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker Advance 300 spectrometer in deuterated chloroform (CDCl_3), deuterated dimethylsulfoxide ($\text{DMSO}-d_6$) or deuterated toluene (toluene- d_8). Chemical shift (δ) are reported in parts per million (ppm) and are referenced to the residual signals for deuterated DMSO or to the signal of tetramethylsilane (TMS) as internal standard.

Multiplicities are reported as follow: s = singlet, d = doublet, q = quartet, sept = septuplet, m = multiplet, br = broad, Ar. = aromatic and coupling constants (J) are given in Hertz (Hz).

Infrared spectra (IR) were recorded on a Bruker Tensor 27 over 256 scans.

Electron spray ionization mass spectra (ESI-MS) were recorded on a Bruker MicroTof-Q HR spectrometer in the “Service commun de Spectrométrie de Masse”, Faculté des Sciences et Techniques, Vandoeuvre-lès-Nancy, France. HRMS spectra were obtained in ESI method.

All melting points (mp) are measured on Kofler hot-stage apparatus and on a Melting Point device M-560 and were uncorrected.

Optical rotations were determined on an Anton Paar MCP 300 polarimeter in 5 cm cells and $[\alpha]_D$ is given in units of $\text{deg}\cdot\text{dm}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{g}^{-1}$ concentrations are quoted in g/100 mL.

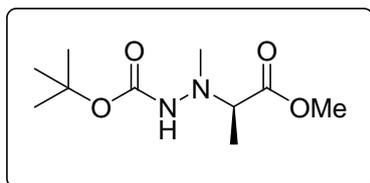
Tert-butyl hydrazinecarboxylate derivatives **4a-d** and (*S*)- α -hydroxyesters **11a-d** were prepared according to literature.

EXPERIMENTAL PART

α - N^α -hydrazinoesters monomers **12** (Boc- α -h-D-aa-OMe)

A solution of (*S*)- α -hydroxyester **11** (1.0 equiv., 30 mmol) and 2,6-lutidine (2.3 equiv. 69 mmol) in CH₂Cl₂ (40 mL) at 0°C, under an atmosphere of nitrogen, was treated with triflic anhydride (1.1 equiv., 33 mmol). After 15 min, a solution of BocNHNHR' **4** (1.0 equiv., 30 mmol) in CH₂Cl₂ (30 mL) was added dropwise for 30 min and the mixture was stirred for 4-6 h at 0°C until completion (monitored by TLC). After evaporation of the solvent, Et₂O (50 mL) was added and 2,6-lutidinium triflate was precipitated by storing the reaction mixture overnight in the refrigerator. The 2,6-lutidinium triflate was filtered and the filtrate was diluted in Et₂O (100 mL) and washed with water (20 mL), dried over MgSO₄, filtered, and evaporated *in vacuo*. The resulting crude material **12** was purified and characterized as reported below.

Boc- α -h(Me)D-Ala-OMe **12a**



C₁₀H₂₀N₂O₄

M = 232.14 g.mol⁻¹

Yellow oil, 87%

Purification: eluent p-ether/EtOAc= 50:50

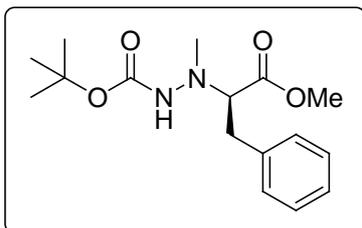
[α]_D²⁵ = - 9.1 (c = 1,00, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (d, 3H, *J* = 7.2 Hz, β CH₃ Ala), 1.45 (s, 9H, Boc), 2.67 (s, 3H, N^α -Me), 3.57-3.64 (q, 1H, *J* = 7.2 Hz, α CH Ala), 3.72 (s, 3H, O-CH₃) 6.52 (br s, 1H, NH);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 16.6 (β CH₃ Ala), 28.8 (3 CH₃, Boc), 44.0 (N^α -Me), 52.0 (O-CH₃), 63.1 (α CH Ala), 80.2 (C, Boc), 155.9 (C=O, Boc), 174.6 (C=O, ester).

IR (ATR) ν_{\max} /cm⁻¹ : 3362, 3005, 2982, 2955, 2890, 2843, 2799, 1746, 1728, 1689, 1658, 1641, 1630, 1564, 1553, 1513, 1483, 1462, 1450, 1414, 1393, 1368, 1242, 1210, 1163, 1130, 1111; HRMS (ESI) calculated for [M+Na]⁺ *m/z* 255.1321, found 255.1315.

Boc- α -h(Me)*D*-Phe-OMe 12b



$C_{16}H_{24}N_2O_4$

$M = 308,17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 84%

Purification : eluent p-ether/EtOAc= 70:30

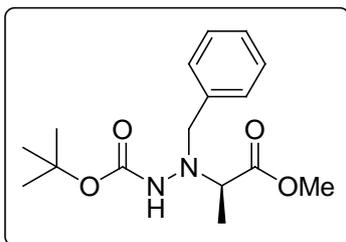
$[\alpha]_D^{25} = -37.0$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.47 (s, 9H, Boc), 2.64 (s, 3H, N^α -Me), 2.96 (dd, 1H, $J = 13.6$ Hz and 8.3 Hz, βCH Phe), 3.14 (dd, 1H, $J = 13.6$ Hz and 6.5 Hz βCH Phe), 3.59 (s, 3H, O- CH_3), 3.67 (dd, 1H, $J = 8.3$ Hz and 6.5 Hz, αCH Phe), 6.55 (br s, 1H, NH), 7.1-7.35 (m, 5H, Ar.).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 29.0 (3 CH_3 , Boc), 37.3 (βCH_2 Phe); 45.0 (N^α -Me), 52.0 (O- CH_3), 70.1 (αCH Phe), 80.6 (C, Boc), 127.2 (CH, Ar.), 129.0 (2 CH, Ar.), 129.8 (2 CH, Ar.), 138.2 (C, Ar.); 156.1 (C=O, Boc), 173.9 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3357, 3089, 3064, 3028, 3006, 2982, 2957, 2939, 2893, 1737, 1727, 1710, 1659, 1642, 1630, 1603, 1583, 1498, 1482, 1456, 1446, 1415, 1393, 1367, 1241, 1211, 1165 ; HRMS (ESI) calculated for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 331.1634, found 331.1628.

Boc- α -h(Bn)*D*-Ala-OMe 12c



$C_{16}H_{24}N_2O_4$

$M = 308,17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 83%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 80:20

$[\alpha]_D^{25} = -9.2$ ($c = 1,00$, MeOH)

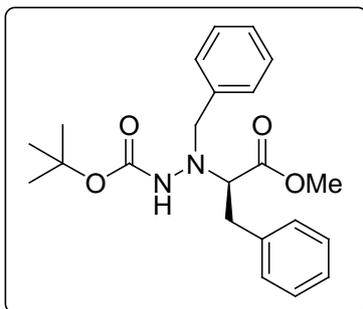
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.28 (s, 9H, Boc), 1.31 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz, βCH_3 Ala), 3.56 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz, αCH Ala), 3.66 (s, 3H, O- CH_3) 3.82-4.01 (m, 2H, CH_2 , N^α -Bn), 6.48 (br s, 1H, NH), 7.13-7.36 (m, 5H, Ar.).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 16.9 (βCH_3 Ala), 28.9 (3 CH_3 , Boc), 52.2 (O- CH_3), 60.8 (αCH Ala), 61.3 (CH_2 , N^α -Bn), 80.3 (C, Boc), 128.1 (CH, Ar.), 128.9 (2 CH, Ar.), 130.0 (2 CH, Ar.), 137.6 (C, Ar.), 156.1 (C=O, Boc), 175.2 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3370, 3091, 3064, 3032, 2984, 2955, 2907, 2846, 1737, 1728, 1709, 1659, 1641, 1630, 1564, 1494, 1486, 1462, 1456, 1435, 1424, 1393, 1367, 1237, 1213, 1159 ;

HRMS (ESI) calculated for $C_{16}H_{24}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 331.1634, found 331.1628.

Boc- α -h(Bn)*D*-Phe-OMe 12d



$C_{22}H_{28}N_2O_4$

$M = 384,2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 82%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 80:20

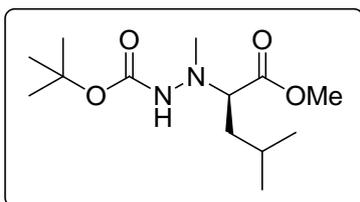
$[\alpha]_D^{25} = -5.2$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.36 (s, 9H, Boc), 2.93-3.05 (dd, 1H, $J = 13.9$ Hz and 6.8 Hz, βCH_2 Phe), 3.07-3.17 (dd, 1H, $J = 13.9$ Hz and 7.6 Hz, βCH_2 Phe), 3.64 (s, 3H, O- CH_3) 3.62-3.83 (m, 1H, αCH Phe), 3.86-4.03 (m, 2H, CH_2 , N^α -Bn), 6.60 (br s, 1H, NH), 7.20-7.36 (m, 10H, Ar.).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 29.0 (3 CH_3 , Boc), 37.1 (βCH_2 Phe), 52.1 (O- CH_3), 61.0 (CH_2 , N^α -Bn), 67.3 (αCH Phe), 80.5 (C, Boc), 127.1 (CH, Ar.), 128.0 (CH, Ar.), 128.1 (CH, Ar.), 128.2 (CH, Ar.), 128.8 (CH, Ar.), 129.3 (CH, Ar.), 129.4 (CH, Ar.), 129.5 (CH, Ar.), 129.9 (CH, Ar.), 130.1 (CH, Ar.), 137.2 (C, Ar.), 138.5 (C, Ar.), 155.8 (C=O, Boc), 174.0 (C=O, ester)

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3362, 3091, 3065, 3031, 2980, 2958, 2907, 2842, 1741, 1726, 1707, 1661, 1626, 1605, 1587, 1496, 1482, 1454, 1389, 1367, 1241, 1217, 1157 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{22}H_{28}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 407.1947, found 407.1941.

Boc- α -h(Me)*D*-Leu-OMe 12e



$C_{13}H_{26}N_2O_4$

$M = 274,19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 80%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 85:15

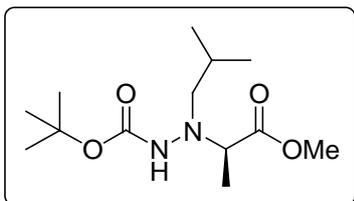
$[\alpha]_D^{25} = -20.2$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.91 (d, 6H, $J = 6.6$ Hz, δCH_3 Leu), 1.45 (s, 9H, Boc), 1.36-1.53 (m, 1H, βCH_2 Leu), 1.59-1.73 (m, 1H, βCH_2 Leu), 1.85-1.99 (m, 1H, γCH Leu), 2.63 (s, 3H, $N^\alpha\text{-Me}$), 3.45 (dd, 1H, $J = 9.0$ Hz and 6.0 Hz, αCH Leu), 3.72 (s, 3H, O- CH_3) 6.53 (br s, 1H, NH);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 22.5 (γCH Leu), 23.6 (δCH_3 Leu), 25.0 (δCH_3 Leu), 29.0 (3 CH_3 , Boc), 39.9 (βCH_2 Leu), 44.7 ($N^\alpha\text{-Me}$), 52.0 (O- CH_3), 66.2 (αCH Leu), 80.3 (C, Boc), 156.4 (C=O, Boc), 175.1 (C=O, ester)

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3368, 2979, 2956, 2937, 2907, 2871, 2843, 2803, 1744, 1728, 1710, 1690, 1677, 1659, 1641, 1564, 1513, 1483, 1467, 1453, 1444, 1413, 1390, 1367, 1261, 1235, 1200, 1160, 1125 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{13}H_{26}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 297.179, found 297.177.

