



HAL
open science

Synthèse de N-aminopeptides. Application à la synthèse de nouveaux foldamères

Anne-Sophie Felten

► **To cite this version:**

Anne-Sophie Felten. Synthèse de N-aminopeptides. Application à la synthèse de nouveaux foldamères. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2007. Français. NNT : 2007INPL095N . tel-01752831

HAL Id: tel-01752831

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752831v1>

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>

Nancy-Université

The logo for INPL (Institut National de la Bibliothèque et de l'Édition) is positioned below the university name. It features a stylized red graphic element that resembles a bracket or a stylized 'N' shape, followed by the letters 'INPL' in a black, serif font.

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 au même titre que sa version papier. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

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

Contact SCD INPL : scdinpl@inpl-nancy.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>

Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques (ENSIC)

Ecole Doctorale Sciences et Ingénierie des Ressources Procédés Produits Environnement (RP2E)

Laboratoire de Chimie-Physique Macromoléculaire (LCPM)

UMR CNRS-INPL 7568

Thèse

Présentée par

Anne-Sophie FELTEN

En vue de l'obtention du titre de

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine

Spécialité : Génie des Procédés et des Produits

Synthèse de *N*-aminopeptides.

Application à la synthèse de nouveaux foldamères.

Soutenue publiquement le 7 décembre 2007.

Membres du jury

Dr. Yves Chapleur (DR-CNRS, SRSMC, Nancy)

Dr. Agnès Delmas (DR-CNRS, CBM, Orléans)

Dr. Philippe Le Grel (MCF, ICVM, Rennes)

Dr. Régis Vanderesse (CR1-CNRS, LCPM, Nancy)

Pr. Brigitte Jamart-Grégoire, (Pr, LCPM, Nancy)

Président

Rapporteur

Rapporteur

Directeur de thèse

Co-directrice de thèse

REMERCIEMENTS

Il est de coutume de remercier, au début d'un tel travail, toutes les personnes qui (de près ou de loin) ont contribué à le rendre possible. C'est avec un enthousiasme non dissimulé et tout ce qu'il y a de plus sincère, que je voudrais rendre hommage à toutes celles et tous ceux qui, à leur manière et particulièrement au cours de cette année 2007, m'ont aidé à mener à bien cette thèse.

Toute ma gratitude va à Madame Agnès DELMAS, Directeur de Recherche au CNRS, ainsi qu'à Monsieur Philippe LE GREL, Maître de Conférences, pour avoir accepté la charge d'être rapporteurs. Je tiens à les remercier chaleureusement pour toutes les remarques émises (tant dans les rapports que lors de la discussion) et dont j'ai essayé de tenir compte pour la version finale de ce manuscrit. Je tiens également à remercier Monsieur Yves CHAPLEUR, Directeur de Recherche au CNRS, pour avoir accepté d'être président du jury.

Je voudrais ensuite remercier Monsieur le Docteur Régis VANDERESSE, chargé de recherche au CNRS et Madame le Professeur Brigitte JAMART-GREGOIRE, pour avoir accepté de diriger ce travail de thèse, pour la confiance et la liberté qu'ils m'ont accordé. Travailler à leurs côtés fut une expérience très enrichissante. Je me dois également d'associer à ces remerciements Monsieur le Professeur Nicolas BROSSE qui fut l'encadrant de mon DEA et grâce à qui j'ai pu découvrir le LCPM. Je lui suis très reconnaissante d'avoir su me remotiver quand parfois le doute s'installait.

Que Madame le Docteur Marie-Christine AVERLANT-PETIT et Monsieur le Docteur Guillaume PICKAERT soit ici remerciés très chaleureusement pour toute l'aide fournie lors de la réalisation et de la rédaction du chapitre « étude structurale », qui nous aura donné tant de fil à retordre !!! Il est tout à fait évident que je n'y serais jamais arrivée sans vous. Votre aide, votre disponibilité, vos conseils et votre gentillesse m'ont été précieux... Je tiens à adresser une pensée toute particulière à Marie pour ses qualités humaines incomparables (et pour avoir un stock de café inépuisable). Je te remercie pour tout le temps que tu m'as accordé (et ce n'est pas peu dire !!) et pour tout ce que tu m'as apporté, tant sur le plan professionnel que personnel. Je ne peux tirer ma révérence sur le papier mais le cœur y est !!

Je souhaite remercier du fond du cœur tous les membres du labo qui ont permis que ce travail aboutisse. Je pense notamment à Olivier FABRE, notre Monsieur RMN, pour tous les spectres qu'il a effectué pour moi au cours de ces quatre années et surtout pour sa gentillesse, Mathilde ACHARD, notre Madame HPLC, pour avoir réalisé l'essentiel des purifications par HPLC, Alexandre, pour avoir encadré mon monitorat et pour les nombreuses soirées que nous avons passés ensemble, Axelle, Jacques, pour sa disponibilité, ses conseils et notre carte de fidélité commune chez le coiffeur, JMG,

pour sa bonne humeur, Jean-Claude, pour avoir modernisé (voir customisé) mon collecteur de fractions et m'avoir ainsi fait gagner un temps précieux dans mes manip...

Au cours des quatre années qui viennent de s'écouler, la chance m'a été donnée de croiser au laboratoire, un grand nombre de personnes qui méritent ma reconnaissance. Je souhaite donc leur exprimer toute ma gratitude, et en particulier à l'équipe du café du premier : Manue (tout simplement merci pour tout), Jeanine, Dominique et Marie-Christine, que je remercie pour leur disponibilité et leur soutien dans les moments difficiles, et Magali, pour les tisanes et les petites parties de « Questions pour un champion ». J'associe à ces remerciements « l'équipe du RU » : Dr. Man, Ludo, Rudy, Sébastien, Hervé, Charlotte, Emelyne, Jing. Pour certains d'entre vous, la route est encore longue et semée d'embûches, mais ne vous découragez pas, ce qui ne vous tue pas vous rend plus fort ! Encore un grand merci à tous d'avoir géré l'organisation du pot de thèse, du réchauffage des mini-pizz au débouchage des bouteilles de champagne, vous avez été d'une efficacité à toute épreuve !!!

Mes années de thèse furent l'occasion de nouer des contacts avec quelques membres du Laboratoire des Sciences du Génie Chimique, à l'époque où nous partagions encore le bâtiment Déglin : Cagette, Steff, La Maud, Guillain, Jean-Jean, Cédric, Madame G., Juan, Stéphane et Maud, Xavier (que je remercie vivement pour les échantillons qu'il a passé en spectro de masse), Nath et Hubert... Certains de ces contacts ont donné naissance à de véritables amitiés, et je tiens à remercier tout particulièrement Cagette, Steff et Maud pour avoir supporté mes incessantes plaintes et pour m'avoir soutenu (même de loin) au cours d'un fin de thèse plus que difficile.

Je ne saurais trouver les mots pour remercier tous les amis qui m'entourent, et qui ont en partie contribué à l'aboutissement de ce travail. Je pense notamment à Anso, qui m'a toujours soutenue malgré la distance qui nous sépare, Van, pour les credis et pour notre amitié qui dure depuis plus de 20 ans, Yann, GG, Fat, pour m'avoir fait manger des moines bouddhistes, Marjo, Pélotte, Sally, Dgenye, Ben, Brac, Marine, Vincent, Christine, Jérôme, Julien, Sébastien... Encore un grand MERCI.

Enfin, je voudrais terminer cette longue liste par mes remerciements les plus sincères pour toute ma famille, et particulièrement ma maman Solange et ma sœur Hélène, sans qui j'aurais probablement abandonné. Si j'ai pu terminer cette thèse, c'est grâce à vous, et c'est donc logiquement à vous que je dédie ce manuscrit.

Je sais que j'oublie des gens. Je ne peux pas ignorer que la réalisation de cette thèse n'aurait jamais été possible sans la contribution de ces dizaines de personnes. Merci à toutes et à tous!

Liste des abréviations	- 1 -
Introduction générale	- 4 -
Chapitre I : Synthèse de <i>N</i>-aminodipeptides diversement substitués.	
I. Introduction.	- 7 -
I.1. Synthèse d' α -hydrazinoacides optiquement purs.	- 8 -
I.1.1. Substitutions nucléophiles.	- 8 -
I.1.2. Amination réductrice d' α -cétoesters.	- 9 -
I.1.3. Amination électrophile d'énolates portant un auxiliaire chiral.	- 9 -
I.1.4. <i>N</i> -amination d' α -aminoacides.	- 10 -
a) Le réarrangement de Shestakov d'une urée en hydrazine.	- 10 -
b) Réduction d'un dérivé <i>N</i> -nitroso.	- 11 -
c) <i>N</i> -amination au moyen d'oxaziridines.	- 12 -
I.1.5. Réaction de Mitsunobu.	- 13 -
I.2. Régiosélectivité du couplage sur un hydrazinoester.	- 15 -
I.2.1. Obtention de <i>N</i> -aminodipeptides par couplage peptidique classique.	- 15 -
I.2.2. Obtention de <i>N</i> -aminodipeptides via une condensation de Ugi.	- 17 -
I.2.3. Obtention de <i>N</i> -aminodipeptides via une réaction de Mitsunobu.	- 18 -
II. Synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides <i>via</i> l'utilisation des dérivés d'acides aminés phtaloylés.	- 19 -
II.1. Synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides phtaloylés.	- 19 -
II.1.1. Obtention d'acides aminés phtaloylés P-Xaa-NHNPhT.	- 19 -
II.1.2. Condensation de Mitsunobu.	- 22 -
II.2. Synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides P-Xaa ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR.	- 23 -
II.2.1. Introduction et contexte de l'étude.	- 23 -
II.2.2. Transprotection des <i>N</i> -aminodipeptides phtaloylés.	- 25 -
II.2.3. Cas des synthons Fmoc-Xaa ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR.	- 27 -
II.3. Synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides P-Xaa ψ [CON(NH ₂)]Xbb-OR.	- 27 -
II.4. Conclusions.	- 28 -
III. Utilisation du motif hydrazone pour la synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides.	- 28 -
III.1. Choix du motif hydrazone (réaction de Mitsunobu).	- 29 -
III.2. Déprotection du motif l'hydrazone.	- 31 -
III.3. Conclusions.	- 34 -
IV. Synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides sur phase solide.	- 34 -
IV.1. Etude bibliographique sur la réaction de Mitsunobu sur phase solide.	- 34 -
IV.1.1. Utilisation d'alkylazodicarboxylates ou de triphénylphosphine supportés.	- 35 -
IV.1.2. Greffage du partenaire acide ou du partenaire alcool.	- 36 -

IV.2. Voie 1 : Accrochage par le noyau aromatique.	- 40 -
IV.3. Voie 2 : Accrochage par l'extrémité C-terminale.	- 42 -
IV.3.1. Synthèse des partenaires alcools à greffer.	- 43 -
IV.3.2. Synthèse sur phase solide de <i>N</i> -aminodipeptides phtaloylés.	- 43 -
IV.3.3. Transprotection des synthons 13.	- 45 -
IV.3.4. Conclusions.	- 46 -
V. Synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides substitués par une nucléobase azotée.	- 46 -
V.1. Introduction bibliographique.	- 46 -
V.2. Etude préliminaire : Accrochage du motif acétyle.	- 49 -
V.3. Synthèse de <i>N</i> -aminodipeptides fonctionnalisés.	- 49 -
V.3.1. <i>Via</i> l'acide thyminylacétique.	- 49 -
V.3.2. <i>Via</i> un halogénure d'halogénoacétyle.	- 50 -
V.4. Conclusions.	- 52 -
VI. Synthèses de <i>N</i> -aminodipeptides diversement substitués : Conclusions.	- 53 -

Chapitre II : Oligomérisation de *N*-aminodipeptides en phase liquide et sur phase solide.

I. Introduction : les différentes stratégies d'oligomérisation.	- 54 -
I.1. Oligomérisation en phase liquide.	- 54 -
I.2. Oligomérisation sur phase solide.	- 55 -
II. Etude préliminaire en solution.	- 57 -
II.1. Déprotection de l'extrémité C-terminale.	- 57 -
II.2. Déprotection de l'extrémité <i>N</i> -terminale.	- 58 -
II.2.1. Etude préliminaire.	- 59 -
II.2.2. Etude complémentaire.	- 60 -
II.3. Couplage des deux unités pseudopeptidiques.	- 61 -
II.4. Conclusions.	- 62 -
III. Oligomérisation des unités <i>N</i> -aminodipeptidiques sur phase solide.	- 62 -
III.1. Choix des synthons, choix des résines.	- 62 -
III.1.1. Choix des synthons.	- 62 -
III.1.2. Choix des résines.	- 63 -
III.2. Synthèse de [α - <i>N</i> -amino]mères phtaloylés.	- 66 -
III.3. Synthèse de [α - <i>N</i> -amino]mères déprotégés sur l'amine latérale.	- 69 -
III.3.1. Utilisation de TMSOTf pour le décrochage final du pseudopeptide.	- 69 -
III.3.2. Mise à profit de la réaction de transprotection.	- 70 -
a) Transprotection sur phase solide.	- 70 -
b) Utilisation d'une résine oxime.	- 73 -
III.3.3. Synthèse de <i>N</i> -aminopeptides <i>via</i> la stratégie hydrazone.	- 76 -

III.3.4. Synthèse de <i>N</i> -aminopeptides <i>via</i> la stratégie Fmoc/Boc.	- 78 -
III.4. [α - <i>N</i> -amino]mères fonctionnalisés par la thymine : vers une nouvelle famille de PNAs.	- 82 -
III.4.1. Oligomérisation du synthon fonctionnalisé.	- 82 -
III.4.2. Fonctionnalisation des oligomères II.	- 83 -
IV. Oligomérisation de <i>N</i> -aminodipeptides : Conclusions.	- 85 -

Chapitre III : Etude structurale de [α -*N*-amino]mères.

I. Les foldamères : définitions, structures et fonctions.	- 87 -
I.1. Généralités : le concept de foldamères.	- 87 -
I.2. Organisation structurale des foldamères.	- 88 -
I.2.1. Rappels : liaisons H et éléments de structures secondaires dans les α -peptides et les protéines.	- 88 -
a) Conventions d'écritures.	- 88 -
b) Les coudes ou turns.	- 90 -
c) Les feuillets β	- 92 -
d) Les épingles à cheveux β ou β -hairpins.	- 93 -
e) Les hélices.	- 93 -
I.2.2. Liaisons H et éléments de structures secondaires dans certains pseudopeptides.	- 94 -
a) Les β -peptides.	- 94 -
b) Analogues des β -peptides.	- 96 -
c) Les γ -peptides.	- 99 -
d) Les α/β peptides.	- 101 -
e) Les <i>N</i> -aminopeptides.	- 101 -
I.3 Fonctions des foldamères.	- 102 -
I.3.1. Activité antimicrobienne des foldamères.	- 103 -
I.3.2. Interactions foldamères-macromolécules.	- 106 -
I.3.3. Autres applications.	- 108 -
II. Etude structurale d'oligomères <i>N</i> -aminopeptidiques.	- 108 -
II.1. Comment mettre en évidence l'établissement d'une structuration compacte en solution et à l'état solide d'une molécule ?	- 108 -
II.1.1. Spectroscopie Infrarouge.	- 109 -
II.1.2. Résonance Magnétique Nucléaire.	- 110 -
II.1.3. Dichroïsme Circulaire.	- 112 -
II.1.4. Modélisation moléculaire.	- 113 -
a) Les méthodes quantiques.	- 113 -
b) Les méthodes empiriques.	- 113 -
II.1.5. Diffraction de rayons X.	- 115 -

II.2. Etude structurale d' $[\alpha-N\text{-amino}]$ mères.	- 115 -
II.2.1. Etude préliminaire de l'équilibre Z/E de la liaison <i>N</i> -aminopeptidique.	- 116 -
II.2.2. Etude des oligomères II par modélisation moléculaire.	- 118 -
II.2.3. Etude des oligomères II par RMN.	- 122 -
II.2.4. Etude des oligomères II par spectroscopie infrarouge.	- 124 -
a) Attribution du spectre IR du composé 18c : Z-Phe ψ [CON(NH ₂)]Ala-OH.....	- 125 -
b) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-1.	- 127 -
c) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-2.....	- 129 -
d) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-3.	- 130 -
e) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-4.	- 132 -
f) Conclusions.	- 133 -
III. Etude structurale de $[\alpha-N\text{-amino}]$ mères : Conclusions.....	- 134 -
 Conclusion générale et perspectives.....	- 135 -
 Partie Expérimentale.....	- 136 -
 Références bibliographiques	- 218 -

Liste des abréviations

3,4-DHP : 3,4-dihydropyrane
Å : angström
Ac : acétyle
AcOH : acide acétique
Ac₂O : anhydride acétique
ADN : acide désoxyribonucléique
Ala : résidu alanine
Alk : alkyle
ATPS : acide *para*-toluène sulfonique
ARN : acide ribonucléique
ARNm : ARN messenger
Asn (ou N) : résidu asparagine
Bn : benzyle
BHA : benzhydramine
Boc : *tert*-butyloxycarbonyle
Boc₂O : dicarbonate de di-*tert*-butyle
BocOSu : *tert*-butyloxycarbonyl-*N*-hydroxysuccinimide.
Bu : butyle
Bzl : benzoyle
cat. : catalytique
CCM : chromatographie sur couche mince
COSY : COrrrelation SpectroscopY
CO(Im)₂ : carbonyldiimidazole
DBAD : di-*tert*-butylazodicarboxylate
DBU : 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ène
DC : dichroïsme circulaire
DCC : dicyclohexylcarbodiimide
DCM : dichlorométhane
DEAD : diéthylazodicarboxylate
DhBtOH : 3,4-dihydro-3-hydroxy-4-oxo-1,2,3-benzotriazène
DIAD : diisopropylazodicarboxylate
DIC : diisopropylcarbodiimide
DIEA (DiPEA) : N,N'-Diisopropyléthylamine
DMAP : 4,4-diméthylaminopyridine
DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde
EDCI : 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl)carbodiimide
éq. : équivalent
Et : éthyl
Et₂O : diéthylether
Et₃N : triéthylamine
EtOH : ethanol
Fmoc : 9-fluorénylméthylèneoxycarbonyle
Fmoc-Cl : chloroformiate de 9-fluorénylméthylèneoxycarbonyle
Fmoc-OSu : 9-fluorénylméthylèneoxycarbonyle-*N*-hydroxysuccinimide
Gly (ou G) : résidu glycine
GP : groupe partant
hGly : résidu hydrazinoglycine
HOAt : 1-hydroxy-7-azabenzotriazole
HOBT : *N*-hydroxybenzotriazole
HPLC : chromatographie liquide haute performance
hPro : résidu hydrazinoproline
Im : imidazole
iPr : isopropyle
iPrOH : isopropanol
IR : infrarouge
LDA : Diisopropylamidure de lithium
Leu (ou L) : résidu leucine
Me : méthyle
MeCN : acétonitrile
MeOH : méthanol
mM : milimolaire
mmoles : milimoles
Moc : méthyloxy-carbonyle
NMM : *N*-méthylmorpholine
NMP : *N*-méthylpyrrolidone
NOESY : Nuclear Overhauser spectroscopy
NPht : phtalimide
o-NBS : *ortho*-nitrobenzènesulfonyle
OSu : *O*-succinimide
PAM : phénylacétamidométhyle
PCB : 2-(pyrrolidine-1-carbonyl)-benzoyle
Ph : phenyle

Phe : résidu phénylalanine

Piv : pivaloyle

PNA : acide peptidonucléique

ppm : partie par million

Pro (ou P) : résidu proline

RMN : résonance magnétique nucléaire

ROESY : Rotating frame nuclear Overhauser spectroscopy

RX : rayons X

Ser (ou S) : résidu sérine

SPPS : synthèse peptidique sur phase solide

TA : température ambiante

TBTU : tétrafluoroborate de 2-(1*H*-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium

tBu : *tert*-butyle

TFA : acide trifluoroacétique

TFMSA : acide trifluorométhanesulfonique

THF : tétrahydrofurane

THP : tétrahydropyrane

TNBSA : acide trinitrobenzènesulfonique

Thr (ou T) : résidu thréonine

TMSOTf : triflate de triméthylesilyle

Val : résidu valine

VIH : virus d'immunodéficience humaine

Xaa : résidu d'acide aminé a

Xan : xantyle

Xbb : résidu d'acide aminé b

Z : benzyloxycarbone

Z₂O : dicarbonate de dibenzyle

Z-OSu : benzyloxycarbone-*N*-hydroxysuccinimide

Introduction Générale.

Introduction générale

Les peptides sont des composés très présents dans la nature et qui jouent des rôles très divers au sein des processus biologiques (hormones, neurotransmetteurs, inhibiteurs enzymatiques, etc.). On comprend alors aisément l'intérêt que suscite ces composés, tant au niveau chimique que pharmaceutique. Cependant, l'utilisation des peptides naturels en tant qu'agents thérapeutiques est fortement limitée par leur faible pénétration au travers des membranes biologiques¹ et une importante biodégradabilité par les protéases². Depuis quelques décennies, les chimistes se sont intéressés à la synthèse d'analogues présentant des modifications au niveau du squelette peptidique (modification au niveau du lien peptidique ou du carbone α) : les pseudopeptides.

La modification du squelette peptidique, et plus particulièrement de la liaison peptidique, peut présenter plusieurs avantages :

- une plus grande résistance aux enzymes et donc un plus grand temps de demi-vie *in vivo*,
- une modification de la balance hydrophobie/hydrophilie qui peut entraîner une pénétration plus facile des membranes biologiques,
- la modification de la géométrie d'un substrat par l'incorporation ponctuelle d'une modification pseudopeptidique peut augmenter sa spécificité pour le site actif d'une enzyme, et ainsi moduler ou inhiber son activité,
- si la présence d'un lien pseudopeptidique ponctuel peut engendrer localement des modifications structurales importantes capables d'influencer la spécificité d'un substrat pour une enzyme donnée, la modification systématique de toutes les liaisons peptidiques au sein d'un oligomère peut permettre également d'influer sur la structuration globale de celui-ci. C'est en ce sens que l'élaboration de foldamères³ a vu le jour récemment. La recherche et l'étude de nouveaux synthons capable de conduire à ce type de structure est intéressante d'un point de vue fondamental et ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la thérapie basées sur le mime des macromolécules biologiques : thérapie génique, inhibition des interactions protéines-protéines, propriétés antibiotiques....

¹ Fauchère, J. L.; Thurieau, C. *Adv. Drug Res.* **1992**, 23, 128-159.

² a) Fauchère, J. L. *Adv. Drug Res.* **1986**, 15, 29-69. b) Dutta, A. S. *Adv. Drug Res.* **1991**, 21, 145-286. c) Hruby, V. J.; Al-Obeidi, F.; Kazamierski, W. *Biochem. J.* **1990**, 268, 249-262.

³ S. H. Gellman *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 173-180.

Il existe une très grande variété de modifications pseudopeptidiques qui font l'objet de nombreuses publications et revues. Quelques exemples de modifications pseudopeptidiques sont représentés dans la figure 1 :

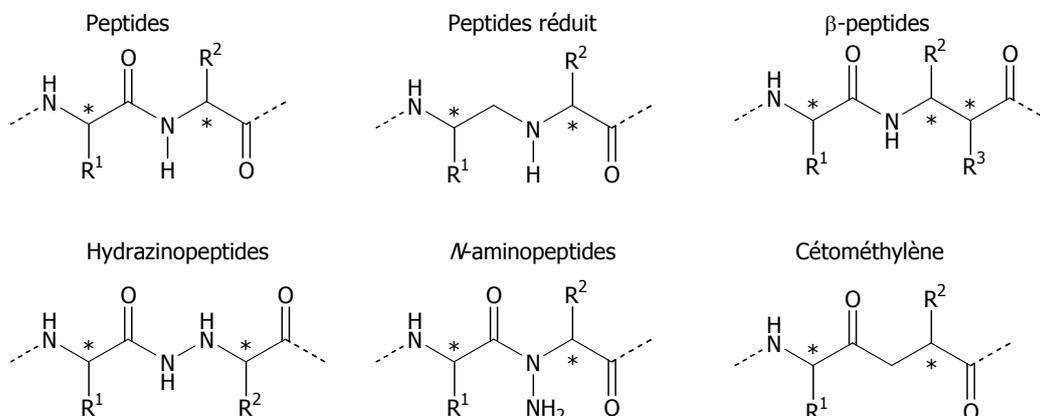


Figure 1 : quelques exemples de modifications pseudopeptidiques.

Parmi ces motifs, nous avons choisi de nous intéresser aux pseudopeptides de type *N*-aminoamide pour lesquels l'hydrogène du lien peptidique est remplacé par un groupement NH_2 , et ce pour plusieurs raisons :

- d'un point de vue chimique, la présence de ce groupement NH_2 fonctionnalisable nous permet d'envisager le greffage de différents motifs, comme des principes actifs (vectorisation) ou des nucléobases azotées (synthèse de PNA),

- d'un point de vue structural, on peut s'attendre à ce que la présence du groupement NH_2 entraîne une modification de la géométrie de la liaison peptidique. Ainsi, l'insertion d'un motif *N*-aminoamide dans un peptide bioactif engendrerait une modulation de son activité par rapport au peptide natif. De plus, l'oligomérisation de motifs *N*-aminopeptide pourrait donner naissance à une nouvelle famille de foldamères.

Malgré l'intérêt que peut présenter le remplacement d'une liaison peptidique par un motif de type *N*-aminopeptides, ces derniers n'ont été que très peu étudiés jusqu'à maintenant du fait de leur difficulté de synthèse⁴. Nous présentons ici un travail prospectif qui a pour but de faciliter l'utilisation de ces motifs en synthèse pseudopeptidique ou dans des édifices moléculaires de tailles plus importantes. Dans un premier temps, nous décrivons les méthodes de synthèse mises au point pour l'obtention de *N*-aminodipeptides diversement substitués, incorporables en synthèse peptidique sur

⁴ a) Dupond, V.; Lecoq, A.; Mangeot, J.-P.; Aubry, A.; Boussard, G.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8898-8906. b) Lecoq, A.; Dupond, V.; Marraud, M.; Aubry, A. *Peptides* **1990**, 383-384. c) Lecoq, A.; Marraud, M.; Aubry, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 2765-2768. d) Garrouste, P.; Pawlowski, M.; Tonnaire, T.; Sicsic, S.; Dumy, P.; de Rosny, E.; Reboud-Ravaux, M.; Fulcrand, P.; Martinez, J. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 423-436. e) Immer, H.; Nelson, V.; Robinson, W.; Götz, M. *Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1789-1796. f) Brosse, N.; Grandeury, A.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 2009-2011.

phase solide. Dans un second temps, nous nous intéresserons à l'oligomérisation de ces synthons, d'abord en phase liquide, puis en phase solide pour l'obtention d'oligomères à squelette *N*-aminopeptidique. Enfin, nous décrirons l'étude structurale, qui a fait appel à différentes techniques spectroscopiques, réalisée sur les oligomères pour tenter de mettre en évidence leur éventuelle autostructuration.

Ce mémoire s'articulera donc en trois parties :

- Chapitre I : Synthèse de *N*-aminodipeptides diversement substitués.
- Chapitre II : Oligomérisation de *N*-aminodipeptides en phase liquide et sur phase solide.
- Chapitre III : Etude structurale de [α -*N*-amino]mères.

Chapitre I : Synthèse de
N-aminodipeptides diversement
substitués.

I. Introduction.

Un de nos objectifs était la synthèse de *N*-aminodipeptides utilisables en synthèse peptidique en phase solide (stratégies Boc, Fmoc et Z).

Deux problèmes se posaient alors (schéma 1) :

- la préparation de synthons α -hydrazinoacides optiquement purs,
- la présence d'un atome d'azote supplémentaire qui engendre un problème de régiosélectivité lors du couplage peptidique.

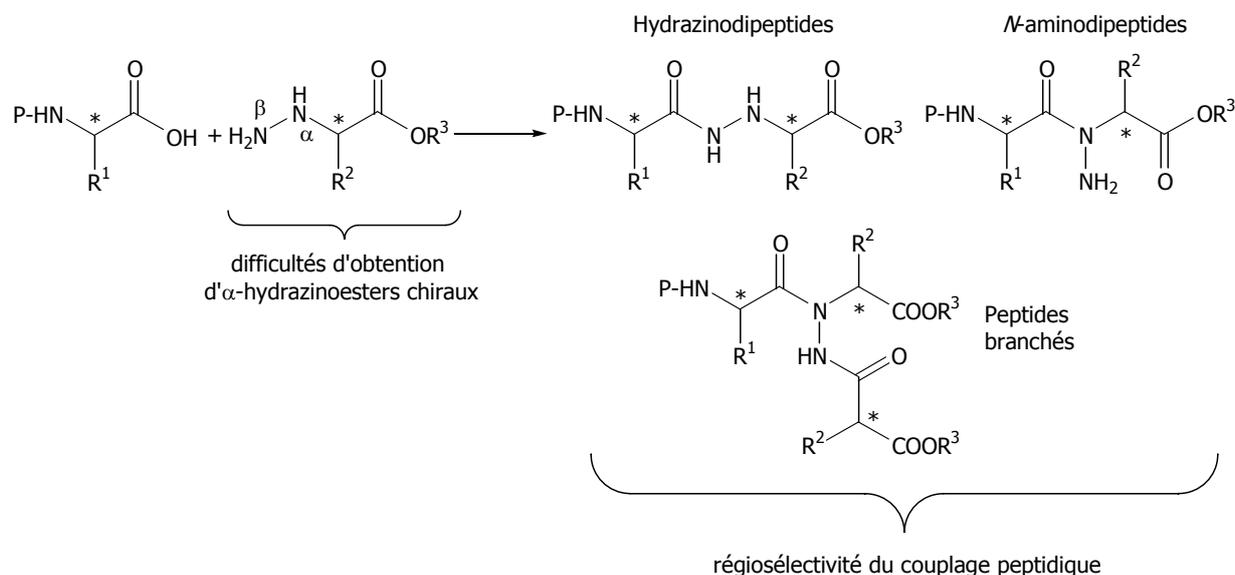


Schéma 1 : problèmes liés à l'obtention de *N*-aminodipeptides.

Ce problème second peut être résolu en utilisant des α -hydrazinoesters doublement protégés sur l'azote β . Nous avons donc envisagé la synthèse de *N*-aminodipeptides porteurs de protections permanentes P^2 sur l'azote latéral et de protections semi-permanentes P^1 sur l'azote *N*-terminal (figure 2).

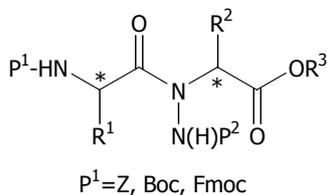


Figure 2 : formule générale d'un *N*-aminodipeptide.

Pour la protection P^1 nous avons orienté notre choix sur les protections Boc, Fmoc et Z, couramment utilisées en synthèse peptidique en phase solide. La protection P^2 doit être orthogonale à P^1 .

I.1. Synthèse d' α -hydrazinoacides optiquement purs.

Comme nous l'avons rapidement évoqué dans l'introduction de ce chapitre (schéma 1), l'obtention de *N*-aminodipeptides chiraux implique un couplage entre un α -hydrazinoester optiquement pur et un acide α -aminé *N*-protégé.

Les premiers α -hydrazinoacides ont été obtenus par Traube¹ en 1896 par réduction d' α -nitrosohydroxylamines dérivées des acides α -aminés correspondants. Cette méthode a ensuite été reprise en 1936 par Darapsky². Différentes synthèses ont été décrites depuis pour la préparation d' α -hydrazinoacides optiquement purs, mais celles-ci s'avèrent parfois difficiles à mettre en œuvre et/ou difficilement généralisables. Nous allons exposer dans cette introduction les méthodes les plus couramment utilisées dans la littérature. Cet exposé non exhaustif des différentes stratégies utilisées pour la synthèse d' α -hydrazinoacides et/ou d' α -hydrazinoesters montre que dans la plupart des cas les méthodes ne sont pas généralisables, peu sélectives et ne permettent pas directement toutes les combinaisons de protections que nous désirons pour l'oligomérisation des synthons en phase solide.

I.1.1. Substitutions nucléophiles.

L'une des stratégies permettant d'obtenir des α -hydrazinoesters chiraux implique une substitution nucléophile par un dérivé de l'hydrazine porteur d'un groupement protecteur sur un ester optiquement actif possédant un groupe partant sur son carbone α (schéma 2).

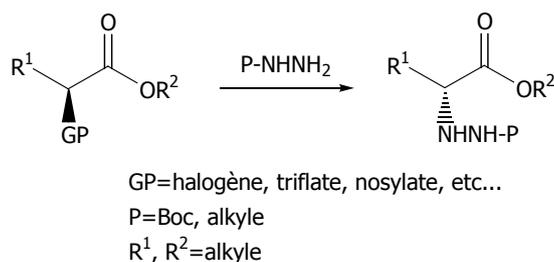


Schéma 2

Cette réaction est cependant limitée par l'épimérisation dans certaines conditions³. Elle a tout de même pu être mise en œuvre avec de bons excès énantiomériques d'abord par Carmi⁴ à partir

¹ Traube, W.; Longinescu, G. G. *Chem. Ber.* **1896**, 29, 670-675.

² Darapsky, A. *J. Prakt. Chem.* **1936**, 296, 268-306.

³ Sletzinger, M.; Firestone, R. A.; Reinhold, D. F.; Rooney, C. S.; Nicholson, W. H. *J. Med. Chem.* **1968**, 11, 261-263.

⁴ Carmi, A.; Pollak, G.; Yellin, H. *J. Org. Chem.* **1960**, 25, 44-46.

d' α -halogénoacides, mais avec de faibles rendements, puis par Hoffman⁵. Après avoir effectué la substitution nucléophile d'un nosylate par le *tert*-butylcarbazate (P=Boc) avec une perte importante de la pureté optique, il a privilégié la substitution d'un triflate par Boc-NHNH₂. Dans ce cas, les rendements et les excès énantiomériques sont acceptables.

Cette dernière stratégie semble constituer une bonne voie d'accès aux α -hydrazinoesters optiquement purs.

I.1.2. Amination réductrice d' α -cétoesters.

En 1994, Burk et coll.⁶ ont préparé des α -hydrazinoacides chiraux par amination réductrice d' α -cétoesters avec une induction asymétrique (schéma 3). Ils ont effectué pour cela une hydrogénation énantiosélective de la liaison C=N de la *N*-acylhydrazone obtenue, par catalyse asymétrique en présence d'un complexe au rhodium.

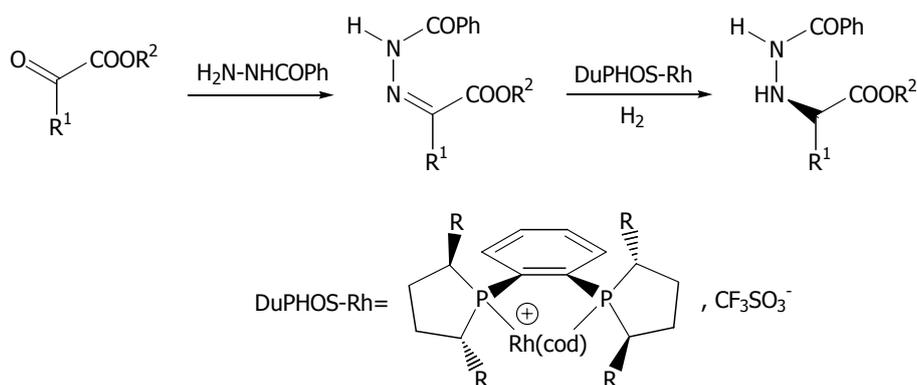


Schéma 3

Cette synthèse permet d'obtenir les produits désirés avec de bons excès énantiomériques (ex : l' α -hydrazinoalanine R¹=CH₃ est obtenu avec un ee=89%).

I.1.3. Amination électrophile d'énolates portant un auxiliaire chiral.

Il existe des synthèses asymétriques décrites dans la littérature mettant en jeu une amination électrophile d'énolates portant un auxiliaire chiral X* (schéma 4)⁷. Les auxiliaires chiraux les plus

⁵ Hoffman, R. V.; Kim, H.-O. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 2953-2956.

⁶ Burk, M. J.; Martinez, J. P.; Feaster, J. E.; Cosford, N. *Tetrahedron* **1994**, 50, 4399-4428.

⁷ a) Gennari, C.; Colombo, L.; Bertolini, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6394-6395. b) Trimble, L. A.; Vederas, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6397-6399. c) Oppolzer, W.; Moretti, R. *Tetrahedron* **1988**, 44, 5541-5552. d) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Dorow, R. L.; Dellaria, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6395-6397. e) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Dorow, R. L.; Dellaria Jr., J. F. *Tetrahedron* **1988**, 44, 5525-5540.

couramment utilisés sont la *N*-méthyléphédrine, les 4-isopropyl- ou 4-benzyl-oxazolidones ou le (-)-1-[dicyclohexylsulfonamidométhy]-*endo*-norbonanol.

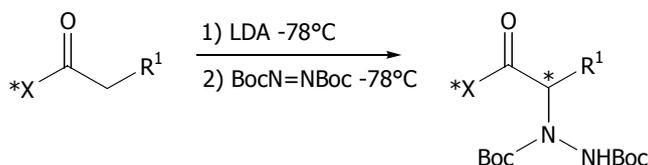


Schéma 4

Ces méthodes permettent d'obtenir des composés N_α et N_β protégés par un groupement Boc avec de bons rendements et de bons excès énantiomériques. La non orthogonalité des protections portées par les deux azotes rend impossible la déprotection sélective du N_α et donc le couplage peptidique sur ce dernier. Cependant, la déprotection des deux groupements puis la ré-introduction sélective d'un motif tert-butoxy-carbonyl sur l'azote N_β permettrait de contourner ce problème.

1.1.4. *N*-amination d'α-aminoacides.

Les réactions de *N*-amination respectant la configuration absolue des carbones asymétriques représentent des solutions attrayantes pour l'obtention d'α-hydrazinoacides chiraux.

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

Cette transposition (variante du réarrangement d'Hoffmann des amines en amides) découverte sur l'urée en 1903 par Shestakov⁸, a été appliquée en 1974 par Gustafsson et coll.⁹ sur la *L*-alanine. Cette réaction passe par une transformation préalable des α-aminoacides en acides hydantoïques afin d'obtenir des α-hydrazinoacides optiquement actifs¹⁰. Le rendement de la réaction a été amélioré par Viret et coll.¹¹ en remplaçant l'hypochlorite de sodium NaOCl par l'hypochlorite de potassium KOCl lors de l'étape de réarrangement (schéma 5).

⁸ Shestakov, P. *J. Soc. Phys. Chim. Russia* **1903**, 35, 850-858

⁹ Gustafsson, H.; Ragnarsson, U. *Acta Pharma. Suecica* **1974**, 11, 493-494.

¹⁰ Karady, S.; Ly, M. G.; Pines, S. H.; Sletzinger, M. *J. Org. Chem.* **1971**, 36, 1949-1951.

¹¹ Viret, J.; Gabard, J.; Collet, A. *Tetrahedron* **1987**, 43, 891-894.

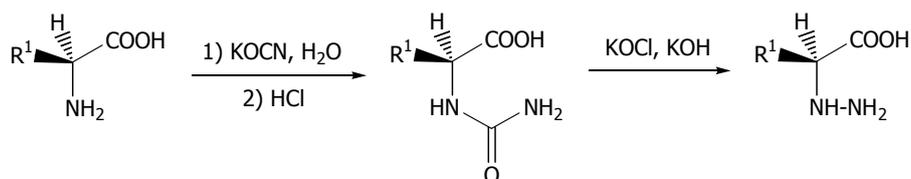


Schéma 5

Cette méthode, qui permet d'obtenir des α -hydrazinoacides avec de bons rendements et d'excellents excès énantiomériques, n'est cependant pas une méthode de choix pour la synthèse de *N*-aminodipeptides puisque l'absence de protections sur les deux azotes N_{α} et N_{β} , ce qui pose des problèmes de régiosélectivité de couplage comme nous allons le voir par la suite.

b) Réduction d'un dérivé *N*-nitroso.

La nitrosation directe d'une amine en hydrazine n'est possible que lorsque celle-ci est bi-substituée. Cette réaction a été mise en œuvre sur la proline¹² et permet d'obtenir l'hydrazinoproline selon la réaction suivante (schéma 6) :

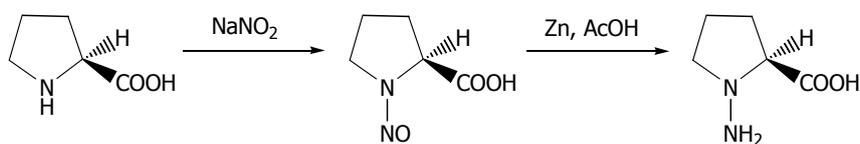


Schéma 6

Pour les autres acides α -aminés, la fonction amine doit être préalablement protégée avant nitrosation pour éviter une réaction de désamination. Achiwa et coll.¹³ ont appliqué cette méthode à différents α -aminoacides *N*-protégés par un groupement benzyle (schéma 7).

¹² Klosterman, H. J.; Lamoureux, G. L.; Parsons, J. L. *Biochemistry* **1976**, 6, 170-177.

¹³ Achiwa, K.; Yamada, S.-I. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 2701-2704.

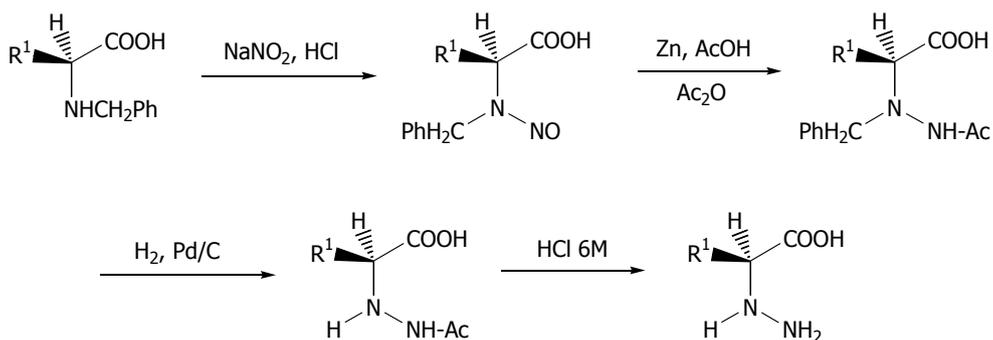


Schéma 7

Cette synthèse multi-étapes conduit à des *L*- α -hydrazinoacides optiquement purs, mais avec de faibles rendements. De plus, l'absence de protections sur les azotes $N\alpha$ et $N\beta$ la rend peu attrayante pour la suite de notre projet.

Remarque : dans le cas du réarrangement de Shestakov, comme dans le cas de la réduction d'un dérivé *N*-nitroso, la protection sélective de l'azote $N\beta$ reste envisageable pour contourner le problème de régiosélectivité du couplage peptidique.

c) *N*-amination au moyen d'oxaziridines.

L'oxaziridine de la cyclohexanone a été développée par Schmitz et coll.¹⁴ comme réactif de *N*-amination. Le rendement du transfert du groupement amine sur différents esters méthyliques est de l'ordre de 60%, cependant le produit isolé en fin de synthèse n'est pas directement l'hydrazinoacide mais l'hydrazone de la cyclohexanone issue de l'oxaziridine initiale (schéma 8).

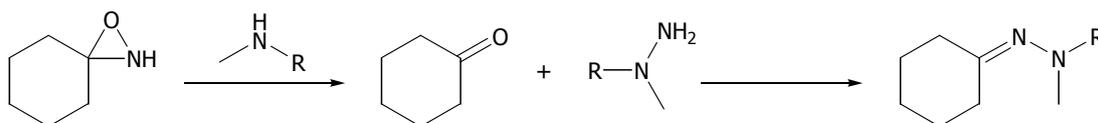


Schéma 8

Collet et coll.¹⁵ ont développé des oxaziridines substituées par des carbamates dans la perspective d'une synthèse peptidique. Des réactifs comme la *N*-Boc-3-(4-cyanophényl)-oxaziridine et la *N*-Boc-3-trichlorométhyloxaziridine permettent d'accéder directement à des α -hydrazinoacides

¹⁴ a) Schmitz, E.; Andreae, S.; Schramm, S.; Albert, F. M.; Lohamm, D. *German (East) Patent DD 230865*, (1985); *Chem. Abstr.* **1985**, 105, 227301j. b) Schmitz, E.; Andreae, S.; Schramm, S.; Albert, F. M.; Lohamm, D. *German (East) Patent DD 240818*, (1986); *Chem. Abstr. Ger.* **1987**, 198926a. c) Andreae, S.; Schmitz, E. *Synthesis* **1991**, 327-341.

¹⁵ Collet et coll. Brevet WO 97/09303.

optiquement purs, protégés en N β par un groupement Boc (schéma 9). Ces composés, solides et stables, permettent de transférer leur fragment azoté protégé sur un centre nucléophile.

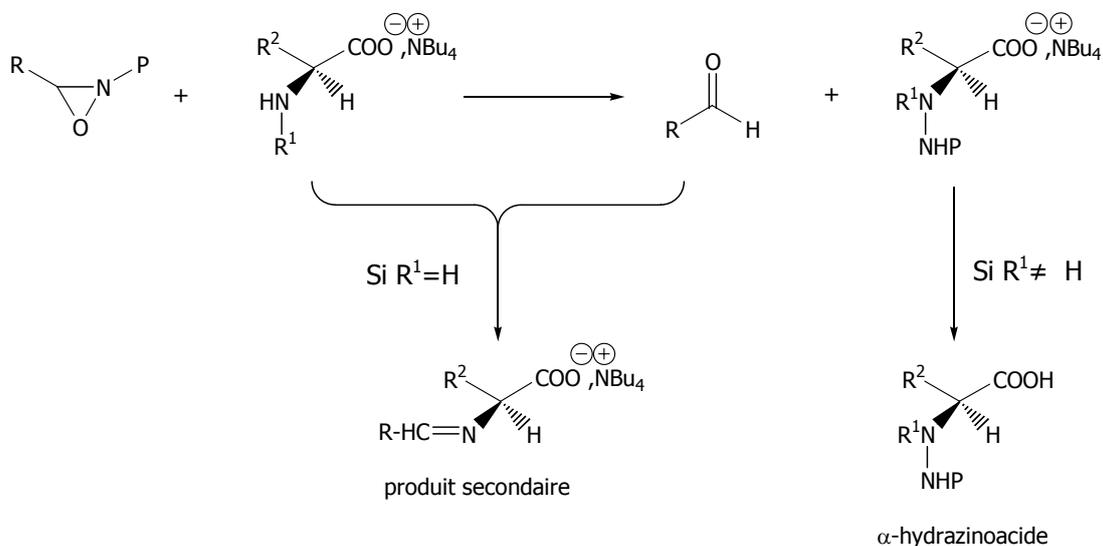


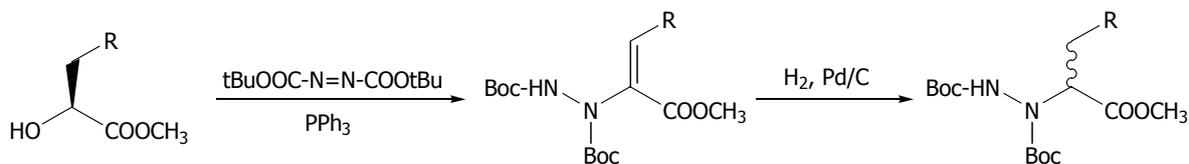
Schéma 9

Cette réaction se déroule avec de très bons rendements et il n'y a que très peu de racémisation. Cependant, elle est limitée par la réaction de formation d'une base de Schiff lorsque l'amine mise en jeu est une amine primaire. Cette méthode est donc surtout applicable dans le cas de la proline ou des acides aminés *N*-benzylés.

I.1.5. Réaction de Mitsunobu.

La réaction de Mitsunobu est connue pour être stéréosélective avec inversion totale de configuration absolue du carbone asymétrique porteur de la fonction hydroxyle.

Une tentative de synthèse d' α -hydrazinoesters chiraux *via* une réaction dérivée de la réaction de Mitsunobu a été réalisée par Di Grandi¹⁶ (schéma 10). Cette méthode diffère d'une réaction classique de Mitsunobu car le dialkylazodicarboxylate joue à la fois le rôle d'activant et de partenaire acide. Elle conduit dans un premier temps au déhydrohydrazinoester et nécessite une étape d'hydrogénation catalytique afin d'obtenir l'hydrazinoester correspondant.



¹⁶ Di Grandi, M. J.; Tilley, J. W. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4327-4330.

Schéma 10

Cette synthèse, bien qu'originale, ne permet pas cependant de synthétiser directement des α -hydrazinoesters optiquement purs puisque ceux-ci sont isolés sous forme de mélange racémique.

Récemment au laboratoire, la découverte de nouveaux partenaires acides dérivés du *N*-aminophthalimide¹⁷, (figure 3) a ouvert une nouvelle voie de synthèse d' α -hydrazinoesters optiquement purs via la réaction de Mitsunobu¹⁸.

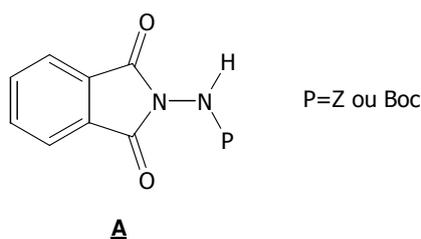


Figure 3 : dérivés du *N*-aminophthalimide permettant la réaction de Mitsunobu.

Les composés **A** ont la particularité de posséder un proton acide ($pK_a \sim 11$) dû à la présence de trois groupements électroattracteurs. Le groupement phthalimide étant plan, l'encombrement stérique aux abords de ce proton est fortement limité. Ces caractéristiques ont permis de considérer les composés **A** comme des partenaires acides idéaux dans une réaction de Mitsunobu. Il faut noter l'importance du groupement phthalimide dans cette stratégie. En effet, la réaction de Mitsunobu étant une réaction de substitution nucléophile d'ordre 2, elle est particulièrement sensible à l'encombrement stérique. Jusqu'à présent, lorsque le groupement phthalimide était remplacé par un autre groupement protecteur activant¹⁹ ((Boc)₂N-NHCOR avec R=CH₃ ou CH₂Ph) on pouvait observer une forte diminution des rendements, voire aucune réaction. Cette différence de réactivité, qui ne peut pas être attribuée à une variation de l'acidité du proton mis en jeu dans la réaction, est expliquée par une diminution de l'accessibilité à ce site.

Une application particulièrement intéressante de ce travail consiste en la conversion d' α -hydroxyesters en α -hydrazinoesters phthaloylés selon le schéma suivant (schéma 11) :

¹⁷ Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 205-207.

¹⁸ Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Bodiguel, J.; Jamart-Grégoire, B. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2869-2873.

¹⁹ Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Jamart-Grégoire, B. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4757-4764.

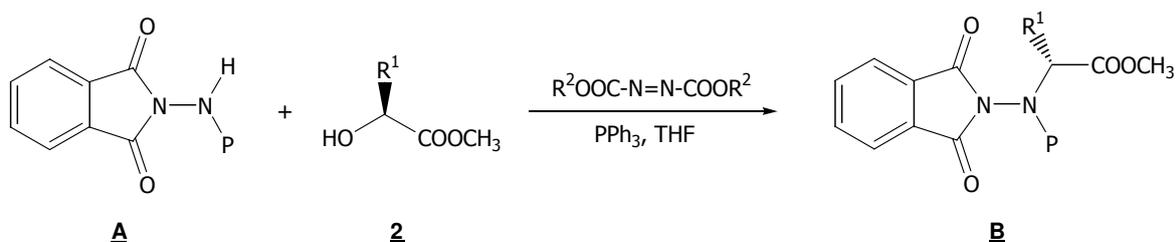


Schéma 11 : synthèse d' α -hydrazinoesters chiraux par réaction de Mitsunobu.

Cette méthode permet d'aboutir en peu d'étapes et avec de très bons rendements à des α -hydrazinoesters orthogonalement protégés sur les deux azotes. La pureté optique des produits obtenus a pu être vérifiée¹⁸. Pour ce faire, les composés formés ont été transformés en acides aminés puis comparés après dérivatisation avec les acides aminés chiraux authentiques en utilisant une méthode décrite dans la littérature²⁰. L'excès énantiomérique obtenu est supérieur à 98%. Cette réaction se déroule donc avec une inversion totale de configuration et une très faible perte de la pureté optique (<2%).

I.2. Régiosélectivité du couplage sur un hydrazinoester.

Après avoir résolu le problème de l'obtention des précurseurs α -hydrazinoacides ou esters chiraux, nous étions toujours confrontés à la régiosélectivité du couplage peptidique sur ces derniers.

I.2.1. Obtention de *N*-aminodipeptides par couplage peptidique classique.

La première méthode de préparation de *N*-aminodipeptides a été décrite en 1965 par Niedrich²¹ et permettait d'obtenir le plus simple des *N*-aminodipeptides : Z-Gly ψ [CON(NH₂)]Gly-OH²² en couplant une hydrazinoglycine protégé sur l'azote β avec une glycine protégée sur son extrémité *N*-terminale.

Très peu d'études ont depuis été menées sur la compétitivité $N\alpha/N\beta$ lors de réactions d'acylation d' α -hydrazinoesters (schéma 12)²³. Il en ressort que dans des conditions classiques de synthèse peptidique, le couplage direct d'un α -hydrazinoester sur un acide aminé *N*-protégé conduit

²⁰ a) Blaskovich, M. A.; Lajoie, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5021-5030. b) Brüchner, H.; Westhauser, T.; Godel, H. J. *Chromatogr. A* **1995**, 711, 201-215.

²¹ a) Niedrich, H. *Chem. Ber.* **1965**, 98, 3451-3461. b) Grupe, R.; Baeck, B.; Niedrich, H. *J. Prakt. Chem.* **1972**, 314, 751-758.

²² Nomenclature décrite par Spatola. Spatola, A. F. *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins*, Marcel Dekker: New York, Tokyo, **1984**, 17-37.

²³ a) Dupond, V.; Lecoq, A.; Mangeot, J.-P.; Aubry, A.; Boussard, G.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8898-8906. b) Lecoq, A.; Dupond, V.; Marraud, M.; Aubry, A. *Peptides* **1990**, 383-384. c) Lecoq, A.; Marraud, M.; Aubry, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 2765-2768. d) Garrouste, P.; Pawlowski, M.; Tonnaire, T.; Sicsic, S.; Dumy, P.; de Rosny, E.; Reboud-Ravaux, M.; Fulcrand, P.; Martinez, J. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 423-436.

majoritairement à la formation de l'hydrazinopeptide (couplage sur le N β). De plus, la régiosélectivité de cette réaction semble être favorisée par une augmentation de l'encombrement stérique des acides aminés mis en jeu.

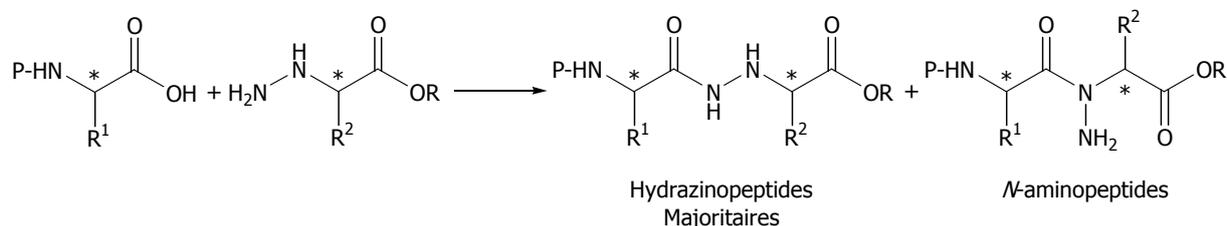


Schéma 12

Lecoq et coll. ont étudié^{23c} la régiosélectivité de la réaction d'addition d'un électrophile vis-à-vis des azotes α et β de l'hydrazinoglycine. Ces travaux montrent que les proportions relatives des deux isomères varient considérablement suivant les réactifs et les conditions réactionnelles utilisées.

Quelques exemples sont reportés ci-dessous (schéma 13) :

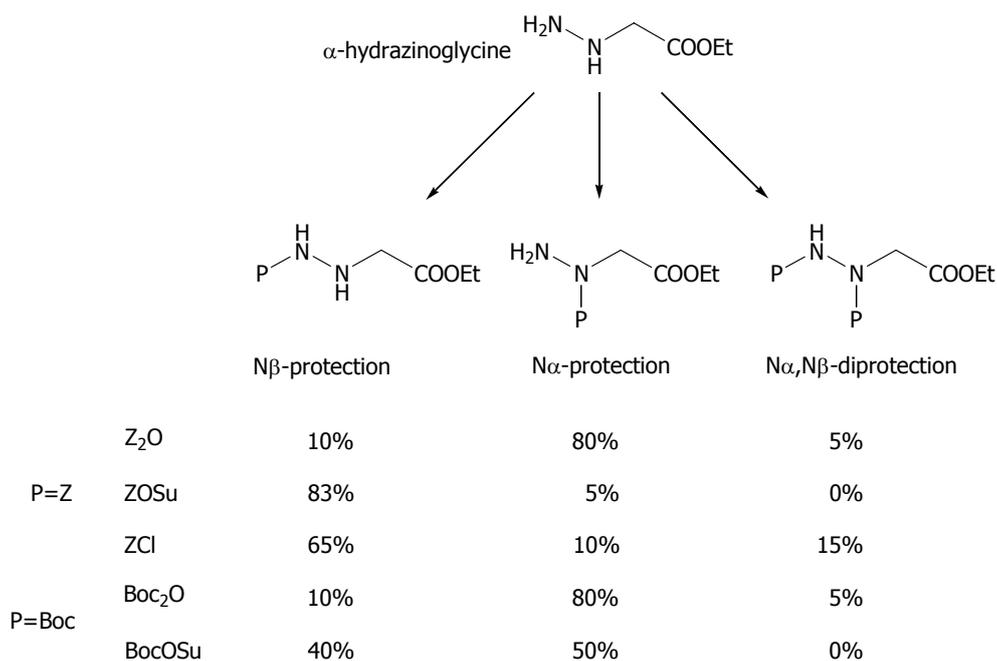


Schéma 13

A partir de cette étude, des conditions de synthèse régiosélective du *N*-aminodipeptide Piv-Pro Ψ [CON(NH₂)]Gly-NHiPr ont été définies. La stratégie est représentée sur le schéma 14 :

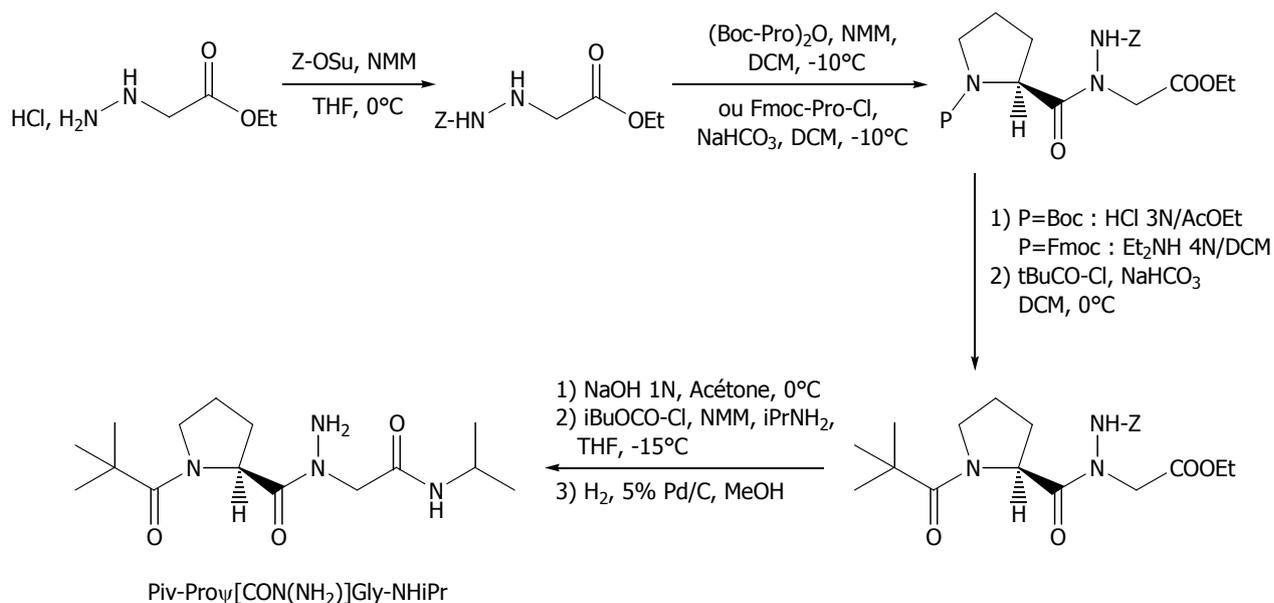


Schéma 14

L'utilisation de Z-OSu en présence de NMM lors de la première étape permet d'isoler le composé N β -protégé de façon majoritaire à partir du sel d'hydrazinoglycine commerciale. Il s'agit là de l'étape clé de cette stratégie. A partir de l' α -hydrazinoglycinate d'éthyle commerciale, cette « longue » synthèse (en 7 étapes) permet d'obtenir le *N*-aminodipeptide voulu avec une très bonne pureté après purification.

I.2.2. Obtention de *N*-aminodipeptides via une condensation de Ugi.

Cette autre voie de synthèse de *N*-aminodipeptides consiste à faire réagir un acide carboxylique, avec une hydrazone dialkylée et un isocyanate²⁴. Elle conduit à la formation de *N*-aminodipeptides disubstitués en une seule étape (schéma 15).

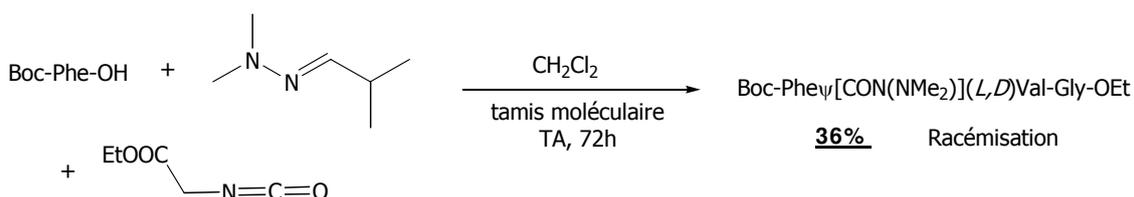


Schéma 15

Cette réaction n'est cependant pas stéréospécifique et conduit à de faibles rendements en pseudopeptide.

²⁴ Immer, H.; Nelson, V.; Robinson, W.; Götz, M. *Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1789-1796.

I.2.3. Obtention de *N*-aminodipeptides via une réaction de Mitsunobu.

Une suite donnée aux travaux sur la synthèse d' α -hydrazinoesters chiraux *via* un protocole de Mitsunobu commencés au laboratoire, a conduit à la mise au point d'une nouvelle stratégie de synthèse de *N*-aminodipeptides avec une très haute pureté optique²⁵.

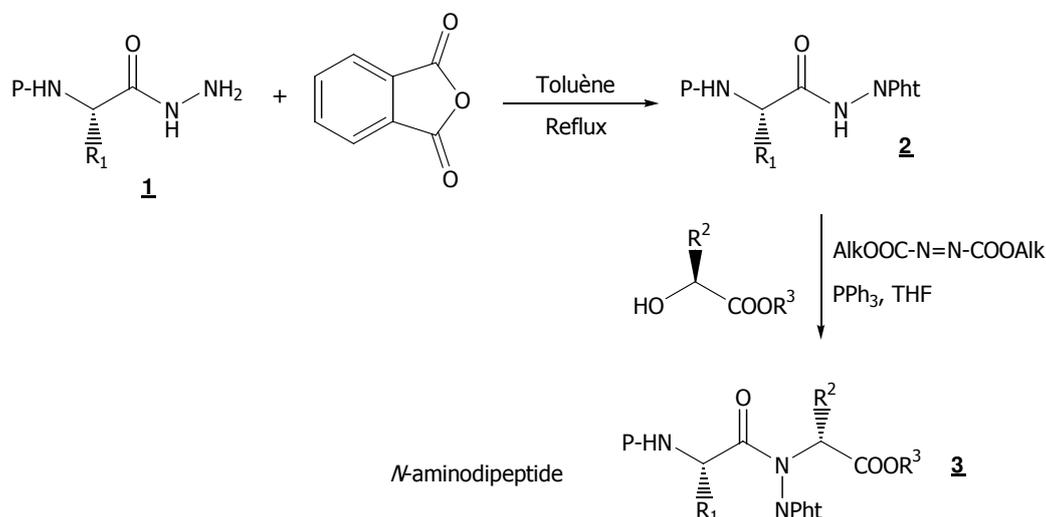


Schéma 16

En effet, si le carbazate utilisé pour la synthèse des α -hydrazinoesters est remplacé par un hydrazide d'acide aminé (schéma 16), la condensation de Mitsunobu permet d'aboutir en une étape et avec de très bons rendements à des *N*-aminodipeptides orthogonalement protégés sur les deux azotes.

Tout comme pour la synthèse des α -hydrazinoesters, il faut noter l'importance du groupement phthalimide qui permet de rendre suffisamment acide le proton impliqué dans la réaction de Mitsunobu, tout en diminuant au maximum son encombrement stérique.

Nous verrons cependant au cours de ce travail que nous avons pu mettre au point une nouvelle stratégie de synthèse utilisant la réaction de Mitsunobu dans des conditions comparables, mais sans utiliser le groupement phthalimide comme groupement protecteur activant.

Au début de notre étude, la voie de synthèse envisagée comportait néanmoins plusieurs limitations :

- la présence du groupement phthalimide indispensable au succès de la réaction de Mitsunobu (par ses effets stériques et électroniques¹⁸), dont l'élimination est parfois problématique et requiert souvent des conditions opératoires drastiques (utilisation de l'hydrazine ou de ses dérivés) difficilement compatibles avec la chimie des peptides,

- les synthèses en solution, bien que se déroulant avec d'excellents rendements, nécessitent des étapes de purifications parfois longues et laborieuses.

²⁵ Brosse, N.; Grandeury, A.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 2009-2011.

Le plan de ce chapitre s'articule donc en trois parties :

- La synthèse de *N*-aminodipeptides diversement substitués *via* la condensation de Mitsunobu de dérivés d'acides aminés phtaloylés sur des α -hydroxyesters chiraux,
- La mise au point d'une nouvelle stratégie de synthèse utilisant le motif hydrazone comme groupement protecteur activant lors de la réaction de Mitsunobu,
- La transposition des différentes méthodes utilisées à la synthèse sur phase solide.

II. Synthèse de *N*-aminodipeptides *via* l'utilisation des dérivés d'acides aminés phtaloylés.

II.1. Synthèse de *N*-aminodipeptides phtaloylés.

Comme nous l'avons décrit précédemment, les *N*-aminodipeptides phtaloylés peuvent être obtenus grâce à une réaction de Mitsunobu entre des acides aminés phtaloylés et des α -hydroxyesters chiraux.

II.1.1. Obtention d'acides aminés phtaloylés P-Xaa-NHNPhT.

Un de nos objectifs était la synthèse de *N*-aminodipeptides utilisables en synthèse peptidique sur phase solide en stratégies Boc, Fmoc et Z. Pour cela, nous avons synthétisé différents synthons protégés par ces groupements sur l'extrémité *N*-terminale (schéma 17) :

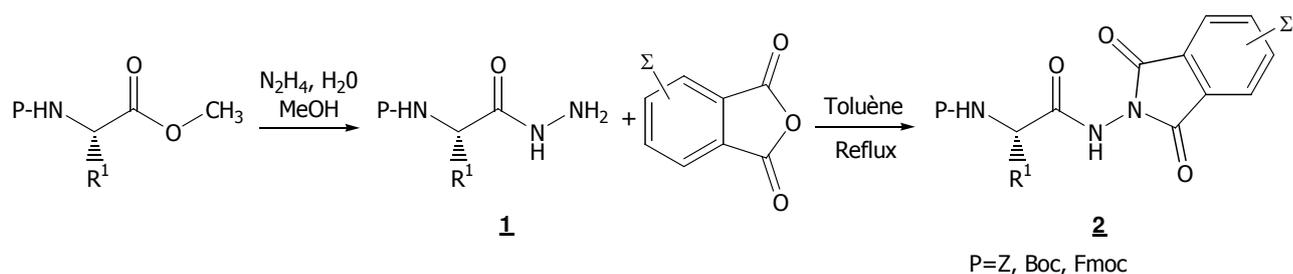


Schéma 17

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 1.

P	R ¹	Rendement % ^a	Σ	Rendement % ^b
Z	H	1a 99	H	2a 81
	CH ₃	1b 92		2b 93
	CH(CH ₃) ₂	1c 71		2c 87
	CHCH ₂ (CH ₃) ₂	1d 96		2d 90
	CH ₂ Ph	1e 95		2e 88
Boc	CH(CH ₃) ₂	1f 99	H	2f 88
			3,4,5,6 Cl	2g 87
	CHCH ₂ (CH ₃) ₂	1g 85	H	2h 90
	CH ₂ Ph	1h 86	H	2i 90
3,4,5,6 Cl			2j 72	

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de l'acide aminé de départ. b : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **1**.

Tableau 1

Cette méthode nous a permis de synthétiser un grand nombre de partenaires acides pour la réaction de Mitsunobu avec d'excellents rendements, quelle que soit la nature des chaînes latérales non fonctionnelles et celle de la protection P utilisée.

Remarque : les composés **2e** et **2j** possèdent une forte tendance à gélifier dans les solvants apolaires²⁶. Les méthodes de purifications classiques sont difficiles à mettre en œuvre sur ces composés, l'isolement des produits purs est donc problématique.

Cas particulier des Fmoc-Xaa-NHNPh_t.

La synthèse des hydrazides **1** protégés par un groupement Fmoc n'est pas possible. En effet, l'utilisation d'hydrazine déprotège l'extrémité *N*-terminale.

Nous avons donc envisagé d'effectuer cette synthèse à partir des acides aminés *N*-protégés par un groupement Boc, par une transprotection Boc -> Fmoc en deux étapes selon la stratégie de synthèse représentée dans le schéma 18 :

²⁶ Brosse, N.; Barth, D.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 45, 9521-9524.

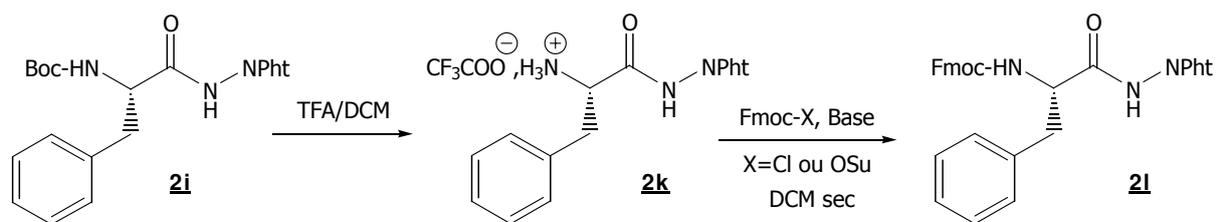


Schéma 18

La première étape de la transprotection Boc → Fmoc implique l'utilisation d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane et permet de déprotéger le composé **2i** avec un rendement quantitatif.

La protection de l'extrémité *N*-terminale par un groupement Fmoc s'est révélée plus délicate. Nous avons tout d'abord testé sans succès plusieurs conditions opératoires impliquant l'utilisation de Fmoc-Cl ou Fmoc-OSu. Celles-ci sont rassemblées dans le tableau 2.

Essai	Conditions	Base	Observations
1	Fmoc-Cl, TA	DIEA	Echec
2	Fmoc-Cl, -10°C	DIEA	Echec
3	Fmoc-Cl recristallisé, -10°C	DIEA	Produit minoritaire
4	Fmoc-Cl recristallisé, TA	Pyridine	Echec
5	Fmoc-Cl recristallisé, -10°C	Pyridine	Echec
6	Fmoc-Cl recristallisé, -10°C	DIEA	Produit minoritaire
7	Fmoc-OSu, -10°C	DIEA	Echec

Tableau 2

Seule l'utilisation de Fmoc-Cl fraîchement recristallisé en présence de DIEA nous a permis d'isoler le composé **2l** en quantité minoritaire dans le brut réactionnel. Le mode opératoire n'a pu être amélioré.

Une autre voie de synthèse a été envisagée, sans plus de succès. Elle implique le couplage entre un Fmoc acide aminé (Fmoc-Xaa-OH) et le *N*-aminophtalimide (schéma 19)²⁷.

²⁷ Brosse, N.; Pinto, M. F.; Jamart-Grégoire, B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 3685-3688.

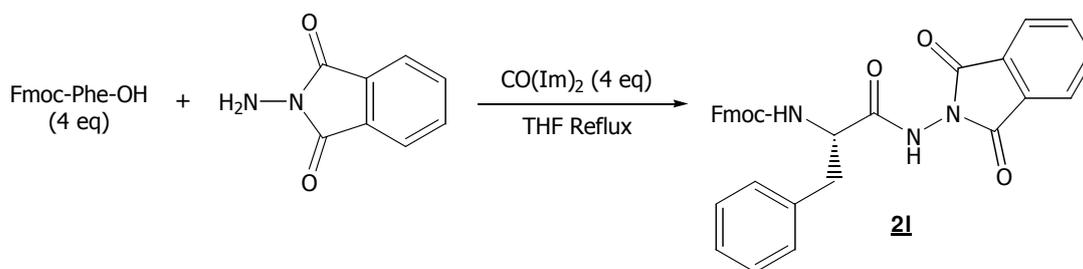


Schéma 19

Nous n'avons pas réussi à isoler le produit voulu avec un rendement satisfaisant, malgré une augmentation du nombre d'équivalents d'acide activé par rapport au nombre de molécules de *N*-aminophtalimide. L'analyse qualitative par CCM indiquait la présence d'une grande quantité de sous produits même après un temps de réaction très court. Nous avons supposé une trop grande fragilité du Fmoc due à la basicité du *N*-aminophtalimide et surtout celle du noyau imidazole libéré en cours de réaction.

Cette méthode de synthèse n'est donc pas applicable à la synthèse de *N*-aminodipeptides de formule Fmoc-Xaa Ψ [CON(NPht)]Xbb-OR. Dans le but d'obtenir des composés oligomérisables sur phase solide en stratégie Fmoc, d'autres voies de synthèse devront être explorées.

II.1.2. Condensation de Mitsunobu.

L'utilisation des conditions opératoires mises au point au laboratoire a permis d'engager un dérivé d'acide aminé phtaloylé comme partenaire acide dans une réaction de Mitsunobu²⁵. Les conditions réactionnelles ainsi que les résultats obtenus sont rassemblés dans le schéma 20 et le tableau 3.

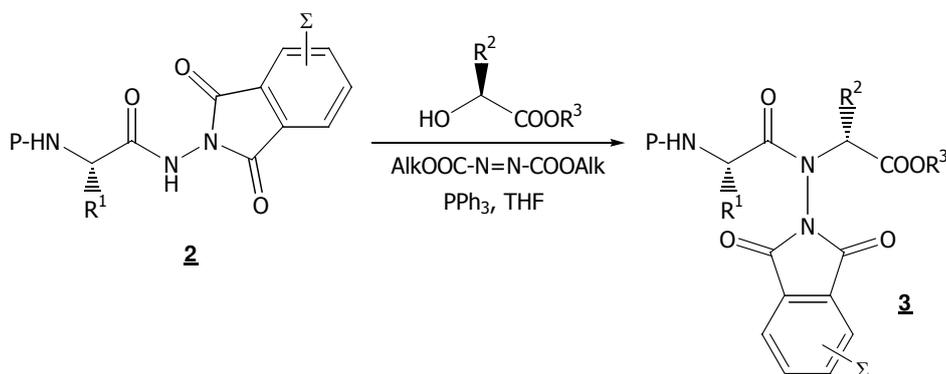


Schéma 20

P	R ¹	R ²	R ³	Σ	Alk	Rendement % ^a
Z	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	tBu	3a 85*
	CH ₃	(<i>L,D</i>) CH ₃	CH ₃		tBu	3b 87
	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₃		tBu	3c 85
	CH ₃	CH ₃	(CH ₃) ₃		tBu	3d 75
	CH ₃	H	CH ₃		tBu	3e 77*
	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₃		Et	3f 100
Boc	CH ₂ Ph	H	CH ₃	H	tBu	3g 97
	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₃	H	tBu	3h 98
	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₂ Ph	Cl	tBu	3i 85
	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₂ Ph	H	tBu	3j 79
	CHCH ₂ (CH ₃) ₂	H	CH ₃	H	iPr	3k 91
	CHCH ₂ (CH ₃) ₂	H	CH ₂ Ph	H	iPr	3l 92
	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	H	tBu	3m 47

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **2**.

Tableau 3

Certains essais avaient déjà été réalisés au laboratoire, nous les avons reproduits (notés *).

Après purification par colonne chromatographique, les composés **3** ont pu être isolés avec de très bons rendements, sauf dans le cas du composé **3m** Boc-Val ψ [CON(NPht)]Ala-OMe. Comme il était prévisible, la réaction de Mitsunobu est sensible à l'encombrement stérique. On observe alors une nette diminution du rendement de la réaction.

II.2. Synthèse de *N*-aminodipeptides P-Xaa ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR : réaction de transprotection.

II.2.1. Introduction et contexte de l'étude.

Comme nous l'avons déjà précisé précédemment dans ce chapitre, la présence du groupement phthalimide, indispensable au succès de la réaction de Mitsunobu est difficilement compatible avec la chimie des peptides. La mise au point de conditions douces de déprotection du groupement phthalimide était donc une étape nécessaire au bon déroulement de la suite de notre projet.

Une première étude menée au laboratoire avait permis de mettre au point des conditions réactionnelles douces de transprotection du groupement phthalimide en deux groupements Boc²⁵ (schéma 21).

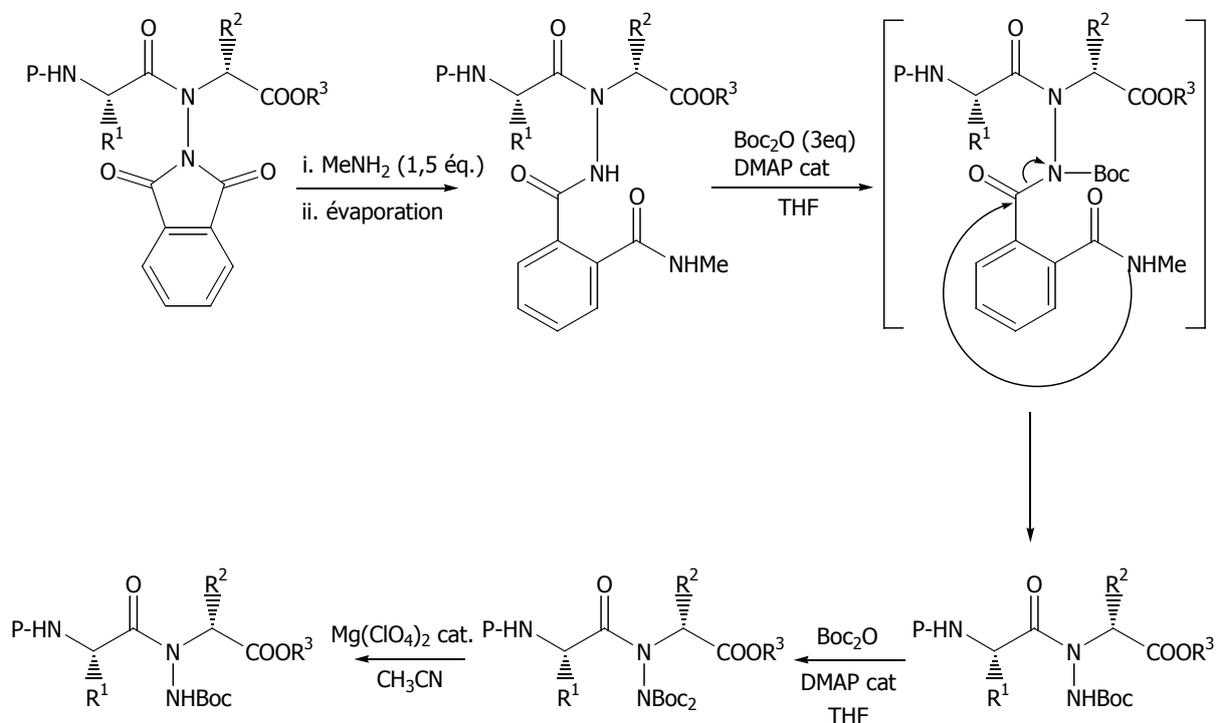


Schéma 21

Cette méthode fait intervenir la méthylamine et du di-*tert*-butyldicarbonate, deux réactifs utilisables dans des conditions douces. Elle consiste à ouvrir le motif phthalimide par une attaque nucléophile de la méthylamine, suivi par une substitution de l'hydrogène par un groupement Boc sur l'azote β, à l'aide de Boc₂O et d'une quantité catalytique de DMAP. La présence de ce groupement Boc en β fragilise la liaison carbone-azote β, ce qui facilite sa coupure. La réaction conduit en fait au composé bisprotegé par deux groupements Boc sur l'azote β à cause de l'utilisation d'un excès de Boc₂O. L'utilisation d'une quantité catalytique de perchlorate de magnésium (Mg(ClO₄)₂) est alors nécessaire pour transformer le motif imidodicarbonate (NBoc₂) en motif carbamate (NHBoc).

Cette synthèse, bien que très efficace, pose cependant plusieurs problèmes :

- l'utilisation du perchlorate de magnésium n'est pas sans risque,
- le méthylphthalimide généré en fin de réaction rend les purifications difficiles.

Cette étude a donc initié d'autres travaux au laboratoire, sur la mise au point d'une méthode généralisable de transprotection du groupement phthalimide en groupement Boc et qui permettait de s'affranchir des problèmes cités plus haut. La stratégie de synthèse mise au point est une variante de

la méthode décrite précédemment pour les *N*-aminodipeptides. L'idée était de remplacer la méthylamine par une amine secondaire lors de l'ouverture du groupement phtalimide (schéma 22)²⁸.

