



HAL
open science

Calix[4]arènes fonctionnels pour ancrage sur polymère naturel et antennisation par le tripeptide RGD préparé par synthèse convergente

Philippe Engrand

► **To cite this version:**

Philippe Engrand. Calix[4]arènes fonctionnels pour ancrage sur polymère naturel et antennisation par le tripeptide RGD préparé par synthèse convergente. Autre. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2008. Français. NNT : 2008NAN10143 . tel-01777263

HAL Id: tel-01777263

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01777263>

Submitted on 24 Apr 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>

Thèse

présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I

en Chimie et Physico-Chimie Moléculaires

par **Philippe ENGRAND**

**Calix[4]arènes fonctionnels pour ancrage sur polymère naturel
et antennisation par le tripeptide RGD
préparé par synthèse convergente**

Soutenance publique le 13 novembre 2008

Membres du jury

Présidente :

Mme Marie-Laure VIRIOT, Directrice de Recherches CNRS, ENSIC-INPL, Nancy-Université.

Rapporteurs :

M. Jean-Claude CHAMBRON, Directeur de Recherches CNRS, Université de Bourgogne, Dijon.

M. Stéphane PELLET-ROSTAIN, Chargé de Recherches CNRS, Université Claude-Bernard, Lyon I.

Examineur :

M. Jean-Bernard REGNOUF de VAINS, Professeur, UHP, Nancy I (Directeur de Thèse).

Membre invité :

M. Michel BOISBRUN, Maître de Conférences, UHP, Nancy I.

Je remercie les membres du jury : **Madame Marie-Laure Viriot, Monsieur Jean-Claude Chambron, Monsieur Stéphane Pellet-Rostaing** et **Monsieur Michel Boisbrun** qui m'ont fait l'honneur d'avoir accepté de composer le jury de cette thèse et l'attention qu'ils ont portée à ce travail. Qu'ils soient assurés de l'expression de ma reconnaissance pour leur participation.

Je remercie vivement **Monsieur le Professeur Jean-Bernard Regnouf de Vains**, Directeur de Thèse, pour la confiance qu'il m'a accordée dans la réalisation de ce projet. A ses côtés, j'ai pu bénéficier de connaissances et de compétences de grandes valeurs. Qu'il soit assuré de l'expression de ma profonde gratitude.

Je souhaite remercier l'organisme de formation ALFA–Nancy et particulièrement **Mademoiselle Valérie Villemagne**, qui m'a confié des premières responsabilités d'enseignement.

Je tiens également à remercier **Monsieur le Professeur Alain Marsura**, qui m'a permis d'intégrer l'équipe du GEVSM, à l'occasion du stage de Maîtrise.

Merci à **Céline, Adel, Eric, Hugues, Nicolas, Stéphane** et **Yannick** pour leur sympathie et leur bonne humeur qui m'ont été nécessaires.

Enfin, je remercie particulièrement **Madame Florence Dumarçay** et **Monsieur Maxime Mourer** pour leur gentillesse et leur disponibilité.

Index

<u>Chapitre 1 : Introduction générale</u>	1
1. Les calix[4]arènes	2
2. Monofonctionnalisation sélective sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène	3
3. Greffage de calix[4]arènes sur polymère naturel	4
4. Synthèse convergente du tripeptides RGD	6
5. Incorporation du tripeptide RGD sur un calix[4]arène	7
Références bibliographiques	9
<u>Chapitre 2 : Les calix[4]arènes : généralités, propriétés organisatrices et complexantes</u>	11
1. Les calixarènes : structure, histoire	12
1.1 Les calixarènes : des molécules en forme de calice	12
1.2 Nomenclature et représentations adoptées	15
1.3 Origines des calix[4]arènes	16
1.4 Conformations et moyens d'analyse des calix[4]arènes	18
2. Les propriétés organisatrices des calix[4]arènes	21
2.1 Introduction	21
2.2 Introduction de groupements fonctionnels sur un calix[4]arène	21
2.3 Les propriétés complexantes du calix[4]arène	25
3. Les calix[4]arènes bipyridylés : propriétés et utilisations	30
3.1 Les premières structures calix[4]aréniques pyridylées complexantes	30
3.2 Propriétés de complexation des calix[4]arènes bipyridylés	30
3.3 Utilisations de telles structures dans notre projet	32
Références bibliographiques	33
<u>Chapitre 3 : Monofonctionnalisation sélective sur la partie haute et basse d'un calix[4]arène présentant un caractère complexant</u>	35
1. Introduction	36
2. Etat des lieux des connaissances	37
2.1 Introduction	37
2.2 Monofonctionnalisation sur la partie basse	37
2.3 Monofonctionnalisation sur la partie haute	39
3. Objectifs recherchés, choix des fonctions	41
3.1 Dans le projet greffage de calix[4]arène sur polymère naturel	41
3.2 Dans le projet greffage du tripeptide RGD	42
3.3 Autres applications possibles du calix[4]arène monofonctionnalisé	42
4. Monofonctionnalisation sélective sur la partie basse d'un calix[4]arène	43
4.1 Introduction	43
4.2 Premières approches : travail sur le calix[4]arène A tétrol	44
4.3 Fonctionnalisation sur le calix[4]arène B...	50
4.4 Obtention de composé fonctionnels à partir des composés 1, 3, 5, 7 et 8	56
4.5 Fonctionnalisation sur le calix[4]arène C	61
5. Monofonctionnalisation sélective sur la partie haute du calix[4]arène	70
5.1 Introduction	70
5.2 Déprotection des fonctions hydroxyles sur la partie basse du calix[4]arène D	73
5.3 Tentatives de réduction du carbonyle succinique du calix[4]arène 15	76
6. Bilan et conclusion	76
6.1 Bilan synthétique de monofonctionnalisation sur la partie basse	76
6.2 Bilan synthétique de monofonctionnalisation sur la partie haute	79
Références bibliographiques	80