Boc- α -h(*i*-Bu)*D*-Ala-OMe 12f



$C_{13}H_{26}N_2O_4$

$M = 274,19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 80%

Purification: eluent p-ether/EtOAc= 70:30

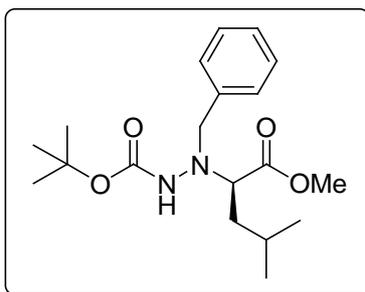
$[\alpha]_D^{25} = -20.9$ ($c = 1.00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.9 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CH_3 , N^α -*i*Bu), 0.97 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, CH_3 , N^α -*i*Bu), 1.37 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz, βCH_3 Ala), 1.44 (s, 9H, Boc), 1.62-1.81 (m, 1H, CH, N^α -*i*Bu), 2.20-2.45 (m, 1H, CH_2 , N^α -*i*Bu), 2.55-2.77 (m, 1H, CH_2 , N^α -*i*Bu), 3.48-3.65 (m, 1H, αCH Ala), 3.71 (s, 3H, O- CH_3), 6.33 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 16.7 (βCH_3 Ala), 21.7 (2 CH_3 , N^α -*i*Bu), 27.2 (CH, N^α -*i*Bu), 28.9 (3 CH_3 , Boc), 52.0 (O- CH_3), 63.4 (αCH Ala); 65.3 (CH_2 , N^α -*i*Bu), 80.0 (C, Boc), 156.3 (C=O, Boc), 175.2 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3362, 2982, 2857, 2908, 2873, 2843, 1740, 1734, 1710, 1690, 1678, 1659, 1562, 1510, 1483, 1469, 1462, 1452, 1412, 1389, 1380, 1368, 1238, 1200, 1160, 1124 ;
HRMS (ESI) calculated for $C_{13}H_{26}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 297.1791, found 297.1785.

Boc- α -h(Bn)*D*-Leu-OMe 12g



$C_{19}H_{30}N_2O_4$

$M = 350,22 \text{ g.mol}^{-1}$

Yellow oil, 78%

Purification : eluent p-ether/EtOac = 70:30

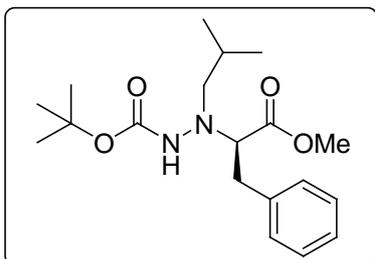
$[\alpha]_D^{25} = -29.0$ ($c = 1,00$, MeOH)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.72-0.74 (m, 3H, δCH_3 Leu), 0.86-0.90 (m, 3H, δCH_3 Leu), 1.38 (s, 9H, Boc), 1.49-1.82 (m, 2H, βCH_2 Leu), 2.04-2.13 (m, 1H, γCH Leu), 3.44-3.48 (m, 1H, αCH Leu), 3.73 (s, 3H, O- CH_3), 3.88-4.05 (m, 2H, CH_2 , N^α -Bn), 6.74 (br s, 1H, NH), 7.23-7.40 (m, 5H, Ar.);

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 22.7 (γCH Leu), 24.2 (δCH_3 Leu), 24.8 (δCH_3 Leu), 28.8 (3 CH_3 , Boc), 39.8 (βCH_2 Leu), 52.0 (O- CH_3), 61.8 (CH_2 , N^α -Bn), 62.8 (αCH Leu), 80.1 (C, Boc), 128.1 (CH, Ar.), 128.8 (2 CH, Ar.), 130.1 (2 CH, Ar.), 137.6 (C, Ar.), 155.1 (C=O, Boc), 175.3 (C=O, ester).

The physical data (NMR and $[\alpha]_D^{25}$) are in agreement with the values reported in the reference [4]. Measured : $[\alpha]_D^{25} = -24.6$ ($c=0.99$, CHCl_3), Literature : $[\alpha]_D^{25} = +25.4$ ($c=0.99$, CHCl_3 , (*S*)-isomer).

Boc- α -h(*i*-Bu)*D*-Phe-OMe 12h



$C_{19}H_{30}N_2O_4$

$M = 350,22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 78%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 80:20

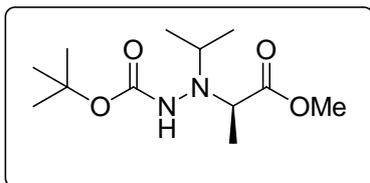
$[\alpha]_D^{25} = -25.6$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.84 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH_3 , N^α -*i*Bu), 0.96 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH_3 , N^α -*i*Bu), 1.44 (s, 9H, Boc), 1.62-1.80 (m, 1H, CH, N^α -*i*Bu), 2.29-2.42 (m, 1H, CH_2 , N^α -*i*Bu), 2.53-2.64 (m, 1H, CH_2 , N^α -*i*Bu), 2.90-3.02 (m, 1H, βCH_2 Phe), 3.07-3.19 (m, 1H, βCH_2 Phe), 3.61 (s, 3H, O- CH_3), 3.65-3.81 (m, 1H, αCH Phe), 6.42 (br s, 1H, NH), 7.15-7.32 (m, 5H, Ar.).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 21.2 (2 CH_3 , N^α -*i*Bu), 27.1 (CH, N^α -*i*Bu), 29.2 (3 CH_3 , Boc), 37.1 (βCH_2 Phe), 52.3 (O- CH_3), 66.3 (CH_2 , N^α -*i*Bu), 70.2 (αCH Phe), 80.2 (C, Boc), 127.7 (CH, Ar.), 128.8 (2 CH, Ar.), 130.4 (2 CH, Ar.), 138.7 (C, Ar.), 155.6 (C=O, Boc), 174.0 (C=O, ester)

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3362, 3064, 3030, 3006, 2980, 2955, 2909, 2870, 2844, 1743, 1728, 1705, 1678, 1658, 1498, 1484, 1470, 1456, 1440, 1391, 1383, 1367, 1237, 1201, 1167 ;
HRMS (ESI) calculated for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 373.2104, found 373.2098.

Boc- α -h(*i*-Pr)*D*-Ala-OMe 12i



C₁₂H₂₄N₂O₄

M = 260,17 g.mol⁻¹

Yellow oil, 62%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 70:30

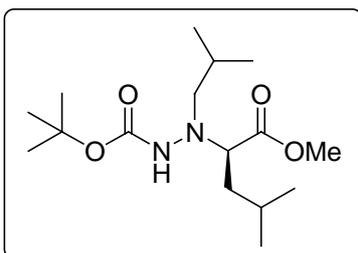
[α]_D²⁵ = -28.2 (*c* = 1,00, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.08 (d, 6H, *J* = 6.2 Hz, CH₃, *N* ^{α} -*i*Pr), 1.37 (d, 3H, *J* = 7.1 Hz, β CH₃ Ala), 1.44 (s, 9H, Boc), 3.03 (sept, 1H, *J* = 6.2 Hz, CH, *N* ^{α} -*i*Pr), 3.70 (s, 3H, O-CH₃), 3.82 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz, α CH Ala), 6.47 (br s, 1H, NH);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 17.1 (β CH₃ Ala), 20.9 (CH₃, *N* ^{α} -*i*Pr), 21.1 (CH₃, *N* ^{α} -*i*Pr), 28.9 (3 CH₃, Boc), 52.1 (O-CH₃), 56.0 (CH, *N* ^{α} -*i*Pr), 58.7 (α CH Ala), 79.9 (C, Boc), 157.0 (C=O, Boc), 175.9 (C=O, ester).

IR (ATR) ν_{\max} /cm⁻¹: 3371, 2982, 2944, 2908, 2881, 2843, 1745, 1728, 1711, 1692, 1683, 1498, 1490, 1486, 1471, 1460, 1452, 1391, 1383, 1366, 1332, 1275, 1246, 1198, 1161, 1128 ;
HRMS (ESI) calculated for [M+Na]⁺ *m/z* 283.1634, found 283.1628.

Boc- α -h(*i*-Bu)*D*-Leu-OMe 12j



$C_{16}H_{32}N_2O_4$

$M = 316,24 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 62%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 90:10

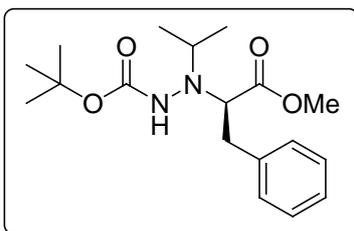
$[\alpha]_D^{25} = -19.7$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.83-1.05 (m, 12H, , 4 CH_3 , N^α -*i*Bu and δCH_3 Leu), 1.44 (s, 9H, Boc), 1.68-1.82 (m, 3H, βCH_2 Leu and CH, N^α -*i*Bu), 2.05-2.17 (m, 1H, γCH Leu), 2.20-2.37 (m, 1H, CH_2 , N^α -*i*Bu), 2.64-2.72 (m, 1H, CH_2 , N^α -*i*Bu), 3.35-3.55 (m, 1H, αCH Leu), 3.70 (s, 3H, O- CH_3), 6.43 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.8 (2 CH_3 , N^α -*i*Bu), 23.2 (γCH Leu), 25.2 (2 δCH_3 Leu), 27.1 (CH, N^α -*i*Bu), 28.5 (3 CH_3 , Boc), 39.9 (βCH_2 Leu), 51.8 (O- CH_3); 66.2 (αCH Leu), 68.0 (CH_2 , N^α -*i*Bu), 80.5 (C, Boc), 155.8 (C=O, Boc), 175.2 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3368, 2959, 2935, 2907, 2872, 2852, 1745, 1729, 1711, 1678, 1658, 1642, 1564, 1512, 1494, 1483, 1470, 1451, 1440, 1396, 1366, 1273, 1241, 1195, 1174, 1158, 1130 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{16}H_{32}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 339.2260, found 339.2254.

Boc- α -h(*i*-Pr)*D*-Phe-OMe 12k



$C_{18}H_{28}N_2O_4$

$M = 336,2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 60%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 80:20

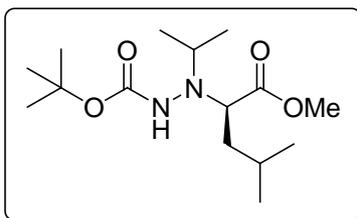
$[\alpha]_D^{25} = -40.9$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.05-1.09 (m, 6H, CH_3 , N^α -*i*Pr), 1.47 (s, 9H, Boc), 2.90-.3.01 (m, 2H, βCH_2 Phe), 3.08-3.20 (m, 1H, CH, N^α -*i*Pr), 3.54 (s, 3H, O- CH_3), 3.75-3.86 (m, 1H, αCH Phe), 6.62 (br s, 1H, NH), 7.13-7.36 (m, 5H, Ar.);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 21.1 (2 CH_3 , N^α -*i*Pr), 28.6 (3 CH_3 , Boc), 38.0 (βCH_2 Phe), 52.3 (O- CH_3), 56.7 (CH, N^α -*i*Pr), 66.2 (αCH Phe), 80.1 (C, Boc), 127.2 (CH, Ar.), 129.0 (2 CH, Ar.), 130.0 (2 CH, Ar.), 138.4 (C, Ar.); 156.8 (C=O, Boc), 175.0 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3366, 3089, 3064, 3030, 2980, 2955, 2937, 1743, 1728, 1710, 1680, 1644, 1603, 1496, 1486, 1453, 1393, 1385, 1369, 1274, 1243, 1201, 1163 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{18}H_{28}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 359.1947, found 359.1941.

Boc- α -h(*i*-Pr)*D*-Leu-OMe 12l



$C_{15}H_{30}N_2O_4$

$M = 302,22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 58%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 90:10

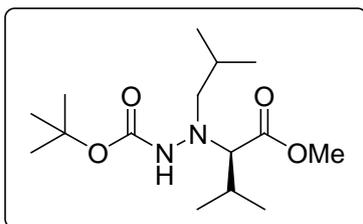
$[\alpha]_D^{25} = -21.7$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.89 (d, 6H, $J = 6.5$ Hz, δCH_3 Leu), 1.05-1.09 (m, 6H, CH_3 , N^α -*i*Pr), 1.44 (s, 9H, Boc), 1.63-1.77 (m, 2H, βCH_2 Leu) 1.91-2.03 (m, 1H, γCH Leu), 2.98 (sept, 1H, $J = 6.2$ Hz, CH, N^α -*i*Pr), 3.69 (s, 3H, O- CH_3), 3.72-3.82 (m, 1H, αCH Leu), 6.61 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 20.5 (CH_3 , N^α -*i*Pr), 21.1 (CH_3 , N^α -*i*Pr), 22.2 (γCH Leu), 23.3 (δCH_3 Leu), 24.6 (δCH_3 Leu), 28.7 (3 CH_3 , Boc), 40.1 (βCH_2 Leu), 51.7 (O- CH_3), 56.1 (CH, N^α -*i*Pr), 61.3 (αCH Leu), 79.4 (C, Boc), 156.4 (C=O, Boc), 175.9 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3374, 2978, 2961, 2937, 2911, 2872, 1745, 1728, 1705, 1689, 1484, 1472, 1456, 1438, 1391, 1366, 1268, 1252, 1233, 1195, 1163, 1130 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{15}H_{30}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 303.2284, found 303.2278.