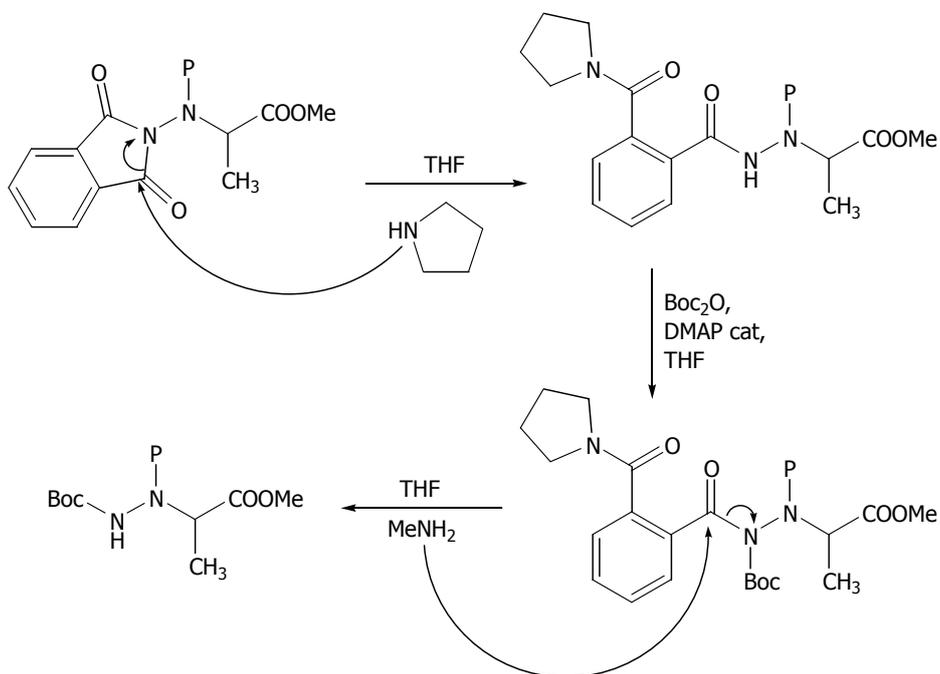


Schéma 22

La pyrrolidine utilisé dans ce cas est une amine secondaire, elle n'est pas assez nucléophile pour réagir de façon intramoléculaire et entraîner l'élimination du motif aromatique. Celui-ci pourra de ce fait être éliminé après substitution du H β par un groupement Boc et coupure de la liaison carbone-azote β par action de la méthylamine, sans risquer la fixation d'un second groupement Boc.

La transprotection du groupement phtalimide en groupement Boc ayant donné des résultats très satisfaisants sur les α -hydrazinoesters, nous avons choisi d'adapter ce mode opératoire à la transprotection des *N*-aminodipeptides.

II.2.2. Transprotection des *N*-aminodipeptides phtaloylés.

Les conditions de transprotection du groupement phtalimide en groupement Boc, mises au point sur des α -hydrazinoesters, ont été appliquées sur différents *N*-aminodipeptides selon le schéma réactionnel suivant (schéma 23) :

²⁸ Bouillon, I.; Brosse, N.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 3569-3572.

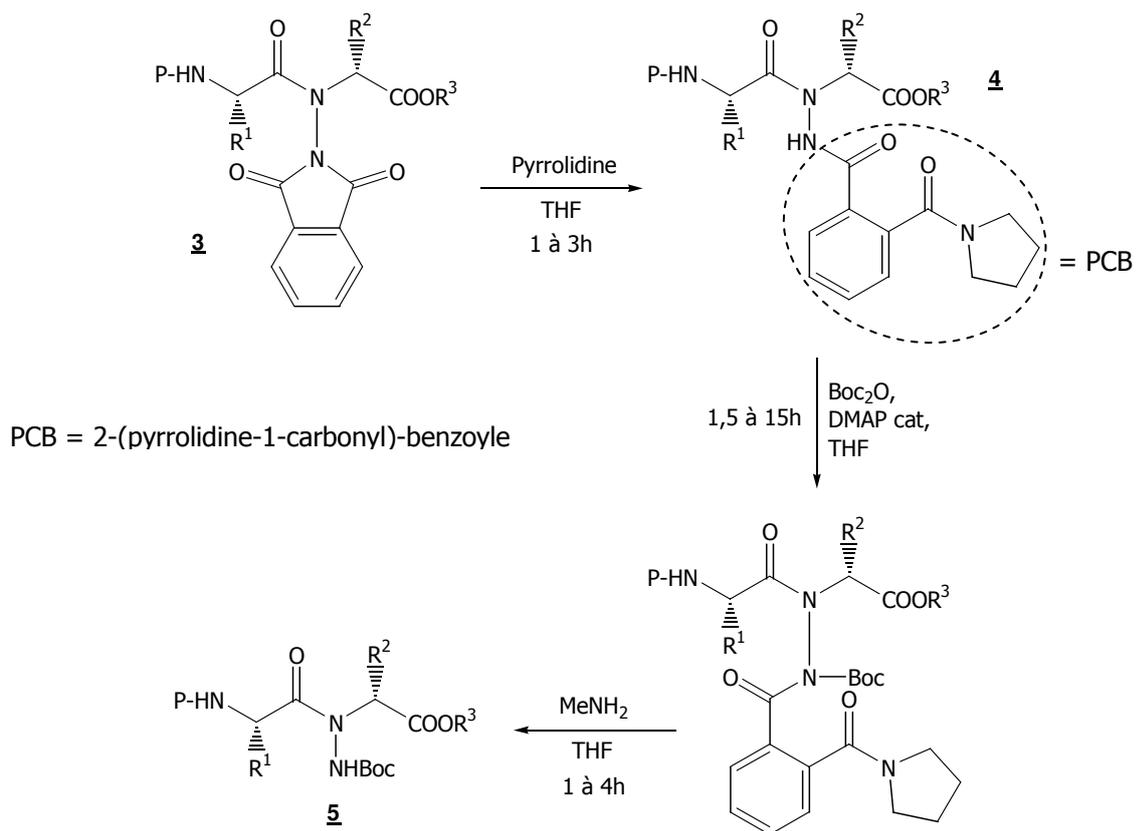


Schéma 23

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 4.

P	R ¹	R ²	R ³	Rendement % ^a
Z	CH ₃	CH ₃	CH ₃	5a 87
	CH ₃	(L,D) CH ₃	CH ₃	5b 68
	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₃	5c 73
	CH ₃	CH ₃	(CH ₃) ₃	5d 87
	CH ₃	H	CH ₃	5e 86
	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₃	5f 95
Boc	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₃	5g 91
	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₃	4a 100
	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	CH ₃	4b 100

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **3**.

Tableau 4

Cette synthèse « one-pot » permet d'obtenir des *N*-aminodipeptides mono-protégés sur l'azote β par un groupement Boc avec d'excellents rendements. Nous avons observé que toutes les étapes étaient sensibles à l'encombrement stérique de R¹, R² et R³. Nous avons donc choisi d'augmenter les temps

de réaction ce qui nous a permis d'effectuer la réaction de transprotection avec de très bons rendements quelle que soit la nature du composé de départ.

II.2.3. Cas des synthons Fmoc-Xaa ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR.

Les méthodes décrites précédemment ne nous ont pas permis de synthétiser les composés Fmoc-Xaa ψ [CON(NPht)]Xbb-OR. Nous nous sommes tournés vers une stratégie indirecte à partir des composés **5** et impliquant une transprotection « one-pot » du groupement Z en groupement Fmoc²⁹ (schéma 24).

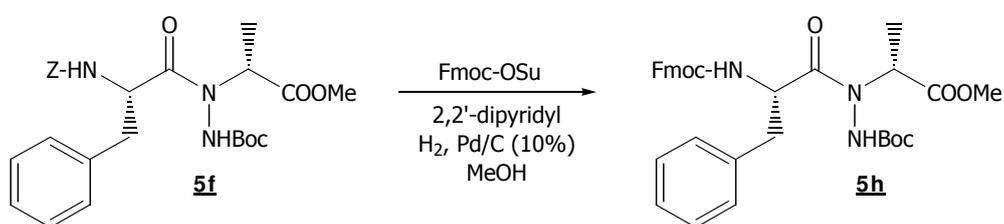


Schéma 24

Après purification sur colonne de silice, le composé **5h** a été obtenu avec un rendement très satisfaisant de 89%.

II.3. Synthèse de *N*-aminodipeptides P-Xaa ψ [CON(NH₂)]Xbb-OR.

Une fois les composés **3** transprotégés en composés **5**, l'étape suivante consistait à libérer l'amine latérale. Cela a été effectué par action du chlorure d'hydrogène. Les conditions réactionnelles et les résultats sont rassemblés dans le schéma 25 et le tableau 5.

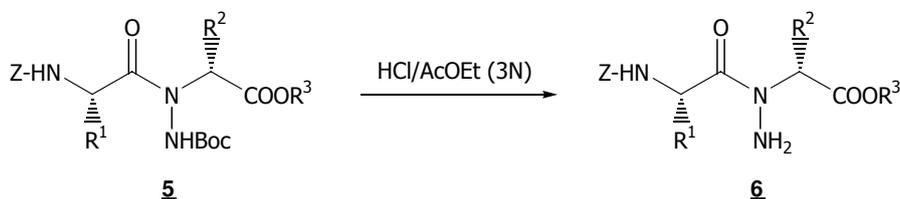


Schéma 25

²⁹ Dzubeck, V.; Schneider, J. P. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 9953-9956.

Essai	R ¹	R ²	R ³	Rendement % ^a
1	CH ₃	CH ₃	CH ₃	6a 86
2	CH ₃	H	CH ₃	6b 72
3	CH ₂ Ph	CH ₃	CH ₃	6c 70

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **5**.

Tableau 5

Un traitement par HCl 3N dans l'acétate d'éthyle permet la déprotection de la fonction amine du motif pseudopeptidique avec de bons rendements.

II.4. Conclusions.

Dans cette partie, nous avons exposé les différentes méthodes mises au point pour la synthèse de *N*-aminodipeptides impliquant une condensation de Mitsunobu sur un dérivé d'acide aminé phtaloylé. Nous avons montré qu'il était possible d'obtenir des synthons protégés par des groupements Boc, Z ou Fmoc sur l'extrémité *N*-terminale, et porteurs de protections orthogonales sur l'amine latérale et l'extrémité *C*-terminale.

III. Utilisation du motif hydrazone pour la synthèse de *N*-aminodipeptides.

Comme nous l'avons mentionné au début de ce chapitre, le groupement phtalimide, bien qu'étant idéal pour réaliser la réaction de Mitsunobu, présente un désavantage car les conditions de déprotections classiques sont souvent incompatibles avec la chimie des peptides.

La réaction de transprotection mise au point au laboratoire²⁸ représente une solution élégante pour l'éliminer dans des conditions douces en phase liquide mais nous a posé de nombreux problèmes lors de la transposition sur phase solide (voir chapitre II).

Afin de pallier ces problèmes, nous avons choisi d'orienter une partie de nos recherches sur la mise au point d'une nouvelle méthode de synthèse de *N*-aminodipeptides *via* un protocole de Mitsunobu ne mettant pas en jeu un dérivé d'acide aminé phtaloylé. Pour cela, il nous fallait trouver un groupement protecteur possédant les mêmes caractéristiques stériques et électroniques que le groupement phtalimide (figure 4).

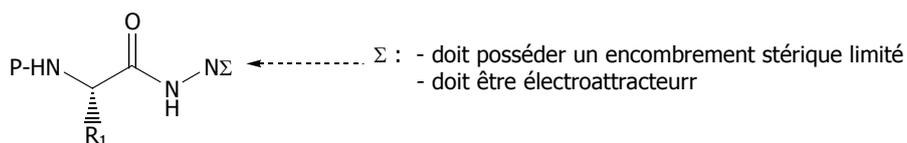


Figure 4

Notre choix s'est porté sur un motif hydrazone, plan et qui, judicieusement choisi, pourrait engendrer une acidité suffisante du proton impliqué dans la réaction de Mitsunobu³⁰.

III.1. Choix du motif hydrazone (réaction de Mitsunobu).

Afin de définir les meilleures conditions opératoires pour mettre en œuvre une réaction de Mitsunobu avec un dérivé d'acide aminé additionné d'un motif hydrazone, nous avons choisi d'effectuer une étude systématique à partir de différents aldéhydes ou cétones aromatiques (schéma 26 et tableau 6).

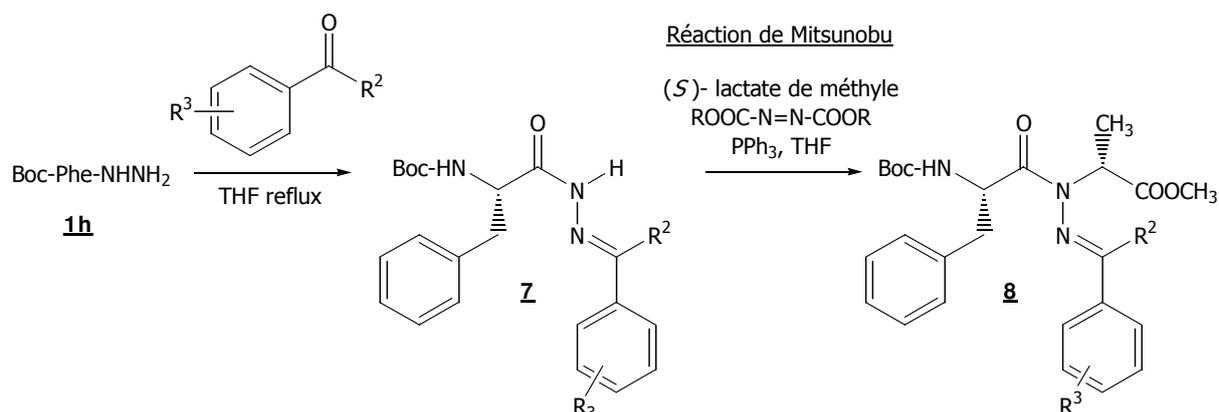


Schéma 26

Lors de la première étape, les rendements en produits isolés purs **7** se situent entre 52 et 92%. Ces excellents rendements sont comparables à ceux obtenus lors de la condensation de l'anhydride phtalique sur Boc-Phe-NHNH₂ (**1h**). De plus, contrairement aux produits **2e** et **2j**, les produits **7** ne gélifient pas, ce qui facilite les étapes de purifications.

Les différents essais et les conditions opératoires pour la réaction de Mitsunobu sont rassemblés dans le tableau 6 :

³⁰ Keith, J. M.; Gomez, L. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7113-7116.

R ²	R ³	Position substituant	Rendement % ^a	Agent couplage	Rendement % ^b	
					1,2 eq	2 eq
H	H	/	7a 84	DEAD	incomplète	8a 57
H	OCH ₂ C ₆ H ₅	4	7b 52	DBAD	incomplète	8b 47
H	NO ₂	2	7c 75	DEAD	incomplète	8c 100
H	NO ₂	4	7d 81	DEAD	incomplète	8d 0
H	Cl	3 et 4	7e 82	DEAD	incomplète	8e 63
C ₆ H ₅	H	/	7f 92	DEAD	incomplète	8f 34

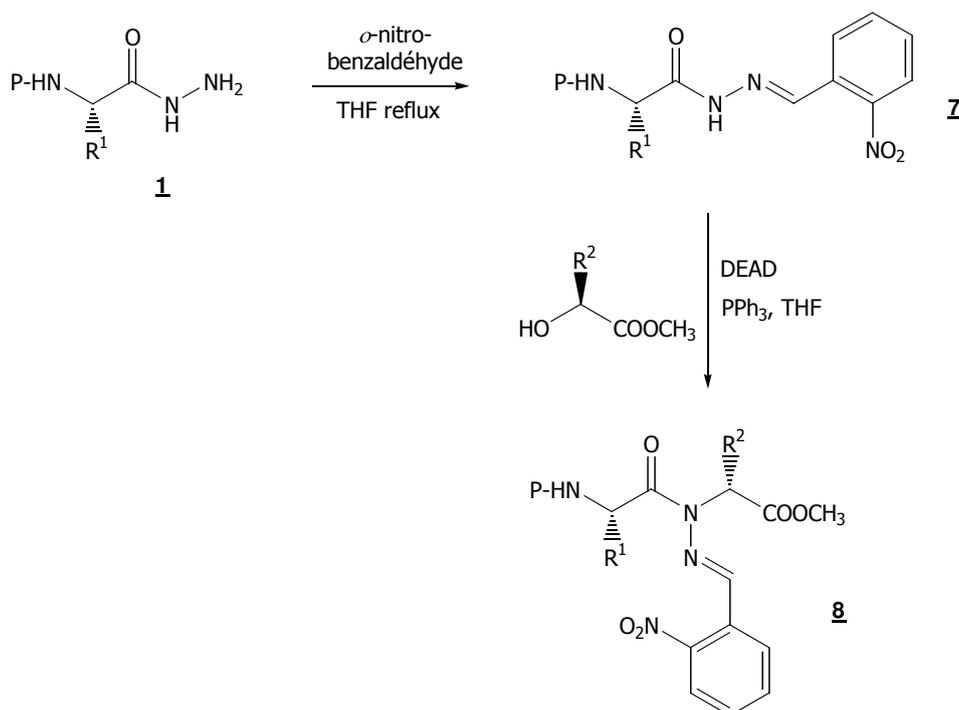
a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **1h**. b : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **Z**.

Tableau 6

La première série d'essais consiste à reproduire la réaction de Mitsunobu dans les mêmes conditions que lorsque le partenaire acide est un dérivé d'acide aminé phtaloylé.

L'avancement de la réaction, suivie par CCM, n'a pas montré une disparition totale du partenaire acide, réactif en défaut dans les conditions mises en œuvre. Nous avons choisi d'augmenter le nombre d'équivalents d' α -hydroxyester, de triphénylphosphine et de dialkylazodicarboxylate. L'utilisation de deux équivalents de chacun de ces réactifs a permis d'augmenter considérablement les rendements de la réaction de Mitsunobu pour la plupart des composés **Z** mis en jeu, à l'exception du composé **7d**. Dans de telles conditions, lorsque l'aldéhyde condensé sur le composé **1h** est l'*ortho*-nitrobenzaldéhyde, le produit **7c** réagit de façon quantitative lors de la réaction de Mitsunobu.

Nous avons choisi d'appliquer ces conditions à différents hydrazides d'acides aminés **1** afin d'étudier l'effet de l'encombrement stérique sur la réaction de Mitsunobu lorsque le groupement phtalimide est remplacé par un motif hydrazone dérivé de l'*ortho*-nitrobenzaldéhyde. Les réactifs et les conditions opératoires sont rassemblés dans le schéma 27 et le tableau 7 :



P	R ¹	Rendement % ^a	R ²	Rendement % ^a
Z	CH ₃	7g 88	H	8g 82
	CH ₃		CH ₃	8h 99*
	CH(CH ₃) ₂	7h 84	H	8i 78
	CH(CH ₃) ₂		CH ₃	8j 85*
Boc	CH ₂ Ph	7c 75	CH ₃	8c 100

a : rendement en produits isolé pur calculé à partir de **1**. b : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **Z**.

Tableau 7

Après purification par colonne chromatographique, les composés **8** ont pu être isolés avec de très bons rendements allant de 78 à 100%. Pour certains essais (notés *), l'utilisation du motif hydrazone permet même d'augmenter de façon spectaculaire le rendement de la réaction de Mitsunobu.

III.2. Déprotection du motif l'hydrazone.

Une fois les conditions de synthèse des composés **8** définies et compte tenu du but que nous nous étions fixé (à savoir la validation du motif hydrazone comme groupement protecteur activant pour une réaction de Mitsunobu), il était nécessaire de mettre au point des conditions de déprotection du motif hydrazone. Après un rapide examen de la littérature, nous nous sommes trouvés confrontés à un problème non attendu. En effet, le motif hydrazone étant, dans la plupart des cas, utilisé comme

groupement protecteur d'une fonction carbonylée, très peu de publications relatent la régénération du groupement amine libre.

Nous avons testé différentes conditions réactionnelles décrites dans la littérature pour la déprotection d'une hydrazone, en cherchant à identifier sous quelle forme se trouvait la partie amine en fin de réaction.

Les différents essais ont été réalisés à partir du composé **8c** Boc-Phe Ψ [CO-N(N=CHPh-2-NO₂)]Ala-OMe, protégé sur l'extrémité *N*-terminale par un groupement Boc que nous avons en quantité suffisante. Bien sûr, nous étions conscients que le fait d'utiliser des conditions acides pour régénérer l'amine allait également provoquer l'élimination du groupement Boc. Nous savions également que lorsque l'extrémité *N*-terminale d'un *N*-aminodipeptide se trouve sous sa forme libre, celui-ci se cyclise instantanément en dicétopipérazine correspondante.

Cette réaction secondaire de cyclisation ne constitue pas une limitation à notre méthode, et ce pour deux raisons :

- Les groupements protecteurs Z (résistant aux conditions acides douces) et Fmoc (sensible aux milieux basiques) ne seront pas déprotégés,
- Lors de l'oligomérisation sur phase solide, l'extrémité *C*-terminale sera engagée dans un lien amide et non plus un lien ester. La cyclisation ne pourra alors plus avoir lieu (schéma 28).

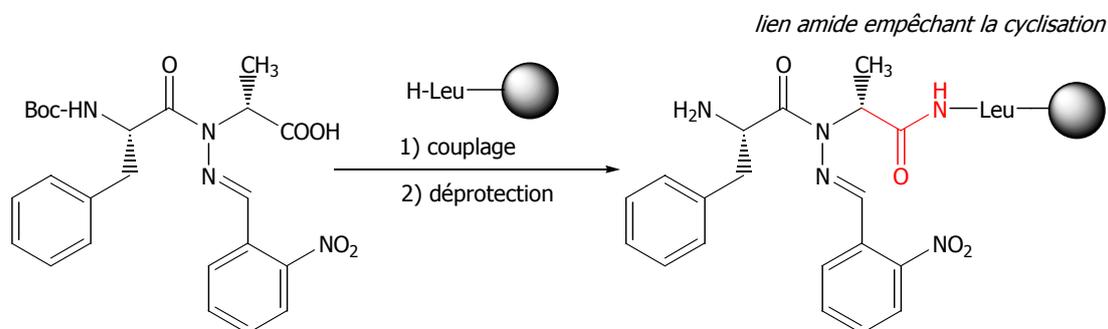


Schéma 28

Les essais et réactifs utilisés dans cette étude qualitative sont rassemblés dans le tableau 8 :

Agent déprotecteur	Mode opératoire	Conditions	Observations
Acide oxalique ³¹	Solution 5% dans H ₂ O	Reflux	Déprotection du Boc. Résistance hydrazone.
Acide acétique ³²	AcOH/H ₂ O (1/1)	Reflux	Déprotection du Boc. Résistance hydrazone.
Bisulfite de sodium ³³	3,5 eq. dans EtOH/H ₂ O (1/1)	Reflux	Déprotection Boc et hydrazone. Rendement moyen.
APTS ³⁴	2 eq. dans EtOH/H ₂ O (1/1)	Reflux 6h	Déprotection du Boc et de l'hydrazone.

Tableau 8

Lors des deux premiers essais, l'acide oxalique et l'acide acétique utilisés en solution dans l'eau n'ont eu pour seul effet que de déprotéger le groupement Boc avec pour conséquence la formation de la dicétopipérazine correspondante **9** selon la réaction décrite ci-dessous (schéma 29) :

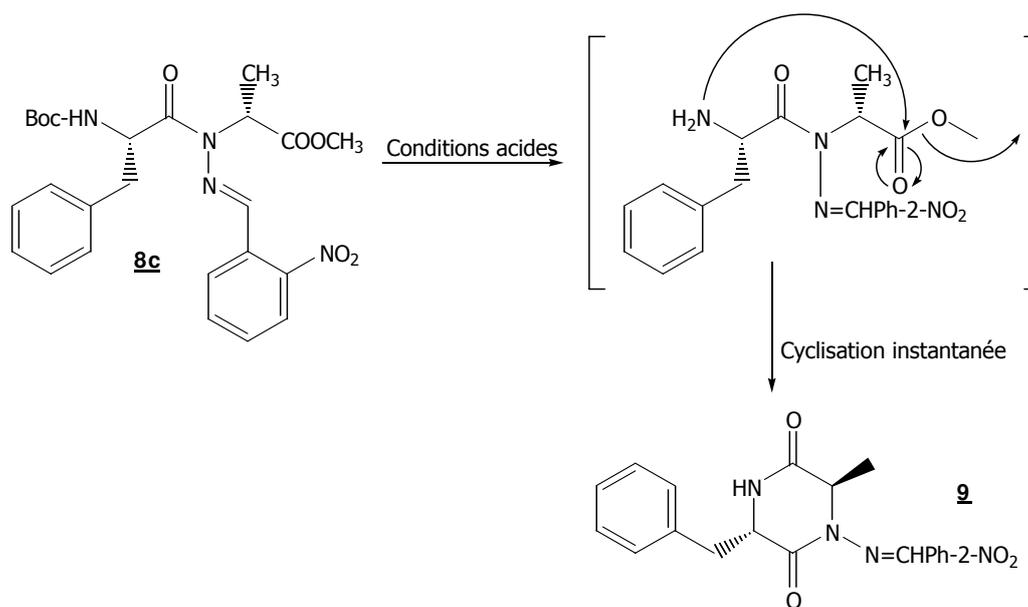


Schéma 29

Les essais mettant en jeu le bisulfite de sodium ont, eux, permis d'isoler le composé déprotégé sur l'amine latérale, mais en tant que composé minoritaire dans le brut réactionnel. La déprotection du

³¹ Royals, E. E.; Horne, Jr, S. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 5856-5857.

³² Taub, D.; Hoffsommer, R. D.; Slates, H. L.; Kuo, C. H.; Wendler, N. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 4012-4026.

³³ Pines, S. H.; Chemerda, J. M.; Kozłowski, M. A. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 3446-3447.

³⁴ Zawadzki, S.; Zwierzak, A. *Polish J. Chem.* **2003**, *77*, 315-319.

groupement Boc ayant lieu simultanément, nous avons évidemment été confrontés au même problème de cyclisation intramoléculaire avec formation de dicétopipérazine.

Nous avons pu mettre au point une méthode de déprotection du motif hydrazone, mettant en jeu l'acide *para*-toluènesulfonique dans un reflux léger d'éthanol aqueux. La dicétopipérazine isolée en fin de réaction était totalement déprotégée sur l'amine latérale.

III.3. Conclusions.

Dans cette partie nous avons exposé la stratégie de recherche d'une nouvelle méthode de synthèse de *N*-aminodipeptides ne faisant pas intervenir le groupement phthalimide.

Deux études qualitatives, sur la recherche de l'aldéhyde idéal permettant d'effectuer la réaction de Mitsunobu d'une part, puis sur la mise au point d'une méthode de déprotection du motif hydrazone d'autre part, nous ont permis de valider le motif hydrazone comme groupement protecteur activant de choix pour la synthèse de *N*-aminodipeptides *via* un protocole de Mitsunobu.

IV. Synthèse de *N*-aminodipeptides sur phase solide.

La synthèse sur phase solide de petites molécules organiques suscite un intérêt grandissant depuis quelques années. En effet, cette technique permet une synthèse plus rapide d'un grand nombre de produits en un temps très court, dû à la facilité des méthodes de purifications des produits intermédiaires qui s'effectuent par de simples lavages.

IV.1. Etude bibliographique sur la réaction de Mitsunobu sur phase solide.

Compte tenu de l'intérêt que peuvent représenter les *N*-aminopeptides, il nous a semblé intéressant de transposer les méthodes de synthèses décrites précédemment à la synthèse supportée. De plus, la réaction de Mitsunobu, qui représente l'étape clé de la synthèse des *N*-aminodipeptides, a pour désavantage de générer un très grand nombre de sous-produits de réaction, ce qui complique fortement l'isolement des produits purs. La synthèse de ces composés sur phase solide semble donc être une alternative de choix pour éviter des purifications longues et fastidieuses.

La réaction de Mitsunobu peut être envisagée de différentes manières lors de sa transposition sur phase solide en fonction du groupement fixé au support et en fonction de la nature de la liaison que l'on souhaite créer (liaisons éther, ester, C-C...) :

- utilisation d'alkylazodicarboxylate ou de triphénylphosphine supporté,
- utilisation du partenaire acide ou alcool supporté.

IV.1.1. Utilisation d'alkylazodicarboxylates ou de triphénylphosphine supportés.

Le premier alkylazodicarboxylate supporté a été synthétisé par Arnold et coll. en 1989³⁵ selon la réaction suivante (schéma 30) :

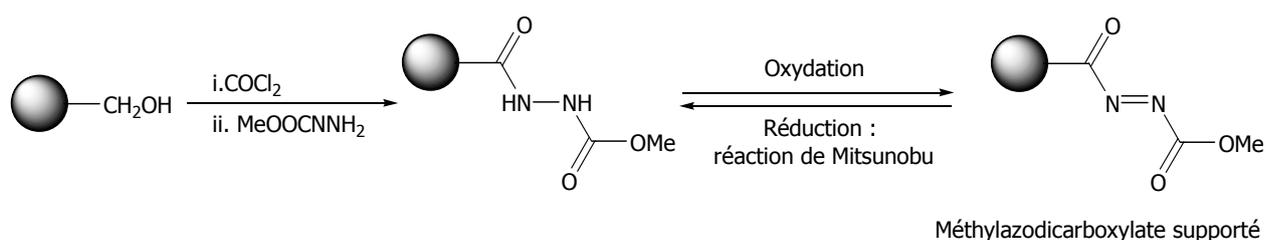


Schéma 30: synthèse du premier alkylazodicarboxylate supporté.

Le méthylazodicarboxylate supporté ainsi obtenu présente des avantages non négligeables par rapport à son homologue soluble (diméthylazodicarboxylate) : en plus de faciliter la purification de la réaction de Mitsunobu tout en conservant des propriétés chimiques comparables (rendements sensiblement inférieurs mais toujours acceptables), il est régénérable au moins cinq fois sans présenter la moindre diminution de réactivité et n'est pas explosif³⁶.

D'autres équipes ont développé en parallèle des recherches sur des dérivés de triphénylphosphine supportés³⁷, qui permettent d'éliminer par simple filtration l'excès de triphénylphosphine et l'oxyde de triphénylphosphine présents en fin de réaction.

Ces méthodes présentent cependant de fortes limitations :

- les deux réactifs supportés ne peuvent pas être utilisés simultanément du fait de la non-réaction entre deux polymères,
- la réaction de Mitsunobu faisant intervenir ce type de composés nécessite l'utilisation d'un très large excès de résine,
- les temps de réactions sont plus longs que lors d'une synthèse en phase liquide³⁸,

³⁵ Arnold, L. D.; Assil, H. I.; Vederas, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 3973-3976.

³⁶ Kauer, J. C. *Organic Syntheses*, Collect. IV; Rabjohn, N., Ed.; Wiley: New York, **1963**, 411-415.

³⁷ a) Amos, R. A.; Emblidge, R. W.; Havens, N. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3598-3600. b) Humphries, P. S.; Do, Q.-Q. T.; Wilhite, D. M. *Beilstein Journal Of Organic Chemistry* **2006**, 2:21. c) Harned, A. M.; Song He, H.; Toy, P. H.; Flynn, D. L.; Hanson, P. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 52-53.

- elle n'est valable que dans le cas où seule la réaction de Mitsunobu est réalisée sur phase solide afin de simplifier la purification du produit voulu.

Afin d'améliorer les conditions réactionnelles et de les appliquer à des synthèses multi-étapes, d'autres approches de la réaction de Mitsunobu en phase solide ont été explorées, faisant intervenir le partenaire acide ou le partenaire alcool supporté.

Un très grand nombre d'études ont été rapportées dans la littérature, nous n'exposerons ici que les exemples jugés les plus pertinents au vu de l'étude que nous avons menée.

IV.1.2. Greffage du partenaire acide ou du partenaire alcool.

La première réaction de Mitsunobu sur phase solide n'utilisant pas un alkylazodicarboxylate supporté a été décrite en 1995 par Rano et coll.³⁹, appliquée à l'obtention d'éthers aryliques (schémas 31 et 32) :

Accrochage du partenaire alcool

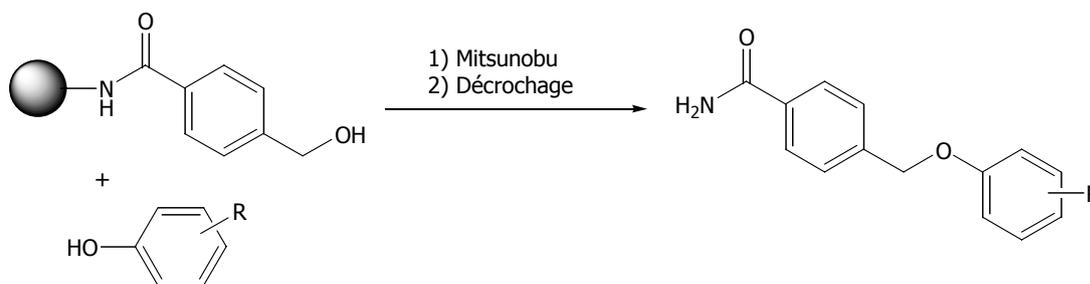


Schéma 31

Accrochage du partenaire acide

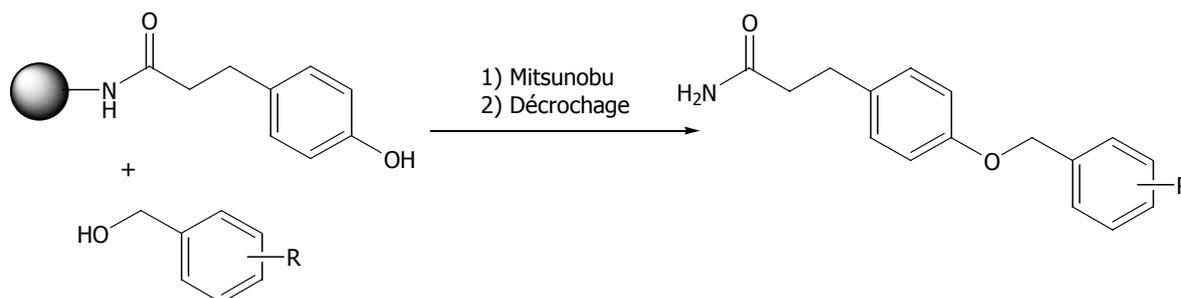


Schéma 32

Une étude a été effectuée visant à comparer l'efficacité de la réaction de Mitsunobu, suivant l'utilisation du partenaire alcool (schéma 31) ou du partenaire acide (schéma 32) supporté. Il en ressort que le choix du motif n'est pas un facteur déterminant du bon déroulement de la réaction. En

³⁸ a) Wentworth, Jr. P.; Vandersteen, A. M.; Janda, K. D. *Chem. Commun.* **1997**, 759-760. b) Dickerson, T. J.; Reed, N. N.; Janda, K. D. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 3325-3343.

³⁹ Rano, T. A.; Chapman, K. T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 3789-3792.

effet, les deux réactions, qui ont été effectuées avec différents produits de départ, conduisent toujours à de bons rendements et 'une très haute pureté.

Depuis, de nombreuses études ont été menées, qui diffèrent selon la nature du partenaire acide mis en jeu :

- *O*-alkylation : création d'une liaison éther⁴⁰,
- *N*-alkylation : obtention d'amines ou d'amides substitués,
- Mitsunobu intramoléculaire : obtention de cycles⁴¹.

Il existe aussi quelques exemples de *S*-alkylation⁴² ou de créations de liaisons carbone-carbone⁴³ mais ces études sont largement minoritaires. Dans le cas présent, nous ne nous intéresserons qu'aux synthèses décrites dans la littérature concernant la préparation d'amines ou d'amides substitués.

Le premier exemple de *N*-alkylation sur phase solide par réaction de Mitsunobu a été décrit en 1998 par Reichwein et Liskamp (schéma 33)⁴⁴.

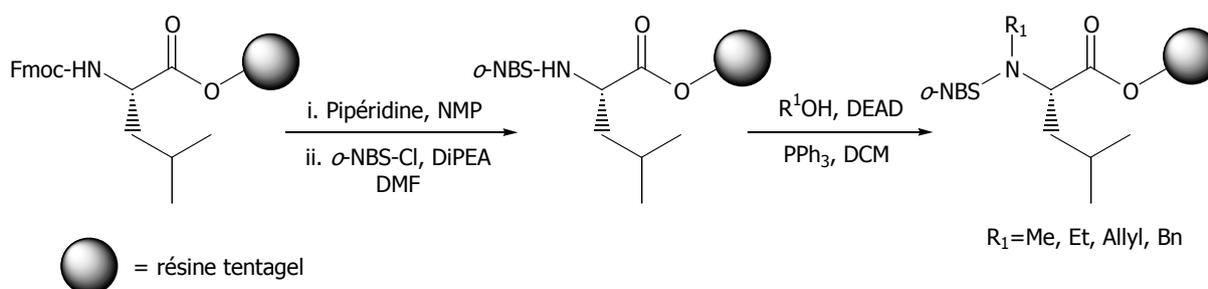


Schéma 33

L'utilisation d'*ortho*-nitrobenzenesulfonamide comme groupement protecteur activant augmente suffisamment l'acidité du proton *N*-terminal qui permet une réaction de Mitsunobu avec de très bons rendements. Cette méthode a ensuite été étendue à d'autres groupements R¹ et d'autres résines, toujours avec la même efficacité⁴⁵.

Le développement du lien *ortho*-nitrobenzenesulfonamide comme bras d'espacement pour la résine a permis de mettre au point une méthode de synthèse intéressante d'amines secondaires à partir d'alcool *via* une réaction de Mitsunobu. En effet, le groupement protecteur activant fixé à la résine,

⁴⁰ a) Vergnon, A. L.; Pottorf, R. S.; Player, M. R. *J. Comb. Chem.* **2004**, 6, 91-98. b) Maillard, L. T.; Benhoud, M.; Durand, P.; Badet, B. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 6303-6312.

⁴¹ Arya, P.; Wei, C.-Q.; Barnes, M. L.; Daroszewska, M. *J. Comb. Chem.* **2004**, 6, 65-72.

⁴² Malkinson, J. P.; Falconer, R. A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 9549-9552.

⁴³ Chaturvedi, S.; Otteson, K.; Bergot, J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8205-8209.

⁴⁴ Reichwein, J. F.; Liskamp, R. M. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1243-1246.

⁴⁵ a) Boeijen, A.; Kruijzer, J. A. W.; Liskamp, R. M. J. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 2375-2380. b) Lin, X.; Dorr, H.; Nuss, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 3309-3313.

permet à la réaction de se dérouler, et le relargage de l'amine se fait au moment de la déprotection (schéma 34)⁴⁶.

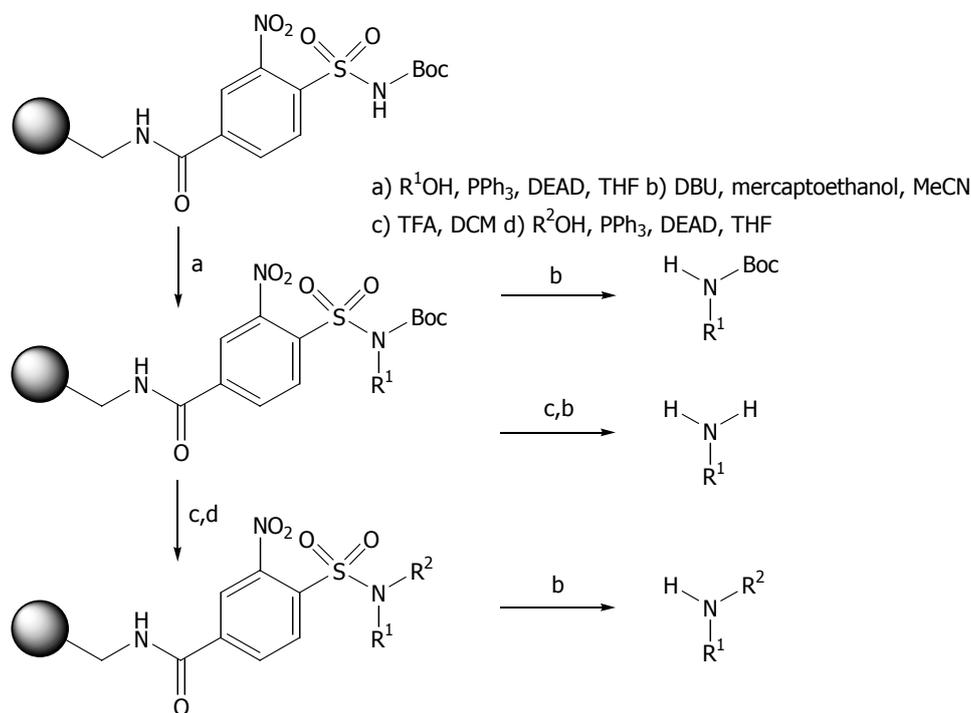


Schéma 34

Un traitement par le DBU permet la libération de l'amine avec des rendements corrects et une très haute pureté.

Dans le même esprit, le groupement phthalimide a été développé comme bras espaceur activant dans la synthèse d'amines secondaires (schéma 35)⁴⁷.

⁴⁶ Congreve, M. S.; Kay, C.; Scicinski, J. J.; Ley, S. V.; Williams, G.; Murray, P. J.; McKeown, S. C.; Watson, S. P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4153-4156.

⁴⁷ a) Aronov, A. M.; Gelb, M. H. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 4947-4950. b) Bauer, J.; Rademann, J. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 5019-5023. c) Glatz, H.; Bannwarth, W. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 149-152.

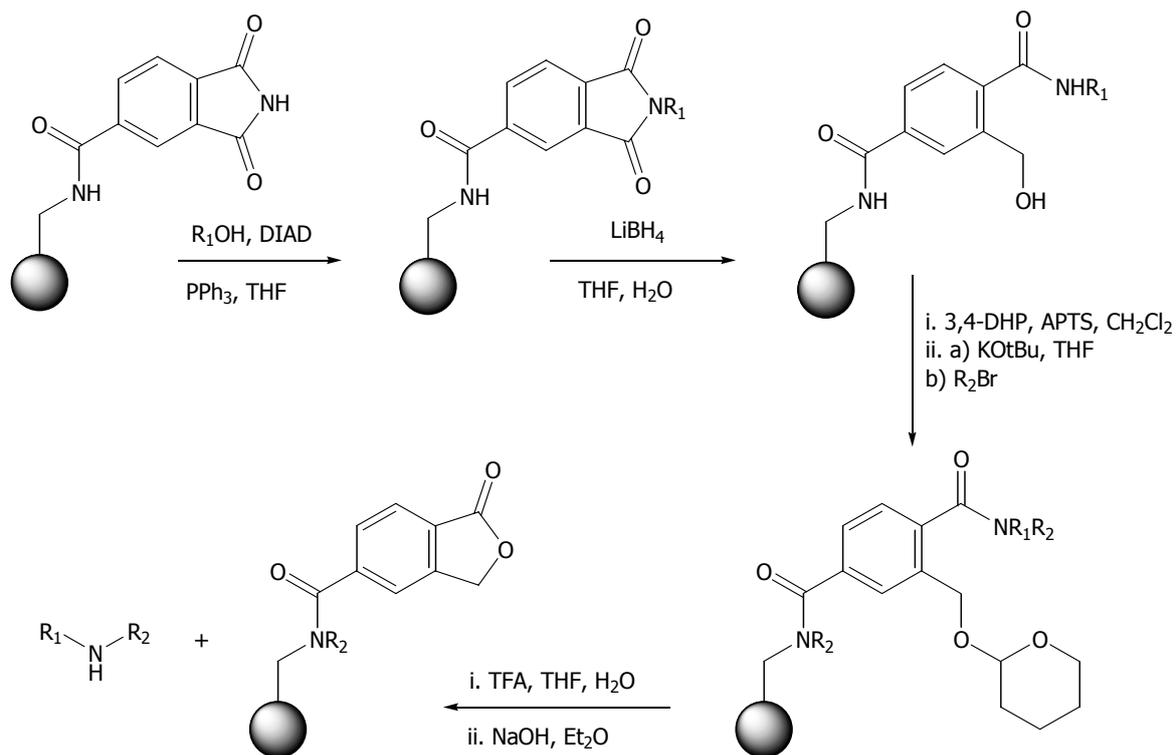


Schéma 35

Le relargage de l'amine s'effectue cette fois en deux étapes. Après déprotection du groupement OTHP par action du TFA, l'alcool ainsi libéré entre en jeu dans une réaction de lactonisation qui aboutit au relargage de l'amine secondaire désirée.

Les deux stratégies de synthèse de *N*-aminodipeptides sur phase solide que nous avons envisagées sont les suivantes (figure 5) :

- greffage du partenaire acide de la réaction de Mitsunobu
- greffage du partenaire alcool.

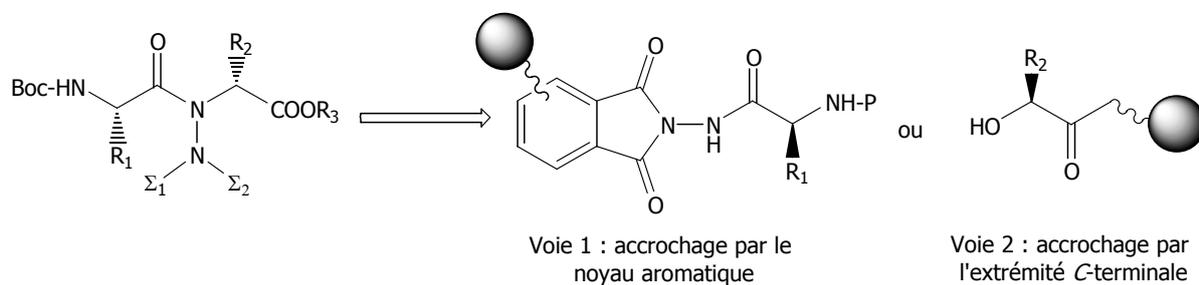


Figure 5 : les deux voies de synthèse sur phase solide envisagées.

IV.2. Voie 1 : Accrochage par le noyau aromatique.

Il a été démontré au laboratoire que pour la préparation d' α -hydrazinoacides sur support solide²⁸, l'accrochage du partenaire acide de la réaction de Mitsunobu peut être effectué par réaction entre l'anhydride triméllitique (R=O) et une résine Wang⁴⁷. Nous avons testé cette procédure pour réaliser la synthèse de *N*-aminodipeptides tris-protégés (schéma 36) :

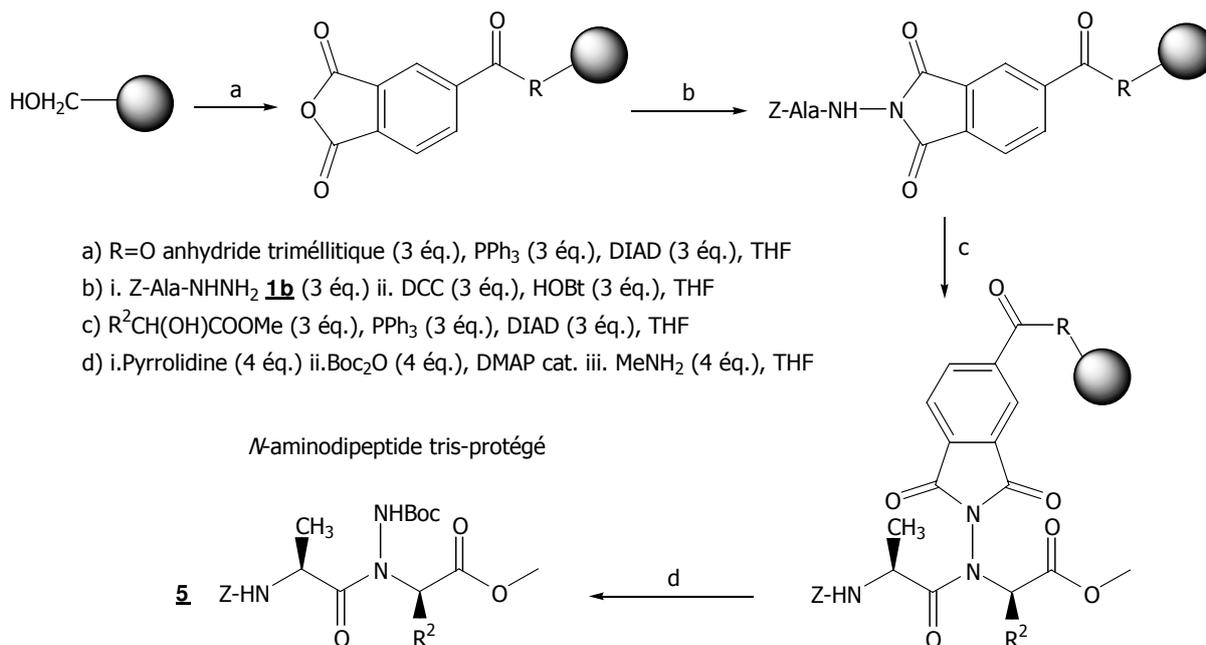


Schéma 36

Le partenaire acide est obtenu en deux étapes par addition de trois équivalents d'hydrazide d'acide aminé sur l'anhydride phtalique supporté suivie d'une réaction de cyclisation impliquant du DCC et du HOBt ce qui évite le reflux de toluène mis en œuvre lors de la synthèse en phase liquide). La réaction de Mitsunobu est réalisée en utilisant trois équivalents du partenaire alcool, de DIAD et de PPh₃. Enfin, l'originalité de cette méthode réside dans le nouveau mode de décrochage de la molécule de la résine. La réaction de transprotection du groupement phtalimide en groupement Boc décrite précédemment permet un relargage du *N*-aminodipeptide tris-protégé dans des conditions particulièrement douces.

Cette stratégie originale de synthèse de *N*-aminodipeptides sur phase solide nous a permis d'obtenir les composés voulus (vérification de la présence du composé **5** par CCM). Cependant, différents problèmes sont survenus lors de la mise au point de cette synthèse :

- les résultats ne sont pas reproductibles,
- la multiplicité des sous produits de réaction contenus dans les bruts réactionnels complique grandement les purifications.

Nous avons attribué ces complications à la labilité du groupement phtalimide et/ou à celle du lien existant entre la résine et le partenaire acide. Dans le but d'améliorer les résultats de cette synthèse originale et prometteuse, nous avons décidé de changer la nature de ce lien (seul paramètre variable étant donné la nécessité de conserver le groupement phtalimide pour permettre à la fois la réaction de Mitsunobu et le relargage du *N*-aminodipeptide). Pour cela, deux possibilités étaient envisageables :

- changer la résine (figure 6)

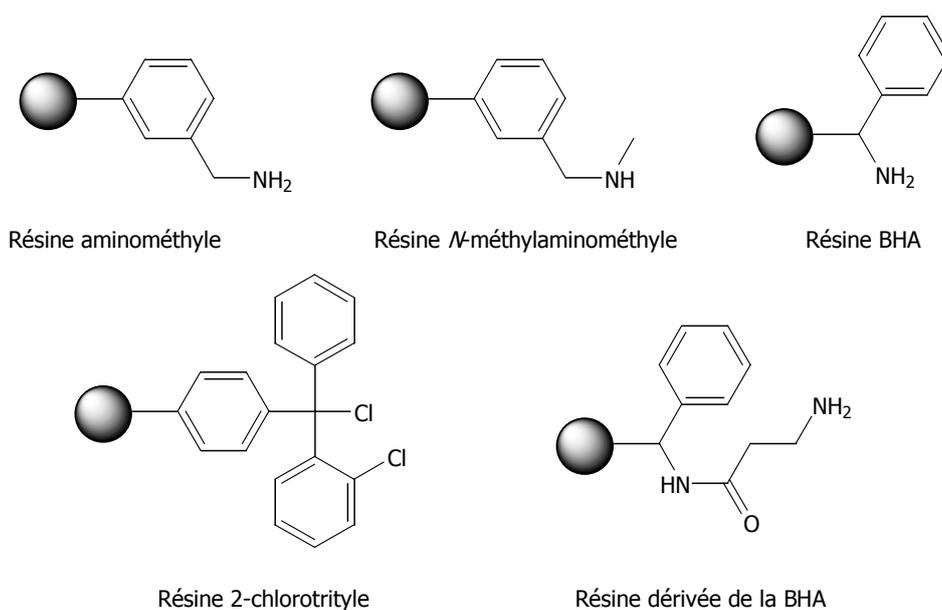


Figure 6 : les différentes résines testées pour la synthèse de *N*-aminodipeptides.

- changer le dérivé d'anhydride phtalique mis en jeu lors de la première étape afin de changer la nature du lien de celui-ci avec la résine (figure 7).

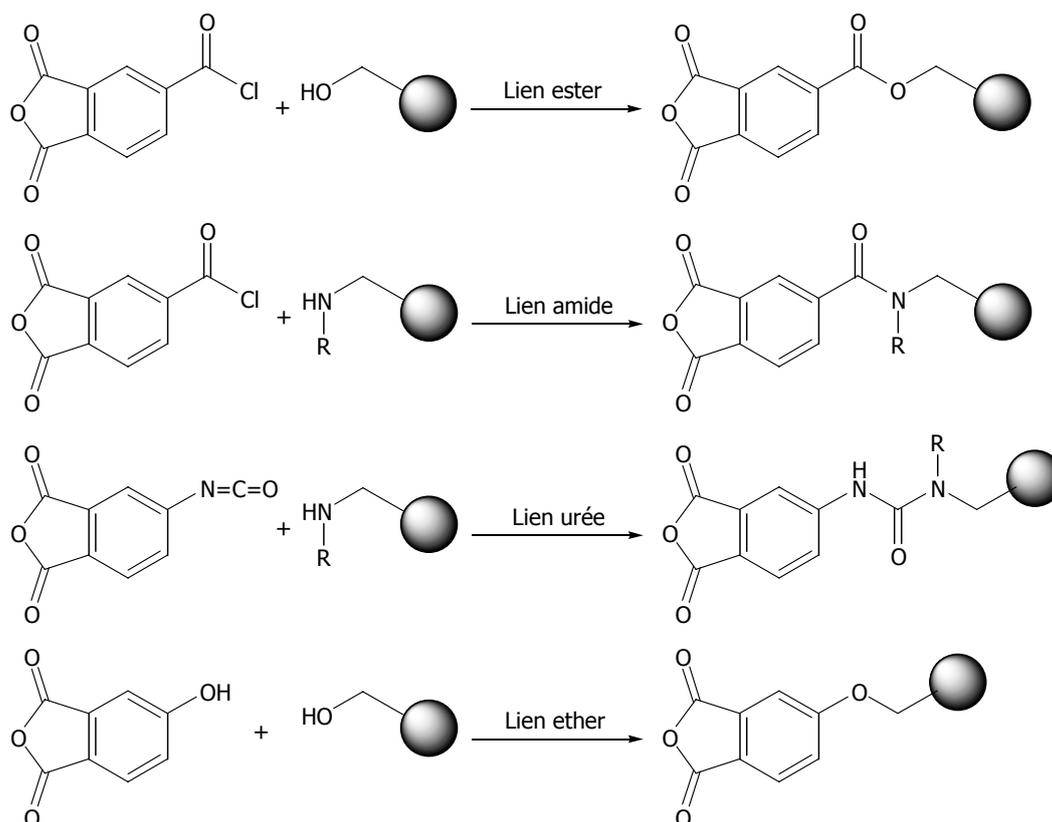


Figure 7 : les différents liens anhydride phtalique-résine.

Différentes résines ont été testées (figure 6) et différents anhydrides phtaliques substitués (figure 7) mais sans pour autant réussir à améliorer de façon significative les résultats obtenus lors de la condensation de l'anhydride triméllitique sur la résine Wang.

Ces résultats nous ont donc encouragés à envisager la synthèse des *N*-aminodipeptides en utilisant le partenaire alcool supporté (voie 2).

IV.3. Voie 2 : Accrochage par l'extrémité C-terminale.

La seconde stratégie envisagée consiste à greffer l' α -hydroxyacide sur le support solide par sa fonction C-terminale et d'y condenser le partenaire acide de la réaction de Mitsunobu. Cette voie réactionnelle, contrairement à la voie 1, se déroule dans le sens conventionnel de la synthèse peptidique, ce qui permet de tirer avantage des méthodes de greffage et de décrochage de la synthèse peptidique sur phase solide.

IV.3.1. Synthèse des partenaires alcools à greffer.

Le greffage par l'extrémité *C*-terminale nécessite une étape préalable de protection de la fonction alcool de l' α -hydroxyacide mis en jeu, ce qui peut être réalisé par action du 2,4-dihydropyrane selon un protocole décrit dans la littérature⁴⁸. Nous avons appliqué cette méthode à la préparation des composés **12** (schéma 37) et les résultats sont rassemblés dans le tableau 9.

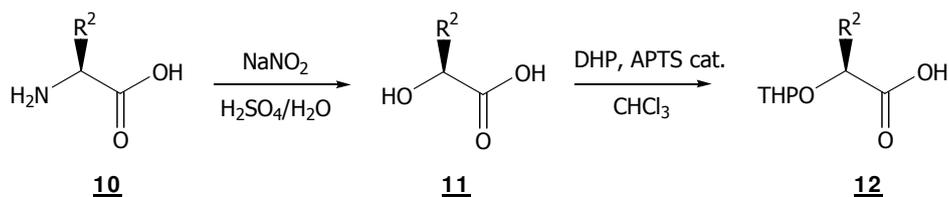


Schéma 37

R ²	Rendement en 11 % ^a	Rendement en 12 % ^b
H	11a Commercial	12a 45
CH ₃	11b Commercial	12b 42
CH(CH ₃) ₂	11c 59	12c 76
CH ₂ CH(CH ₃) ₂	11d 54	12d 41
CH ₂ Ph	11e 60	12e 48

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **10**. b : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **11**.

Tableau 9

Les composés **12** ont été isolés avec des rendements modestes, sensiblement inférieurs aux données décrites dans la littérature.

Remarque : cette stratégie de synthèse n'est applicable que dans le cas où les acides aminés de départ ne possèdent pas de chaînes latérales fonctionnelles.

IV.3.2. Synthèse sur phase solide de *N*-aminodipeptides phtaloylés.

A partir des α -hydroxyacides protégés, la synthèse supportée de *N*-aminodipeptides phtaloylés **13** a été réalisée selon le schéma 38.

⁴⁸ Kuisle, O.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8063-8075.

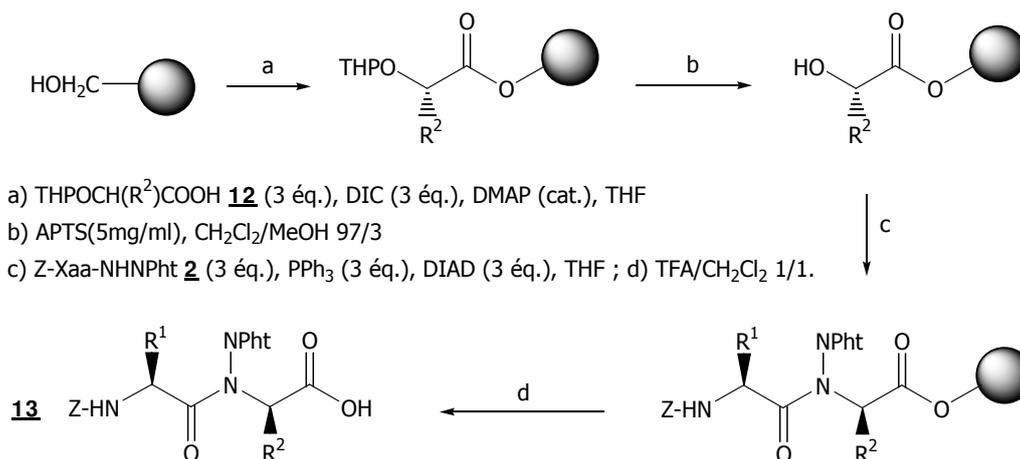


Schéma 38

Les α -hydroxyacides protégés ont été greffés sur la résine Wang en utilisant le DIC comme agent de couplage et une quantité catalytique de DMAP. Le motif THP a été déprotégé par action d'APTS dans un mélange MeOH/DCM (3/97). La réaction de Mitsunobu a été réalisée en utilisant les composés **2** comme partenaire acide et les *N*-aminodipeptides **13** sont isolés après décrochage par un mélange TFA/DCM (1/1).

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 10.

Essai	R ¹	R ²	Rendement % ^a
1	H	H	13a 49
2	CH ₃		13b 38
3	CH ₂ CH(CH ₃) ₂		13c 39
5	CH ₂ Ph		13d 48
6	H	CH ₃	13e 47
7	CH ₃		13f 37
8	CH ₂ CH(CH ₃) ₂		13g 44
10	CH ₂ Ph		13h 55
11	CH ₂ Ph	CH(CH ₃) ₂	13i 21
12	CH ₃		13j 21
13	CH ₂ Ph	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	13k 10

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir du taux de substitution de la résine.

Tableau 10

Les rendements calculés à partir du taux de substitution de la résine sont compris entre 10 et 55%. Ces résultats correspondent à de bons rendements moyens par étape de 46 à 86%.

Afin de confirmer le fait que la réaction de Mitsunobu sur phase solide procède d'une inversion totale de configuration des carbones α des composés **13**, nous avons décidé, sur un exemple, de transformer la fonction *C*-terminale du composé **13f** en ester méthylique et de comparer son spectre RMN avec celui du composé **3a** obtenu lors de la synthèse en solution (schéma 39).

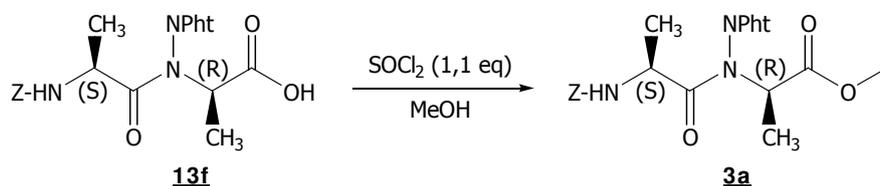


Schéma 39

Aucune trace du diastéréoisomère correspondant au composé **3a** n'a été détecté.

Comme démontré précédemment en solution, la synthèse sur phase solide de *N*-aminodipeptides conduit à des composés possédant une très haute pureté optique (ee>95%).

Il est également important de noter que les composés **13** obtenus possèdent une extrémité *C*-terminale libre. Ils sont donc directement incorporables dans des séquences plus longues de *N*-aminomères sur phase solide.

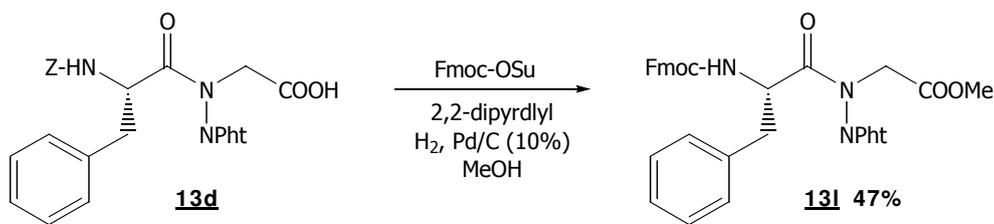
IV.3.3. Transprotection des synthons **13**.

Dans le but d'oligomériser les synthons **13** sur phase solide, nous avons étudié la littérature pour connaître les conditions de déprotections du groupement Z potentiellement utilisables. En 1963, Merrifield synthétisait un térapeptide en stratégie Z, nécessitant l'utilisation d'une solution d'acide bromhydrique dans l'acide acétique⁴⁹.

La méthode de transprotection du groupement Z en groupement Fmoc décrite au paragraphe II permet d'obtenir des synthons oligomérisables dans des conditions plus douces.

Nous avons donc cherché à mettre en œuvre cette réaction sur l'un des composés **13** (schéma 40) pour savoir si cette transprotection était possible dans le cas d'un dérivé phthaloylé.

⁴⁹ Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149-2154.



Après purification par colonne chromatographique, nous n'avons pas isolé le composé déprotégé sur l'extrémité *C*-terminale, mais le produit **13l** sous sa forme ester méthylique avec un rendement de 47%.

Un essai de transprotection a alors été effectué lorsque le composé **13** était encore fixé sur la résine, mais celui-ci s'est avéré aussi peu concluant.

IV.3.4. Conclusions.

Au cours de cette partie, nous avons cherché à transposer les méthodes de synthèse des *N*-aminodipeptides sur phase solide.

La première voie explorée visait à mettre au point des conditions de synthèse sur phase solide de *N*-aminodipeptides tris-protégés de façon orthogonale. Malgré des premiers résultats encourageants, nous avons été confrontés à un manque de reproductibilité et les rendements trop faibles pour poursuivre dans cette voie.

La seconde voie, qui consistait à accrocher l'extrémité *C*-terminale du pseudodipeptide à la résine, a quant à elle, donné de meilleurs résultats. Nous avons ainsi pu obtenir une série de *N*-aminodipeptides orthogonalement protégés avec de très bons rendements et une très haute pureté optique.

V. Synthèse de *N*-aminodipeptides substitués par une nucléobase azotée.

V.1. Introduction bibliographique.

La nature stocke les informations génétiques grâce à l'ADN où les quatre bases azotées codant l'information sont portées par un polymère ribose-phosphate. Le traitement de certaines maladies génétiques a été envisagé à l'aide d'oligonucléotides naturels de type ADN ou ARN. En effet,

l'expression des gènes incriminés peut être bloquée par des interactions spécifiques existant entre des fragments d'ADN ou d'ARN cellulaires ou viraux et des oligonucléotides possédant des séquences nucléotidiques qui leur sont complémentaires.

Ces molécules sont malheureusement fragiles, dégradées par les nucléases et elles traversent difficilement les membranes biologiques en raison de leur caractère hydrophile. C'est pourquoi des recherches visant à les modifier ont été menées pour parer à ces inconvénients. Il en a résulté des modifications structurales sur le sucre, la liaison phosphodiester et la base azotée⁵⁰.

Une avancée importante dans ce domaine a eu lieu en 1991 et consiste à remplacer le squelette ribose-phosphate des acides nucléiques par une structure peptidique (figure 8)⁵¹. Il en résulte des composés appelés PNA (peptide ou polyamid nucleic acid) qui pourraient à terme jouer un rôle de premier plan dans le domaine de la thérapie génique et / ou comme agents de diagnostic⁵².

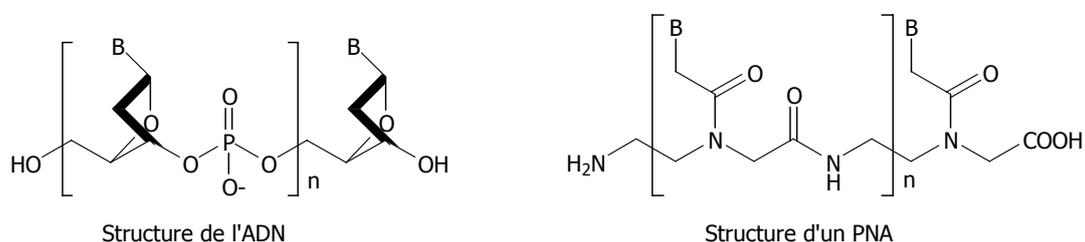


Figure 8

Le nouveau squelette des PNA, structurellement équivalent à celui des acides nucléiques (6 liaisons au niveau du squelette et 3 au niveau du bras espaceur), leur donne la capacité de former des complexes particulièrement stables avec l'ADN ou l'ARN⁵³. Cette stabilité peut s'expliquer par l'absence de répulsions électrostatiques entre les deux brins en raison du défaut de charges négatives des PNAs⁵⁴. De plus, ces composés sont résistants aux nucléases, peptidases et protéases⁵⁵. Cependant, les applications thérapeutiques des PNA sont limitées actuellement par leur faible pénétration au travers des membranes biologiques et leur faible solubilité en milieu aqueux liée à une structure non chargée⁵⁶.

⁵⁰ a) Maesmaker, A. D.; Altmann, K. H.; Waldner, A.; Wendeborn, S. *Curr. Op. Struct. Biol.* **1995**, 5, 343-355. b) Gray, G. D.; Basu, S.; Wickstorm, E. *Biochemical Pharmacology* **1997**, 53, 1465-1476.

⁵¹ a) Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Berg, R. H.; Buchardt, O. *Science* **1991**, 254, 1497-1500. b) Egholm, M.; Buchardt, O.; Nielsen, P. E.; Berg, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1895-1897.

⁵² Kunden, H.; Nielsen, P. E. *Nucleic Acids Research* **1996**, 24, 494-500.

⁵³ Egholm, M.; Buchardt, O.; Christensen, L.; Behrens, C.; Freier, S. M.; Driver, D. A.; Berg, R. H.; Kim, S. K.; Norden, B.; Nielsen, P. E. *Nature* **1993**, 365, 566-568.

⁵⁴ Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Buchardt, O. *Bioconjugate Chem.* **1994**, 5, 3-7.

⁵⁵ Demidov, V. V.; Potaman, V. N.; Frank-Kamenetskii, M. D.; Egholm, M.; Buchardt, O.; Sonnichsen, S. H.; Nielsen, P. E. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 48, 1310-1313.

⁵⁶ a) Wittung, P.; Kajanus, J.; Edwards, K.; Nielsen, P. E.; Norden, B.; Malmström, B. G. *FEBS Letters* **1995**, 365, 27-29. b) Bonham, M. A.; Brown, S.; Boyd, A. L.; Brown, P. H.; Bruckenstein, D. A.; Hanvey, J. C.; Thomson, S. A.; Pipe, A.; Hassman,

Il est à noter qu'un *N*-aminopeptide possède un groupement amine directement lié à l'atome d'azote du lien peptidique (figure 9). La présence d'un groupe fonctionnalisable lié au squelette du pseudopeptide permet alors d'envisager une fonctionnalisation de celui-ci dans le but de former de nouveaux PNA, le groupe fonctionnel amine permettant l'ancrage d'un motif nucléotidique.

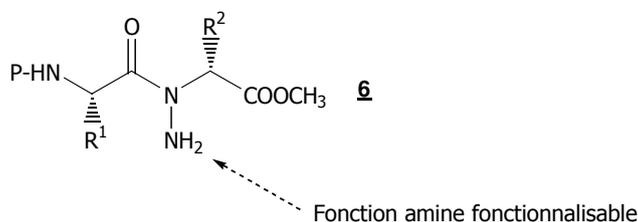


Figure 9

L'originalité du projet visant à utiliser un pseudopeptide de type *N*-aminopeptide comme squelette de base de nouveaux PNA est double :

- d'une part, contrairement aux composés généralement décrits et utilisés dans le domaine des PNA, les unités pseudopeptidiques envisagées sont porteuses de centres asymétriques qui pourront influencer la structuration de l'oligomère en solution.

- d'autre part, la présence de chaînes latérales (R^1 , R^2 ...) devrait permettre une modulation de la balance hydrophobie/hydrophilie de l'oligomère.

Pour réaliser le couplage du pseudopeptide avec la nucléobase, nous nous sommes inspirés de modes opératoires décrits dans le cadre de la synthèse de PNA. La première voie consiste en un couplage direct avec une base carboxyméthylée⁵⁷. La seconde voie se déroule en deux étapes : un couplage réalisé avec un halogénure d'halogénoacétyle ($XCOCH_2X$) auquel sera couplée par la suite la nucléobase⁵⁸.

Remarque : Pour la mise au point de la fonctionnalisation par la nucléobase, notre choix s'est porté sur la thymine car sa structure ne nécessite pas de protection particulière et est compatible avec les réactions envisagées.

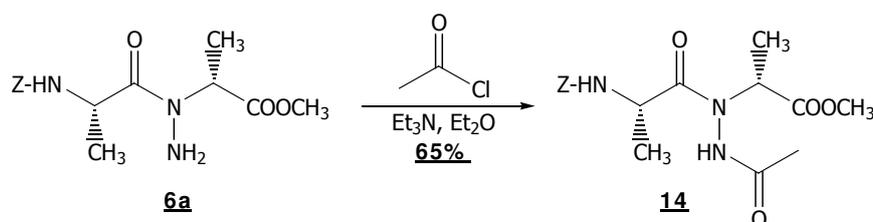
F.; Bisi, J. E.; Froehler, B. C.; Matteuci, M. D.; Wagner, R. W.; Noble, S. A.; Babiss, L. E. *Nucleic Acids Research* **1995**, *23*, 1197-1203.

⁵⁷ a) Dueholm, K. L.; Egholm, M.; Behrens, C.; Christensen, L.; Hansen, H. F.; Vulpius, T.; Petersen, K. H.; Berg, R. H.; Nielsen, P. E.; Buchardt, O. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5767-5773. b) Rabinowitz, J. L.; Gurin, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 5758-5759. c) Thomson, S. A.; Josey, J. A.; Cadilla, R.; Gaul, M. D.; Hassman, C. F.; Luzzio, M. J.; Pipe, A. J.; Reed, K. L.; Ricca, D. J.; Wieth R. W.; Noble, S. A. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6179-6194. d) Will, D. W.; Breipohl, G.; Langner, D.; Knolle, J.; Uhlmann, E. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 12069-12082. e) Richter, L. S.; Zuckermann, R. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 1159-1162. f) Wu, Y.; Xu, J.-C. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8107-8113.

⁵⁸ a) Uhlmann, E.; Peyman, A.; Breipohl, G.; Will, D. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2796-2823. b) Meltzer, P. C.; Liang, A. Y.; Matsudaira, P. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4305-4308.

V.2. Etude préliminaire : Accrochage du motif acétyle.

Dans un premier temps, nous avons voulu savoir si la fonction amine des pseudodipeptides de type *N*-aminoamides était suffisamment nucléophile pour être fonctionnalisée. Nous avons donc cherché à la faire réagir avec un chlorure d'acyle : le chlorure d'acétyle (schéma 41).



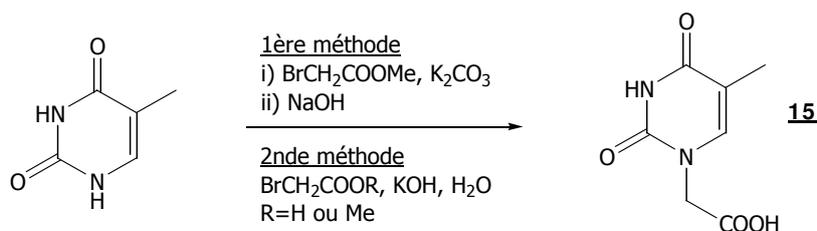
Ce premier essai ayant donné un résultat prometteur, les études de fonctionnalisation du groupement amine des composés **6** ont été poursuivies.

V.3. Synthèse de *N*-aminodipeptides fonctionnalisés.

V.3.1. *Via* l'acide thyminylacétique.

Deux voies de synthèse de l'acide thyminylacétique **15** ont été testées⁵⁷ (schéma 42). La première a lieu en deux étapes, procédant par substitution nucléophile sur le bromoacétate de méthyle suivi d'une saponification de l'ester méthyle. La seconde utilise, quant à elle, directement l'acide bromoacétique.

La deuxième voie de synthèse de l'acide thyminylacétique **15** peut être menée indifféremment à partir de l'acide bromoacétique ou du bromoacétate de méthyle (la saponification de l'ester se faisant alors *in situ*) puisque que l'on travaille en milieu basique.



La première voie de synthèse a été conduite dans différents solvants, mais après la première étape, l'ester méthylique de la thymine n'a pu être isolé avec un rendement satisfaisant (15%), contrairement aux données de la littérature.

Devant ces faibles rendements, nous nous sommes orientés vers le second mode opératoire existant. L'utilisation de l'acide bromoacétique en présence de potasse aqueuse a permis d'isoler le composé **15** recherché avec un rendement de 45%.

Cette réaction ne consistant pas une étape clé du projet, nous n'avons pas cherché à optimiser le rendement.

Différents agents de couplage pour greffer la nucléobase carboxyméthylée sur le squelette pseudopeptidique ont été décrits⁵⁷.

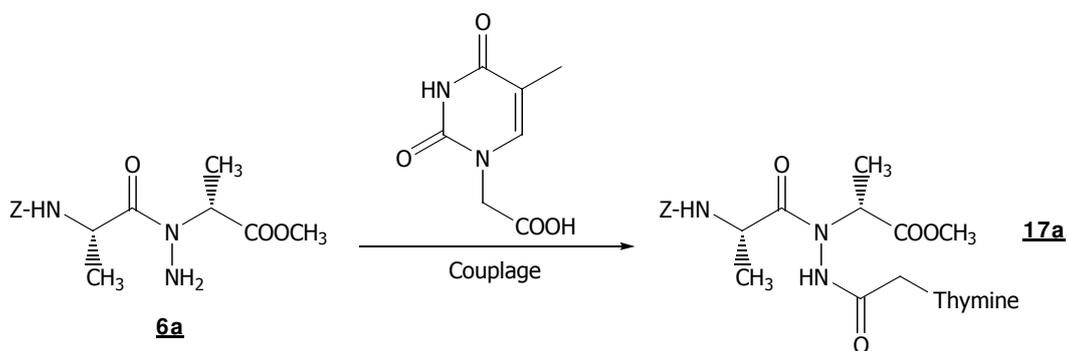


Schéma 43

Nous avons testé deux agents de couplage différents (DCC/DhBtOH et DCC/HOAt), mais les réactions n'ont pas permis d'obtenir les pseudodipeptides fonctionnalisés, nous récupérons systématiquement le pseudodipeptide de départ. Compte tenu de la faible réactivité de la fonction amine des composés **6** dans les conditions envisagées, nous nous sommes tournés vers la seconde stratégie, à savoir la fonctionnalisation *via* un halogénure d'halogénoacétyle.

V.3.2. *Via* un halogénure d'halogénoacétyle.

La seconde stratégie envisagée dans le but du greffage de la nucléobase azotée consiste à fonctionnaliser dans un premier temps le groupement amine du lien pseudopeptidique par un groupe fonctionnel (schéma 44).

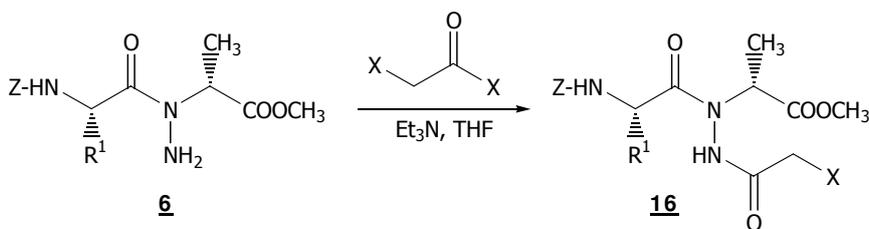


Schéma 44

Les conditions opératoires ainsi que les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 11 :

Essai	R ¹	X	Rendement % ^a
1	CH ₃	Cl	16a 0
2	CH ₃	Br	16b 65
3	CH ₂ Ph	Br	16c 78

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **6**.

Tableau 11

L'utilisation du chlorure de chloroacétyle n'a pas permis d'isoler le produit **16a** mais a toujours conduit à la récupération du produit de départ **6**.

Par contre, l'utilisation du bromure de bromoacétyle dans le THF en présence de triéthylamine nous a permis d'isoler les composé **16b** et **16c** recherchés avec des rendements satisfaisants.

A partir de **16**, la seconde étape consiste à greffer la thymine par substitution nucléophile (schéma 45).

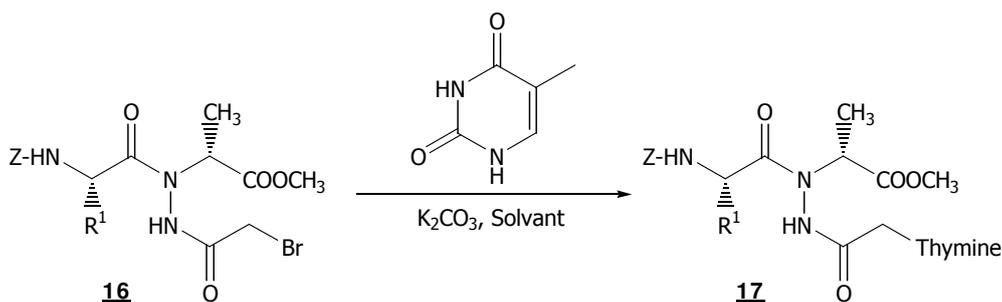


Schéma 45

Nous avons utilisé dans un premier temps le solvant préconisé pour des réactions similaires dans la littérature, à savoir le DMF⁵⁸ et nous avons ainsi pu isoler le produit recherché **17a** (R¹=CH₃) avec un rendement de 45%.

Dans la mesure où cette étape est déterminante pour l'obtention de PNA, nous avons cette fois tenté d'améliorer le rendement en changeant de solvant. La réaction a été reproduite en utilisant l'acétone. Les composés **17a** et **17b** ont alors pu être isolés avec des rendements satisfaisants de 82% et 86% (tableau 12).

Essai	R ¹	Solvant	Rendement % ^a
1	CH ₃	DMF	17a 45
2	CH ₃	Acétone	17a 82
3	CH ₂ Ph	Acétone	17b 86

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **16**.

Tableau 12

V.4. Conclusions.

Les PNAs sont des composés potentiellement intéressants en tant qu'agents thérapeutiques. Au cours de ce paragraphe, nous avons exposé différentes méthodes de synthèse qui nous ont permis de mettre au point de nouveaux synthons fonctionnalisés par une nucléobase azotée. Cette étude n'est que le début d'une étude plus approfondie qui consistera à adapter ces conditions opératoires aux autres nucléobases azotées.

VI. Synthèses de N-aminodipeptides diversement substitués : Conclusions.

Au début de ce chapitre, nous avons trois objectifs :

- la synthèse de N-aminodipeptides diversement protégés et substitués de façon à pouvoir les oligomériser sur phase solide,
- la mise au point d'une nouvelle méthode de synthèse ne faisant pas intervenir de dérivés d'acides aminés phtaloylés,
- la transposition de ces deux méthodes sur phase solide.

Tout au long de ce chapitre nous avons décrit les stratégies employées afin d'atteindre ces objectifs.

Nous avons montré que la méthode de transprotection du groupement phtalimide en groupement Boc mise au point sur les α -hydrazinoesters était applicable dans le cas des N-aminodipeptides.

L'utilisation d'un motif hydrazone nous a permis d'obtenir des synthons N-aminopeptidiques sans faire intervenir le groupement phtalimide incompatible avec l'oligomérisation sur phase solide.

Enfin, la transposition de ces méthodes de synthèse sur phase solide a été réalisée avec succès. Ces méthodes nous ont permis de synthétiser beaucoup plus rapidement toute une librairie de N-aminodipeptides.

Un point important de ce chapitre réside dans la mise au point d'une méthode de synthèse de nouveaux synthons PNAs, qui diffèrent de ceux existant à l'heure actuelle par la possibilité de faire varier la balance hydrophobie/hydrophilie grâce à la présence des chaînes latérales des acides aminés.

Chapitre II : Oligomérisation de
N-aminodipeptides en phase liquide et sur
phase solide.

I. Introduction : les différentes stratégies d'oligomérisation.

Dans le but d'oligomériser les synthons obtenus par les méthodes mises au point au premier chapitre, deux possibilités étaient envisageables :

- l'oligomérisation en phase liquide¹,
- l'oligomérisation sur phase solide².

Ces deux méthodes ont largement été exploitées pour la synthèse d'oligomères pseudopeptidiques, les avantages et les inconvénients étant les mêmes que ceux rencontrés lors de la synthèse peptidique classique.

I.1. Oligomérisation en phase liquide.