Boc- α -h(*i*-Bu)*D*-Val-OMe 12m



$C_{15}H_{30}N_2O_4$

$M = 302,22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 22%

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 85:15

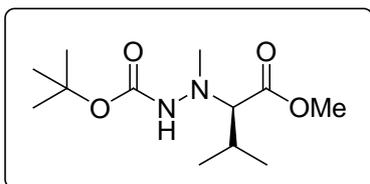
$[\alpha]_D^{25} = -0.6$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.87 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, γCH_3 Val), 0.92 (d, 6H, $J = 6.7$ Hz, CH_3 , N^α -*i*Bu), 1.02 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, γCH_3 Val), 1.46 (s, 9H, Boc), 1.65-1.80 (m, 1H, CH, N^α -*i*Bu), 2.01-2.13 (m, 1H, βCH Val), 2.65 (d, 2H, $J = 6.8$ Hz, CH_2 , N^α -*i*Bu), 3.79 (s, 3H, O- CH_3), 4.05 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, αCH Val), 6.04 (br s, 1H, NH);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 16.7 (2 γCH_3 Val), 19.4 (βCH Val), 21.1 (2 CH_3 , N^α -*i*Bu), 27.5 (CH, N^α -*i*Bu), 29.0 (3 CH_3 , Boc), 52.9 (O- CH_3), 60.6 (CH_2 , N^α -*i*Bu), 75.8 (αCH Val), 81.0 (C, Boc), 157.4 (C=O, Boc), 176.0 (C=O, ester)

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3351, 2980, 2963, 2937, 2915, 2874, 1740, 1724, 1711, 1694, 1680, 1482, 1470, 1454, 1446, 1389, 1371, 1284, 1252, 1171, 1146 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{15}H_{30}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 325.2104, found 325.2101.

Boc- α -h(Me)*D*-Val-OMe 12n



$C_{12}H_{24}N_2O_4$

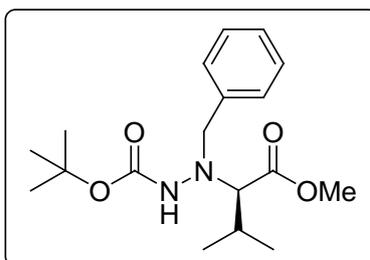
$M = 260,17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 15% determined by ^1H NMR integration relative peaks (inseparable mixture of reagents).

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 85:15

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, γCH_3 Val), 1.10 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz, γCH_3 Val) 1.45 (s, 9H, Boc), 1.98-2.13 (m, 1H, βCH Val), 2.57 (s, 3H, N^α -Me), 3.02 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz, αCH Val), 3.73 (s, 3H, O- CH_3) 6.53 (br s, 1H, NH).

Boc- α -h(Bn)*D*-Val-OMe 12o



$C_{18}H_{28}N_2O_4$

$M = 336,2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow oil, 10% determined by ^1H NMR integration relative peaks (inseparable mixture of reagents).

Purification : eluent p-ether/EtOAc = 80:20

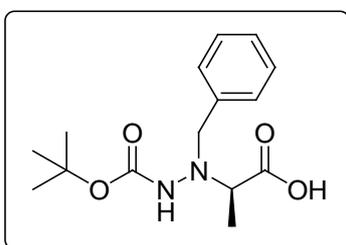
$[\alpha]_D^{25} = -21.7$ ($c = 1,00$, MeOH)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.87 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, γCH_3 Val), 1.02 (d, 3H, $J = 6.9$ Hz, γCH_3 Val), 1.36 (s, 9H, Boc), 2.03-2.15 (m, 1H, βCH Val), 3.79 (s, 3H, O- CH_3), 3.70-3.83 (m, 1H, αCH Val), 3.97-4.07 (m, 2H, CH_2 , N^α -Bn), 6.03 (br s, 1H, NH), 7.20-7.42 (m, 5H, Ar.).

Representative procedure for the C-terminal deprotection with NaOH 1N

To a solution of ester (1.0 equiv.) in MeOH was added at 0°C a solution of NaOH 1N (2.0 equiv.) and the mixture was vigorously stirred for 3-6 h at room temperature until completion (monitored by TLC). After evaporation of MeOH, the aqueous layer was washed with cyclohexane. The aqueous phase was cooled to 0°C and acidified with HCl 1N until pH = 1 and extracted with EtOAc. The residue was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo* to give the corresponding carboxylic acid.

Boc- α -h(Bn)*D*-Ala-OH 13c

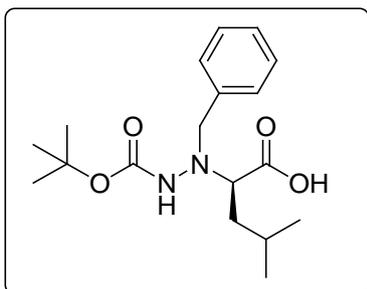


C₁₅H₂₂N₂O₄
M = 294,17 g.mol⁻¹
Yellow oil, 98%
[α]_D²⁵ = -14.9 (c = 1,00, MeOH)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.34 (s, 9H, Boc), 1.39 (d, 3H, *J* = 7.2 Hz, β CH₃ Ala), 3.66 (q, 1H, *J* = 7.2 Hz, α CH Ala), 3.97 (s, 2H, CH₂, *N* ^{α} -Bn), 5.82 (br s, 1H, NH), 7.27-7.42 (m, 5H, Ar.), 9.65 (br s, 1H, OH)

The physical data (NMR and [α]_D²⁵) are in agreement with the values reported.⁴⁶ Measured : [α]_D²⁵ = -21.7 (c = 1.14, MeOH), Literature : [α]_D²⁵ = +22.8 (c = 1.14, MeOH, (*S*)-isomer).

Boc- α -h(Bn)*D*-Leu-OH 13g



$C_{18}H_{28}N_2O_4$
 $M = 336,2 \text{ g.mol}^{-1}$
Yellow oil, 96%
 $[\alpha]_D^{25} = -16.9$ ($c = 1,00$, MeOH)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.78 (br s, 3H, δCH_3 Leu), 0.92 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, δCH_3 Leu), 1.36 (s, 9H, Boc), 1.36-1.52 (m, 1H, βCH_2 Leu), 1.68-1.77 (m, 1H, βCH_2 Leu), 2.08 (br s, 1H, γCH Leu), 3.45-3.55 (m, 1H, αCH Leu), 3.95-4.16 (m, 2H, CH_2 , N^α -Bn), 6.54 (br s, 1H, NH), 7.26-7.41 (m, 5H, Ar.), 9.62 (br s, 1H, OH).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 22.1 (γCH Leu), 24.1 (δCH_3 Leu), 25.0 (δCH_3 Leu), 28.8 (3 CH_3 , Boc), 39.5 (βCH_2 Leu), 61.8 (CH_2 , N^α -Bn), 63.4 (αCH Leu), 81.0 (C, Boc), 128.2 (CH, Ar.), 128.9 (2 CH, Ar.), 130.1 (CH, Ar.), 130.4 (CH, Ar.), 137.9 (C, Ar.), 156.3 (C=O, Boc), 178.2 (C=O, acid).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3358, 3089, 3066, 3032, 2959, 2936, 2902, 2872, 1767, 1750, 1740, 1723, 1711, 1681, 1496, 1483, 1471, 1452, 1441, 1410, 1395, 1368, 1273, 1252, 1162 ;
HRMS (ESI) calculated for $C_{18}H_{28}N_2O_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 337.2127, found 337.2122.

1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]ester dimers 15

Boc deprotection

To a stirred solution of a Boc-protected compound (1.0 equiv., 9 mmol) in CH_2Cl_2 was added a portion of trifluoroacetic acid (TFA) which represents 2/3 of the quantity of CH_2Cl_2 added at 0°C . The mixture was stirred until completion monitored by TLC and then concentrated under vacuum. The excess of TFA was co-evaporated with MeOH and Et_2O until obtaining the corresponding trifluoroacetate salt compound as white foam in quantitative yield.

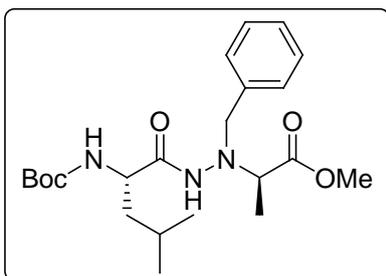
Methyl ester déprotection

To a solution of methyl ester protected (1.0 equiv., 22 mmol) in MeOH (80 mL) was added, at 0°C , a solution of NaOH 1N (2.0 equiv., 44 mmol) and the mixture was vigorously stirred for 3-6 h at room temperature until completion (monitored by TLC). After evaporation of MeOH, the aqueous layer was washed twice with cyclohexane (2 x 10 mL). The aqueous phase was cooled to 0°C and acidified with HCl 1N until pH = 1 and extracted with EtOAc (3 x 20 mL). The residue was dried over MgSO_4 , filtered and evaporated *in vacuo* to give the corresponding carboxylic acid, and was used without any further purification.

Coupling reaction

The appropriate trifluoroacetate or hydrochloride salt (1.0 equiv., 9 mmol) was dissolved in CH_2Cl_2 (10 mL) and cooled to 0°C . This solution was treated successively with NMM (4.0 equiv., 36 mmol), a solution of the Boc-protected fragment (1.0 equiv., 9 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL), and a solution of HATU (1.0 equiv., 9 mmol) in a minimum amount of DMF. The mixture was allowed to warm to room temperature and then stirred until TLC indicated complete reaction. Subsequent addition of CH_2Cl_2 was followed by washing with HCl 1N (1 x 25 mL), saturated aqueous NaHCO_3 solution (1 x 25 mL), and saturated aqueous NaCl solution (2 x 25 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The resulting crude material was purified and characterized as reported below.

Heterochiral Boc-*L*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala-OMe dimer 15a



$C_{22}H_{35}N_3O_5$

$M = 421,26 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder, 96%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 70:30

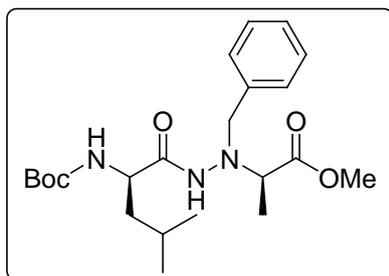
Melting point: 112°C

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.86 (d, 6H, $J = 6.6$ Hz, 2 δCH_3 Leu), 1.38 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz, βCH_3 Ala), 1.43 (s, 9H, Boc), 1.46-1.79 (m, 3H, βCH_2 Leu, γCH Leu), 3.63-3.78 (m, 1H, αCH Ala), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.88-4.09 (m, 3H, CH_2 , N^α -Bn, αCH Leu), 4.77 (br d, $J = 6.0$ Hz, NHBoc), 7.23-7.43 (m, 5H, Ar.), 7.98 (s, 1H, NH hydrazidic).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 17.0 (βCH_3 Ala), 22.3 (γCH Leu), 23.4 (δCH_3 Leu), 25.4 (δCH_3 Leu), 29.0 (3 CH_3 , Boc), 41.9 (βCH_2 Leu), 48.2 (αCH Ala), 52.3 (O-CH_3), 60.7 (αCH Leu), 60.8 (CH_2 , N^α -Bn), 80.6 (C, Boc), 128.3 (CH, Ar.), 129.0 (2 CH, Ar.), 130.0 (2 CH, Ar.), 137.0 (C, Ar.), 156.0 (C=O, Boc), 171.9 (C=O, hydrazid), 175.3 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3322, 3217, 3072, 3037, 2983, 2958, 2938, 2873, 2853, 1754, 1738, 1707, 1681, 1671, 1612, 1558, 1523, 1501, 1457, 1439, 1392, 1368, 1319, 1297, 1271, 1247, 1198, 1172, 1125 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{22}H_{35}N_3O_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 422.2655, found 422.2649

Homochiral Boc-D-Leu- α -h(Bn)D-Ala-OMe dimer 15b



$C_{22}H_{35}N_3O_5$

$M = 421,26 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder, 80%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 70:30

Melting point: 83°C

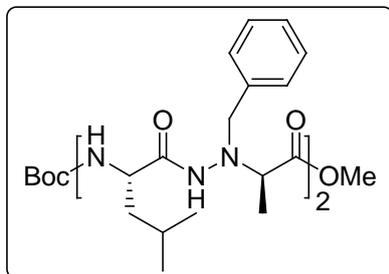
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.78 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, δCH_3 Leu), 0.79 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, δCH_3 Leu), 1.16-1.50 (m, 5H, βCH_3 Ala, βCH_2 Leu), 1.40 (s, 9H, Boc), 1.54-1.63 (m, 1H, γCH Leu), 3.64-3.80 (m, 1H, αCH Ala), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.81-3.92 (m, 1H, αCH Leu), 3.93-4.07 (m, 2H, CH_2 , N^α -Bn), 4.82 (br d, $J = 7.2$ Hz, NHBoc), 7.19-7.43 (m, 5H, Ar.), 7.77 (br s, 1H, NH hydrazidic).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 16.8 (βCH_3 Ala), 22.9 (γCH Leu), 23.3 (δCH_3 Leu), 25.1 (δCH_3 Leu), 28.9 (3 CH_3 , Boc), 41.8 (βCH_2 Leu), 48.3 (αCH Ala), 52.3 (O-CH_3), 61.0 (CH_2 , N^α -Bn), 61.3 (αCH Leu), 80.4 (C, Boc), 128.3 (CH, Ar.), 128.9 (2 CH, Ar.), 129.9 (2 CH, Ar.), 137.1 (C, Ar.), 156.2 (C=O, Boc), 172. (C=O, hydrazid), 175.1 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3348, 3212, 3089, 3065, 2983, 2958, 2938, 2873, 2853, 1732, 1702, 1657, 1507, 1497, 1457, 1439, 1392, 1369, 1318, 1291, 1261, 1251, 1165 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{22}H_{35}N_3O_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 422.2655, found 422.2649.

1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]ester oligomers

Heterochiral Boc-(*L*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala)₂-OMe tetramer 18a



$C_{38}H_{58}N_6O_7$

$M = 710,44 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White foam, 87%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 20:80

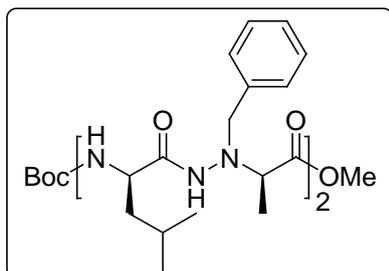
Melting point: 125°C

^1H NMR of the major form (300 MHz, CDCl_3) δ 0.81 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, δCH_3 Leu), 0.83 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, δCH_3 Leu), 0.85 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, δCH_3 Leu), 0.90 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, δCH_3 Leu), 1.29 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz, βCH_3 Ala), 1.34 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz, βCH_3 Ala), 1.41 (s, 9H, Boc), 1.50-1.73 (m, 6H, 2 βCH_2 Leu, 2 γCH Leu), 3.51 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz, αCH Ala), 3.68 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz, αCH Ala), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.69-3.88 (m, 1H, αCH Leu), 3.91-4.28 (m, 5H, 2 CH_2 , N^α -Bn, αCH Leu), 5.54 (br d, 1H, $J = 7.5$ Hz, NHBoc), 7.22-7.48 (m, 10H Ar.), 7.83 (s, 1H, NH), 7.91 (br s, 1H, NH), 8.34 (br d, 1H, $J = 7.5$ Hz, NH).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 17.0 (2 βCH_3 Ala), 22.2 (γCH Leu), 23.0 (γCH Leu), 23.3 (δCH_3 Leu), 23.6 (δCH_3 Leu), 25.1 (δCH_3 Leu), 25.6 (δCH_3 Leu), 29.0 (3 CH_3 , Boc), 40.6 (βCH_2 Leu), 41.2 (βCH_2 Leu), 52.3 (αCH Ala), 52.5 (αCH Ala), 52.9 (O-CH_3), 60.7 (αCH Leu), 60.8 (CH_2 , N^α -Bn), 62.3 (CH_2 , N^α -Bn), 62.9 (αCH Leu), 80.9 (C, Boc), 128.3 (CH, Ar.), 128.5 (CH, Ar.), 128.9 (2 CH, Ar.), 129.1 (2 CH, Ar.), 129.8 (2 CH, Ar.), 130.1 (2 CH, Ar.), 136.2 (C, Ar.), 137.2 (C, Ar.), 156.9 (C=O, Boc), 172.6 (C(NH)=O), 172.7 (C(NH)=O), 172.9 (C(NH)=O), 176.0 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3352, 3247, 3066, 3033, 2958, 2940, 2871, 1740, 1729, 1723, 1711, 1691, 1680, 1674, 1657, 1561, 1513, 1499, 1467, 1457, 1388, 1368, 1321, 1293, 1253, 1214, 1168, 1125 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{38}H_{58}N_6O_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 711.4445, found 711.4440.

Homochiral Boc-(*D*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala)₂-OMe tetramer 18b



C₃₈H₅₈N₆O₇

M = 710,44 g.mol⁻¹

White powder, 75%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 20:80

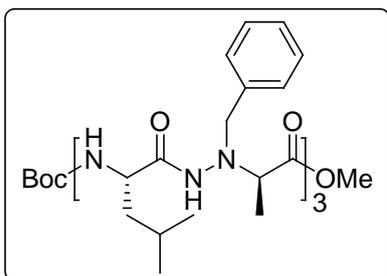
Melting point: 143°C

¹H NMR of the major form (300 MHz, CDCl₃) δ 0.67-0.91 (m, 12H, 4 δ CH₃ Leu), 1.13-1.49 (m, 12H, 2 β CH₃ Ala, 2 β CH₂ Leu, 2 γ CH Leu), 1.40 (s, 9H, Boc), 3.43-3.62 (m, 1H, α CH Ala), 3.65-3.90 (m, 3H, α CH Ala, CH₂, *N* ^{α} -Bn), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.90-4.11 (m, 3H, CH₂, *N* ^{α} -Bn, α CH Leu), 4.12-4.27 (m, 1H, α CH Leu), 4.82 (m, 1H, NHBoc), 7.08-7.47 (m, 10H Ar.), 7.57 (br s, 1H, NH), 7.75 (br s, 1H, NH), 8.30 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 17.2 (β CH₃ Ala), 17.6 (β CH₃ Ala), 22.4 (γ CH Leu), 23.0 (γ CH Leu), 23.3 (δ CH₃ Leu), 23.4 (δ CH₃ Leu), 24.8 (δ CH₃ Leu), 25.4 (δ CH₃ Leu), 29.0 (3 CH₃, Boc), 40.6 (β CH₂ Leu), 40.7 (β CH₂ Leu), 52.3 (α CH Ala), 52.4 (α CH Ala), 52.8 (O-CH₃), 60.9 (CH₂, *N* ^{α} -Bn), 61.1 (α CH Leu), 61.1 (CH₂, *N* ^{α} -Bn), 64.7 (α CH Leu), 80.6 (C, Boc), 128.2 (CH, Ar.), 128.3 (CH, Ar.), 128.8 (2 CH, Ar.), 128.9 (2 CH, Ar.), 129.8 (2 CH, Ar.), 130.1 (2 CH, Ar.), 137.1 (C, Ar.), 137.3 (C, Ar.), 156.6 (C=O, Boc), 172.4 (3 C(NH)=O), 175.4 (C=O, ester).

IR (ATR) ν_{\max} /cm⁻¹: 3348, 3311, 3234, 3089, 3065, 2961, 2937, 2872, 2855, 1740, 1728, 1697, 1660, 1655, 1548, 1551, 1520, 1498, 1470, 1457, 1438, 1391, 1369, 1318, 1293, 1259, 1162 ; HRMS (ESI) calculated for C₃₈H₅₈N₆O₇ [M+H]⁺ m/z 711.4445, found 711.4440.

Heterochiral Boc-(*L*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala)₃-OMe hexamer 20a



C₅₄H₈₁N₉O₉

M = 999,62 g.mol⁻¹

White powder, 83%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 10:90

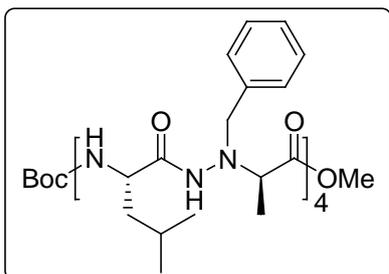
Melting point : 184°C

¹H NMR of the major form (300 MHz, CDCl₃) δ 0.61-0.99 (m, 18H, 6 δ CH₃ Leu), 1.25-1.38 (3, 9H, 3 β CH₃ Ala), 1.40 (s, 9H, Boc), 1.37- 1.74 (m, 9H, 3 β CH₂ Leu, 3 γ CH Leu), 3.45-3.79 (m, 3H, 3 α CH Leu), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.82-4.47 (m, 9H, 3 CH₂, *N* ^{α} -Bn, 3 α CH Ala), 5.27 (br d, 1H, *J* = 6.3 Hz, NHBoc), 7.18-7.48 (m, 15H, Ar.), 7.72-8.39 (m, 4H, 4 NH), 8.75 (br s, 1H, NH);

¹³C NMR of the major form (75 MHz, CDCl₃) δ 17.0 (3 β CH₃ Ala), 23.1 (3 γ CH Leu), 23.4 (δ CH₃ Leu), 23.7 (δ CH₃ Leu), 24.9 (2 δ CH₃ Leu), 25.5 (δ CH₃ Leu), 25.6 (δ CH₃ Leu), 29.0 (3 CH₃, Boc), 40.3 (β CH₂ Leu), 40.4 (β CH₂ Leu), 41.2 (β CH₂ Leu), 52.4 (O-CH₃), 52.6 (α CH Ala), 52.8 (α CH Ala), 53.3 (α CH Ala), 60.0 (CH₂, *N* ^{α} -Bn), 60.7 (2 α CH Leu), 62.3 (α CH Leu), 62.5 (CH₂, *N* ^{α} -Bn), 63.5 (CH₂, *N* ^{α} -Bn), 80.7 (C, Boc), 127.8 (CH, Ar.), 128.1 (CH, Ar.), 128.8 (2 CH, Ar.), 129.0 (3 CH, Ar.), 129.6 (6 CH, Ar.), 129.8 (2 CH, Ar.), 136.3 (C, Ar.), 137.4 (C, Ar.), 138.1 (C, Ar.), 157.1 (C=O, Boc), 172.0 (C(NH)=O), 172.1 (C(NH)=O), 172.4 (C(NH)=O), 172.5 (C(NH)=O), 172.8 (C(NH)=O), 175.5 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3332, 3286, 3065, 3033, 2958, 2936, 2876, 2853, 1740, 1722, 1704, 1684, 1665, 1534, 1513, 1495, 1470, 1459, 1382, 1370, 1299, 1275, 1254, 1236, 1216, 1170, 1129 ; HRMS (ESI) calculated for C₅₄H₈₁N₉O₉ [M+H]⁺ *m/z* 1000.6235, found 1000.6230.

Heterochiral Boc-(*L*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala)₄-OMe octamer 22a



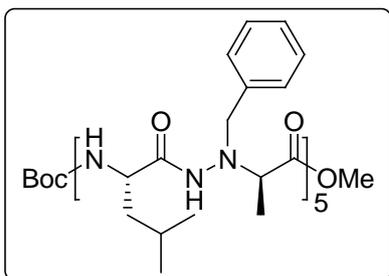
$C_{70}H_{104}N_{12}O_{11}$
 $M = 1288,79 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
White powder, 77%
Purification: eluent EtOAc
Melting point: 190°C

^1H NMR of the major form (300 MHz, CDCl_3) δ 0.66-1.01 (m, 24H, 8 δCH_3 Leu), 1.18-1.38 (m, 12H, 4 βCH_3 Ala), 1.40 (s, 9H, Boc), 1.45- 1.82 (m, 12H, 4 βCH_2 Leu, 4 γCH Leu), 3.42-3.79 (m, 4H, 4 αCH Leu), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.81-4.35 (m, 12H, 4 CH_2 , N^α -Bn, 4 αCH Ala), 5.29 (m, 1H, NHBoc), 7.08-7.49 (m, 20H, Ar.), 7.50-9.27 (m, 7H, 7 NH).

^{13}C NMR of the major form (75 MHz, CDCl_3) δ 17.1 (4 βCH_3 Ala), 23.1 (2 γCH Leu), 23.2 (2 γCH Leu), 23.7 (δCH_3 Leu), 24.9 (3 δCH_3 Leu), 25.5 (2 δCH_3 Leu), 29.0 (3 CH_3 , Boc), 40.2 (βCH_2 Leu), 40.4 (βCH_2 Leu), 41.0 (βCH_2 Leu), 41.7 (βCH_2 Leu), 51.7 (O-CH_3), 52.5 (αCH Ala), 52.8 (αCH Ala), 53.3 (αCH Ala), 53.5 (αCH Ala), 59.8 (αCH Leu), 60.6 (CH_2 , N^α -Bn), 60.8 (CH_2 , N^α -Bn), 61.0 (αCH Leu), 62.3 (CH_2 , N^α -Bn), 62.4 (CH_2 , N^α -Bn), 62.6 (αCH Leu), 63.5 (αCH Leu), 80.7 (C, Boc), 128.3 (CH, Ar.), 128.5 (CH, Ar.), 128.6 (CH, Ar.), 128.8 (3 CH, Ar.), 128.9 (4 CH, Ar.), 129.4 (3 CH, Ar.), 129.6 (3 CH, Ar.), 130.0 (2 CH, Ar.), 130.1 (2 CH, Ar.), 136.3 (C, Ar.), 137.3 (C, Ar.), 138.1 (C, Ar.), 138.7 (C, Ar.), 157.1 (C=O, Boc), 172.1 (4 $\text{C}(\text{NH})=\text{O}$), 172.5 (3 $\text{C}(\text{NH})=\text{O}$), 175.3 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3334, 3278, 3233, 3088, 3068, 3031, 2958, 2940, 2871, 1735, 1722, 1702, 1683, 1665, 1651, 1534, 1515, 1495, 1457, 1384, 1366, 1297, 1279, 1255, 1243, 1216, 1170, 1125 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{70}H_{104}N_{12}O_{11}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 1311.7846, found 1311.7840.