Chaque réaction d'oligomérisation consiste en une succession d'étapes de déprotection, d'activation et de couplage (figure 10) :

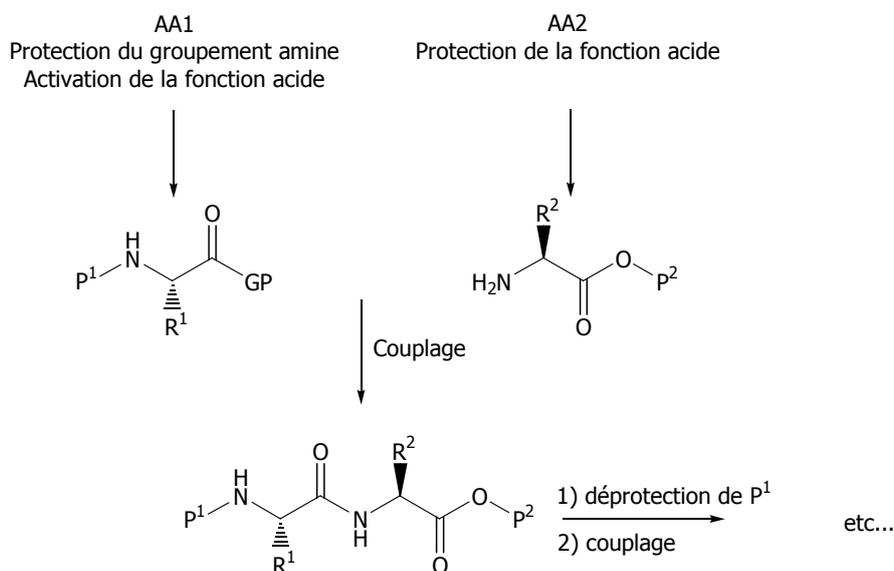


Figure 10 : oligomérisation en phase liquide.

¹ a) Cheguillaume, A.; Salaün, A.; Sinbandhit, S.; Potel, M.; Gall, P.; Baudy-Floc'h, M.; Le Grel, P. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4923-4929. b) Angelici, G.; Luppi, G.; Kaptein, B.; Broxterman, Q. B.; Hofmann, H.-J.; Tomasini, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 2713-2721. c) Luppi, G.; Galeazzi, R.; Garavelli, M.; Formaggio, F.; Tomasini, C. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 2181-2187.

² a) Guichard, G.; Semetey, V.; Rodriguez, M.; Briand, J.-P. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 1553-1557. b) De Jong, R.; Rijkers, D. T. S.; Liskamp, R. M. J. *Helv. Chem. Acta* **2002**, 85, 4230-4243. c) Lee, M.-R.; Lee, J.; Baek, B.-H.; Shin, I. *Synlett* **2003**, 3, 325-328.

Le choix d'une stratégie d'oligomérisation en phase liquide représente la solution la plus facilement contrôlable pour obtenir des oligomères pseudopeptidiques. En effet, chaque étape de la synthèse peut être suivie par CCM et chaque produit intermédiaire est purifié et caractérisé. Ainsi, le produit final est obtenu avec certitude et la méthode peut être utilisée pour l'obtention de grandes quantités.

La synthèse en phase liquide présente cependant quelques inconvénients. Si le peptide à synthétiser possède un grand nombre d'acides aminés, la solubilité du composé dans les solvants organiques usuels devient très vite une barrière à l'efficacité du couplage peptidique. De plus, les étapes de purifications intermédiaires, souvent effectuées sur colonne chromatographique, sont longues à mettre en œuvre.

La synthèse en phase liquide représente donc une solution attrayante pour l'obtention de petits oligomères.

I.2. Oligomérisation sur phase solide.

Depuis son introduction en 1963 par Merrifield³, la synthèse sur phase solide a considérablement reculé les limites de la synthèse peptidique jusqu'alors réalisée en phase homogène. Merrifield a eu l'idée d'ancrer le premier acide aminé sur une matrice polymère insoluble. Ce nouveau mode de synthèse permettait donc d'éviter les réactions indésirables puisqu'avec l'immobilisation d'un des partenaires sur la phase solide, une seule fonction d'un acide aminé est disponible pour le couplage. Un autre avantage de l'ancrage d'un acide aminé sur un polymère insoluble réside dans l'utilisation d'un excès de réactif en solution qui n'est plus dès lors considéré comme une impureté pour le produit final. Cela permet d'obtenir des rendements de couplage proches de 100%.

L'avancée réalisée par la chimie peptidique sur phase solide a conduit au développement de nombreux supports solides, ainsi qu'à de nouvelles chimies pour l'activation et la protection des acides aminés. Actuellement, deux grandes stratégies sont utilisées pour la synthèse peptidique sur phase solide. Elles se différencient par la nature et le mode de déprotection des groupements protecteurs temporaires portés par l'extrémité N-terminale :

- la stratégie Fmoc/tBu (déprotection en milieu basique, décrochage final au TFA),
- la stratégie Boc/Bzl (déprotection en milieu acide faible, décrochage final par un acide fort).

La stratégie Fmoc/tBu est la plus utilisée car la coupure finale du peptide sur support solide utilise le TFA concentré alors que la stratégie Boc/Bzl nécessite l'utilisation d'acides plus forts comme l'acide

³ Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.

trifluorométhanesulfonique (TFMSA)⁴, le trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle (TMSOTf)⁵ ou le fluorure d'hydrogène (HF)⁶.

L'avantage sûrement le plus significatif de la synthèse en phase solide, est que toutes les étapes de purification entre chaque couplage sont supprimées puisque le peptide en croissance reste accroché sur le polymère insoluble, jusqu'au décrochage final. Les seules phases de purifications entre les étapes se limitent donc à de simples lavages, d'où un gain de temps considérable. En fin de synthèse, le peptide est alors décroché du polymère par coupure chimique avant d'être purifié, le plus souvent par HPLC.

Le principal inconvénient lorsque l'on effectue une réaction de synthèse sur phase solide est le suivi réactionnel. Des tests colorimétriques qualitatifs⁷ ont été mis au point afin d'évaluer l'efficacité d'un couplage ou d'une déprotection. Dans le cas de l'oligomérisation de synthons *N*-aminopeptidiques, les extrémités *N*- et *C*-terminales sont comparables à celles d'un acide aminé naturel, les tests colorimétriques devaient pouvoir être applicables. Cependant, ces tests ne sont pas quantitatifs. Ils ne garantissent pas une réaction totale, d'où un risque de délétion partielle.

Le gain de temps de cette méthode et l'inconvénient de la cyclisation instantanée en dicétopipérazine des *N*-aminodipeptides déprotégés à l'extrémité *N*-terminale nous ont incités à synthétiser des [α -*N*-amino]mères diversement substitués par une stratégie de synthèse sur phase solide. Ces composés seront ensuite soumis à différentes études structurales (voir chapitre III) afin de savoir s'ils peuvent être classés dans la catégorie des foldamères.

Pour synthétiser le squelette pseudopeptidique, nous avons choisi de réaliser un couplage peptidique "classique" entre les monomères *N*-aminodipeptidiques dans le but de former des [α -*N*-amino]mères possédant une alternance de liens amide et de liens *N*-aminoamide. La structure de l'oligomère ainsi constitué est représentée sur la figure 11.

⁴ a) Yajima, H.; Fujii, N.; Ogawa, H.; Kawatani, H. *J. Chem. Soc. Chem. Com.* **1974**, 107-108. b) Yajima, H.; Fujii, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 5867-5871. c) Tam, J. P.; Heath, W. F.; Merrieffield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 5242-5251.

⁵ a) Noyori, R.; Murata, S.; Suzuki, M. *Tetrahedron* **1981**, 37, 3899-3910. b) Ono, S.; Kiyama, S.; Futaki, S.; Nakamura, T.; Taike, T.; Akita, T.; Sumi, S.; Inoue, K.; Fujimura, M.; Tobe, T.; Yajima, H. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1989**, 33, 29-38.

⁶ Pennington, M. W. *Methods in Molecular Biology* **1994**, 35, 41-62.

⁷ a) Hancock, W. S.; Battersby, J. E. *Analytical Biochemistry* **1976**, 71, 260-264. b) Christensen, T. *Peptides Structure and Biological Function*; Pierce Chemical Co: Rockford, 1979. c) Kaiser, E.; Colecott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. *Analytical Biochemistry* **1970**, 34, 595-598.

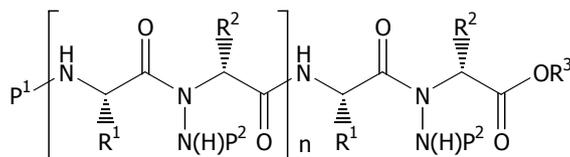


Figure 11 : formule d'un [α -*N*-amino]mère.

Le plan de ce chapitre s'articule en deux parties :

- une étude préliminaire de couplage en solution qui nous permettra de savoir si un couplage peptidique classique est possible entre deux unités *N*-aminodipeptidiques,
- la mise au point de stratégies d'oligomérisation sur phase solide afin d'obtenir des [α -*N*-amino]mères différenciés par la nature de leur groupement P².

II. Etude préliminaire en solution.

Afin de vérifier la faisabilité de l'oligomérisation, il était nécessaire d'effectuer une étude préliminaire en solution pour savoir si les extrémités *C*- et *N*-terminales de deux *N*-aminodipeptides pouvaient réagir entre elles dans des conditions de couplage peptidique classiques. Nous avons donc étudié dans un premier temps la déprotection de ces fonctions.

II.1. Déprotection de l'extrémité *C*-terminale.

Une étude systématique menée récemment au laboratoire⁸ (variation de la base, du solvant et des protocoles d'extractions) sur les α -hydrazinoesters a permis de déterminer les conditions optimales de saponification de l'extrémité *C*-terminale, que nous avons appliquées aux *N*-aminodipeptides. Ces conditions, mettant en jeu l'hydroxyde de lithium comme base dans un mélange eau-THF, ont été appliquées à différents substrats (schéma 46 et tableau 13).

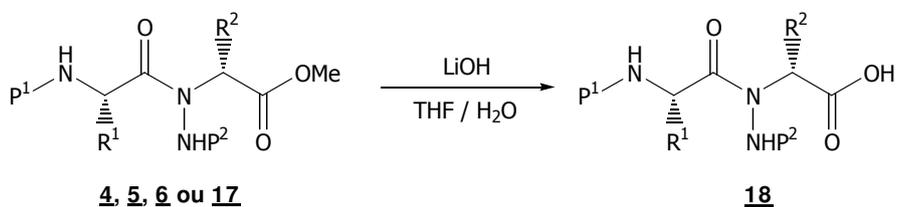


Schéma 46

⁸ Bouillon, I., thèse d'état (Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy) 2006.

Essais		R ¹	R ²	P ²	Rendement % ^a
5a	P ¹ =Z	CH ₃	CH ₃	Boc	18a 92
5e		CH ₃	H	Boc	18b 99
6c		CH ₂ Ph	CH ₃	H	18c 85
17a		CH ₃	CH ₃	COCH ₂ Thymine	18d 75
17b		CH ₂ Ph	CH ₃	COCH ₂ Thymine	18e 70
5g	P ¹ =Boc	CH ₂ Ph	CH ₃	Boc	18f 75
4a		CH ₂ Ph	CH ₃	PCB	18g 98
4b		CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	PCB	18h 100

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir du produit de départ **4**, **5**, **6** ou **17**.

Tableau 13

Les rendements en produits **18** sont bons et démontrent que la réaction de saponification de la fonction ester méthylique des composés **4**, **5**, **6** et **17** est possible dans de bonnes conditions, quelle que soit la nature du groupement porté par l'azote latéral, l'encombrement stérique des chaînes latérales ou encore la nature de la protection *N*-terminale.

II.2. Déprotection de l'extrémité *N*-terminale.

Plusieurs méthodes de déprotection de la fonction Z ont été décrites⁹ et notre choix s'est porté sur une hydrogénolyse en présence de catalyseur^{9c-d} (Pd/C) car celle-ci peut être mise en œuvre dans des conditions douces compatibles avec les autres protections portées par nos composés **5** (schéma 47).

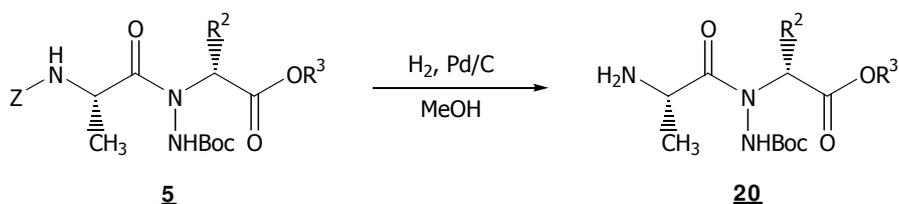


Schéma 47

⁹ a) Ben-Ishai, D.; Berger, A. *J. Org. Chem.* **1952**, 17, 1564-1570. b) Mc Kay, F. C.; Albertson, N. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4686-4690. c) Bergmann, M.; Zervas, L. *Ber. dtsh. Chem. Ges.* **1932**, 65, 1192-1201. d) Rosenmund, K. W.; Zetzsche, F.; Heise, F. *Ber. dtsh. Chem. Ges.* **1921**, 54, 2038-2042.

II.2.1. Etude préliminaire.

Une étude préliminaire a été réalisée à partir du composé **5a**. Ce dernier, placé dans les conditions d'hydrogénolyse, ne conduit pas au produit attendu mais à l'équivalent de la dicétopipérazine correspondante **19a** avec un rendement quantitatif (schéma 48).

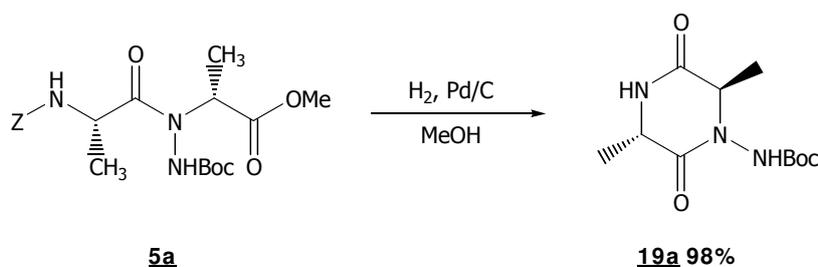


Schéma 48

Il est à souligner que d'après les données de la littérature, le dipeptide HAlaAlaOMe est isolable, sa cyclisation en dicétopipérazine n'étant possible qu'à haute température¹⁰ (schéma 49).

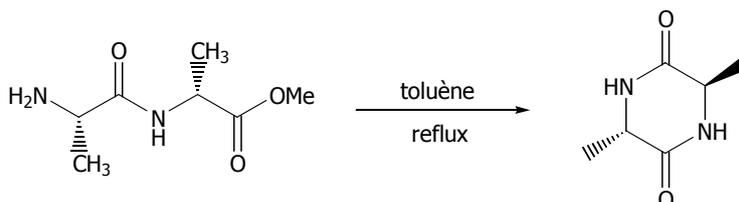


Schéma 49

On peut donc supposer que la présence du motif NHBoc lié à l'atome d'azote du lien peptidique pourrait favoriser cette réaction de cyclisation.

Le comportement chimique du composé **5a** est à rapprocher de celui des dipeptides *N*-méthylés dont l'aptitude à la cyclisation en dicétopipérazine a été décrite¹¹ et est attribuée à une stabilité plus importante du lien amide cis comparée à un lien peptidique classique.

De la même façon, nous pouvons suggérer que la présence d'un groupement NHBoc lié au lien amide des composés **5a** tendrait, par son encombrement stérique, à favoriser la conformation cis, facilitant ainsi la cyclisation en dicétopipérazine **19a** (schéma 50).

¹⁰ Naraoka, H.; Harada, K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1986**, 1557-1560.

¹¹ Jones, J. *The Chemical Synthesis of Peptides* Clarendon Press Oxford **1994**.

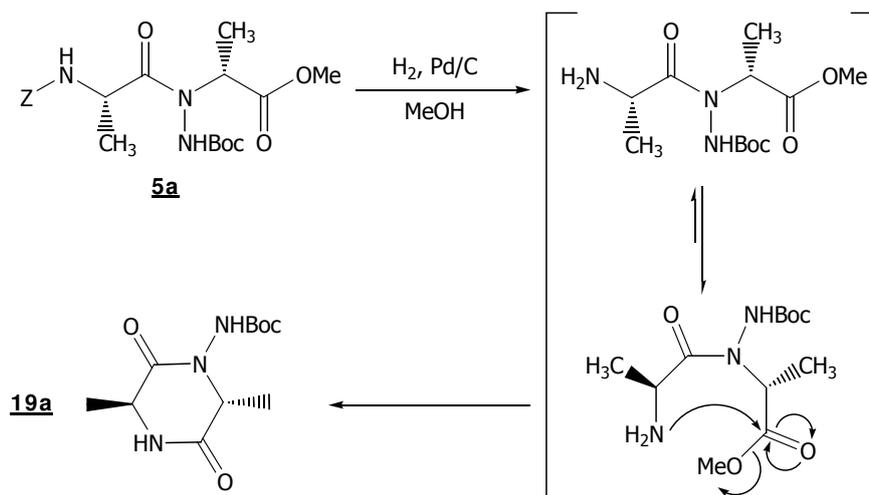


Schéma 50

II.2.2. Etude complémentaire.

Pour déterminer l'origine de la formation des dicétopipérazines **19** et afin d'éviter cette réaction secondaire indésirable nous avons étudié l'influence de la configuration absolue du carbone asymétrique de l'unité C-terminale ainsi que la nature du groupement ester et des chaînes latérales (R^1 et R^2). Les résultats sont présentés par le schéma 51 figurent dans le tableau 14 :

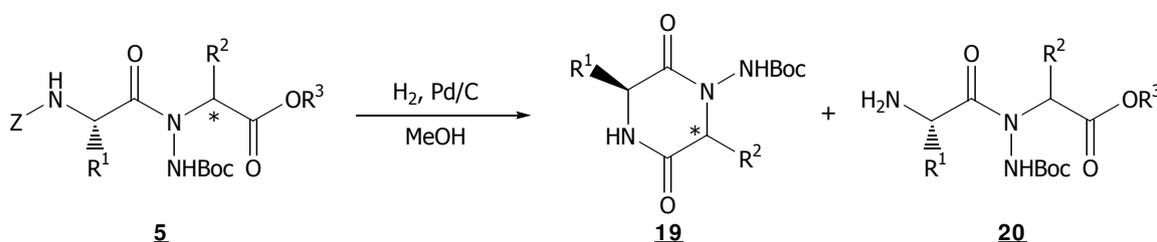


Schéma 51

Essais	Configuration	R^2	R^3	Rendement % ^a	Rendement% ^a
1 5a	<i>R</i>	CH ₃	CH ₃	19a 98	20a 0
2 5b	<i>S</i>	CH ₃	CH ₃	19b 98	20b 0
3 5c	<i>R</i>	CH ₃	CH ₂ CH ₃	19a 90	20c 0
4 5d	<i>R</i>	CH ₃	C(CH ₃) ₃	19a 0	20d 30
5 5e	<i>R</i>	H	CH ₃	19e 99	20e 0
6 5f	<i>R</i>	CH ₂ Ph	CH ₃	19f 99	20f 0

a : rendement en produit isolé pur calculé à partir de **5**.

Tableau 14

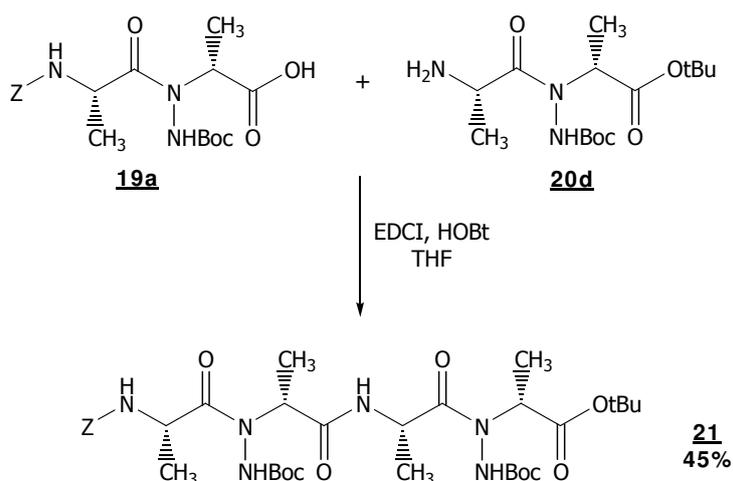
Il ressort de cette étude que la nature de la configuration absolue du carbone asymétrique n'empêche pas la formation de la dicétopipérazine. Cependant, nous avons pu constater que la cyclisation se faisait plus lentement pour un pseudodipeptide de configuration (*S,S*) que pour le composé (*S,R*) correspondant, la réaction restant quantitative.

Lorsque le résidu alanine ($R^2=CH_3$) est remplacé par une glycine ($R^2=H$) la cyclisation se fait tout aussi bien. Ce résultat était prévisible car une diminution de l'encombrement stérique aux abords de la fonction ester favorise l'attaque nucléophile de la fonction amine.

Il est bien connu en synthèse peptidique sur phase solide que l'utilisation de résine dont le « linker » est particulièrement encombré (2-chlorotriptyle par exemple), diminue, voire supprime la formation de dicétopipérazine. Nous avons donc réalisé deux essais supplémentaires en augmentant progressivement l'encombrement de la fonction ester. Ainsi, l'utilisation d'un ester éthylique ($R^3=Et$) conduit toujours à la formation quasi-quantitative du produit cyclique, mais celle-ci peut être évitée par l'utilisation d'un ester *tert*-butylique ($R^3=tBu$). Dans ce dernier cas, le produit souhaité a pu être isolé avec un rendement de 30%, accompagné d'un mélange de sous-produits que nous n'avons pas réussi à séparer par chromatographie.

II.3. Couplage des deux unités pseudopeptidiques.

Les deux pseudodipeptides déprotégés ont été placés dans des conditions de couplage peptidique classiques afin de déterminer si une oligomérisation était possible (schéma 52). Le choix de l'agent de couplage s'est porté sur un carbodiimide hydrosoluble car l'urée produite est soluble en milieu aqueux contrairement carbodiimides classiques, ce qui permet de l'éliminer facilement par extraction. Ce mode de couplage peut également être appliqué en phase solide.



Dans ces conditions, le produit recherché **21** est obtenu avec un rendement non optimisé de 45%. Dans nos futurs travaux, des doubles couplages seront testés afin d'améliorer ce rendement.

II.4. Conclusions.

Comme nous l'avions espéré, les deux « monomères » placés dans des conditions de couplage peptidique classique, nous ont permis d'obtenir un premier oligomère à squelette pseudopeptidique, possédant une alternance de liaison amide et de liaison N-aminopeptidique.

Au cours de cette étude préliminaire, nous avons cependant été confrontés à un problème récurrent : la cyclisation des N-aminodipeptides déprotégés sur leur extrémité N-terminale en dicétopipérazine correspondante. Afin de nous affranchir de ce problème, nous avons choisi d'effectuer les autres essais d'oligomérisation sur phase solide, puisque chaque « monomère » sera lié par une liaison amide non labile.

III. Oligomérisation des unités N-aminodipeptidiques sur phase solide.

III.1. Choix des synthons, choix des résines.

III.1.1. Choix des synthons.

L'objectif de ce travail de thèse consiste à obtenir des molécules susceptibles de s'autostructurer en solution, grâce à l'établissement de liaisons non covalentes de type liaisons hydrogène ou π -stacking. Dans le but d'augmenter les chances de structuration, les synthons à oligomériser devront posséder des groupements donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, ainsi que des électrons π .

Notre choix s'est donc porté sur un N-aminodipeptide de formule $P^1\text{-Phe}_\psi[\text{CON}(\text{H})\text{P}^2]\text{Ala-OH}$, qui possède *a priori* toutes les caractéristiques requises (figure 12).

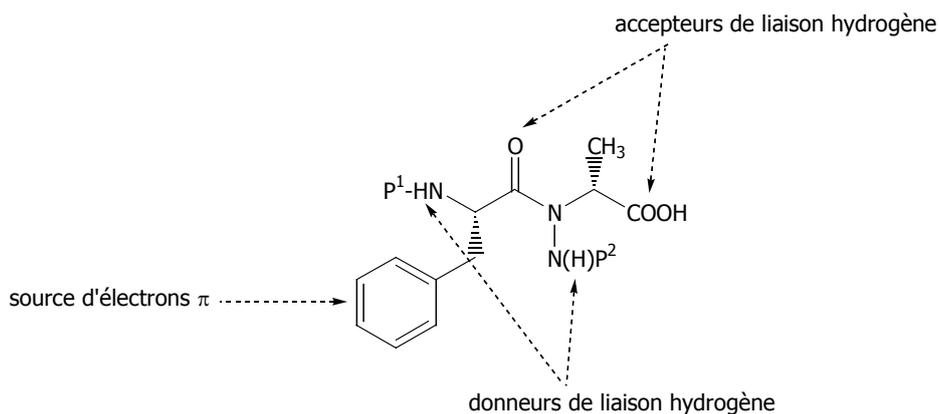


Figure 12 : formule du synthon choisi pour l'oligomérisation de *N*-aminodipeptides.

Toute la difficulté de ce projet réside dans la présence de trois fonctions réactives sur le *N*-aminodipeptide soumis à l'oligomérisation. Aussi, les deux fonctions amines et la fonction acide de l'extrémité *C*-terminale doivent être impérativement protégées de façon orthogonale. La nature des protections sera déterminée en fonction de la stratégie choisie pour l'oligomérisation sur phase solide (Boc, Z ou Fmoc).

III.1.2. Choix des résines.

Comme nous l'avons mentionné au début de ce paragraphe, la synthèse peptidique sur phase solide présente de nombreux avantages par rapport à la synthèse en solution, mais elle possède cependant un désavantage majeur dans le domaine du suivi de réaction.

Lors de l'oligomérisation du composé choisi, toutes les unités rajoutées sont identiques. Afin de connaître rapidement par analyse RMN ^1H le nombre de synthons réellement couplés, nous avons choisi d'effectuer les essais d'oligomérisation sur des résines déjà fonctionnalisées par un acide aminé de type leucine. Les déplacements chimiques des protons δ de la leucine sont compris dans l'intervalle [0,7-0,9 ppm] à l'intérieur duquel on ne trouve aucun proton de notre synthon de départ. On peut ainsi connaître par intégration le nombre d'unités *N*-aminodipeptidiques accrochées sur la leucine (figure 13).

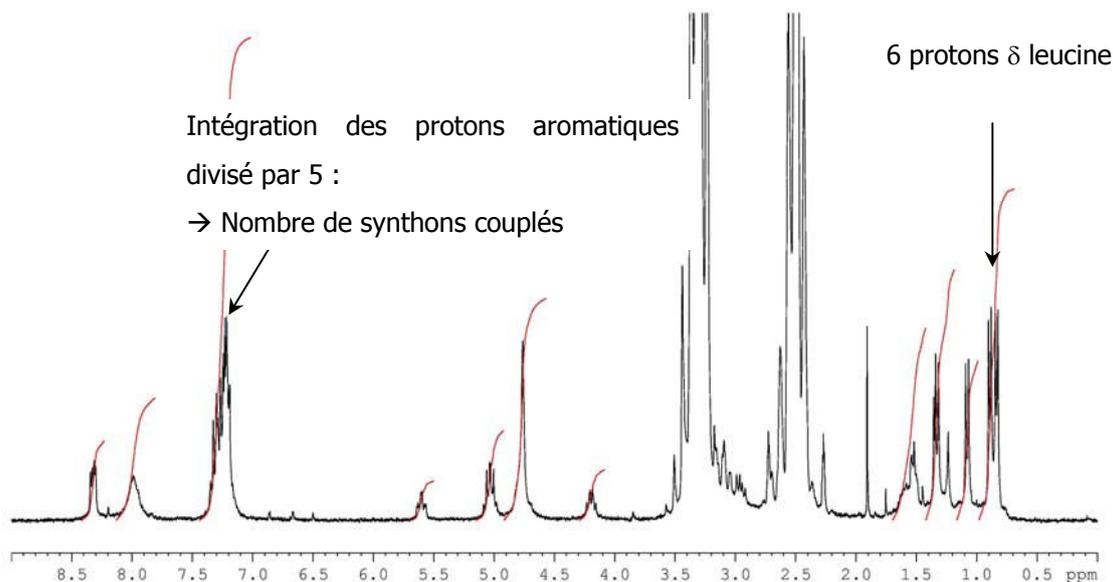


Figure 13 : utilisation de la leucine comme sonde interne en RMN ^1H .

En fonction de la stratégie (Boc, Fmoc ou Z) et de la nature de l'oligomère à synthétiser, nous avons donc choisi des résines fonctionnalisées par une leucine.

Il existe d'autres avantages liés à l'utilisation d'une résine commerciale fonctionnalisée :

- la connaissance du taux de fonctionnalisation permet de réaliser des synthèses dans des conditions parfaitement rigoureuses quant à la quantité de chaque composant utilisé,
- l'immobilisation de l'extrémité *C*-terminale du *N*-aminopeptide dans un lien amide avec le premier acide aminé fixé sur la résine empêche la réaction de cyclisation en dicétopipérazine (schéma 53).

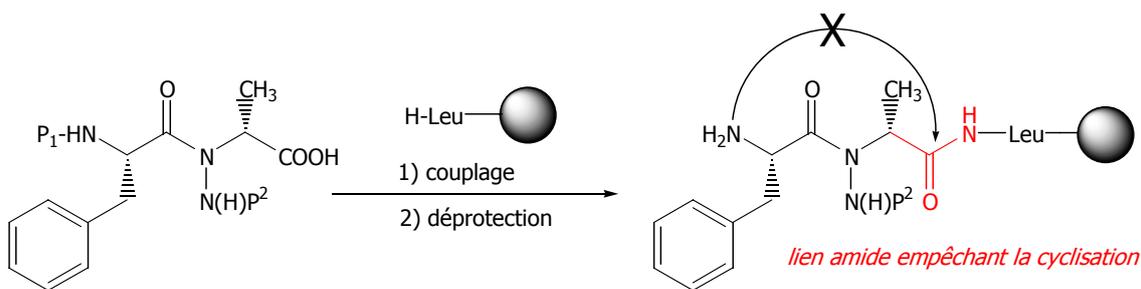


Schéma 53

D'une manière générale, toutes les résines utilisées pour la synthèse peptidique sur phase solide sont organisées de la même façon. On peut ainsi décomposer le support solide en trois zones (figure 14) :

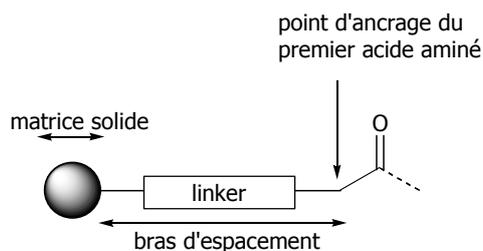


Figure 14 : schéma général d'une résine de synthèse peptidique sur phase solide (SPPS).

La matrice solide est un polymère (principalement du polystyrène) réticulé par 1 ou 2% de divinylbenzène, insoluble dans les solvants organiques. Cette matrice solide, qui représente le constituant principal de la résine, est commune à nombre de résines utilisées pour la synthèse peptidique sur phase solide.

Le second domaine constitue l'une des deux zones de différenciation des familles de résines. Le bras d'espacement ou « linker » est un groupement de longueur et d'encombrement stérique variables, et qui détermine souvent la nature de la fonction C-terminale (acide, amide, etc...)

Cette diversité résulte de la nature du point d'ancrage du linker. La nature chimique du groupement qui servira d'ancrage au premier acide aminé détermine le mode de coupure de la molécule finale synthétisée sur support solide.

Au cours de notre étude, nous avons utilisé trois résines différentes. Leurs caractéristiques sont rassemblées dans le tableau 15 :

Résine	Bras d'espacement	Stratégie et clivage
PAM		Boc. Coupure par TFMSA ou TMSOTf.
Oxime		Boc. Synthèse de peptides protégés. Coupure par un nucléophile.
WANG		Fmoc. Coupure par TFA.

Tableau 15

Remarque : Les résines oximes fonctionnalisées ne sont pas commerciales. Afin de réaliser les réactions d'oligomérisation de façon rigoureuse, le premier acide aminé (Fmoc-Leu-OH) a été fixé sur la résine par une réaction de couplage impliquant du DIC et une quantité catalytique de DMAP¹². Le taux de substitution réel en début de synthèse a été évalué par spectroscopie selon une méthode décrite dans la littérature¹³.

$$\text{Taux de substitution : mmole/g} = (\text{Abs}_{\text{échantillon}} - \text{Abs}_{\text{réf}}) \times 16.4 / \text{mg de résine}$$

Où : - $\text{Abs}_{\text{échantillon}}$ est la valeur de la densité optique d'un échantillon à 304 nm,
- $\text{Abs}_{\text{réf}}$ est la valeur de la densité optique d'une solution témoin à 304 nm.

Lorsque le taux de substitution est supérieur à 70%, les sites oxime non substitués sont bloqués par acétylation avec un mélange contenant de l'anhydride acétique et de la DIEA dans la DMF. Cette étape sert à ajuster les quantités de chaque composant utilisé pour la suite de la synthèse.

Nous allons exposer dans la suite de ce chapitre les différentes stratégies mises en œuvre pour l'obtention de $[\alpha\text{-}N\text{-amino}]$ mères diversement substitués.

III.2. Synthèse de $[\alpha\text{-}N\text{-amino}]$ mères phthaloylés.

La première stratégie de synthèse de $[\alpha\text{-}N\text{-amino}]$ mères que nous avons développée visait à obtenir des oligomères protégés sur l'amine latérale par le groupement phthalimide.

Nous avons choisi d'hydrogénéolyser l'extrémité C-terminale d'un *N*-aminodipeptide phthaloylé protégé sous forme d'ester benzylique.

Les conditions opératoires et les résultats sont rassemblés dans le schéma 54 :

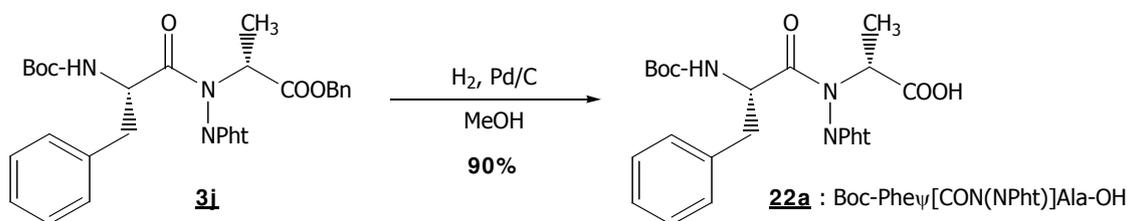


Schéma 54

¹² DeTar, D. L.; Silverstein, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 1020-1023.

¹³ Gude, M.; Ryf, J.; White, P. D. *Letts. Pept. Sci.* **2002**, 9, 203-206.

L'hydrogénolyse du composé **3j** a été réalisée dans de bonnes conditions qui nous ont permis d'obtenir le composé **22a** avec un rendement de 90%.

Le composé **22a** obtenu a été engagé dans une stratégie d'oligomérisation sur phase solide utilisant une résine classiquement utilisée lors de synthèse sur phase solide en stratégie Boc : Boc-Leu-PAM (schéma 55) :

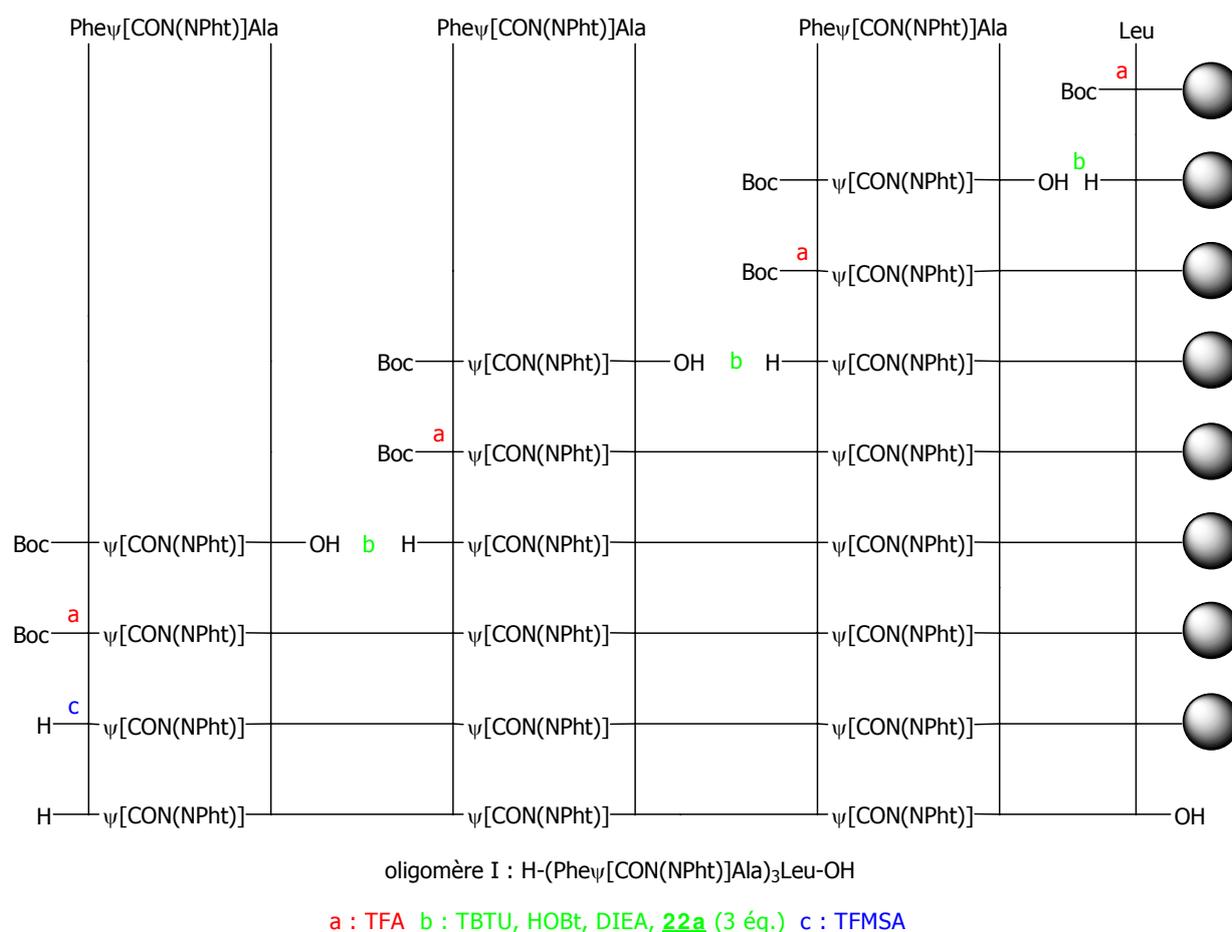


Schéma 55 : synthèse sur phase solide de l'oligomère I.

Nous avons choisi des conditions de couplage couramment utilisées en SPPS, à savoir le DMF comme solvant, la DIEA comme base et le couple TBTU/HOBt comme agent de couplage (l'utilisation d'hydroxybenzotriazole étant connue pour diminuer fortement le taux de racémisation lors des couplages¹⁴).

L'efficacité du couplage a été évaluée par un test au TNBSA. Si le test s'avérait négatif, le couplage était doublé.

La déprotection du groupement Boc est effectuée selon le protocole classique : TFA 100% pendant 1 minute puis TFA 100% pendant 3 minutes.

¹⁴ König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788-798.

Après décrochage du pseudopeptide de la résine par l'acide trifluorométhane sulfonique, l'examen des spectres RMN ^1H (1D et COSY) nous a donné plusieurs informations :

- les trois synthons se sont bien couplés sur la résine (présence de 7 tâches de corrélation correspondant aux 7 carbones α sur le spectre COSY).

- le groupement phtalimide est toujours présent, toutefois nous avons pu déterminer par intégration en RMN ^1H que la quantité de protons aromatiques correspondant au noyau phtalimide était insuffisante par rapport l'intégration des protons δ de la leucine.

Nous en avons déduit que le groupement phtalimide avait été partiellement déprotégé au cours du clivage. Les conditions mises en œuvre ne nous ont pas permis de synthétiser sur phase solide un oligomère totalement protégé sur l'amine latérale par le groupement phtalimide.

Remarque : Parallèlement à l'oligomérisation, le composé **3m** (Boc-Leu ψ [CON(NPht)]Gly-OBn) a été soumis aux mêmes conditions d'hydrogénolyse puis inséré dans une séquence peptidique présentant des propriétés inhibitrices du protéasome. Les conditions opératoires sont représentées dans le schéma 56 :

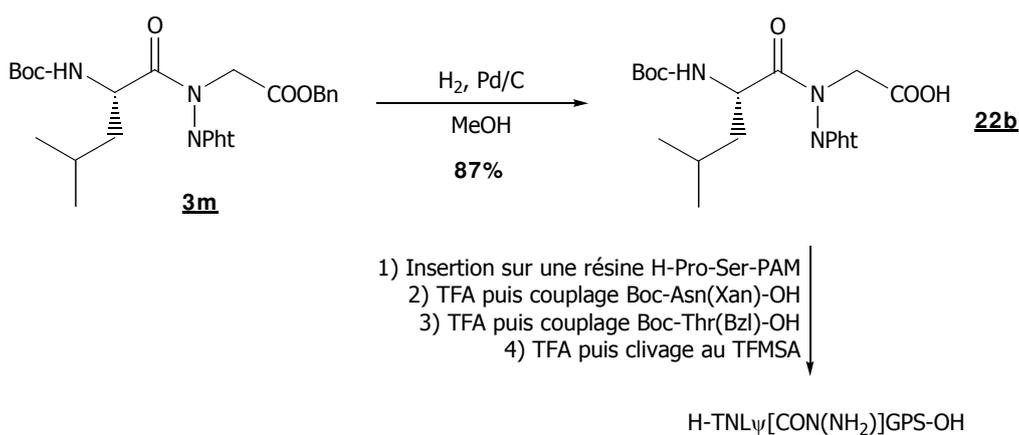


Schéma 56

Lors du décrochage final du composé dans les mêmes conditions que précédemment et après purification par HPLC, nous avons obtenu le pseudohexapeptide totalement déprotégé sur l'amine latérale (confirmé par l'analyse en spectrométrie de masse haute résolution). Par ailleurs, ce peptide s'est révélé être un inhibiteur de l'activité chymotrypsine-like du protéasome.

Ce résultat nous a conforté dans l'idée que le groupement phtalimide était au moins en partie labile en milieu acide. Ceci nous a incité à nous orienter vers la synthèse d'oligomères déprotégés sur l'amine latérale.

III.3. Synthèse de [α -N-amino]mères déprotégés sur l'amine latérale.

III.3.1. Utilisation de TMSOTf pour le décrochage final du pseudopeptide.

Suite aux observations effectuées lors de la synthèse de l'inhibiteur du protéasome et lors du décrochage de l'oligomère I, l'idée consistait à utiliser un agent de décrochage plus acide que le TFMSA pour déprotéger totalement tous les motifs phtalimides portés par les groupements N-aminoamides de l'oligomère I.

Le composé **22a** a donc été engagé dans une réaction d'oligomérisation sur phase solide utilisant une résine Boc-Leu-PAM identique à la stratégie décrite dans le schéma 55. Malgré l'utilisation de TMSOTf, l'analyse RMN ^1H a montré clairement la présence de protons aromatiques caractéristiques du groupement phtalimide. Nous n'avons pas été en mesure d'obtenir un [α -N-amino]mère totalement déprotégé sur l'ensemble des amines latérales.

Au vu de ces résultats, il apparaît évident que le groupement phtalimide est incompatible avec les conditions de synthèse sur phase solide que nous avons mises en oeuvre : il est partiellement déprotégé lorsque l'on veut le conserver intact sur la molécule, et nous sommes dans l'impossibilité de l'éliminer complètement lorsque cela est nécessaire.

Nous avons donc choisi de développer de nouvelles stratégies de synthèse sur phase solide visant à faciliter l'élimination du groupement phtalimide. Pour cela, deux solutions étaient envisageables :

- éliminer le groupement phtalimide de l'oligomère en mettant à profit la réaction de transprotection du groupement phtalimide en groupement Boc,
- éliminer le groupement phtalimide avant l'insertion du synthon N-aminodipeptidique sur la résine en utilisant les stratégies Fmoc/Boc et Boc/hydrazone décrites dans le chapitre I.

III.3.2. Mise à profit de la réaction de transprotection.

a) Transprotection sur phase solide.

Au cours du chapitre I, nous avons mis au point des conditions de synthèse sur phase solide de *N*-aminodipeptides. Lorsque nous avons exploré la voie 1 (chapitre I, IV.2), qui passait par l'accrochage sur la résine d'un motif anhydride triméllitique, la réaction de transprotection du groupement phtalimide en groupement Boc permettait le relargage du pseudodipeptide de la résine. Ces observations nous ont donc renseignés sur le fait que, malgré l'augmentation de l'encombrement stérique et la diminution de l'accessibilité des réactifs au sein des billes de résine, la réaction de transprotection pouvait avoir lieu sur phase solide.

Nous avons choisi d'explorer deux voies de synthèses mettant à profit la réaction de transprotection sur phase solide :

- la première, utilisant le synthon Boc-Phe ψ [CON(NPht)]Ala-OH **22a** pour laquelle les trois étapes de la transprotection sont réalisées sur la résine,
- la seconde consiste à oligomériser le synthon **18g** partiellement transprotégé (figure 15). Au cours de cette synthèse, seules les deux dernières étapes de transprotection seront effectuées sur phase solide.

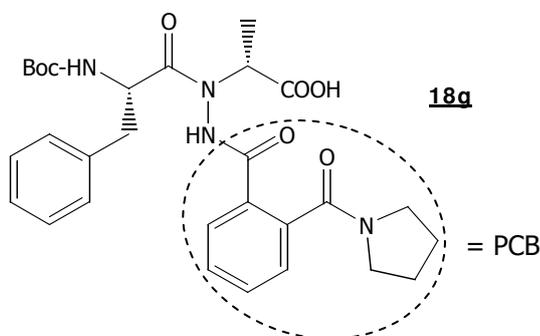
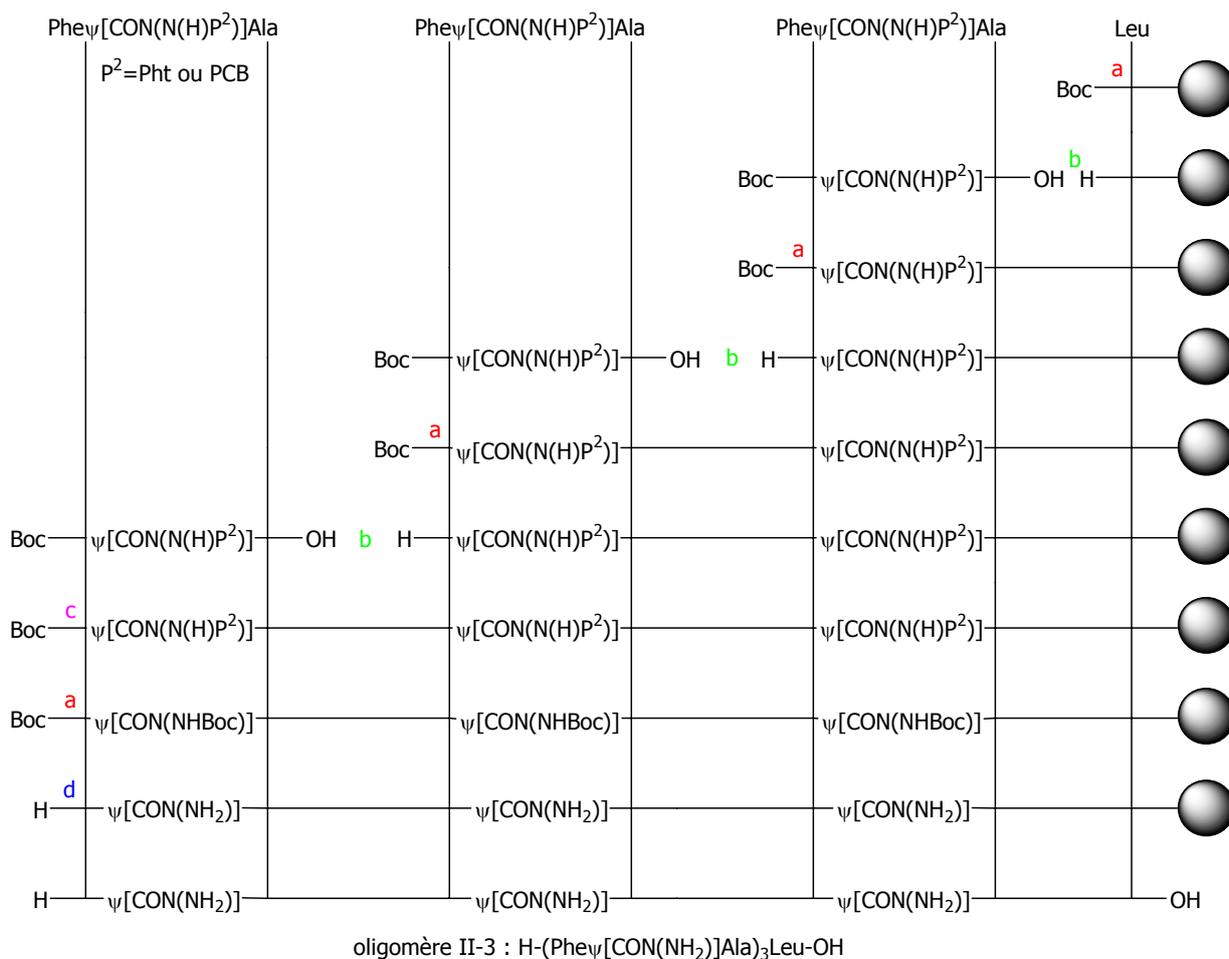


Figure 15 : synthon **18g partiellement transprotégé.**

Les deux composés **22a** et **18g** ont été engagés dans une réaction d'oligomérisation sur phase solide utilisant une résine Boc-Leu-PAM selon la stratégie représentée dans le schéma 57 :



a : TFA b : TBTU, HOBT, DIEA, [22a/18g](#) (3 éq.) c : transprotection du groupement phthalimide d : TFMSA ou TMSOTf

Schéma 57 : stratégie de synthèse de l'oligomère II-3 utilisant la réaction de transprotection du groupement phthalimide en groupement Boc.

Cette voie de synthèse diffère des précédentes par le fait que le décrochage de l'oligomère II-3 de la résine est précédé d'une étape de transprotection du groupement phthalimide en groupement Boc. Au cours de l'étude de la réaction de transprotection en phase liquide, nous avons pu constater que cette réaction « one-pot » était sensible à l'encombrement stérique et nous avons donc ajusté les temps de réaction en fonction du dipeptide de départ.

Différentes conditions opératoires ont été testées pour la synthèse d'oligomères déprotégés sur l'amine latérale. Elles sont rassemblées dans le tableau 16.

Synthons oligomérisés	Essais	Conditions de transprotection ^a	Décrochage
22a	1	a) Pyrrolidine, b) Boc ₂ O, DMAP cat.	TFMSA
	2	c) MeNH ₂ (2N)/MeOH	TMSOTf
	3	a) Pyrrolidine, b) Boc ₂ O, DMAP cat.	TFMSA
	4	c) MeNH ₂ (2N)/DMF, en excès	TMSOTf
18g	1	a) Boc ₂ O, DMAP cat.	TFMSA
	2	b) MeNH ₂ (2N)/MeOH	TMSOTf
	3	a) Boc ₂ O, DMAP cat.	TFMSA
	4	b) MeNH ₂ (2N)/DMF, en excès	TMSOTf

a : 4 éq. (de chaque réactif) par lien N-amino présent dans l'oligomère.

Tableau 16

Les deux premiers essais consistent à reproduire, sur phase solide, les conditions de déprotection mises au point en phase liquide. Afin de prendre en compte les observations effectuées lors de la synthèse des dipeptides en phase liquide, nous avons allongé les temps de réactions, et pour chaque étape de transprotection, les réactions ont été doublées.

Deux méthodes de décrochage, par action du TFMSA et du TMSOTf ont également été testées.

Pour les essais 3 et 4, nous avons cherché à modifier les conditions de la réaction de transprotection afin d'augmenter nos chances d'obtenir une réaction totale. La troisième étape nécessite l'utilisation d'une solution de méthylamine dans le méthanol. Ce solvant est bien connu pour diminuer le taux de gonflement des résines et cela a pour conséquence de diminuer l'accessibilité des réactifs au sein de ces billes. Nous avons donc choisi de remplacer cette solution par une solution de méthylamine (2N) dans le DMF.

L'utilisation du DMF à la place du méthanol présente plusieurs avantages :

- le taux de gonflement de la résine est plus important,
- la solution de méthylamine peut être utilisée en excès comme solvant.

Après décrochage des oligomères de la résine, les analyses par RMN ¹H ont révélé la présence de protons aromatiques caractéristiques du groupement phtalimide.

Quelles que soient les conditions mises en œuvre, la réaction de transprotection n'est pas totale lorsqu'elle est appliquée sur phase solide à un oligomère possédant plusieurs unités N-aminopeptidiques.

Au vu des résultats obtenus lors des nombreuses tentatives de déprotection ou de transprotection du groupement phtalimide sur phase solide, nous pouvons conclure aujourd'hui que, dans le cadre de notre projet, le groupement phtalimide, bien qu'idéal pour la préparation des synthons, représente un obstacle majeur à l'obtention des oligomères voulus sur phase solide.

Nous nous sommes donc tournés vers une nouvelle voie de synthèse en deux étapes :

- l'oligomérisation du composé **18g** sur phase solide,
- puis la transprotection, en phase liquide, de l'oligomère obtenu afin de mieux contrôler chaque étape de transprotection du groupement phtalimide.

b) Utilisation d'une résine oxime.

La nouvelle stratégie envisagée nécessite l'utilisation d'une résine permettant de conserver intactes les protections des chaînes latérales des acides aminés lors d'une synthèse peptidique classique. Notre choix s'est porté sur une résine oxime dont la structure est représentée sur la figure 16 :

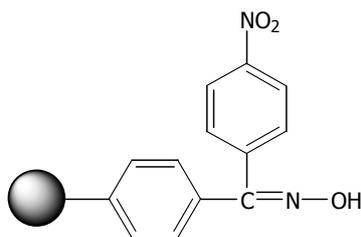
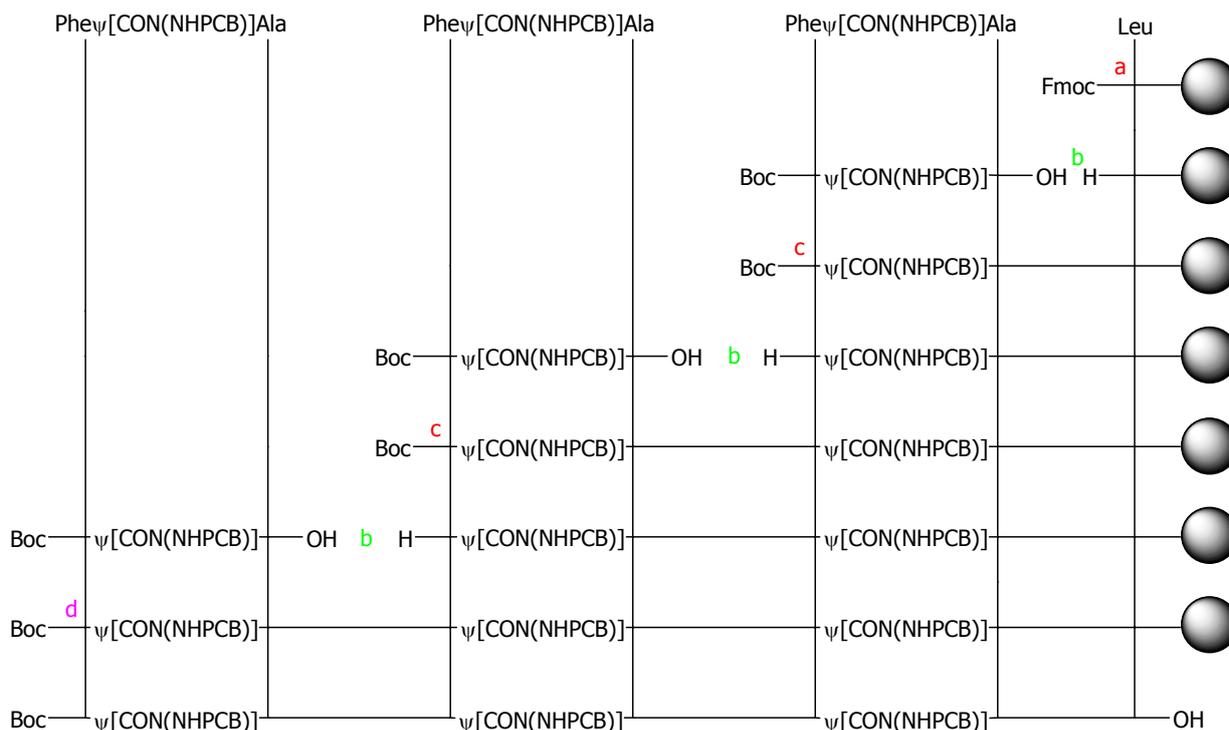


Figure 16 : Résine oxime.

Le composé **18g** a été engagé dans une réaction d'oligomérisation sur phase solide utilisant une résine oxime. La stratégie est représentée dans le schéma 58 :



Boc-oligomère III : Boc-(Phe ψ [CON(NHPCB)]Ala)₃Leu-OH

a : 25% pipéridine/DMF b : TBTU, HOBT, DIEA, 18g (3 éq.) c : 25% TFA/DCM d : DBU (2 eq.), H₂O/THF

Schéma 58 : stratégie de synthèse de l'oligomère III.

La synthèse sur une résine oxime implique l'utilisation de conditions opératoires particulières. L'accrochage du premier acide amide est effectué par la méthode aux anhydrides mixtes¹² en utilisant du DIC (5 éq.), une quantité catalytique de DMAP et 10 éq. de Fmoc-Leu-OH. La protection Fmoc permet d'évaluer le taux de substitution réel par la méthode spectroscopique¹³ décrite précédemment.

Etant donné l'efficacité des conditions de couplage choisis lors des essais d'oligomérisations précédents, nous avons continué à travailler avec le couple TBTU/HOBt comme agent de couplage. Chaque cycle de couplage a été effectué selon des conditions décrites dans la littérature¹⁵ : après déprotection du groupement Boc par un protocole doux (25% TFA/DCM pendant 1 minute puis 25 minutes), on procède à une pré-neutralisation du milieu par une solution de 1% DIEA/DCM, suivi de la réaction de couplage.

De part sa sensibilité aux nucléophiles, la résine oxime permet d'introduire de très nombreuses fonctions sur l'extrémité C-terminale du peptide synthétisé. Nous avons choisi d'obtenir l'oligomère sous sa forme acide et pour cela, nous avons choisi comme conditions de décrochage un protocole

¹⁵ Lobl, T. J.; Maggiora, L. L. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1979-1982.

utilisant le DBU dans un mélange H₂O/THF¹⁶. Le DBU joue vraisemblablement le rôle d'un catalyseur basique, augmentant ainsi le caractère nucléophile de l'eau (schéma 59).

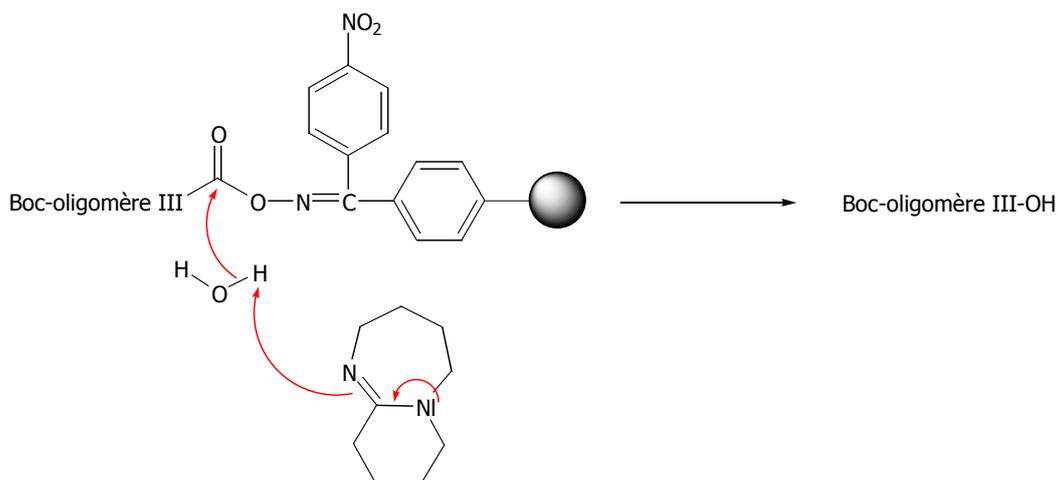


Schéma 59 : coupure d'une résine oxime par le DBU.

Une fois l'oligomère décroché de la résine et après purification par HPLC, nous avons procédé à une analyse par RMN ¹H (1D et 2D) qui semblait révéler la présence de l'oligomère III, non confirmé par la spectrométrie de masse. Cependant, le très mauvais rendement global de la réaction (<1%), nous a poussé à abandonner cette voie de synthèse.

En conclusion, nous pouvons affirmer que le groupement phthalimide est incompatible avec l'objectif que nous nous sommes fixé. Lors de la synthèse sur phase solide d'oligomères phthaloylés, celui-ci est partiellement déprotégé. Lorsque nous avons voulu synthétiser des oligomères déprotégés sur l'amine latérale, nous avons testé un grand nombre de stratégies :

- l'utilisation de TMSOTf,
- la transprotection du groupement phthalimide en groupement Boc sur phase solide,
- la synthèse d'oligomères partiellement transprotégés sur une résine oxime afin de pouvoir terminer la transprotection en phase liquide.

Malgré tous les efforts fournis, nous n'avons pas été en mesure d'obtenir les composés voulus.

La dernière voie de synthèse que nous avons donc envisagée consistait à introduire sur la résine des synthons ne possédant plus le groupement phthalimide sur l'amine latérale. Pour ce faire, deux stratégies étaient envisageables :

- le remplacement du groupement phthalimide par le motif hydrazone.
- l'utilisation des synthons **5h** Fmoc-Phe_ψ[CON(NHBoc)]Ala-OMe.

¹⁶ Pichette, A.; Voyer, N.; Larouche, R.; Meillon, J.-C. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1279-1282.

III.3.3. Synthèse de *N*-aminodipeptides *via* la stratégie hydrazone.

Au cours du chapitre I nous avons détaillé la nouvelle stratégie de synthèse de *N*-aminodipeptides impliquant un dérivé d'acide aminé additionné d'un motif hydrazone. Nous avons donc choisi de mettre à profit cette nouvelle méthode de synthèse dans le but d'obtenir de nouveaux oligomères à squelette *N*-aminopeptidiques.

Il nous fallait, en tout premier lieu, mettre au point des conditions de saponification de la fonction ester terminale des composés **8c** Boc-Phe ψ [CON(N=CH-(2-NO₂)Ph)]Ala-OMe.

Différentes conditions opératoires ont été testées. Les résultats sont rassemblés dans le schéma 60 et le tableau 17 :

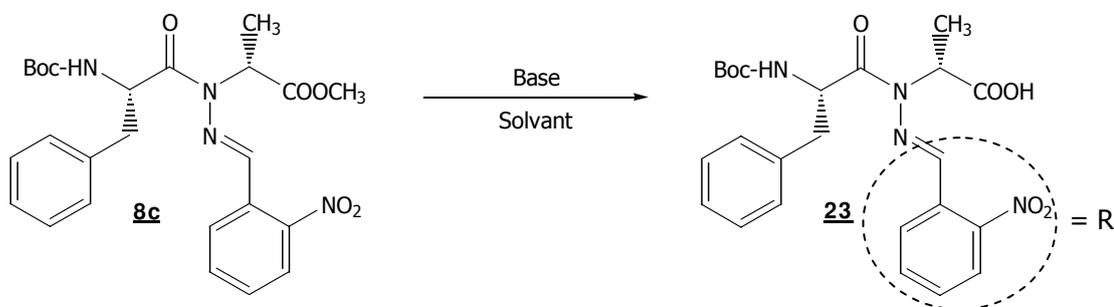


Schéma 60

Essais	Base	Solvant	Observations
1	LiOH 2,5N	THF/H ₂ O	Pureté médiocre
2	NaOH 1N	MeOH/H ₂ O	23 98%, bonne pureté

Tableau 17

La première méthode de saponification que nous avons choisie de tester mettait en jeu l'hydroxyde de lithium dans un mélange THF/H₂O. L'efficacité de la réaction a pu être évaluée pas CCM, mais quelles que soient les méthodes de purifications mises en œuvre (succession d'extractions, colonnes chromatographiques), le produit n'a jamais été isolé pur. Nous nous sommes alors tournés vers l'utilisation d'autres conditions opératoires impliquant l'utilisation d'une solution de soude 1N dans le méthanol¹⁷. Dans ces conditions, le produit **23** a pu être isolé par précipitation à l'aide d'une solution d'HCl (10% en volume dans H₂O) avec un excellent rendement de 98%.

¹⁷ Bodansky, M.; Bodansky, A. *The practice of peptide synthesis*; Heidelberg: Berlin, 1984.

Le composé **23** a ensuite été engagé dans une réaction d'oligomérisation sur phase solide impliquant l'utilisation d'une résine Boc-Leu-PAM. La stratégie de synthèse est représentée dans le schéma 61 :

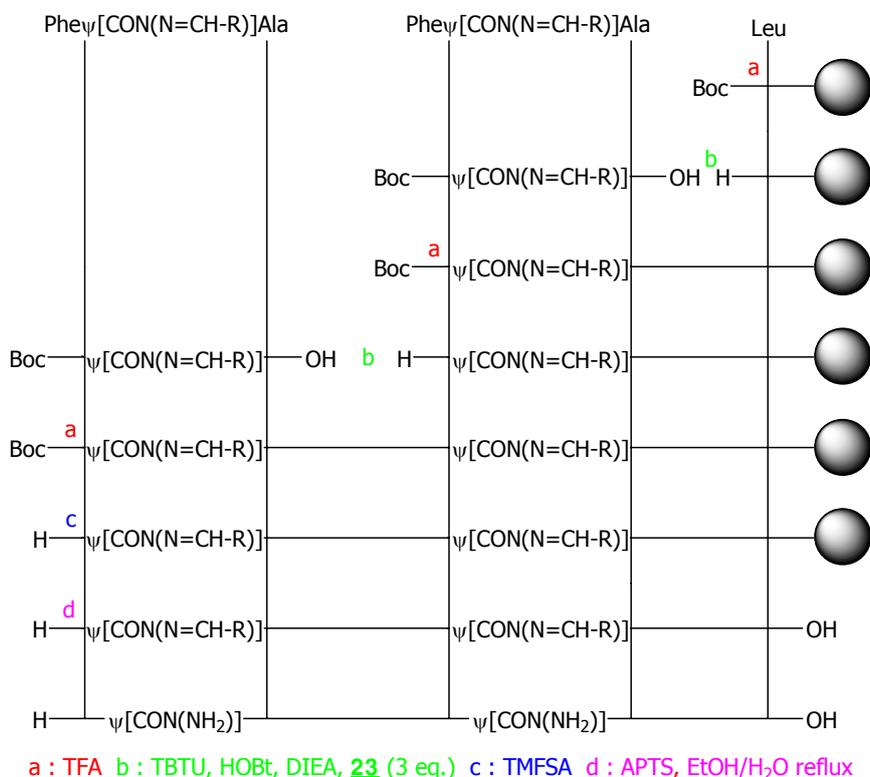


Schéma 61 : stratégie de synthèse de l'oligomère II-2 par la méthode aux hydrazones.

Après le décrochage du pseudopeptide de la résine, nous avons procédé à son traitement par l'APTS en solution puis nous avons effectué une purification par HPLC. L'analyse par RMN ¹H du composé purifié indiquait nettement la présence de protons aromatiques caractéristiques du motif hydrazone. Nous avons encore une fois été confrontés au fait que la présence de plusieurs liens N-aminoamides engendre des problèmes de déprotection. Une adaptation des conditions opératoires semblait nécessaire (comme l'augmentation du nombre d'équivalent d'APTS, l'utilisation de TMSOTf ou même déprotection du motif hydrazone par hydrogénolyse), mais au vu des difficultés que nous avons rencontrées lors de la mise au point des conditions de déprotection sur un N-aminodipeptide isolé, nous avons préféré nous tourner vers la stratégie impliquant l'utilisation des synthons Fmoc, protégé sur l'amine latérale par un groupement Boc beaucoup plus labile.

III.3.4. Synthèse de N-aminodipeptides *via* la stratégie Fmoc/ Boc.

Au cours du chapitre I nous avons pu mettre au point une stratégie de synthèse de N-aminodipeptides protégés de façon orthogonale sur l'amine N-terminale par un groupement Fmoc et sur l'amine latérale par un groupement Boc. Dans l'optique de leur oligomérisation sur phase solide, nous devons être en mesure de saponifier l'ester C-terminal sans déprotéger le groupement Fmoc, connu pour être sensible en milieu basique.

Les conditions opératoires utilisées figurent ci-dessous (schéma 62) :

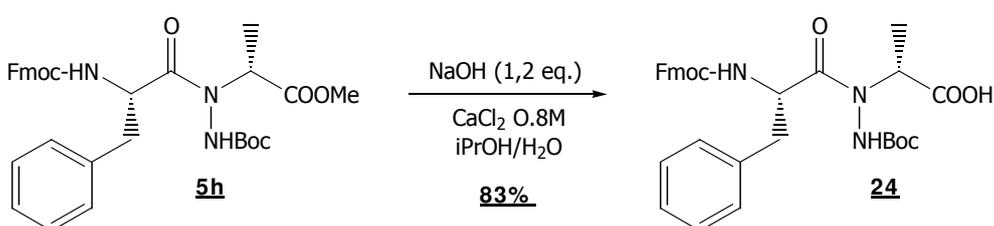
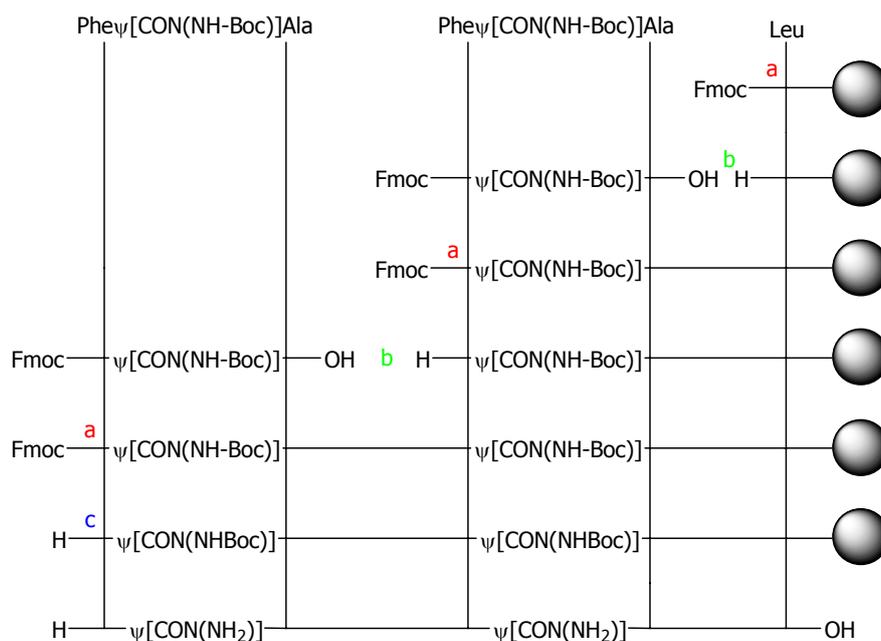


Schéma 62

L'utilisation d'hydroxyde de sodium en présence d'une solution de chlorure de calcium 0,8M¹⁸ nous a permis d'obtenir le composé **24** avec un excellent rendement de 83% malgré la présence du groupement Fmoc sensible aux conditions basiques.

Ce composé a ensuite été engagé dans une réaction d'oligomérisation sur phase solide avec une résine Fmoc-Leu-WANG. La stratégie est représentée dans le schéma 63 :

¹⁸ Pascal, R.; Sola, R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5031-5034.



oligomère II-2 : H-(Pheψ[CON(NH₂)]Ala)₂Leu-OH

a : 25% pipéridine/DMF b : TBTU, HOBT, DIEA, 24 (3 eq.) c : TFA

Schéma 63 : stratégie de synthèse de l'oligomère II-2.

Nous avons choisi les mêmes conditions de couplages que précédemment (le DMF comme solvant, la DIEA comme base et le couple TBTU/HOBT comme agent de couplage). L'efficacité du couplage a été évaluée par un test de Kaiser. Si le test s'avérait négatif, le couplage était doublé.

La déprotection du groupement Fmoc est effectuée selon le protocole classique : 25% pipéridine/DMF pendant respectivement 2, 5 et 8 minutes.

Le décrochage de l'oligomère de la résine a été effectué par action du TFA selon le protocole couramment utilisé (95%TFA/H₂O pendant 1h30).

Après purification par HPLC (RP-C18) l'oligomère désiré a été obtenu avec un rendement de 20%, puis caractérisé par RMN ¹H (1D : figure 17 et 2D : figure 18) et par spectrométrie de masse haute résolution.

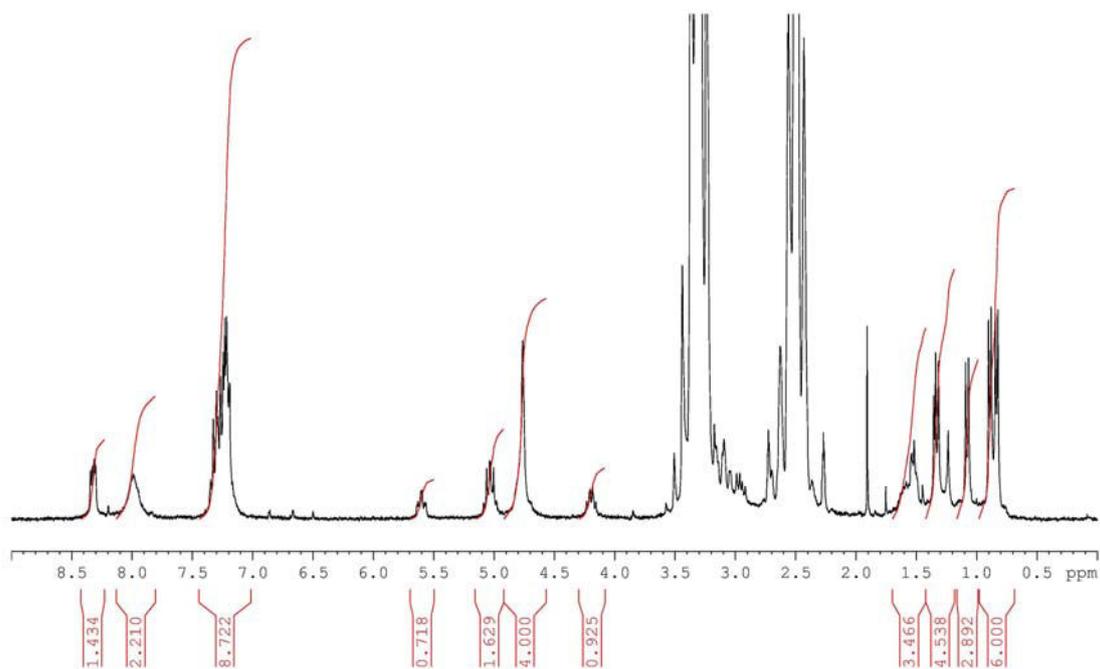


Figure 17 : spectre RMN ^1H de l'oligomère II-2 dans le DMSO-d_6 .

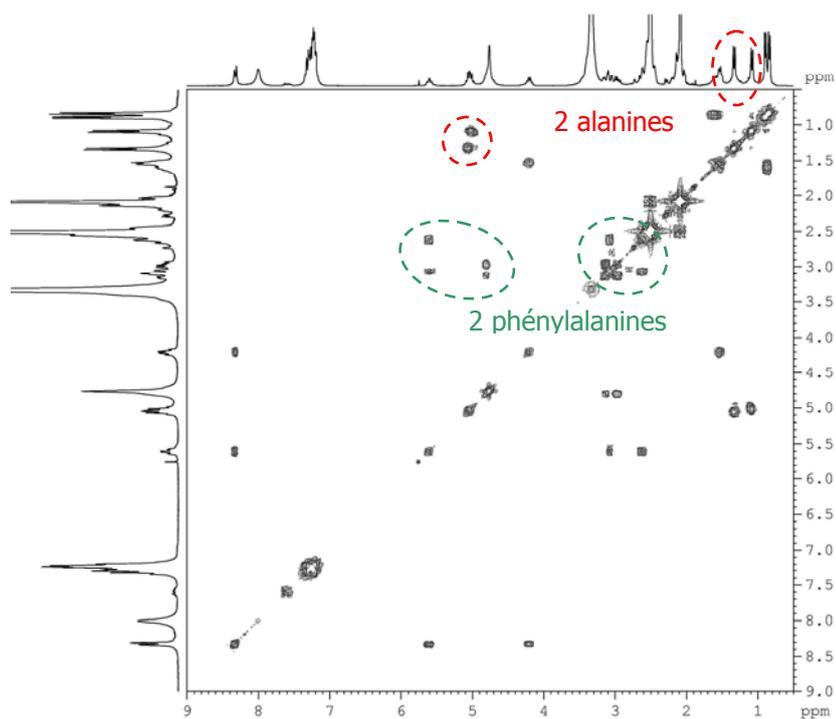


Figure 18 : spectre COSY de l'oligomère II-2 dans le DMSO-d_6 .

La même stratégie de synthèse a été appliquée pour obtenir les oligomères suivant :

- H-(Phe Ψ [CON(NH₂)]Ala)₃Leu-OH : oligomère II-3
- H-(Phe Ψ [CON(NH₂)]Ala)₄Leu-OH : oligomère II-4

L'utilisation des synthons **24** Fmoc-Phe Ψ [CON(NH-Boc)]Ala-OH nous a permis de synthétiser les tous premiers oligomères à squelette *N*-aminopeptidiques jamais obtenus à ce jour. Ces composés seront soumis à des études structurales par les techniques couramment employées (chapitre III) afin de déterminer s'ils ont la capacité de s'autostructurer en solution. Cependant, dans le but d'effectuer une étude structurale rigoureuse, nous devons être en mesure de comparer les oligomères d'une même famille, du plus petit au plus grand. Pour cela, nous avons synthétisé, en phase liquide, le tripeptide **27** H-Phe[CON(NH₂)]Ala-Leu-OH, premier oligomère de notre famille d' $[\alpha$ -*N*-amino]mères. La stratégie de synthèse que nous avons donc mise en œuvre est représenté dans le schéma 64 :

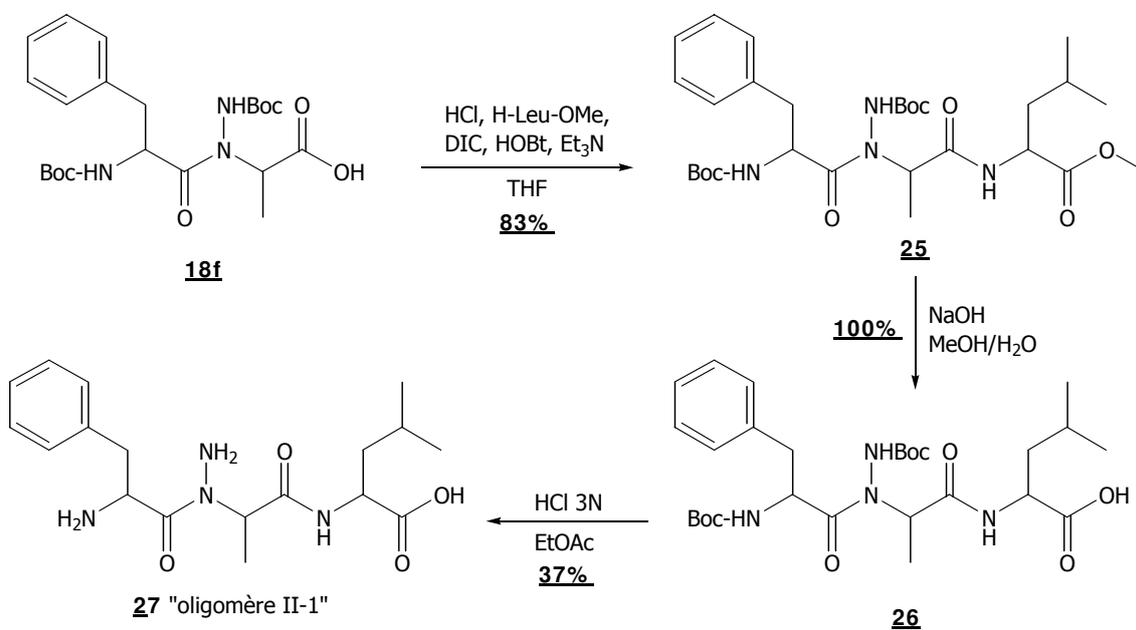


Schéma 64 : synthèse du tripeptide H-Phe Ψ [CON(NH₂)]Ala-Leu-OH

Le composé **27** a pu être facilement obtenu selon la synthèse décrite ci-dessus avec un rendement global de 30% que nous n'avons pas cherché à optimiser, la quantité de produit en fin de synthèse étant suffisante pour effectuer toutes les analyses voulues.

A ce stade du projet nous avons à notre disposition une famille complète d'oligomères *N*-aminopeptidiques possédant de trois à neuf résidus d'acides aminés prêts à être soumis à une étude structurale complète par différentes méthodes spectroscopiques décrites dans le chapitre III.

III.4. [α -*N*-amino]mères fonctionnalisés par la thymine : vers une nouvelle famille de PNAs.

Les méthodes de synthèses mises au point au chapitre I nous ont permis d'obtenir des *N*-aminodipeptides fonctionnalisés par une nucléobase : la thymine. L'obtention d'oligomères fonctionnalisés pourrait aboutir à une nouvelle famille de PNAs et pour cela, deux stratégies de synthèse ont été envisagées :

- l'oligomérisation des synthons fonctionnalisés Z-Phe ψ [CON(NHCOCH₂Thymine)]Ala-OH,
- la fonctionnalisation des composés obtenus lors de l'oligomérisation sur phase solide des synthons Fmoc-Phe ψ [CON(NHBoc)]Ala-OH.

III.4.1. Oligomérisation du synthon fonctionnalisé.