Heterochiral Boc-(*L*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala)₅-OMe decamer 24a



$C_{86}H_{127}N_{15}O_{13}$

$M = 1577,97 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder, 49%

Purification: eluent EtOAc/MeOH = 90:10

Melting point: 218°C

^1H NMR of the major form (300 MHz, CDCl_3) δ 0.62-1.11 (m, 30H, 10 δCH_3 Leu), 1.20-1.38 (m, 15H, 5 βCH_3 Ala), 1.42 (s, 9H, Boc), 1.45- 1.90 (m, 15H, 5 βCH_2 Leu, 5 γCH Leu), 3.42-4.35 (m, 20H, 5 αCH Leu, 5 CH_2 N^α -Bn, 5 αCH Ala), 3.72 (s, 3H, OCH_3), (m, 12H,), 5.31 (m, 1H, NHBoc), 7.15-7.51 (m, 25H, Ar.), 7.75-9.30 (m, 9H, 9 NH).

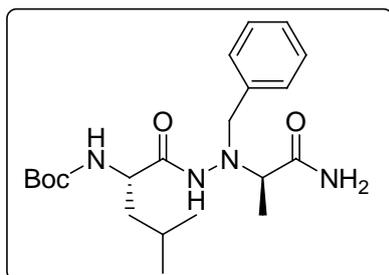
^{13}C NMR of the major form (75 MHz, CDCl_3) δ 22.0-25.6 (5 βCH_3 Ala, 5 γCH Leu, 10 δCH_3 Leu), 29.0 (3 CH_3 , Boc), 40.2 (βCH_2 Leu), 39.6 (2 βCH_2 Leu), 40.2 (βCH_2 Leu), 41.1 (2 βCH_2 Leu), 50.7 (O-CH_3), 52.5 (3 αCH Ala), 52.8 (2 αCH Ala), 59.8 (αCH Leu), 60.2 (2 CH_2 , N^α -Bn), 60.3 (3 CH_2 , N^α -Bn), 60.4 (2 CH_2 , N^α -Bn), 62.0 (αCH Leu), 62.5 (αCH Leu), 62.9 (αCH Leu), 80.7 (C, Boc), 127.7-129.7 (25 CH, Ar.), 136.3 (C, Ar.), 137.0 (C, Ar.), 137.3 (2 C, Ar.), 138.4 (C, Ar.), 157.2 (C=O, Boc), 171.4 (C(NH)=O), 171.9 (2 C(NH)=O), 172.2 (2C(NH)=O), 172.5 (C(NH)=O), 172.9 (2 C(NH)=O), 173.3 (C(NH)=O), 175.7 (C=O, ester).

IR (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3337, 3278, 3233, 3190, 3085, 3068, 3026, 2970, 2940, 1745, 1722, 1702, 1680, 1665, 1648, 1534, 1493, 1457, 1382, 1365, 1297, 1279, 1253, 1243, 1239, 1215, 1172, 1125 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{86}H_{127}N_{15}O_{13}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 1600.9635, found 1600.9630

1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]amide oligomers

Ammonium hydroxide (10 mL, 25% aq) was added to a stirred solution of the appropriate oligomer ester (1 equiv., 0.6 mmol) in MeOH (10 mL). The reaction flask was capped with a rubber septum and stirred vigorously at room temperature for 2 days. The reaction mixture was then concentrated, neutralized with HCl 1 N until pH=7, extracted with AcOEt and evaporated *in vacuo*. The resulting crude material was purified and characterized as reported below in some cases. In others, the reaction mixture was then concentrated, dissolved in CH₂Cl₂, washed with brine twice and evaporated *in vacuo*. The mixture was then triturated in Et₂O to give the product expected.

Heterochiral Boc-L-Leu- α -h(Bn)D-Ala-NH₂ 25a



C₂₁H₃₄N₄O₄

M = 406,26 g.mol⁻¹

White powder, 95%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 30:70

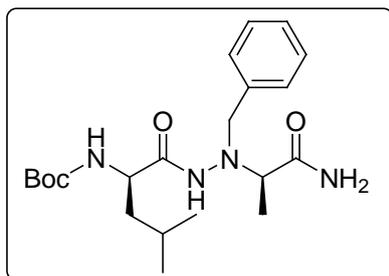
Melting point: 150°C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/10 mM) δ 0.77 (d, 3H, , J = 6.5 Hz, δ CH₃ Leu), 0.80 (d, 3H, J = 6.5 Hz, δ CH₃ Leu) 1.35 (d, 3H, , J = 7.1 Hz, β CH₃ Ala), 1.45 (s, 9H, Boc), 1.40-1.62 (m, 3H, 2 β CH₂ Leu, 1 γ CH Leu), 3.51 (q, 1H, , J = 7.1 Hz, α CH Ala), 3.84 (m, 3H, 2 CH₂, N^α -Bn, 1 α CH Leu), 4.69 (br d, 1H, , J = 7.5 Hz, NHBoc), 5.32 (s, 1H, NH₂), 7.26-7.38 (m, 6H, Ar., 1 NH hydrazidic), 8.06 (br s, 1H, NH₂).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.9 (γ CH Leu), 23.2 (β CH₃ Ala), 25.1 (2 δ CH₃ Leu), 29.0 (3 CH₃, Boc), 40.5 (β CH₂ Leu), 52.2 (α CH Ala), 61.7 (CH₂, N^α -Bn), 62.9 (α CH Leu), 81.3 (C, Boc), 128.7 (CH, Ar.), 129.9 (2 CH, Ar.), 130.8 (2 CH, Ar.), 136.4 (C, Ar.), 156.5 (C=O, Boc), 172.6 (C=O, hydrazid), 176.2 (C=O, amide).

IR ν_{\max} /cm⁻¹: 3480, 3440, 3340, 3307, 3034, 3009, 2960, 2932, 2902, 2871, 2841, 1730, 1725, 1704, 1687, 1662, 1656, 1602, 1505, 1498, 1457, 1436, 1391, 1370, 1291, 1262, 1166, 1123 ; HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₃₄N₄O₄ [M+Na]⁺ m/z 429.2478, found 429.2472.

Homochiral Boc-*D*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala-NH₂ 25b



C₂₁H₃₄N₄O₄

M = 406,26 g.mol⁻¹

White powder, 65%

Purification: trituration with Et₂O

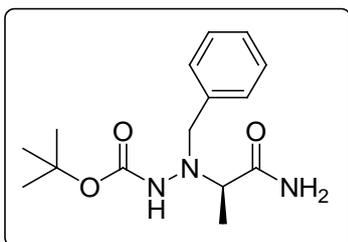
Melting point: 177°C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/10 mM) δ 0.85 (d, 6H, J = 6.0 Hz, 2 δ CH₃ Leu), 1.37 (d, 3H, J = 6.9 Hz, β CH₃ Ala), 1.44 (s, 9H, Boc), 1.39-1.54 (m, 3H, β CH₂ Leu, γ CH Leu), 3.53-3.69 (m, 1H, α CH Ala), 3.79-4.15 (m, 3H, CH₂, N^{α} -Bn, α CH Leu), 4.70 (br d, 1H, J = 5.8 Hz, NHBoc), 5.39 (s, 1H, NH₂), 7.22-7.44 (m, 5H, Ar.), 7.62 (br s, 1H, NH hydrazidic), 7.99 (br s, 1H, NH₂).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.9 (γ CH Leu), 23.2 (β CH₃ Ala), 25.1 (2 δ CH₃ Leu), 29.0 (3 CH₃, Boc), 40.7 (β CH₂ Leu), 52.4 (α CH Ala), 61.0 (CH₂, N^{α} -Bn), 62.2 (α CH Leu), 81.2 (C, Boc), 128.7 (CH, Ar.), 129.2 (2 CH, Ar.), 129.9 (2 CH, Ar.), 136.3 (C, Ar.), 156.5 (C=O, Boc), 172.7 (C=O, hydrazide), 176.0 (C=O, amide)

IR ν_{\max} /cm⁻¹: 3484, 3439, 3340, 3305, 3151, 3020, 2985, 2963, 2939, 2872, 2852, 1734, 1717, 1696, 1685, 1639, 1603, 1575, 1558, 1496, 1472, 1456, 1392, 1369, 1340, 1321, 1291, 1261, 1243, 1165 ; HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₃₄N₄O₄ [M+Na]⁺ m/z 429.2478, found 429.2472.

Boc- α -h(Bn)*D*-Ala-NH₂ 26a



C₁₅H₂₃N₃O₃

M = 293,17 g.mol⁻¹

White powder, 80%

Purification: eluent p-ether/EtOAc = 20:80

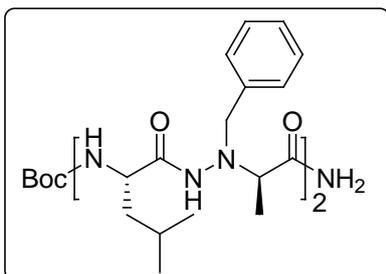
Melting point: 155°C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/10 mM) δ 1.20-1.45 (m, 12H, 3 δ CH₃ Leu, Boc), 3.49 (q, 1H, , J = 6.9 Hz, α CH Ala), 3.80-4.0 (m, 2H, 2 CH₂, N^{α} -Bn), 5.35 (br s, 1H, NH₂), 5.68 (br d, 1H, , J = 7.5 Hz, NHBoc), 7.20-7.45 (m, 5H, Ar.), 8.07 (br s, 1H, NH₂).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 28.8 (3 CH₃, Boc and β CH₃ Ala), 61.9 (CH₂, N^{α} -Bn), 62.4 (α CH Ala), 81.5 (C, Boc), 128.6 (CH, Ar.), 129.1 (2 CH, Ar.), 130.2 (2 CH, Ar.), 136.3 (C, Ar.), 156.6 (C=O, Boc), 176.4 (C=O, amidic).

IR ν_{\max} /cm⁻¹: 3485, 3436, 3401, 3351, 3090, 3068, 3022, 2984, 2937, 1722, 1688, 1576, 1540, 1506, 1493, 1393, 1370, 1261, 1160 ; HRMS (ESI) calculated for C₁₅H₂₃N₃O₃ [M+Na]⁺ m/z 316.1637, found 316.1632

Heterochiral Boc-(*L*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala)₂-NH₂ 27a



C₃₇H₅₇N₇O₆

M = 695,44 g.mol⁻¹

White powder, 63%

Purification: eluent EtOAc/MeOH = 95:5

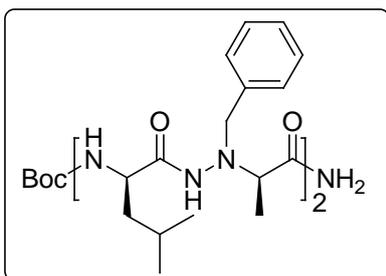
Melting point: 162°C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/10 mM) δ 0.69-0.91 (m, 12H, 4 δ CH₃ Leu), 1.29-1.80 (m, 12H, 2 β CH₃ Ala, 2 β CH₂ Leu, 2 γ CH Leu), 1.44 (s, 9H, Boc), 3.40-3.60 (m, 2H, 2 α CH Ala), 3.80-4.05 (m, 5H, 2 CH₂, *N* ^{α} -Bn, α CH Leu), 4.06-4.20 (m, 1H, α CH Leu), 5.39 (br s, 1H, NH₂), 5.78 (br d, 1H, *J* = 7.2 Hz, NHBoc), 7.20-7.47 (m, 10H, Ar.), 7.95 (br s, 2H, 2 NH hydrazidic), 8.12 (br s, 1H, NH₂), 8.57 (br d, 1H, *J* = 5.1 Hz, 1H, NH amidic).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.4 (γ CH Leu), 22.7 (γ CH Leu), 23.4 (β CH₃ Ala), 23.6 (β CH₃ Ala), 25.0 (2 δ CH₃ Leu), 25.3 (2 δ CH₃ Leu), 29.0 (3 CH₃, Boc), 39.8 (2 β CH₂ Leu), 51.5 (α CH Ala), 51.8 (α CH Ala), 61.3 (2 CH₂, *N* ^{α} -Bn), 62.3 (2 α CH Leu), 80.9 (C, Boc), 128.5 (CH, Ar.), 128.6 (CH, Ar.), 129.1 (2 CH, Ar.), 129.2 (2 CH, Ar.), 129.7 (2 CH, Ar.), 130.0 (2 CH, Ar.), 136.8 (2 C, Ar.), 157.4 (C=O, Boc), 172.8 (C(NH)=O), 173.0 (C(NH)=O), 174.0 (C(NH)=O), 176.6 (C=O, amide)

IR ν_{\max} /cm⁻¹: 3482, 3438, 3400, 3368, 3339, 3308, 3270, 3090, 3064, 2965, 2939, 2871, 2851, 1734, 1717, 1697, 1685, 1672, 1655, 1607, 1540, 1496, 1470, 1455, 1391, 1321, 1292, 1260, 1166, 1107 ; HRMS (ESI) calculated for C₃₇H₅₇N₇O₆ [M+Na]⁺ *m/z* 718.4268, found 718.4263.

Homochiral Boc-(D-Leu- α -h(Bn)D-Ala)₂-NH₂ 27b



C₃₇H₅₇N₇O₆

M = 695,44 g.mol⁻¹

White powder, 93%

Purification: trituration with Et₂O

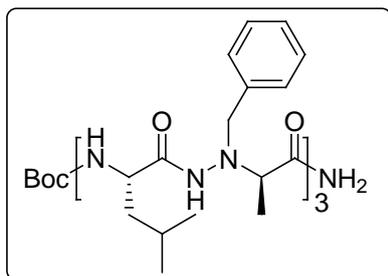
Melting point: 185°C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/10 mM) δ 0.68-0.95 (m, 12H, 4 δ CH₃ Leu), 1.19-1.90 (m, 12H, 2 β CH₃ Ala, 2 β CH₂ Leu, 2 γ CH Leu), 1.42 (s, 9H, Boc), 3.34-3.58 (m, 2H, 2 α CH Ala), 3.69-4.08 (m, 5H, 2 CH₂, N ^{α} -Bn, α CH Leu), 4.08-4.23 (m, 1H, α CH Leu), 4.79 (br d, 1H, J = 7.5 Hz, NHBoc), 5.33 (s, 1H, NH₂), 7.14-7.45 (m, 10H, Ar.), 7.58 (br s, 1H, NH hydrazidic), 7.73 (br s, 1H, NH hydrazidic), 7.91 (br s, 1H, NH₂), 8.14 (br s, 1H, NH amidic).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.9 (γ CH Leu), 23.0 (γ CH Leu), 23.1 (2 β CH₃ Ala), 25.0 (2 δ CH₃ Leu), 25.4 (2 δ CH₃ Leu), 29.0 (3 CH₃, Boc), 39.8 (β CH₂ Leu), 40.6 (β CH₂ Leu), 51.8 (α CH Ala), 52.5 (α CH Ala), 60.9 (CH₂, N ^{α} -Bn), 61.0 (CH₂, N ^{α} -Bn), 62.1 (α CH Leu), 63.4 (α CH Leu), 81.1 (C, Boc), 128.5 (2 CH, Ar.), 129.1 (4 CH, Ar.), 129.8 (2 CH, Ar.), 129.9 (2 CH, Ar.), 136.5 (C, Ar.), 136.6 (C, Ar.), 156.6 (C=O, Boc), 172.7 (2 C(NH)=O), 173.3 (C(NH)=O), 176.2 (C=O, amide).

IR ν_{\max} /cm⁻¹: 3480, 3438, 3400, 3368, 3340, 3308, 3264, 3067, 3029, 3006, 2965, 2939, 2877, 2854, 1733, 1718, 1698, 1685, 1672, 1653, 1607, 1564, 1508, 1499, 1470, 1455, 1394, 1371, 1318, 1289, 1263, 1164 ; HRMS (ESI) calculated for C₃₇H₅₇N₇O₆ [M+Na]⁺ m/z 718.4268, found 718.4263.

Heterochiral Boc-(*L*-Leu- α -h(Bn)*D*-Ala)₃-NH₂ 28a



C₅₃H₈₀N₁₀O₈

M = 984,62 g.mol⁻¹

White powder, 53%

Purification: eluent EtOAc/MeOH = 90:10

Melting point: 195°C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃/10 mM) δ 0.65-0.91 (m, 18H, 6 δ CH₃ Leu), 1.21-1.50 (m, 18H, 3 β CH₃ Ala, 3 β CH₂ Leu, 3 γ CH Leu), 1.43 (s, 9H, Boc), 3.40-3.60 (m, 2H, 3 α CH Ala), 3.80-4.10 (m, 6H, 3 CH₂, *N* ^{α} -Bn), 4.10-4.30 (m, 3H, 3 α CH Leu), 5.68 (br s, 1H, NH₂), 5.78 (br d, 1H, NHBoc), 7.20-7.50 (m, 15H, Ar.), 7.95-8.25 (m, 4H, 3 NH hydrazidic, 1 NH₂), 8.57 (br d, 2H, 2 NH amidic).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.4 (γ CH Leu), 22.5 (γ CH Leu), 22.8 (γ CH Leu), 23.2 (2 β CH₃ Ala), 23.4 (β CH₃ Ala), 24.9 (2 δ CH₃ Leu), 25.2 (2 δ CH₃ Leu), 25.3 (2 δ CH₃ Leu), 29.0 (3 CH₃, Boc), 39.8 (β CH₂ Leu), 40.1 (2 β CH₂ Leu), 51.6 (α CH Ala), 52.0 (α CH Ala), 52.2 (α CH Ala), 60.3 (CH₂, *N* ^{α} -Bn), 60.7 (2 CH₂, *N* ^{α} -Bn), 62.7 (α CH Leu), 63.0 (2 α CH Leu), 80.7 (C, Boc), 128.4 (3 CH, Ar.), 129.0 (4 CH, Ar.), 129.1 (2 CH, Ar.), 129.6 (4 CH, Ar.), 130.0 (2 CH, Ar.), 137.0 (3 C, Ar.), 157.1 (C=O, Boc), 172.6 (C(NH)=O), 172.8 (2 C(NH)=O), 173.4 (C(NH)=O), 174.1 (C(NH)=O), 176.8 (C=O, amide)

IR ν_{\max} /cm⁻¹: 3480, 3437, 3400, 3288, 3088, 3067, 3036, 3006, 2962, 2934, 2872, 2854, 1687, 1657, 1603, 1528, 1507, 1497, 1470, 1454, 1440, 1391, 1369, 1323, 1292, 1263, 1164 ;
HRMS (ESI) calculated for C₅₃H₈₀N₁₀O₈ [M+Na]⁺ m/z 1007.6058, found 1007.6053

1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] cyclooligomers

After successively methyl ester deprotection and boc deprotection, all the 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] cyclooligomers were obtained by high dilution peptide coupling.

Methyl ester déprotection

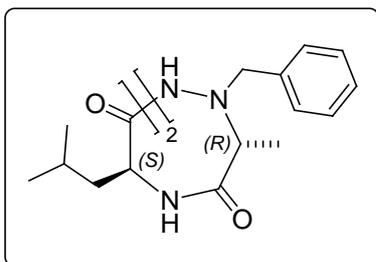
To a solution of methyl ester protected (1.0 equiv., 22 mmol) in MeOH (80 mL) was added, at 0°C, a solution of NaOH 1N (2.0 equiv., 44 mmol). The mixture was vigorously stirred for 3-6 h at room temperature until completion (monitored by TLC). After evaporation of MeOH, the aqueous layer was washed twice with cyclohexane (2 x 10 mL). The aqueous phase was cooled to 0°C and acidified with HCl 1N until pH = 1 and extracted with EtOAc (3 x 20 mL). The residue was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo* to give the corresponding carboxylic acid, and was used without any further purification.

Boc deprotection and cyclization procedure

To a stirred solution of a Boc protected compound (1.0 equiv., 9 mmol) in CH₂Cl₂ was added a portion of trifluoroacetic acid (TFA) which represents 2/3 of the quantity of CH₂Cl₂ added. The mixture was stirred overnight without any control by TLC. The solution was concentrated under vacuum and the excess of TFA was co-evaporated with MeOH and Et₂O until obtaining the corresponding trifluoroacetate salt compound as a white foam in quantitative yield.

The crude residue was dissolved in CH₂Cl₂ and DIPEA was added (4 equiv.). The solution was added dropwise into a solution of HBTU (1 equiv.) in CH₂Cl₂ (the concentration is almost 1mM in the mixture). This slow addition ran during the day (7h) and then the reaction was stirred at room temperature under nitrogen for 48h. The volume was reduced to around 100 mL and was washed successively twice by HCl (1N) (2 x 20 mL), NaHCO₃ sat (2 x 20 mL), H₂O (2 x 20 mL) and brine (2 x 20 mL) and finally dried over MgSO₄ and evaporated to give a colored solid. The resulting crude material was purified and characterized as reported below.

Heterochiral $-(L\text{-Leu-}\alpha\text{-h(Bn)D-Ala})_2\text{-cyclotetramer 30a}$



$C_{32}H_{46}N_6O_4$

$M = 578,36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder, 37%

Purification: precipitation with $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$

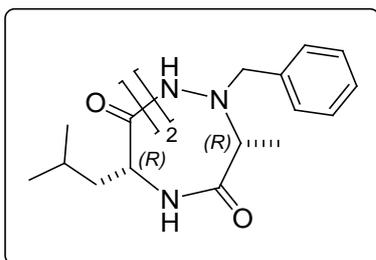
Melting point: 327°C

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.85 (d, 12H, $J = 6.3$ Hz, δCH_3 Leu), 1.32 (d, 6H, $J = 6.9$ Hz, βCH_3 Ala), 1.78-1.82 (m, 6H, 4 βCH_2 Leu, 2 γCH Leu), 3.49 (q, 1H, $J = 6.9$ Hz, αCH Ala), 3.81-3.93 (m, 4H, CH_2 $N^\alpha\text{-Bn}$), 4.14-4.22 (m, 2H, αCH Leu), 7.26-7.43 (m, 10H, Ar.), 7.77 (s, 2H, NH hydrazidic), 8.21 (br d, 2H, $J = 9.3$ Hz, NH amidic).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 23.0 (3 γCH Leu), 23.2 (2 βCH_3 Ala), 25.4 (4 δCH_3 Leu), 37.3 (3 βCH_2 Leu), 49.6 (2 αCH Ala), 59.5 (2 αCH Leu), 60.9 (2 CH_2 , $N^\alpha\text{-Bn}$), 128.7 (2 CH, Ar.), 129.2 (4 CH, Ar.), 130.0 (4 CH, Ar.), 136.6 (C, Ar.), 170.9 (C=O, hydrazide), 173.5 (C=O, amide).

IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3297, 3090, 3067, 3008, 2961, 2931, 2871, 2851, 1701, 1650, 1602, 1520, 1461, 1375, 1324, 1261 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{32}H_{46}N_6O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 601. 3478, found 601.3473

Homochiral $-(D\text{-Leu-}\alpha\text{-h(Bn)D-Ala})_2\text{-cyclotetramer 30b}$



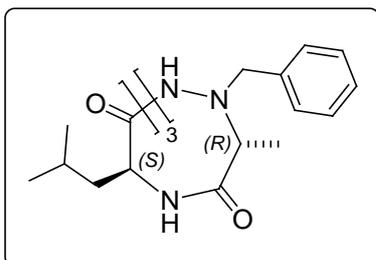
$C_{32}H_{46}N_6O_4$
 $M = 578,36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
White powder, 31%
Purification: eluent EtOAc
Melting point: 180°C

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.69 (d, 6H, $J = 6.0$ Hz, δCH_3 Leu), 0.75 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, δCH_3 Leu), 1.40 (d, 6H, $J = 6.9$ Hz, βCH_3 Ala), 1.6-1.8 (m, 6H, 4 βCH_2 Leu, 2 γCH Leu), 3.22 (q, 1H, $J = 6.9$ Hz, αCH Ala), 3.51 (m, 2H, CH_2 $N^\alpha\text{-Bn}$), 3.90-3.97 (m, 2H, αCH Leu), 4.17 (m, 2H, CH_2 $N^\alpha\text{-Bn}$), 7.20-7.35 (m, 10H, Ar.), 7.52 (s, 2H, NH hydrazidic), 7.61 (br d, 2H, $J = 9.0$ Hz, NH amidic).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 22.7 (3 γCH Leu), 23.5 (2 βCH_3 Ala), 25.2 (4 δCH_3 Leu), 38.1 (3 βCH_2 Leu), 49.3 (2 αCH Ala), 58.9 (2 CH_2 , $N^\alpha\text{-Bn}$), 67.2 (2 αCH Leu), 128.5 (2 CH, Ar.), 129.1 (4 CH, Ar.), 129.9 (4 CH, Ar.), 135.4 (C, Ar.), 169.6 (C=O, hydrazide), 174.3 (C=O, amide).

IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3297, 3090, 3064, 3004, 2961, 2933, 2870, 2851, 1704, 1602, 1526, 1497, 1456, 1390, 1375, 1320, 1298, 1261 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{32}H_{46}N_6O_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 601.3478, found 601.3473

Heterochiral $-(L\text{-Leu-}\alpha\text{-h(Bn)D-Ala})_3\text{-cyclohexamer 31a}$



$C_{48}H_{69}N_9O_6$

$M = 867,54 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder, 33%

Purification: eluent EtOAc/MeOH = 95:5

Melting point: 163°C

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.81 (d, 9H, $J = 6.0$ Hz, δCH_3 Leu), 0.88 (d, 9H, $J = 6.3$ Hz, δCH_3 Leu), 1.13 (d, 6H, $J = 7.2$ Hz, βCH_3 Ala), 1.60-1.75 (m, 9H, 6 βCH_2 Leu, 3 γCH), 3.49 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz, αCH Ala), 3.84-3.95 (m, 9H, 6 CH_2 $N^\alpha\text{-Bn}$, 3 αCH Leu), 7.10-7.45 (m, 15H, Ar.), 8.42 (s, 3H, NH hydrazidic), 9.37 (br d, 3H, $J = 6.0$ Hz, NH amidic).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 22.7 (3 γCH Leu), 23.6 (3 βCH_3 Ala), 25.2 (6 δCH_3 Leu), 37.6 (3 βCH_2 Leu), 50.8 (3 αCH Ala), 60.9 (3 CH_2 , $N^\alpha\text{-Bn}$), 62.4 (3 αCH Leu), 128.6 (3 CH, Ar.), 129.1 (6 CH, Ar.), 129.9 (6 CH, Ar.), 136.7 (C, Ar.), 173.0 (C=O, hydrazide), 175.6 (C=O, amide).

IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3339, 3226, 3088, 3064, 3003, 2998, 2933, 2870, 2854, 1695, 1637, 1602, 1542, 1497, 1467, 1454, 1388, 1371, 1339, 1315, 1251 ; HRMS (ESI) calculated for $C_{48}H_{69}N_9O_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 890.5269, found 890.5263

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Fauchere, J.-L.; Thurieau, C. *Advances in Drug Research* **1992**, *23*, 127-159.
- (2) Dutta, A. S. *Advances in Drug Research* **1991**, *21*, 145-286.
- (3) Goodman, M. *Methods of organic chemistry (Houben-Weyl). E22, Synthesis of peptides and peptidomimetics. a-e*; 2004.
- (4) Bouillon, I.; Brosse, N.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 2223-2234.
- (5) Bouillon, I.; Vanderesse, R.; Brosse, N.; Fabre, O.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9635-9641.
- (6) Bouillon, I.; Brosse, N.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Letters* **2004**, *45*, 3569-3572.
- (7) Felten, A.-S.; Vanderesse, R.; Brosse, N.; Didierjean, C.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Letters* **2008**, *49*, 156-158.
- (8) Abbas, C.; Pickaert, G.; Didierjean, C.; Grégoire, B. J.; Vanderesse, R. *Tetrahedron Letters* **2009**, *50*, 4158-4160.
- (9) Gellman, S. H. *Accounts of Chemical Research* **1998**, *31*, 173-180.
- (10) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 13071-13072.
- (11) Seebach, D.; Overhand *Helvetica Chimica Acta* **1996**, *79*, 913.
- (12) Seebach, D.; Fritz, M. G. *International Journal of Biological Macromolecules* **1999**, *25*, 217-236.
- (13) Dado, G. P.; Gellman, S. H. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 1054-1062.
- (14) Li, X.; Wu, Y.-D.; Yang, D. *Accounts of Chemical Research* **2008**, *41*, 1428-1438.
- (15) Madalengoitia, J. S.; Madalengoiti. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 4986.
- (16) Guruprasad, K.; Prasad, M. s.; Kumar, G. r. *The Journal of Peptide Research* **2000**, *56*, 250-263.
- (17) Seebach, D.; Matthews, J. L. *Chemical Communications* **1997**, 2015-2022.
- (18) Lelais, G.; Seebach, D. *Helvetica Chimica Acta* **2003**, *86*, 4152-4168.
- (19) Horne, W. S.; Gellman, S. H. *Accounts of Chemical Research* **2008**, *41*, 1399-1408.

- (20) Roy, A.; Prabhakaran, P.; Baruah, P. K.; Sanjayan, G. J. *Chemical Communications* **2011**, 47, 11593.
- (21) Vasudev, P. G.; Chatterjee, S.; Shamala, N.; Balaram, P. *Accounts of Chemical Research* **2009**, 42, 1628-1639.
- (22) Karle, I. L.; Pramanik, A.; Banerjee, A.; Bhattacharjya, S.; Balaram, P. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, 9087-9095.
- (23) Sharma, G. V. M.; Babu, B. S.; Ramakrishna, K. V. S.; Nagendar, P.; Kunwar, A. C.; Schramm, P.; Baldauf, C.; Hofmann, H.-J. *Chemistry - A European Journal* **2009**, 15, 5552-5566.
- (24) Sharma, G. V. M.; Chandramouli, N.; Choudhary, M.; Nagendar, P.; Ramakrishna, K. V. S.; Kunwar, A. C.; Schramm, P.; Hofmann, H.-J. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131, 17335-17344.
- (25) Pettit, G. R.; Kamano, Y.; Kizu, H.; Dufresne, C.; Herald, C. L.; Bontems, R. J.; Schmidt, J. M.; Boettner, F. E.; Nieman, R. A. *Heterocycles* **1989**, 28, 553-558.
- (26) Lecoq, A.; Marraud, M.; Aubry, A. *Tetrahedron Letters* **1991**, 32, 2765-2768.
- (27) Aubry, A.; Bayeul, D.; Mangeot, J.; Vidal, J.; Sterin, S.; Collet, A.; Lecoq, A.; Marraud, M. *Biopolymers* **1991**, 31, 793-801.
- (28) Salaün, A.; Potel, M.; Roisnel, T.; Gall, P.; Le Grel, P. *Journal of Organic Chemistry* **2005**, 70, 6499-6502.
- (29) Karle, I.; Handa, B.; Hassall, C. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **1975**, 31, 555-560.
- (30) De Santis, P.; Morosetti, S.; Rizzo, R. *Macromolecules* **1974**, 7, 52-58.
- (31) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Khazanovich, N. *Nature* **1993**, 366, 324-327.
- (32) Hassall, C. H. *Chem. Biol. Pept., Proc. Am. Pept. Symp., 3rd* **1972**, 153.
- (33) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Buehler, L. K. *Nature* **1994**, 369, 301-304.
- (34) HLADKY, S. B.; HAYDO. *Nature (London)* **1970**, 225, 451.
- (35) Le Grel, P.; Salaün, A.; Potel, M.; Le Grel, B.; Lassagne, F. *The Journal of Organic Chemistry* **2006**, 71, 5638-5645.
- (36) Salaün, A.; Mocquet, C.; Perochon, R.; Lecorgne, A.; Le Grel, B.; Potel, M.; Le Grel, P. *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, 73, 8579-8582.
- (37) Traube, W. *Ber.* **1896**, 29, 670.
- (38) Darapsky, A. *Journal fur Praktische Chemie (Leipzig)* **1936**, 146, 268.

- (39) Gustafsson H;Ragnarsson U *Acta Pharm Suec* **1974**, *11*, 493-494.
- (40) Viret, J.; Gabard, J.; Collet, A. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 891-894.
- (41) Klosterman, H.; Lamoureux, G.; Parsons, J. *Biochemistry* **1967**, *6*, 170–177.
- (42) Achiwa, K.; Yamada, S. *Tetrahedron Letters* **1975**, *16*, 2701-2704.
- (43) Oguz, U.; Guilbeau, G. G.; McLaughlin, M. L. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 2873-2875.
- (44) Andrae, S. *Synthesis* **1991**, *1991*, 327.
- (45) Hannachi, J.-C.; Vidal, J.; Mulatier, J.-C.; Collet, A. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, *69*, 2367-2373.
- (46) Collet, A.; Vidal, J.; Hannachi, J.-C.; Guy, L. Alpha-Hydrazino Acid Derivatives and Method for Making Same **1997**.
- (47) Burk, M. J.; Martinez, J. P.; Feaster, J. E.; Cosford, N. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4399-4428.
- (48) Gennari, C.; Colombo, L.; Bertolini, G. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, *108*, 6394-6395.
- (49) Trimble, L. A.; Vederas, J. C. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, *108*, 6397-6399.
- (50) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Dorow, R. L.; Dellaria Jr., J. F. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5525-5540.
- (51) Di Grandi, M. J.; Tilley, J. W. *Tetrahedron Letters* **1996**, *37*, 4327-4330.
- (52) Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Jamart-Grégoire, B. *The Journal of Organic Chemistry* **2000**, *65*, 4370-4374.
- (53) Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Bodiguel, J.; Jamart-Grégoire, B. *The Journal of Organic Chemistry* **2001**, *66*, 2869-2873.
- (54) Carmi, A.; Pollak, G.; Yellin, H. *The Journal of Organic Chemistry* **1960**, *25*, 44–46.
- (55) Sawayama, T.; Kinugasa, H.; Nishimura, H. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1976**, *24*, 326-329.
- (56) Cheguillaume, A.; Lehardy, F.; Bouget, K.; Baudy-Floc'h, M.; Le Grel, P. *Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 2924-2927.
- (57) Cheguillaume, A.; Doubli-Bounoua, I.; Baudy-Floc'h, M.; Le Grel, P. *Synlett* **2000**, 331-334.
- (58) Hoffman, R. V.; Kim, H.-O. *Tetrahedron Letters* **1990**, *31*, 2953-2956.
- (59) Acherar, S.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Letters* **2009**, *50*, 6377-6379.

- (60) Moussodia, R.-O.; Acherar, S.; Bordessa, A.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4682-4692.
- (61) Melendez, R. E.; Lubell, W. D. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 6759-6764.
- (62) Bailey, M.; Halmos, T.; Goudreau, N.; Lescop, E.; Llinas-Brunet, M. *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, *47*, 3788-3799.
- (63) Andre, F.; Marraud, M.; Tsouloufis, T.; Tzartos, S.; Boussard, G. *Journal of Peptide Science* **1997**, *3*, 429-441.
- (64) Sundeen, J. E.; Zahler, R.; Jendrzewski, S. *US Patent 5030724* **2001**
- (65) Kolasa, T.; Miller, M. *Journal of Organic Chemistry* **1987**, *52*, 4978-4984.
- (66) Seffler, A. M.; Kozlowski, M. C.; Guo, T.; Bartlett, P. A. *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, *62*, 93-102.
- (67) Castro, B.; Dormoy, J. R.; Evin, G.; Selve, C. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 1219-1222.
- (68) Carpino, L. A. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115*, 4397-4398.
- (69) Albericio, F.; Bofill, J. M.; El-Faham, A.; Kates, S. A. *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 9678-9683.
- (70) Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *Journal of the American Chemical Society* **1955**, *77*, 1067-1068.
- (71) Kimura, T.; Takai, M.; Masui, Y.; Morikawa, T.; Sakakibara, S. *Biopolymers* **1981**, *20*, 1823-1832.
- (72) König, W.; Geiger, R. *Chemische Berichte* **1970**, *103*, 788-798.
- (73) König, W.; Geiger, R. *Chemische Berichte* **2006**, *103*, 2034-2040.
- (74) Albericio, F.; Carpino, L. A. *Methods in Enzymology* **1997**, *289*, 104-126.
- (75) Cheguillaume, A.; Salaün, A.; Sinbandhit, S.; Potel, M.; Gall, P.; Baudy-Floc'h, M.; Le Grel, P. *Journal of Organic Chemistry* **2001**, *66*, 4923-4929.
- (76) Yang, D.; Qu, J.; Li, W.; Zhang, Y.-H.; Ren, Y.; Wang, D.-P.; Wu, Y.-D. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124*, 12410-12411.
- (77) Salaün, A.; Favre, A.; Le Grel, B.; Potel, M.; Le Grel, P. *Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 150-158.
- (78) Yang, D.; Qu, J.; Li, W.; Wang, D.-P.; Ren, Y.; Wu, Y.-D. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 14452-14457.