La première stratégie de synthèse d'oligomères fonctionnalisés que nous avons choisie de mettre en œuvre consistait à coupler les synthons **18e** Z-Phe ψ [CON(NHCOCH₂Thymine)]Ala-OH sur phase solide en utilisant une résine Boc-Leu-PAM (schéma 65) :

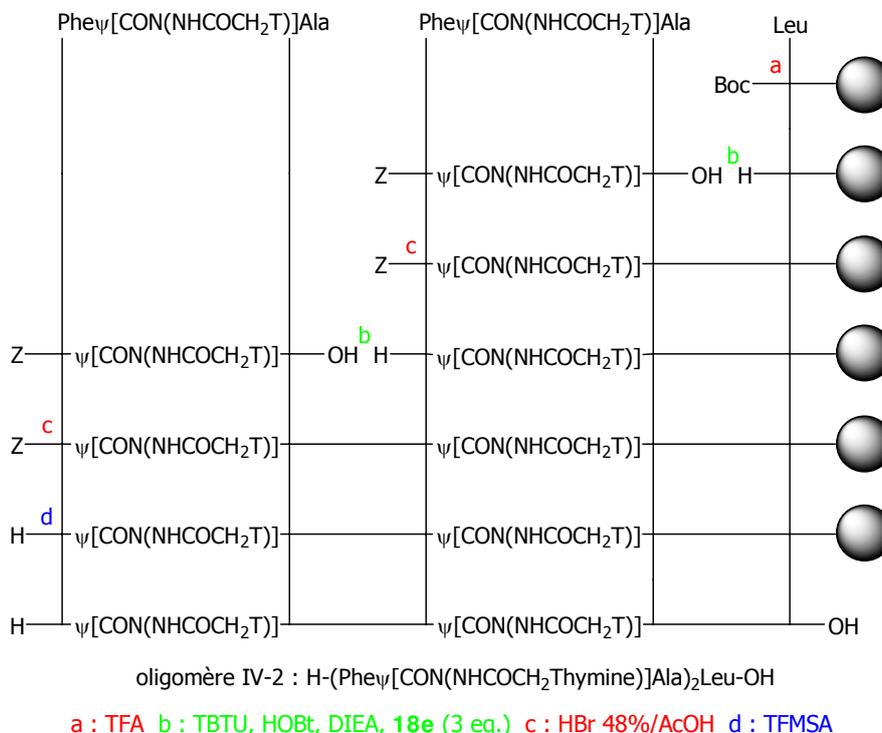


Schéma 65 : stratégie de synthèse de l'oligomère IV.

Après déprotection du premier acide aminé par action du TFA, le premier synthon a été couplé sur la résine selon la stratégie utilisée précédemment. Le groupement Z a, quant à lui, été éliminé par une

solution d'acide bromhydrique à 48% dans l'acide acétique selon le protocole mis au point par Merrifield³.

Après décrochage de l'oligomère par action du TFMSA, le brut réactionnel a été purifié par HPLC et un composé majoritaire a été isolé. L'examen par RMN et par spectroscopie de masse nous ont indiqué qu'il s'agissait du tripeptide non déprotégé sur l'extrémité N-terminale dont la formule est représentée ci-dessous (figure 19) :

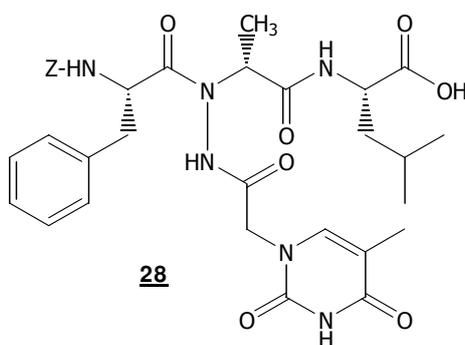


Figure 19 : formule du tripeptide obtenu après purification par HPLC.

La méthode de déprotection du groupement Z mis au point par Merrifield impliquait l'utilisation d'acide bromhydrique (30% dans l'acide acétique) pendant 2 à 4h. L'allongement du temps de réaction engendre systématiquement une augmentation de la dégradation du peptide en croissance. Nous avons donc choisi d'effectuer cette déprotection avec une solution d'acide bromhydrique dans l'acide acétique pendant un temps plus court (2h) puis de doubler la réaction. Cette méthode s'est avérée inefficace.

Nous nous sommes alors tournés vers la seconde stratégie qui consistait à fonctionnaliser les oligomères obtenus précédemment.

III.4.2. Fonctionnalisation des oligomères II.

Lorsque nous avons envisagé de fonctionnaliser les oligomères II plutôt que d'oligomériser les synthons, deux possibilités s'offraient à nous :

- la fonctionnalisation des oligomères II, effectuée en phase liquide,
- la fonctionnalisation pas à pas au cours de la synthèse sur phase solide.

Lors de l'oligomérisation des composés phtaloylés, nous avons observé que la présence de plusieurs liens N-aminopeptidiques engendrait une difficulté de déprotection du groupement phtalimide inexistante dans le cas d'un composé ne possédant qu'une seule liaison N-aminoamide.

Dans l'hypothèse où nous risquons d'être confrontés au même problème lors de la fonctionnalisation des oligomères II (obtention de composés substitués de façon aléatoire sur les différents liens *N*-aminoamides présents dans la molécule), nous avons donc choisi de mettre en œuvre la seconde stratégie (schéma 66) :

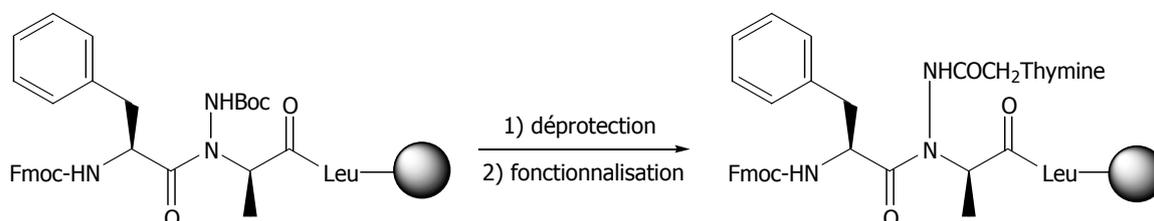
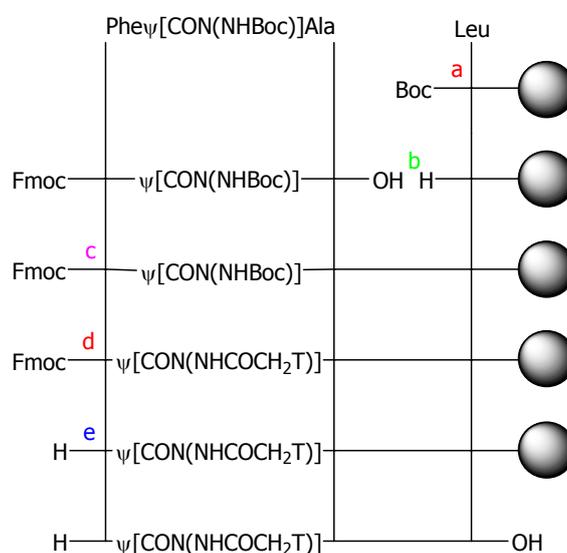


Schéma 66

Nous avons voulu dans un premier temps nous assurer de la bonne résistance du groupement Fmoc aux conditions de déprotection du groupement Boc. Pour cela, nous avons soumis un acide aminé Fmoc-Phe-OH à différentes conditions acides et quel que soit le pourcentage de TFA utilisé, nous n'avons constaté ni déprotection ni dégradation du groupement Fmoc. Les composés **24** ont donc été engagés dans une réaction d'oligomérisation sur phase solide utilisant une résine Boc-Leu-PAM selon la stratégie décrite dans le schéma 67 :



oligomère IV-1 : H-Phe ψ [CON(NHCOCH₂Thymine)]Ala-Leu-OH

a : TFA b : TBTU, HOBT, DIEA, **24** (3 eq.) c : i) 25%TFA/DCM ii) BrCOCH₂Br, Et₃N, THF
iii) Thymine, K₂CO₃, acétone/DMF d : 25% pipéridine/DMF e : TFMSA

Schéma 67

Le couple TBTU/HOBT nous ayant permis d'obtenir précédemment les oligomères II, nous avons donc choisis ces mêmes conditions de couplage pour cette synthèse.

Lors de l'étape de fonctionnalisation par le bras d'espacement, 3 éq. de bromure de bromoacétyle et 3 éq. de triéthylamine dans le THF ont été utilisés. Un test au TNBSA a été effectué avant et après réaction, afin de confirmer l'accrochage effectif du bras d'espacement.

Lors des essais de fonctionnalisation par la nucléobase azotée, nous avons constaté que le rendement était nettement supérieur lorsque le solvant de la réaction est l'acétone. Toutefois, l'utilisation d'acétone lors d'une réaction de synthèse sur phase solide entraîne une forte diminution du taux de gonflement, et donc par la même occasion une accessibilité moindre des réactifs au sein des billes de résine. Partant de ces considérations, nous avons choisi d'effectuer la réaction de fonctionnalisation dans un mélange acétone/DMF (1/1 en volume).

Un seul essai a été réalisé, avec pour objectif d'obtenir l'oligomère IV-1 : H-Phe_ψ[CON(NHCOCH₂Thymine)]Ala-Leu-OH.

Nous n'avons pas été en mesure d'isoler le composé voulu. Cette stratégie nécessiterait une mise au point des conditions réactionnelles pour chaque étape de la fonctionnalisation, comme l'ajustement du nombre d'équivalents mis en jeu ou un accroissement du temps de réaction. Un suivi par RMN HR-MAS nous permettrait de définir les conditions optimales pour la synthèse pas à pas d'oligomères fonctionnalisés.

IV. Oligomérisation de N-aminodipeptides : Conclusions.

Lorsque nous avons abordé les études concernant l'oligomérisation de N-aminodipeptides sur phase solide, nous avons pour objectifs de synthétiser différents types d'oligomères se différenciant par la nature du groupement porté par l'amine latérale.

Différentes stratégies ont été abordées, avec plus ou moins de succès :

- Notre première idée, la synthèse d'oligomères phtaloylés s'est avérée irréalisable sur phase solide du fait de la présence du groupement phtalimide, partiellement déprotégé au cours de l'étape de décrochage. L'obtention de tels composés doit donc être réalisée par une stratégie d'oligomérisation en phase liquide et fait d'ailleurs l'objet d'une thèse actuellement en cours au laboratoire.

- La transposition sur phase solide de la réaction de transprotection Pht → Boc à un oligomère possédant plusieurs liens N-aminoamide s'est avérée toute aussi délicate. L'impossibilité de suivre l'avancement de chaque étape de cette réaction a engendré, après décrochage de l'oligomère de la

résine, l'obtention d'une multitude de produits. Malgré les efforts fournis et les différentes stratégies envisagées, nous n'avons pas été en mesure d'obtenir les composés désirés.

- Lors de l'oligomérisation des synthons hydrazones, nous nous sommes retrouvés confrontés au même problème de déprotection partielle rencontré lors de l'oligomérisation des synthons phtaloylés. Une mise au point des conditions de déprotection des oligomères s'avère nécessaire mais n'a pas pu être effectuée à ce jour faute de temps.

- Une stratégie d'oligomérisation s'est tout de même révélée très efficace : l'utilisation des *N*-aminodipeptides protégés sur l'extrémité *N*-terminale par un groupement Fmoc, et sur l'amine latérale par un groupement Boc nous a permis d'obtenir les tous premiers [α -*N*-amino]mères, qui vont maintenant être soumis à une étude structurale complète afin de déterminer si ces molécules s'organisent en solution.

- Enfin, la synthèse d'oligomères fonctionnalisés par une nucléobase azotée s'est révélée plus problématique que prévue. Les deux méthodes de synthèse testées (l'oligomérisation des composés **18e** et la fonctionnalisation pas à pas sur phase solide en utilisant les synthons Fmoc/Boc) ne nous ont pas permis d'obtenir les oligomères souhaités. Une réaction de transprotection Z \rightarrow Fmoc des composés **18e** devrait permettre de réaliser la synthèse dans des conditions plus douces, ne nécessitant pas l'utilisation d'une solution d'acide bromhydrique.

Chapitre III : Etude structurale de
 $[\alpha$ -N-amino]mères

L'objectif de ce travail de thèse réside dans l'obtention d'oligomères pseudopeptidiques et l'analyse structurale de ces composés afin de déterminer s'ils appartiennent à la catégorie des foldamères.

Le plan de ce chapitre s'articulera en deux parties :

- une introduction bibliographique décrivant différents types de foldamères sur le plan structural et fonctionnel,
- l'analyse structurale des oligomères obtenus par les méthodes mises au point au chapitre II.

I. Les foldamères : définitions, structures et fonctions.

I.1. Généralités : le concept de foldamères.

Le champ de structures et de fonctions dont dispose la biologie est remarquable. En considérant qu'il existe seulement trois classes principales de biopolymères (protéines, acides nucléiques et polysaccharides), la nature indique de façon intuitive que la séquence des copolymères est une façon puissante d'adopter des structures tridimensionnelles appropriées aux rôles qui leurs sont définis.

La multitude de réactions chimiques catalysées par les protéines au sein des organismes vivants suggère qu'il serait possible de concevoir, à partir de polymères du vivant, des analogues synthétiques structuraux capables d'adopter des conformations spécifiques. Le terme de foldamère a été introduit en 1998 par Gellman¹ comme étant « tout oligomère qui adopte une conformation compacte en solution, majoritairement déterminée par des interactions non covalentes ». Ainsi, des chaînes de molécules ayant une forte tendance à adopter des conformations spatiales spécifiques sont de bons candidats permettant l'étude et le mime des propriétés structurales et fonctionnelles de leurs homologues biologiques.

Lorsque l'on parle de protéines, le terme « compacte » est directement en relation avec la structure tridimensionnelle. La conformation dans l'espace d'une protéine, autrement dit sa structure tertiaire, est en adéquation avec l'assemblage d'éléments de structure secondaire (hélices, feuilletts, coudes). La première étape dans la conception d'une nouvelle famille de foldamères doit donc être l'identification de nouveaux squelettes moléculaires qui se replient en structures secondaires bien définies.

Le design *de novo* d'une structure donnée est la démonstration ultime de la connaissance de l'ensemble des liaisons non covalentes qui régissent le repliement dans l'espace d'un oligomère synthétique. Par exemple, dans les protéines, la combinaison des forces non covalentes réside dans la structure primaire, c'est-à-dire l'enchaînement des acides aminés. A l'instar des protéines, certains oligomères non naturels sont capables d'adopter des structures compactes bien définies puisque les

¹ S. H. Gellman *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 173-180.

liaisons non covalentes (liaisons H, interactions hydrophobes, interactions de Van der Waals, etc) sont universelles. Aussi, le domaine de recherches d'oligomères capables de s'auto-structurer est en plein essor². Récemment, plusieurs structures secondaires ont été combinées pour former des structures tertiaires définies (figure 20).

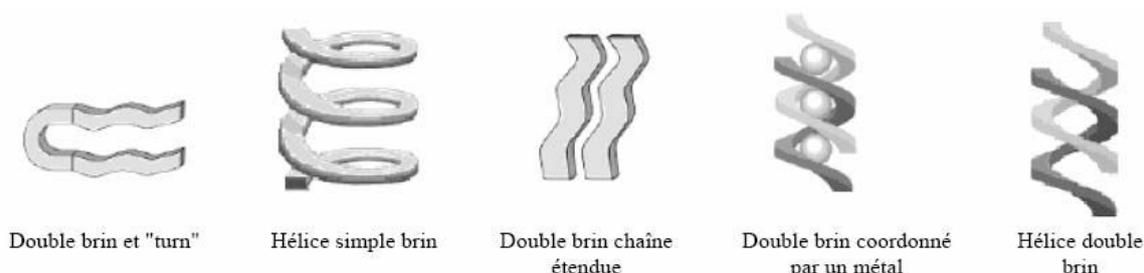


Figure 20 : exemples de structures secondaires de foldamères.

I.2. Organisation structurale des foldamères.

I.2.1. Rappels : liaisons H et éléments de structures secondaires dans les α -peptides et les protéines.

a) Conventions d'écritures.

Un certain nombre de conventions a été établi pour décrire la disposition dans l'espace des atomes constituant les peptides. Trois angles dièdres, notés ϕ , ψ et ω permettent de définir complètement la géométrie du squelette peptidique. Ils représentent respectivement les angles de torsion autour des liaisons N-C α , C α -CO, CO-N (figure 21). Ils sont comptés positivement lorsque l'observateur, situé du côté N-terminal voit la partie C-terminale tourner dans le sens des aiguilles d'une montre. L'angle nul correspond à une disposition éclipsée des atomes.

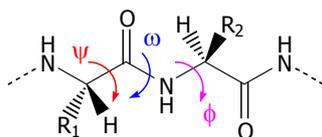


Figure 21 : représentation des angles dièdres caractérisant la structure du squelette peptidique.

² a) Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3893-4011. b) Huc, I. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 17-29.

La liaison amide se comporte comme une double liaison. Les six atomes $C^1\alpha$, O, C, N, H et $C^2\alpha$ sont sensiblement situés dans le même plan. La valeur de l'angle ω est donc voisine soit de 0° , soit de 180° selon que la liaison peptidique est dite respectivement *cis* ou *trans*. Seuls les angles ϕ et ψ sont les variables conformationnelles pour la chaîne principale.

On comprend aisément que plus le nombre de résidus augmente, plus le nombre de conformations possibles devient important. Cependant, toutes les valeurs des couples (ϕ, ψ) ne sont pas stériquement permises. Le diagramme de Ramachandran représente l'espace conformationnel accessible (figure 22).

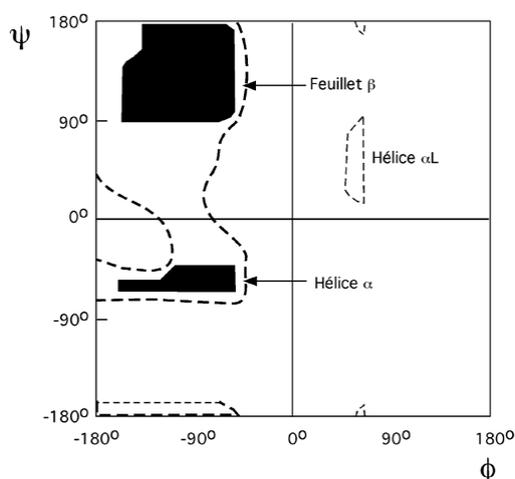


Figure 22 : diagramme de Ramachandran simplifié indiquant les valeurs des angles (ϕ, ψ) permises dans les protéines.

Une liaison hydrogène s'établit entre un site donneur de proton, un NH amide par exemple, et un site accepteur comme un groupement carbonyle. Dans les peptides, une liaison hydrogène entre le CO d'un résidu i et le NH d'un résidu $i+x$ se manifeste par une distance $N_{i+1}O$ comprise entre 2,8 et 3,3 Å et un angle $(N-H_{i+1}O)$ dont la valeur varie entre -20 et $+20^\circ$. Elle ferme alors un pseudocycle à n atomes, noté C_n , qui caractérise les différents types de structure secondaires (Figure 23).

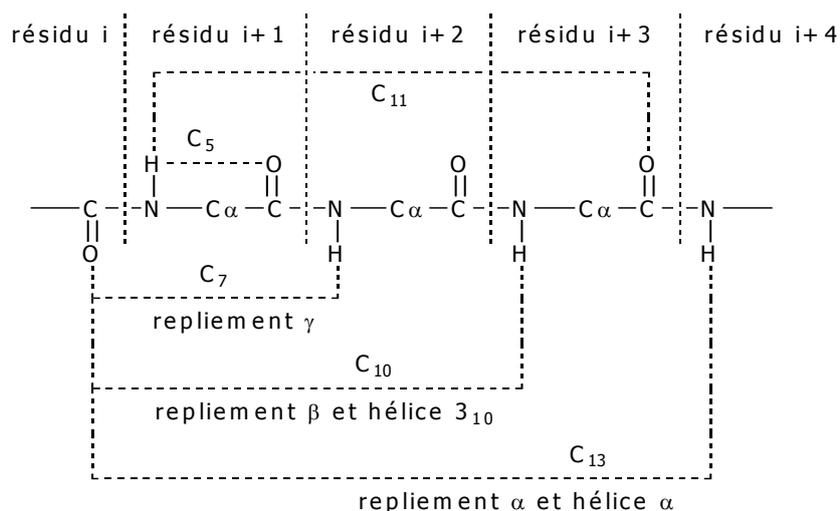


Figure 23 : les différents pseudocycles rencontrés dans les peptides.

Nous allons présenter un résumé rapide des principaux éléments de structure que l'on peut rencontrer dans les peptides et les protéines.

b) Les coudes ou turns.

Les coudes sont des éléments de structure secondaire localisés qui permettent un repliement particulier de la chaîne peptidique. Il existe différents types de coudes, caractérisés par le nombre d'atomes impliqués dans le pseudocycle.

- les coudes γ : Ils sont stabilisés par une liaison hydrogène de type $i+2 \rightarrow i$ qui referme un pseudocycle à 7 atomes (C_7). Ils ont été mis en évidence lors de l'étude de dipeptides en solution³ et de protéines⁴. Il existe deux types de repliement γ : Le γ -turn inverse, qui présente un C_7 avec la chaîne latérale du résidu $i+1$ en position équatoriale par rapport au plan moyen du cycle, est le plus couramment rencontré dans les protéines. Le γ -turn classique possède un C_7 avec la chaîne latérale en position axiale (figure 24).

³ a) Boussard, G.; Marraud, M.; Aubry, A. *Biopolymers* **1979**, 18, 1297-1331. b) Boussard, G.; Cung, M. T.; Marraud, M.; Néel, J. *J. Chim. Phys.* **1974**, 71, 1081-1091.

⁴ Milner-White, E. J. *J. Mol. Biol.* **1990**, 216, 385-397.

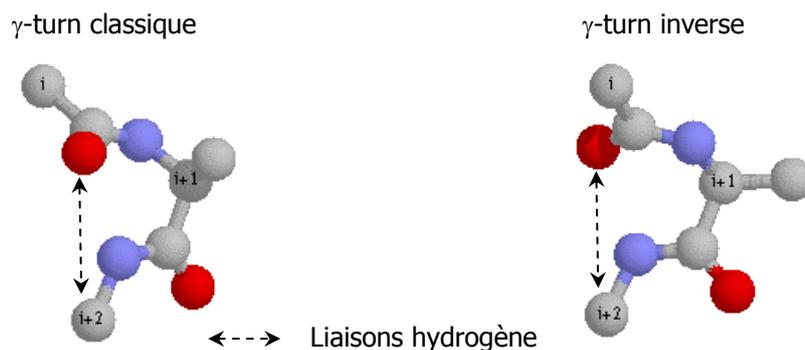


Figure 24 : représentation des γ -turns inverse et classique.

- les coudes β : Ils sont stabilisés par une liaison hydrogène de type $i+3 \rightarrow i$ qui referme un pseudocycle à 10 atomes (C_{10}). Plusieurs familles de repliements β ont été identifiées⁵, les deux catégories les plus importantes étant le β -turn de type I et celui de type II. Ils diffèrent par une inversion de l'orientation de la liaison peptidique centrale (figure 25).

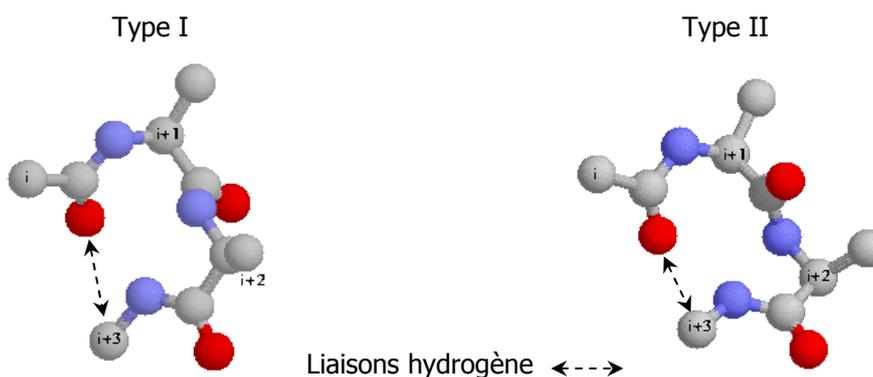


Figure 25 : structure des β -turns de type I et II.

Les principales caractéristiques de ces différents sous-types sont rassemblées dans le tableau 18. Par la suite, le terme de repliement β a été étendu à tout repliement stabilisé ou non par une liaison hydrogène, mais pour lequel la distance entre les $C\alpha$ des résidus i et $i+3$ ne dépasse pas 7 \AA ⁶.

⁵ Némethy, G.; Scheraga, H. A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, 95, 320-327.

⁶ Lewis, P.N.; Momany, F.A.; Scheraga, H.A. *Biochim. Biophys. Acta-Protein structure* **1973**, 303, 211-229.

Types	ϕ_{i+1}	ψ_{i+1}	ϕ_{i+2}	ψ_{i+2}	ω_{i+2}
I	-60°	-30°	-90°	0°	180°
I'	60°	30°	90°	0°	180°
II	-60°	120°	80°	0°	180°
II'	60°	-120°	-80°	0°	180°

Tableau 18 : valeurs moyennes des angles dièdres des résidus impliqués dans les β -turns.

c) Les feuillets β .

Des liaisons hydrogènes intramoléculaires peuvent se former à plus longue distance dans l'enchaînement peptidique entre atomes d'oxygène et d'hydrogène des liaisons amides. On parle alors de brins β , structures proches des structures étendues avec des valeurs standards d'angles dièdres $\phi = -120^\circ$ et $\psi = 120^\circ$.

Deux ou plusieurs brins β peuvent s'associer grâce à des liaisons hydrogène caractéristiques. On parle alors de feuillet β . Il existe deux types principaux (figure 26) :

- le feuillet β parallèle pour lequel l'orientation des brins successifs est la même, avec des angles dièdres $\phi = -119^\circ$ et $\psi = 113^\circ$.
- le feuillet β anti-parallèle pour lequel l'orientation des brins successifs est inversée, avec des angles dièdres $\phi = -139^\circ$ et $\psi = 135^\circ$.

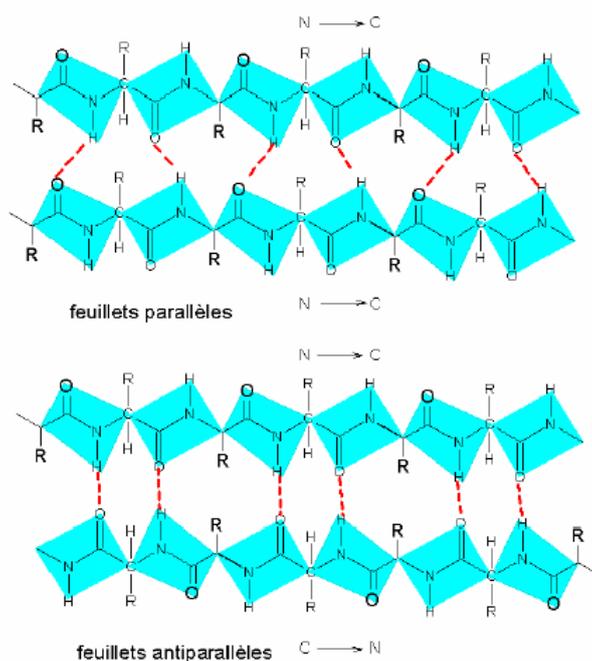


Figure 26 : représentation de feuillets β parallèle et anti-parallèle.

d) Les épingles à cheveux β ou β -hairpins.

Il existe des différences importantes dès lors que l'on parle de structure de peptides ou des protéines. En effet, les peptides ne forment pas de feuillets β , mais il existe cependant un équivalent : l'épingle à cheveux β ou β -hairpin (figure 27) :

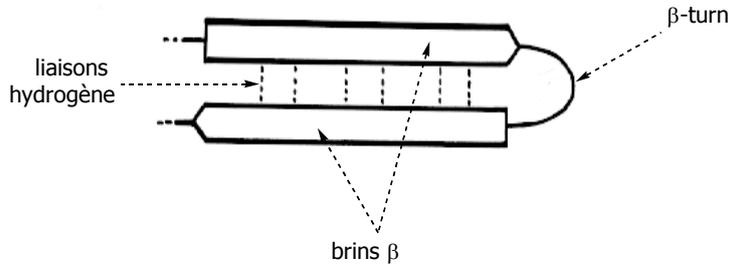


Figure 27 : structure simplifiée d'une épingle à cheveux β .

La structure d'un β -hairpin peut être décomposée en trois parties : deux domaines correspondent à deux simples brins β , séparés par un coude β . La présence de ce coude permet un repliement de la chaîne peptidique, rendant possible l'interaction des deux brins β par de multiples liaisons hydrogène.

e) Les hélices.

La répétition de pseudocycles par établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires conduit à la formation d'hélices. On parle alors d'hélice a_b , où a correspond au nombre de résidus d'acides aminés par tour d'hélice (pas de l'hélice) et b correspond au nombre d'atomes qui participe à la formation du pseudocycle. Le pas d'une hélice est lui-même caractérisé par sa longueur en Å et son enroulement vers la gauche (M) ou la droite (P).

Les peptides présentent les mêmes types d'hélices que les protéines. On distingue trois grandes classes d'hélices qui diffèrent par le nombre de résidus d'acides aminés par tour et le pas de l'hélice. Toutes ces hélices présentent une chiralité, mais seule la configuration droite est observée (la configuration gauche impose un contact trop étroit entre les chaînes latérales et le squelette peptidique). Leurs principales caractéristiques sont représentées sur la figure 28 :

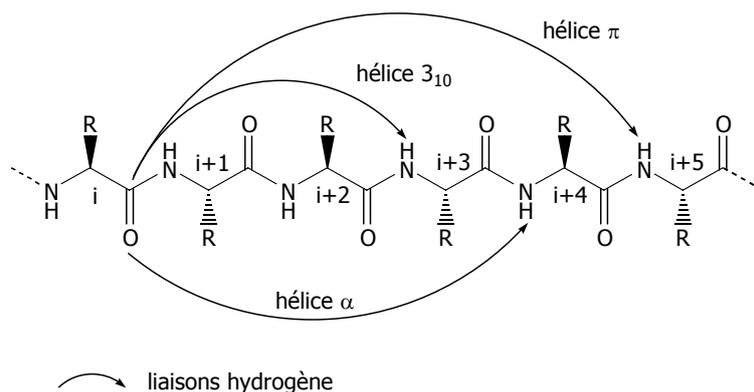


Figure 28 : liaisons hydrogène formant les hélices dans les polypeptides.

Dans les protéines, l'hélice α , caractérisée par un pas droit de 5,4 Å correspond dans cette nomenclature à l'hélice 3,6₁₃.

I.2.2. Liaisons H et éléments de structures secondaires dans certains pseudopeptides.

Les propriétés structurales des peptides ayant été largement explorées, les recherches se sont également orientées vers l'étude d'analogues pseudopeptidiques. Il existe de nombreuses familles de foldamères peptidomimétiques ou nucléotidomimétiques. Nous présenterons ici quelques exemples de modifications pseudopeptidiques de la famille des foldamères peptidomimétiques qui engendrent des conformations compactes en solution différentes de celles qui s'établissent pour les peptides et les protéines.

a) Les β -peptides.

Les β -peptides sont constitués de l'assemblage de β -aminoacides, homologues supérieurs des acides α -aminés naturels. Le squelette d'un β -peptide possède un atome de carbone supplémentaire et de ce fait, une ou plusieurs chaînes latérales peuvent être introduites en 2 et/ou 3 de la fonction acide carboxylique (figure 29) avec des stéréochimies contrôlées.

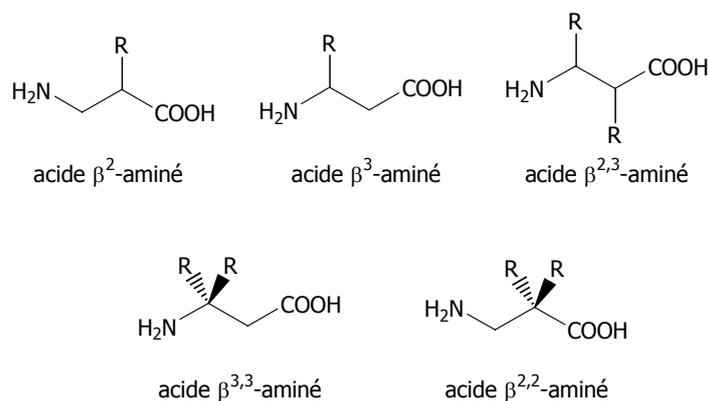


Figure 29 : les différents types de β -aminoacides.

Le squelette β -peptidique autorise donc une grande modulation structurale qui a été largement étudiée. Les travaux les plus remarquables ont été effectués par Gellman⁷ et Seebach⁸. Ils ont pu identifier 6 structurations possibles dans les β -peptides. Les liaisons hydrogène pouvant s'établir sont représentées sur la figure 30 :

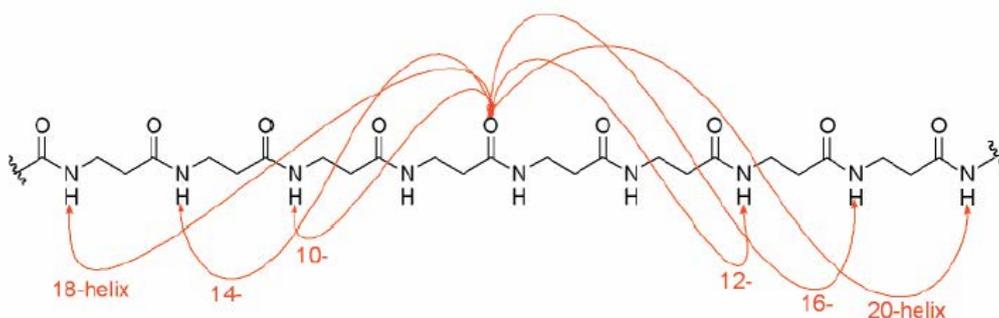


Figure 30 : Liaisons H pouvant s'établir dans un β -peptide.

La structuration la plus favorable est l'hélice 3_{14} obtenue par un réseau de liaisons hydrogène CO---HN de direction opposée à celle de l'hélice α .

Les hélices formées au sein des β -peptides sont nommées en fonction du nombre d'atomes impliqués dans les pseudocycles refermés par les liaisons hydrogène. On recense ainsi les hélices 10, 12, 14, 16, 18 et 20. En général, la structure secondaire en hélice dépend de la nature des β -aminoacides que contient le pseudopeptide. Des résidus acycliques ou monosubstitués vont préférentiellement former

⁷ a) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 13071-13072. b) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Klein, D. F.; Powell, D. R.; Huang, X.; Barchi, J. J.; Gellman, S. H. *Nature* **1997**, 387, 381-384. c) Krauthäuser, S.; Christianson, L. A.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11719-11720. d) Chung, Y. J.; Christianson, L. A.; Stanger, H. E.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10555-10556. e) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6206-6212. f) Appella, D. H.; Barchi, J. J.; Durell, S.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 2309-2310.

⁸ a) Seebach, D.; Kimmerlin, T.; Sebesta, R.; Campo, M. A.; Beck, A. K. *Tetrahedron* **2004**, 60, 7455-7506. b) Lelais, G.; Seebach, D. *Biopolymers* **2004**, 76, 206-243.

des hélices 14, alors que des résidus présentant des cycles à 5 ou 6 atomes de carbones vont former respectivement des hélices 12 et des hélices 14^{7b} (figure 31) :

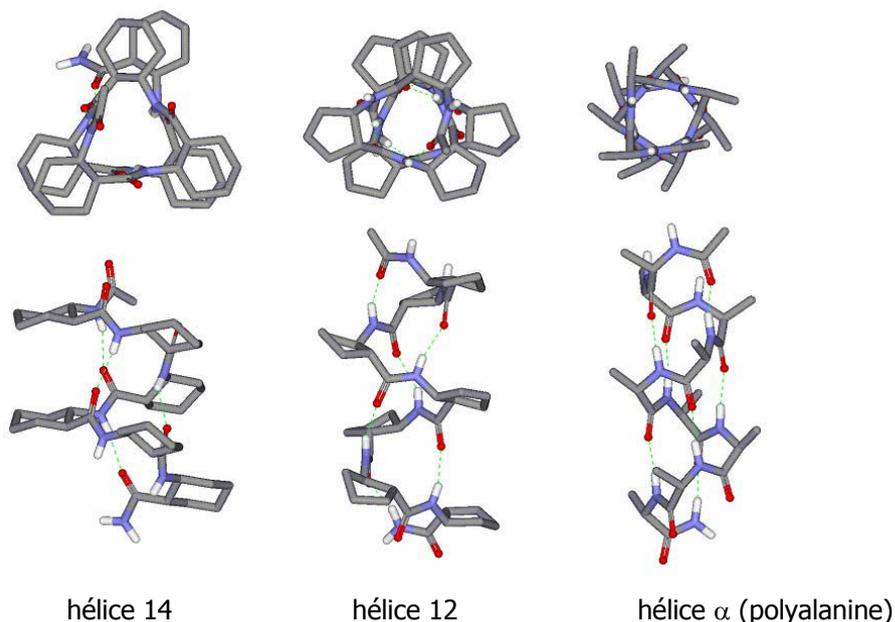


Figure 31 : comparaison des structures hélicoïdales des α - et β -peptides.

b) Analogues des β -peptides.

Les hydrazinopeptides

Les hydrazinopeptides sont des analogues des β -peptides pour lesquels on aurait substitué un atome de carbone par un atome d'azote (figure 32) :

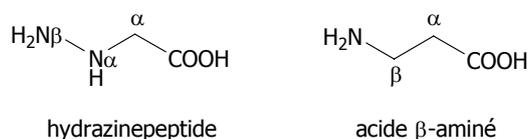


Figure 32 : analogie entre β - et hydrazinopeptides.

Les premières études structurales par diffraction de rayons X, réalisées par Aubry et coll.⁹ sur des séquences de petites tailles (2 ou 3 résidus) ont montré que le lien hydrazide pouvait apporter de fortes modifications structurales par rapport au lien peptidique. Ainsi, la présence de la liaison N-N dans l'hydrazinopeptide introduit non seulement un allongement de la chaîne pseudopeptidique mais

⁹ a) Aubry, A.; Bayeul, D.; Mangeot, J.-P.; Vidal, J.; Stérin, S.; Collet, A.; Lecoq, A.; Marraud, M. *Biopolymers* **1991**, 31, 793-801. b) Viret, J.; Collet, A.; Pichon-Pesme, V.; Aubry, A. *New J. Chem.* **1988**, 12, 253-256.

aussi une possibilité de rotation supplémentaire. En effet, les plans C'-N β -N α et N β -N α -C α de la liaison hydrazide sont approximativement perpendiculaires. De plus, certains des composés étudiés adoptent des conformations étendues stabilisées par des dispositions repliées particulières aux hydrazinopeptides. C'est le cas de Piv-Pro-N β H-N α Bzl-CH₂-CO-NHiPr et de Moc-N β H-Pro-OH (figure 33) dans lesquels les résidus hGly et hPro sont repliés par une liaison hydrogène bifide : le site donneur NHiPr ou OH y est lié à la fois au carbonyle hydrazide et à la paire électronique libre de l'azote α (sp³).

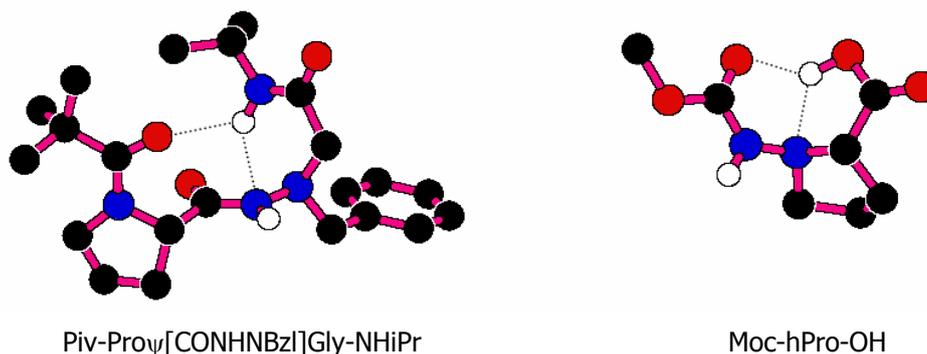


Figure 33 : liaisons hydrogène bifides dans les hydrazinopeptides.

Des études à la fois théoriques¹⁰ et expérimentales¹¹ ont été effectuées sur des polyhydrazinopeptides. Il ressort de ces études que la présence du fragment N α H ouvre de nouvelles possibilités pour l'établissement de structures secondaires. Il peut potentiellement intervenir comme accepteur et/ou donneur de liaisons hydrogène et combiner son action à celle des contacts CO \parallel HN classiques.

Plus récemment Salaün et coll.¹² se sont intéressés à la synthèse et à l'étude des aza- β^3 -peptides dérivés de l'acide hydrazinoacétique $N\alpha$ -substitués. La chiralité de ces composés est alors portée par l'atome d'azote α (figure 34).

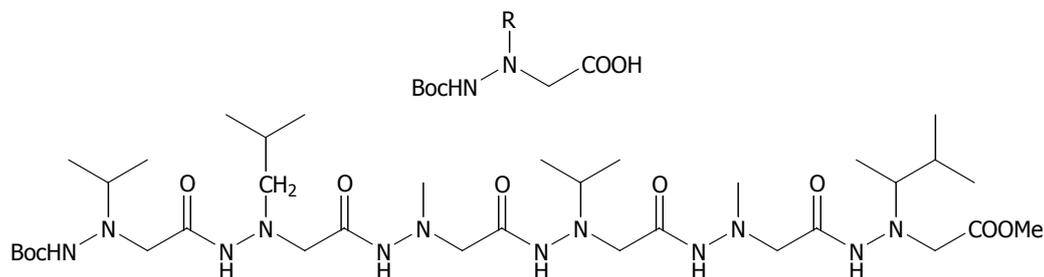


Figure 34 : aza- β^3 -peptides.

¹⁰ Günther, R.; Hofmann, H.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 247-255.

¹¹ Lelais, G.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta.* **2003**, 86, 4152-4168.

¹² Salaün, A.; Potel, M.; Roisnel, T.; Gall, P.; Le Grel, P. *J. Org. Chem. Note* **2005**, 70, 6499-6502.

Ils ont observé une structuration de ces composés par formation de pseudocycles en C_8 obtenus par un réseau de liaisons hydrogène du cœur du squelette de l'oligomère, entre un $N\beta H$ et le carbonyle d'un carbazate à l'extrémité N -terminale, et entre le carbonyle hydrazidique et un NH amide ou un OH d'acide à l'extrémité C -terminale (figure 35).

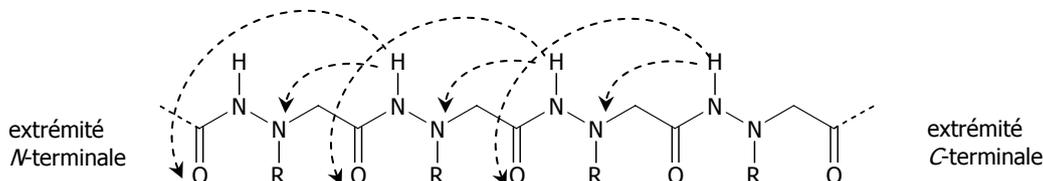


Figure 35 : liaisons H pouvant s'établir dans un β^3 -aza-peptide.

L'étude structurale de ces molécules a montré deux conformations privilégiées de l'azote α , dont notamment une conformation étirée faisant apparaître une configuration absolue identique des atomes d'azotes α et une conformation cyclique faisant apparaître une alternance R,S pour la configuration absolue des azotes α .

Les aminoxypeptides

Les aminoxypeptides sont des analogues des β -peptides pour lesquels on aurait substitué un atome de carbone par un atome d'oxygène (figure 36) :

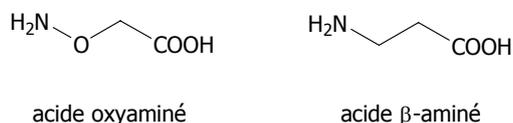


Figure 36 : analogie entre β - et aminoxypeptides.

L'atome d'oxygène supplémentaire du lien hydroxylamine engendre une torsion particulière du squelette pseudopeptidique¹³ et donne naissance à une liaison hydrogène refermant un cycle en C_8 (appelé coude N-O) comparable à un coude γ (figure 37).

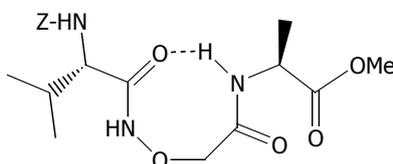


Figure 37 : cycle en C_8 dans les aminoxypeptides.

Une étude structurale expérimentale et théorique a été effectuée sur des poly α -aminoxypeptides¹⁴ et montré une conformation en hélice droite, correspondant à l'empilement de coudes N-O.

¹³ Yang, D.; Ng, F.-F.; Li, Z.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9794-9795.

Les β -peptides soufrés.

Différents analogues soufrés des β -peptides ont été synthétisés et étudiés (figure 38) :

- les β -sulfonopeptides¹⁵,
- les β -sulfinopeptides^{15b},
- et les sulfoximines peptides¹⁶.

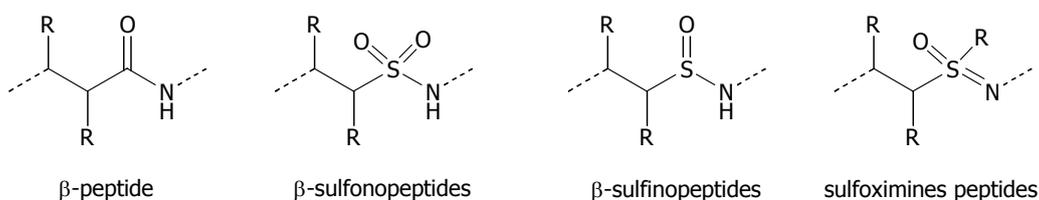


Figure 38 : Structures des différents β -peptides soufrés.

Le remplacement de la liaison peptidique par une sulfonamide secondaire engendre deux modifications structurales importantes¹⁷ :

- la barrière énergétique de rotation autour de la liaison S-N est beaucoup plus faible qu'autour de la liaison C-N,
- l'angle dièdre ω défini par la liaison H-N-S=O le plus favorable est $\omega=0^\circ$ (en opposition avec la liaison peptidique où $\omega=180^\circ$).

c) Les γ -peptides.

Les γ -peptides sont constitués de l'assemblage de γ -aminoacides et possèdent deux atomes de carbones supplémentaires qui engendrent des degrés de liberté supplémentaires pour la chaîne pseudopeptidique. Une ou plusieurs chaînes latérales peuvent être introduites en 2, 3 et/ou 4 de la fonction acide carboxylique (figure 39) avec des stéréochimies contrôlées.

¹⁴ a) Yang, D.; Qu, J.; Li, B.; Ng, F.-F.; Wang, X.-C.; Cheung, K. K.; Wang, D.-P.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 589-590. b) Wu, Y.-D.; Wang, D.-P.; Chan, K. W. K.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11189-11196.

¹⁵ a) Gennari, C.; Salom, B.; Potenza, D.; Williams, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 2067-2069. b) Moree, W. J.; Van der Marel, G. A.; Liskamp, R. J. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5157-5169. c) Gude, M.; Piarilli, U.; Potenza, D.; Salom, B.; Gennari, C. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8589-8592. d) Monnee, M. C. F.; Marijine, M. F.; Brouwer, A. J.; Liskamp, R. M. J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 7991-7995.

¹⁶ Bolm, C.; Moll, G.; Kahmann, J. D. *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 1118-1128.

¹⁷ a) Bindal, R. D.; Golab, J. T.; Katzenellenbogen, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7861-7868. b) Radkiewicz, J. L.; McAllister, M. A.; Goldstein, E.; Houk, K. N. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 1419-1428.

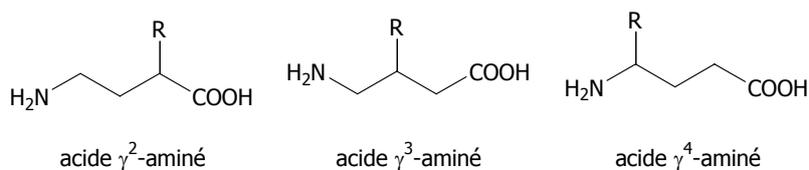


Figure 39 : différents types de γ -aminoacides.

A l'instar des β -peptides, les γ -peptides adoptent des conformations en coude ou en hélice en solution. Seebach et coll.¹⁸ ont montré que les γ^4 -peptides formaient des hélices 14 différentes de celles existantes dans les β -peptides (figure 40).

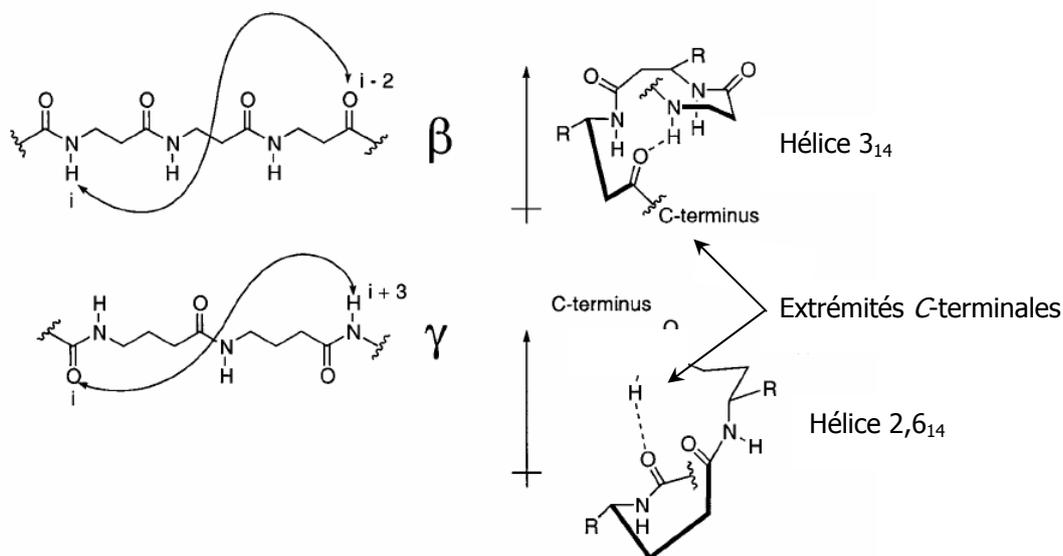


Figure 40 : comparaison entre les hélices 14 des β - et γ -peptides.

Plus récemment l'équipe de Guichard¹⁹ a démontré que des analogues des γ -peptides, les oligourées, forment des hélices 2,5₁₄ en solution (figure 41).

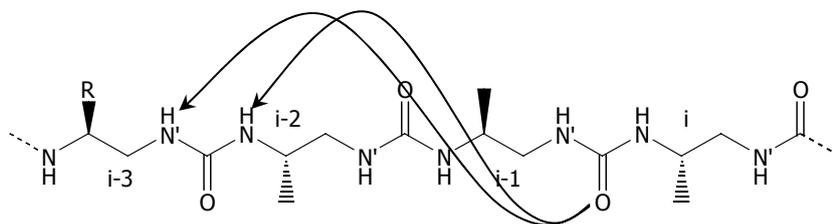


Figure 41 : Liaisons H dans les oligourées.

¹⁸ Brenner, M.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **2001**, 84, 1181-1189.

¹⁹ Violette, A; Averlant-Petit, M.-C.; Semetey, V.; Hemmerlin, C.; Casimir, R.; Graff, R.; Marraud, M.; Briand, J.-P.; Rognan, D.; Guichard, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 2156-2164.

d) Les α/β peptides.

Récemment l'équipe de Gellman a synthétisé des pseudopeptides mixtes α,β ²⁰. Lors de cette étude ils ont montré que ces pseudopeptides mixtes continuaient à s'autostructurer et adoptaient des formes identiques aux β -peptides telles que les hélices 11, 14/15, 18 (Figure 42).

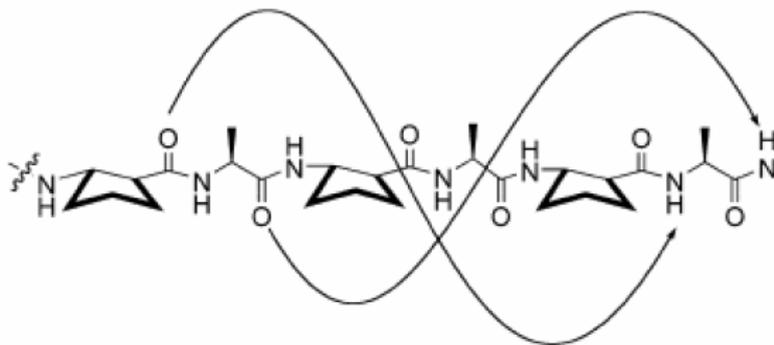


Figure 42 : Exemple de liaisons H dans les α/β -peptides (hélice 18).

e) Les N-aminopeptides.

Les N-aminopeptides sont des analogues d' α -peptides pour lesquels l'hydrogène du lien peptidique est substitué par une fonction NH_2 .

Comme nous l'avons mentionné au cours du premier chapitre, les N-aminopeptides, de part leurs difficultés de synthèse, ont été très peu étudiés sur le plan synthétique et structural.

Les premières études structurales ont été effectuées en solution par infrarouge et RMN, et à l'état solide par diffraction de rayons X, réalisées par Aubry et coll.²¹ sur un N-aminodipeptides de formule Piv-Pro Ψ [CON(NH_2)]Gly-NHiPr. Ils ont montré l'existence d'une liaison hydrogène refermant un pseudocycle à 10 atomes entre l'hydrogène du groupement NH-iPr et l'oxygène du groupement Piv (figure 43).

²⁰ a) Schmitt, M. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 6848-6849. b) Schmitt, M. A.; Choi, S. H.; Guzei, L. A.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13130-13131. c) Hayen, A.; Schmitt, M. A.; Ngassa, F. N.; Thomasson, K. A.; Gellman, S. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 505-510. d) Schmitt, M. A.; Choi, S. H.; Guzei, L. A.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 4538-4539.

²¹ Lecoq, A.; Marraud, M.; Aubry, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 2765-2768.

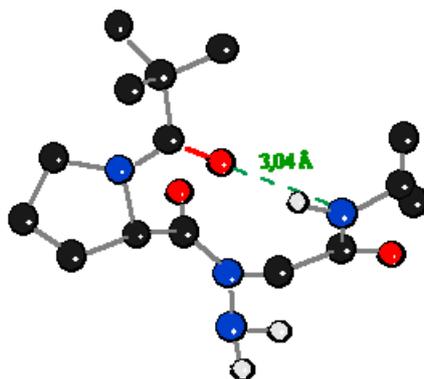


Figure 43 : structure cristalline du *N*-aminodipeptide Piv-Prov[CON(NH₂)]Gly-NHiPr.

Cependant, d'un point de vue structural, il a été démontré que l'amination de l'atome d'azote de la liaison peptidique n'avait qu'une très faible influence sur la géométrie locale mais affecte la structure de la liaison hydrogène du C₁₀ formé²². Par conséquent, les propriétés conformationnelles du pseudodipeptide s'en trouvent modifiées.

Une étude théorique complète²³ menée plus récemment sur des *N*-aminodipeptides contenant un résidu glycine ou proline confirme le fait que la présence du motif *N*-amino engendre de fortes modifications au niveau de l'isomérisation de la liaison peptidique ainsi que des changements conformationnels dans les dipeptides considérés.

Ce sont à ce jour les seules données structurales que nous possédons sur cette famille de pseudo-peptides.

I.3 Fonctions des foldamères.

Les macromolécules biologiques (ADN, protéines...) assurent une multitude de fonctions dans l'organisme : le stockage de l'information génétique, la catalyse de réaction enzymatique... La structure tridimensionnelle qu'adoptent ces macromolécules est un élément indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Prenons en exemple la double hélice d'ADN : sans cette structuration compacte, la transmission de l'information génétique serait impossible.

La synthèse de molécules capables de s'auto-structurer ouvre donc de nouvelles perspectives thérapeutiques basées sur le mime des macromolécules biologiques : thérapie génique, inhibition des interactions protéines-protéines, propriétés antibiotiques...

²² a) Dupond, V.; Lecoq, A.; Mangeot, J.-P.; Aubry, A.; Boussard, G.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8898-8906. b) Aubry, A.; Del Duca, V.; Pedone, C.; Zerkout, S.; Marraud, M. *Acta Crystallogr.* **1999**, C55, 439-441

²³ Alemán, C. *J. Phys. Chem.* **2002**, 106, 1441-1449.

Deux grandes familles de foldamères sont à distinguer :

- les foldamères mono-brins ou mono-caténares : peptidomimétiques et analogues abiotiques (qui ont des propriétés intrinsèques et spécifiques de repliement),
- les foldamères multi-brins ou multi-caténares : nucléotidomimétiques et analogues abiotiques (qui ont des propriétés intrinsèques et spécifiques de repliement et d'autoassociation)

Nous n'exposerons ici que les fonctions des foldamères peptidomimétiques, la famille des foldamères nucléotidomimétiques (PNAs) ayant été rapidement introduite dans le chapitre 1.

Au cours de ces quarante dernières années, de nombreux peptides biologiquement actifs ont été isolés et caractérisés. Ces enzymes, hormones ou neurotransmetteurs qui exercent dans l'organisme des fonctions biologiques très diverses présentent souvent un intérêt thérapeutique potentiel. Cependant, l'utilisation de peptides comme agents thérapeutiques est en partie limitée par leurs propriétés pharmacocinétiques et métaboliques généralement décevante : faible pouvoir de franchissement des barrières physiologiques, dégradation rapide par les enzymes présentes dans le système digestif et dans le sérum²⁴. C'est pourquoi de nombreuses équipes se sont intéressées à la synthèse de peptides modifiés et particulièrement les β -peptides, qui présentent une invulnérabilité face à l'attaque des protéases intracellulaires²⁵.

I.3.1. Activité antimicrobienne des foldamères.

Les hélices amphiphiles formées au sein des peptides anti-microbiens sont les éléments clés du système immunitaire inné et des peptides de défense de l'hôte sont des sources potentielles pour de nouvelles thérapies antibiotiques. Aussi, beaucoup d'efforts sont fournis dans le domaine de la synthèse de foldamères possédant une activité antibiotique car ces derniers sont moins soumis à la dégradation protéolytique que les peptides composés de résidus protéinogéniques.

La plupart des peptides antimicrobiens partagent un motif structural : une hélice linéaire, amphipathique et cationique capable de traverser les membranes biologiques et de lyser la cellule.

La sélectivité des foldamères antibiotiques pour les bactéries est régie par l'établissement d'interactions électrostatiques entre la charge positive du peptide et la charge négative présente à la surface des membranes bactériennes. Ces interactions sont plus élevées comparées à celles qui existent avec la membrane des cellules des mammifères qui a plutôt une dominante zwitterionique

²⁴ a) Fauchère, J. L.; Thurieau, C. *Adv. Drug Res.* **1992**, 23, 128-159. b) Fauchère, J. L. *Adv. Drug Res.* **1986**, 15, 29-69. c) Dutta, A. S. *Adv. Drug Res.* **1991**, 21, 145-286. d) Hruby, V. J.; Al-Obeidi, F.; Kazamierski, W. *Biochem. J.* **1990**, 268, 249-262.

²⁵ Frackenhohl, J.; Arvidsson, P.I.; Schreiber, J.V.; Seebach, D. *ChemBiochem* **2001**, 2, 445-455.

avec une charge neutre. Cependant, le fait qu'un peptide excessivement hydrophobe puisse se fixer sur la membrane de n'importe quelle cellule risque de diminuer la sélectivité des foldamères antimicrobiens. La sélectivité peut être accrue par une balance entre hydrophobicité et charge électrostatique.

Plusieurs équipes se sont intéressées à l'activité antibiotique des β -peptides mimant le peptide antibactérien magainine (figure 44), ce dernier illustrant les caractéristiques physiques idéales pour obtenir une bonne efficacité antibiotique et une bonne biocompatibilité.

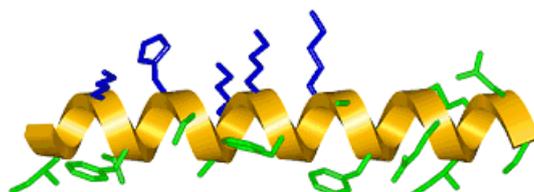


Figure 44 : structure amphiphilique de la magainine.

Le choix des β -peptides plutôt que des α -peptides dans ce contexte est lié à la présence du groupement méthylène supplémentaire qui engendre d'avantage de liberté conformationnelle dans le squelette du pseudopeptide. Si les α -peptides ont tendance à adopter spontanément des structures en hélice α , l'éventail de conformations des hélices dans les séquences de β -peptides sera beaucoup plus larges et dépendra largement des substitutions des atomes $C\alpha$ et $C\beta$ ²⁶. Parmi les plus utilisées, on recense surtout les hélices 12 et 14.

L'équipe de recherche de De Grado a proposé un protocole de design *de novo* d'une structure amphipatique, cationique et monosubstituée d'une hélice 14 basée sur un squelette β -peptidique²⁷. Ce composé lutte contre les infections par les bactéries GRAM négatives E.coli. Malgré un fort pouvoir antibiotique, ce dernier dispose d'une faible sélectivité. D'après les résultats observés, l'équipe de recherche a conclu que la faible sélectivité du β -peptide était due à l'hydrophobicité importante de ses chaînes latérales. Par la suite, De Grado et ses collaborateurs ont modifié l'hélice originale en remplaçant les résidus valine par des résidus alanine beaucoup moins hydrophobes. Cette substitution permet d'abolir l'activité hémolytique tout en conservant une bonne efficacité antibactérienne²⁸.

Parallèlement et indépendamment, Seebach et coll. ont synthétisé des β -peptides monosubstitués similaires à ceux de De Grado, qui adoptent des conformations en hélice 14²⁹. Contrairement à De Grado, ils ont sélectionné des résidus phénylalanine visant à réduire l'hydrophobicité de β -peptides

²⁶ Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; De Grado, W. F. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3219-3232.

²⁷ Tew, G. N.; Liu, D.; Chen, B.; Doerksen, R. J.; Kaplan, J.; Carroll, P. J.; Klein, M. L.; De Grado W. F. *PNAS* **2002**, 99, 5110-5114.

²⁸ Liu, D.; De Grado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7553-7559.

²⁹ Arvidsson, P. I.; Frackenhohl, J.; Ryder, N. S.; Liechty, B.; Petersen, F.; Zimmermann, H.; Camenisch, G. P.; Woessner, R.; Seebach, D. *ChemBiochem* **2001**, 10, 771-773.

étudiés. L'activité hémolytique est comparable à la précédente mais la séquence choisie entraîne une diminution de l'activité antimicrobienne.

Alors que De Grado et Seebach se sont focalisés sur des conformations en hélices 14, Gellman et coll. ont mis en évidence un β -peptides de 17 résidus d'acides aminés (figure 45) adoptant une conformation en hélice 12³⁰. Ce dernier possède un large champ d'activités antibactériennes dirigé à la fois contre des bactéries Gram + et Gram -. Contrairement aux hélices 14, le pseudopeptide β -17 est constitué de résidus cyclopentyles et sont par conséquent disubstitués en C α et C β . La disubstitution entraîne une augmentation de la rigidité de la structure, mais la diminution de la liberté conformationnelle n'affecte ni la sélectivité ni l'activité du pseudopeptide β -17.

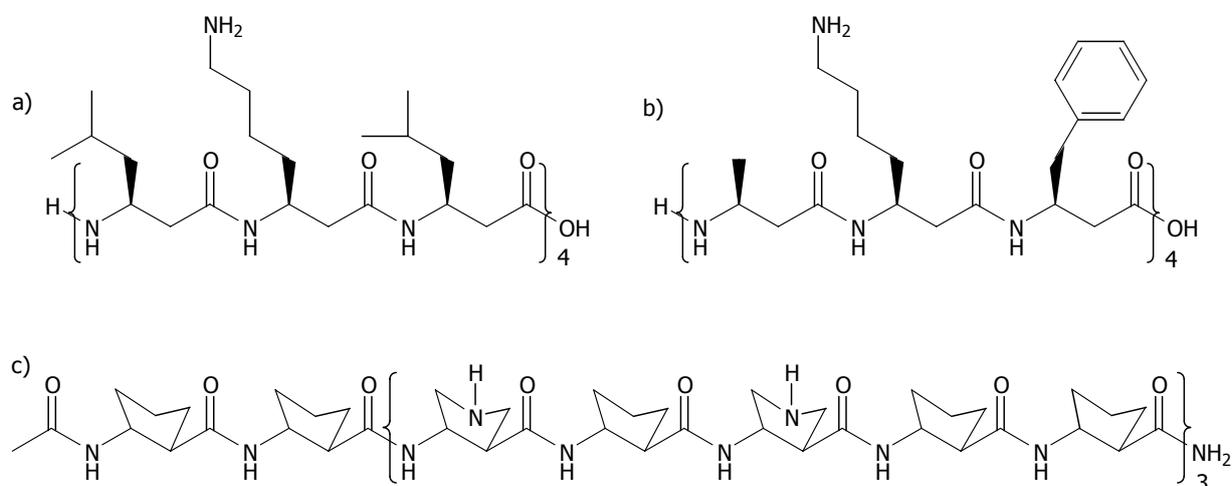


Figure 45 : β -peptides antibactériens de a) De Grado, b) Seebach et c) Gellman.

En résumé, il semblerait que les foldamères formant une hélice cationique et amphiphile avec une balance appropriée entre charge et hydrophobicité soient de bons candidats antibactériens à la fois efficaces et sélectifs. Ainsi, différents groupes ont étudiés des tels peptidomimétiques présentant un intérêt certain pour le développement de nouvelles thérapies antibiotiques.

Au regard des travaux actuels ; il est clair que le répertoire de foldamères peptidomimétiques basés sur un squelette autre que celui des β -peptides va se développer. En effet, De Grado et coll. ont déjà mis au point une synthèse facile et peu coûteuse de polyarylamides hydrosolubles avec une structure amphiphile dominante prédite *in silico*²⁷. Des polymères, composés de 8 unités monomères ont une efficacité comparable à celles des β -peptides contre les bactéries Gram + et Gram -. Bien que ces polymères demeurent encore hémolytiques, une réduction de l'hydrophobicité moléculaire sera accessible par un redesign de ce dernier.

³⁰ Porter, E. A.; Wang, X.; Lee, H.-S.; Weisblum B.; Gellman S. H. *Nature*, **2000**, 404, 565.

I.3.2. Interactions foldamères-macromolécules.

Les mimes de peptides qui interagissent avec des acides nucléiques offre plusieurs champs d'applications pour la biologie moléculaire et la médecine. En effet, les peptidomimétiques capables de se lier aux ADN ou aux ARN sont en mesure d'affecter la transcription ou la réplication d'un gène, ce qui présente un intérêt non négligeable pour de futures applications thérapeutiques.

Pour illustrer ce propos, l'exemple du mime de la protéine Tat du VIH sera explicité dans le cadre d'un traitement anti-VIH.

La réplication du VIH est permise par une interaction entre la protéine Tat et une séquence d'ARN de 59 paires de bases possédant une structure en hélice et nommée région de trans-activation (TAR) localisée à l'extrémité 5' de la molécule d'ARNm du virus³¹. Aussi, l'abolition de l'interaction entre la protéine Tat et l'ARN du VIH présente un intérêt pour le développement d'une thérapie de lutte contre le SIDA. Les chercheurs se sont donc focalisés sur la synthèse de foldamères mimant la protéine Tat et capable d'inhiber l'interaction Tat-TAR par un mécanisme compétitif. Pour l'instant, Tamilarasu et coll. ont développé des mimes du domaine de liaison de Tat à TAR sous la forme d'oligourées et d'oligocarbamates. Ces composés entre en compétition avec la protéine Tat pour la liaison avec le domaine TAR³².

Les oligourées et les oligocarbamates synthétisés (figure 46) présentent des constantes de dissociation comparables au domaine de liaison TAR de Tat synthétique et d'autre part, les auteurs ont démontré que ces foldamères étaient capable d'abolir l'expression du gène HIV-1 *in vivo*.

³¹ Liu, Y.; Wang, Z.; Rana, T. M. **1996**, 271, 10391–10396.

³² Tamilarasu, N.; Huq, I.; Rana, T. M. *Bioorg. Chem. Lett.* **2001**, 11, 505-507.

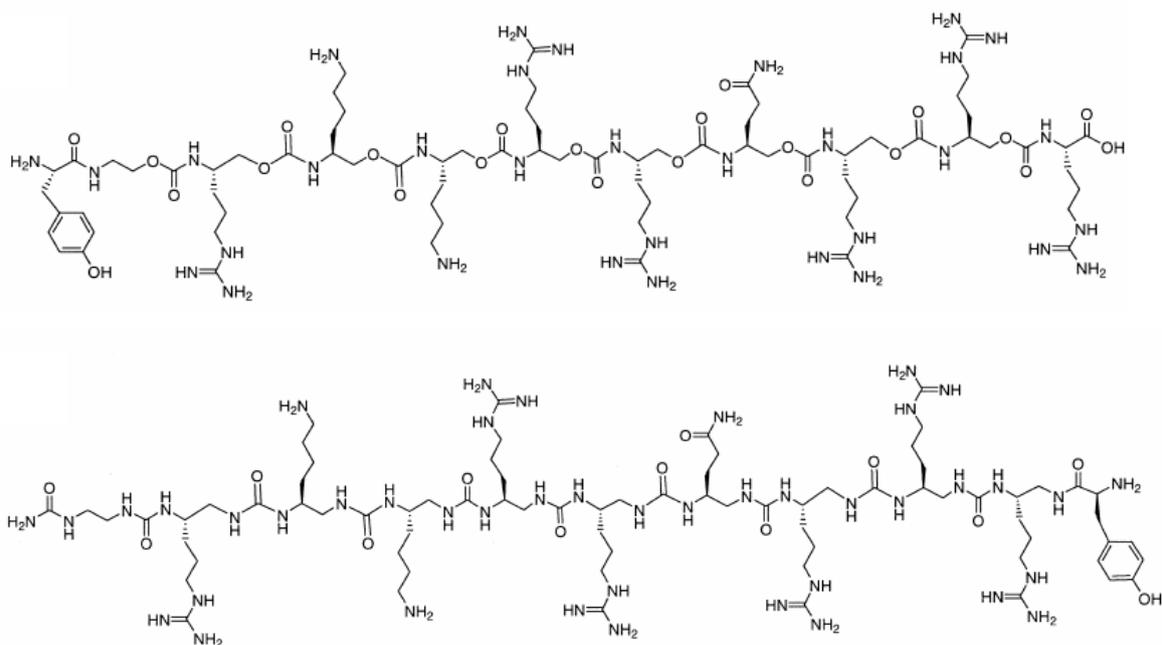


Figure 46 : oligocarbamates et oligourées qui inhibent l'interaction Tat-TAR.

Gellman et coll. ont également synthétisé des β -peptides mimant le domaine de fixation Tat-TAR avec une activité comparable à celle du peptide natif (figure 47)³³.

- 1 = FI- β^3 hTyr- β^3 hGly- β^3 hArg- β^3 hLys- β^3 hLys- β^3 hArg- β^3 hArg- β^3 hGln- β^3 hArg- β^3 hArg- β^3 hArg-NH₂
- 2 = FI-Tyr-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-NH₂
- 3 = FI- β^3 hTyr- β^3 hGly- β^3 hArg- β^3 hLys- β^3 hLys- β^3 hArg- β^3 hArg- β^3 hGln-NH₂
- 4 = FI-Tyr-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-NH₂
- 5 = β^3 hTyr- β^3 hGly- β^3 hArg- β^3 hLys- β^3 hLys- β^3 hArg- β^3 hArg- β^3 hGln- β^3 hArg- β^3 hArg- β^3 hArg

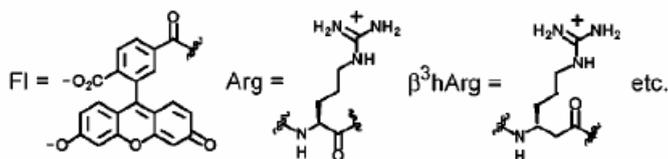


Figure 47 : les β -peptides de Gellman qui inhibent l'interaction Tat-TAR.

Il serait intéressant de greffer ce petit peptide à des oligomères peptidomimétiques non naturel afin de faciliter la capture de ce dernier par la cellule infectée et gagner le milieu intracellulaire.

³³ Umezawa, N.; Gelman, M. A.; Haigis, M. C.; Raines, R. T.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 368-369.

I.3.3. Autres applications.

Les chercheurs sont actuellement en train de développer un grand nombre d'oligomères non naturels ayant pour vocation de mimer des peptides bioactifs.

Des ligands peptoïdes sont par exemple mis en avant pour aider à la modulation de la réponse du système immunitaire et par voie de conséquence constituent une thérapie efficace pour lutter contre les maladies auto-immunes³⁴.

D'autre part, de nouveaux analogues de la somatostatine (hormone sécrétée par les cellules de l'hypothalamus, les cellules delta de l'estomac, de l'intestin et du pancréas qui a pour fonction d'inhiber les sécrétions hormonales digestives) ont vu le jour sous forme de β -peptides³⁵.

Enfin, un peptoïde hélicoïdal mimant la protéine C de surfactant pulmonaire est à ce jour le seul agent de traitement issu de la recherche sur les foldamères à être commercialisé et utilisé en thérapeutique³⁶.

II. Etude structurale d'oligomères N-aminopeptidiques.

II.1. Comment mettre en évidence l'établissement d'une structuration compacte en solution et à l'état solide d'une molécule ?

Il existe de nombreux outils physico-chimiques qui permettent la mise en évidence des interactions responsables de la structuration d'un oligomère :

- la spectroscopie infrarouge,
- la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire,
- le dichroïsme circulaire,
- la diffraction de rayon X
- et enfin, la modélisation moléculaire.

Nous allons dans un premier temps décrire ces méthodes et les informations structurales obtenus grâce à la mise en œuvre de ces techniques.

³⁴ De Haan, E. C.; Wauben, M. H. M.; Grosfeld-Stulemeyer, M. C.; Kruijtzter, J. A. W.; Liskamp, R. M. J.; Moret, E. E. *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, 10, 1939–1945.

³⁵ Gademann, K.; Kimmerlin, T.; Hoyer, D.; Seebach, D. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2460-2468.

³⁶ Wu, C. W.; Seurnyck, S. L.; Lee, K. Y. C; Barron, A. E. *Chem. Biol.* **2003**, 10, 1057-1063.

II.1.1. Spectroscopie Infrarouge.

Les mouvements de vibration des atomes d'une molécule s'accompagnent d'une modification soit en amplitude, soit en direction de son moment dipolaire électrique. Ce phénomène est à l'origine de l'absorption de type vibrationnel dans le domaine des ondes infrarouges.

Lorsque l'on étudie des peptides ou des pseudopeptides par spectroscopie infrarouge, il existe trois types de bandes d'absorption intéressantes :

- les bandes correspondant aux vibrations d'élongation C=O (bande amide I dans le domaine des nombres d'ondes compris entre 1720 et 1580 cm^{-1}).
- les bandes correspondant aux vibrations d'élongation N-H (bande A dans le domaine de nombres d'ondes compris entre 3520 et 3200 cm^{-1}),
- les bandes correspondant aux vibrations de déformations N-H (bande amide II dans le domaine de nombres d'ondes compris entre 1650 et 1590 cm^{-1}).

Mise en évidence de l'établissement de liaisons hydrogène par infrarouge.

Exemple sur les bandes d'élongation NH :

La fréquence de vibration d'une molécule est donnée par la loi de Hooke :

$$\nu(\text{Hz}) = \frac{1}{2\pi C} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Où k est la constante de raideur du vibreur N-H et μ la masse réduite des deux atomes reliés par cette liaison. L'établissement d'une liaison hydrogène entre un proton N-H et un groupement carbonyle entraîne une diminution de la force des liaisons N-H et C=O considérées, d'où une diminution de la fréquence d'oscillation du vibreur NH. En pratique, sur les spectres infrarouge, on observe un déplacement de la bande d'absorption vers les faibles nombres d'ondes (figure 48). Les variations relatives des fréquences reflètent la force de l'interaction qui s'établit.

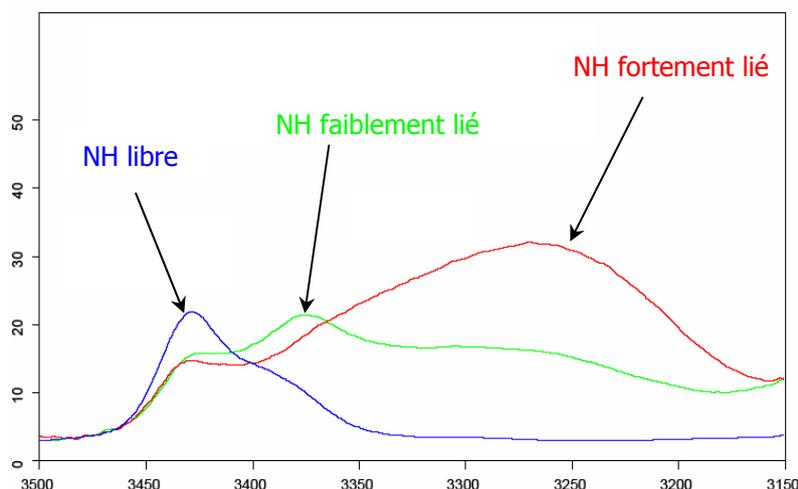


Figure 48 : observation de l'établissement d'une liaison hydrogène en infrarouge.

II.1.2. Résonance Magnétique Nucléaire.

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) repose sur l'interaction entre une onde électromagnétique et le moment magnétique porté par certains noyaux (qui possèdent un spin égal à $\frac{1}{2}$), comme ^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{15}N ,... En présence d'un champ magnétique homogène et stable, les spins de ces noyaux subissent un mouvement de précession dont on peut détecter la fréquence. La fréquence mesurée est caractéristique du noyau observé et de son environnement électronique. Les informations classiquement fournies par la RMN sont :

- les déplacements chimiques des noyaux observés,
- les constantes de couplage,
- les effets Overhauser nucléaires,
- les temps de relaxation.

La RMN constitue une méthode de choix pour l'analyse structurale de molécules en solution. On peut notamment mettre en évidence l'établissement de liaisons hydrogène ou déterminer les angles de torsion particuliers de petites molécules.

Mise en évidence de l'établissement de liaisons hydrogène par RMN.

Lors de l'étude des pseudopeptides par RMN, on s'intéresse principalement aux déplacements chimiques des groupements amines ou amides de la molécule, qui peuvent établir des liaisons hydrogène intramoléculaires ou intermoléculaires.

- Influence de la concentration.

La probabilité de l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires augmente lorsque l'on se trouve en milieu concentré. Un proton NH impliqué dans une liaison hydrogène intermoléculaire sera très sensible aux variations de concentration. Cela se traduit sur le spectre par une augmentation de son déplacement chimique vers les champs faibles. Un proton NH impliqué dans une liaison intramoléculaire sera peu sensible aux variations de concentrations, ce qui se traduit par un déplacement chimique constant.

- Influence du DMSO-d₆.

Le groupement sulfoxyde S=O du DMSO est un groupement accepteur de liaison hydrogène. Une interaction intermoléculaire peut donc s'établir entre les protons NH de la molécule étudiée et le solvant utilisé pour enregistrer le spectre RMN.

Un proton NH impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire est très peu affecté par les contacts intermoléculaires avec les molécules de DMSO. Si l'on enregistre différents spectres dans des mélanges CDCl₃/DMSO-d₆ pour lesquels le pourcentage de DMSO augmente, le déplacement chimique du NH lié par une liaison hydrogène intramoléculaire sera sensiblement constant.

Par contre, un proton NH non impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire sera très sensible à l'augmentation du pourcentage de DMSO dans le milieu on observera alors une augmentation de son déplacement chimique vers les champs faibles (figure 49).

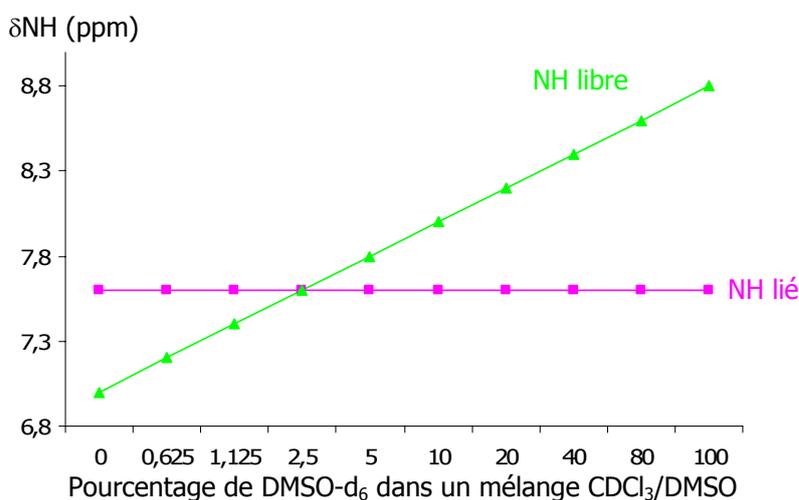


Figure 49 : Influence de la concentration en DMSO sur δ NH lié et δ NH libre.

- Utilisation de la RMN à deux dimensions.

Certaines méthodes expérimentales de RMN à deux dimensions permettent d'obtenir des renseignements sur les distances interatomiques de groupement non directement liés de façon covalente :

- la séquence ROESY (Rotating frame Overhauser Effect Spectroscopy)
- la séquence NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy).

L'effet Overhauser repose sur les couplages dipolaires (interactions dipôle-dipôle) entre protons à travers l'espace. Ces couplages dipolaires ne sont observables que pour les distances interatomiques inférieures à 4Å. L'existence de corrélations permet donc de repérer les atomes proches dans l'espace.

II.1.3. Dichroïsme Circulaire.

Cette technique spectroscopique repose sur la capacité qu'ont les structures optiquement actives d'absorber de façon inégale la lumière polarisée circulairement à droite et à gauche. Cette différence d'absorption est due à une asymétrie structurale de la molécule étudiée. L'absence d'organisation structurale dans la molécule étudiée engendre un spectre DC dont l'intensité est nulle, alors qu'une structuration compacte résulte en un spectre qui peut contenir à la fois des signaux positifs et négatifs.

Le dichroïsme circulaire est une méthode spectroscopique largement utilisée pour l'analyse conformationnelle de peptides et de protéines. Dans le cas des protéines, les spectres renseignent sur la nature des structures secondaires présentes dans la molécule analysée. L'allure d'un spectre DC dépend de l'organisation locale de la liaison peptidique, ce qui permet donc de distinguer les hélices α , les feuillets β , les coudes et les structures désordonnées. L'enregistrement des spectres DC permet d'évaluer les changements d'états conformationnels d'une protéine en fonction de nombreux facteurs.

Plus récemment, cette méthode a été transposée à l'analyse d'oligomères pseudopeptidiques tels que les β -peptides^{8,25}, les peptoïdes³⁵ ou encore les oligourées¹⁹.