- (79) Macdonald, S. J. F.; Clarke, G. D. E.; Dowle, M. D.; Harrison, L. A.; Hodgson, S. T.; Inglis, G. G. A.; Johnson, M. R.; Shah, P.; Upton, R. J.; Walls, S. B. *The Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 5166-5175.
- (80) Hogberg, T.; Strom, P.; Ebner, M.; Ramsby, S. *Journal of Organic Chemistry* **1987**, *52*, 2033-2036.
- (81) Lin, Y. A.; Chalker, J. M.; Floyd, N.; Bernardes, G. J. L.; Davis, B. G. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 9642-9643.
- (82) Lovering, F.; Kirincich, S.; Wang, W.; Combs, K.; Resnick, L.; Sabalski, J. E.; Butera, J.; Liu, J.; Parris, K.; Telliez, J. B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17*, 3342-3351.
- (83) Wessjohann, L. A.; Ruijter, E.; Garcia-Rivera, D.; Brandt, W. *Molecular Diversity* **2005**, *9*, 171-186.
- (84) Sheehan, J. C.; Richardson, W. L. *Journal of the American Chemical Society*. **1954**, *76*, 6329-6330.
- (85) Hymowitz, S. G.; Ashkenaz. *Nature Chemical Biology* **2005**, *1*, 353.
- (86) Rezai, T. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 2510.
- (87) Yang, D.; Ng, F.-F.; Li, Z.-J.; Wu, Y.-D.; Chan, K. W. K.; Wang, D.-P. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 9794-9795.
- (88) Yang, D.; Li, X.; Sha, Y.; Wu, Y.-D. *Chemistry - A European Journal* **2005**, *11*, 3005-3009.
- (89) Ashcroft, F. M. Ion Channels and Disease, **2000**.
- (90) Yang, D.; Li, W.; Qu, J.; Luo, S.-W.; Wu, Y.-D. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 13018-13019.
- (91) Semetey, V.; Didierjean, C.; Briand, J.-P.; Aubry, A.; Guichard, G. *Angewandte Chemie - International Edition* **2002**, *41*, 1895-1898.
- (92) Clark, T. D.; Buehler, L. K.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 651-656.
- (93) Fischer, L.; Decossas, M.; Briand, J.-P.; Didierjean, C.; Guichard, G. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 1625-1628.
- (94) Brooks, S. J.; García-Garrido, S. E.; Light, M. E.; Cole, P. A.; Gale, P. A. *Chemistry - A European Journal* **2007**, *13*, 3320-3329.
- (95) Kim, H. S.; Hartgerink, J. D.; Ghadiri, M. R. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 4417-4424.

- (96) Fernandez-Lopez, S.; Kim, H.-S.; Choi, E. C.; Delgado, M.; Granja, J. R.; Khasanov, A.; Kraehenbuehl, K.; Long, G.; Weinberger, D. A.; Wilcoxon, K. M.; Ghadiri, M. R. *Nature* **2001**, *412*, 452-455.
- (97) Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 6023.
- (98) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 10785-10786.
- (99) Khazanovich, N.; Granja, J. R.; McRee, D. E.; Milligan, R. A.; Ghadiri, M. R. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 6011-6012.
- (100) Suga, T.; Osada, S.; Kodama, H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2012**, *20*, 42-46.
- (101) Jagannadh, B.; Reddy, M. S.; Rao, C. L.; Prabhakar, A.; Jagadeesh, B.; Chandrasekhar, S. *Chemical Communications* **2006**, 4847.
- (102) Fujimura, F.; Hirata, T.; Morita, T.; Kimura, S.; Horikawa, Y.; Sugiyama, J. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2394-2400.
- (103) Seebach, D.; Matthews, J. L. *Helvetica Chimica Acta* **1997**, *80*, 173.
- (104) Gademann, K.; Ernst, M.; Hoyer, D.; Seebach, D. *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, *38*, 1223-1226.
- (105) Kienker, P.; Degrado, W.; Lear, J. *Proceedings of National Academy of Sciences U. S. A.* **1994**, *91*, 4859-4863.
- (106) Iijima, S. *Nature* **1991**, *354*, 56-58.
- (107) Song, L.; Hobaugh, M. R.; Shustak, C.; Cheley, S.; Bayley, H.; Gouaux, J. E. *Science* **1996**, *274*, 1859-1866.
- (108) Caspar, D. L. D.; Namba, K. *Advances in Biophysics* **1990**, *26*, 157-185.
- (109) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Reza Ghadiri, M. *Angewandte Chemie - International Edition* **2001**, *40*, 988-1011.
- (110) Seebach, D.; Herrmann, G. F.; Lengweiler, U. D.; Amrein, W. *Helvetica Chimica Acta* **1997**, *80*, 989-1026.
- (111) Amorin, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 2844-2845.
- (112) Gauthier, D.; Baillargeon, P.; Drouin, M.; Dory, Y. L. *Angewandte Chemie - International Edition* **2001**, *40*, 4635-4638.
- (113) Ranganathan, D.; Lakshmi, C.; Karle, I. L. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, *121*, 6103-6106.

- (114) Ranganathan, D.; Haridas, V.; Gilardi, R.; Karle, I. L. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 10793-10800.
- (115) Zhang, J.; Moore, J. S. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 2655-2656.
- (116) Harada, A. *Nature (London)* **1992**, *356*, 325.
- (117) Harada, A. *Nature (London)* **1993**, *364*, 516.
- (118) Walsh; Wright *Chemical Reviews* **2005**, *105*, 391-394.
- (119) Horne, W. S.; Wiethoff, C. M.; Cui, C.; Wilcoxon, K. M.; Amorin, M.; Ghadiri, M. R.; Nemerow, G. R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13*, 5145-5153.
- (120) Sanchez-Quesada, J.; Ghadiri, M. R.; Bayley, H.; Braha, O. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 11757-11766.
- (121) Couet, J.; Samuel, J. D. J. S.; Kopyshv, A.; Santer, S.; Biesalski, M. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44*, 3297-3301.
- (122) Motesharei, K.; Ghadiri, M. R. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119*, 11306-11312.
- (123) Horwich, A. L.; Weber-Ban, E. U.; Finley, D. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1999**, *96*, 11033-11040.
- (124) Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; DeGrado, W. F. *Chemical Reviews* **2001**, *101*, 3219-3232.
- (125) Ramachandran, G. N.; Ramakrishnan *Journal of Molecular Biology* **1963**, *7*, 95.
- (126) Boussard, G.; Marraud, M.; Aubry, A. *Biopolymers* **1979**, *18*, 1297-1331.
- (127) Milner-White, E. J. *Journal of Molecular Biology* **1990**, *216*, 385.
- (128) Zalkin, A.; Forrester, J. D.; Templeton, D. H. *Journal of the American Chemical Society* **1966**, *88*, 1810-1814.
- (129) Benatalah, Z.; Aubry, A.; Boussard, G.; Marraud, M. *International Journal of Peptide and Protein Research* **1991**, *38*, 603-605.
- (130) Abbas, C.; Jamart Grégoire, B.; Vanderesse, R.; Didierjean, C. *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* **2009**, *65*, 3079-3079.
- (131) Marraud, M.; Dupont, V.; Grand, V.; Zerkout, S.; Lecoq, A.; Boussard, G.; Vidal, J.; Collet, A.; Aubry, A. *Biopolymers* **1993**, *33*, 1135-1148.
- (132) Felten, A.-S.; Dautrey, S.; Bodiguel, J.; Vanderesse, R.; Didierjean, C.; Arrault, A.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 10741-10753.

- (133) Günther, R.; Hofmann, H.-J. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 247-255.
- (134) Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Broxterman, Q. B.; Kaptein, B.; Corbier, C.; Saviano, M.; Palladino, P.; Benedetti, E. *Macromolecules* **2003**, *36*, 8164-8170.
- (135) Iqbal, M.; Balaram, P. *Biopolymers* **1982**, *21*, 1427-1433.
- (136) André, F.; Vicherat, A.; Boussard, G.; Aubry, A.; Marraud, M. *The Journal of Peptide Research* **1997**, *50*, 372-381.
- (137) Bax, A. *Journal of Magnetic Resonance* **1981**, *42*, 164.
- (138) Bax, A.; Freeman, R. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **1981**, *44*, 542-561.
- (139) Bothner-By, A. A.; Stephens, R. L.; Lee, J.; Warren, C. D.; Jeanloz, R. W. *Journal of the American Chemical Society* **1984**, *106*, 811-813.
- (140) Dautrey, S.; Bodiguel, J.; Arrault, A.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 7234.
- (141) Smart, O. S.; Breed, J.; Smith, G. R.; Sansom, M. S. *Biophysical Journal* **1997**, *72*, 1109-1126.
- (142) Terech, P.; Weiss, R. G. *Chemical Reviews* **1997**, *97*, 3133-3160.
- (143) Geiger, C.; Stanescu, M.; Chen, L.; Whitten, D. G. *Langmuir* **1999**, *15*, 2241-2245.
- (144) Wang, R.; Geiger, C.; Chen, L.; Swanson, B.; Whitten, D. G. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 2399-2400.
- (145) Makarević, J.; Jokić, M.; Raza, Z.; Štefanić, Z.; Kojić-Prodić, B.; Žinić, M. *Chemistry - A European Journal* **2003**, *9*, 5567-5580.

Synthèse et études conformationnelles de 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques

Ce travail décrit la synthèse et l'étude structurale de 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques. Après avoir mis au point une méthode générale de synthèse en solution des α - N^α -hydrazinoesters diversement substitués sur l'azote alpha, ces derniers ont été engagés dans l'élaboration de 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mères linéaires et cycliques de taille variable.

Des études conformationnelles utilisant la RMN, l'IR et les RX ont permis de montrer que la présence de l'azote supplémentaire dans le squelette permettait l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires conduisant à la formation d'hydrazinoturn. Ainsi l'alternance d'acides α -aminés naturels et d' α -hydrazinoacides conduit à une auto-structuration des oligomères linéaires par formation de γ -turn et d'hydrazinoturn, identique en série hétéro- comme homochirale.

En série cyclique, une analyse par RX a permis de mettre en évidence, à l'état solide, la formation de nanotubes due à l'empilement des cyclotétramères hétérochiraux.

Cette conformation existe dans le toluène et le dodécane et conduit à la formation d'un gel. Bien que n'ayant pas de preuves de sa structure à l'état solide, le gel formé par le cyclohexamère hétérochiral dans le cyclohexane nous conforte dans l'idée d'une auto-structuration comparable.

Les analyses RMN et IR en variation de concentration et température ont quant à elles mis en évidence la dynamique de formation des nanotubes. L'étude sur le cyclotétramère homochiral a cependant montré qu'il ne formait pas de gel. Le gel étant révélateur d'une auto-structuration, ceci nous conduit à nous interroger sur la versatilité du squelette macrocyclique 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] pour l'établissement de nanotubes.

Mots clés : hydrazinopeptides, hydrazinoturn, γ -turn, macrocycles, nanotubes, auto-assemblage, gélation

Synthesis and conformational studies of linear and cyclic 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mers

This work describes the synthesis and the structural study of linear and cyclic 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mers. After having designed a general method to synthesize α - N^α -hydrazinoesters with various surrogates on the alpha nitrogen in solution, these were used to build linear and cyclic 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino]mers of varied length.

Conformational studies resorting to NMR, IR and X-ray crystallography have shown that the presence of a supplementary nitrogen within the backbone enables to form intramolecular hydrogen bonds, leading to the formation of hydrazinoturns. Thus, the alternation of natural α -aminoacids and α -hydrazinoacids leads to the autostructuration of the linear oligomers through the formation of γ -turns and hydrazinoturns, both in the hetero and homochiral series.

In the cyclic series, an X-ray crystallography analysis revealed the formation of nanotubes in the solid state, through the stacking of heterochiral cyclotetramers. This conformation exists in toluene and dodecane and leads to the formation of a gel. Despite having no proof of its structure in the solid state, the gel formed by the heterochiral cyclohexamer in cyclohexane confirms a comparable auto-structuration. Finally, concentration- and temperature-dependant NMR and IR studies have revealed the dynamics of the formation of nanotubes. The study of the homochiral cyclotetramer has however shown that it was not able to form a gel. As the gel is indicative of an auto-structuration, this has led us to question the versatility of the macrocyclic 1:1-[α/α - N^α -Bn-hydrazino] backbone towards the formation of nanotubes.

Keywords : hydrazinopeptides, hydrazinoturn, γ -turn, macrocycles, nanotubes, self-assembly, gelation