II.1.4. Modélisation moléculaire.

La modélisation moléculaire consiste en un ensemble de techniques qui permet de simuler et/ou de prévoir le comportement de systèmes moléculaires. Il existe différentes méthodes de calculs pour caractériser les forces d'interactions qui agissent sur un système. Nous ne décrivons que les méthodes quantiques et empiriques, mais il est important de noter qu'il existe d'autres méthodes, dites semi-empiriques, qui sont un mélange des deux méthodes citées précédemment.

a) Les méthodes quantiques.

Elles sont basées sur la description du comportement électronique des atomes et des molécules. Elles permettent de connaître les propriétés qui dépendent de la distribution des électrons. Cependant, seule l'étude de petites molécules est possible car ces méthodes sont limitées par la capacité de calcul dont nous disposons à l'heure actuelle.

b) Les méthodes empiriques.

La mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire consistent à utiliser les lois de la mécanique classique pour simuler le comportement d'un système moléculaire. Ces méthodes sont basées sur l'utilisation de données expérimentales issues de la spectroscopie infrarouge, de la RMN ou de la diffraction des rayons X (comme les valeurs des angles de torsions, ou les longueurs de liaisons), et elles constituent le champ de forces. On peut ainsi, en choisissant convenablement le champ de forces, obtenir plusieurs conformères de la molécule étudiée, dont l'énergie aura été minimisée, proches de la conformation réelle de la molécule en solution.

Les champs de forces empiriques.

En mécanique moléculaire, un champ de force désigne l'ensemble des équations et leurs paramètres décrivant l'énergie potentielle d'une molécule. Les modèles de mécanique moléculaire consistent en des atomes sphériques reliés par des ressorts qui représentent les liaisons. Les forces internes considérées dans la structure modélisée sont décrites en utilisant des fonctions mathématiques simples. Ainsi, l'énergie potentielle d'une molécule peut s'écrire de la manière suivante :

$$E_p = E_{\text{liaisons}} + E_{\text{angles}} + E_{\text{torsions}} + E_{\text{non liés}}$$

Où : E_{liaisons} correspond à la somme des énergies d'élongations des liaisons présentes dans la molécule,

E_{angles} correspond à la somme des énergies de flexions existantes entre deux liaisons formées par trois atomes,

E_{torsions} correspond à la somme des énergies dues à la rotation d'une liaison suivant l'angle dièdre ω formé par quatre atomes

et enfin $E_{\text{non liés}}$ correspond à la somme des interactions existantes entre deux atomes non liés de façon covalente (interactions de Van der Waals, interactions électrostatiques).

La mécanique moléculaire.

La mécanique moléculaire nous permet de minimiser l'énergie calculée à partir de l'équation de l'énergie potentielle afin d'obtenir des configurations de plus basse énergie de notre système. Il existe différentes méthodes pour minimiser l'énergie d'un système, mais elles dépendent du point initial et les structures « minimisées » correspondent généralement au minimum local le plus proche de la structure de départ plutôt qu'au minimum global d'énergie. La minimisation correspond donc à la première étape d'un protocole de dynamique moléculaire plutôt qu'à une fin en soi.

La dynamique moléculaire.

La dynamique moléculaire est une méthode qui permet de connaître le comportement d'un système au cours du temps.

L'énergie totale d'un système se décompose en deux termes :

- l'énergie potentielle, donnée par le champ de force,
- l'énergie cinétique liée à la température du système.

L'apport d'énergie cinétique induite par une augmentation de la température permet au système de quitter le minimum local atteint lors de l'étape de minimisation d'énergie (figure 50).

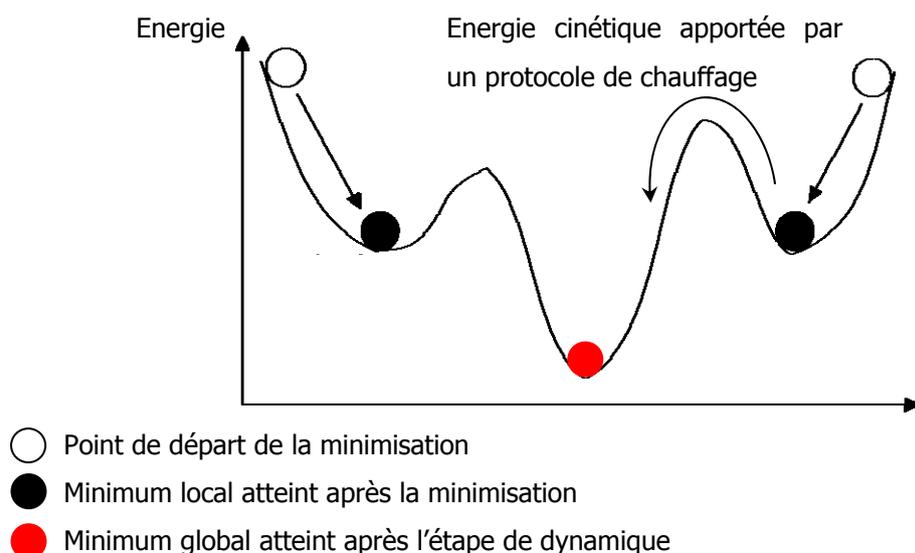


Figure 50 : différence entre minimum local et minimum global.

La combinaison mécanique/dynamique moléculaire permet d'avoir accès à des informations proches du comportement réel du système étudié, mais il est impératif de confirmer les résultats obtenus *in silico* par des techniques expérimentales.

II.1.5. Diffraction de rayons X.

La diffraction des rayons X est la méthode qui permet d'accéder à une conformation privilégiée au sein d'une molécule à l'état solide. Elle fournit des informations sur les paramètres géométriques (longueurs et angles de liaison) et sur la présence d'interactions inter et intramoléculaires (liaisons hydrogène). Cette méthode *a priori* très performante connaît cependant des limites. Son utilisation reste d'abord conditionnée par l'obtention de monocristaux de bonne qualité. Par ailleurs, dans un cristal, les forces d'empilement et de cohésion peuvent s'exercer au détriment des interactions intramoléculaires potentielles. La conformation déterminée par radiocristallographie ne correspond donc pas forcément à celle du composé en solution très diluée ou sous forme bioactive.

II.2. Etude structurale d' [α -N-amino]mères.

Les techniques énoncées précédemment ont été utilisées conjointement pour essayer de résoudre la structure des [α -N-amino]mères synthétisés. Cette étude structurale est rendue très difficile par la nature des composés, car il y a répétition de signaux d'une part et également un équilibre conformationnel, d'autre part, qui rend difficile l'analyse par RMN (l'échange conformationnel conduit à un élargissement des raies de résonance). La première approche des structures a été réalisée par

dynamique moléculaire. Les liaisons hydrogène ont été mises en évidence ensuite expérimentalement par des approches spectroscopiques.

II.2.1. Etude préliminaire de l'équilibre Z/ E de la liaison N-aminopeptidique.

Lors de la caractérisation des N-aminodipeptides **3** (P^1 -Xaa ψ [CON(NPht)]Xbb-OR³) par RMN ¹H, nous avons pu observer deux jeux de signaux nettement discernables sur le spectre proton. Nous avons attribué ce dédoublement de pics à l'équilibre Z/E du lien N-aminoamide représenté sur la figure 51 :

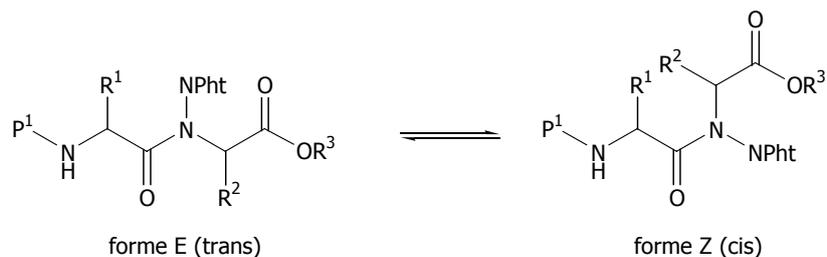


Figure 51 : équilibre Z/ E de la liaison N-aminopeptidique.

Afin de confirmer cette hypothèse, nous avons enregistré un spectre ROESY sur le composé Z-Phe ψ [CON(NPht)]Ala-OtBu et recherché des corrélations ROE entre les chaînes latérales des deux acides aminés (figure 52) :

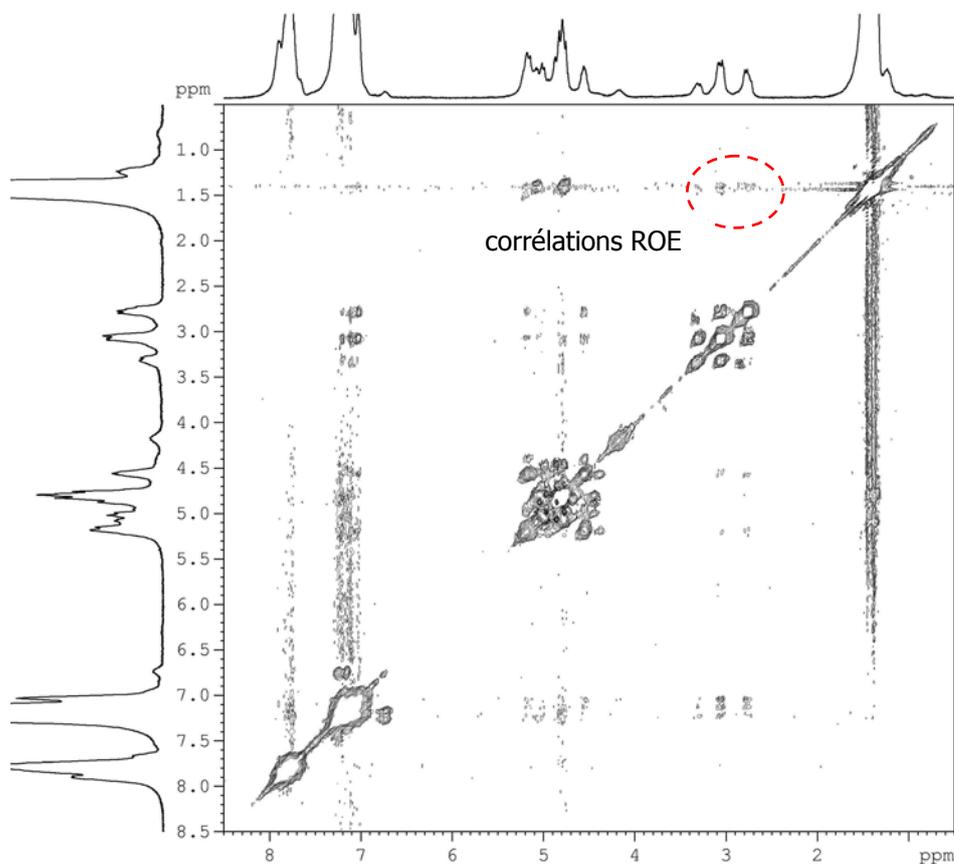


Figure 52 : spectre ROESY (CDCl₃) du composé Z-Phe ψ [CON(NPht)]Ala-OtBu.

La présence de tâches de corrélations sur le spectre ROESY entre la chaîne latérale du résidu phénylalanine et celle du résidu *N*-aminoalanine de l'un des deux jeux de signaux vient confirmer l'existence de la forme *Z* de la liaison *N*-aminoamide. Cependant, l'absence de corrélations ROE pour le second jeu de signaux nous renseigne sur l'existence simultanée de la configuration *E* de cette même liaison. Il existe donc bien un équilibre entre la forme *Z* et la forme *E* de la liaison *N*-aminoamide, avec une très légère prédominance (environ 60%) pour l'isomère *Z* (le pourcentage a été déterminé par intégration du carbone α de l'alanine).

Lorsque le *N*-aminodipeptide étudié est protégé par un groupement Boc ou totalement déprotégé, les deux jeux de signaux disparaissent (figure 53) :

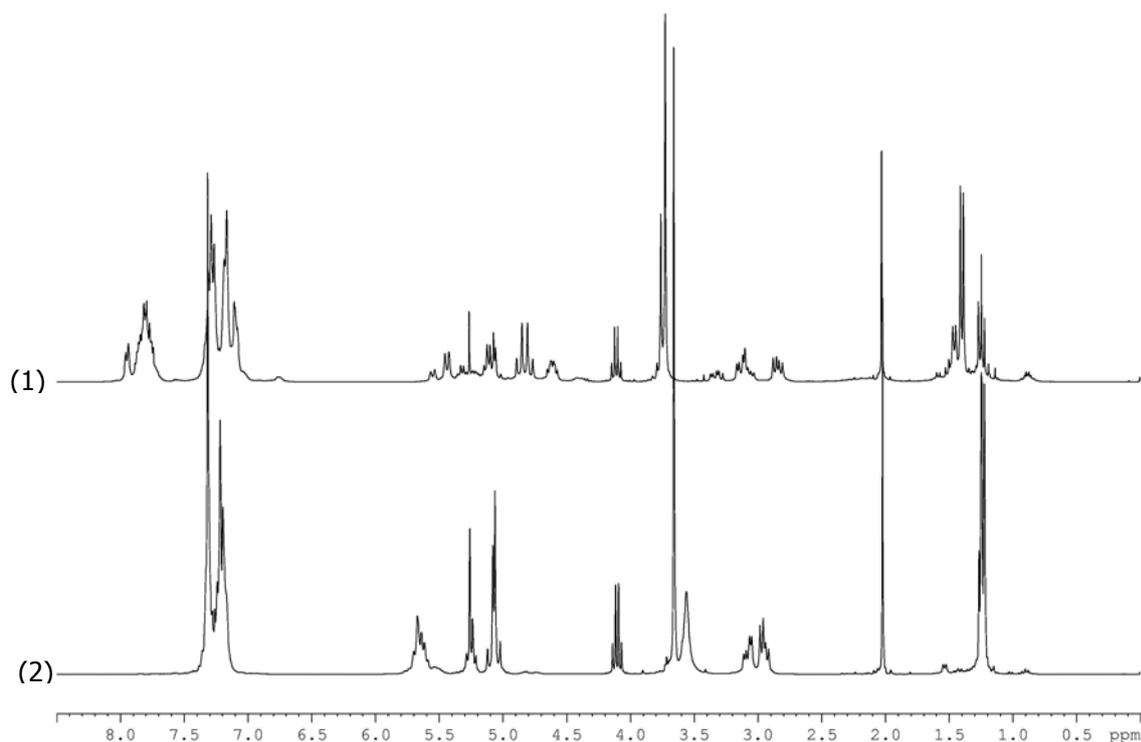


Figure 53 : spectre ^1H (CDCl_3) des composés *Z*-Phe ψ [CON(NPht)]Ala-OMe (1) et *Z*-Phe ψ [CON(NH $_2$)]Ala-OMe (2).

Deux hypothèses pour expliquer la disparition d'un des deux jeux de signaux peuvent être avancées :

- L'équilibre autour de la liaison *N*-aminoamide est plus rapide que dans le cas où l'azote latéral est protégé par un groupement phtalimide, et donc indiscernable par spectroscopie RMN. Le spectre proton représente alors une conformation moyenne de cette liaison.

- La présence du groupement phtalimide, très électroattracteur, diminue le caractère double de la liaison *N*-aminoamide, ce qui engendre une coexistence possible des deux formes *Z* et *E*. Lorsque l'on remplace ou supprime ce groupement, on rétablit le caractère double de cette liaison. Cela tendrait à la figer dans l'une ou l'autre des ces conformations.

Afin de confirmer l'une de ces hypothèses, une étude RMN en température serait nécessaire. En effet, la réapparition d'un second jeu de signaux à basse température serait en faveur d'un équilibre rapide autour de la liaison *N*-aminoamide, alors que la conservation d'un seul jeu de signaux confirmerait le blocage de cette liaison dans l'une de ces conformations.

Dans la suite de l'étude structurale, nous nous intéressons à des oligomères *N*-aminopeptidiques totalement déprotégés sur le groupement *N*-aminoamide.

II.2.2. Etude des oligomères II par modélisation moléculaire.

Il existe différents champs de forces en fonction du domaine d'application. Dans une étude préliminaire, le produit Piv-Pro₁[CON(NH₂)]Gly-NHiPr a été modélisé en utilisant AMBER³⁷, le but étant de savoir si le champ de force choisi permettait d'obtenir une structure proche de celle décrite dans la littérature^{22b}. Les résultats obtenus étant en accord avec les données de la littérature, l'étude de modélisation moléculaire a été poursuivie en utilisant le champ de force AMBER.

Les calculs de dynamique moléculaire ont été effectués dans l'ensemble NTP pour lequel le nombre de particules (N), la température (T) ainsi que la pression (P) restent constants au cours de la simulation. Les simulations ont été réalisées dans un solvant explicite (chloroforme).

Le protocole utilisé se décompose essentiellement en quatre étapes :

³⁷ Weiner, P. K.; Kollmann, P. A. *J. Comput. Chem.* **1981**, *2*, 287-303.

1^{ère} étape : construction de la molécule.

La structure cristalline du *N*-aminodipeptide de formule Z-Ala ν [CON(NPht)]Ala-OMe a servi de point de départ à la construction de nos oligomères dans le logiciel INSIGHT II³⁸. Le motif phthalimide a été remplacé par une fonction NH₂ tout en conservant la structure géométrique de l'azote porteur de ce groupement. Cette molécule a ensuite été dupliquée pour obtenir les oligomères II-1 à II-4.

2^{ème} étape : introduction de la molécule dans une boîte de solvant.

La molécule obtenue à l'aide du logiciel INSIGHT II est ensuite placée dans une boîte de solvant afin de modéliser le comportement de l'oligomère en solution. Compte tenu de la solubilité réelle des oligomères II, nous avons utilisé un modèle de chloroforme.

3^{ème} étape : minimisation.

La minimisation des composés placés dans la boîte de solvants se déroule en trois étapes :

- minimiser la position du solvant tout en conservant la molécule fixe (cette étape a pour but de supprimer les recouvrements stériques),
- minimiser la structure de la molécule en conservant le solvant fixe,
- et enfin, minimiser l'ensemble du système.

La structure finale obtenue correspond à un point minimum d'énergie, nous allons devoir porter le système à une température choisie de 300K, afin de lui fournir l'énergie nécessaire pour lui permettre de quitter le minimum local atteint lors de cette étape.

4^{ème} étape : dynamique.

La dynamique moléculaire des composés issus de la minimisation se déroule en deux étapes :

- une première étape, dite « de chauffe » au cours de laquelle l'énergie cinétique fournie au système lui permet de passer de 0K à 300K. L'apport d'énergie se fait de manière constante sur une période de 2 ns.
- Lorsque la température de simulation est atteinte, la deuxième étape consiste à équilibrer le système et produire la dynamique. Dans le but d'obtenir les résultats les plus proches possibles de la réalité, nous avons choisi d'effectuer cette dynamique sur une période de 10 ns (au cours de laquelle

³⁸ INSIGHT II v.2000, Molecular Simulations Inc., Accelrys, San Diego, CA, USA.

la température, le volume et la pression, gages de l'établissement de l'équilibre, doivent rester constants).

Nous avons commencé cette étude en modélisant le comportement de l'oligomère le plus petit de la série précédemment synthétisée : H-Phe Ψ [CON(NH₂)]Ala-Leu-OH. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure ci-dessous (figure 54) :

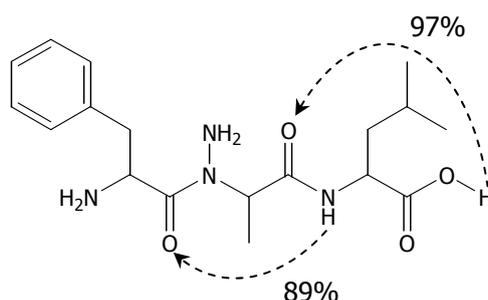
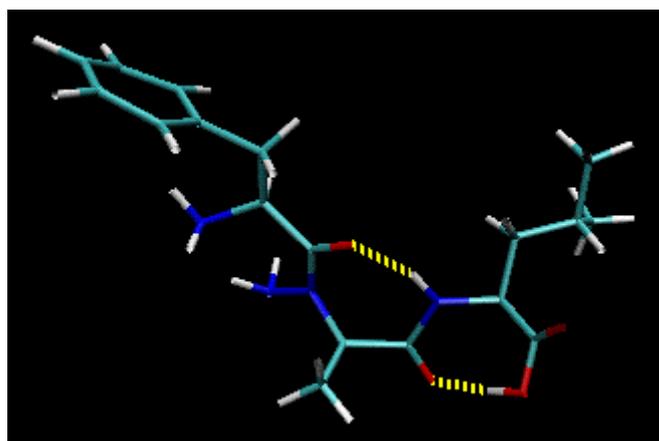


Figure 54 : Visualisation des liaisons hydrogène dans l'oligomère II-1.

D'après les données issues de la dynamique moléculaire, deux liaisons hydrogène pourraient s'établir dans le composé H-Phe Ψ [CON(NH₂)]Ala-Leu-OH. Les chiffres représentés sur la figure 53 correspondent aux occurrences des liaisons hydrogène potentielles.

Le même protocole a été reproduit pour les oligomères II-2 à II-4 et les résultats obtenus sont représentés dans les figures 55, 56 et 57 :

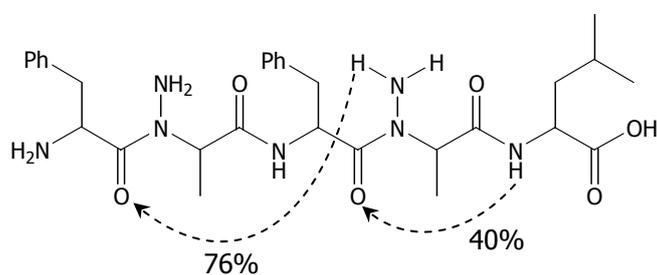
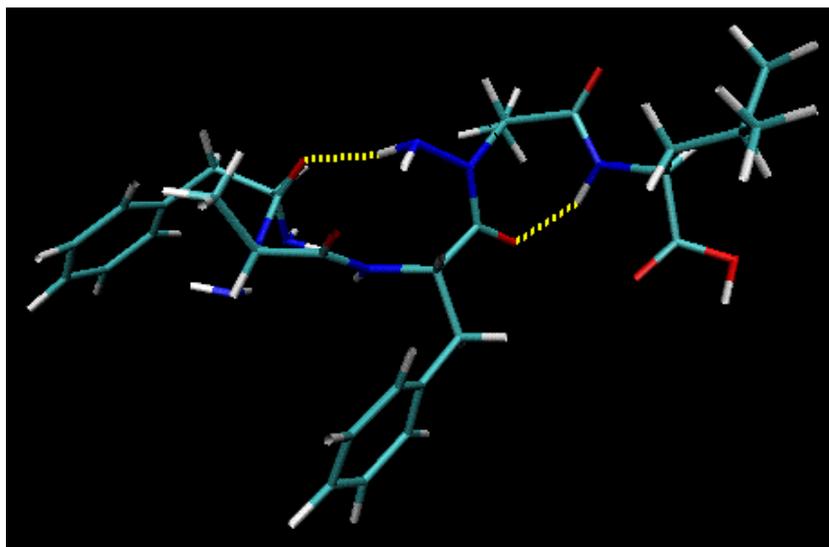


Figure 55 : visualisation des liaisons hydrogène dans l'oligomère II-2.

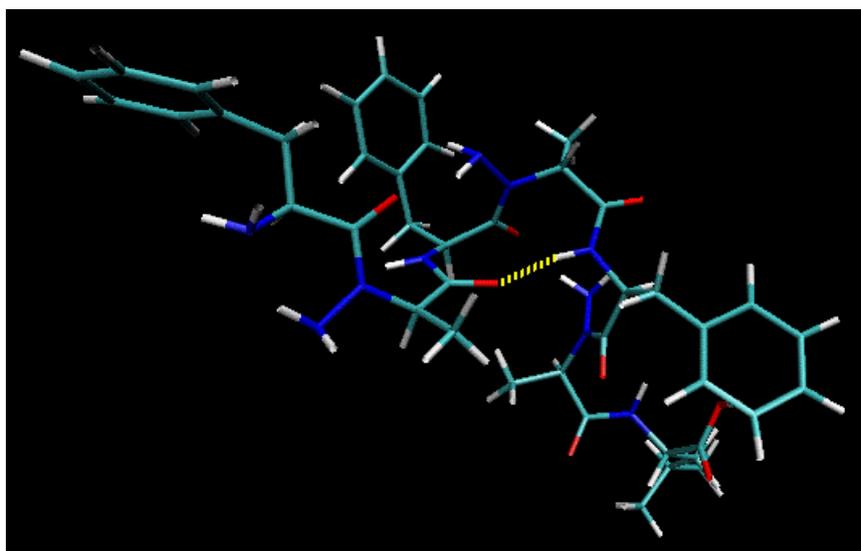
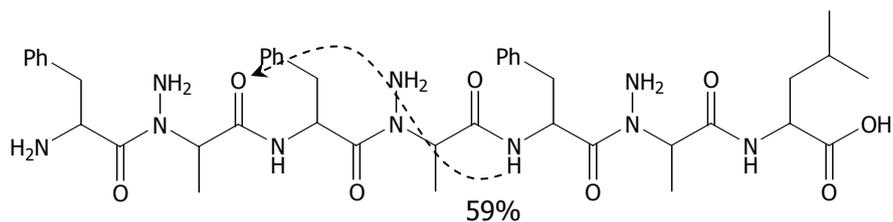


Figure 56 : visualisations des liaisons hydrogène dans l'oligomère II-3.

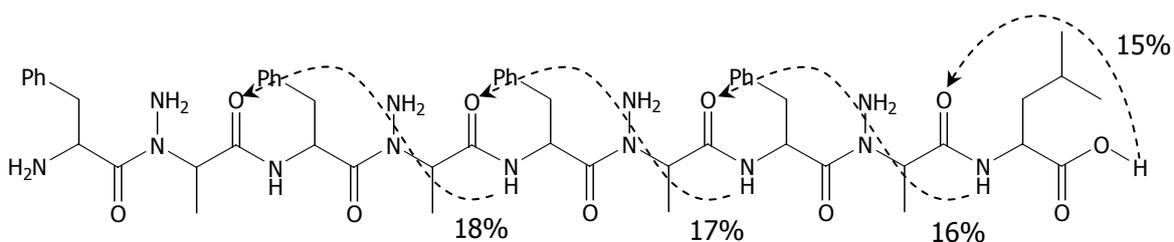


Figure 57 : occurrence des liaisons hydrogène dans l'oligomère II-4.

Une autostructuration des composés II semble effective à partir de l'oligomère II-4 (9 résidus d'acides aminés) avec l'établissement de pseudocycles en C_{10} entre le C=O d'un résidu i et le NH du résidu $i+4$, permettant de mettre en évidence la présence de coude β .

Cette étude de modélisation moléculaire a permis de montrer que des oligomères possédant une alternance de liens amides et de liens N -aminoamides pourraient s'autostructurer en solution dans le chloroforme, par l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires. Ces résultats doivent être confrontés à l'expérience. Lors de cette étude, à cause de la répétition des motifs de base et de la complexité des spectres nous avons utilisés plusieurs spectroscopies.

II.2.3. Etude des oligomères II par RMN.

Nous avons étudié chaque oligomère dans des mélanges $CDCl_3/DMSO-d_6$ et mesuré les déplacements chimiques des protons amide en fonction de la concentration en DMSO. Une faible variation est indicatrice d'un proton amide impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire. Nous avons choisi d'effectuer cette étude pour une concentration $C=5.10^{-3}$ M, suffisamment diluée pour empêcher l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires par l'intermédiaire des protons NH.

Les spectres obtenus pour les oligomères II sont très mal résolus dès que le pourcentage de DMSO est inférieur à 40% (figure 58 et 59) et cela complique nettement l'analyse des résultats. Nous avons tout de même pu observer que certains protons amide étaient très peu sensibles à l'augmentation du pourcentage de DMSO ; ils seraient donc impliqués dans l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires. Afin de déterminer exactement l'identité des NH impliqués dans la structuration de nos oligomères, nous avons enregistré des spectres ROESY, mais la mauvaise résolution des spectres ne permet pas d'extraire des données exploitables des cartes 2D obtenues.

Nous avons donc cherché à améliorer la résolution des spectres en effectuant des études de températures. Différents solvants ont également été testés (pyridine et méthanol deutériés), mais les spectres enregistrés étaient tout aussi mal résolus que lors des essais précédents.

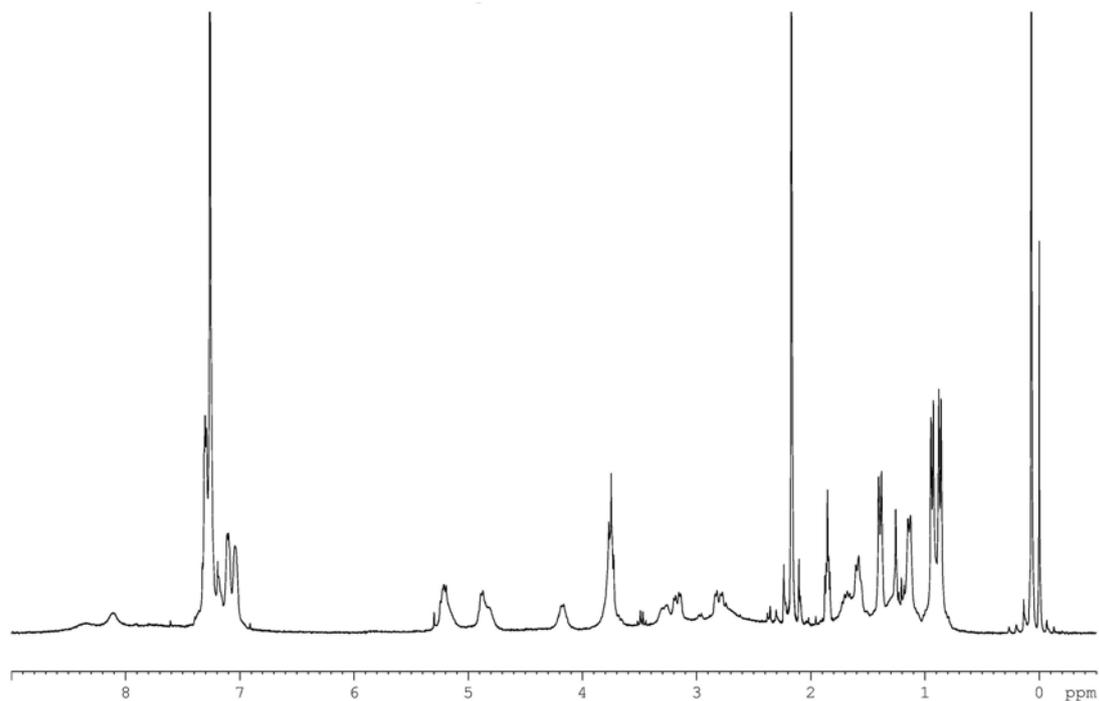


Figure 58 : spectre ^1H (CDCl_3) de l'oligomère II-2.

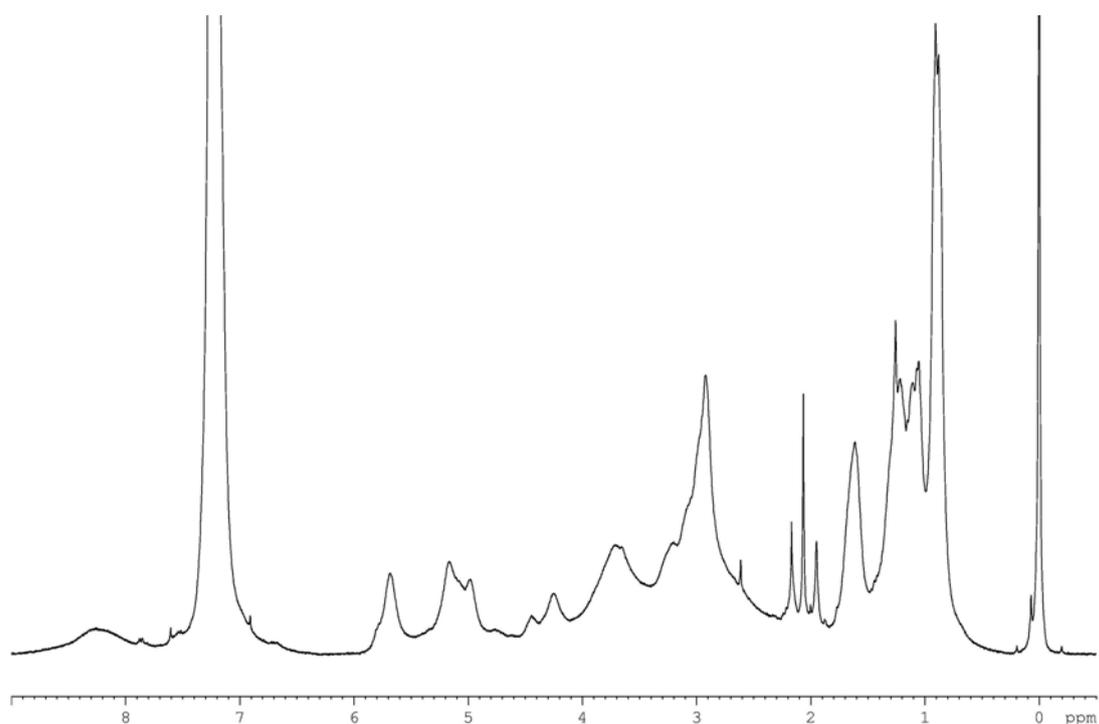


Figure 59 : spectre ^1H (CDCl_3) de l'oligomère II-3.

La superposition des signaux due à une répétition des motifs mais également l'élargissement des raies de résonance due à l'établissement d'un équilibre conformationnel (à confirmer par une étude RMN à basse température), ne nous permet pas de conclure sur la structuration de nos composés en solution. Il semblerait cependant que l'établissement de liaisons hydrogène soit possible, mais ce

résultat doit être confirmé par d'autres méthodes spectroscopiques et notamment par la spectroscopie infrarouge.

II.2.4. Etude des oligomères II par spectroscopie infrarouge.

L'étude structurale par spectroscopie infrarouge effectuée a pour but de confirmer l'existence de liaisons hydrogène au sein des oligomères II-1 à II-4, tout en essayant de déterminer plus précisément la nature des atomes impliqués dans l'établissement de ces liaisons.

Le protocole expérimental mis en œuvre est le suivant :

- les composés ont été dissous dans différents solvants (CH_2Cl_2 , CHCl_3 , DMSO et mélanges $\text{CHCl}_3/\text{DMSO}$) préalablement séché sur tamis moléculaire. Chaque solution a été préparée de manière à avoir une concentration de 2mM en amine susceptible d'établir une liaison hydrogène (amines primaires et secondaires),

Produit	Cmoléculaire	NH/NH ₂	C=O amide	C=O N-amino	C=O acide	C=O uréthane
18c	1	2	0	1	1	1
II-1	0,66	2	0,66	0,66	0,66	0
II-2	0,4	2	0,8	0,8	0,8	0
II-3	0,28	2	0,84	0,84	0,84	0
II-1	0,22	2	0,84	0,84	0,84	0

Tableau 19 : concentration en mM des différents vibrateurs étudiés.

- les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker TENSOR 27 (256 scans). La cellule utilisée a des parois en fluorure de calcium et un chemin optique de 500 μm . Jusqu'à maintenant, en raison de la complexité des spectres, seule une interprétation des groupes C=O est proposée pour les oligomères II en solution dans le chloroforme (les données dans le dichlorométhane étant très similaires). Pour réaliser cette attribution des bandes de vibration nous sommes partis de l'oligomère le plus petit vers l'oligomère le plus long.

Les spectres ont été déconvolués dans le programme OPUS de Bruker en utilisant la méthode de Levenberg-Maquard. Les bandes d'absorption de la zone amide I ont été extraites grâce au calcul de la dérivée seconde du spectre expérimental. L'ajustement de la somme des pics est effectué suivant un modèle Lorentzien, Gaussien ou un mélange des deux.

a) Attribution du spectre IR du composé **18c** : Z-Phe ψ [CON(NH₂)]Ala-OH.

Afin de pouvoir attribuer au mieux les nombres d'ondes des oligomères II, nous avons dans un premier temps enregistré le spectre infrarouge du composé **18c** : Z-Phe ψ [CON(NH₂)]Ala-OH (figure 60) :

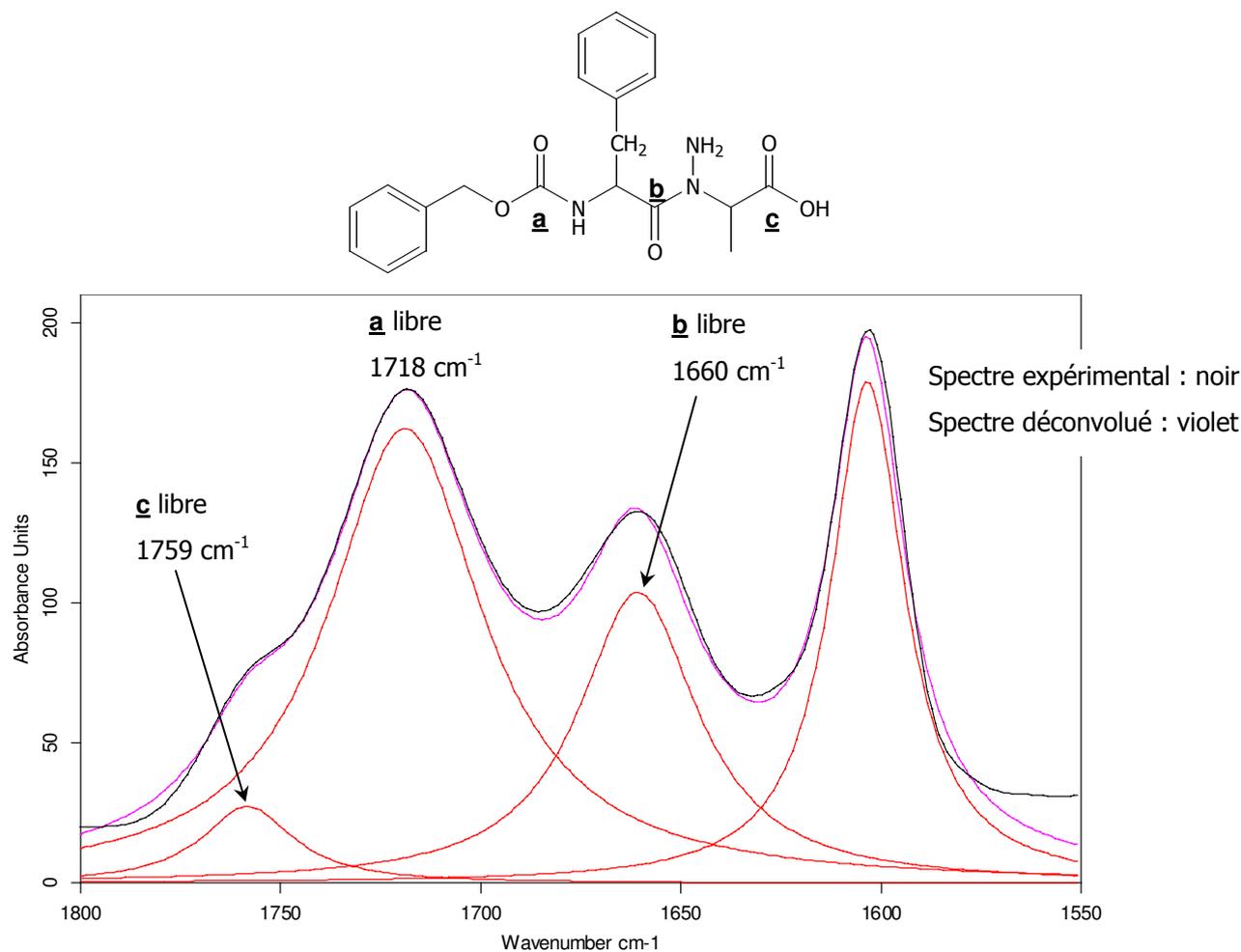


Figure 60 : déconvolution de la zone spectrale des bandes amide I du composé **18c**.
Ajustement de la somme des pics (Lorentz) au spectre.

Pour l'attribution des différentes bandes, nous nous sommes appuyés sur les données issues des tables de nombres d'onde couramment utilisées, ainsi que sur des données issues de la littérature³⁹.

En solution très diluée, la probabilité d'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires est faible. Dans de telles conditions, la bande d'absorption du groupement carbonyle d'une fonction acide carboxylique se situe classiquement entre 1800 et 1740 cm⁻¹. Pour le composé **18c**, la bande d'absorption située à 1759 cm⁻¹ correspondrait donc au groupement carbonyle **c** libre.

³⁹ a) Lecoq, A., thèse d'état (Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy) 1991. b) Socrates, G. *Infrared Characteristic Group Frequencies* John Wiley & Sons 1980.

D'après les tables de nombres d'onde, la bande d'élongation C=O d'une fonction uréthane libre est située entre 1740 et 1680 cm^{-1} , la bande à 1718 cm^{-1} correspondrait à l'élongation du groupement carbonyle **b** libre. Cependant, afin d'attribuer cette bande sans aucune ambiguïté, nous avons choisi d'enregistrer, dans les mêmes conditions opératoires, le spectre du produit Z-Phe-NHNH₂ **1e** qui ne possède pas de fonction acide carboxylique terminale. Nous retrouvons bien cette même bande à 1718 cm^{-1} .

Quelques études par spectroscopie infrarouge ont été effectuées par Lecoq^{39a} sur des composés possédant des liens *N*-aminoamides diversement substitués. Nous nous sommes intéressés aux résultats obtenus pour des composés déprotégés sur l'azote β , pour lesquels le groupement carbonyle du lien *N*-aminoamide est sous forme libre (figure 61) :

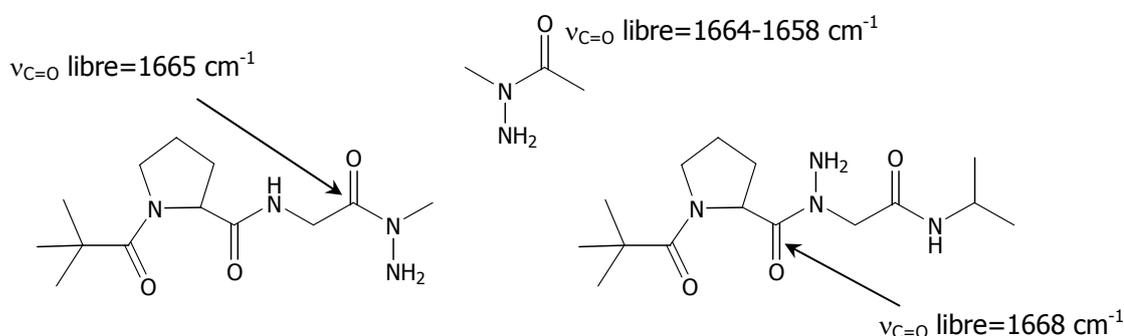


Figure 61 : nombres d'onde du carbonyle de différents groupements *N*-amino.

D'après les attributions effectuées par Lecoq pour différents groupements *N*-aminoamides, on peut logiquement penser que la bande d'absorption située à 1660 cm^{-1} sur le spectre du composé **18c** correspond à la bande d'élongation du carbonyle **b** (situé en α du motif *N*-amino) non lié.

L'analyse du spectre infrarouge déconvolué du composé **18c** nous a permis d'attribuer toutes les bandes C=O qui participent au spectre expérimental. Les attributions sont rassemblées sur la figure 62 :

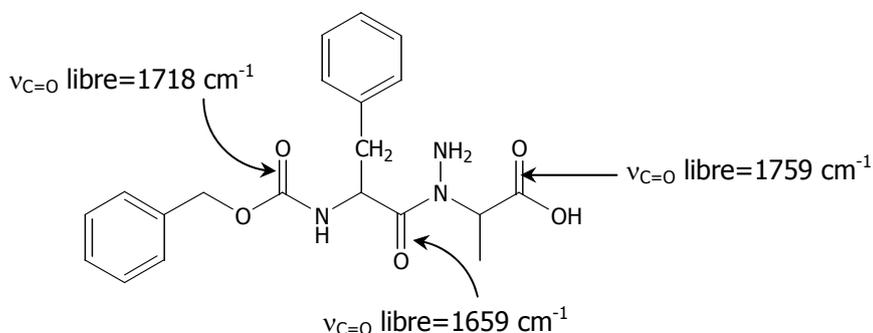


Figure 62 : nombres d'onde des différents carbonyles du composé **18c**.

D'après cette attribution, aucune liaison hydrogène intramoléculaire ne s'établit au sein du composé **18c**. Cette information a été confirmée en analysant la zone spectrale correspondant aux vibrations d'élongations des groupements NH, qui ne présente aucune bande de nombre d'onde inférieur à 3400 cm^{-1} .

Les informations obtenues grâce à l'analyse du spectre infrarouge du composé **18c** vont nous permettre d'attribuer, par analogie, les nombres d'onde des oligomères II, en commençant par le plus petit de la série : H-Phe ν [CON(NH₂)]Ala-Leu-OH.

b) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-1.

Le spectre enregistré pour l'oligomère II-1 est représenté dans la figure 63 :

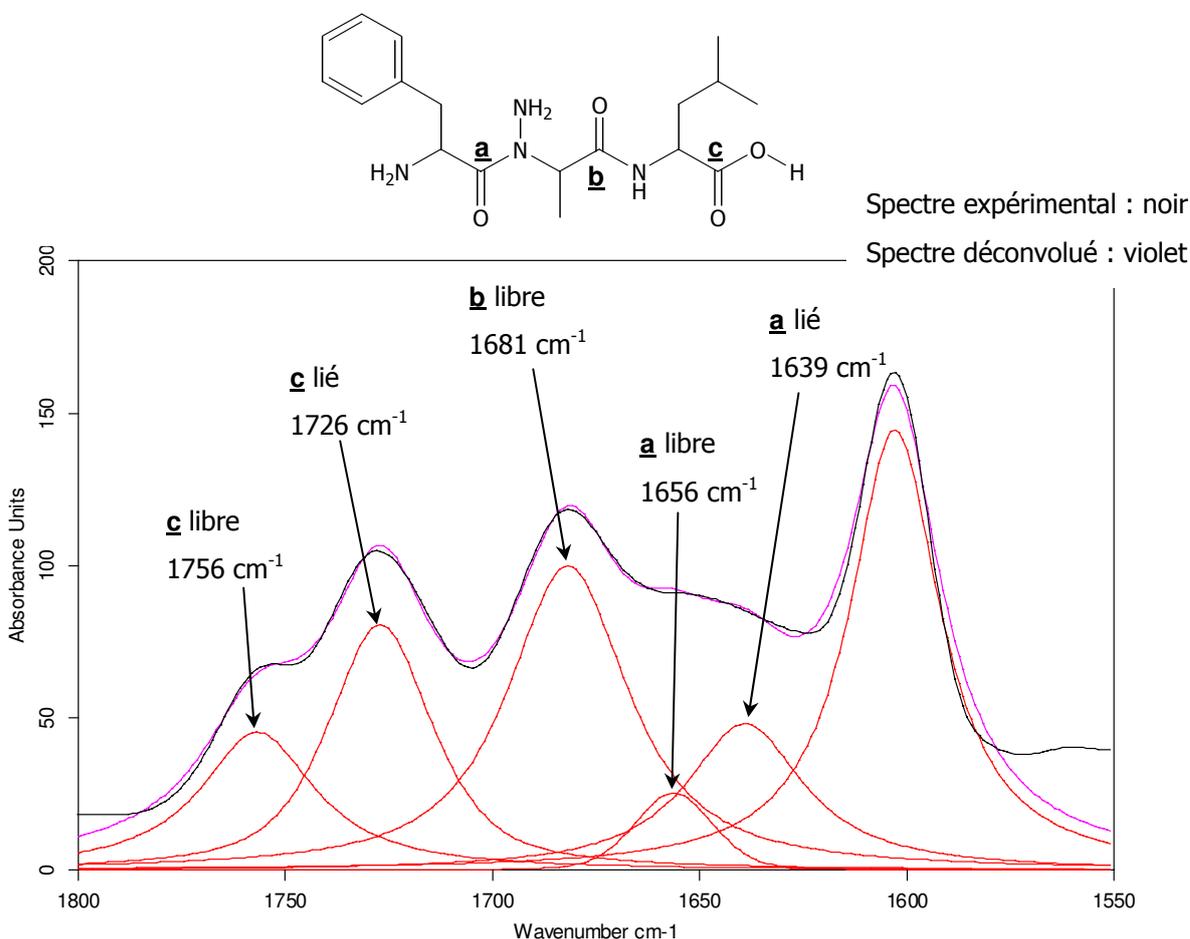


Figure 63 : déconvolution de la zone spectrale des bandes amide I de l'oligomère II-1. Ajustement de la somme des pics (Lorentz) au spectre.

Par comparaison avec le spectre du composé **18c**, nous avons pu attribuer les bandes suivantes :

- 1756 cm^{-1} : C=O de la fonction acide libre (carbonyle **c**),
- 1656 cm^{-1} : C=O de la fonction N-aminoamide libre (carbonyle **a**).

Nous avons tout de même observé des différences majeures entre le spectre du composé **18c** et celui de l'oligomère II-1 :

- la disparition de la bande à 1718 cm^{-1} du C=O de la fonction uréthane (ce qui est normal puisque cette fonction n'existe pas dans l'oligomère II-1)
- l'apparition de trois nouvelles bandes à 1726, 1681 et 1639 cm^{-1} .

D'après les données de la littérature, la bande amide I d'une fonction amide secondaire en solution diluée se situe dans un intervalle compris entre 1700 et 1665 cm^{-1} . Si l'on ajoute à cela, les données issues du travail de Lecoq (figure 64), on peut raisonnablement attribuer la bande à 1681 cm^{-1} au carbonyle **b** libre de l'oligomère II-1.

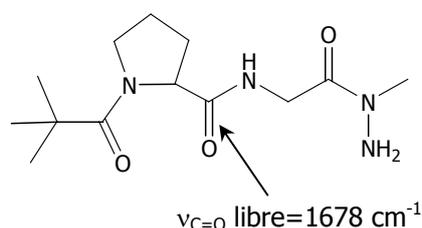


Figure 64 : nombre d'onde du C=O amide libre d'un N-aminodipeptide.

De plus, à l'état solide ou en solution très concentrée, le groupement carbonyle d'une fonction acide carboxylique absorbe fortement dans la région située entre 1725 et 1700 cm^{-1} , correspondant au groupement C=O impliqué dans une liaison H intermoléculaire. Les conditions de dilution dans lesquelles nous avons enregistré le spectre IR de l'oligomère II-1 ($C=0,66 \text{ mM}$) ne sont, *a priori*, pas compatibles avec la formation d'un dimère. Toutefois, la suppression du groupement protecteur Z diminue sans doute la solubilité de l'oligomère II-1 dans le chloroforme et augmente ainsi la probabilité d'établir un dimère. La bande d'absorption à 1726 cm^{-1} correspondrait au groupement carbonyle **c** partiellement impliqué dans une liaison hydrogène intermoléculaire sous la forme d'un dimère.

Enfin, la bande d'absorption située à 1639 cm^{-1} se situe dans l'intervalle de nombre d'ondes d'une bande amide secondaire liée. Deux hypothèses peuvent être formulées pour son attribution : soit le groupement carbonyle **a** (N-aminoamide), soit le groupement carbonyle **b** (amide secondaire) est impliqué dans l'établissement d'une liaison hydrogène intramoléculaire. Si on envisage une à une les différentes liaisons hydrogène qui pourraient s'établir, la plus probable semble être celle impliquant le C=O du lien N-aminopeptidique, qui refermerait un pseudocycle à 7 atomes avec le proton amidique de la leucine.

Récapitulatif des bandes d'absorption et liaisons hydrogène potentielles dans l'oligomère II-1 (figure 65) :

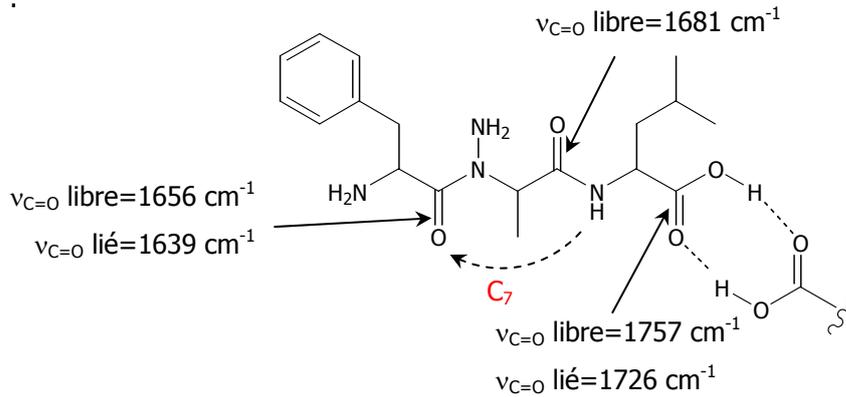


Figure 65 : nombres d'ondes et liaisons hydrogène potentielles dans l'oligomère II-1.

c) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-2.

Le spectre enregistré pour l'oligomère II-2 est représenté dans la figure 66 :

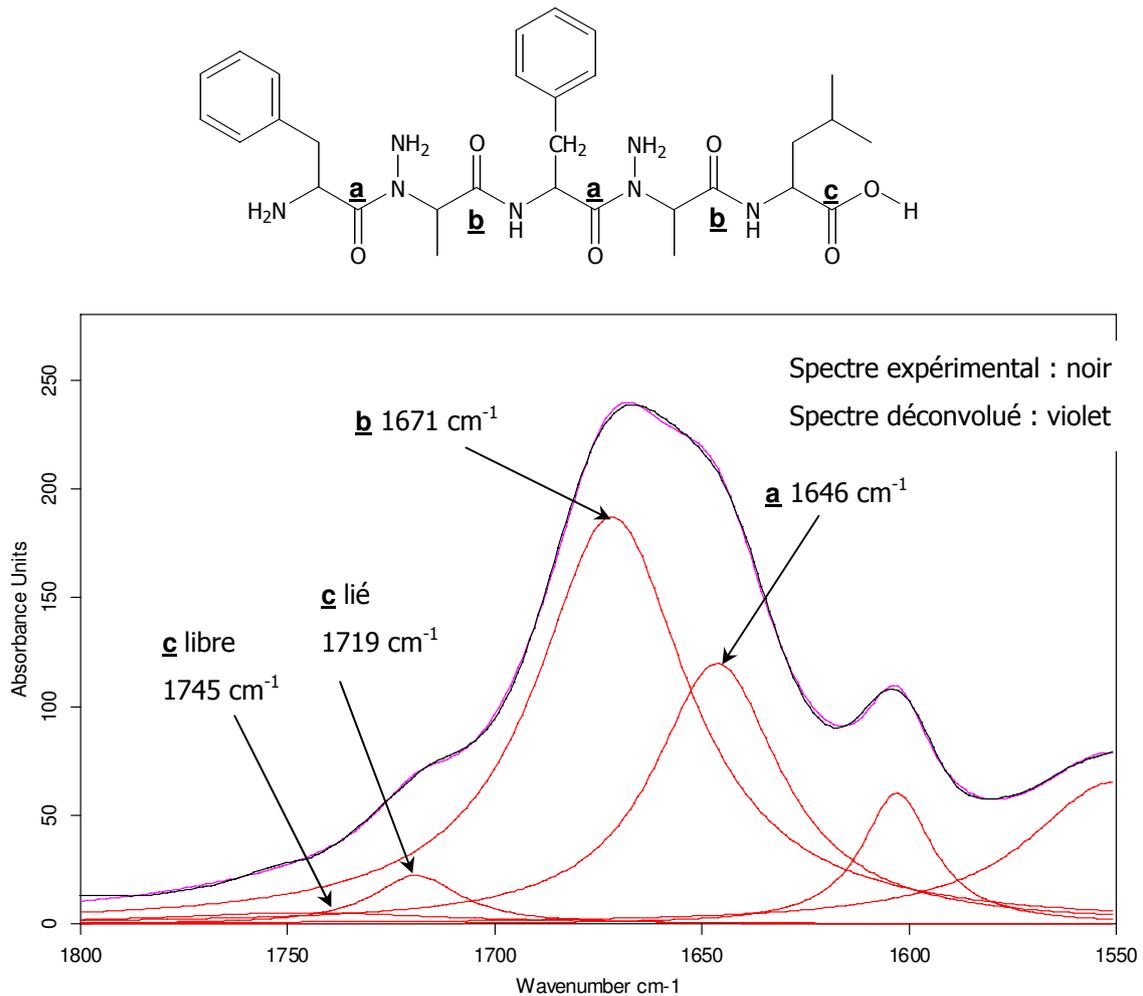


Figure 66 : déconvolution de la zone spectrale des bandes amide I de l'oligomère II-2. Ajustement de la somme des pics (Lorentz) au spectre.

Par comparaison avec le spectre de l'oligomère II-1, nous avons pu attribuer les bandes suivantes :

- 1745 cm^{-1} : C=O de la fonction acide libre (carbonyle **c**),
- 1719 cm^{-1} : C=O de la fonction acide lié (carbonyle **c**),
- 1671 cm^{-1} : C=O de la fonction amide (carbonyle **b**).
- 1646 cm^{-1} : C=O de la fonction N-aminoamide (carbonyle **a**).

On peut noter une diminution globale de 10 cm^{-1} pour chaque bande d'absorption. Ce résultat surprenant nous amène à penser que tous les groupements carbonyles de l'oligomère II-2 sont impliqués dans une liaison hydrogène intramoléculaire. Toutefois, la diminution simultanée du nombre d'onde de chaque carbonyle nous fait émettre l'hypothèse que l'oligomère II-2 n'adopte pas de conformation privilégiée lorsque celui-ci est en solution dans le chloroforme.

d) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-3.

Le spectre enregistré pour l'oligomère II-3 est représenté dans la figure 67 :

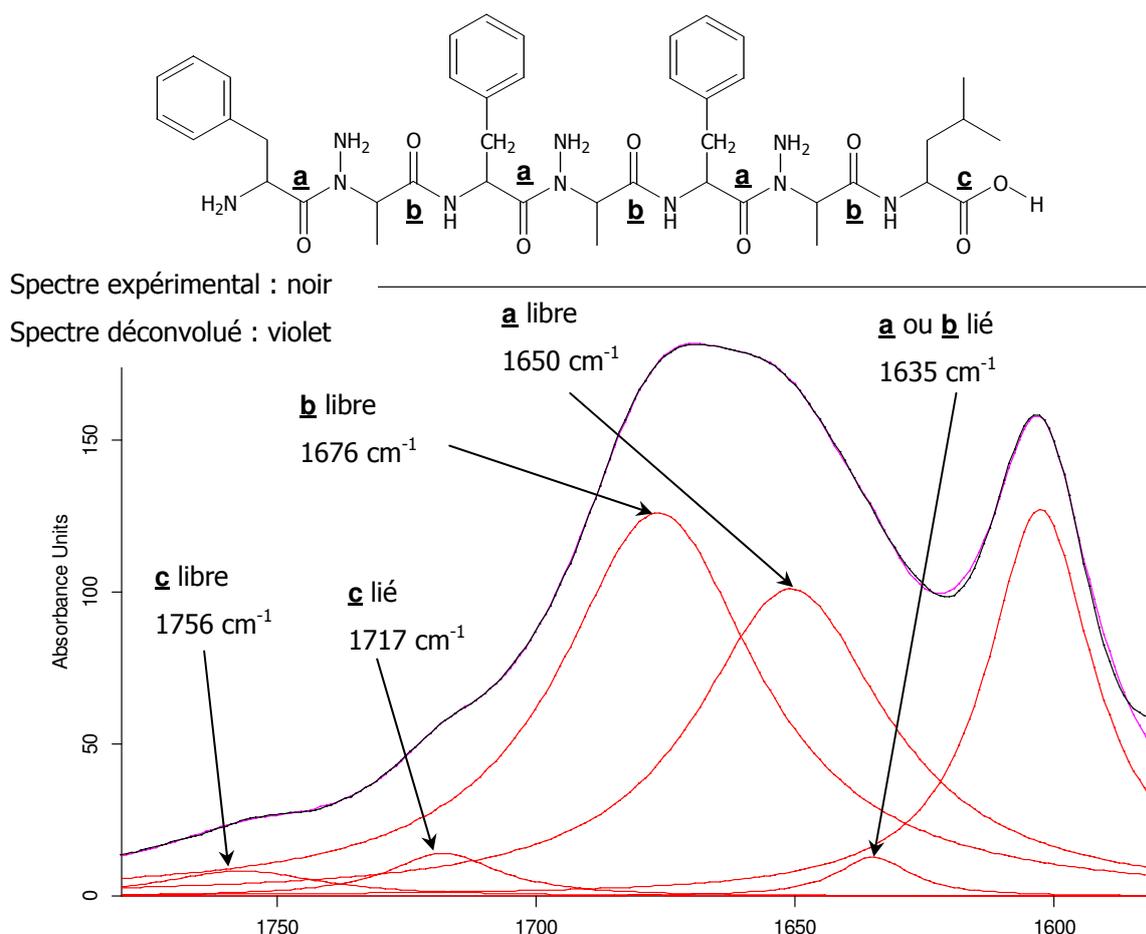


Figure 67 : déconvolution de la zone spectrale des bandes amide I de l'oligomère II-3. Ajustement de la somme des pics (75% Lorentz + 25% Gauss) au spectre.

Par comparaison avec le spectre de l'oligomère II-1, nous avons pu attribuer les bandes suivantes :

- 1756 cm^{-1} : C=O de la fonction acide libre (carbonyle **c**),
- 1717 cm^{-1} : C=O de la fonction acide lié (carbonyle **c**),
- 1676 cm^{-1} : C=O de la fonction amide libre (carbonyle **b**).
- 1650 cm^{-1} : C=O de la fonction amide libre (carbonyle **a**).

Le spectre de l'oligomère II-3 montre l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption à 1635 cm^{-1} . Si l'on se réfère aux tables de nombres d'onde, cette bande se situe dans l'intervalle d'un C=O amide secondaire (fortement) liée, elle peut correspondre au groupement carbonyle du lien *N*-aminoamide lié ou à celui du lien amide. Ces deux hypothèses sont représentées schématiquement sur la figure 68 :

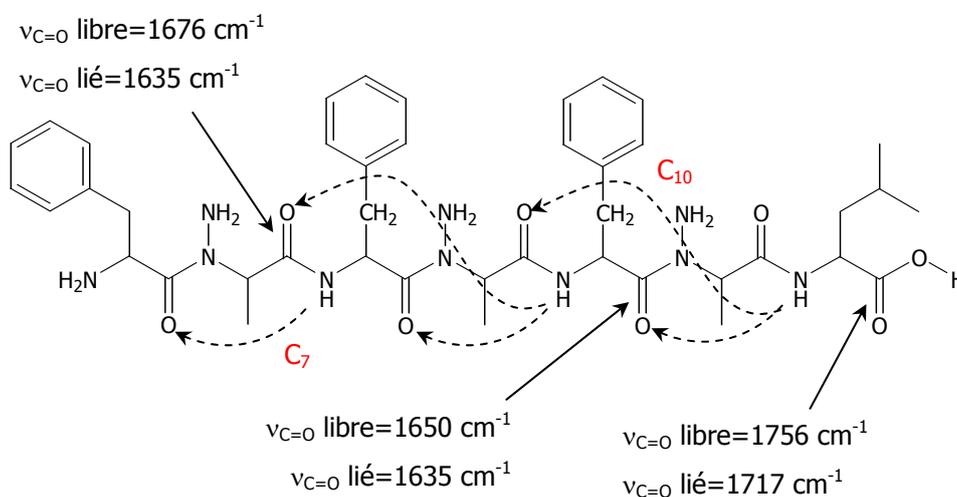


Figure 68 : nombres d'onde et liaisons hydrogène potentielles dans l'oligomère II-3.

e) Attribution du spectre IR de l'oligomère II-4.

Le spectre enregistré pour l'oligomère II-4 est représenté dans la figure 69 :

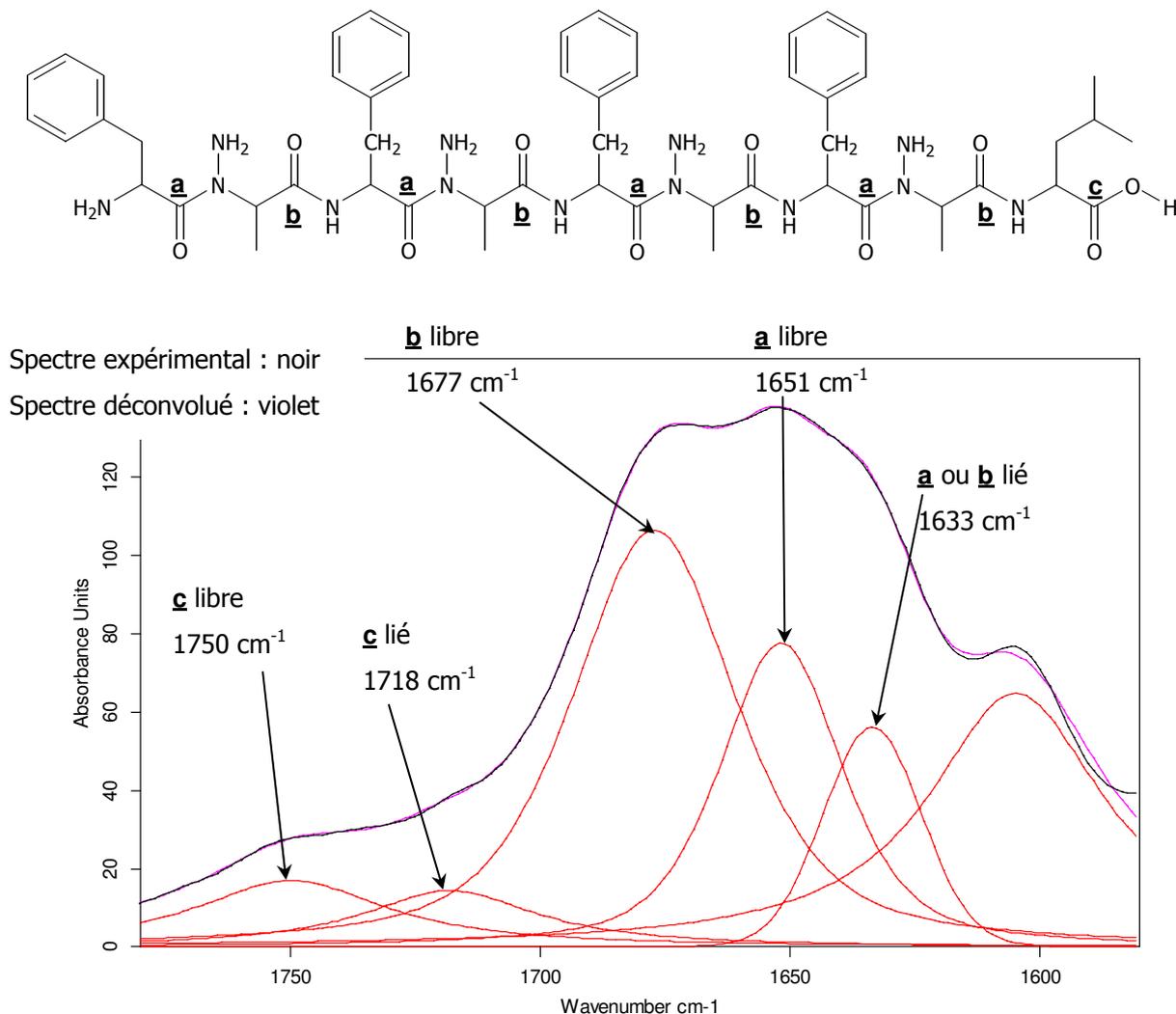


Figure 69 : déconvolution de la zone spectrale des bandes amide I de l'oligomère II-4.

Ajustement de la somme des pics (70% Lorentz + 30% Gauss) au spectre.

Le spectre IR de l'oligomère II-4 est très semblable à celui obtenu précédemment pour l'oligomère II-3.

- 1750 cm⁻¹ : C=O de la fonction acide libre (carbonyle **c**),
- 1718 cm⁻¹ : C=O de la fonction acide lié (carbonyle **c**),
- 1677 cm⁻¹ : C=O de la fonction amide libre (carbonyle **b**).
- 1651 cm⁻¹ : C=O de la fonction amide libre (carbonyle **a**).
- 1633 cm⁻¹ : C=O de la fonction amide ou *N*-aminoamide lié.

Les mêmes hypothèses émises pour l'oligomère II-3 peuvent être avancées et sont représentées sur la figure 70 :

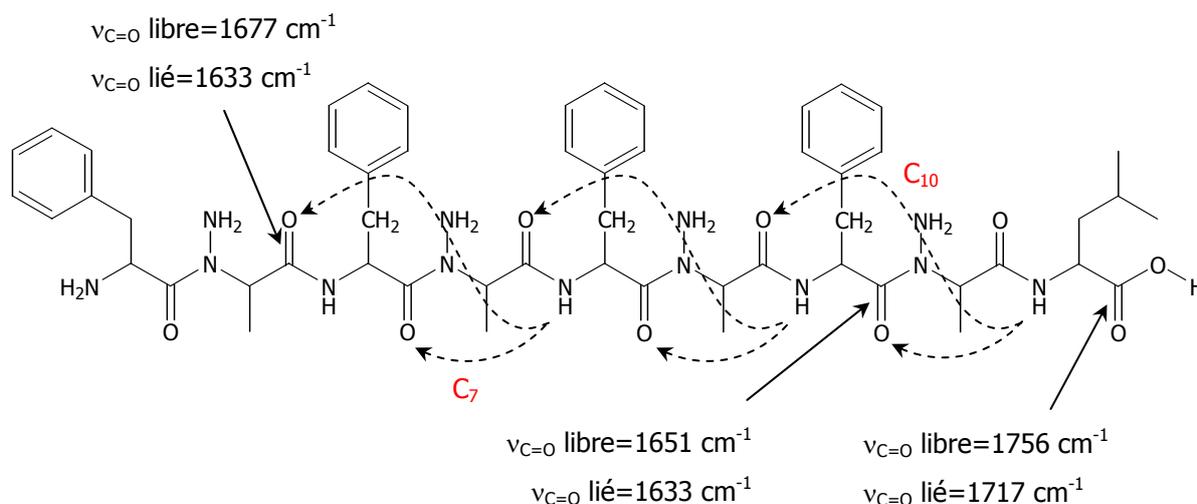


Figure 70 : nombres d'onde et liaisons hydrogène potentielles dans l'oligomère II-4.

f) Conclusions.

L'analyse de la zone spectrale correspondant aux vibrateurs C=O des oligomères II nous a permis de mettre en évidence expérimentalement l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires au sein de ces composés. Cependant, la complexité des spectres infrarouge enregistrés pour nos produits en solution dans le chloroforme ne nous permet pas de proposer, à l'heure actuelle, une conformation privilégiée adoptée par les oligomères. Une étude complémentaire en température (actuellement en cours) est nécessaire afin d'identifier sans ambiguïté les groupements carbonyles responsables de l'autostructuration des oligomères II.

III. Etude structurale de [α -N-amino]mères : Conclusions.

Lorsque nous avons entamé l'étude structurale des [α -N-amino]mères, il n'existait que très peu de données dans la littérature concernant les modifications géométriques induites par la substitution de l'atome d'hydrogène du lien peptidique par une fonction NH₂. Aucun oligomère n'ayant été synthétisé jusqu'à ce jour, nous ne savions pas si la présence de ce groupement NH₂ supplémentaire favoriserait ou, au contraire empêcherait la structuration de nos composés.

Une étude en modélisation moléculaire, dans un premier temps, nous a permis de mettre en évidence une autostructuration possible des oligomères N-aminopeptidiques. Dans un second temps, nous avons confronté ces résultats à l'expérience en analysant les oligomères II à l'aide de différentes techniques spectroscopiques. Nous avons ainsi pu confirmer expérimentalement l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaire :

- par RMN, en étudiant le déplacement chimique des protons amides en fonction du pourcentage de DMSO,

- par infrarouge, en étudiant de façon approfondie la zone spectrale correspondant à l'élongation des groupements carbonyles de nos composés.

Cependant, la répétition des motifs de base engendre une multiplicité des signaux, et l'établissement d'un équilibre conformationnel a pour conséquence un élargissement des raies de résonances des spectres RMN. Ces deux phénomènes ont rendu l'étude structurale très difficile. Des analyses complémentaires sont en cours afin de confirmer les résultats obtenus jusqu'à présent, dans l'espoir de résoudre d'ici peu la structure des [α -N-amino]mères.

Conclusion Générale et Perspectives.

Conclusion générale et perspectives.

Le présent travail de thèse est consacré à la synthèse et à l'étude structurale d' α -*N*-aminopeptides.

Dans un premier temps, nous avons mis au point différentes méthodes de synthèse, en phase liquide et sur phase solide, pour l'obtention de *N*-aminodipeptides diversement substitués incorporables en synthèse pseudopeptidique sur phase solide. Il est important de noter que nos travaux nous ont permis de mettre au point une toute nouvelle méthode de synthèse de *N*-aminodipeptides faisant intervenir un motif hydrazone, éliminable en une seule étape par action de l'APTS, contrairement au groupement phtalimide utilisé jusqu'à présent.

Le deuxième chapitre de ce mémoire est consacré à la mise au point de conditions de synthèse sur phase solide d'oligomères à squelette *N*-aminopeptidique. Après une étude préliminaire en phase liquide permettant de confirmer la possibilité d'un couplage peptidique classique entre deux *N*-aminodipeptides préalablement déprotégés, nous nous sommes intéressés par la suite à la synthèse de [α -*N*-amino]mères par une stratégie de synthèse sur phase solide. Après de nombreuses tentatives infructueuses de déprotection des oligomères phtaloylés, nous avons choisi d'oligomériser les synthons Fmoc-Phe ψ [CON(NHBoc)]Ala-OMe, qui nous ont permis d'isoler les tous premiers oligomères *N*-aminopeptidiques jamais synthétisés à ce jour.

Une partie de ce travail était consacré à la synthèse d'oligomères fonctionnalisés par une nucléobase azotée dans le but d'obtenir de nouveaux PNA. Les études menées jusqu'à présent ne nous ont pas permis d'isoler les composés voulus. Il reste tout de même de nombreuses voies à explorer afin de mener à bien ce projet, et notamment l'oligomérisation des synthons fonctionnalisés protégés sur l'extrémité *N*-terminale par un groupement Fmoc.

Enfin, nous avons soumis les [α -*N*-amino]mères obtenus à différentes techniques spectroscopiques afin de déterminer s'ils avaient la capacité de s'autostructurer en solution. Même si nous n'avons pas pu conclure avec certitude sur la structure en solution de nos composés, les analyses RMN et infrarouge corroborent les études de modélisation moléculaire qui font état de l'établissement possible de liaisons hydrogène au sein des oligomères II. Des études complémentaires (et notamment en température) sont cependant nécessaires pour établir avec certitude l'identité des atomes impliqués dans la structuration de nos composés.

Partie Expérimentale

General methods.....	- 139 -
----------------------	---------

Chapter I : *N*-aminodipeptides synthesis.

II. <i>N</i> -aminodipeptides synthesis involving phthaloylated compounds.	- 141 -
II.1. Synthesis of phthaloylated <i>N</i> -aminodipeptides derivatives P-Xaa _ψ [CON(NPht)]Xbb-OR....	- 141 -
II.1.1. Phthaloylated derivatives synthesis P-Xaa-NHNPhT.	- 141 -
II.1.2 Mitsunobu reaction.	- 150 -
II.2. Synthesis of Boc <i>N</i> -aminodipeptides P-Xaa _ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR.....	- 157 -
II.2.2 Transprotection of phthaloylated <i>N</i> -aminodipeptides derivatives.....	- 157 -
II.2.3. Synthesis of <i>N</i> -aminodipeptides Fmoc-Xaa _ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR.	- 162 -
II.3. Synthesis of <i>N</i> -aminodipeptides P-Xaa _ψ [CON(NH ₂)]Xbb-OR.	- 163 -
III. Synthesis of <i>N</i> -aminodipeptides using hydrazone moiety.	- 164 -
III.1. Choice of the aldehyde for the Mitsunobu reaction.....	- 164 -
III.2. Hydrazone déprotection.	- 174 -
V. Solid phase synthesis of <i>N</i> -aminodipeptides.	- 176 -
V.2. Route 1 : Aromatic anchoring.	- 176 -
V.3. Route 2 : <i>C</i> -terminal anchoring.....	- 177 -
V.3.1. Synthesis of the alcohol derivatives.....	- 177 -
IV.3.2. Solid-phase synthesis of phthaloylated <i>N</i> -aminodipeptides.	- 180 -
V.2.3. <i>C</i> -terminal esterification.	- 186 -
IV.3.4. Deprotection/transprotection.....	- 186 -
IV. Functionalized <i>N</i> -aminodipeptides synthesis.....	- 187 -
IV.2. Preliminary study : reaction with acetyl chloride.....	- 187 -
IV.3. Functionalized <i>N</i> -aminodipeptides synthesis.....	- 188 -
V.3.1. <i>Via</i> thyminylacetic acid derivative.....	- 188 -
V.3.2. <i>Via</i> halogenoacetyl halide.....	- 189 -

Chapter II : Liquid and solid phase oligomerization of *N*-aminodipeptides.

II. Preliminary study in liquid phase.	- 193 -
II.1. <i>C</i> -terminal deprotection.	- 193 -
II.2. <i>N</i> -terminal deprotection.....	- 197 -
II.2.1. Preliminary study.	- 197 -
II.2.2. Complementary study.	- 198 -
II.3. Coupling reaction between <i>N</i> - and <i>C</i> -deprotected <i>N</i> -aminodipeptides.	- 200 -
III. <i>N</i> -aminodipeptides oligomerization on solid phase.	- 201 -

III.2. Synthesis of phthaloylated <i>N</i> -aminopeptides.	- 201 -
III.3. Synthesis of free <i>N</i> -aminopeptides.	- 204 -
III.3.1. Cleavage with TMSOTf.	- 204 -
III.3.1. Use of the transprotection reaction.	- 205 -
a) <i>N</i> -aminopeptides synthesis by solid phase transprotection reaction.	- 205 -
b) <i>N</i> -aminopeptides synthesis on oxime resin.	- 206 -
III.3.3. <i>N</i> -aminopeptides synthesis using hydrazone derivatives.	- 208 -
III.3.3. <i>N</i> -aminopeptides synthesis using the Fmoc <i>N</i> -protected compounds.	- 209 -
III.4. Functionalized α - <i>N</i> -aminomers : toward a new family of PNAs.	- 216 -
III.4.1. Oligomerization of functionalized <i>N</i> -aminodipeptides.	- 216 -
III.4.2. Step by step PNAs synthesis.	- 217 -

General methods

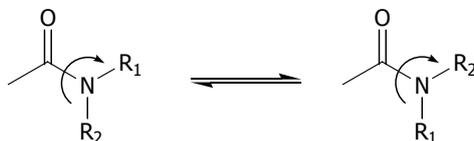
Starting materials were purchased from Aldrich, Acros Organics, Merck, Fluka, Senn Chemicals, Novabiochem, etc... and used without any purification. THF was dried and distilled over sodium and benzophenone, methanol over sodium, dichloromethane and acetone over P_2O_5 or $LiAlH_4$.

Reactions were monitored by Thin Layer Chromatography (TLC) using Kieselgel 60 with fluorescent indicator UV₂₅₄ (purchased from Merck or Macherey-Nagel). Detection was performed by UV or phosphomolybdic acid.

Columns chromatography were performed using silica gel 60 (70-200 μ m). Flash chromatography were performed on columns of silica gel 60 (40-63 μ m). All yields have been calculated from pure isolated products.

NMR spectra were recorded on a BRUKER AVANCE spectrometer operating at 300 MHz, in deuterated chloroform ($CDCl_3$) or deuterated dimethylsulfoxide ($DMSO-d_6$). Chemical shifts are given using tetramethylsilane (TMS) as internal standard ($\delta=0$ ppm for TMS).

Some NMR 1H and ^{13}C spectra show peak splitting due to the slow rotation around amid or *N*-aminoamid bond in respect to the following scheme :



Infrared spectra were recorded on a BRUKER TENSOR 27 spectrometer.

Mass spectrum were recorded on a SCIEX API 150EX spectrometer equipped with a ESI source.

High resolution mass spectrum were recorded on a ProMALDI/FTMS spectrometer at the Laboratoire de Spectrométrie de Masse et de Chimie Laser de l'Université Paul Verlaine (Metz).

- Matrix (HCCA) : α -cyano-4-hydroxycynamic acid (4 mg) was dissolved in H_2O / CH_3CN (1/1) acidified with 0,1% TFA.

- Samples : dissolved in 1 ml of methanol then mixed with the matrix in different proportions (1/1, 1/10, 1/100).

- Internal calibration : PEG 600 (polyethylenglycol), PEP MIX (mixture of angiotensine II, bradykinine and PR 14) and HCCA.

The uncorrected melting points were determined on a Kofler bank previously standardised with pure products of known melting point.

Abbreviations :

s=singlet

d=doublet

t=triplet

q=quartet

dd=double doublet

qd=double quartet

m=multiplet

br=broad

mp=melting point

arom=aromatic

Pht=phthalimide

eq=equivalent

Chapter I :
N-aminodipeptides synthesis.

II. N-aminodipeptides synthesis involving phthaloylated compounds.

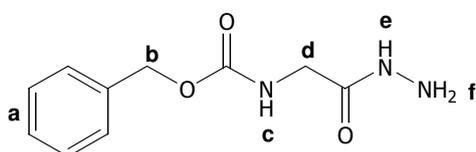
II.1. Synthesis of phthaloylated N-aminodipeptides derivatives P-Xaaψ[CON(NPht)]Xbb-OR.

II.1.1. Phthaloylated derivatives synthesis P-Xaa-NHNPh.

General procedure for hydrazide derivatives synthesis.

P-Xaa-OMe (50 mmol) was dissolved in methanol (50 ml). Hydrazine monohydrate (2 eq.) was added to the resulting solution at 0-5°C and stirred vigorously until a precipitate appeared. The white solid was filtered, washed with the minimum volume of anhydrous diethylether and dried in a vacuum desiccator. The crude product was recrystallized from Et₂O/EtOH.

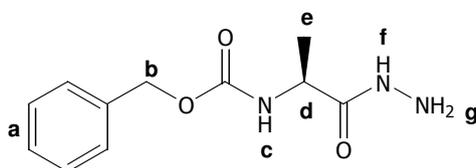
1a : Z-Gly-NHNH₂



Formula : C₁₀H₁₃N₃O₃ ; Molecular weight : 223 g/mol ; White solid ; 99%.

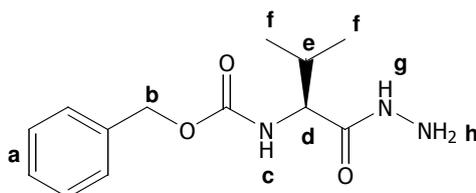
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.26-7.16 (m, 6H, Ha and He) ; 5.30-5.20 (m, 1H, Hc) ; 5.11-5.02 (m, 2H, Hb) ; 3.78-3.76 (m, 2H, Hd) ; 2.45-1.80 (br, 2H, Hf).

1b : Z-Ala-NHNH₂



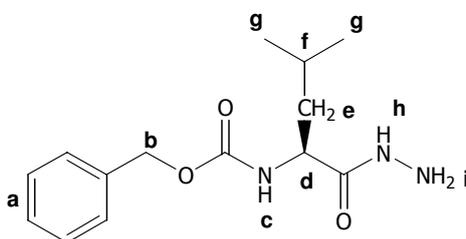
Formula : C₁₁H₁₅N₃O₃ ; Molecular weight : 237 g/mol ; White solid ; 92%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.60 (s, 1H, Hf) ; 7.38-7.26 (m, 5H, Ha) ; 5.35-5.29 (m, 1H, Hc) ; 5.15-5.05 (m, 2H, Hb) ; 4.24-4.17 (m, 1H, Hd) ; 4.01-3.33 (br, 2H, Hg) ; 1.38 (d, 3H, J=7.0Hz, He).

1c : Z-Val-NHNH₂

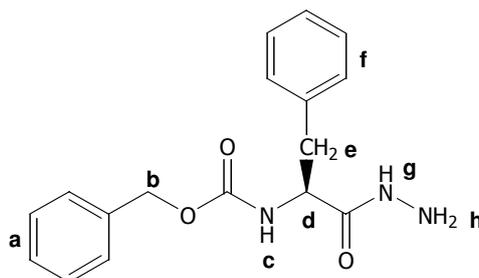
Formula : C₁₃H₁₉N₃O₃ ; Molecular weight : 265 g/mol ; White solid ; 71%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.90 (s, 1H, Hg) ; 7.39-7.29 (m, 5H, Ha) ; 5.62 (d, 1H, J=11.4Hz, Hc) ; 5.09 (dd, 2H, J=12.6Hz, J=9Hz, Hb) ; 3.98-3.92 (m, 3H, Hd and Hh) ; 2.14-2.03 (m, 1H, He) ; 1.01-0.86 (m, 6H, Hf).

1d : Z-Leu-NHNH₂

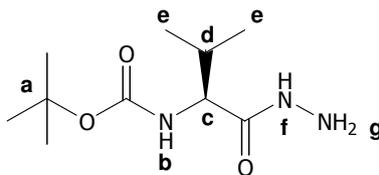
Formula : C₁₄H₂₁N₃O₃ ; Molecular weight : 279 g/mol ; White solid ; 96%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.47-7.20 (m, 5H, Ha) ; 5.28 (d, 1H, J=8.2Hz, Hc) ; 5.15-5.05 (m, 2H, Hb) ; 4.18-4.11 (m, 1H, Hd) ; 3.80-2.20 (br, 3H, Hh and Hi) ; 1.96-1.50 (m, 3H, He and Hf) ; 0.94-0.86 (m, 6H, Hg).

1e : Z-Phe-NHNH₂

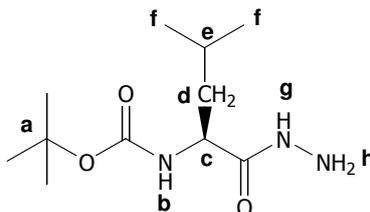
Formula : C₁₇H₁₉N₃O₃ ; Molecular weight : 313 g/mol ; White solid ; 95%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.36-7.10 (m, 11H, Ha, Hf and Hg) ; 5.40 (d, 1H, J=7.3Hz, Hc) ; 5.09-5.00 (m, 2H, Hb) ; 4.42-4.34 (m, 1H, Hd) ; 3.71-3.04 (m, 4H, He and Hh).

1f : Boc-Val-NHNH₂

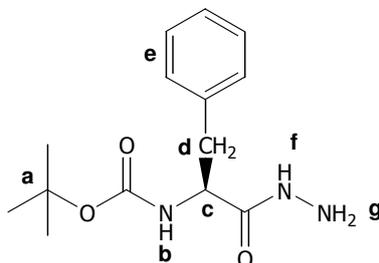
Formula : C₁₀H₂₁N₃O₃ ; Molecular weight : 231 g/mol ; White solid ; 99%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.29 (s, 1H, Hf) ; 5.34 (d, 1H, J=7.5Hz, Hb) ; 3.94-3.69 (m, 3H, Hc and Hg) ; 2.08-2.05 (m, 1H, Hd) ; 0.96-0.94 (m, 6H, He).

1g : Boc-Leu-NHNH₂

Formula : C₁₁H₂₃N₃O₃ ; Molecular weight : 245 g/mol ; White solid ; 85%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.50 (s, 1H, Hg) ; 7.73 (d, 1H, J=8.4Hz, Hb) ; 4.23-4.21 (m, 1H, Hc) ; 1.69-1.36 (m, 12H, Ha, Hd and He) ; 0.95-0.92 (m, 6H, Hf).

1h : Boc-Phe-NHNH₂

Formula : C₁₄H₂₁N₃O₃ ; Molecular weight : 279 g/mol ; White solid ; 86%.

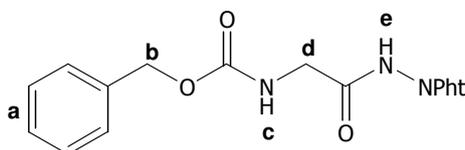
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.52 (s, 1H, Hf) ; 7.32-7.16 (m, 5H, He) ; 5.19 (d, 1H, J=7.3Hz, Hb) ; 4.37-4.29 (m, 1H, Hc) ; 3.99-3.21 (br, 2H, Hg) ; 3.10-2.97 (m, 2H, Hd) ; 1.93 (s, 9H, Ha).

General procedure for the phthaloylation reaction.

In a one necked round bottom flask equipped with a Dean-Stark, hydrazide **1** and phthalic anhydride (1 eq.) were dissolved in toluene under stirring and the resulting solution was heated to reflux for six hours. A white solid was obtained by cooling the solution with an ice-water bath. After filtration, the crude product was purified by recrystallization from petroleum ether/ EtOAc.

Special purification in case of phenylalanine (**2e** and **2i**) which shows organogelator properties in toluene¹: Solvent was evaporated under vacuum and the residue was dissolved in a small volume of chloroform. The pure product was obtained by precipitation with petroleum ether and filtration.

2a : Z-Gly-NHNPh



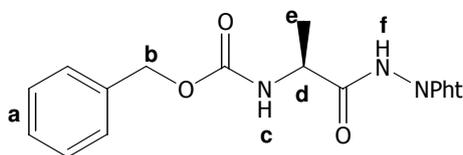
Formula : C₁₈H₁₅N₃O₅ ; Molecular weight : 353 g/mol ; White solid ; 81% ; mp=153°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3336 (NH) ; 1675 ; 1603 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.84 (s, 1H, He) ; 7.87-7.74 (m, 4H, H arom Ph) ; 7.32-7.17 (m, 5H, Ha) ; 5.69 (s, 1H, Hc) ; 5.11 (s, 2H, Hb) ; 4.17-4.13 (m, 2H, Hd).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 169.4 (CON(NPh)) ; 165.6 (CO Ph) ; 157.6 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.6 (C arom) ; 135.3 (CH arom Ph) ; 130.6 ; 129.1 ; 128.7 ; 128.6 (CH arom) ; 124.6 (CH arom Ph) ; 68.0 (Cb) ; 43.8 (Cd).

2b : Z-Ala-NHNPh



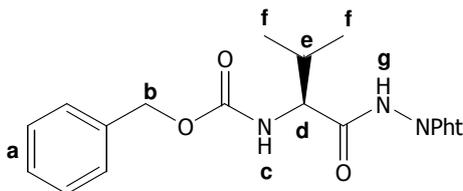
Formula : C₁₉H₁₇N₃O₅ ; Molecular weight : 367 g/mol ; White solid ; 93% ; mp=174°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3287 (NH) ; 1804 ; 1746 ; 1675 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.77 (s, 1H, Hf) ; 7.89-7.86 (m, 2H, H arom Ph) ; 7.80-7.75 (m, 2H, H arom Ph) ; 7.35-7.28 (m, 5H, Ha) ; 5.39-5.35 (m, 1H, Hc) ; 5.19-5.15 (m, 2H, Hb) ; 4.55-4.52 (m, 1H, Hd) ; 1.49 (d, 3H, J=6.9Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 172.4 (CON(NPh)) ; 165.5 (CO Ph) ; 157.2 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.5 (C arom) ; 135.2 (CH arom Ph) ; 130.7 (C arom) ; 129.1 ; 128.8 ; 128.5 (CH arom) ; 124.5 (CH arom Ph) ; 68.0 (Cb) ; 49.5 (Cd) ; 18.5 (Ce).

¹ Brosse, N.; Barth, D.; Jamart-Grégoire, B.; *Tetrahedron Lett.* **2002**, 45, 9521-9524.

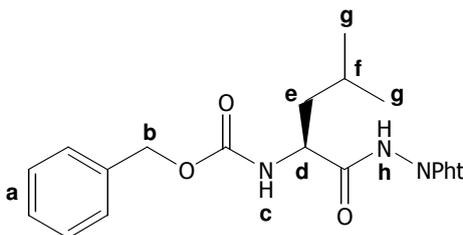
2c : Z-Val-NHNPh

Formula : $C_{21}H_{21}N_3O_5$; Molecular weight : 395 g/mol ; White solid ; 87% ; mp=238°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3275 (NH) ; 1801 ; 1744 ; 1671 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 10.89 (s, 1H, Hg) ; 7.95-7.93 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.55 (d, 1H, J=9Hz, Hc) ; 7.38-7.30 (m, 5H, Ha) ; 5.10-5.07 (m, 2H, Hb) ; 4.19-4.13 (m, 1H, Hd) ; 2.11-2.04 (m, 1H, He) ; 1.01 (d, 3H, J=6.7Hz, Hf) ; 0.96 (d, 3H, J=6.7Hz, Hf).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 170.5 ($\underline{CON(NPh)}$) ; 164.9 (\underline{CO} Pht) ; 156.1 ($\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 136.9 (C arom) ; 135.1 (CH arom Pht) ; 129.4 (C arom) ; 128.2 ; 127.7 ; 127.5 (CH arom) ; 123.6 (CH arom Pht) ; 65.4 (Cb) ; 58.5 (Cd) ; 30.5 (Ce) ; 18.9 ; 17.9 (Cf).

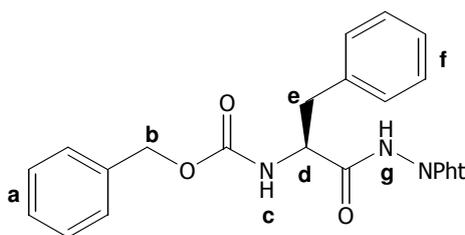
2d : Z-Leu-NHNPh

Formula : $C_{22}H_{23}N_3O_5$; Molecular weight : 409 g/mol ; White solid ; 90% ; mp=178°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3302 ; 3266 (NH) ; 1800 ; 1750 ; 1682 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.37 (s, 1H, Hh) ; 7.89-7.74 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.32-7.28 (m, 5H, Ha) ; 5.62 (d, 1H, J=7.8Hz, Hc) ; 5.16 ; 5.08 (2d, 2H, J=12.3Hz, Hb) ; 4.65-4.20 (m, 1H, Hd) ; 1.18-1.07 (m, 3H, He and Hf) ; 0.99 ; 0.96 (2d, 6H, J=5.6Hz, Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.3 ($\underline{CON(NPh)}$) ; 165.5 (\underline{CO} Pht) ; 157.4 ($\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 136.4 (C arom) ; 135.2 (CH arom Pht) ; 130.8 (C arom) ; 129.1 ; 128.7 ; 128.5 (CH arom) ; 124.5 (CH arom Pht) ; 68.0 (Cb) ; 52.3 (Cd) ; 41.2 (Ce) ; 25.2 (Cf) ; 23.5 ; 22.6 (Cg).

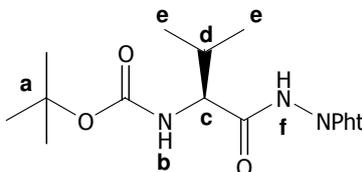
2e : Z-Phe-NHNPh

Formula : $C_{25}H_{21}N_3O_5$; Molecular weight : 443 g/mol ; White solid ; 88% ; mp=170°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3280 (NH) ; 1749 ; 1736 ; 1674 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 8.72 (s, 1H, Hg) ; 7.86–7.83 (m, 2H, H arom Pht) ; 7.77–7.72 (m, 2H, H arom Pht) ; 7.27–7.25 (m, 10H, Ha and Hf) ; 5.57 (s, 1H, Hc) ; 5.06-4.99 (m, 2H, Hb) ; 4.76-4.54 (m, 1H, Hd) ; 3.24 ; 3.11 (2dd, 2H, J=6Hz, J=8.1Hz, He).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 171.1 ($\underline{CON(NPh)}$) ; 165.4 (\underline{CO} Pht) ; 157.1 ($NH\underline{COOCH_2Ph}$) ; 136.4 (C arom) ; 135.3 (CH arom Pht) ; 130.2 ; 129.6 ; 129.1 ; 128.8 ; 128.5 ; 127.8 (Ca and Cf) ; 124.6 (CH arom Pht) ; 68.0 (Cb) ; 55.1 (Cd) ; 38.6 (Ce).

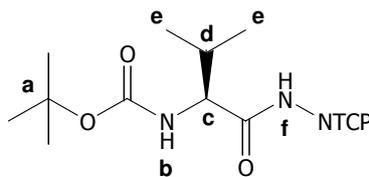
2f : Boc-Val-NHNPh

Formula : $C_{18}H_{23}N_3O_5$; Molecular weight : 361 g/mol ; White solid ; 88% ; mp=216°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3321 ; 3263 (NH) ; 1797 ; 1739 ; 1691 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.26 (s, 1H, Hf) ; 7.88-7.74 (m, 4H, H arom Pht) ; 5.30 (d, 1H, J=5.7Hz, Hb) ; 4.53-4.25 (m, 1H, Hc) ; 2.20-2.05 (m, 1H, Hd) ; 1.44 (s, 9H, Ha) ; 1.10-1.03 (m, 6H, He).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 171.6 ($\underline{CON(NPh)}$) ; 165.6 (\underline{CO} Pht) ; 156.9 ($NH\underline{COOtBu}$) ; 135.2 (CH arom Pht) ; 130.8 (C arom) ; 124.5 (CH arom Pht) ; 81.2 ($\underline{OC(CH_3)_3}$) ; 58.8 (Cc) ; 31.6 (Cd) ; 28.9 (Ca) ; 19.7 ; 18.6 (Ce).

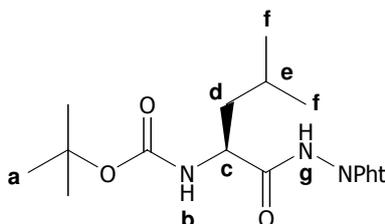
2g : Boc-Val-NHNTCP

Formula : $C_{18}H_{19}Cl_4N_3O_5$; Molecular weight : 499 g/mol ; White solid ; 87% ; mp>264°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3302 ; 3244 (NH) ; 1799 ; 1747 ; 1674 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.19 (s, 1H, Hf) ; 5.19 (s, 1H, Hb) ; 4.17-4.15 (m, 1H, Hc) ; 2.28-2.17 (m, 1H, Hd) ; 1.46 (s, 9H, Ha) ; 1.11-0.99 (m, 6H, He).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 171.4 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 161.1 ($\underline{C}O$ Pht) ; 157.0 ($NH\underline{C}OOtBu$) ; 141.5 ; 131.0 ; 126.6 (C arom) ; 57.9 (Cc) ; 31.1 (Cd) ; 28.9 (Ca) ; 19.8 ; 18.8 (Ce).

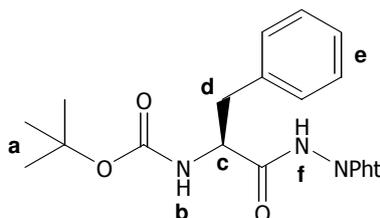
2h : Boc-Leu-NHNPh

Formula : $C_{19}H_{25}N_3O_5$; Molecular weight : 375 g/mol ; White solid ; 90% ; mp=107°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3331 ; 3253 (NH) ; 1798 ; 1741 ; 1686 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.45 (s, 1H, Hg) ; 7.85–7.73 (m, 4H, H arom Pht) ; 5.21-5.19 (m, 1H, Hb) ; 4.74-4.65 (m, 1H, Hc) ; 1.79–1.38 (m, 12H, Ha, Hd and He) ; 0.99 ; 0.96 (2d, 6H, J=6Hz, Hf).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.7 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 165.5 ($\underline{C}O$ Pht) ; 156.9 ($NH\underline{C}OOtBu$) ; 135.1 (CH arom Pht) ; 130.8 (C arom) ; 124.4 (CH arom Pht) ; 81.3 ($OC(CH_3)_3$) ; 51.7 (Cc) ; 40.9 (Cd) ; 28.9 (Ca) ; 25.2 (Ce) ; 23.5 ; 22.6 (Cf).

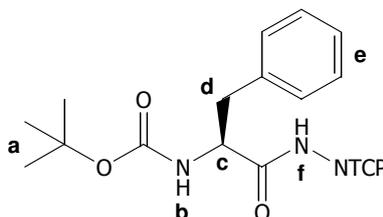
2i : Boc-Phe-NHNPhT

Formula : C₂₂H₂₃N₃O₅ ; Molecular weight : 409 g/mol ; White solid ; 90% ; mp=138°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3339 ; 3238 (NH) ; 1796 ; 1736 ; 1674 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.95 (s, 1H, Hf) ; 8.88-7.84 (m, 2H, H arom PhT) ; 7.78-7.74 (m, 2H, H arom PhT) ; 7.30-7.22 (m, 5H, He) ; 5.28 (s, 1H, Hb) ; 4.69-4.55 (m, 1H, Hc) ; 3.29-3.22 (m, 1H, Hd) ; 3.13-3.05 (m, 1H, Hd) ; 1.39 (s, 9H, Ha).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 171.5 (CON(NPhT)) ; 160.9 (CO PhT) ; 156.8 (NHCOotBu) ; 141.5 ; 136.5 ; 131.0 (C arom) ; 130.1 ; 129.7 ; 129.4 ; 128.9 ; 127.8 (CH arom) ; 126.5 (C arom) ; 81.6 (OC(CH₃)₃) ; 37.9 (Cd) ; 28.9 (Ca).

2j : Boc-Phe-NHNTCP

Formula : C₂₂H₁₉Cl₄N₃O₅ ; Molecular weight : 547 g/mol ; White solid ; 72% ; mp=231°C.

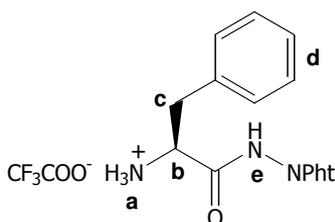
IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3305 (NH) ; 1750 ; 1678 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 9.24 (s, 1H, Hf) ; 7.31-7.11 (m, 5H, He) ; 5.29 (d, 1H, J=8.0Hz, Hb) ; 4.71-4.50 (m, 1H, Hc) ; 3.26-3.20 (m, 1H, Hd) ; 3.07-2.99 (m, 1H, He) ; 1.39 (s, 9H, Ha).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 171.6 (CON(NPhT)) ; 160.9 (CO PhT) ; 156.8 (NHCOotBu) ; 141.4 ; 138.5 (C arom) ; 130.0 ; 129.7 ; 129.4 ; 128.9 ; 127.7 (Ce) ; 126.5 (C arom) ; 81.8 (OC(CH₃)₃) ; 54.4 (Cc) ; 38.1 (Cd) ; 28.9 (Ca).

Special procedure in case of Fmoc derivatives.

To a stirred solution of Boc-Phe-NHNPhT **2i** in DCM was added 10 ml of TFA. The resulting solution was stirred at room temperature for 30 minutes then evaporated to dryness under vacuum. The residue thus obtained was dissolved in water and lyophilized to give the pure product **2k** as a white solid.

2k : CF₃COOH, H-Phe-NHNPh

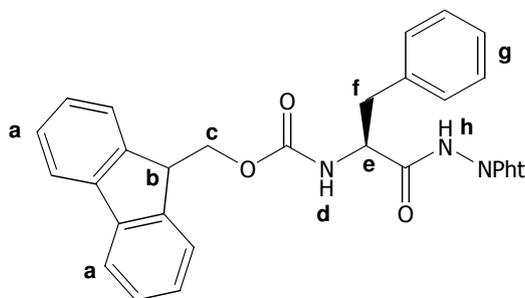
Formula : C₁₉H₁₆F₃N₃O₅ ; Molecular weight : 423 g/mol ; White solid ; 100% ; mp=130°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3225 ; 3003 (NH) ; 1738 ; 1673 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 10.5 (s, 3H, Ha) ; 7.90-7.67 (m, 4H, H arom Ph) ; 7.25-7.09 (m, 6H, Hd and He) ; 4.82 (s, 1H, Hb) ; 3.41-3.33 (m, 1H, Hc) ; 3.24-3.17 (m, 1H, Hc).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 169.3 (CF₃C=O) ; 165.3 (C=O Ph) ; 135.5 (CH arom Ph) ; 133.3 (CF₃C=O) ; 130.4 (CH arom) ; 130.2 (C arom) ; 126.6 ; 128.6 (CH arom) ; 124.7 (CH arom Ph) ; 54.3 (Cb) ; 37.9 (Cc).

To a stirred solution of **2k** (1 mmol) in DCM (10 ml) cooled at -10°C were added subsequently DIEA in order to neutralized the salt (1,1 mmol) and Fmoc-Cl (1,1 mmol). An other equivalent of DIEA was added dropwise and the solution was stirred at -10°C for 1h. The solvent was evaporated under vacuum and the crude product was purified by column chromatography using EtOAc/Petroleum ether (30/70) as eluent.

2l : Fmoc-Phe-NHNPh

Formula : C₃₂H₂₅N₃O₅ ; Molecular weight : 531 g/mol ; White solid ; mp=159°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3368 ; 3350 (NH) ; 1804 ; 1753 ; 1698 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.85-7.72 (m, 4H, Hh) ; 7.50-7.24 (m, 13H, Ha and Hg) ; 5.97-5.93 (m, 1H, He) ; 5.28 (d, 1H, J=9.1Hz, Hd) ; 4.70 (d, 2H, J=5.3Hz, Hc) ; 4.40-4.18 (m, 1H, Hb) ; 3.39-3.30 (m, 1H, Hf) ; 2.99-2.94 (m, 1H, Hf).

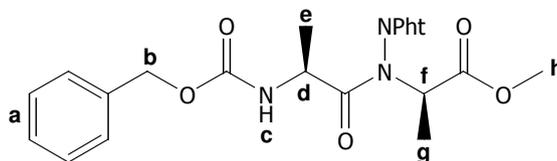
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 171.3 (CON(NPh)) ; 163.7 ; 163.2 (C=O Ph) ; 155.9 (NHCOFm) ; 144.5 ; 143.2 ; 143.0 ; 141.9 ; 141.8 ; 135.9 ; 135.4 (C arom) ; 135.3 (CH arom Ph) ; 130.5 (CH arom) ; 130.3 (C arom) ; 129.1 ; 128.5 ; 128.3 ; 127.8 ; 127.7 ; 125.8 ; 125.1 ; 124.9 ; 124.8 (CHa and CHg) ; 120.5 (CH arom Ph) ; 70.3 (Cc) ; 56.2 (Ce) ; 47.7 ; 47.1 (Cb) ; 39.3 (Ce).

II.1.2 Mitsunobu reaction.

General procedure for the Mitsunobu protocol.

To a stirred solution of P-AA₁-NHNPht **1** (3 mmol), PPh₃ (4.5 mmol) and α -hydroxyester **2** (4.5 mmol) in anhydrous THF (50 mL) under nitrogen atmosphere, dialkylazodicarboxylate (4.5 mmol) was added portionwise with stirring at 0–5°C. The resulting solution was stirred at room temperature until completion (monitored by TLC) and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography using a mixture petroleum ether/EtOAc as eluent.

3a : Z-Ala ψ [CON(NPht)]Ala-OMe



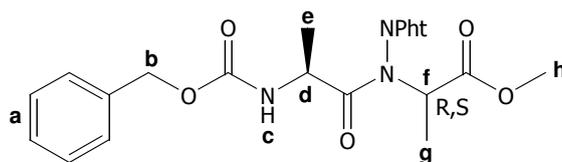
Formula : C₂₃H₂₃N₃O₇ ; Molecular weight : 453 g/mol ; White solid ; 85% ; mp=109°C.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 40/60).

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3271 (NH) ; 1797 ; 1747 ; 1693 ; 1674 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.95-7.80 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.37-7.32 (m, 5H, Ha) ; 5.40 (d, 1H, J=8.5Hz, Hc) ; 5.15-5.11 (m, 1H, Hf) ; 5.01-4.88 (m, 2H, Hb) ; 4.41-4.29 (m, 1H, Hd) ; 3.76 (s, 3H, Hh) ; 1.35 (d, 3H, J=8.3Hz, Hg) ; 1.28 (d, 3H, J=8.5Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.5 (CON(NPht)) ; 170.9 (COOMe) ; 165.8 ; 163.1 (CO Pht) ; 155.6 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.9 (C arom) ; 136.0 ; 135.5 (CH arom Pht) ; 129.8 (C arom Pht) ; 129.2 ; 128.7 (CH arom) ; 125.3 ; 124.8 (CH arom Pht) ; 67.9 ; 67.5 (Cb) ; 56.1 ; 55.4 (Cd) ; 53.6 ; 53.3 (Ch) ; 48.3 ; 47.8 (Cf) ; 20.0 ; 19.7 (Ce) ; 14.5 ; 14.3 (Cg).

3b : Z-Alaψ[CON(NPht)](L,D)Ala-OMe

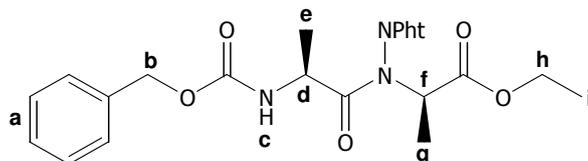
Formula : $C_{23}H_{23}N_3O_7$; Molecular weight : 453 g/mol ; White solid ; 87% ; mp= 109°C.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 40/60).

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3271 (NH) ; 1797 ; 1747 ; 1693 ; 1674 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.93-7.80 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.36-7.26 (m, 5H, Ha) ; 5.49 ; 5.38 (2d, 1H, J=8.0Hz, Hc) ; 5.27-4.94 (m, 3H, Hb and Hf) ; 4.39 (qd, 1H, J=7.3Hz, J=6.8Hz, Hd) ; 3.83 ; 3.81 (2s, 0.6H, Hh) ; 3.77 ; 3.75 (2s, 2.4H, Hh) ; 1.52-1.25 (m, 6H, He and Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 174.5 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 170.9 ($\underline{C}OOMe$) ; 165.8 ; 163.1 ($\underline{C}O$ Pht) ; 155.6 ($NH\underline{C}OOCH_2Ph$) ; 136.9 (C arom) ; 136.0 ; 135.5 (CH arom Pht) ; 129.8 (C arom Pht) ; 129.2 ; 128.7 (CH arom) ; 125.3 ; 124.8 (CH arom Pht) ; 67.9 ; 67.5 (Cb) ; 56.1 ; 55.4 (Cd) ; 53.6 ; 53.3 (Ch) ; 48.3 ; 47.8 (Cf) ; 20.0 ; 19.7 (Ce) ; 14.5 ; 14.3 (Cg).

3c : Z-Alaψ[CON(NPht)]Ala-OEt

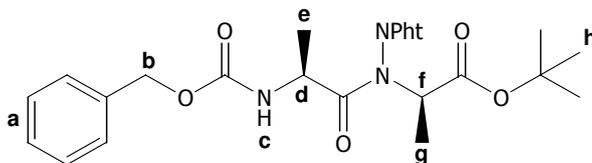
Formula : $C_{24}H_{25}N_3O_7$; Molecular weight : 467 g/mol ; White solid ; 85% ; mp=158°C.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 30/70).

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3284 (NH) ; 1796 ; 1746 ; 1674 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.87-7.75 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.30-7.18 (m, 5H, Ha) ; 5.35 (d, 1H, J=8.0Hz, Hc) ; 5.20-5.05 (m, 1H, Hf) ; 5.05-4.88 (m, 2H, Hb) ; 4.32 (qd, 1H, J=7.3Hz, J=6.8Hz, Hd) ; 4.16-4.09 (m, 2H, Hh) ; 1.62-1.13 (m, 9H, Hi, He and Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 174.1 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 170.2 ($\underline{C}OOEt$) ; 165.9 ; 165.0 ($\underline{C}O$ Pht) ; 155.8 ($NH\underline{C}OOCH_2Ph$) ; 136.9 (C arom) ; 135.9 ; 135.8 ; 135.5 ; 134.7 (CH arom Pht) ; 130.1 ; 129.9 (C arom Pht) ; 129.1 ; 128.9 ; 128.7 ; 128.6 (CH arom) ; 125.1 ; 125.0 ; 124.8 ; 124.6 (CH arom Pht) ; 67.9 ; 67.5 (Cb) ; 62.9 ; 62.4 (Ch) ; 57.5 ; 56.7 (Cd) ; 47.6 (Cf) ; 19.7 ; 19.4 (Ce) ; 15.3 (Ch) ; 15.0 ; 14.6 (Cg).

3d : Z-Alaψ[CON(NPht)]Ala-OtBu

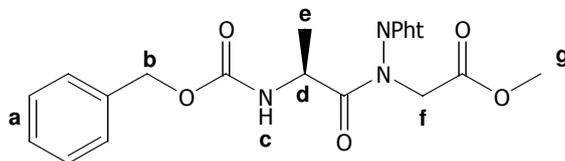
Formula : C₂₆H₂₉N₃O₇ ; Molecular weight : 495 g/mol ; White solid ; 75% ; mp=150°C.

Eluent : EtOAc/PE (10/85 then 40/70).

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3281 (NH) ; 1795 ; 1751 ; 1695 ; 1675 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.95-7.78 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.73-7.28 (m, 5H, Ha) ; 5.73 (d, 0.2H, J=8.0Hz, Hc) ; 5.50 (d, 0.8H, J=8.0Hz, Hc) ; 5.15-4.92 (m, 3H, Hb and Hd) ; 4.60 (qd, 0.2H, J=7.3Hz, J=6.8Hz, Hf) ; 4.38 (qd, 0.8H, J=7.3Hz, J=6.8Hz, Hf) ; 1.52-1.37 (m, 12H, Hf, He and Hg).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.4 (CON(NPht)) 169.3 (COOtBu) ; 165.7 ; 165.3 (CO Pht) ; 155.8 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.9 (C arom) ; 135.9 ; 135.4 (CH arom Pht) ; 130.7 ; 129.8 (C arom Pht) ; 129.1 ; 128.6 (CH arom) ; 125.2 ; 124.8 (CH arom Pht) ; 82.7 (OC(CH₃)₃) ; 67.5 (Cb) ; 58.0 ; 57.2 (Cd) ; 48.3 ; 47.8 (Cf) ; 28.5 ; 28.4 (Ch) ; 20.7 ; 20.1 (Ce) ; 14.3 (Cg).

3e : Z-Alaψ[CON(NPht)]Gly-OMe

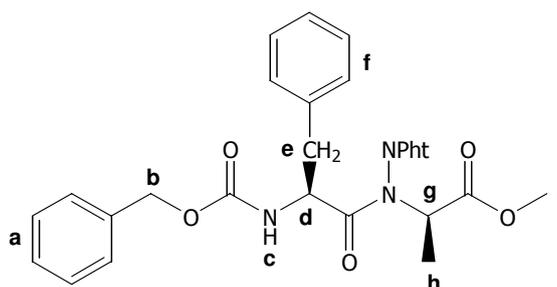
Formula : C₂₂H₂₁N₃O₇ ; Molecular weight : 439 g/mol ; Oil ; 77%.

Eluent : EtOAc/PE (10/85 then 40/70).

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3281 (NH) ; 1795 ; 1751 ; 1695 ; 1675 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.93-7.62 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.37-7.17 (m, 5H, Ha) ; 5.83-5.71 (m, 1H, Hc) ; 5.24-5.10 (m, 3H, Hb and Hd) ; 3.81 (d, 2H, J=14.4Hz, Hf) ; 3.72 (s, 0.35H, Hg) ; 3.69 (s, 2.55H, Hg) ; 1.42 (d, 0.35H, J=6.7Hz, He) ; 1.31 (d, 2.55H, J=6.7Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 170.4 (CON(NPht)) ; 169.7 (COOMe) ; 165.3 ; 164.6 (CO Pht) ; 156.3 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.6 ; 135.9 (CH arom Pht) ; 135.3 (C arom) ; 129.5 ; 129.4 ; 128.5 ; 124.9 ; 124.6 (CH arom) ; 67.4 (Cb) ; 56.5 ; 55.1 (Cd) ; 53.5 ; 53.1 (Cg) ; 43.1 ; 42.7 (Cf) ; 14.6 ; 14.3 (Cg).

3f : Z-Pheψ[CON(NPht)]Ala-OMe

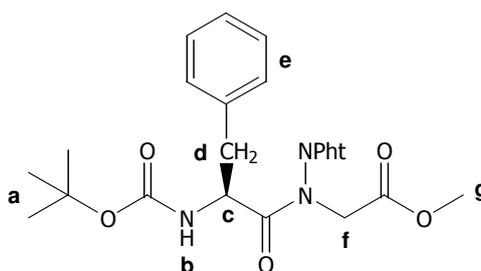
Formula : $C_{29}H_{27}N_3O_7$; Molecular weight : 529 g/mol ; Oil ; 100%.

Eluent : EtOAc/PE (20/80).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3320 (NH) ; 1733 ; 1701 ; 1681 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.86–7.75 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.31–7.08 (m, 10H, Ha and Hf) ; 5.55 ; 5.42 (2d, 1H, J=9.4Hz, Hc) ; 5.41-4.62 (m, 5H, Hb, Hd and Hg) ; 4.12 ; 4.10 (2s, 3H, Hi) ; 1.49 ; 1.42 (2d, 3H, J=9.3Hz, Hh).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.7 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 170.5 ; 170.4 ($\underline{C}OOMe$) ; 166.0 ; 164.9 ($\underline{C}O$ Pht) ; 156.4 ; 155.9 ($NH\underline{C}OOCH_2Ph$) ; 136.8 ; 136.4 (C arom) ; 135.8 ; 135.6 ; 135.4 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 130.6 ; 130.2 ; 130.0 ; 129.9 ; 128.9 ; 128.7 ; 128.5 ; 128.3 ; 127.5 ; 127.3 ($\underline{C}Ha$ and CHf) ; 124.8 ; 124.6 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 67.7 ; 67.3 (Cb) ; 57.3 ; 56.1 (Cd) ; 53.4 ; 53.1 (Cg) ; 52.6 (Ci) ; 38.7 (Ce) ; 15.0 ; 14.9 ; 14.8 (Ch).

3g : Boc-Pheψ[CON(NPht)]Gly-OMe

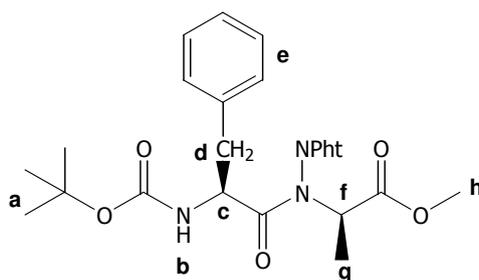
Formula : $C_{25}H_{27}N_3O_7$; Molecular weight : 481 g/mol ; Oil ; 97%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3341 (NH) ; 1798 ; 1741 ; 1698 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.85-7.80 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.24-7.05 (m, 5H, He) ; 5.05 ; 4.88 (2d, 1H, J=9.5Hz, Hb) ; 4.62-4.57 (m, 2H, Hc and Hf) ; 4.19 (d, 1H, J=16.9Hz, Hf) ; 3.67 ; 3.63 (2s, 3H, Hg) ; 3.10-2.73 (m, 2H, Hd) ; 1.35-1.06 (m, 9H, Ha).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 173.4 ; 171.1 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 168.1 ($\underline{C}OOMe$) ; 164.9 ; 164.5 ($\underline{C}O$ Pht) ; 155.2 ($\underline{C}OOtBu$) ; 136.7 (C arom) ; 135.6 ; 135.5 ; 135.2 (CH arom Pht) ; 130.2 (C arom) ; 129.3 ; 129.2 ; 128.9 ; 127.7 ; 127.6 ; 127.2 (CH arom) ; 125.0 ; 124.8 ; 124.7 ; 124.6 (CH arom Pht) ; 80.4 $OC(CH_3)_3$; 53.3 ; 53.0 (Cg) ; 52.6 (Cf) ; 51.6 (Cc) ; 49.9 (Cf) ; 39.8 ; 38.9 (Cd) ; 28.9 ; 28.7 (Ca).

3h : Boc-Pheψ[CON(NPht)]Ala-OMe

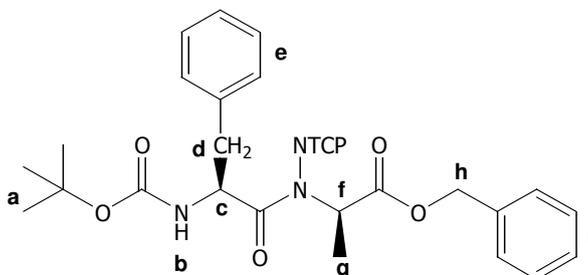
Formula : $C_{26}H_{29}N_3O_7$; Molecular weight : 495 g/mol Oil ; 98%.

Eluent : EtOAc/PE (25/75).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3351 (NH) ; 1799 ; 1744 ; 1693 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.93-7.79 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.29-7.14 (m, 5H, He) ; 5.49-5.11 (m, 1H, Hf) ; 5.00 (d, 0.3H, J=7.8Hz, Hb) ; 4.89 (d, 0.7H, J=7.8Hz, Hb) ; 4.86-4.72 (m, 1H, Hc) ; 3.79 (s, 0.9H, Hh) ; 3.75 (s, 2.1H, Hh) ; 3.21-2.81 (m, 2H, Hd) ; 1.49-1.22 (m, 12H, Ha and Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.9 (CON(NPht)) ; 170.8 ; 170.4 (COOMe) ; 166.1 ; 165.1 (CO Pht) ; 155.8 ; 155.2 (NHCOOtBu) ; 136.9 (C arom) ; 135.6 ; 135.5 (CH arom Pht) ; 130.7 (C arom) ; 130.3 (CH arom) ; 130.2 (C arom) ; 130.1 ; 129.1 ; 128.9 ; 127.5 ; 127.3 (CH arom) ; 125.0 ; 124.9 ; 124.8 (CH arom Pht) ; 81.1 ; 80.4 (OC(CH₃)₃) ; 57.2 ; 56.0 (Cf) ; 53.4 ; 53.2 (Cc) ; 52.1 (Ch) ; 39.1 ; 38.9 (Cd) ; 28.9 ; 28.7 (Ca) ; 14.9 (Cg).

3i : Boc-Pheψ[CON(NTCP)]Ala-OBn

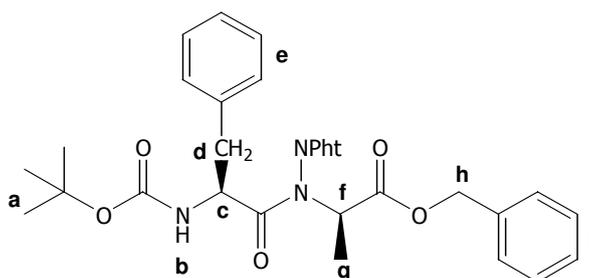
Formula : $C_{32}H_{29}Cl_4N_3O_7$; Molecular weight : 709 g/mol ; White solid ; 85% ; mp=72°C.

Eluent : EtOAc/PE (20/80).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3341 (NH) ; 1746 ; 1732 ; 1687 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.40-7.07 (m, 10H, He and Hi) ; 5.23-5.15 (m, 3H, Hf and Hh) ; 4.72 (d, 1H, J=9.1Hz, Hb) ; 4.46-4.40 (m, 1H, Hc) ; 3.03-3.00 (m, 1H, Hd) ; 2.87-2.81 (m, 1H, Hd) ; 1.48-1.11 (m, 12H, Ha and Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.6 (CON(NPht)) ; 170.9 (COOBn) ; 169.8 ; 169.5 ; 161.8 ; 160.4 (CO NTCP) ; 155.8 ; 155.5 (NHCOOtBu) ; 141.8 ; 141.6 ; 136.8 ; 136.6 ; 135.9 ; 135.7 ; 131.3 ; 130.9 (C arom) ; 130.0 ; 129.6 ; 129.2 ; 129.1 ; 127.3 (CH arom) ; 126.4 ; 126.2 ; 125.8 (C arom) ; 81.1 ; 80.9 ((OC(CH₃)₃)) ; 68.9 ; 68.1 (Ch) ; 55.9 (Cf) ; 51.8 ; 51.7 (Cc) ; 38.9 ; 38.5 (Cd) ; 28.7 (Ca) ; 14.8 (Cg).

3j : Boc-Pheψ[CON(NPht)]Ala-OBn

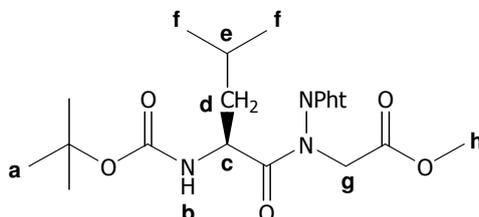
Formula : $C_{32}H_{33}N_3O_7$; Molecular weight : 571 g/mol ; White solid ; R=79% ; mp=

Eluent : EtOAc/PE (20/80).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3364 (NH) ; 1798 ; 1744 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm) 7.79-7.78 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.39-7.10 (m, 10H, He and Hi) ; 5.81 (d, 1H, J=10Hz, Hb) ; 5.50-5.40 (m, 1H, Hf) ; 5.17 (s, 2H, Hh) ; 5.10-4.52 (m; 1H, Hc) ; 3.11-2.78 (m, 2H, Hd) ; 1.34 (s, 9H, Ha) ; 1.18 (s, 3H, Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.7 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 170.0 ($\underline{C}OOBn$) ; 165.9 (CO Pht) ; 155.0 ($NH\underline{C}OOtBu$) ; 136.9 (C arom) ; 135.3 (CH arom Pht) ; 129.8 (C arom) ; 129.5 ; 128.9 ; 127.0 (CH arom) ; 124.6 (CH arom Pht) ; 80.1 ($\underline{O}C(CH_3)_3$) ; 67.8 (Ch) ; 56.0 (Cf) ; 51.8 (Cc) ; 38.5 (Cd) ; 28.5 (Ca) ; 14.5 (Cg).

3k : Boc-Leuψ[CON(NPht)]Gly-OMe

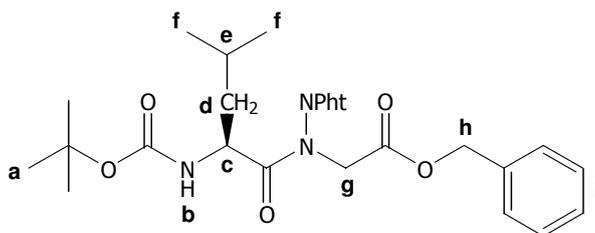
Formula : $C_{22}H_{29}N_3O_7$; Molecular weight : 447 g/mol ; Oil ; 91%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3251 (NH) ; 1802 ; 1742 ; 1695 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.98–7.85 (m, 4H, H arom Pht) ; 5.08 (d, 0.25H, J=9.9Hz, Hb) ; 4.92 (d, 0.75H, J=9.9Hz, Hb) ; 4.73 (d, 1H, J=17Hz, Hg) ; 4.60–4.47 (m, 1H, Hc) ; 4.40 (d, 1H, J=17Hz, Hg) ; 3.74 (s, 0.75H, Hh) ; 3.67 (s, 2.25H, Hh) ; 1.64–1.23 (m, 12H, Ha, Hd and He) ; 1.02-0.95 (m, 6H, Hf).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 174.6 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 168.2 ($\underline{C}OOMe$) ; 164.9 ; 164.5 ($\underline{C}O$ Pht) ; 155.4 ($NH\underline{C}OOtBu$) ; 135.5 ; 135.3 (CH arom Pht) ; 130.4 (C arom) ; 124.8 ; 124.6 (CH arom Pht) ; 80.3 ($\underline{O}C(CH_3)_3$) ; 53.3 (Ch) ; 49.6 (Cg) ; 48.7 (Cc) ; 42.6 (Cd) ; 28.9 ; 28.8 (Ca) ; 25.2 ; 25.0 (Ce) ; 23.8 ; 23.6 ; 22.7 ; 22.4 (Cf).

3l : Boc-Leu ψ [CON(NPht)]Gly-OBn

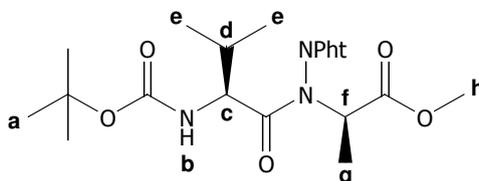
Formula : C₂₈H₃₃N₃O₇ ; Molecular weight : 523 g/mol ; Oil ; 92%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3370 (NH) ; 1798 ; 1741 ; 1618 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.92-7.77 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.37-7.27 (m, 5H, Hi) ; 5.13 (s, 2H, Hh) ; 4.94 (d, 1H, J=9.8Hz, Hb) ; 4.74 (d, 1H, J=17Hz, Hg) ; 4.44-4.32 (m, 1H, Hc) ; 4.24 (d, 1H, J=17Hz, Hg) ; 1.61-1.52 (m, 2H, Hd and He) ; 1.44-1.31 (m, 10H, Ha and Hd) ; 0.85 (d, 3H, J=5.8Hz, Hf) ; 0.73 (d, 3H, J=5.8Hz, Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.5 (C_{ON}(NPht)) ; 167.5 (C_{OO}Bn) ; 164.8 ; 164.5 (C_O Pht) ; 155.4 (NH_COOtBu) ; 135.6 (C arom) ; 135.4 ; 135.3 (CH arom Pht) ; 130.3 (C arom) ; 129.3 ; 129.2 ; 129.1 ; 129.0 ; 128.9 (CH arom) ; 124.7 ; 124.6 ; 124.5 (CH arom Pht) ; 80.2 (O_C(CH₃)₃) ; 67.8 (Ch) ; 49.9 (Cg) ; 48.6 (Cc) ; 42.5 (Cd) ; 28.7 (Ca) ; 24.9 (Ce) ; 23.6 ; 22.4 (Cf).

3m : Boc-Val ψ [CON(NPht)]Ala-OMe

Formula : C₂₂H₂₉N₃O₇ ; Molecular weight : 447 g/mol ; Oil ; 47%.

Eluent : EtOAc/PE (15/85).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3359 (NH) ; 1754 ; 1691 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.92-7.77 (m, 4H, H arom Pht) ; 5.50-4.94 (m, 2H, Hb and Hf) ; 4.7 (dd, 0.3H, J=9.3Hz, J= 9.9Hz, Hc) ; 3.93 (dd, 0.7H, J=9.3Hz, J= 9.9Hz, Hc) ; 3.79 ; 3.73 (2s, 3H, Hh) ; 2.01-1.99 (m, 1H, Hd) ; 1.46-1.38 (m, 12H, Ha and Hg) ; 0.87-0.81 (m, 6H, He).

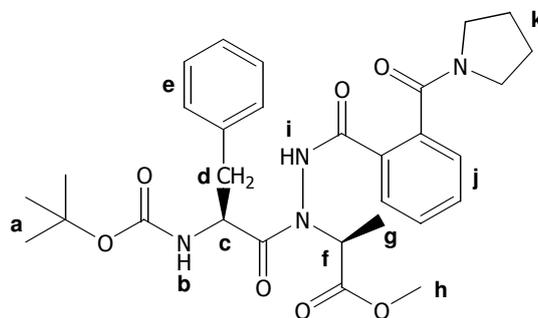
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 173.5 (C_{ON}(NPht)) 171.2 ; 170.7 (C_{OO}Me) ; 165.9 ; 164.7 (C_O Pht) ; 156.4 ; 155.8 (NH_COOtBu) ; 135.7 ; 135.5 ; 135.3 ; 135.2 (CH arom Pht) ; 130.7 ; 130.5 ; 129.9 (C arom) ; 125.0 ; 124.9 ; 124.6 ; 124.4 (CH arom Pht) ; 80.9 ; 80.3 (O_C(CH₃)₃) ; 60.9 ; 57.2 (Cc) ; 56.2 ; 55.9 (Cf) ; 53.0 (Ch) ; 31.5 ; 31.2 (Cd) ; 28.7 ; 28.6 (Ca) ; 20.0 ; 18.0 (Ce) ; 15.2 ; 14.9 (Cg).

II.2. Synthesis of Boc *N*-aminodipeptides P-Xaa ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR : Transprotection reaction.

II.2.2 Transprotection of phthaloylated *N*-aminodipeptides derivatives.

To a stirred solution of **3** (3 mmol) in anhydrous THF was added pyrrolidine (9 mmol) in one portion. The resulting solution was stirred at room temperature until completion (monitored by TLC). Solvent and excess of pyrrolidine were evaporated under vacuum. The residue thus obtained was dissolved in anhydrous THF (20 ml). Boc₂O (4.5 mmol) and a catalytic amount of DMAP were added in one portion and the resulting solution was stirred at room temperature until completion (monitored by TLC). Solvent was evaporated under vacuum and the mixture obtained was dissolved in anhydrous THF (20 ml). A solution of methylamine 2N in methanol (4.5 mmol) was then added and the resulting solution was stirred at room temperature until completion (monitored by TLC) and evaporated under vacuum. A yellowish oil was obtained and purified by column chromatography using a mixture petroleum ether/EtOAc as eluent.

4a : Boc-Phe ψ [CON(NHPCB)]Ala-OMe

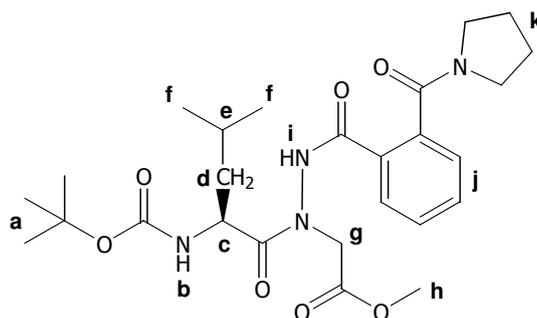


Formula : C₃₀H₃₈N₄O₇ ; Molecular weight : 566 g/mol ; Oil ; 100%.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3321 ; (NH) ; 1742 ; 1697 ; 1616 (C=O).

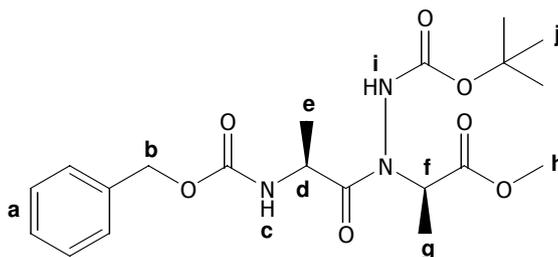
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 9.39 (s, 1H, Hi) ; 7.90-7.87 (m, 1H, Hj) ; 7.55-7.49 (m, 2H, Hj) ; 7.36-7.35 (m, 1H, Hj) ; 7.28-7.17 (m, 5H, He) ; 5.39-5.21 (m, 1H, Hf) ; 5.19-5.10 (m, 1H, Hb) ; 4.99-4.80 (m, 1H, Hc) ; 3.73-3.58 (m, 5H, Hh and Hk) ; 3.24-3.14 (m, 3H, Hd and Hk) ; 2.99-2.60 (m, 1H, Hd) ; 1.96-1.84 (m, 4H, Hk) ; 1.48 (d, 3H, J=7.3Hz, Hg) ; 1.34 (s, 9H, Ha).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 175.3 (CONHCOPh-1-CO-pyrro) ; 172.5 (COOMe) ; 169.7 (CONHCOPh-1-CO-pyrro) ; 168.4 (CONHCOPh-1-CO-pyrro) ; 155.7 (NHCOOtBu) ; 137.7 ; 137.4 (C arom) ; 132.3 (CH arom) ; 130.9 (C arom) ; 130.1 ; 129.9 ; 129.8 ; 128.8 ; 127.3 ; 127.2 (CH arom) ; 80.2 (NHCOOC(CH₃)₃) ; 55.4 (Cf) ; 53.1 (Ch) ; 52.1 (Cc) ; 49.8 ; 46.4 (Ck) ; 38.6 (Cd) ; 28.8 (Ca) ; 26.4 ; 25.1 (Ck) ; 14.7 ; 14.6 (Cg).

4b : Boc-Leuψ[CON(NHPCB)]Gly-OMe

Formula : $C_{26}H_{38}N_4O_7$; Molecular weight : 518 g/mol ; Oil ; 100%.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm) 7.93-7.85 (m, 3H, Hi and Hj) ; 7.61-7.50 (m, 2H, Hj) ; 5.25-5.15 (m, 1H, Hb) ; 4.99-4.79 (m, 1H, Hc) ; 4.36-4.08 (m, 2H, Hg) ; 3.77-3.49 (m, 5H, Hh and Hk) ; 3.24-3.14 (m, 2H, Hk) ; 1.96-1.84 (m, 4H, Hk) ; 1.48-1.38 (m, 12H, Ha, Hd and He) ; 0.95-0.86 (m, 6H, Hf).

5a : Z-Alaψ[CON(NHBoc)]Ala-OMe

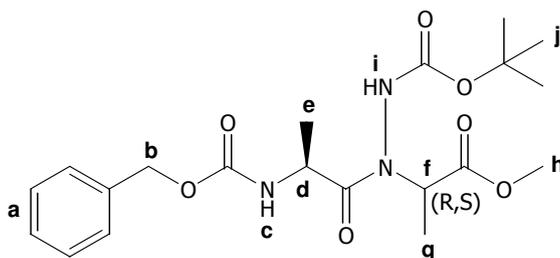
Formula : $C_{20}H_{29}N_3O_7$; Molecular weight : 423 g/mol ; Oil ; 87%.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 40/60).

IR (NaCl) ν_{max} (cm^{-1}) 3324 (NH) ; 1731 ; 1681 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.34-7.27 (m, 5H, Ha) ; 7.19 (s, 1H, Hi) ; 5.43 (s, 1H, Hc) ; 5.23 (d, 1H, J=6.0Hz, Hf) ; 5.14-5.05 (m, 2H, Hb) ; 4.92-4.70 (m, 1H, Hd) ; 3.70 (s, 3H, Hh) ; 1.49-1.42 (m, 12H, He and Hj) ; 1.36 (d, 3H, J= 6Hz, Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.9 ($\underline{CON(NHBoc)}$) ; 165.7 (\underline{COOMe}) ; 156.0 ($\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 137.0 (C arom) ; 129.2 ; 128.8 ; 128.6 (CH arom) ; 82.8 ($\underline{NHCOO(CH_3)_3}$) ; 67.5 (Cb) ; 55.2 (Cf) ; 53.2 (Ch) ; 47.4 (Cd) ; 28.7 (Cj) ; 19.2 (Ce) ; 14.5 (Cg).

5b : Z-Alaψ[CON(NHBoc)](L,D)Ala-OMe

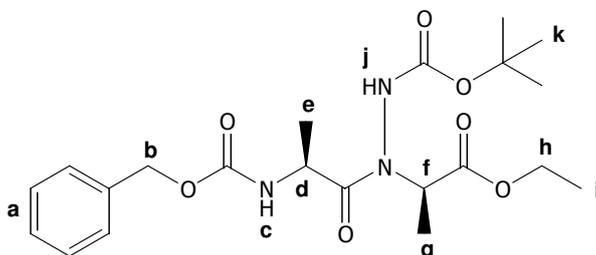
Formula : $C_{20}H_{29}N_3O_7$; Molecular weight : 423 g/mol ; Oil ; 68%.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 40/60).

IR (NaCl) ν_{max} (cm^{-1}) 3313 (NH) ; 1742 ; 1678 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.33-7.27 (m, 5H, Ha) ; 7.04 ; 6.94 (2s, 1H, Hi) ; 5.49 ; 5.38 (2s, 1H, Hc) ; 5.34-5.03 (m, 3H, Hb and Hf) ; 4.39 (qd, 1H, J=7.3Hz, J=6.8Hz, Hd) ; 3.71 (s, 1.5H, Hh) ; 3.69 (s, 1.5H, Hh) ; 1.47-1.30 (m, 15H, He, Hf and Hj).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 177.3 ; 176.1 ($\underline{CON(NHBoc)}$) ; 173.4 ; 172.6 (\underline{COOMe}) ; 156.2 ($\underline{NHCOOtBu}$) ; 155.7 ; 155.1 ($\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 137.1 ; 136.9 (C arom) ; 129.0 ; 128.6 (CH arom) ; 83.8 ; 82.9 ; 82.6 ($\underline{NHCOOC(CH_3)_3}$) ; 67.5 (Cb) ; 55.2 ; 54.3 (Cf) ; 53.2 ; 53.0 (Ch) ; 48.0 ; 47.3 (Cd) ; 28.6 ; 28.4 (Cj) ; 19.4 ; 19.0 (Ce) ; 14.4 ; 14.2 (Cg).

5c : Z-Alaψ[CON(NHBoc)]Ala-OEt

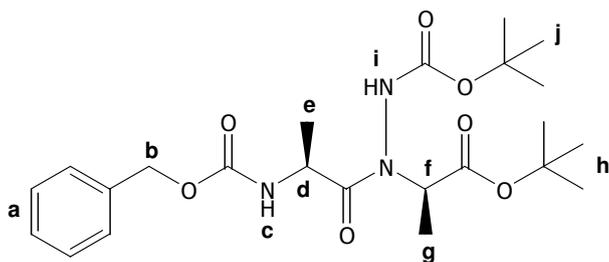
Formula : $C_{21}H_{31}N_3O_7$; Molecular weight : 437 g/mol ; Oil ; 73%.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 30/70).

IR (NaCl) ν_{max} (cm^{-1}) 3313 (NH) ; 1742 ; 1678 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.33-7.20 (m, 6H, Ha and Hj) ; 5.48-5.31 (m, 1H, Hf) ; 5.2 (d, 1H, J=6.4Hz, Hc) ; 5.14 ; 5.03 (2d, 2H, J=12.2Hz, Hb) ; 4.90-4.68 (m, 1H, Hd) ; 4.16 (q, 2H, J=7.1Hz, Hh) ; 1.49 (s, 9H, Hk) ; 1.36 (d, 3H, J=6.8Hz, Hg) ; 1.32-1.29 (m, 3H, He) ; 1.25 (t, 3H, J=7.1Hz, Hi).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 177.4 ($\underline{CON(NHBoc)}$) ; 172.6 (\underline{COOEt}) ; 156.2 ($\underline{NHCOOtBu}$) ; 155.6 ($\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 137.0 (C arom) ; 129.1 ; 128.6 (CH arom) ; 82.6 ($\underline{NHCOOC(CH_3)_3}$) ; 67.4 (Cb) ; 66.2 (Ch) ; 55.3 (Cf) ; 47.4 (Cd) ; 28.7 (Ck) ; 19.2 (Ce) ; 14.7 (Ci) ; 14.5 (Cg).

5d : Z-Alaψ[CON(NHBoc)]Ala-OtBu

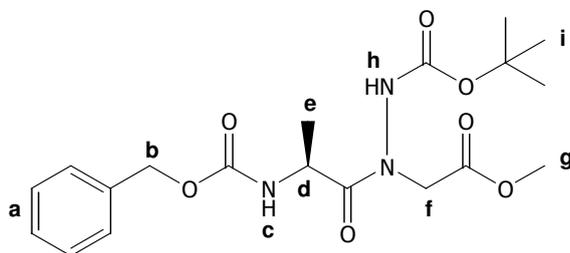
Formula : C₂₃H₃₅N₃O₇ ; Molecular weight : 465 g/mol ; White solid ; 87% ; mp=146°C.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 30/70).

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3282 (NH) ; 1795 ; 1751 ; 1695 ; 1677 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.34 (s, 5H, Ha) ; 6.90 ; 6.55 (2s, 1H, Hi) ; 5.71 ; 5.56 (2d, 1H, J=6Hz, Hc) ; 5.29-5.03 (m, 3H, Hb and Hf) ; 4.74-4.64 (m, 1H, Hd) ; 1.66-1.37 (m, 24H, Ha, He, Hg and Hj).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.1 (CON(NHBoc)) ; 172.3 (COOtBu) ; 155.8 (NHCOOtBu) ; 155.2 (NHCOOCH₂Ph) ; 137.2 (C arom) ; 129.1 ; 128.6 (CH arom) ; 83.8 ; 83.0 (NHCOOC(CH₃)₃) ; 67.2 (Cb) ; 55.0 (Cd) ; 48.1 (Cf) ; 28.7 ; 28.6 (CH and Cj) ; 19.7 (Ce) ; 14.4 (Cg).

5e : Z-Alaψ[CON(NHBoc)]Gly-OMe

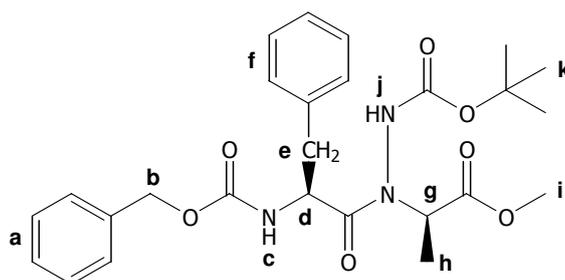
Formula : C₁₉H₂₇N₃O₇ ; Molecular weight : 409 g/mol ; Oil ; 86%.

Eluent : EtOAc/PE (15/85 then 40/60).

IR (NaCl) ν_{\max} (cm⁻¹) 3324 (NH) ; 1731 ; 1681 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.35-6.80 (m, 6H, Ha and Hh) ; 5.55 (d, 1H, J=7.1Hz, Hc) ; 5.14 ; 5.05 (2d, 2H, J=12.0Hz, Hb) ; 5.00-4.50 (m, 1H, Hd) ; 4.91-4.51 (m, 2H, Hf) ; 3.75 (s, 3H, Hg) ; 1.48 (s, 9H, Hi) ; 1.33 (d, 3H, J=6.8Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.2 (CON(NHBoc)) ; 170.1 (COOMe) ; 156.1 (NHCOOtBu) ; 154.4 (NHCOOCH₂Ph) ; 137.1 (C arom) ; 129.2 ; 128.7 (CH arom) ; 83.5 (NHCOOC(CH₃)₃) ; 67.5 (Cb) ; 53.1 (Cg) ; 48.9 (Cf) ; 47.3 (Cd) ; 28.7 (Ci) ; 19.4 (Ce).

5f : Z-Pheψ[CON(NHBoc)]Ala-OMe

Formula : C₂₆H₃₃N₃O₇ ; Molecular weight : 499 g/mol ; Oil ; 95%.

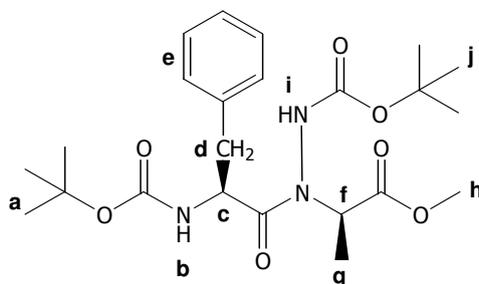
Eluent : EtOAc/PE (20/80).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3331 ; 3251 (NH) ; 1720 ; 1702 ; 1681 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.32-7.19 (m, 11H, Ha, Hf and Hj) ; 5.70 (d, 1H, J=6.9Hz, Hc) ; 5.21-4.94 (m, 4H, Hb, Hd and Hg) ; 3.66 (s, 3H, Hi) ; 3.19-3.12 (m, 1H, He) ; 2.86-2.77 (m, 1H, He) ; 1.55-1.40 (m, 12H, Hh and Hk).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.1 (CON(NHBoc)) ; 172.7 (COOMe) ; 157.9 (NHCOOtBu) ; 156.4 (NHCOOCH₂Ph) ; 137.0 ; 136.8 (C arom) ; 130.2 ; 129.9 ; 128.8 ; 128.2 ; 127.2 ; 126.6 (CH arom) ; 82.4 (NHCOOC(CH₃)₃) ; 67.1 (Cb) ; 55.3 (Cd) ; 52.8 (Ci) ; 52.5 (Cg) ; 28.5 (Ck) ; 14.3 (Ch).

MS calculated for C₂₆H₃₃N₃O₇ [M+Na]⁺ *m/z* 522.2 found 522.3.

5g : Boc-Pheψ[CON(NHBoc)]Ala-OMe

Formula : C₂₃H₃₅N₃O₇ ; Molecular weight : 465 g/mol ; Oil ; 93%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3320 (NH) 1733 ; 1720 ; 1681 (C=O).

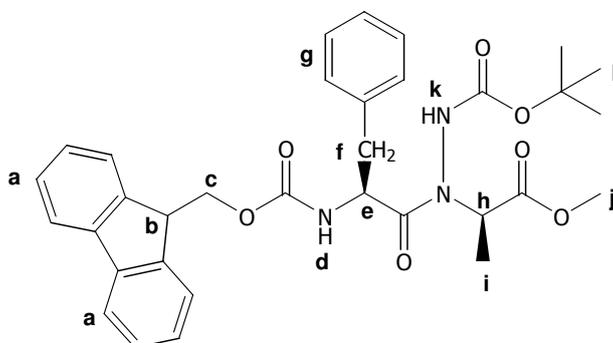
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.39-7.18 (m, 6H, He and Hi) ; 5.29-4.90 (m, 3H, Hb, Hc and Hf) ; 3.71 (s, 3H, Hh) ; 3.18-3.15 (m, 1H, Hd) ; 2.83-2.72 (m, 1H, Hd) ; 1.56-1.21 (m, 21H, Ha, Hg and Hj).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.5 (CON(NHBoc)) ; 171.8 (COOMe) ; 171.7 (CON(NHCOOtBu)) ; 155.8 (NHCOOtBu) ; 137.3 (C arom) ; 130.2 ; 128.9 ; 127.3 (CH arom) ; 82.7 (CON(NHCOOC(CH₃)₃)) ; 80.3 (NHCOOC(CH₃)₃) ; 55.4 (Cc) ; 54.1 (Ce) ; 53.1 (Ch) ; 52.0 (Cf) ; 29.0 ; 28.9 ; 28.7 (Ca and Cj) ; 14.6 (Cg).

II.2.3. Synthesis of N-aminodipeptides Fmoc-Xaa Ψ [CON(NHBoc)]Xbb-OR.

To a stirred solution of 2,2'-dipyridyl (0.5 mmol) in methanol (12 ml) were added 10% Pd/C, a solution of Z-Phe Ψ [CON(NHBoc)]Ala-OMe **5f** (1 mmol) in methanol (12 ml) and Fmoc-OSu (1mmol). The resulting mixture was flushed with H₂ and vigorously stirred until completion (monitored by TLC). The reaction was filtered on celite and evaporated to dryness. The resulting oily solid was dissolved in EtOAc (125 ml) and washed with 10% aqueous HCl (3x125 ml), water (3x125 ml) and dried over MgSO₄. Solvent was evaporated under vacuum and the crude product was purified by column chromatography.

5h : Fmoc-Phe Ψ [CON(NHBoc)]Ala-OMe



Formula : C₃₃H₃₇N₃O₇ ; Molecular weight : 587 g/mol ; Oil ; 89%.

Eluent : EtOAc/PE (15/85).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3310 (NH) ; 1736 ; 1676 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.77-7.28 (m, 13H, Ha and Hg) ; 5.86-5.59 (m, 1H, Hd) ; 5.28-5.02 (m, 3H, Hb and Hc) ; 4.37-4.35 (m, 1H Hh) ; 4.19-4.11 (m, 1H, He) ; 3.66 (s, 3H, Hj) ; 3.28-3.24 (m, 1H, Hf) ; 2.99-2.95 (m, 1H, Hf) ; 1.55-1.50 (m, 12H, Hi and Hl).

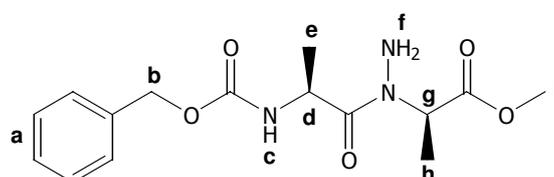
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.1 (CONNH) ; 172.7 (COOMe) ; 156.3 (COOtBu) ; 155.8 (COOFm) ; 144.7 ; 144.3 ; 137.1 ; 136.9 (C arom) ; 130.3 ; 128.8 ; 128.4 ; 128.1 ; 127.5 ; 127.3 ; 125.7 ; 125.6 ; 120.3 (CH arom) ; 82.5 (OC(CH₃)₃) ; 67.5 ; 67.1 (Cc) ; 55.3 (Cb) ; 52.9 (Ce) ; 52.5 (Cj) ; 47.5 (Ch) ; 38.2 (Cf) ; 28.6 (Cl) ; 14.7 ; 14.4 (Ci).

MS calculated for C₃₃H₃₇N₃O₇ [M+K]⁺ m/z 626.2 found 626.5.

II.3. Synthesis of *N*-aminodipeptides P-Xaa ψ [CON(NH₂)]Xbb-OR.

Compound **5** (1 mmol) was dissolved in a solution of HCl (3N) in EtOAc (10 ml). The resulting solution was stirred until completion (monitored by TLC), cooled with an ice-water bath, adjusted to pH 7 by addition of NaHCO₃ (saturated solution) and extracted with EtOAc (3x10 ml). The organic extracts were combined, washed with a saturated solution of NaCl (3x10 ml) and dried over MgSO₄. Solvent was evaporated under vacuum to give the crude product. Purification by column chromatography was performed using petroleum ether/EtOAc as eluent if necessary.

6a : Z-Ala ψ [CON(NH₂)]Ala-OMe



Formula : C₁₅H₂₁N₃O₅ ; Molecular weight : 323 g/mol ; Oil ; 86%.

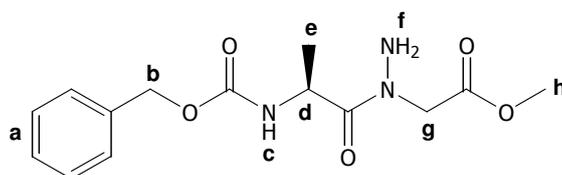
Eluent : EtOAc/PE (60/40).

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3342 ; 3246 (NH) ; 1654 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.34-7.27 (m, 5H, Ha) ; 5.73 (d, 1H, J=7.4Hz, Hc) ; 5.33-5.24 (m, 1H, Hg) ; 5.19-5.09 (m, 3H, Hb and Hd) ; 4.08 (s, 2H, Hf) ; 3.72 (s, 3H, Hi) ; 1.44 (d, 3H, J=7.4Hz, Hh) ; 1.35 (d, 3H, J=6.8Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.3 (CONNH₂) ; 172.5 (COOCH₃) ; 156.1 (NHCOOCH₂Ph) ; 137.2 (C arom) ; 129.1 ; 128.8 ; 128.6 (CH arom) ; 67.5 ; 67.2 (Cb) ; 53.3 (Cd) ; 53.9 (Ci) ; 48.1 (Cg) ; 19.9 (Ce) ; 14.4 (Ch).

6b : Z-Ala ψ [CON(NH₂)]Gly-OMe

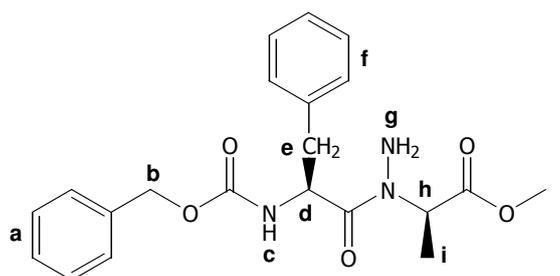


Formula : C₁₄H₁₉N₃O₅ ; Molecular weight : 309 g/mol ; Oil ; 72%.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3339 (NH) ; 1721 ; 1659 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.34-7.26 (m, 5H, Ha) ; 5.70 (d, 1H, J=7.6Hz, Hc) ; 5.29-5.24 (m, 1H, Hd) ; 5.13 ; 5.09 (2d, 2H, J=12.8Hz, Hb) ; 4.60 ; 4.11 (2d, 1H, J=17.8Hz, Hg) ; 3.76 (s, 3H, Hh) ; 2.07 (s, 2H, Hf) ; 1.38 (d, 3H, J=6.8Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.7 (CON(NH₂)) ; 170.0 (COOMe) ; 156.4 (NHCOOCH₂Ph) ; 137.2 (C arom) ; 129.1 ; 128.7 (CH arom) ; 67.3 (Cb) ; 53.1 (Cd) ; 51.6 (Cg) ; 47.7 (Ch) ; 19.4 (Ce).

6c : Z-Pheψ[CON(NH₂)]Ala-OMe

Formula : C₂₁H₂₅N₃O₅ ; Molecular weight : 399 g/mol ; Oil ; 70%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70 then 50/50).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3356 ; 3256 (NH) ; 1718 ; 1658 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.38-7.19 (m, 10H, Ha and Hf) ; 5.96-5.55 (m, 2H, Hc and Hd) ; 5.25 (q, 1H, J=6.6Hz, Hh) ; 5.10 ; 5.04 (2d, J=12.4Hz, Hb) ; 3.66 (s, 3H, Hj) ; 3.55 (s, 2H, Hg) ; 3.08 (dd, 1H, J=5.7Hz, J=7.6Hz, He) ; 2.95 (dd, 1H, J=5.7Hz, J=7.6Hz, He) ; 1.23 (d, 3H, J=6.6Hz, Hi).

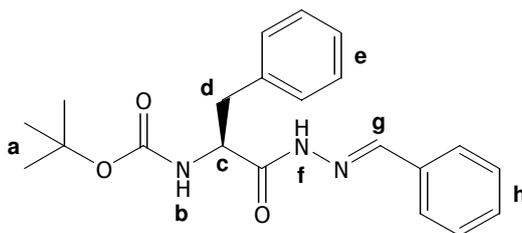
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.5 (CON(NH₂)) ; 172.4 (COOMe) ; 156.1 (NHCOOCH₂Ph) ; 137.2 ; 137.1 (C arom) ; 130.1 ; 1293.9 ; 128.9 ; 128.7 ; 128.5 ; 128.4 ; 127.3 (CH arom) ; 67.1 (Cb) ; 53.2 (Ch) ; 52.9 (Cj) ; 52.2 (Cd) ; 40.6 (Ce) ; 14.1 (Ci).

III. Synthesis of *N*-aminodipeptides using hydrazone moiety.

III.1. Choice of the aldehyde for the Mitsunobu reaction.

General procedure for acidic derivatives synthesis P-AA₁-NHN=CH-R.

A solution of aldehyde (5 mmol) in THF (10 ml) was added dropwise to a solution of hydrazide **1** (5 mmol) in THF (10 ml). The resulting solution was heated to reflux for 4h. A solid was obtained by evaporating the solvent under vacuum. The crude product was purified by recrystallization.

7a : Boc-Phe-NHN=CH-Ph

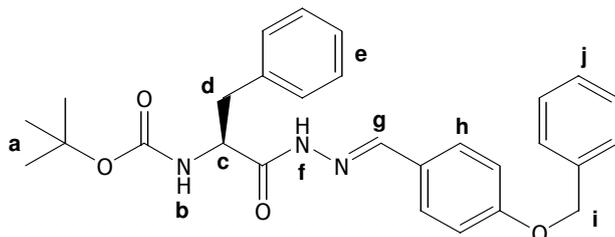
Formula : $C_{21}H_{25}N_3O_3$; Molecular weight : 367 g/mol ; White solid ; 84% ; mp=168°C.

Recrystallization from : Petroleum ether/EtOAc.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3331 ; 3254 (NH) ; 1669 ; 1609 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.91 (s, 1H, Hf) ; 7.70-7.66 (m; 2H, Hh) ; 7.41-7.15 (m, 7H, Ha and Hh) ; 5.49-5.33 (m, 1.7H, Hb and Hc) ; 4.53-4.48 (m, 0.3H, Hc) ; 3.25-3.06 (m, 2H, Hd) ; 1.41 ; 1.40 (2s, 9H, Ha).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 174.5 ; 168.5 ($\underline{C}ONHN=$) ; 155.2 ($NH\underline{C}OOtBu$) ; 149.6 ; 145.8 (Cg) ; 137.2 ; 134.1 (C arom) ; 131.1 ; 130.2 ; 130.1 ; 129.4 ; 129.3 ; 129.2 ; 128.9 ; 128.4 ; 128.0 ; 127.5 ; 127.4 (CH arom) ; 80.3 ($OC(CH_3)_3$) ; 53.1 (Cc) ; 39.3 (Cd) ; 29.0 (Ca).

7b : Boc-Phe-NHN=CH-Ph-4-OBn

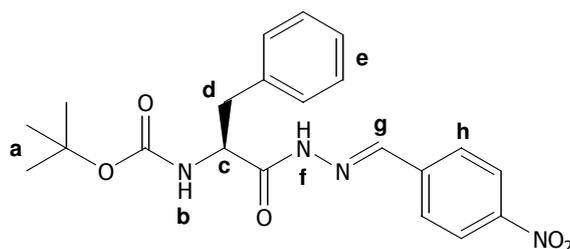
Formula : $C_{28}H_{31}N_3O_4$; Molecular weight : 473 g/mol ; White solid ; 52% ; mp=181°C.

Recrystallization from : Petroleum ether/EtOAc.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3342 ; 3251 (NH) ; 1738 ; 1669 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 10.08 (s, 1H, Hf) ; 7.91-7.00 (m, 15H, He, Hg, Hh and Hi) ; 5.56-5.41 (m, 1.6H, Hc and Hb) ; 5.12-5.10 (m, 2H, Hi) ; 4.61-4.45 (m, 0.4H, Hc) ; 3.26-3.05 (m, 2H, Hd) ; 1.14 (s, 9H, Ha).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 174.3 ; 168.8 ($\underline{C}ONHN=$) ; 156.5 ; 155.8 ($NH\underline{C}OOtBu$) ; 150.2 ; 145.7 (Cg) ; 137.2 ; 137.1 (C arom) ; 132.6 ; 130.4 ; 130.2 ; 129.6 ; 129.3 ; 128.9 ; 128.8 ; 128.1 ; 127.3 (CH arom) ; 127.2 , 126.6 (C arom) ; 80.2 ($OC(CH_3)_3$) ; 70.7 (Ci) ; 55.1 ; 53.0 (Cc) ; 36.4 ; 39.2 (Cd) ; 28.9 (Ca).

7c : Boc-Phe-NHN=CH-Ph-4-NO₂

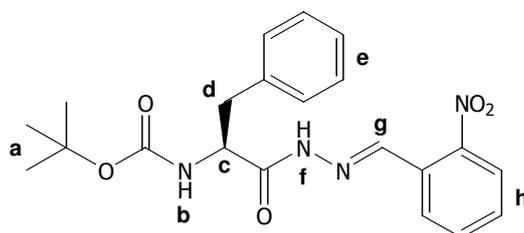
Formula : C₂₁H₂₄N₄O₅ ; Molecular weight : 412 g/mol ; Yellow solid ; 81% ; mp=187°C.

Recrystallization from : Petroleum ether/EtOAc.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3344 (NH) ; 1676 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 10.46 (s, 1H, Hf) ; 8.41-8.06 (m, 5H, Hh and Hg) ; 7.33-7.17 (m, 5H, He) ; 5.55-5.37 (m, 1.7H, Hb and Hc) ; 4.65-4.51 (m, 0.3H, Hc) ; 3.26-3.21 (m, 1H, Hd) ; 3.14-3.07 (m, 1H, Hd) ; 1.46 ; 1.45 (2s, 9H, Ha).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 175.1 ; 169.3 ($\underline{\text{C}}\text{ONHN}=\text{}$) ; 155.9 (NH $\underline{\text{C}}\text{OOtBu}$) ; 149.3 (C arom) ; 146.7 ; 143.2 (Cg) ; 140.2 ; 140.0 ; 136.9 (C arom) ; 130.0 ; 129.4 ; 129.1 ; 128.9 ; 128.5 ; 127.6 ; 124.9 ; 124.7 124.5 (CH arom) ; 80.7 (OC(CH₃)₃) ; 55.1 ; 52.9 (Cc) ; 39.3 ; 39.1 (Cd) ; 28.9 (Ca).

7d : Boc-Phe-NHN=CH-Ph-2-NO₂

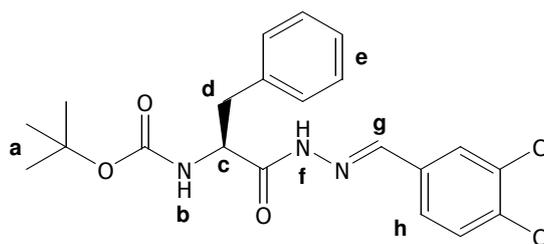
Formula : C₂₁H₂₄N₄O₅ ; Molecular weight : 412 g/mol ; Yellow solid ; 75% ; mp=197°C.

Recrystallization from : DCM/EtOH.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3321 ; 3231 (NH) ; 1671 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 11.31 ; 11.15 (2s, 1H, Hf) ; 8.63 (s, 0.4H, Hg) ; 8.40 (s, 0.6H, Hg) ; 8.20-7.92 (m, 2H, Hh) ; 7.60-7.43 (m, 2H, Hh) ; 7.21-7.07 (m, 5H, He) ; 5.09-5.07 (m, 0.5H, Hc) ; 4.25-4.22 (m, 0.5H, Hc) ; 3.01-2.97 (m, 1H, Hd) ; 2.89-2.77 (m, 1H, Hd) ; 1.32 (s, 9H, Ha).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.0 ; 169.1 ($\underline{\text{C}}\text{ONHN}=\text{}$) ; 155.6 (NH $\underline{\text{C}}\text{OOtBu}$) ; 148.5 (C arom) ; 143.9 ; 140.2 (Cg) ; 137.1 (C arom) ; 133.8 ; 133.7 ; 132.0 ; 130.7 ; 130.4 ; 130.2 ; 129.9 ; 129.5 ; 129.2 ; 129.0 ; 128.8 ; 128.6 ; 127.9 ; 127.1 ; 127.0 ; 125.0 (CH arom) ; 79.8 (OC(CH₃)₃) ; 55.0 ; 52.6 (Cc) ; 39.9 ; 39.4 (Cd) ; 28.8 (Ca).

7e : Boc-Phe-NHN=CH-Ph-3,4-Cl

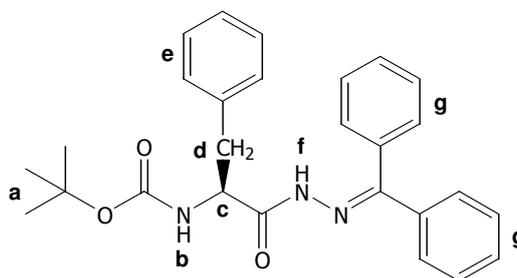
Formula : $C_{21}H_{23}Cl_2N_3O_3$; Molecular weight : 436 g/mol ; White solid ; 82% ; mp=202°C.

Recrystallization from : DCM/EtOH.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3339 ; 3198 (NH) ; 1739 ; 1677 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.82 (s, 1H, Hf) ; 8.00-7.19 (m, 9H, He, Hg and Hh) ; 5.47-5.37 (m, 1.7H, Hb and Hc) ; 4.99-4.73 (m, 0.3H, Hc) ; 3.19-3.10 (m, 2H, Hd) ; 1.44 (s, 9H, Ha).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 174.6 ; 168.9 ($\underline{C}ONHN=$) ; 155.9 ($NH\underline{C}OObu$) ; 137.0 (Cg) ; 135.1 ; 134.0 (C arom) ; 131.9 ; 131.5 ; 131.3 ; 130.0 ; 129.9 ; 129.4 ; 129.0 ; 128.0 ; 127.7 ; 127.6 ; 127.3 ; 127.0 (CH arom) ; 80.6 ($OC(CH_3)_3$) ; 55.9 ; 53.0 (Cc) ; 39.4 ; 39.1 (Cd) ; 28.9 (Ca).

7f : Boc-Phe-NHN=C(Ph)₂

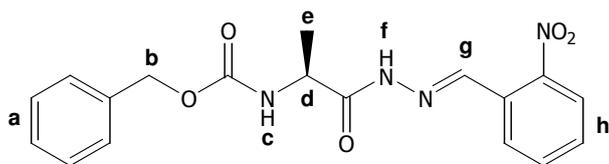
Formula : $C_{27}H_{29}N_3O_3$; Molecular weight : 443 g/mol ; White solid ; 92% ; mp=182°C.

Recrystallization from : AcOEt/Petroleum ether.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3327 ; 3245 (NH) ; 1690 ; 1671 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.41 ; 9.32 (2s, 1H, Hf) ; 7.65-7.07 (m, 15H, Hd and Hg) ; 5.09-4.93 (m, 1.7H, Hb and Hc) , 4.42-4.38 (m, 0.3H, Hc) ; 3.10-2.70 (m, 2H, Hd) ; 1.49 ; 1.39 (2s, 9H, Ha).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 174.1 ($\underline{C}ONHN=$) ; 168.5 ($\underline{C}=NNH$) ; 155.3 ($NH\underline{C}OObu$) ; 153.5 ; 149.3 (CH arom) ; 140.8 ; 140.3 ; 137.2 (C arom) ; 130.7 ; 130.1 ; 130.0 ; 129.5 ; 129.3 ; 129.2 ; 128.9 ; 128.3 ; 127.8 ; 127.7 ; 127.3 (CH arom) ; 80.2 ($OC(CH_3)_3$) ; 54.3 ; 54.0 ; 53.3 (Cc) ; 39.2 (Cd) ; 28.9 (Ca).

7g : Z-Ala-NHN=CH-Ph-2-NO₂

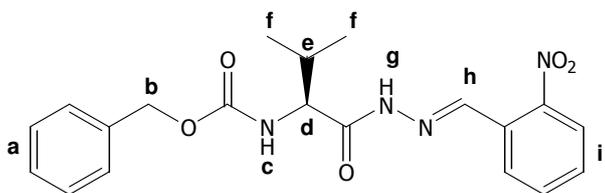
Formula : C₁₈H₁₈N₄O₅ ; Molecular weight : 370 g/mol ; Yellow solid ; 88% ; mp=174°C.

Recrystallization from : AcOEt/Petroleum ether.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3303 ; 3213 (NH) ; 1691 ; 1670 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 11.85 ; 11.63 (2s, 1H, Hf) ; 9.07 ; 8.77 (2s, 1H, Hg) ; 8.08-8.02 (m, 2H, Hh) ; 7.79-7.75 (m, 2H, Hh) ; 7.39-7.29 (m, 5H, Ha) ; 5.04-4.88 (m, 2.5H, Hb and Hd) ; 4.14-4.09 (m, 0.5H, Hd) ; 1.29 (d, 3H, J=7.1Hz, He).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 174.2 ; 169.5 (CONHN=) ; 155.7 (NHCOOCH₂Ph) ; 148.1 ; 148.0 (Cg) ; 142.2 ; 138.7 (CH arom) ; 137.0 (C arom) ; 133.7 ; 133.5 ; 130.5 ; 130.4 ; 128.3 ; 128.0 ; 127.9 ; 127.7 ; 124.6 ; 124.5 (CH arom) ; 65.4 ; 65.3 (Cb) ; 49.4 ; 47.1 (Cd) ; 17.7 ; 16.8 (Ce).

7h : Z-Val-NHN=CH-Ph-2-NO₂

Formula : C₂₀H₂₂N₄O₅ ; Molecular weight : 398 g/mol ; Yellow solid ; 79% ; mp=214°C.

Recrystallization from : AcOEt/Petroleum ether.

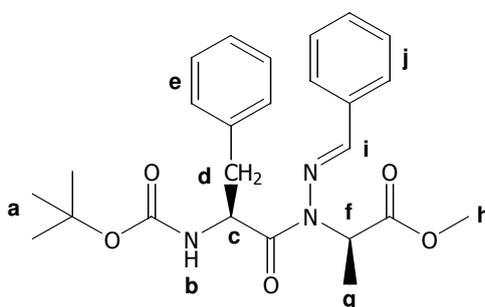
IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3312 ; 3203 (NH) ; 1687 ; 1668 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 12.02 ; 11.75 (2s, 1H, Hg) ; 8.65 ; 8.36 (2s, 1H, Hh) ; 8.08-8.00 (m, 2H, Hi) ; 7.82-7.65 (m, 2H, Hi) ; 7.40-7.32 (m, 5H, Ha) ; 5.05-5.02 (m, 2H, Hb) ; 4.49-4.87 (m, 0.5H, Hd) ; 3.91-3.86 (m, 0.5H, Hd) ; 2.08-1.99 (m, 1H, He) ; 0.95-0.83 (m, 6H, Hf).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 173.3 ; 168.4 (CONHN=) ; 156.2 (NHCOOCH₂Ph) ; 148.1 ; 148.0 (Ch) ; 142.3 ; 138.6 (CH arom) ; 136.9 (C arom) ; 133.6 ; 133.5 ; 130.6 ; 130.4 (CH arom) ; 128.6 (C arom) ; 128.3 ; 127.9 ; 127.7 ; 124.7 ; 124.5 (CH arom) ; 65.4 ; 65.3 (Cb) ; 59.4 ; 56.1 (Cd) ; 30.0 ; 29.4 (Ce) ; 19.1 ; 18.4 (Cf).

General procedure for the Mitsunobu protocol involving hydrazone moiety.

To a stirred solution of **7** (1 mmol), PPh₃ (2 mmol) and α -hydroxyester (2 mmol) in anhydrous THF (10 mL) under nitrogen atmosphere, dialkylazodicarboxylate (2 mmol) was added portionwise with stirring at 0–5°C. The resulting solution was stirred at room temperature until completion (monitored by TLC) and concentrated under vacuum. The residue was purified by column chromatography using a mixture petroleum ether/EtOAc as eluent.

8a : Boc-Phe ψ [CON(N=CH-Ph)]Ala-OMe

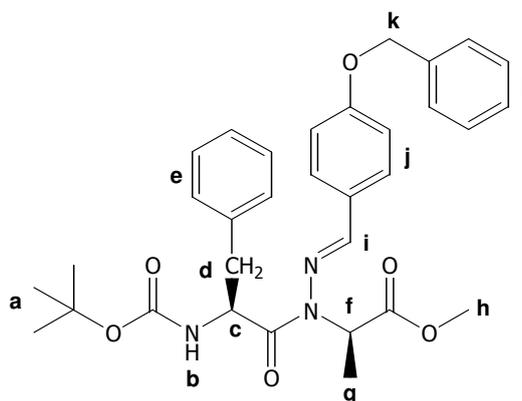
Formula : C₂₅H₃₁N₃O₅ ; Molecular weight : 453 g/mol ; Oil ; 57%.

Eluent : EtOAc/PE (20/80).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 1798 ; 1707 ; 1676 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.70-7.67 (m, 3H, Hi and Hj) ; 7.41-7.32 (m, 3H, Hj) ; 7.23-7.16 (m, 5H, He) ; 5.68-5.61 (m, 1H, Hc) ; 5.41-5.29 (m, 2H, Hb and Hf) ; 3.76 (s, 3H, Hh) ; 3.35-2.89 (m, 2H, Hd) ; 1.53 (d, 3H, J=7.0Hz, Hg) ; 1.41 (s, 9H, Ha).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 173.2 (CONN=) ; 170.6 (COOMe) ; 166.9 (C arom) ; 158.1 ; 155.5 (NHCOOtBu) ; 140.8 (Ci) ; 137.1 ; 134.4 (C arom) ; 130.7 ; 130.4 ; 130.1 ; 129.8 ; 129.2 ; 128.6 ; 127.8 ; 127.1 (CH arom) ; 79.8 (OC(CH₃)₃) ; 53.6 (Cf) ; 53.0 ; 52.7 (Ch) ; 50.7 (Cc) ; 39.4 (Cd) ; 28.7 (Ca) ; 14.9 ; 14.6 (Cg).

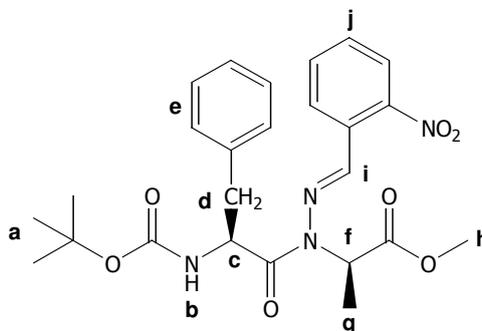
8b : Boc-Pheψ[CON(N=CH-Ph-4-OBn)]Ala-OMe

Formula : $C_{32}H_{37}N_3O_6$; Molecular weight : 559 g/mol ; Oil ; 47%.

Eluent : EtOAc/PE (25/75).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.65 (m, 3H, Hi and Hj) ; 7.36-7.26 (m, 5H, He) ; 7.18-7.10 (m, 5H, Hl) ; 6.94-6.91 (m, 2H, Hj) ; 5.69-5.41 (m, 1H, Hf) ; 5.28-5.23 (m, 1H, Hc) ; 5.04 (s, 2H, Hk) ; 3.63 (s, 3H, Hh) ; 3.12-2.78 (m, 2H, Hd) ; 1.46-1.31 (m, 12H, Ha and Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 173.1 ($\underline{C}ONN=$) ; 171.1 ($\underline{C}OOMe$) ; 161.2 (C arom) ; 155.7 ($NH\underline{C}OObu$) ; 140.9 (Ci) ; 137.4 (C arom) ; 132.6 ; 130.2 ; 129.6 ; 128.8 ; 128.1 ; 127.5 ; 127.3 ; 115.8 (CH arom) ; 80.0 ($OC(CH_3)_3$) ; 70.8 (Ck) ; 53.9 (Cc) ; 50.8 (Cc) ; 39.7 (Cd) ; 28.9 (Ca) ; 13.7 (Cg).

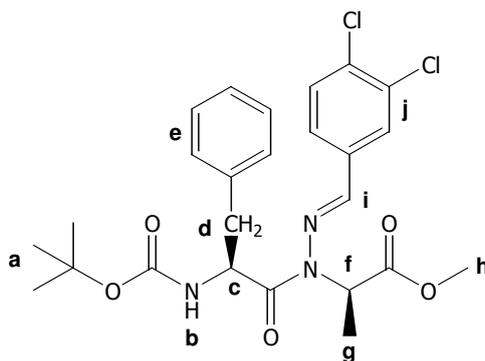
8c : Boc-Pheψ[CON(N=CH-Ph-2-NO₂)]Ala-OMe

Formula : $C_{25}H_{30}N_4O_7$; Molecular weight : 498 g/mol ; Yellow solid ; 100%.

Eluent : EtOAc/PE (20/80).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 8.22 (s, 1H, Hi) ; 8.04-7.93 (m, 2H, Hj) ; 7.61-7.52 (m, 2H, Hj) ; 7.25-7.09 (m, 5H, He) ; 5.54-5.51 (m, 0.75H, Hc) ; 5.45-5.41 (m, 0.75H, Hf) ; 5.33-5.31 (m, 1H, Hb) ; 5.20-5.10 (m, 0.25H, Hf) ; 4.60-4.55 (m, 0.25H, Hc) ; 3.82 ; 3.79 (2s, 3H, Hh) ; 3.19-3.06 (m, 2H, Hd) ; 1.62-1.55 (m, 3H, Hg) ; 1.46 ; 1.44 (2s, 9H, Ha).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 172.1 ($\underline{C}ONN=$) ; 168.6 ($\underline{C}OOMe$) ; 155.9 ($NH\underline{C}OObu$) ; 154.2 (Ci) ; 149.4 ; 137.2 (C arom) ; 133.5 ; 131.1 ; 130.1 ; 129.7 ; 128.7 ; 127.1 ; 125.5 ; 124.9 (CH arom) ; 80.3 ($OC(CH_3)_3$) ; 71.7 (Cf) ; 53.3 ; 52.7 (Ch) ; 51.1 (Cc) ; 40.1 (Cd) ; 28.8 (Ca) ; 14.9 (Cg).

8e : Boc-Pheψ[CON(N=CH-Ph-3,4-Cl)]Ala-OMe

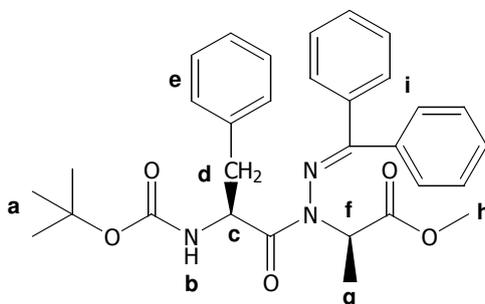
Formula : $C_{25}H_{29}Cl_2N_3O_5$; Molecular weight : 522 g/mol ; Oil ; 63%.

Eluent : EtOAc/PE (20/80).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 1747 ; 1678 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.73 (s, 1H, Hj) ; 7.55 (s, 1H, Hi) , 7.49-4.47 (m, 2H, Hj) ; 7.31-7.16 (m, 5H, He) ; 5.62-5.56 (m, 1H, Hc) ; 5.40-5.27 (m, 2H, Hb and Hf) ; 3.72 (s, 3H, Hh) ; 3.35-2.88 (m, 2H, Hd) ; 1.51 (d, 3H, J=7Hz, Hg) ; 1.39 (s, 9H, Ha).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 173.4 (CONN=) ; 170.4 (COOMe) ; 155.6 (NHCOOtBu) ; 138.1 (Cl) ; 137.1 ; 134.6 ; 134.5 ; 133.7 (C arom) ; 131.3 ; 130.0 ; 129.4 ; 128.8 ; 127.2 ; 126.8 (CH arom) ; 80.0 (OC(CH₃)₃) ; 53.7 (Cc) ; 53.1 ; 52.8 (Ch) ; 50.9 (Cf) ; 39.6 (Cd) ; 28.8 (Ca) ; 13.4 (Cg).

8f : Boc-Pheψ[CON(N=C(Ph)₂)]Ala-OMe

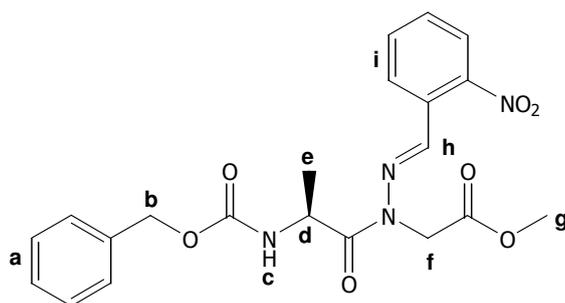
Formula : $C_{31}H_{35}N_3O_5$; Molecular weight : 529 g/mol ; Oil ; R=34%.

Eluent : EtOAc/PE (20/80).

IR ν_{max} (cm^{-1}) 1713 ; 1743 ; 1680 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.34-7.02 (m, 15H, He and Hi) ; 5.50-5.39 (m, 1H, Hc) ; 5.36-5.21 (m, 1H, Hb) ; 5.12-4.49 (m, 1H, Hf) ; 3.68 ; 3.54 (2s, 3H, Hh) ; 3.08-2.65 (m, 2H, Hd) ; 1.14-1.31 (m, 12H, Ha and Hg).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 173.1 (CONN=) ; 171.0 (COOMe) ; 167.0 (C=NN) 163.1 (CH arom) ; 155.1 (NHCOOtBu) ; 145.1 (CH arom) ; 141.1 ; 140.9 ; 140.7 ; 137.2 (C arom) ; 132.7 ; 132.6 ; 130.1 ; 129.9 ; 129.5 ; 129.4 ; 129.2 ; 129.0 ; 128.7 ; 127.7 ; 127.4 ; 127.1 (CH arom) ; 79.8 (OC(CH₃)₃) ; 71.1 (Cf) ; 53.0 ; 52.5 (Ch) ; 50.3 (Cc) ; 39.9 ; 39.4 (Cd) ; 28.8 (Ca) ; 14.7 ; 13.3 (Cg).

8g : Z-Alaψ[CON(N=CH-Ph-2-NO₂)]Gly-OMe

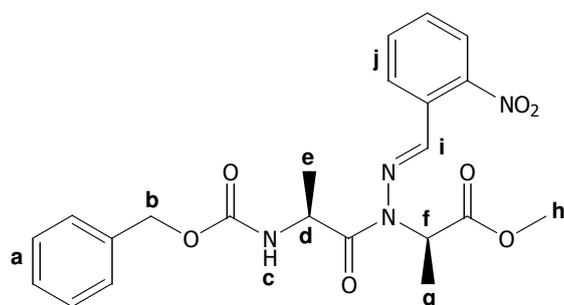
Formula : C₂₁H₂₂N₄O₇ ; Molecular weight : 442 g/mol ; Oil ; 82%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3430 ; 3336 ; (NH) ; 1736 ; 1720 ; 1708 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.06-7.97 (m, 1H, Hh and Hi) ; 7.62-7.59 (m, 1H, Hi) ; 7.51-7.45 (m, 1H, Hi) ; 7.26-7.20 (m, 5H, Ha) ; 5.71 (d, 1H, J=7.0Hz, Hc) ; 5.43-5.39 (m, 1H, Hd) ; 5.03-4.93 (m, 3H, Hb and Hf) ; 4.52 (d, 1H, J=17.6Hz, Hf) ; 3.71 (s, 3H, Hg) ; 1.40 (d, 3H, J=8.7Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 175.2 (CONN=) ; 167.5 (COOMe) ; 156.2 (NHCOOCH₂Ph) ; 148.8 (C arom) ; 137.0 ; 134.4 ; 131.1 ; 130.7 (CH arom) ; 129.4 (C arom) ; 129.1 ; 128.6 ; 125.5 (CH arom) ; 67.3 (Cb) ; 53.4 (Cd) ; 48.7 (Cg) ; 43.3 (Cf) ; 19.8 ; 19.6 (Ce).

8h : Z-Alaψ[CON(N=CH-Ph-2-NO₂)]Ala-OMe

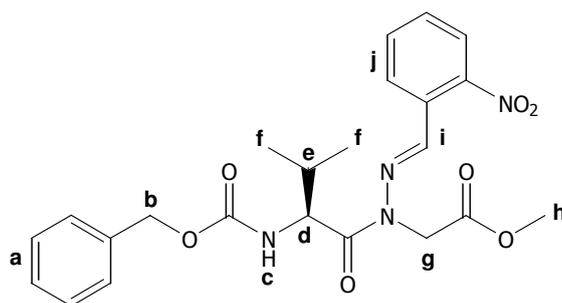
Formula : C₂₂H₂₄N₄O₇ ; Molecular weight : 456 g/mol ; Oil ; 99%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3346 ; 3325 (NH) ; 1761 ; 1727 ; 1695 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.68 (s, 1H, Hi) ; 8.17-7.97 (m, 2H, Hj) ; 7.64-7.52 (m, 2H, Hj) ; 7.36-7.26 (m, 5H, Ha) ; 5.55-4.90 (m, 5H, Hb, Hc, Hd and Hf) ; 3.79 ; 3.75 (2s, 3H, Hh) ; 1.45-1.39 (m, 6H, He and Hg).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 170.1 (COOMe) ; 155.9 (NHCOOCH₂Ph) ; 154.9 (Ci) ; 134.2 ; 133.8 ; 132.0 ; 131.3 ; 130.2 (CH arom) ; 130.0 (C arom) ; 129.2 ; 128.9 ; 128.7 ; 125.4 ; 125.1 (CH arom) ; 71.4 ; 70.0 (Cf) ; 67.5 (Cb) ; 53.1 (Ch) ; 45.9 (Cd) ; 19.6 ; 19.2 (Ce) ; 14.9 ; 14.7 (Cg).

8i : Z-Valyl[CON(N=CH-Ph-2-NO₂)]Gly-OMe

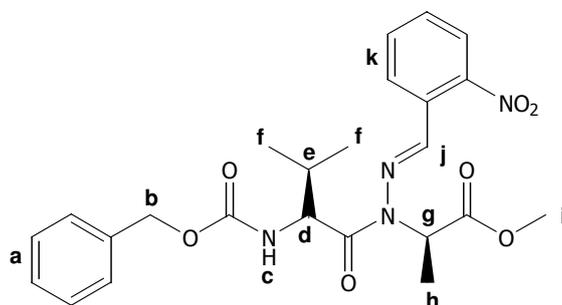
Formula : C₂₃H₂₆N₄O₇ ; Molecular weight : 470 g/mol ; Oil ; 78%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3377 ; 3331 (NH) ; 1754 ; 1726 ; 1692 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.12-8.05 (m, 3H, Hh and Hi) ; 7.71-7.66 (m, 1H, Hi) ; 7.57-7.52 (m, 1H, Hi) ; 7.34-7.26 (m, 5H, Ha) ; 5.64 (d, 1H, J=9.5Hz, Hc) ; 5.52-5.48 (m, 1H, Hd) ; 5.21-5.11 (m, 3H, Hb and Hg) ; 4.46 (d, 1H, J=17.6Hz, Hg) ; 3.79 (s, 3H, Hh) ; 2.29-2.23 (m, 1H, He) ; 1.06 (d, 3H, J=6.7Hz, Hf) ; 0.89 (d, 3H, J=6.7Hz, Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.3 (CONN=) ; 167.5 (COOMe) ; 157.1 (NHCOOCH₂Ph) ; 148.8 ; 137.0 (C arom) ; 136.6 (Ci) ; 134.4 ; 130.9 (CH arom) ; 129.5 (C arom) ; 129.0 ; 128.7 ; 128.6 ; 125.6 (CH arom) ; 67.5 (Cb) ; 57.0 (Cd) ; 53.4 (Ch) ; 43.2 (Cg) ; 31.8 (Ce) ; 20.3 ; 17.1 (Cf).

8j : Z-Valyl[CON(N=CH-Ph-2-NO₂)]Ala-OMe

Formula : C₂₄H₂₈N₄O₇ ; Molecular weight : 484 g/mol ; Oil ; 85%.

Eluent : EtOAc/PE (30/70).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3375 ; 3346 (NH) ; 1757 ; 1727 ; 1698 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.60 (s, 1H, Hj) ; 8.12-8.08 (m, 1H, Hk) ; 7.90-7.87 (m, 1H, Hk) ; 7.59-7.54 (m, 1H, Hk) ; 7.48-7.45 (m, 1H, Hk) ; 7.27-7.18 (m, 5H, Ha) ; 5.55-5.20 (m, 2H, Hd and Hg) ; 5.09 (d, 1H, J=6.9Hz, Hc) ; 5.08-4.99 (m, 2H, Hb) ; 3.69 ; 3.67 (2s, 3H, Hi) ; 2.01-1.95 (m, 1H, He) ; 1.43 (d, 3H, J=7.0Hz, Hh) ; 0.95 ; 0.91 (2d, 6H, J=6.7Hz, Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.2 (CONN=) ; 169.1 (COOMe) ; 155.5 (NHCOOCH₂Ph) ; 154.8 (Cj) ; 149.5 ; 137.0 (C arom) ; 133.8 ; 131.1 ; 130.6 (CH arom) ; 129.9 (C arom) ; 129.8 ; 128.8 ; 125.5 ; 125.0 (CH arom) ; 71.5 (Cg) ; 67.5 ; 67.4 (Cb) ; 54.9 (Cd) ; 52.7 (Ci) ; 32.5 ; 32.0 (Ce) ; 19.6 ; 18.8 (Cf) ; 14.8 ; 14.7 (Ch).

MS calculated for C₂₄H₂₈N₄O₇ [M+H]⁺ *m/z* 485.2 found 485.3.

III.2. Hydrazone déprotection.

Reaction with oxalic acid².

Boc-Phe ψ [CON(N=CHPh-2-NO₂)]Ala-OMe (1 mmol) was suspended in a solution of oxalic acid (10 ml, solution 5% in water). Minimal amount of THF were added in order to dissolved the product. The resulting solution was heated to reflux for 15h then extracted with DCM (3x5 ml). The organic layers were combined and dried over MgSO₄. The crude product was purified by column chromatography using a mixture of EtOAc/PE (20/80 then 60/40) as eluent.

Reaction with acetic acid³.

Boc-Phe ψ [CON(N=CHPh-2-NO₂)]Ala-OMe (1 mmol) was dissolved in a mixture of acetic acid (10 ml) and water (10 ml). The resulting solution was heated gently to relax for 15h hours then acetic acid was evaporated. The resulting solution was extracted with EtOAc (3x10ml). The organic layers were combined and dried over MgSO₄.

Reaction with sodium bisulfite⁴.

To a stirred solution of Boc-Phe ψ [CON(N=CHPh-2-NO₂)]Ala-OMe (1 mmol) in EtOH (5 ml) and water (5 ml) was added sodium bisulfite (3.5 mmol). The resulting solution was heated to reflux for 15h and EtOH was evaporated under vacuum. Chloroform and hydrochloric acid (10% in water) were added and the resulting solution was stirred until two clear layers were obtained. The organic layer was dried over MgSO₄ and solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography using a mixture of EtOAc/PE (60/40) as eluent.

Reaction with APTS⁵.

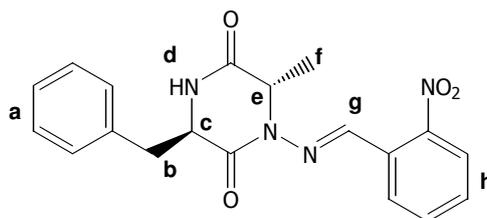
A mixture of **12** (2 mmol), para-toluenesulfonic acid monohydrate (4 mmol), EtOH (4ml) and water (4ml) was refluxed gently for 6h. EtOH and water were removed under vacuum and the residue thus obtained was dissolved in DCM. The pure product **13** was obtained by extraction with water and lyophilization.

² Royals, E. E.; Horne, Jr, S. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 5856-5857.

³ Taub, D.; Hoffsommer, R. D.; Slates, H. L.; Kuo, C. H.; Wendler, N. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82,4012-4026.

⁴ Pines, S. H.; Chemerda, J. M.; Kozlowski, M. A. *J. Org. Chem.* **1966**, 31, 3446-3447.

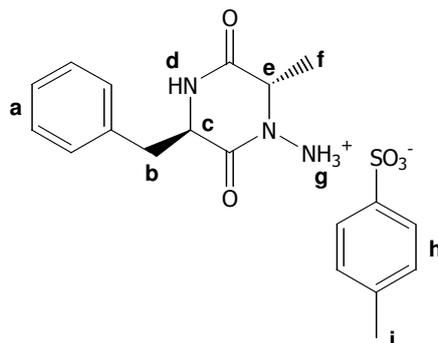
⁵ Zawadzki, S.; Zwierzak, A. *Polish J. Chem.* **2003**, 77, 315-319.

9 : PheAla-NO₂ diketopiperazine

Formula : C₁₉H₁₈N₄O₄ ; Molecular weight : 366 g/mol ; Oil.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 9.51 (s, 1H, Hd) ; 8.09-8.06 (m, 2H, Hh) ; 7.73-7.63 (m, 1H, Hh) ; 7.60-7.57 (m, 1H, Hh) ; 7.39-7.24 (m, 5H, Ha) ; 6.17 (s, 1H, Hg) ; 4.40-4.26 (m, 2H, Hc and He) ; 3.55 (dd, 1H, J=3.6Hz, J=10.5Hz, Hb) ; 3.02 (dd, 1H, J=3.6Hz, J=10.5Hz, Hb) ; 1.61 (d, 3H, J=7.0Hz, Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 172.1 (C=O) ; 171.8 (C=O) ; 154.2 (Cg) ; 149.4 ; 137.2 (C arom) ; 133.5 ; 131.1 ; 130.1 ; 129.7 ; 128.7 ; 127.1 ; 125.5 ; 124.9 (CH arom) ; 71.7 (Cc) ; 51.1 (Ce) ; 40.1 (Cb) ; 14.9 (Cf).

9' : PheAla diketopiperazine

Formula : C₁₉H₂₃N₃O₅S ; Molecular weight : 405 g/mol ; Oil.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.58 (s, 3H, Hg) ; 7.55-7.52 (m, 2H, Hh) ; 7.35-7.20 (m, 5H, Ha) ; 7.15-7.12 (m, 2H, Hh) ; 4.94 (d, 1H, J=7.3Hz, Hd) ; 4.40-4.02 (m, 2H, Hc and He) ; 3.21-3.04 (m, 2H, Hb) ; 2.28 (s, 3H, Hi) ; 1.36 (d, 3H, J=7.2Hz, Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 171.8 (C=O) ; 170.8 (C=O) ; 144.4 ; 139.6 ; 135.3 ; 134.9 (C arom) ; 130.1 ; 130.0 ; 129.3 ; 129.0 ; 128.8 ; 128.0 ; 127.9 ; 126.1 (CH arom) ; 70.5 (Cc) ; 53.9 (Ce) ; 36.6 ; 36.4 (Cb) ; 21.3 (Ci) ; 13.8 (Cf).

V. Solid phase synthesis of *N*-aminodipeptides.

All reactions were performed at room temperature on a Heidolph Synthesis 1 apparatus.

Wang resin was swelled in THF during 15 minutes.

After each step, the resin was filtered, washed (3x5 ml CH₂Cl₂, 3x5ml acetone, 3x5ml MeOH, 3x5ml THF, one minute each) and resuspended in THF.

V.2. Route 1 : Aromatic anchoring.

General procedure for solid phase *N*-aminodipeptides synthesis using an aromatic anchor.

Step 1 : To a suspension of 0.3 g of Wang PS resin (cross linked with 1% DVB, 200-400 mesh, 1.2 meq./g) in THF, was added PPh₃ (3 eq.), trimellitic anhydride (3 eq.), and then, in one portion DIAD (3 eq.). The resulting mixture was stirred for 4h. The resin was then filtered and washed.

Step 2 : Z-Ala-NHNH₂ (3 eq.) in 5 ml of anhydrous THF was added to the resin and stirred for 4h. The resin was then filtered and washed.

Step 3 : DCC (4 eq.) and HOBT (4eq.) in 5 ml of anhydrous THF were added to the resin. The resulting mixture was stirred for 3h, then filtered and washed.

Step 4 : PPh₃ (3 eq.) and α -hydroxyester (3 eq.) in 5 ml of anhydrous THF were added to the resin. DIAD (3 eq.) was added dropwise to the reaction and the resulting mixture was stirred for 4h. The reaction was performed twice and the resin was filtered and washed.

Cleavage : Pyrrolidine (4 eq.) was added in one portion and the resulting mixture was stirred for 3h. The resin was filtered and resuspended in anhydrous THF. Boc₂O (4 eq.) and a catalytic amount of DMAP were added and the resulting mixture was stirred for 3h. The resin was filtered and resuspended in anhydrous THF and MeNH₂ (2M in MeOH, 4 eq.) was added in one portion. After 2h, the polymer was removed by filtration. The filtrate was evaporated under vacuum. Purity of the crude product was checked by TLC with the compound obtained by liquid phase synthesis as reference.

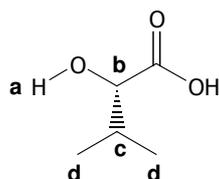
V.3. Route 2 : C-terminal anchoring.

V.3.1. Synthesis of the alcohol derivatives.

General procedue for nitrosation reaction.

Amino acid (38 mmol) was dissolved in H₂SO₄ 3N (25 ml, solution in water) and cooled with an ice-water bath. NaNO₂ (57 mmol) was dissolved in water (20 ml) and added to the reaction over 1h. The solution thus obtained was stirred at 0°C for 2h then allowed to warm to room temperature. After two days, the solution was extracted with diethylether (2x20 ml). The organic extracts were combined, washed with saturated NaCl (3x20 ml) and dried over MgSO₄. The crude product was prurified by recrystallization from petroleum ether/diethylether.

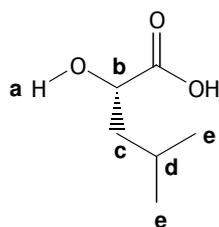
11c : HO-Val-OH



Formula : C₅H₁₀O₃ ; Molecular weight : 132 g/mol ; Oil ; 54%.

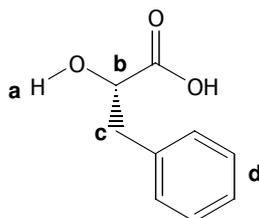
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 4.22-3.95 (m, 1H, H_b) ; 3.01-2.54 (m, 1H, H_a) ; 2.98-1.88 (m, 1H, H_c) ; 1.11-0.94 (m, 3H, H_d) ; 0.93-0.68 (m, 3H, H_d).

11d : HO-Leu-OH



Formula : C₆H₁₂O₃ ; Molecular weight : 118 g/mol ; Oil ; 59%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 4.14-3.98 (m, 1H, H_b) ; 3.45-3.15 (m, 1H, H_a) ; 1.80-1.57 (m, 1H, H_d) ; 1.51-1.28 (m, 2H, H_c) ; 0.87-0.64 (m, 6H, H_e).

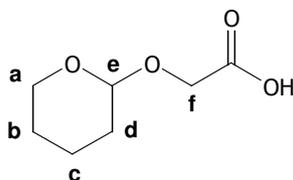
11e : HO-Phe-OH

Formula : $C_9H_{10}O_3$; Molecular weight : 166 g/mol ; Oil ; 60%.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.45-7.04 (m, 5H, Hd) ; 4.54-4.33 (m, 1H, Hb) ; 3.23-2.70 (m, 3H, Ha and Hc).

General procedure for OTHP protection⁶.

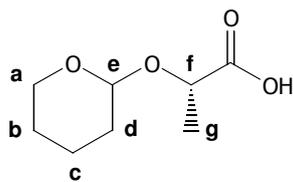
Dihydropyran (2.55 ml, 28 mmol) was added dropwise by syringe to a stirred suspension of α -hydroxyacid (20 mmol) and *p*-TsOH (76 mg, 0.4 mmol) in $CHCl_3$ (40 ml) at 4°C. After 5 min, the ice bath was removed and the mixture allowed to warm to room temperature. After 15-30 min, all of the compounds had completely dissolved and the resulting solution was stirred at room temperature for 1.5h then extracted with 0.2 N KOH (2x50 ml). The combined KOH layers were acidified with 6N HCl to pH 3-4 and extracted three times with a mixture $CHCl_3/iPrOH$ (3:1). The pH of the aqueous layer was controlled between extractions, and more HCl added if necessary. The combined organic layers were washed with water, dried over $MgSO_4$, filtered, and concentrated under reduced pressure.

12a : THPO-Gly-OH

Formula : $C_7H_{12}O_4$; Molecular weight : 160 g/mol ; Oil ; 45%.

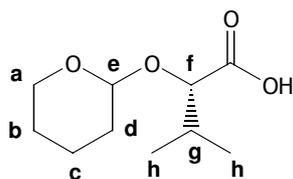
RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 4.87-4.57 (m, 1H, He) ; 4.42-4.08 (m, 2H, Hf) ; 4.02-3.36 (m, 2H, Ha) ; 2.15-1.36 (m, 6H, Hb, Hc and Hd).

⁶ Kuisle, O.; Quiñóá, E.; Riguera R. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8063-8075.

12b : THPO-Ala-OH

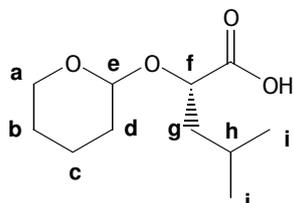
Formula : $C_8H_{14}O_4$; Molecular weight : 174 g/mol ; Oil ; 42%.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 5.51-3.26 (m, 4H, Ha, Hb, He and Hf) ; 2.14-1.01 (m, 9H, Hb, Hc, Hd and Hg)

12c : THPO-Val-OH

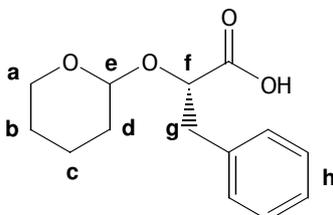
Formula : $C_{10}H_{18}O_4$; Molecular weight : 202 g/mol ; Oil ; 78%.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 9.60-7.45 (m, 1H, COOH) ; 4.81-4.61 (m, 1H, Hf) ; 4.21-3.72 (m, 2H, He and Ha) ; 3.64-3.19 (m, 1H, Ha) ; 2.33-1.38 (m, 7H, Hb, Hc, Hd and Hg) ; 1.30-0.68 (m, 6H, Hh).

12d : THPO-Leu-OH

Formula : $C_{11}H_{20}O_4$; Molecular weight : 216 g/mol ; Oil ; 41%.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 10.74-9.49 (m, 1H, COOH) ; 4.86-4.55 (m, 1H, Hf) ; 4.52-3.17 (m, 3H, Ha and He) ; 2.46-1.35 (m, 9H, Hb, Hc, Hd, Hg and Hh) ; 1.31-0.49 (m, 6H, Hi).

12e : THPO-Phe-OH

Formula : $C_{14}H_{18}O_4$; Molecular weight : 250 g/mol ; Oil ; 48%.

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm) 7.52-7.01 (m, 5H, Hh) ; 4.73-4.65 (m, 1H, Hf) ; 4.45-4.22 (m, 1H, He) ; 3.95-3.26 (m, 2H, Ha) ; 3.21-2.68 (m, 2H, Hg) ; 1.91-1.26 (m, 6H, Hb, Hc and Hd).

IV.3.2. Solid-phase synthesis of phthaloylated *N*-aminodipeptides.

General procedure for solid phase *N*-aminodipeptides synthesis using a *C*-terminal anchor.

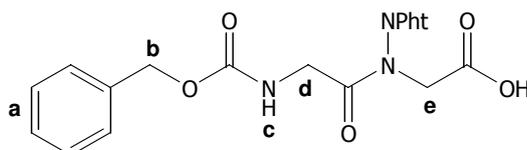
Step 1 : To a suspension of 0.3 g of Wang PS resin (cross linked with 1% DVB, 200-400 mesh, 1.2 meq./g) in THF (1 ml/100 mg of resin) was added DIC (3 eq.), a catalytic amount of DMAP and THPO-hydroxy acid (3 eq.). The resulting mixture was stirred for 2h then filtered and washed.

Step 2 : 10 ml of a solution of *p*-TsOH (5 mg/ml) in CH₂Cl₂/MeOH (97:3) was added to the resin and the resulting mixture was stirred for 1h. The reaction was performed twice and the resin was then filtered and washed.

Step 3 : PPh₃ (3 eq.) and Z-AA-NHNpht (3 eq.) in 5ml of anhydrous THF were added to the resin. DIAD (3 eq.) was added dropwise to the reaction and the resulting mixture was stirred for 4h. The reaction was performed twice and the resin was filtered and washed.

Cleavage : 10ml of a mixture of CH₂Cl₂/TFA (1/1) was added to the resin. After 30min, the polymer was removed by filtration and the filtrate concentrated under vacuum.

The compounds **14** were purified by reverse-phase HPLC using Waters DELTA PAK column (15mm, 300Å, 7.8 x 300 mm) with a linear gradient of A = 0.1 % TFA in water and B = 0.1% TFA and 20 % water in CH₃CN, from 95 %A to 0 %A over 25 min.

13a : Z-Glyw[CON(NPht)]Gly-OH

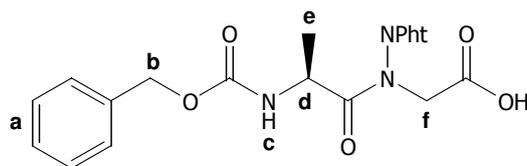
Formula : C₂₀H₁₇N₃O₇ ; Molecular weight : 411 g/mol ; White solid ; 49% ; mp=107°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3355 (NH) ; 1798 ; 1732 ; 1698 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 7.98-7.87 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.63-7.54 (m, 1H, Hc) ; 7.50-7.33 (m, 5H, Ha) ; 5.04- 4.95 (m, 2H, Hb) ; 4.32-3.79 (m, 4H, Hd and He).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 170.8 ; 170.5 (COOH) ; 168.1 (CON(NPht)) ; 164.2 ; 164.1 (CO Pht) ; 156.4 ; 156.3 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.9 (C arom) ; 135.1 ; 135.0 (CH arom Pht) ; 129.7 ; 129.3 (C arom) ; 128.2 ; 128.0 ; 127.7 ; 127.6 ; (CH arom) ; 123.7 (CH arom Pht) ; 65.4 (Cb) ; 49.5 (Cd) ; 41.5 (Ce).

HRMS calculated for C₂₀H₁₇N₃O₇ [M+Na]⁺ *m/z* 434.09587 found 434.0958.

13b : Z-Ala ψ [CON(NPht)]Gly-OH

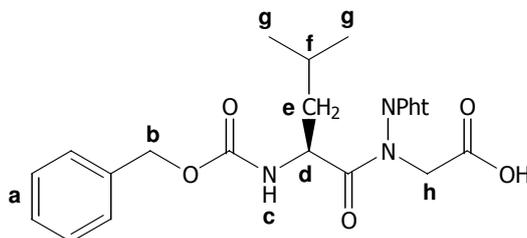
Formula : C₂₁H₁₉N₃O₇ ; Molecular weight : 425 g/mol ; White solid ; 38%.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3316 (NH) ; 1798 ; 1741 ; 1693 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 7.97-7.90 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.72 (d, 1H, J=8.9Hz, Hc) ; 7.36-7.24 (m, 5H, Ha) ; 4.76-4.72 (m, 2H, Hb) ; 4.41 (d, 1H, J=17Hz, Hf) ; 4.35 (m, 1H, Hd) ; 4.21 (d, 1H, J=17Hz, Hf) ; 1.24 ; 1.15 (2d, 3H, J=6.9Hz, He).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 173.4 (COOH) ; 168.1 (CON(NPht)) ; 164.4 ; 164.0 (CO Pht) ; 155.2 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.0 ; 135.5 (C arom) ; 134.9 (CH arom Pht) ; 129.7 (C arom) ; 128.2 ; 127.6 (CH arom Z) ; 123.6 ; 123.5 (CH arom Pht) ; 65.5 (Cb) ; 49.9 (Cf) ; 46.1 (Cd) ; 17.5 (Ce).

HRMS calculated for C₂₁H₁₉N₃O₇ [M+Na]⁺ *m/z* 448.11152 found 448.11145.

13c : Z-Leu ψ [CON(NPht)]Gly-OH

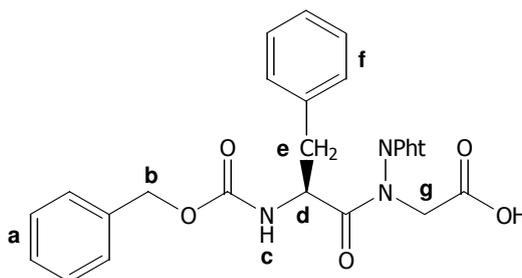
Formula : C₂₄H₂₅N₃O₇ ; Molecular weight : 467 g/mol ; White solid ; 39% ; mp=69°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3335 (NH) ; 1799 ; 1741 ; 1698 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 7.99-7.91 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.65 (d, 1H, J=9.2Hz, Hc) ; 7.38-7.26 (m, 5H, Ha) ; 5.08-5.01 (m, 2H, Hb) ; 4.40 (d, 1H, J=17Hz, Hh) ; 4.31-4.18 (m, 3H, Hd and Hh) ; 1.88-1.44 (m, 3H, He and Hf) ; 0.80 (d, 3H, J=5.3Hz, Hg) ; 0.61 (d, 3H, J=5.3Hz, Hg).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 173.1 (COOH) ; 168.1 (CON(NPht)) ; 164.3 ; 164.1 (CO Pht) ; 155.6 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.7 (C arom) ; 135.0 (CH arom Pht) ; 129.8 ; 129.6 (C arom) ; 128.2 ; 127.7 ; 127.6 (CH arom) ; 123.5 ; 123.5 (CH arom Pht) ; 65.6 ; 65.4 (Cb) ; 49.7 (Ch) ; 48.6 (Cd) ; 40.2 (Ce) ; 23.8 (Cf) ; 22.8 ; 21.1 (Cg).

HRMS calculated for C₂₃H₂₅N₃O₇ [M+Na]⁺ *m/z* 490.15847 found 448.15847.

13d : Z-Pheψ[CON(NPht)]Gly-OH

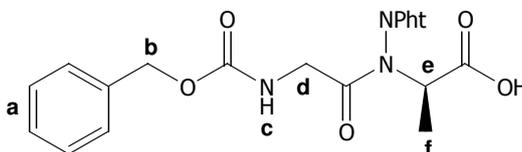
Formula : $C_{27}H_{23}N_3O_7$; Molecular weight : 501 g/mol ; White solid ; 48%.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3363 (NH) ; 1798 ; 1739 ; 1693 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 7.97-7.86 (m, 5H, H arom Pht and Hc) ; 7.30-7.06 (m, 10H, Ha and Hf) ; 4.64-4.60 (m, 2H, Hb) ; 4.48 (d, 1H, $J=17.1Hz$, Hg) ; 4.43-4.35 (m, 1H, Hd) ; 4.27 (d, 1H, $J=17.1Hz$, Hg) ; 3.02-2.78 (m, 2H, He).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 172.9 (\underline{COOH}) ; 168.1 ($\underline{CON(NPht)}$) ; 164.4 ; 163.9 (\underline{CO} Pht) ; 155.4 ($\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 137.8 ; 136.7 (C arom) ; 135.2 ; 134.9 (\underline{CH} arom Pht) ; 129.8 ; 129.6 (C arom) ; 129.2 ; 128.9 ; 128.1 ; 128.0 ; 127.5 ; 127.2 ; 127.1 ; 126.2 (\underline{CH} arom) ; 123.6 ; 123.4 (\underline{CH} arom Pht) ; 65.4 ; 65.1 (Cb) ; 51.8 (Cd) ; 49.9 (Cg) ; 36.6 (Ce).

HRMS calculated for $C_{27}H_{23}N_3O_7$ [$M+Na$] $^+$ m/z 524.14282 found 524.14276.

13e : Z-Glyψ[CON(NPht)]Ala-OH

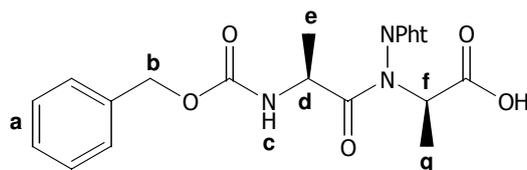
Formula : $C_{21}H_{19}N_3O_7$; Molecular weight : 425 g/mol ; White solid ; 47%.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3339 (NH) ; 1798 ; 1693 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 7.97-7.86 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.66-7.56 (m, 1H, $\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 7.41-7.33 (m, 5H, Ha) ; 5.04-4.72 (m, 3H, Hb and He) ; 4.35-3.92 (m, 2H, Hd) ; 1.39 ; 1.31 (2d, 3H, $J=6.7Hz$, Hf).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 170.4 ; 170.4 (\underline{COOH}) ; 169.7 ; 168.8 ($\underline{CON(NPht)}$) ; 164.7 (\underline{CO} Pht) ; 156.4 ; 156.3 ($\underline{NHCOOCH_2Ph}$) ; 137.1 ; 136.9 (C arom) ; 135.5 ; 135.3 (\underline{CH} arom Pht) ; 130.1 (C arom) ; 129.4 ; 129.2 ; 128.2 ; 127.7 ; 127.6 (\underline{CH} arom Z) ; 123.9 ; 123.7 (\underline{CH} arom Pht) ; 65.4 ; 65.2 (Cb) ; 56.7 ; 55.7 (Ce) ; 41.7 (Cd) ; 14.6 ; 14.2 (Cf).

HRMS calculated for $C_{21}H_{19}N_3O_7$ [$M+Na$] $^+$ m/z 448.11152 found 448.11135.

13f : Z-Ala ψ [CON(NPht)]Ala-OH

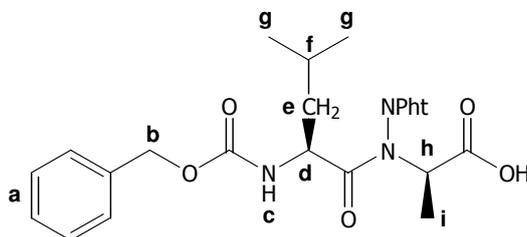
Formula : C₂₂H₂₁N₃O₇ ; Molecular weight : 439 g/mol ; White solid ; 37%.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3293 (NH) ; 1794 ; 1745 ; 1676 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 12.60 (s, 1H, COOH) ; 7.98-7.91 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.71 (d, 1H, J=8.9Hz, Hc) ; 7.36-7.26 (m, 5H, Ha) ; 4.80-4.62 (m, 3H, Hb and Hf) ; 4.25-4.23 (m, 1H, Hd) ; 1.34 (d, 3H, J=10Hz, Hg) ; 1.12 (d, 3H, J=10Hz, He).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 172.4 (COOH) ; 170.5 (CON(NPht)) ; 164.9 ; 164.5 (CO Pht) ; 155.2 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.6 (C arom) ; 135.5 ; 135.1 (CH arom Pht) ; 129.5 ; 129.3 (C arom) ; 129.4 ; 129.2 ; 128.3 ; 127.7 ; (CH arom) ; 123.8 ; 123.5 (CH arom Pht) ; 65.5 (Cb) ; 57.6 (Cd) ; 46.3 (Cf) ; 17.5 (Ce) ; 14.7 (Cg).

HRMS calculated for C₂₂H₂₁N₃O₇ [M+Na]⁺ *m/z* 462.12717 found 462.12616.

13g :: Z-Leu ψ [CON(NPht)]Ala-OH

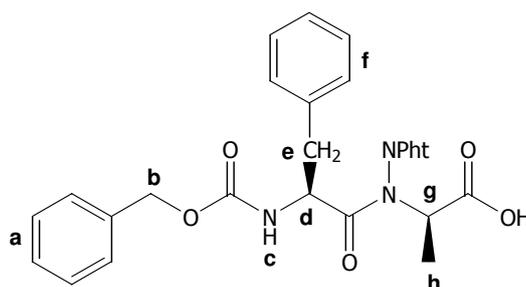
Formula : C₂₅H₂₇N₃O₇ ; Molecular weight : 481 g/mol ; White solid ; 35%.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3376 (NH) ; 1798 ; 1742 ; 1688 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 7.95-7.89 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.58 (d, 1H, J=9.2Hz, NHCOOCH₂Ph) ; 7.32-7.06 (m, 5H, Ha) ; 4.82-4.73 (m, 2H, Hb) ; 4.61-4.56 (m, 1H, Hh) ; 4.18-4.14 (m, 1H, Hd) ; 1.56-1.19 (m, 6H, He and Hi) ; 0.74-0.36 (m, 6H, Hg).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 172.3 (COOH) ; 169.9 (CON(NPht)) ; 165.0 ; 164.5 (CO Pht) ; 155.6 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.7 (C arom) ; 135.4 ; 135.1 (CH arom Pht) ; 129.5 ; 129.4 (C arom) ; 128.2 ; 127.7 ; 127.6 ; (CH arom) ; 123.6 (CH arom Pht) ; 65.4 (Cb) ; 57.5 (Ch) ; 48.9 (Cd) ; 40.2 (Ce) ; 24.0 ; 23.8 (Cf) ; 22.7 ; 21.1 (Cg) ; 15.0 (Cg).

HRMS calculated for C₂₅H₂₇N₃O₇ [M+Na]⁺ *m/z* 504.17412 found 504.17404.

13h : Z-Pheψ[CON(NPht)]Ala-OH

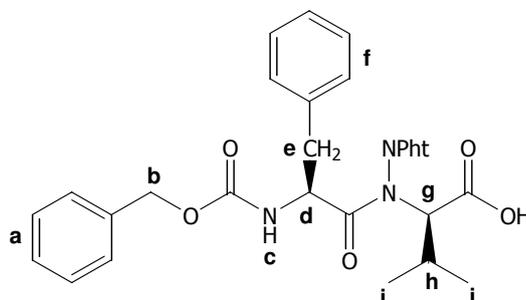
Formula : $C_{28}H_{25}N_3O_7$; Molecular weight : 515 g/mol ; White solid ; 55% ; mp=80°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3356 (NH) ; 1798 ; 1742 ; 1692 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 7.97-7.78 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.29-7.06 (m, 10H, Ha and Hf) ; 5.41 (d, 1H, J=8.6Hz, Cb) ; 5.11-4.78 (m, 3H, Hb and Hg) ; 4.60-4.53 (m, 1H, Hd) ; 3.17-2.83 (m, 2H, He) ; 1.52 ; 1.39 (2d, 3H, J=6.3Hz, Hh).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 173.6 ($\underline{C}OOH$) ; 170.9 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 166.2 ; 165.8 ($\underline{C}O$ Pht) ; 156.2 ($NH\underline{C}OOCH_2Ph$) ; 136.7 ; 136.3 (C arom) ; 136.2 ; 136.1 ($\underline{C}H$ arom pht) ; 130.3 ; 130.0 ($\underline{C}H$ arom) ; 129.7 (C arom) ; 129.1 ; 128.7 ; 128.5 ; 127.8 ; 127.6 ($\underline{C}H$ arom) ; 125.3 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 67.9 ; 67.7 (Cb) ; 58.4 (Cg) ; 52.9 (Cd) ; 38.6 (Ce) ; 14.3 (Cg).

HRMS calculated for $C_{28}H_{25}N_3O_7$ [$M+Na$] $^+$ m/z 538.15847 found 538.15883.

13i : Z-Pheψ[CON(NPht)]Val-OH

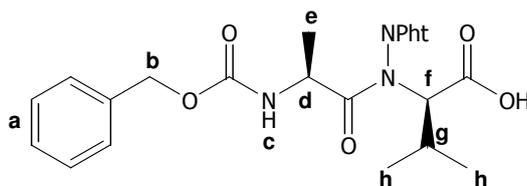
Formula : $C_{30}H_{29}N_3O_7$; Molecular weight : 543 g/mol ; White solid ; 21%.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3451 (NH) ; 1798 ; 1742 ; 1693 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 13.0 (s, 1H, COOH) ; 8.03-7.84 (m, 5H, H arom Pht and Hc) ; 7.38-7.04 (m, 10H, Ha and Hf) ; 4.97-4.67 (m, 3H, Hb and Hg) ; 4.41-4.38 (Hd) ; 2.98-2.76 (m, 2H, He) ; 1.91-1.89 (m, 1H, Hh) ; 0.92 ; 0.81 (2d, 6H, J=3.4Hz, Hi).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 172.5 ($\underline{C}OOH$) ; 169.6 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 165.8 ; 164.5 ($\underline{C}O$ Pht) ; 155.3 ($NH\underline{C}OOCH_2Ph$) ; 137.0 ; 136.7 (C arom) ; 135.5 ; 135.3 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 129.2 (C arom) ; 129.1 ; 128.9 ; 128.2 ; 128.0 ; 127.6 ; 127.4 ; 127.2 ; 126.5 , 126.3 ($\underline{C}H$ arom) ; 123.9 ; 123.6 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 65.4 ; 65.2 (Cb) ; 64.3 (Cg) ; 52.4 (Cd) ; 37.6 (Ce) ; 29.4 (Ch) ; 19.1 ; 18.9 ; 18.8 (Ci).

HRMS calculated for $C_{30}H_{29}N_3O_7$ [$M+Na$] $^+$ m/z 566.18977 found 566.18952.

13j : Z-Alaψ[CON(NPht)]Val-OH

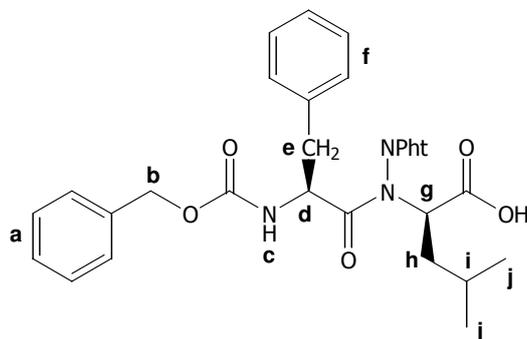
Formula : $C_{24}H_{25}N_3O_7$; Molecular weight : 467 g/mol ; White solid ; 21% ; mp=81°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3451 (NH) ; 1798 ; 1737 ; 1693 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 7.97 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.75-7.67 (m, 1H, Hc) ; 7.34-7.27 (m, 5H, Ha) ; 5.05-4.80 (m, 3H, Hb and Hf) ; 4.35-4.29 (m, 1H, Hd) ; 2.05-1.09 (m, 1H, Hg) ; 1.49-0.81 (m, 9H, He and Hh).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 173.9 ($\underline{C}OOH$) ; 169.6 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 165.7 ; 164.6 (C=O Pht) ; 155.1 ($NH\underline{C}OOCH_2Ph$) ; 136.5 (C arom) ; 135.4 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 129.1 ; 128.2 ; 127.2 ; ($\underline{C}H$ arom) ; 123.6 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 65.4 (Cb) ; 64.3 (Cf) ; 47.3 ; 46.8 (Cd) ; 29.5 ; 28.4 (Cg) ; 18.9 ; 18.2 (Ch) ; 17.1 (Ce).

HRMS calculated for $C_{23}H_{25}N_3O_7$ $[M+Na]^+$ m/z 490.15847 found 490.15846.

13k : Z-Pheψ[CON(NPht)]Leu-OH

Formula : $C_{31}H_{31}N_3O_7$; Molecular weight : 557 g/mol ; White solid ; 10%.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3356 (NH) ; 1798 ; 1742 ; 1678 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 7.94-7.88 (m, 5H, H arom Pht and Hc) ; 7.29-7.03 (m, 10H, Ha and Hf) ; 4.98-4.92 (m, 1H, Hg) ; 4.61-4.58 (m, 2H, Hb) ; 4.30-4.27 (m, 1H, Hd) ; 2.95-2.65 (m, 2H, He) ; 1.60-1.47 (m, 3H, Hh and Hi) ; 0.89-0.80 (m, 6H, Hj).

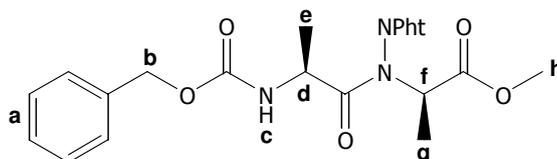
RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 171.9 ($\underline{C}OOH$) ; 170.0 ($\underline{C}ON(NPht)$) ; 165.5 ; 164.1 ($\underline{C}O$ Pht) ; 155.3 ($NH\underline{C}OOCH_2Ph$) ; 137.1 ; 136.7 (C arom) ; 135.4 ; 135.2 ($\underline{C}H$ arom pht) ; 128.9 (C arom) ; 128.1 ; 127.9 ; 127.5 ; 127.3 ; 127.1 ; 126.4 ; 126.2 ($\underline{C}H$ arom) ; 123.9 ; 123.5 ($\underline{C}H$ arom Pht) ; 65.4 ; 65.1 (Cb) ; 57.6 (Cg) ; 52.6 ; 52.1 (Cd) ; 39.2 (Ch) ; 37.1 ; 36.4 (Ce) ; 24.3 ; 24.0 (Ci) ; 22.5 ; 21.8 (Cj).

HRMS calculated for $C_{31}H_{31}N_3O_7$ $[M+Na]^+$ m/z 580.20542 found 580.20565.

V.2.3. C-terminal esterification.

To a stirred solution of Z-AlaΨ[CON(NHPht)]Ala-OH (50 mg, 0.114 mmol) in MeOH (5 ml) under nitrogen and cooled with an ice-bath, thionyl chloride (0.1 ml, 0.125 mmol) was added dropwise. The resulting solution was allowed to warm to room temperature and was stirred for 2 days. After removing the solvent under vacuum, the white solid obtained was purified by flash chromatography, using a mixture EtOAc/PE (20/80) as eluent.

3a : Z-AlaΨ[CON(NPht)]Ala-OMe

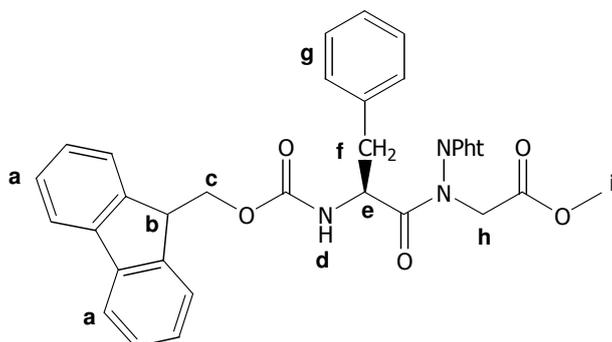


Formula : C₂₃H₂₃N₃O₇ ; Molecular weight : 453 g/mol ; White solid ; 56% ; mp= 109°C.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.95-7.80 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.37-7.32 (m, 5H, Ha) ; 5.40 (d, 1H, J=8.5Hz, Hc) ; 5.15-5.11 (m, 1H, Hf) ; 5.01-4.88 (m, 2H, Hb) ; 4.41-4.29 (m, 1H, Hd) ; 3.76 (s, 3H, Hh) ; 1.35 (d, 3H, J=8.3Hz, Hg) ; 1.28 (d, 3H, J=8.5Hz, He).

IV.3.4. Deprotection/ transprotection.

To a stirred solution of 2,2'-dipyridyl (0.08 mmol) in methanol (5 ml) was added 10% Pd/C (7.5 mg), a solution of Z-PheΨ[CON(NHBoc)]Gly-OH (0.16 mmol) in methanol (5 ml) and Fmoc-OSu (0.16 mmol) were added. The resulting mixture was flushed with H₂ and vigorously stirred until completion (monitored by TLC). The reaction was filtered on celite and evaporated to dryness. The resulting oily product was purified by flash chromatography using EtOAc as eluent.

13I : Fmoc-Pheψ[CON(NPht)]Gly-OMe

Formula : C₃₂H₃₅N₃O₇ ; Molecular weight : 573 g/mol ; Oil ; 47%.

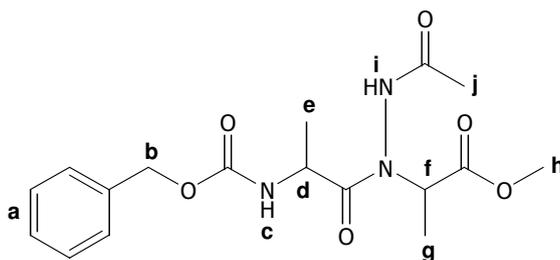
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 8.25-7.08 (m, 17H, Ha, Hg and H arom Pht) ; 5.90 (d, 1H, J=8.5Hz, Hd) ; 5.28-5.19 (m, 1H, He) ; 4.80-4.40 (m, 2H, Hh) ; 4.26-4.08 (m, 3H, Hb and Hc) ; 3.30 (s, 3H, Hi) ; 3.14-2.95 (m, 2H, Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.7 (CON(NPht)) ; 172.3 (COOMe) ; 170.3 ; 166.9 (CO Pht) ; 156.9 (COOFm) ; 144.4 ; 144.2 ; 141.1 ; 136.6 ; 135.6 (C arom) ; 133.3 ; 131.2 ; 130.9 ; 130.1 ; 129.2 ; 128.7 ; 128.3 ; 127.7 ; 125.7 ; 125.0 . 120.5 (C arom) ; 68.0 (Cc) ; 53.4 (Ci) ; 52.5 (Ce) ; 49.4 (Ch) ; 47.5 (Cb) ; 30.3 (Cf).

IV. Functionalized *N*-aminodipeptides synthesis.

IV.2. Preliminary study : reaction with acetyl chloride.

To a stirred solution of compound Z-Alaψ[CON(NH₂)]Ala-OMe **6a** (0.3 mmol) in ether (5 ml), triethylamine (0.42 mmol) and acetyl chloride (0.3 mol) were added in one portion. The resulting solution was stirred at room temperature for 2h then filtered. The solid thus obtained was washed with dry diethyl ether. The filtrate was evaporated to dryness and the residue was purified by column chromatography using EtOAc as eluent.

14 : Z-Alaψ[CON(NHCOCH₃)]Ala-OMe

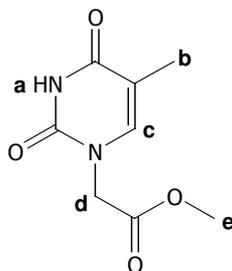
Formula : C₁₇H₂₃N₃O₆ ; Molecular weight : 365 g/mol ; Oil ; R=65%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.51 (s, 1H, Hi) ; 7.31-7.13 (m, 5H, CH arom) ; 5.42 (s, 1H, Hc) ; 5.07-5.02 (m, 1H, Hf) ; 4.97 ; 4.91 (2d, 2H, J=12.2Hz, Hb) ; 4.53 (qd, 1H, J=7.1Hz, J=6.8Hz, Hd) ; 3.54 (s, 3H, Hh) ; 1.94 (s, 3H, Hj) ; 1.25 (d, 3H, J=7.5Hz, Hg) ; 1.17 (d, 3H, J=6.8Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.1 (COOCH₃) ; 172.9 (CONNH) ; 170.6 (NHCOOCH₂Ph) ; 156.4 (NHCOCH₃) ; 136.6 (C arom) ; 128.9 ; 128.5 ; 128.3 ; (CH arom) ; 67.4 (Cb) ; 54.9 (Cd) ; 52.8 (Ch) ; 46.7 (Cf) ; 21.2 (Cj) ; 18.6 (Ce) ; 14.4 (Cg).

IV.3. Functionalized *N*-aminodipeptides synthesis.**V.3.1. *Via* thyminylacetic acid derivative.**Thyminylacetic acid synthesis from methylbromoacetate.

To a stirred suspension of thymine (10 mmol) and K₂CO₃ (10 mmol) in anhydrous THF (30 ml) under nitrogen, methyl bromoacetate (10 mmol) was added in one portion. The resulting mixture was stirred for 15h then filtered. The filtrate was evaporated to dryness. A white solid was obtained after dissolution of the residue in cold water, precipitation with aqueous HCl (4N) and filtration. The solid thus isolated was washed with water and aqueous NaOH (2M).

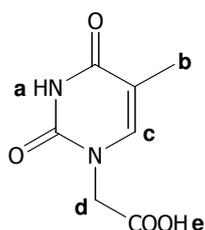
Methyl thyminylacetate

Formula : C₈H₁₀N₂O₄ ; Molecular weight : 198 g/mol ; 15%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.49 (s, 1H, Ha) ; 6.94 (s, 1H, Hc) ; 4.45 (s, 2H, Hd) ; 3.81 (s, 3H, He) ; 1.95 (s, 3H, Hb).

Thyminylacetic acid synthesis from bromoacetic acid.

To a stirred solution of thymine (1.26 g, 10 mmol) and KOH (1.12 g, 10 mmol) in water (75 ml), a solution of bromoacetic acid (0.95 ml, 10 mmol) in water (3 ml) was added dropwise. pH was adjusted to 10 by addition of KOH (1N) and the resulting mixture was heated to reflux for 2h. The precipitate which appeared when the solution was cooled to room temperature was filtered. The filtrate was acidified by addition of a solution of HCl (6N) and a second precipitate was formed and filtered. The solid thus obtained was dissolved in a saturated solution of NaHCO₃, cooled with an ice-water bath then reacidified by HCl (6N), filtered and dry overnight under vacuum.

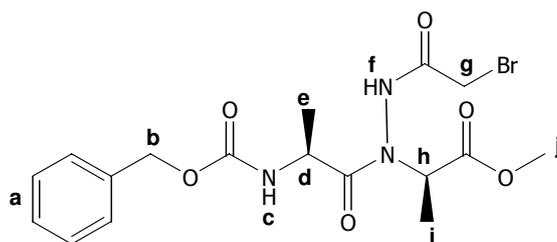
15 : Thyminylacetic acid

Formula : C₇H₈N₂O₄ ; Molecular weight : 184 g/mol ; White solid ; 45%.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 13.00 (s, 1H, He) ; 11.32 (s, 1H, Ha) ; 7.49 (s, 1H, Hc) ; 4.36 (s, 2H, Hd) ; 1.76 (s, 3H, Hb).

V.3.2. *Via* halogenoacetyl halide.General procedure for *N*-aminodipeptides functionalization with bromoacetyl bromide.

Compound **6** (1 mmol) was dissolved in THF (25 ml), placed under nitrogen atmosphere and cooled to 0-5°C with an ice-water bath. Triethylamine (1.1 mmol) and BrCOCH₂Br (1.1 mmol) was added subsequently. A brown precipitate appeared and the resulting mixture was stirred until completion (monitored by TLC). Reaction was hydrolysed by water and the organic phase was extracted with CH₂Cl₂ (3x20 ml). The organic layers were combined and washed with saturated NaCl, dried over MgSO₄ and evaporated to dryness to give a yellowish oil. The crude product was purified by column chromatography using a mixture EtOAc/PE as eluent.

16b : Z-Ala_ψ[CON(NHCOCH₂Br)]Ala-OMe

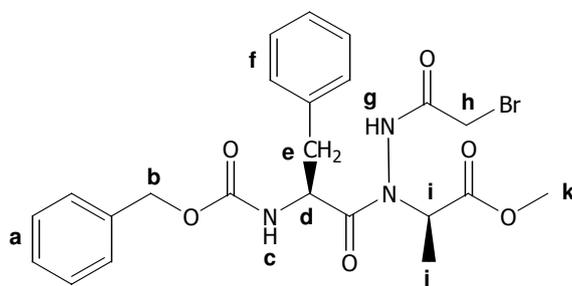
Formula : C₁₇H₂₂BrN₃O₆ ; Molecular weight : 444 g/mol ; White solid ; R=65% ; mp=135°.

Eluent : EtOAc/PE (60/40).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3251 (NH) ; 1744 ; 1684 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 9.00 (s, 1H, Hf) ; 7.34-7.72 (m, 5H, CH arom) ; 5.39 (d, 1H, J=8.3Hz, Hc) ; 5.29-5.19 (m, 1H, Hh) ; 5.11 ; 5.12 (2d, 2H, J=12.1Hz, Hb) ; 4.68 (qd, 1H, J=7.6Hz, J=6.8Hz, Hd) ; 3.91 (q, 2H, J=12.3Hz, Hg) ; 3.72 (s, 3H, Hj) ; 1.43 (d, 3H, J=7.4Hz, Hi) ; 1.33 (d, 3H, J=6.9Hz, He).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.1 (COOCH₃) ; 173.1 (COOCH₂Br) ; 167.1 (CONNH) ; 156.5 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.8 (C arom) ; 129.2 ; 128.8 ; 128.5 (CH arom) ; 67.7 (Cb) ; 55.3 (Cd) ; 53.3 (Cj) ; 47.1 (Ch) ; 26.6 (Cg) ; 18.8 ; 14.7 (Ci).

16c : Z-Phe_ψ[CON(NHCOCH₂Br)]Ala-OMe

Formula : C₂₃H₂₆BrN₃O₆ ; Molecular weight : 520 g/mol ; Oil ; 78%.

Eluent : EtOAc/PE (40/60).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3260 (NH) ; 1743 ; 1714 ; 1690 ; 1669 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.9 (s, 1H, Hg) ; 7.33-7.15 (m, 10H, Ha and Hf) ; 5.34 (d, 1H, J=8.2Hz, Hc) ; 5.28-5.24 (m, 1H, Hi) ; 5.02-5.00 (m, 2H, Hb) ; 4.85-4.81 (m, 1H, Hd) ; 4.13 ; 4.10 (2d, 2H, J=7.1Hz, Hh) ; 3.71 (s, 3H, Hk) ; 3.14-3.09 (m, 1H, He) ; 2.89-2.81 (m, 1H, He) ; 1.43 (d, 3H, J=7.4Hz, Hj).

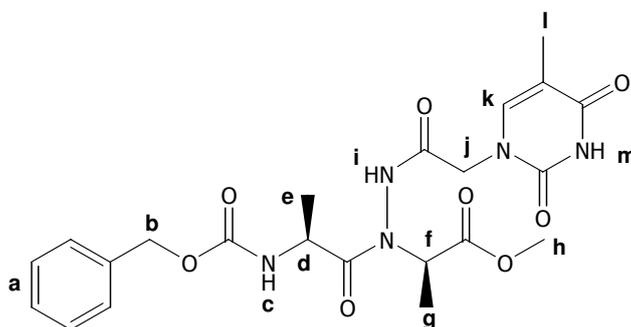
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.9 (CON(NHCOCH₂Br)) ; 172.9 (COOMe) ; 167.0 (COCH₂Br) ; 156.7 (NHCOOCH₂Ph) ; 136.8 (C arom) ; 130.1 ; 129.2 ; 128.8 ; 128.4 ; 127.8 (CH arom) ; 67.7 (Cb) ; 55.3 (Ci) ; 53.3 (Ck) ; 52.5 (Cd) ; 26.4 (Ch) ; 14.8 (Cj).

Reaction with thymine.Solvent = DMF

Compound **17** (1 mmol) was dissolved in DMF (15 ml) under stirring. K_2CO_3 (2.5 mmol) and thymine (1 mmol) were added to the reaction. The resulting solution was stirred for 2 days then diluted in water (150 ml) extracted with EtOAc (3x30 ml). The organic layers were combined, washed with distilled water and dried over $MgSO_4$. EtOAc was removed under vacuum and the crude product was purified by column chromatography.

Solvent = acetone

Compound **17** (1 mmol) was dissolved in anhydrous acetone (15 ml) under stirring. K_2CO_3 (2.5 mmol) and thymine (1 mmol) were added to the reaction. The resulting mixture was stirred until completion (monitored by TLC), hydrolysed and extracted with dichloromethane. The organic layers were combined, washed with saturated NaCl and dried over $MgSO_4$. The crude product was purified by column chromatography.

17a : Z-Ala₁[CON(NHCOCH₂Thymine)]Ala-OMe

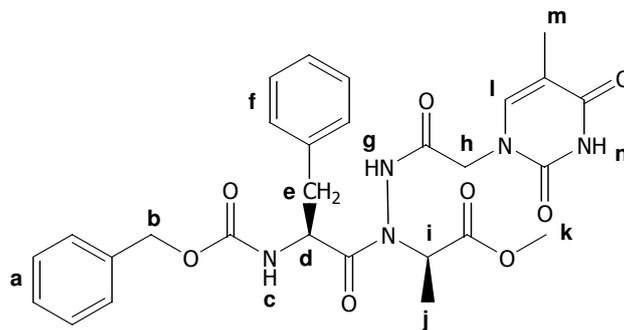
Formula : $C_{22}H_{27}N_5O_8$; Molecular weight : 489 g/mol ; Oil ; 82%.

Eluent : EtOAc.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3361 (NH) ; 1708 ; 1665 (C=O).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) : δ (ppm) 10.62 (s, 1H, Hm) ; 7.59-7.35 (m, 6H, Ha and Hk) ; 5.034.45 (m, 7H, Hb, Hc, Hd, Hf and Hj) ; 3.61 (s, 3H, Hh) ; 1.81 (s, 3H, Hl) ; 1.18 (d, 3H, J=7.1Hz, Hg) ; 1.09 (d, 3H, J=6.1Hz, He).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm) 174.6 ($\underline{C}OOCH_3$) ; 171.2 ; 167.90 ($\underline{C}OCH_2$ thymine) ; 164.4 (NH $\underline{C}OC=$) ; 162.8 ($\underline{C}ONNH$) ; 155.4 (NH $\underline{C}OOCH_2$ Ph) ; 150.8 (NH $\underline{C}ON$) ; 142.2 ; 141.2 (Ck) ; 137.0 (C arom) ; 128.3 ; 126.8 (CH arom) ; 108.2 ; 107.4 (C thymine) ; 65.4 (Cb) ; 52.0 (Ch) ; 49.2 (Cj) ; 47.4 (Cd) ; 46.6 (Cf) ; 17.3 ; 17.2 (Ce) ; 14.1 ; 13.6 (Cg) ; 12.5 ; 11.9 (Cl).

17b : Z-Pheψ[CON(NHCOCH₂Thymine)]Ala-OMe

Formula : C₂₈H₃₁N₅O₈ ; Molecular weight : 565 g/mol ; Oil ; 86%.

Eluent : EtOAc/PE (80/20).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3279 (NH) ; 1695 ; 1663 ; 1647 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 9.19 (s, 1H, Hn) ; 7.21-6.98 (m, 11H, Ha, Hf and Hl) ; 5.37 (d, 1H, J=9Hz, Hc) ; 5.31-5.27 (m, 1H, Hi) ; 5.10-4.88 (m, 3H, Hb and Hd) ; 4.35-4.30 (m, 2H, Hh) ; 3.65 (s, 3H, Hk) ; 3.09-3.06 (m, 1H, He) ; 2.86-2.82 (m, 1H, He) ; 1.89 (s, 3H, Hm) ; 1.43 (d, 3H, J=7.1Hz, Hj).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 174.9 (CON(NHCOCH₂Thymine)) ; 172.9 (COOMe) ; 168.2 (NHCOCH₂Thymine) ; 164.6 (NCONHCO) ; 156.8 (NHCOOCH₂Ph) ; 152.1 (NCONHCO) ; 141.4 (Cl) ; 136.9 (C arom) ; 130.4 ; 130.0 ; 129.2 ; 129.1 ; 128.9 ; 128.8 ; 128.2 ; 127.6 (CH arom) ; 112.0 (C thymine) ; 67.7 ; 67.5 (Cb) ; 55.3 (Ci) ; 53.3 ; 53.1 (Ck) ; 52.5 (Cd) ; 43.1 (Ch) ; 38.8 (Ce) ; 14.8 ; 14.6 (Cj) ; 13.6 (Cm).

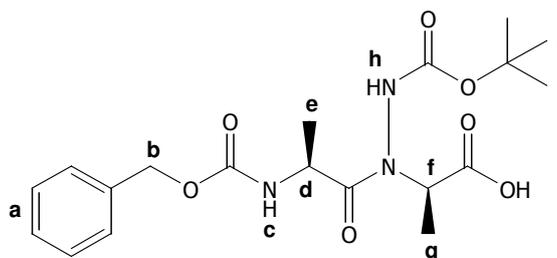
Chapter II : Liquid and solid phase
oligomerization of *N*-aminodipeptides.

II. Preliminary study in liquid phase.

II.1. C-terminal deprotection.

P₁-AA₁ψ[CON(NHP₂)]AA₂-OMe (1 mmol) was dissolved in THF (10 ml). A solution of LiOH 2.5N (10 ml) was added in one portion and the resulting solution was stirred for 1h. The reaction was quenched by addition of ice and extracted with chloroform (3x20 ml). The aqueous layer was acidified until pH=2 by HCl 1N and extracted with EtOAc (8x20 ml). The organics layers were combined, dried over MgSO₄ and evaporated to dryness to give the pure product.

18a : Z-Alaψ[CON(NHBoc)]Ala-OH

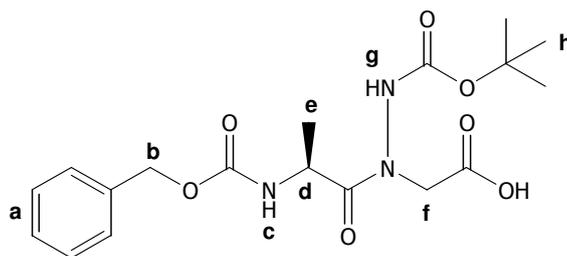


Formula : C₁₉H₂₇N₃O₇ ; Molecular weight : 409 g/mol ; White solid ; 98%.

IR (NaCl) ν_{\max} (cm⁻¹) 3291 (OH) ; 1727. 1684 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 10.00 (s, 1H, OH) ; 7.83 (s, 1H, Hh) ; 7.32-7.27 (m, 5H, Ha) ; 5.91 (d, 1H, J=6.0Hz, Hc) ; 5.22-4.75 (m, 4H, Hb, Hd and Hf) ; 1.48 (s, 9H, Hi) ; 1.41 (d, 3H, J=6.8Hz, He) ; 1.33 (d, 3H, J=6.8Hz, Hg).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 177.5 (C=O) ; 176.5 (C=O) ; 156.8 (NHCOOCH₂Ph) ; 156.1 (NHCOOtBu) ; 136.6 (C arom) ; 129.1 ; 128.6 ; 128.6 (CH arom) ; 82.7 (OC(CH₃)₃) ; 67.6 (Cb) ; 56.4 (Cd) ; 47.5 (Cf) ; 28.6 (Ci) ; 18.6 (Ce) ; 14.1 (Cg).

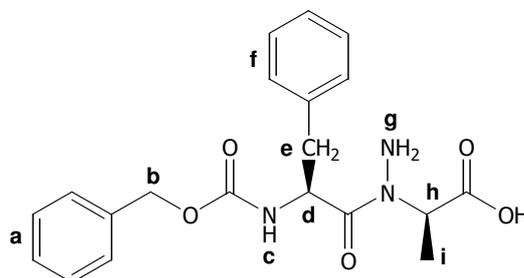
18b : Z-Alaψ[CON(NHBoc)]Gly-OH

Formula : $C_{18}H_{25}N_3O_7$; Molecular weight : 395 g/mol ; White solid ; 99%.

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3304 (OH) ; 1730. 1680 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.86 (s, 1H, OH) ; 7.35-7.20 (m, 5H, Ha) 7.03 (s, 1H, Hg) ; 5.55 (s, 1H, Hc) ; 5.13-4.90 (m, 4H, Hb, Hd and Hf) ; 3.8 (s, 1H, Hf) ; 1.48 (s, 9H, Hh) ; 1.32 (d, 3H, J=5.8Hz, He).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 176.4 (\underline{COOH}) ; 172.3 (\underline{CONNH}) ; 156.8 ($NH\underline{COOCH}_2Ph$) ; 155.1 ($NH\underline{COOtBu}$) ; 136.7 (C arom) ; 129.1 ; 128.8 ; 128.7 (CH arom) ; 83.7 ($OC\underline{(CH}_3)_3$) ; 67.8 (Cb) ; 49.8 (Cf) ; 47.4 (Cd) ; 28.7 (Ch) ; 18.8 (Ce).

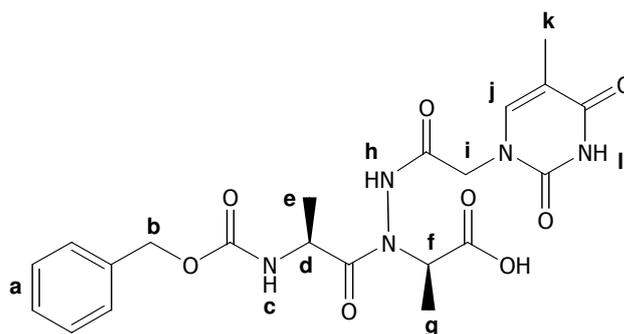
18c :Z-Pheψ[CON(NH₂)]Ala-OH

Formula : $C_{20}H_{23}N_3O_5$; Molecular weight : 385 g/mol ; Oil ; 85%.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3650 (OH) ; 3425 (NH) ; 1721 ; 1661 ; 1606 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.32-7.21 (m, 10H, Ha and Hf) ; 6.03 (d, 1H, J=8.7Hz, Hc) ; 5.69-5.66 (m, 1H, Hh) ; 5.28-5.24 (m, 1H, Hd) ; 5.09 ; 5.01 (2d, 2H, J=12.5Hz, Hb) ; 3.05-2.97 (m, 2H, He) ; 2.07 (s, 2H, Hg) ; 1.24 (d, 3H, J=9Hz, Hi).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 177.1 ($\underline{CON(NH}_2)$) ; 175.2 (\underline{COOH}) ; 156.6 ($NH\underline{COOCH}_2Ph$) ; 137.0 ; 136.9 (C arom) ; 130.1 ; 129.9 ; 129.0 ; 128.9 ; 128.6 ; 128.4 ; 127.4 (CH arom) ; 67.4 (Cb) ; 53.5 (Ch) ; 52.3 (Cd) ; 40.2 (Ce) ; 13.9 (Ci).

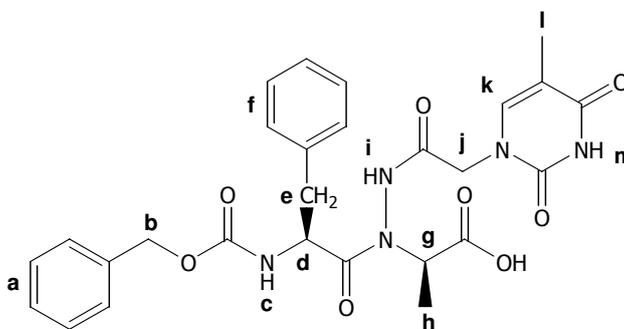
18d : Z-Ala ψ [CON(NHCOCH₂thymine)]Ala-OH

Formula : C₂₁H₂₅N₅O₈ ; Molecular weight : 475 g/mol; White solid ; 75% ; mp=133°C.

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3302 (OH) ; 1705 ; 1665 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 10.56 (s, 1H, Hl) ; 7.59 (s, 1H, Hj) ; 7.55-7.35 (m, 5H, Ha) ; 5.10-4.96 (m, 2H, Hb) ; 4.96-4.45 (m, 5H, Hc, Hd, Hf and Hi) ; 1.81 (s, 3H, Hk) ; 1.24-1.08 (m, 6H, He and Hg).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 172.3 (COOH) ; 168.1 (COCH₂ thymine) ; 164.4 (NHCO=) ; 162.8 (CONNH) ; 155.2 (NHCOOCH₂Ph) ; 150.8 (NHCON) ; 142.1 ; 14.1 (Cj) ; 137.1 (C arom) ; 128.3 ; 127.0 (CH arom) ; 107.3 (C thymine) ; 65.4 (Cb) ; 49.2 (Ci) ; 46.6 (Cd) ; 41.4 (Cf) ; 17.5 (Ce) ; 14.0 ; 13.6 (Cg) ; 12.4 ; 11.9 (Ck).

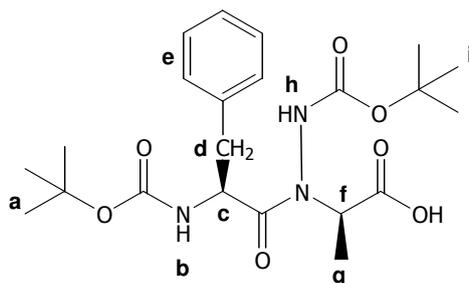
18e : Z-Phe ψ [CON(NHCOCH₂thymine)]Ala-OH

Formula : C₂₇H₂₉N₅O₈ ; Molecular weight : 551 g/mol White solid ; 70% ; mp=147°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3356 (NH) ; 1819 ; 1783 ; 1760 ; 1695 ; 1664 (C=O).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 9.19 (s, 1H, Hn) ; 7.21-6.98 (m, 11H, Ha, Hf and Hl) ; 5.37 (d, 1H, J=9Hz, Hc) ; 5.31-5.27 (m, 1H, Hi) ; 5.10-4.88 (m, 3H, Hb and Hd) ; 4.35-4.30 (m, 2H, Hh) ; 3.09-3.06 (m, 1H, He) ; 2.86-2.82 (m, 1H, He) ; 1.89 (s, 3H, Hm) ; 1.43 (d, 3H, J=7.1Hz, Hj).

RMN ¹³C (DMSO-d₆) : δ (ppm) 174.9 (CON(NHCOCH₂Thymine)) ; 172.9 (COOMe) ; 168.2 (NHCOCH₂Thymine) ; 164.6 (NCONHCO) ; 156.8 (NHCOOCH₂Ph) ; 152.1 (NCONHCO) ; 141.4 (Cl) ; 136.9 (C arom) ; 130.4 ; 130.0 ; 129.2 ; 129.1 ; 128.9 ; 128.8 ; 128.2 ; 127.6 (CH arom) ; 112.0 (C thymine) ; 67.7 ; 67.5 (Cb) ; 55.3 (Ci) ; 53.3 ; 52.5 (Cd) ; 43.1 (Ch) ; 38.8 (Ce) ; 14.8 ; 14.6 (Cj) ; 13.6 (Cm).

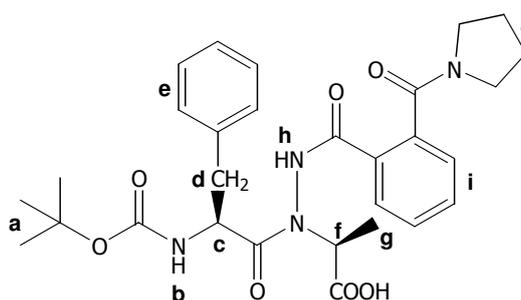
18f : Boc-Pheψ[CON(NHBoc)]Ala-OH

Formula : $C_{22}H_{33}N_3O_7$; Molecular weight : 451 g/mol ; White solid ; 75% ; mp=172°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3343 ; 3238 (NH) ; 1748 ; 1733 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.39-7.18 (m, 6H, He and Hh) ; 5.29-4.90 (m, 3H, Hb, Hc and Hf) ; 3.18-3.15 (m, 1H, Hd) ; 2.83-2.72 (m, 1H, Hd) ; 1.56-1.21 (m, 21H, Ha, Hg and Hi).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 176.5 ($\underline{CON(NHBoc)}$) ; 171.8 (\underline{COOMe}) ; 171.7 ($\underline{CON(NHCOOtBu)}$) ; 155.8 ($\underline{NHCOOtBu}$) ; 137.3 (C arom) ; 130.2 ; 128.9 ; 127.3 (CH arom) ; 82.7 ($\underline{CON(NHCOOC(CH_3)_3)}$) ; 80.3 ($\underline{NHCOOC(CH_3)_3}$) ; 55.4 (Cc) ; 54.1 (Ce) ; 52.0 (Cf) ; 29.0 ; 28.9 (Ca and Cj) ; 14.6 (Cg).

18g : Boc-Pheψ[CON(NHPCB)]Ala-OH

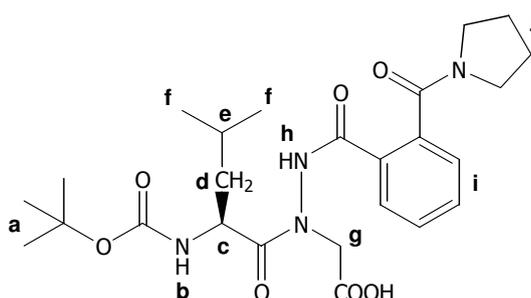
Formula : $C_{29}H_{36}N_4O_7$; Molecular weight : 552 g/mol ; White solid ; 98% ; mp=101°C.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3325 (NH) ; 1742 ; 1721 ; 1692 (C=O).

RMN 1H ($DMSO-d_6$, 300 MHz) : δ (ppm) 12.50 (s, 1H, COOH) ; 10.72 (s, 1H, Hh) ; 7.76-7.42 (m, 4H, Hi) ; 7.16-6.60 (m, 6H, Hb and He) ; 4.89-4.35 (m, 2H, Hc and Hf) ; 3.41 (s, 2H, Hj) ; 3.18 (s, 2H, Hj) ; 2.88-2.69 (m, 2H, Hd) ; 1.90-1.77 (m, 4H, Hj) ; 1.31-1.19 (m, 12H, Ha and Hg).

RMN ^{13}C ($DMSO-d_6$) : δ (ppm) 175.3 ($\underline{CONHCOPh-1-CO-pyrro}$) ; 172.5 (\underline{COOH}) ; 169.7 ($\underline{CONHCOPh-1-CO-pyrro}$) ; 168.4 ($\underline{CONHCOPh-1-CO-pyrro}$) ; 155.7 ($\underline{NHCOOtBu}$) ; 137.7 ; 137.4 (C arom) ; 132.3 (CH arom) ; 130.9 (C arom) ; 130.1 ; 129.9 ; 129.8 ; 128.8 ; 127.3 ; 127.2 (CH arom) ; 80.2 ($\underline{NHCOOC(CH_3)_3}$) ; 55.4 (Cf) ; 52.1 (Cc) ; 49.8 ; 46.4 (Cj) ; 38.6 (Cd) ; 28.8 (Ca) ; 26.4 ; 25.1 (Cj) ; 14.7 ; 14.6 (Cg).

MS calculated for $C_{29}H_{36}N_4O_7$ $[M+Na]^+$ m/z 575.2 found 575.5.

18h : Boc-Leu γ [CON(NHPCB)]Gly-OH

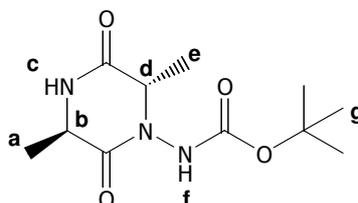
Formula : C₂₅H₃₆N₄O₇ ; Molecular weight : 504 g/mol ; Oil ; 100%.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3456 (NH) ; 1741 ; 1690 ; 1658 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 9.25 (br, 1H, COOH) ; 7.93-7.85 (m, 3H, Hh and Hi) ; 7.62-7.50 (m, 2H, Hi) ; 5.20 (d, 1H, J=7.9Hz, Hb) ; 4.99-4.80 (m, 1H, Hc) ; 4.43-4.15 (m, 2H, Hg) ; 3.60-3.49 (m, 2H, Hi) ; 3.30-3.25 (m, 2H, Hi) ; 1.96-1.77 (m, 4H, Hi) ; 1.54-1.34 (m, 12H, Ha, Hd and He) ; 0.95-0.86 (m, 6H, Hf).

II.2. *N*-terminal deprotection.**II.2.1. Preliminary study.**

To a stirred solution of **5** (2 mmol) in anhydrous ethanol (50 ml), catalytic amount of palladium on carbon (2%) was added. The resulting mixture was vigorously stirred under dihydrogen atmosphere until completion (monitored by TLC). The reaction was filtered on celite and evaporated to dryness. The crude product was purified by column chromatography if necessary using EtOAc as eluent.

19a : AlaAla diketopiperazine

Formula : C₁₁H₁₉N₃O₄ ; Molecular weight : 257 g/mol ; White solid ; R=98% ; mp= 228°C

Eluent : EtOAc.

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3265 (NH) ; 1738 ; 1721 ; 1678 ; 1656 ; 1643 (C=O).

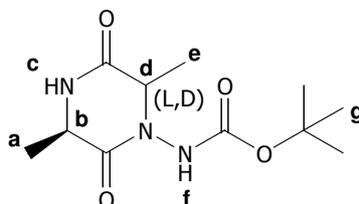
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.05 (s, 1H, Nf) ; 7.65 (s, 1H, Hc) ; 4.17 (m, 2H, Hb and Hd) ; 1.60-1.48 (m, 15H, Ha, He and Hg).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 168.9 (CONH) ; 166.9 (CONNHBoc) ; 155.3 (NHCOOtBu) ; 81.7 (OC(CH₃)₃) ; 60.3 (Cb) ; 49.8 (Cd) ; 28.4 (OC(CH₃)₃) ; 19.1 (Ca) ; 17.1 (Ce).

II.2.2. Complementary study.

Compound **22b**, **22e**, **22f** and **21d** were obtained according to the general procedure described above.

19b : AlaAla (L,D) diketopiperazine



Formula : C₁₁H₁₉N₃O₄ ; Molecular weight : 257 g/mol ; White solid ; R=98% ; mp= 228°C.

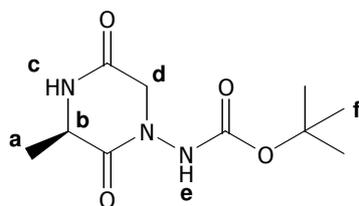
Eluent : EtOAc.

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3265 (NH) ; 1738 ; 1721 ; 1678 ; 1656 ; 1643 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.05 (s, 1H, Nf) ; 7.65 (s, 1H, Hc) ; 4.17-4.06 (m, 2H, Hb and Hd) ; 1.60-1.48 (m, 15H, Ha, He and Hg).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 168.9 (CONH) ; 166.9 (CONNHBoc) ; 155.3 (NHCOOtBu) ; 81.7 (OC(CH₃)₃) ; 60.3 (Cb) ; 49.8 ; 48.9(Cd) ; 28.4 (OC(CH₃)₃) ; 19.1 (Ca) ; 17.1 ; 16.9 (Ce).

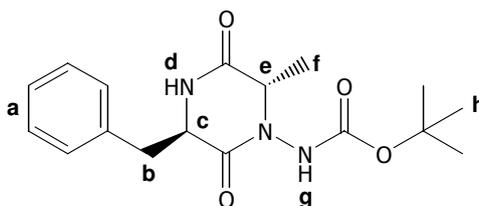
19e : AlaGly diketopiperazine



Formula : C₁₀H₁₇N₃O₄ ; Molecular weight : 243 g/mol ; Oil ; R=99%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.50-7.21 (m, 2H, Hc and He) ; 4.20 (s, 2H, Hd) ; 4.11-4.08 (m, 1H, Hb) ; 1.50-1.40 (m, 12H, Ha and Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 168.7 (CONH) ; 167.2 (CONNHBoc) ; 155.5 (NHCOOtBu) ; 81.7 (OC(CH₃)₃) ; 60.3 (Cb) ; 42.7 (Cd) ; 28.4 (OC(CH₃)₃) ; 19.1 (Ca).

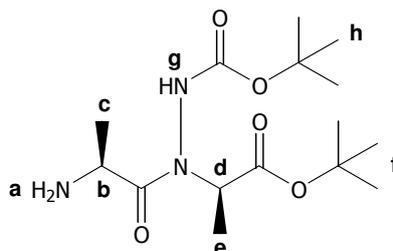
19f : PheAla diketopiperazine

Formula : $C_{17}H_{23}N_3O_4$; Molecular weight : 333 g/mol ; Oil ; 99%.

Eluent : EtOAc.

IR ν_{max} (cm^{-1}) 3265 (NH) ; 1707 ; 1675 (C=O).

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.37–7.21 (m, 5H, Ha) ; 6.68 (s, 1H, Hg) ; 6.04 (s, 1H, Hd) ; 4.74–4.28 (m, 1H, Hc) ; 4.04 (q, 1H, J=6.3Hz, Ce) ; 3.71 ; 2.92 (2dd, 2H, J=6.3Hz, J=10.8Hz, Hb) ; 1.56–1.49 (m, 14H, Hf and Hh).

20d : H-Ala ψ [CON(NHBoc)]Ala-OtBu

Formula : $C_{15}H_{29}N_3O_5$; Molecular weight : 331 g/mol ; Oil ; R=30%.

Eluent : EtOAc/PE (40/60 then 100/0).

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3251 (NH) ; 1744 ; 1719 ; 1711 ; 1690 ; 1670 (C=O).

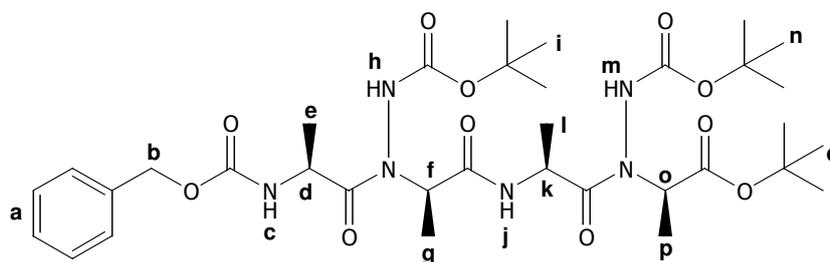
RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) : δ (ppm) 7.23 (s, 0.7H, Hg) ; 6.84 (s, 0.3H, Hg) ; 5.20 (s, 1H, Hd) ; 3.7 (qd, 1H, J=7.3Hz, J=6.8Hz, Hb) ; 1.78 (s, 2H, Ha) ; 1.5–1.45 (m, 18H, Hf and Hh) ; 1.37 (d, 3H, J=7.2Hz, He) ; 1.25 (d, 3H, J=6.6Hz, Hc).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) 180.2 ($\underline{C}OOtBu$) ; 168.9 ($\underline{C}ONNH$) ; 155.8 ($NH\underline{C}OOtBu$) ; 83.1 ; 82.5 ($OC(\underline{C}H_3)_3$) ; 54.8 (Cd) ; 47.0 (Cd) ; 28.7 ; 28.6 (Cf and Ch) ; 20.7 (Cc) ; 14.4 (Ce).

II.3. Coupling reaction between *N*- and *C*-deprotected *N*-aminodipeptides.

To a stirred solution of H-AlaΨ[CON(NHBoc)]Ala-OtBu (0.33 mmol), Z-AlaΨ[CON(NHBoc)]Ala-OH (0.33 mmol) and BtOH (0.5 mmol) in anhydrous DCM (20 ml), under nitrogen and cooled with an ice-bath, was added portionwise EDCI (0.5 mmol). The resulting mixture was stirred at 0-5°C for 3h (completion monitored by TLC). The reaction was washed successively with HCl 1N (3x20 ml), NaHCO₃ sat. (3x20 ml), NaCl sat. (3x20 ml) then extracted with EtOAc. The organic layers were combined and dried over MgSO₄, concentrated to dryness and purified by column chromatography.

21 : Z-Pheψ[CON(NHBoc)]Ala- Pheψ[CON(NHBoc)]Ala-OtBu.



Formula : C₃₄H₅₄N₆O₁₁ ; Molecular weight : 722 g/mol ; White solid ; 45% ; mp=84°C.

Eluent : EtOAc/PE (40/60).

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3373 ; 3320 (C=O) ; 1723 ; 1708 ; 1673 ; 1664 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.27 (s, 1H, Hh or Hm) ; 7.32-6.70 (m, 7H, Ha, Hj and Hh or Hm) ; 5.50-4.50 (m, 7H, Hb, Hc, Hd, Hf, Hk and Ho) ; 1.69-1.11 (m, 39H, He, Hi, Hg, Hl, Hn, Hp and Hq).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 176.9 (COOtBu) ; 157.0 (NHCOOCH₂Ph) ; 155.9 (NHCOOtBu) ; 155.3 (NHCOOtBu) ; 136.7 (C arom) ; 129.1 ; 128.7 ; 128.5 (CH arom) ; 82.8 ; 82.1 (OC(CH₃)₃) ; 67.6 (Cb) ; 55.3 ; 55.0 ; 47.1 ; 46.6 (Cd, Cf, Ck and Co) ; 28.6 and 28.3 (Ci, Cn and Cq) ; 17.5 ; 14.4 ; 13.8 ; 13.2 (Ce, Cg, Cl and Cp).

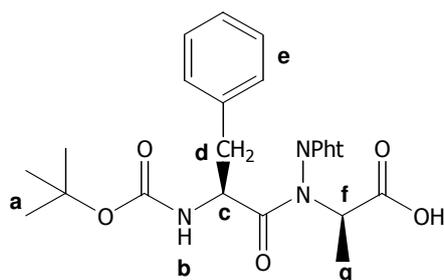
III. *N*-aminodipeptides oligomerization on solid phase.

III.2. Synthesis of phthaloylated *N*-aminopeptides.

General procedure for C-deprotection by catalytic hydrogenation.

To a stirred solution of **3j** or **3m** (2 mmol) in anhydrous ethanol (50 ml), catalytic amount of palladium on carbon (5%) was added. The resulting mixture was vigorously stirred under dihydrogen atmosphere until completion (monitored by TLC). The reaction was filtered on celite and evaporated to dryness to give the pure product.

22a : Boc-Pheψ[CON(NPht)]Ala-OH



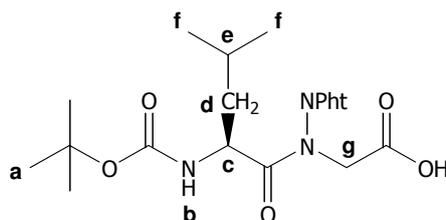
Formula : $C_{25}H_{27}N_3O_7$; Molecular weight : 481 g/mol ; White solid ; R=90% ; mp=95°C.

IR ν_{max} (cm⁻¹) 3340 (OH) ; 1798 ; 1740 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.80 (s, 1H, COOH) ; 7.97-7.82 (m, 4H, H arom Pht) ; 7.26-7.11 (m, 5H, He) ; 5.08 (d, 1H, J=10Hz, Hb) ; 4.90-4.88 (m, 1H, Hc) ; 4.54-4.49 (m, 1H, Hf) ; 3.17-2.83 (m, 2H, Hd) ; 1.39 (s, 9H, Ha) ; 1.18 (s, 3H, Hg).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 172.7 (CON(NPht)) ; 170.0 (COOBn) ; 165.9 (CO Pht) ; 155.0 (NHCOOtBu) ; 136.9 (C arom) ; 135.3 (CH arom Pht) ; 129.8 (C arom) ; 129.5 ; 128.9 ; 127.0 (CH arom) ; 124.6 (CH arom Pht) ; 80.1 ((OC(CH₃)₃) ; 56.0 (Cf) ; 51.8 (Cc) ; 38.5 (Cd) ; 28.5 (Ca) ; 14.5 (Cg).

MS calculated for $C_{25}H_{27}N_3O_7$ [M+Na]⁺ *m/z* 504.2 found 504.1.

22b : Boc-Leu ψ [CON(NPht)]Gly-OH

Formula : C₂₁H₂₇N₃O₇ ; Molecular weight : 433 g/mol ; White solid ; 87%.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 9.87 (s, 1H, COOH) ; 7.98–7.85 (m, 4H, H arom Pht) ; 5.08 (d, 0.25H, J=9.9Hz, Hb) ; 4.92 (d, 0.75H, J=9.9Hz, Hb). 4.73 (d, 1H, J=17Hz, Hg) ; 4.60–4.47 (m, 1H, Hc) ; 4.40 (d, 1H, J=17Hz, Hg) ; 1.64–1.23 (m, 12H, Ha, Hd and He) ; 1.02-0.95 (m, 6H, Hf).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 174.6 (CON(NPht)) ; 168.2 (COOMe) ; 164.9 ; 164.5 (CO Pht) ; 155.4 (NHCOOtBu) ; 135.5 ; 135.3 (CH arom Pht) ; 130.4 (C arom) ; 124.8 ; 124.6 (CH arom Pht) ; 80.3 (OC(CH₃)₃) ; 53.3 (Ch) ; 49.6 (Cg) ; 48.7 (Cc) ; 42.6 (Cd) ; 28.9 ; 28.8 (Ca) ; 25.2 ; 25.0 (Ce) ; 23.8 ; 23.6 ; 22.7 ; 22.4 (Cf).

General procedure for coupling reactions using TBTU/HOBt as coupling reagents.

The resin (Boc-Leu-PAM) was placed in a dry flask, and sufficient DMF was added, just to cover the resin which was allowed to swell for 30 min.

Boc group was removed according to the classical removal procedure.

N-aminodipeptide **22a** (3 eq. relative to the resin loading), TBTU (3 eq. relative to the resin loading), and HOBt (3 eq. relative to the resin loading) were dissolved in DMF (5ml). The resulting solution was added to the resin then DIEA (9 eq. relative to the resin loading) was added. The mixture thus obtained was stirred at room temperature for 2h and washed with DCM (3x1 min.), MeOH (3x1 min.) and DMF (3x1 min.). A suitable colorimetric coupling test was performed. If it was negative, the coupling reaction was repeated twice.

General procedures for colorimetric tests.Kaiser test¹.

Prepare the following solution :

Dissolve 5 g of ninhydrin in 10 ml of ethanol.

Dissolve 80 g of liquified phenol in 20 ml of ethanol.

Add 2 ml of a 0.001M aqueous solution of potassium cyanide to 98 ml of pyridine.

¹ Kaiser, E.; Colecott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. *Analytical Biochemistry* **1970**, *34*, 595-598.

Sample a few resin beads and wash several times with ethanol. Transfer to a small glass tube and add 2 drops of each solution above. Mix well and heat to 120°C for 4-6 min. A positive test is indicated by blue resin beads.

TNBSA test².

Prepare the following solution :

10% DIEA in methanol.

1% 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBSA) in methanol.

Sample a few resin beads and suspend them in methanol. Add one drop of each solutions and leave for 5 min. Wash the beads with methanol to remove the red solution. A positive test is indicated by red beads.

Chloranil test³.

To 1-5 mg of resin add one drop of 2% acetaldehyde in DMF followed by one drop of 2% *p*-chloranil in DMF. Allow to stand at room temperature for 5 min. Blue stained resin beads indicate the presence of secondary amines.

General procedures for N-terminal Boc deprotection.

Classical Boc removal.

TFA (2ml per 0.5g of resin) was added to the peptide-resin. The resulting mixture was stirred at room temperature for 1 min, then filtered. TFA was added again and the mixture was then stirred for 3 min. The resin was filtered and washed successively with DCM (3x1 min.), MeOH (3x1 min.) and DMF (3x1 min.).

Low Boc removal.

A solution of TFA (25% in dry DCM) was added to the peptide-resin and the resulting mixture was stirred at room temperature for 1 min. The treatment is repeated twice for respectively 5 and 20min. The resin was filtered and washed successively with DCM (3x1 min.), MeOH (3x1 min.) and DMF (3x1 min.).

² Hancock, W. S.; Battersby, J. E. *Analytical Biochemistry* **1976**, *71*, 260-264.

³ Christensen, T. *Peptides Structure and Biological Function*; Pierce Chemical Co: Rockford, 1979.

General procedure for cleaving the peptide from the resin.

N-terminal protecting group has to be removed (using procedure described above) before beginning the cleavage procedure.

TFMSA cleavage : (this procedure was given for 0.1 g of peptide-resin)

Cleavage mixture : 0.1 ml TFMSA
 0.15 ml scavenger mixture [thioanisole/EDT (0.1 ml/0.5 ml)]
 1 ml TFA

The dried peptide-resin (100 mg) was placed in a small round-bottom flask (50 ml) that contained a magnetic stir bar. If the peptide contains side-chain protections, scavenger solution was added and the mixture was stirred at room temperature for approximately 10 min. TFA (1 ml) was added and the mixture was stirred for 5-10 min. at room temperature. TFMSA (100 μ l) was slowly added with vigorous stirring to dissipate the heat generated. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1.5h. Cold Et₂O (50 ml) was added into the flask after the reaction time had elapsed to precipitate the peptide and the mixture was stirred for one more minute.

If the peptide precipitate, the contents of the reaction flask was transferred to a clean fritted glass funnel which was attached to a vacuum filtration flask and the solid was washed several times with cold Et₂O while applying the vacuum. The vacuum filtration flask was removed and replaced with a clean filtration flask that contained cold Et₂O (200 ml). The peptide was dissolved on the frit with a minimum volume of TFA and the contents was gently stirred. The peptide should have easily dissolved in the TFA and was filtered into the cold Et₂O. The resin on the frit was washed twice with a minimum volume of TFA. The solution obtained was concentrated under vacuum and lyophilised.

If the peptide did not precipitate, the resin was washed several times with TFA and the solution obtained was concentrated under vacuum and lyophilised.

III.3. Synthesis of free *N*-aminopeptides.

III.3.1. Cleavage with TMSOTf.

Every coupling reaction, *N*-deprotection reaction and colorimetric test were performed according to the suitable general procedure described above.

TMSOTf cleavage : (this procedure was given for 0.1 to 1.0 g of peptide-resin)

Cleavage mixture : 1.94 ml TMSOTf
 2.00 ml scavenger mixture [thioanisole/EDT/m-cresol (1.2 ml/0.6 ml/0.2 ml)]
 6.89 ml TFA

The dried peptide-resin (100 mg) was placed in a small round-bottom flask (50 ml) that contained a magnetic stir bar and cooled in an ice-water bath. The cleavage mixture (use scavenger mixture only if the peptide contains side-chain protections) was cooled and added to the cooled peptide-resin. The resulting mixture was stirred at 0°C for 2h. Et₂O (50 ml or more) was added into the flask after the reaction time had elapsed to precipitate the peptide.

If the peptide had precipitated, the solution was filtered through a medium porosity, fritted glass funnel and the resin was washed with cold Et₂O. The peptide was separated from the resin by dissolution in TFA. The resin was washed several times with TFA and the solution obtained was put into cold Et₂O, concentrated under vacuum and lyophilised.

If the peptide did not precipitate, the resin was washed several times with TFA and the solution obtained was concentrated under vacuum and lyophilised.

III.3.1. Use of the transprotection reaction.

a) N-aminopeptides synthesis by solid phase transprotection reaction.

Every coupling reaction, *N*-deprotection reaction, colorimetric tests and cleavage reaction were performed according to the suitable general procedure described above.

General procedure for solid phase transprotection reaction.

All reactions were performed at room temperature.

After each step, the resin was filtered, washed (3x5 ml CH₂Cl₂, 3x5 ml MeOH, 3x5 ml THF, one minute each) and resuspended in THF.

Step 1 : Pyrrolidine (4 eq. relative to the number of *N*-amino bond) was added in one portion and the resulting mixture was stirred for 24h. The reaction was performed twice and the resin was filtered and washed.

Step 2 : Boc₂O (4 eq. relative to the number of *N*-amino bond) and a catalytic amount of DMAP were added in one portion and the resulting mixture was stirred for 24h. The reaction was performed twice and the resin was filtered and washed.

Step 3 : MeNH₂ (2M in MeOH, 4 eq. relative to the number of N-amino bond, or 2M in DMF (5 ml as solvent) was added in one portion. the resulting mixture was stirred for 24h. The reaction was performed twice and the resin was filtered and washed.

b) N-aminopeptides synthesis on oxime resin.

General procedure for the first residue attachment using DCC as coupling reagent.

Fmoc-Leu-OH (1.3 meq. relative to the resin loading) was *in situ* coupled with DCC (1.3 meq. relative to the resin loading) and oxime resin in DCM for 20h. After being washed with DCM and EtOH, the resin was capped with Ac₂O and DIEA in DMF.

General procedure for the first residue attachment using DIC as coupling reagent⁴.

The resin was placed in a dry flask, and sufficient DMF was added, just to cover the resin which was allowed to swell for 30 min. Extra DMF was added if necessary. The Fmoc-Leu-OH (10 eq. relative to the resin loading) was dissolved in dry DCM. One or two drops of DMF may be needed to aid the complete dissolution. A solution of DIC (5 eq. relative to the resin loading) in dry DCM was added to the amino acid. The mixture was stirred for 20 min. at 0°C, keeping free from moisture with a calcium chloride drying tube. The DCM was removed by evaporation under reduced pressure. The residue was dissolved in the minimum of DMF and added to the resin. DMAP (0.1 eq. relative to the resin loading) was dissolved in DMF and added to the resin/amino acid mixture. The resulting mixture was stirred at room temperature for 1h. A small aliquot of resin (20 mg) was taken, washed and dried. The yield of the attachment of the aminoacid was estimated using the procedure described below. If the value obtained is less than 70%, the first attachment procedure should be repeated.

Estimation of level of first residue attachment⁵.

Step 1 : Take 3x10 mm matched silica UV cells. Weigh dry Fmoc amino acid-resin (approximately 5 μmole with respect to Fmoc) into a 10 ml graduated flask.

Step 2 : Add 2 ml of 2% DBU in DMF. Agitate gently for 30 min. Dilute solution to 10 ml with CH₃CN. Take 2 ml of this solution and dilute to 25 ml in a graduated flask.

Step 3 : Prepare a reference as in step 2, but without addition of the resin.

⁴ DeTar, D. L.; Silverstein, R.J. *Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 1020-1023.

⁵ Gude, M.; Ryf, J.; White, P. D. *Letts. Pept. Sci.* **2002**, 9, 203-206.

Step 4 : Fill two cells with 3 ml of test solution and one cell with 3 ml of reference solution. Place the cells in a spectrophotometer and record optical density at 304 nm. Obtain an estimate of the first residue attachment from equation below:

$$\text{Fmoc loading : mmole/g} = (\text{Abs}_{\text{sample}} - \text{Abs}_{\text{ref}}) \times 16.4 / \text{mg of resin}$$

Special procedure for coupling reactions in case of using oxime resins⁶.

The resin was placed in a dry flask, and sufficient DMF was added, just to cover the resin which was allowed to swell for 30 min.

Fmoc group was removed according to the classical removal procedure.

Boc group was removed according to the low removal procedure.

Then every coupling reaction was performed according to the following cycle :

Steps	Reagents	time, min
1- washing	DCM (3X)	1
2- washing	25%TFA/DCM (1X)	1
3- deprotection	25%TFA/DCM (1X)	25
4- washing	DCM (3X), MeOH (3X)	1
5- washing	DCM (3X)	1
6- neutralization	1% DIEA/DCM (2X)	0,5
7- washing	DCM (1X)	0,5
8- coupling	a	120
9- washing	(DCM (2X), MeOH (2X))x2	1
10- washing	DMF	1
11-capping	b	30
12- return to step 1		

a) Compound **18g** and TBTU (3 eq. relative to the resin loading in DMF b) Capping mixture Ac₂O/DIEA/DMF (6:2:24 v/v/v)

Special procedures for cleaving the peptide from oxime resin (this procedure was given for 0.1-1.0 g of peptide-resin)⁷.

Cleavage mixtures : DBU (2 eq. relative to the resin loading)
0.5 ml H₂O
9.5 ml THF

⁶ Lobl, T. J.; Maggiora, L. L. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1979-1982.

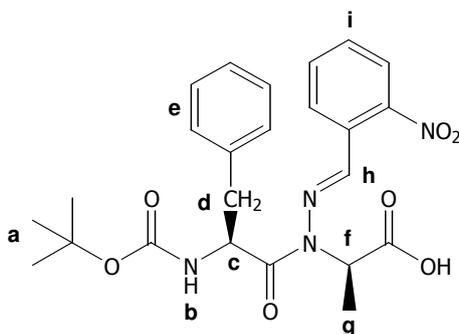
⁷ Pichette, A.; Voyer, N. Larouche, R.; Meillon, J.-C. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 1279-1282.

The dried peptide-resin was placed in a round-bottom flask that contained a magnetic stir bar. The cleavage mixture was added to the peptide-resin and the resulting mixture was stirred at room temperature for 4h then filtered. The resin was washed several times with CHCl₃, DCM and MeOH. The organic layers were combined and evaporated under vacuum. The residue obtained was dissolved in DCM (20 ml) and washed with aqueous HCl 1N (2x10 ml). The organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated to dryness.

III.3.3. *N*-aminopeptides synthesis using hydrazone derivatives.

Boc-Pheψ[CON(N=CHPh-2-NO₂)]Ala-OMe **8c** (1 mmol) was dissolved in methanol (2 ml). A solution of NaOH 1N (2.2 ml) was added in one portion, the resulting solution was stirred for 2h and the methanol was removed under vacuum. Pure product was obtained by addition of HCl (10%) and filtration and was dried overnight in "a vacuum dessicator"⁸.

23 : Boc-Pheψ[CON(N=CH-Ph-2-NO₂)]Ala-OH



Formula : C₂₄H₂₈N₄O₇ ; Molecular weight : 484 g/mol ; White solid ; 96% ; mp=60°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 1720 ; 1686 ; 1605 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 8.22-7.93 (m, 3H, Hh ans Hi) ; 7.54-7.16 (m, 7H, He and Hi) ; 5.20-5.05 (m, 0.3H, Hc) ; 5.01-4.90 (m, 1H, Hb) ; 4.52-4.35 (m, 1H, Hf) ; 4.30-4.25 (m, 0.7H, Hc) ; 3.19-2.80 (m, 2H, Hd) ; 1.54-1.45 (m, 3H, Hg) ; 1.40 (s, 9H, Ha).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 178.9 (C=O) ; 176.8 (COOH) ; 156.1 (NHCOOtBu) ; 159.0 (Ch) ; 147.8 ; 136.5 (C arom) ; 133.5 ; 131.1 ; 130.8 ; 130.1 ; 128.9 ; 128.6 ; 127.1 ; 125.5 ; 124.9 (CH arom) ; 80.9 (OC(CH₃)₃) ; 71.4 (Cf) ; 517.6 (Cc) ; 39.9 ; 38.4 (Cd) ; 28.9 (Ca) ; 17.8 ; 17.3 (Cg).

MS calculated for C₂₄H₂₈N₄O₇ [M+H]⁺ *m/z* 485.2 found 485.3.

Every coupling reaction, colorimetric tests, Boc deprotection and cleavage were performed according to the suitable general procedure described above.

⁸ Bodansky, M.; Bodansky, A. *The practice of peptide synthesis*, Heidelberg: Berlin, 1984.

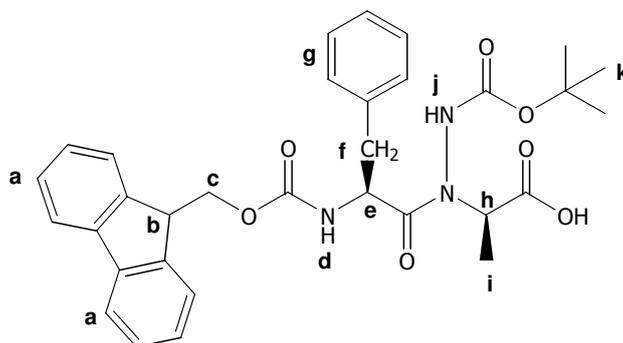
General procedure for APTS treatment.

To a stirred solution of oligomer II in EtOH/H₂O (1/1) was added 2 eq. of APTS (relative to the number of *N*-amino bonds). The resulting solution was heated to gentle reflux for 6h then solvent was removed under vacuum. DCM was added and the organic layer was washed with water, dried over MgSO₄ then evaporated to dryness. The crude product was purified by HPLC.

III.3.3. *N*-aminopeptides synthesis using the Fmoc *N*-protected compounds.

Fmoc-Phe_ψ[CON(NHBoc)]Ala-OMe **5h** was dissolved in 2.27 ml of solution iPrOH/H₂O (7/3, 0.8 M CaCl₂). NaOH (1.2 mmol) was added in one portion and the resulting mixture was stirred at room temperature for 7h. The reaction was quenched by addition of ice, acidified until pH=1-2 with HCl (1N and extracted by EtOAc (8x20 ml). The organic layers were combined and dried over MgSO₄. The solvent was evaporated under vacuum and the crude product was purified by flash chromatography using a mixture EtOAc/EP (30/70) as eluent⁹.

24 : Fmoc-Phe_ψ[CON(NHBoc)]Ala-OH



Formula : C₃₂H₃₅N₃O₇ ; Molecular weight : 573 g/mol ; White solid ; 83% ; mp=65°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3310 (NH) ; 1736 ; 1676 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.44-7.24 (m, 13H, Ha and Hg) ; 5.61-5.59 (m, 1H, Hd) ; 5.27-4.80 (m, 3H, Hb and Hc) ; 4.27-4.08 (m, 2H, He and Hh) ; 3.22-3.18 (m, 1H, Hf) ; 2.89-2.86 (m, 1H, Hf) ; 1.49-1.44 (m, 12H, Hi and Hk).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 175.7 (CONNH) ; 174.3 (COOH) ; 157.0 (COOtBu) ; 156.3 (COOFm) ; 144.4 ; 141.9 ; 136.8 (C arom) ; 130.3 ; 129.2 ; 128.3 ; 127.7 ; 125.7 ; 120.6 (CH arom) ; 83.3 (OC(CH₃)₃) ; 68.0 (Cc) ; 57.1 (Cb) ; 52.6 (Ce) ; 47.6 (Ch) ; 38.3 (Cf) ; 28.2 (Ck) ; 14.8 ; 14.4 (Ci).

MS calculated for C₃₂H₃₅N₃O₇ [M+Na]⁺ *m/z* 596.2 found 596.2.

⁹ Pascal, R.; Sola, R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5031-5034.

Every coupling reaction and colorimetric tests were performed according to the suitable general procedure described above.

General procedure for N-terminal Fmoc deprotection.

Fmoc group was removed by three treatments with a solution of piperidine (25% in DMF) during 2, 5 and 8 min. The resin was filtered and washed successively with DCM (3x1 min.), MeOH (3x1 min.) and DMF (3x1 min.).

General procedure for cleaving the peptide from the resin.

TFA cleavage : (this procedure was given for 0.5 to 1.5 g of peptide-resin)

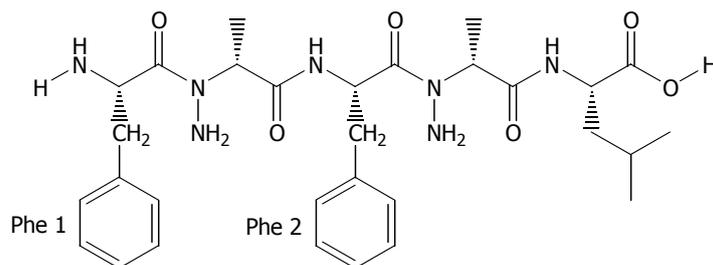
Cleavage mixtures :

A :	0.5 ml D.I. H ₂ O	B :	0.75 g cristalline phenol
	9.5 ml TFA		0.25 ml EDT
			0.5 ml thioanisole
			0.5 ml D.I. H ₂ O
			10 ml TFA

The dried peptide-resin was placed in a round-bottom flask that contained a magnetic stir bar and cooled in an ice-water bath. The cleavage mixture was cooled (mixture B was used only if the peptide contained side-chain protections) and added to the cooled peptide-resin to give a total reaction volume of 10 ml. After all the cleavage mixture had been added, the flask was removed from the ice bath and allowed to warm to room temperature. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1.5h. Cold Et₂O (50 ml or more) was added into the flask after the reaction time had elapsed to precipitate the peptide.

If the peptide had precipitated, the solution was filtered throught a medium porosity, fritted glass funnel and the resin was washed with cold Et₂O. The peptide was separated from the resin by dissolution in TFA. The resin was washed several times with TFA and the solution obtained was put into cold Et₂O, concentrated under vacuum and lyophylised.

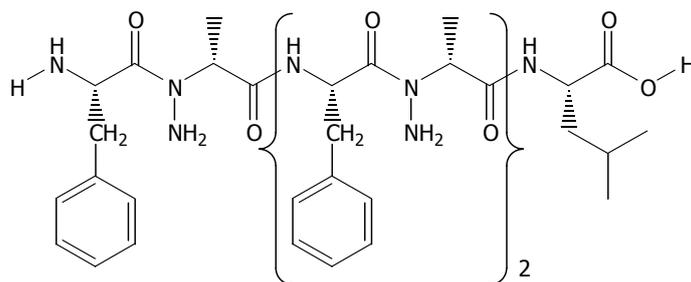
If the peptide did not precipitate, the resin was washed several times with TFA and the solution obtained was concentrated under vacuum and lyophylised. The crude products were purified by HPLC.

Oligomer II - 2 : H-(Phe ψ [CON(NH₂)]Ala)₂Leu-OH

Formula : C₃₀H₄₃N₇O₆ ; Molecular weight : 597 g/mol ; White solid ; 20%.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 8.34-8.30 (m, 2H, NH Phe 2 and NH Leu) ; 8.30 (s, 2H, NH₂ Phe 1) ; 7.34-7.19 (m, 10H, H arom) ; 5.61-5.58 (m, 1H, CH α Phe 2) ; 5.06-5.00 (m, 2H, CH α Ala) ; 4.20-4.16 (m, 1H, CH α Leu) ; 4.47 (s, 5H, CH α Phe 1 and NNH₂) ; 3.33-3.09 (m, 4H, CH β Phe) ; 1;70-1,45 (m, 3H, CH β and CH γ Leu) ; 1.33 ; 1.1.08 (2d, 6H, J=7.2Hz, CH β Ala) ; 0.89 ; 0.83 (2d, 6H, J=6.2Hz, CH δ Leu).

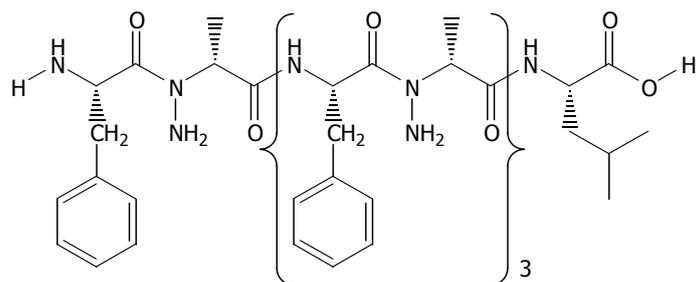
HRMS calculated for C₃₀H₄₃N₇O₆ [M+Na]⁺ *m/z* 620.3169 found 620.31695.

Oligomer II - 3 : H-(Phe ψ [CON(NH₂)]Ala)₃Leu-OH

Formula : C₄₂H₅₈N₁₀O₈ ; Molecular weight : 830 g/mol ; White solid ; 8%.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 8.25-7.98 (m, 5H, NH Phe and NH Leu) ; 7.32-7.18 (m, 15H, H arom) ; 5.70-5.58 (m, 2H, CH α Phe) ; 5.02-4.99 (m, 3H, CH α Ala) ; 4.74-4.64 (s, 7H, CH α Phe and NNH₂) ; 4.30-4.05 (m, 1H, CH α Leu) ; 3.31-2.66 (m, 6H, CH β Phe) ; 1;70-1,45 (m, 3H, CH β and CH γ Leu) ; 1.29-1.06 (m, 9H, CH β Ala) ; 0.89 ; 0.83 (2d, 6H, J=6.2Hz, CH δ Leu).

HRMS calculated for C₄₂H₅₈N₁₀O₈ [M+Na]⁺ *m/z* 853.43368 found 853.43374.

Oligomer II-4 : H-(Phe ψ [CON(NH₂)]Ala)₄Leu-OH

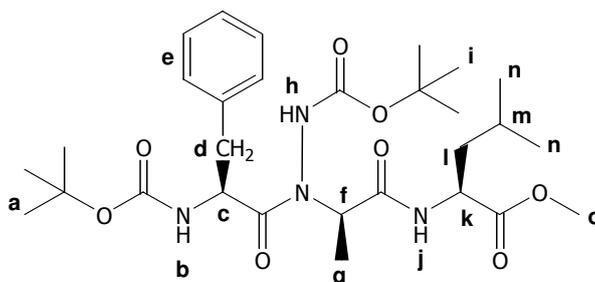
Formula : C₅₄H₇₃N₁₃O₁₀ ; Molecular weight : 1064 g/mol ; White solid ; 10%.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ (ppm) 8.26-7.98 (m, 6H, NH Phe and NH Leu) ; ; 7.32-7.18 (m, 20H, H arom) ; 5.69-5.29 (m, 2H, CH α Phe) ; 5.02-4.99 (m, 3H, CH α Ala) ; 4.74-4.64 (s, 7H, CH α Phe and NNH₂) ; 4.36-4.04 (m, 1H, CH α Leu) ; 3.30-2.61 (m, 8H, CH β Phe) ; 1;70-1,40 (m, 3H, CH β and CH γ Leu) ; 1.28-1.06 (m, 12H, CH β Ala) ; 0.89 ; 0.84 (2d, 6H, J=6.2Hz, CH δ Leu).

HRMS calculated for C₅₄H₇₃N₁₃O₁₀ [M+Na]⁺ *m/z* 1086.54956 found 1086.54879.

Synthesis of compound 27 H-Phe[CON(NH₂)]Ala-Leu-OH.

Step 1 : A stirred solution of Boc-Phe Ψ [CON(NHBoc)]Ala-OH (0.93 mmol), HCl, H-Leu-OMe (0.93 mmol) and BtOH (0.93 mmol) in anhydrous THF (10 ml) under nitrogen was cooled to 0-5°C with an ice-water bath. 2 eq. of triethylamine (1.86 mmol) and 1.05 eq. of DIC (0.978 mmol) were added subsequently to the reaction. The resulting solution was stirred at 0°C for one hour then allowed to warm to room temperature. The solvent was removed under vacuum then EtOAc was added (10 ml). The organic layer was washed with citric acid (5% in water, 3x10 ml), saturated NaHCO₃ (3x10 ml), water (3x10 ml) and dried over MgSO₄. The solvent was removed under vacuum and the crude product was purified by column chromatography using EtOAc/PE (20/80 then 30/70) as eluent.

25 : Boc-Phe Ψ [CON(NHBoc)]Ala-Leu-OMe

Formula : C₂₉H₄₆N₄O₈ ; Molecular weight : 578 g/mol ; Oil ; 83%.

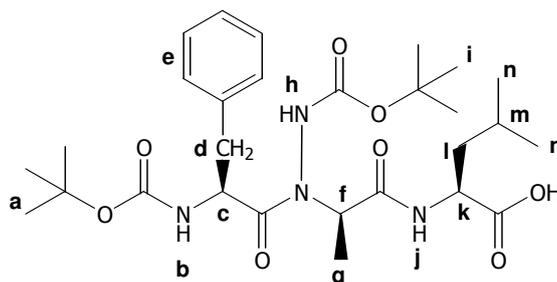
IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3286 (NH) ; 1720 ; 1681 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 8.19 (s, 1H, Hj) ; 7.31-7.20 (m, 6H, He and Hh) ; 5.49-5.45 (m, 1H, Hf) ; 4.87-4.81 (m, 2H, Hc and Hb) ; 4.72-4.69 (m, 1H, Hk) ; 3.76 (s, 3H, Ho) ; 3.39-3.33 (m, 1H, Hd) ; 2.78-2.70 (m, 1H, Hd) ; 1.70-1.57 (m, 3H, Hl and Hm) ; 1.51-1.34 (m, 21H, Ha, Hi and Hg) ; 0.92-0.85 (m, 6H, Hn).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 175.5 (CONH) ; 171.7 (COOH) ; 156.7 ; 156.0 (COOC(CH₃)₃) ; 137.9 (C arom) ; 129.7 ; 129.4 ; 127.9 ; 127.6 (CH arom) ; 82.5 ; 80.8 (COOC(CH₃)₃) ; 55.5 (Cf) ; 53.2 (Co) ; 51.7 (Cc) ; (Ck) ; 40.3 (Cl) ; 37.2 (Cd) ; 28.8 (Ca and Ci) ; 25.4 (Cm) ; 23.5 ; 21.9 (Cn) ; 13.5 (Cg).

Step 2 : Boc-Pheψ[CON(NHBoc)]Ala-Leu-OMe (0.75 mmol) was dissolved in methanol (1.5 ml). A solution of NaOH 1N (2.2 eq. 1.7 ml) was added in one portion and the resulting solution was stirred for 2h at room temperature. Methanol was removed under vacuum. The resulting solution was acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (10% in water) and extracted with EtOAc (3x5 ml). Solvent was removed under vacuum to give the pure product as a white solid.

26 : Boc-Pheψ[CON(NHBoc)]Ala-Leu-OH



Formula : C₂₈H₄₄N₄O₈ ; Molecular weight : 564 g/mol ; White solid ; 100%.

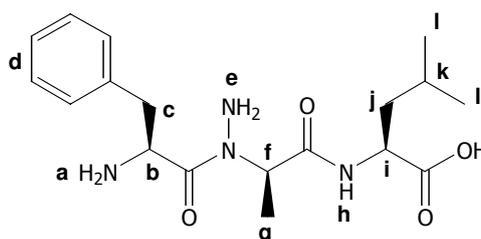
IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3325 (NH) ; 1711 ; 1667 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 8.32 (s, 1H, Hj) ; 7.33 (s, 1H, Hh) ; 7.30-7.21 (m, 5H, He) ; 5.53-5.45 (m, 1H, Hf) ; 4.95 (d, 1H, J=7.8Hz, Hb) ; 4.88-4.86 (m, 1H, Hc) ; 4.61-4.51 (m, 1H, Hk) ; 3.24-3.20 (m, 1H, Hd) ; 2.83-2.75 (m, 1H, Hd) ; 1.70-1.17 (m, 24H, Ha, Hi, Hl and Hm) ; 0.91-0.86 (m, 6H, Hn).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 175.7 (CONH) ; 172.0 (COOH) ; 165.0 (CONNH) ; 156.7 (CCOOC(CH₃)₃) ; 156.2 (CCOOC(CH₃)₃) ; 137.4 (C arom) ; 129.9 ; 129.7 ; 129.2 ; 127.7 (CH arom) ; 83.7 ; 82.9 (COOC(CH₃)₃) ; 81.1 ; 80.8 (COOC(CH₃)₃) ; 53.6 (Cc) ; 52.1 (Ck) ; 51.5 (Cc) ; 40.5 (Cl) ; 37.5 (Cd) ; 28.8 (Ca and Ci) ; 25.6 (Cm) ; 23.7 (Cn) ; 14.8 ; 14.6 ; 13.5 (Cg).

Step 3 : Boc-Phe Ψ [CON(NHBoc)]Ala-Leu-OH (0.7 mmol) was dissolved in a solution of HCl (3N) in EtOAc (10 ml). The resulting solution was stirred until completion (monitored by TLC), cooled with an ice-water bath, adjusted to pH 7 by addition of NaHCO₃ (saturated solution) and extracted with EtOAc (3x10 ml). The organic extracts were combined, washed with a saturated solution of NaCl (3x10 ml) and dried over MgSO₄. The desired product was obtained by evaporation, dissolution in water and lyophilization.

27 : H-Phe Ψ [CON(NH₂)]Ala-Leu-OH



Formula : C₁₈H₂₈N₄O₄ ; Molecular weight : 364 g/mol ; White solid ; 37%.

IR : ν_{\max} (cm⁻¹) 3599 (OH) ; 3251 ; 3408 ; 3337 (NH) ; 1731 ; 1686 ; 1606 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 7.28-7.14 (m, 6H, Hd and Hh) ; 5.26 (q, 1H, J=6.7Hz, Hf) ; 4.82-4.80(m, 1H, Hb) ; 4.53-4.50 (m, 1H, Hi) ; 3.44 (s, 2H, He) ; 3.24-3.14 (m, 3H, Ha) ; 2.97-2.82 (m, 2H, Hc) ; 1.66-1.59 (m, 3H, Hj and Hk) ; 1.17 (d, 3H, J=6.7Hz, Hg) ; 0.97-0.90 (m, 6H, Hl).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 177.1 (COOH) ; 174.3 (CONH) ; 171.3 (CON(NH₂)) ; 138.0 (C arom) ; 130.2 ; 130.0 ; 129.6 ; 129.2 ; 129.0 ; 128.2 ; 127.4 (CH arom) ; 53.9 (Cf) ; 52.3 (Cb) ; 51.6 (Ci) ; 42.1 (Cc) ; 40.6 (Cj) ; 25.5 (Ck) ; 23.6 ; 21.9 (Cl) ; 12.6 (Cg).

III.4. Functionalized α -*N*-aminomers : toward a new family of PNAs.

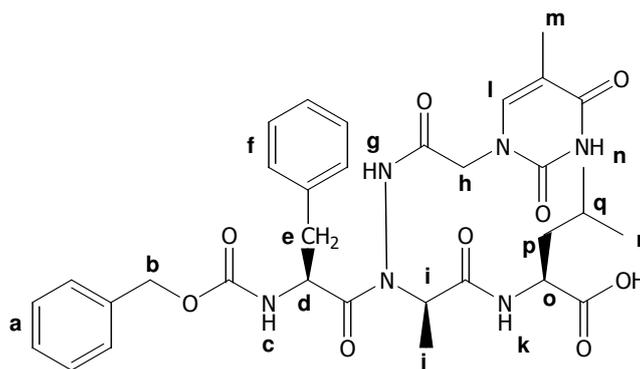
III.4.1. Oligomerization of functionalized *N*-aminodipeptides.

Every coupling reaction and colorimetric tests were performed according to the suitable general procedure described above.

General procedure for *N*-terminal Z deprotection.

Z group was removed by two treatments with a solution of HBr (48% in AcOH) during 2h. The resin was filtered and washed successively with DCM (3x1 min.), MeOH (3x1 min.) and DMF (3x1 min.).

28 : Z-Pheψ[CON(NHCOCH₂Thymine)]Ala-Leu-OH.



Formula : C₃₃H₄₀N₃O₉ ; Molecular weight : 664 g/mol ; White solid ; mp=189°C.

IR ν_{\max} (cm⁻¹) 3662 (OH) ; 3272 (NH) ; 1701 ; 1664 ; 1647 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) 12.55 (br, 1H, COOH) ; 10.51 (s, 1H, H_n) ; 8.15 ; 8.05 (2s, 1H, J=7.8Hz, H_k) ; 7.51 (s, 1H, H_l) ; 7.17-7.11 (m, 10H, H_a and H_f) ; 4.74-4.14 (m, 8H, H_b, H_c, H_d, H_h, H_i and H_o) ; 3.12-2.70 (m, 2H, H_e) ; 1.83-1.77 (2s, 3H, H_m) ; 1.51-1.43 (m, 3H, H_p and H_q) ; 1.40-1.25 (m, 3H, H_j) ; 0.95-0.70 (m, 6H, H_r).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) 173.9 (CON(NHCOCH₂Thymine)) ; 172.8 (COOH) ; 170.5 (CONH) ; 168.9 (NHCOCH₂Thymine) ; 162.7 (NCONHCO) ; 158.0 (NHCOOCH₂Ph) ; 150.9 (NCONHCO) ; 140.4 (Cl) ; 137.7 ; 133.9 (C arom) ; 129.9 ; 129.3 ; 129.1 ; 128.5 ; 128.1 ; 127.9 ; 127.3 ; 126.1 (CH arom) ; 107.5 (C thymine) ; 67.5 (C_b) ; 56.5 (C_i) ; 53.5 (C_d) ; 50.1 (C_o) ; 41.6 (C_h) ; 36.3 (C_e) ; 24.9 (C_p) ; 24.2 (C_q) ; 22.8 ; 21.3 (C_r) ; 14.1 (C_j) ; 12.4 (C_m).

MS calculated for C₃₃H₄₀N₃O₉ [M+Na]⁺ *m/z* 687.3 found 687.3.

III.4.2. Step by step PNAs synthesis.

Every coupling reaction, colorimetric tests, *N*-terminal deprotection and cleavage were performed according to the suitable general procedure described above.

General procedure for solid phase functionalization.

All reaction were performed at room temperature.

After each step, the resin was filtered, washed (3x5 ml CH₂Cl₂, 3x5ml MeOH, 3x5ml THF, one minute each) and resuspended in the suitable solvent.

Step 1 : A solution of TFA (25% in dry DCM) was added to the peptide-resin and the resulting mixture was stirred at room temperature for 1 min. The treatment is repeated for 25min. The resin was filtered, washed and resuspended in THF.

Step 2 : To a suspension of Fmoc-(Phe_ψ[CON(NH₂)]Ala) -Leu-Wang PS resin in THF (1 mL/100 mg of resin) was added BrCOCH₂Br (3 eq.) and Et₃N (3 eq.). The reaction was performed twice and the resin was then filtered and washed. A Kaiser test was performed and had to be negative. The resin was filtered, washed and resuspended in acetone/DMF (1/1).

Step 3 : Thymine (3 eq.) and K₂CO₃ (3 eq.) suspended in 4ml of anhydrous acetone/DMF were added to the resin and the resulting mixture was stirred for 4h. The reaction was performed twice and the resin was filtered and washed.

Références bibliographiques

Introduction générale.

1. Fauchère, J. L.; Thurieau, C. *Adv. Drug Res.* **1992**, 23, 128-159.
2. a) Fauchère, J. L. *Adv. Drug Res.* **1986**, 15, 29-69. b) Dutta, A. S. *Adv. Drug Res.* **1991**, 21, 145-286. c) Hruby, V. J.; Al-Obeidi, F.; Kazamierski, W. *Biochem. J.* **1990**, 268, 249-262.
3. S. H. Gellman *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 173-180.
4. a) Dupond, V.; Lecoq, A.; Mangeot, J.-P.; Aubry, A.; Boussard, G.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8898-8906. b) Lecoq, A.; Dupond, V.; Marraud, M.; Aubry, A. *Peptides* **1990**, 383-384. c) Lecoq, A.; Marraud, M.; Aubry, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 2765-2768. d) Garrouste, P.; Pawlowski, M.; Tonnaire, T.; Sicsic, S.; Dumy, P.; de Rosny, E.; Reboud-Ravaux, M.; Fulcrand, P.; Martinez, J. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 423-436. e) Immer, H.; Nelson, V.; Robinson, W.; Götz, M. *Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1789-1796. f) Brosse, N.; Grandeur, A.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 2009-2011.

Chapitre I : Synthèse de *N*-aminodipeptides diversement substitués.

1. Traube, W.; Longinescu, G. G. *Chem. Ber.* **1896**, 29, 670-675.
2. Darapsky, A. *J. Prakt. Chem.* **1936**, 296, 268-306.
3. Sletzinger, M.; Firestone, R. A.; Reinhold, D. F.; Rooney, C. S.; Nicholson, W. H. *J. Med. Chem.* **1968**, 11, 261-263.
4. Carmi, A.; Pollak, G.; Yellin, H. *J. Org. Chem.* **1960**, 25, 44-46.
5. Hoffman, R. V.; Kim, H.-O. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 2953-2956.
6. Burk, M. J.; Martinez, J. P.; Feaster, J. E.; Cosford, N. *Tetrahedron* **1994**, 50, 4399-4428.
7. a) Gennari, C.; Colombo, L.; Bertolini, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6394-6395. b) Trimble, L. A.; Vederas, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6397-6399. c) Oppolzer, W.; Moretti, R. *Tetrahedron* **1988**, 44, 5541-5552. d) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Dorow, R. L.; Dellaria, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6395-6397. e) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Dorow, R. L.; Dellaria Jr., J. F. *Tetrahedron* **1988**, 44, 5525-5540.

8. Shestakov, P. *J. Soc. Phys. Chim. Russia* **1903**, 35, 850-858.
9. Gustafsson, H.; Ragnarsson, U. *Acta Pharma. Suecica* **1974**, 11, 493-494.
10. Karady, S.; Ly, M. G.; Pines, S. H.; Sletzinger, M. *J. Org. Chem.* **1971**, 36, 1949-1951.
11. Viret, J.; Gabard, J.; Collet, A. *Tetrahedron* **1987**, 43, 891-894.
12. Klosterman, H. J.; Lamoureux, G. L.; Parsons, J. L. *Biochemistry* **1976**, 6, 170-177.
13. Achiwa, K.; Yamada, S.-I. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 2701-2704.
14. a) Schmitz, E.; Andreae, S.; Schramm, S.; Albert, F. M.; Lohamm, D. *German (East) Patent DD 230865, (1985); Chem. Abstr.* **1985**, 105, 227301j. b) Schmitz, E.; Andreae, S.; Schramm, S.; Albert, F. M.; Lohamm, D. *German (East) Patent DD 240818, (1986); Chem. Abstr. Ger.* **1987**, 198926a. c) Andreae, S.; Schmitz, E. *Synthesis* **1991**, 327-341.
15. Collet et coll. Brevet WO 97/09303.
16. Di Grandi, M. J.; Tilley, J. W. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4327-4330.
17. Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 205-207.
18. Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Bodiguel, J.; Jamart-Grégoire, B. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2869-2873.
19. Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Jamart-Grégoire, B. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4757-4764.
20. a) Blaskovich, M. A.; Lajoie, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5021-5030. b) Brüchner, H.; Westhauser, T.; Godel, H. J. *Chromatogr. A* **1995**, 711, 201-215.
21. a) Niedrich, H. *Chem. Ber.* **1965**, 98, 3451-3461. b) Grupe, R.; Baeck, B.; Niedrich, H. *J. Prakt. Chem.* **1972**, 314, 751-758.
22. Nomenclature decrite par Spatola. Spatola, A. F. *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins*; Marcel Dekker: New York, Tokyo, **1984**, 17-37.
23. a) Dupond, V.; Lecoq, A.; Mangeot, J.-P.; Aubry, A.; Boussard, G.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8898-8906. b) Lecoq, A.; Dupond, V.; Marraud, M.; Aubry, A. *Peptides* **1990**, 383-384. c)

- Lecoq, A.; Marraud, M.; Aubry, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 2765-2768. d) Garrouste, P.; Pawlowski, M.; Tonnaire, T.; Sicsic, S.; Dumy, P.; de Rosny, E.; Reboud-Ravaux, M.; Fulcrand, P.; Martinez, J. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 423-436.
- 24.** Immer, H.; Nelson, V.; Robinson, W.; Götz, M. *Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1789-1796.
- 25.** Brosse, N.; Grandeury, A.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 2009-2011.
- 26.** Brosse, N.; Barth, D.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 45, 9521-9524.
- 27.** Brosse, N.; Pinto, M. F.; Jamart-Grégoire, B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 3685-3688.
- 28.** Bouillon, I.; Brosse, N.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 3569-3572.
- 29.** Dzubeck, V.; Schneider, J. P. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 9953-9956.
- 30.** Keith, J. M.; Gomez, L. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 7113-7116.
- 31.** Royals, E. E.; Horne, Jr, S. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 5856-5857.
- 32.** Taub, D.; Hoffsommer, R. D.; Slates, H. L.; Kuo, C. H.; Wendler, N. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4012-4026.
- 33.** Pines, S. H.; Chemerda, J. M.; Kozlowski, M. A. *J. Org. Chem.* **1966**, 31, 3446-3447.
- 34.** Zawadzki, S.; Zwierzak, A. *Polish J. Chem.* **2003**, 77, 315-319.
- 35.** Arnold, L. D.; Assil, H. I.; Vederas, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 3973-3976.
- 36.** Kauer, J. C. *Organic Syntheses, Collect. IV*; Rabjohn, N., Ed.; Wiley: New York, **1963**, 411-415.
- 37.** a) Amos, R. A.; Emblidge, R. W.; Havens, N. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3598-3600. b) Humphries, P. S.; Do, Q.-Q. T.; Wilhite, D. M. *Beilstein Journal Of Organic Chemistry* **2006**, 2:21. c) Harned, A. M.; Song He, H.; Toy, P. H.; Flynn, D. L.; Hanson, P. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 52-53.
- 38.** a) Wentworth, Jr. P.; Vandersteen, A. M.; Janda, K. D. *Chem. Commun.* **1997**, 759-760. b) Dickerson, T. J.; Reed, N. N.; Janda, K. D. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 3325-3343.

39. Rano, T. A.; Chapman, K. T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 3789-3792.
40. a) Vergnon, A. L.; Pottorf, R. S.; Player, M. R. *J. Comb. Chem.* **2004**, 6, 91-98. b) Maillard, L. T.; Benohoud, M.; Durand, P.; Badet, B. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 6303-6312.
41. Arya, P.; Wei, C.-Q.; Barnes, M. L.; Daroszewska, M. *J. Comb. Chem.* **2004**, 6, 65-72.
42. Malkinson, J. P.; Falconer, R. A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 9549-9552.
43. Chaturvedi, S.; Otteson, K.; Bergot, J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8205-8209.
44. Reichwein, J. F.; Liskamp, R. M. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1243-1246.
45. a) Boeijen, A.; Kruijtzter, J. A. W.; Liskamp, R. M. J. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 2375-2380. b) Lin, X.; Dorr, H.; Nuss, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 3309-3313.
46. Congreve, M. S.; Kay, C.; Scicinski, J. J.; Ley, S. V.; Williams, G.; Murray, P. J.; McKeown, S. C.; Watson, S. P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4153-4156.
47. a) Aronov, A. M.; Gelb, M. H. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 4947-4950. b) Bauer, J.; Rademann, J. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 5019-5023. c) Glatz, H.; Bannwarth, W. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 149-152.
48. Kuisle, O.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8063-8075.
49. Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
50. a) Maesmaker, A. D.; Altmann, K. H.; Waldner, A.; Wendeborn, S. *Curr. Op. Struct. Biol.* **1995**, 5, 343-355. b) Gray, G. D.; Basu, S.; Wickstorm, E. *Biochemical Pharmacology* **1997**, 53, 1465-1476.
51. a) Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Berg, R. H.; Buchardt, O. *Science* **1991**, 254, 1497-1500. b) Egholm, M.; Buchardt, O.; Nielsen, P. E.; Berg, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1895-1897.
52. Kunden, H.; Nielsen, P. E. *Nucleic Acids Research* **1996**, 24, 494-500.
53. Egholm, M.; Buchardt, O.; Christensen, L.; Behrens, C.; Freier, S. M.; Driver, D. A.; Berg, R. H.; Kim, S. K.; Norden, B.; Nielsen, P. E. *Nature* **1993**, 365, 566-568.

54. Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Buchardt, O. *Bioconjugate Chem.* **1994**, 5, 3-7.
55. Demidov, V. V.; Potaman, V. N.; Frank-Kamenetskii, M. D.; Egholm, M.; Buchardt, O.; Sonnichsen, S. H.; Nielsen, P. E. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 48, 1310-1313.
56. a) Wittung, P.; Kajanus, J.; Edwards, K.; Nielsen, P. E.; Norden, B.; Malmström, B. G. *FEBS Letters* **1995**, 365, 27-29. b) Bonham, M. A.; Brown, S.; Boyd, A. L.; Brown, P. H.; Bruckenstein, D. A.; Hanvey, J. C.; Thomson, S. A.; Pipe, A.; Hassman, F.; Bisi, J. E.; Froehler, B. C.; Matteuci, M. D.; Wagner, R. W.; Noble, S. A.; Babiss, L. E. *Nucleic Acids Research* **1995**, 23, 1197-1203.
57. a) Dueholm, K. L.; Egholm, M.; Behrens, C.; Christensen, L.; Hansen, H. F.; Vulpius, T.; Petersen, K. H.; Berg, R. H.; Nielsen, P. E.; Buchardt, O. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 5767-5773. b) Rabinowitz, J. L.; Gurin, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 5758-5759. c) Thomson, S. A.; Josey, J. A.; Cadilla, R.; Gaul, M. D.; Hassman, C. F.; Luzzio, M. J.; Pipe, A. J.; Reed, K. L.; Ricca, D. J.; Wiethe R. W.; Noble, S. A. *Tetrahedron* **1995**, 51, 6179-6194. d) Will, D. W.; Breipohl, G.; Langner, D.; Knolle, J.; Uhlmann, E. *Tetrahedron* **1995**, 51, 12069-12082. e) Richter, L. S.; Zuckermann, R. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 1159-1162. f) Wu, Y.; Xu, J.-C. *Tetrahedron* **2001**, 57, 8107-8113.
58. a) Uhlmann, E.; Peyman, A.; Breipohl, G.; Will, D. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2796-2823. b) Meltzer, P. C.; Liang, A. Y.; Matsudaira, P. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 4305-4308.

Chapitre II : Oligomérisation de *N*-aminodipeptides en phase liquide et sur phase solide.

1. a) Cheguillaume, A.; Salaün, A.; Sinbandhit, S.; Potel, M.; Gall, P.; Baudy-Floc'h, M.; Le Grel, P. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4923-4929. b) Angelici, G.; Luppi, G.; Kaptein, B.; Broxterman, Q. B.; Hofmann, H.-J.; Tomasini, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 2713-2721. c) Luppi, G.; Galeazzi, R.; Garavelli, M.; Formaggio, F.; Tomasini, C. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 2181-2187.
2. a) Guichard, G.; Semetey, V.; Rodriguez, M.; Briand, J.-P. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 1553-1557. b) De Jong, R.; Rijkers, D. T. S.; Liskamp, R. M. J. *Helv. Chem. Acta* **2002**, 85, 4230-4243. c) Lee, M.-R.; Lee, J.; Baek, B.-H.; Shin, I. *Synlett* **2003**, 3, 325-328.
3. Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
4. a) Yajima, H.; Fujii, N.; Ogawa, H.; Kawatani, H. *J. Chem. Soc. Chem. Com.* **1974**, 107-108. b) Yajima, H.; Fujii, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 5867-5871. c) Tam, J. P.; Heath, W. F.; Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 5242-5251.

5. a) Noyori, R.; Murata, S.; Suzuki, M. *Tetrahedron* **1981**, 37, 3899-3910. b) Ono, S.; Kiyama, S.; Futaki, S.; Nakamura, T.; Taike, T.; Akita, T.; Sumi, S.; Inoue, K.; Fujimura, M.; Tobe, T.; Yajima, H. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1989**, 33, 29-38.
6. Pennington, M. W. *Methods in Molecular Biology* **1994**, 35, 41-62.
7. a) Hancock, W. S.; Battersby, J. E. *Analytical Biochemistry* **1976**, 71, 260-264. b) Christensen, T. *Peptides Structure and Biological Function*; Pierce Chemical Co: Rockford, 1979. c) Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. *Analytical Biochemistry* **1970**, 34, 595-598.
8. Bouillon, I., thèse d'état (Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy) **2006**.
9. a) Ben-Ishai, D.; Berger, A. *J. Org. Chem.* **1952**, 17, 1564-1570. b) Mc Kay, F. C.; Albertson, N. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4686-4690. c) Bergmann, M.; Zervas, L. *Ber. dtsh. Chem. Ges.* **1932**, 65, 1192-1201. d) Rosenmund, K. W.; Zetzsche, F.; Heise, F. *Ber. dtsh. Chem. Ges.* **1921**, 54, 2038-2042.
10. Naraoka, H.; Harada, K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1986**, 1557-1560.
11. Jones, J. *The Chemical Synthesis of Peptides* Clarendon Press Oxford **1994**.
12. DeTar, D. L.; Silverstein, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 1020-1023.
13. Gude, M.; Ryf, J.; White, P. D. *Lett. Pept. Sci.* **2002**, 9, 203-206.
14. König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788-798.
15. Lobl, T. J.; Maggiora, L. L. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1979-1982.
16. Pichette, A.; Voyer, N.; Larouche, R.; Meillon, J.-C. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1279-1282.
17. Bodansky, M.; Bodansky, A. *The practice of peptide synthesis*; Heidelberg: Berlin, **1984**.
18. Pascal, R.; Sola, R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5031-5034.

Chapitre III : Etude structurale de [α -N-amino]mères.

1. S. H. Gellman *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 173-180.

2. a) Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3893-4011. b) Huc, I. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 17-29.
3. a) Boussard, G.; Marraud, M.; Aubry, A. *Biopolymers* **1979**, 18, 1297-1331. b) Boussard, G.; Cung, M. T.; Marraud, M.; Néel, J. *J. Chim. Phys.* **1974**, 71, 1081-1091.
4. Milner-White, E. J. *J. Mol. Biol.* **1990**, 216, 385-397.
5. Némethy, G.; Scheraga, H. A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, 95, 320-327.
6. Lewis, P.N.; Momany, F.A.; Scheraga, H.A. *Biochim. Biophys. Acta-Protein structure* **1973**, 303, 211-229.
7. a) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 13071-13072. b) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Klein, D. F.; Powell, D. R.; Huang, X.; Barchi, J. J.; Gellman, S. H. *Nature* **1997**, 387, 381-384. c) Krauthäuser, S.; Christianson, L. A.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11719-11720. d) Chung, Y. J.; Christianson, L. A.; Stanger, H. E.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10555-10556. e) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6206-6212. f) Appella, D. H.; Barchi, J. J.; Durell, S.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 2309-2310.
8. a) Seebach, D.; Kimmerlin, T.; Sebesta, R.; Campo, M. A.; Beck, A. K. *Tetrahedron* **2004**, 60, 7455-7506. b) Lelais, G.; Seebach, D. *Biopolymers* **2004**, 76, 206-243.
9. a) Aubry, A.; Bayeul, D.; Mangeot, J.-P.; Vidal, J.; Stérim, S.; Collet, A.; Lecoq, A.; Marraud, M. *Biopolymers* **1991**, 31, 793-801. b) Viret, J.; Collet, A.; Pichon-Pesme, V.; Aubry, A. *New J. Chem.* **1988**, 12, 253-256.
10. Günther, R.; Hofmann, H.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 247-255.
11. Lelais, G.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta.* **2003**, 86, 4152-4168.
12. Salaün, A.; Potel, M.; Roisnel, T.; Gall, P.; Le Grel, P. *J. Org. Chem. Note* **2005**, 70, 6499-6502.
13. Yang, D.; Ng, F.-F.; Li, Z.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9794-9795.

14. a) Yang, D.; Qu, J.; Li, B.; Ng, F.-F.; Wang, X.-C.; Cheung, K. K.; Wang, D.-P.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 589-590. b) Wu, Y.-D.; Wang, D.-P.; Chan, K. W. K.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11189-11196.
15. a) Gennari, C.; Salom, B.; Potenza, D.; Williams, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 2067-2069. b) Moree, W. J.; Van der Marel, G. A.; Liskamp, R. J. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5157-5169. c) Gude, M.; Piarilli, U.; Potenza, D.; Salom, B.; Gennari, C. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8589-8592. d) Monnee, M. C. F.; Marijine, M. F.; Brouwer, A. J.; Liskamp, R. M. J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 7991-7995.
16. Bolm, C.; Moll, G.; Kahmann, J. D. *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 1118-1128.
17. a) Bindal, R. D.; Golab, J. T.; Katzenellenbogen, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7861-7868. b) Radkiewicz, J. L.; McAllister, M. A.; Goldstein, E.; Houk, K. N. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 1419-1428.
18. Brenner, M.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **2001**, 84, 1181-1189.
19. Violette, A.; Averlant-Petit, M.-C.; Semetey, V.; Hemmerlin, C.; Casimir, R.; Graff, R.; Marraud, M.; Briand, J.-P.; Rognan, D.; Guichard, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 2156-2164.
20. a) Schmitt, M. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 6848-6849. b) Schmitt, M. A.; Choi, S. H.; Guzei, L. A.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13130-13131. c) Hayen, A.; Schmitt, M. A.; Ngassa, F. N.; Thomasson, K. A.; Gellman, S. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 505-510. d) Schmitt, M. A.; Choi, S. H.; Guzei, L. A.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 4538-4539.
21. Lecoq, A.; Marraud, M.; Aubry, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 2765-2768.
22. a) Dupond, V.; Lecoq, A.; Mangeot, J.-P.; Aubry, A.; Boussard, G.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8898-8906. b) Aubry, A.; Del Duca, V.; Pedone, C.; Zerkout, S.; Marraud, M. *Acta Crystallogr.* **1999**, C55, 439-441.
23. Alemán, C. *J. Phys. Chem.* **2002**, 106, 1441-1449.
24. a) Fauchère, J. L.; Thurieau, C. *Adv. Drug Res.* **1992**, 23, 128-159. b) Fauchère, J. L. *Adv. Drug Res.* **1986**, 15, 29-69. c) Dutta, A. S. *Adv. Drug Res.* **1991**, 21, 145-286. d) Hruby, V. J.; Al-Obeidi, F.; Kazamierski, W. *Biochem. J.* **1990**, 268, 249-262.

25. Frackenpohl, J.; Arvidsson, P.I.; Schreiber, J.V.; Seebach, D. *Chembiochem* **2001**, *2*, 445-455.
26. Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; De Grado, W. F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219-3232.
27. Tew, G. N.; Liu, D.; Chen, B.; Doerksen, R. J.; Kaplan, J.; Carroll, P. J.; Klein, M. L.; De Grado W. F. *PNAS* **2002**, *99*, 5110-5114.
28. Liu, D.; De Grado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7553-7559.
29. Arvidsson, P. I.; Frackenpohl, J.; Ryder, N. S.; Liechty, B.; Petersen, F.; Zimmermann, H.; Camenisch, G. P.; Woessner, R.; Seebach, D. *Chembiochem* **2001**, *10*, 771-773.
30. Porter, E. A.; Wang, X.; Lee, H.-S.; Weisblum B.; Gellman S. H. *Nature*, **2000**, *404*, 565.
31. Liu, Y.; Wang, Z.; Rana, T. M. **1996**, *271*, 10391-10396.
32. Tamilarasu, N.; Huq, I.; Rana, T. M. *Bioorg. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 505-507.
33. Umezawa, N.; Gelman, M. A.; Haigis, M. C.; Raines, R. T.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 368-369.
34. De Haan, E. C.; Wauben, M. H. M.; Grosfeld-Stulemeyer, M. C.; Kruijtzter, J. A. W.; Liskamp, R. M. J.; Moret, E. E. *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, *10*, 1939-1945.
35. Gademann, K.; Kimmerlin, T.; Hoyer, D.; Seebach, D. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2460-2468.
36. Wu, C. W.; Seuryneck, S. L.; Lee, K. Y. C; Barron, A. E. *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1057-1063.
37. Weiner, P. K.; Kollmann, P. A. *J. Comput. Chem.* **1981**, *2*, 287-303.
38. INSIGHT II v.2000, Molecular Simulations Inc., Accelrys, San Diego, CA, USA.
39. a) Lecoq, A., thèse d'état (Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy) **1991**. b) Socrates, G. *Infrared Characteristic Group Frequencies* John Wiley & Sons **1980**.

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

ooo

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Madame Agnès DELMAS, Directeur de Recherche, CBM, Orléans

Monsieur Philippe LEGREL, Maître de Conférences, ICMV, CNRS, Université de Rennes 1, Rennes

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Madame FELTEN Anne-Sophie

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,
une thèse intitulée :

"Synthèse de *N*-aminopeptides. Application à la synthèse de nouveaux foldamères"

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : « **Génie des procédés et des produits** »

NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 54501
VANCEUVRE CEDEX

Fait à Vandoeuvre, le 26 novembre 2007

Le Président de l'I.N.P.L.,

F. LAURENT