Chapitre 4 : Application à l'immobilisation d'un calix[4]arène complexant sur polymère naturel de type cellulose ou dextran 81

1. Etat des lieux des connaissances	82
1.1 Les premières approches de polymérisation directe de calixarènes	82
1.2 Immobilisation de calixarènes sur polymère	83
2. Objectifs et utilisations	85
3. La chimie des colorants de fibres textiles réactifs	87
3.1 Introduction	87
3.2 Les premiers colorants réactifs	87
3.3 Structure d'un colorant réactif	89
3.4 Rapprochement de la chimie des colorants réactif avec le projet	90
4. Greffage sur cellulose	91
4.1 Structure du polymère	91
4.2 Les différentes formes de cellulose	91
4.3 Réactivité de la cellulose	92
4.4 Les solvants de la cellulose	94
4.5 Hypothèses de travail sur la cellulose	95
4.6 Nos essais de solubilisation de la cellulose	96
4.7 Nos premières tentatives de greffage d'hétérocycles sur cellulose en poudre	97
4.8 Greffages du calix[4]arène 11 sur cellulose en poudre	101
4.9 Greffages du calix[4]arène 14 sur cellulose en poudre	106
4.10 Greffage sur coton hydrophile et sur gaze	110
4.11 Bilan général des greffages sur cellulose réalisés	111
4.12 Conclusion	111
5. Greffage sur dextran	112
5.1 Structure des dextrans	112
5.2 Les différentes formes de dextrans	112
5.3 Réactivité du dextran	113
5.4 Solubilité du dextran	114
5.5 Nos premiers essais de greffage sur dextran 110000	114
5.6 Développement du protocole de greffage sur dextran 10000	117
5.7 Bilan des greffages réalisés sur dextrans	125
5.8 Conclusion	126
6. Conclusion sur le travail de greffage et perspectives	127
Références bibliographiques	128

Chapitre 5 : Synthèse convergente de tripeptides RGD fonctionnalisés sur les parties N-terminales et C-terminales 129

1. La bioactivité du tripeptide RGD	130
1.1 Généralités	130
1.2 Quelques exemples de thématiques de recherches biomédicales impliquant...	131
2. Objectifs recherchés	132
3. La synthèse du RGD : état des connaissances	133
3.1 La synthèse linéaire de la séquence Arg-Gly-Asp en solution par voie chimique	133
3.2 Les synthèses de la séquence Arg-Gly-Asp par voie mixte chimique/enzymatique	136
3.3 Synthèse par voie exclusivement enzymatique	136
4. Les principales méthodes de synthèse peptidique en solution	136
4.1 La création de la liaison peptidique	142
4.2 Les groupements protecteurs des fonctions acides et amines en synthèse peptidique	145
5. Les stratégies en synthèse peptidique en solution	145
5.1 Synthèse linéaire et synthèse convergente	145

5.2 Les facteurs déterminants dans le choix de la stratégie de synthèse peptidique...	146
5.3 Position du problème dans la synthèse du RGD	147
6. Choix des synthons intervenants dans la préparation des RGD cibles par synthèse ...	149
6.1 Description des RGD cibles	149
6.2 Choix des synthons	150
7. Préparation des synthons 35, 37, 39a,b et 41a,b	151
7.1 Préparation du composé 35	151
7.2 Préparation du composé 37	152
7.3 Préparation du composé 39	154
7.4 Préparation du composé 41	158
7.5 Conclusion	160
8. Couplages peptidiques convergents	161
8.1 Préparation des composés 42 et 43	161
8.2 Préparation des composés 44 et 45	168
8.3 Préparation du composé 46	172
9. Evaluation biologique des dérivés RGD synthétisés	176
9.1 Molécules évaluées	176
9.2 Matériels et méthode	177
9.3 Résultats	177
9.4 Interprétation des résultats	178
10. Conclusion et perspectives	179
Références bibliographiques	180
<i><u>Chapitre 6 :Antennisation par le tripeptide d'adhésion RGD d'un calix[4]arène, pourvu d'un bras d'ancrage</u></i>	183
1. Objectifs recherchés dans l'incorporation d'un tripeptide...	184
1.1 Rôle du RGD	184
1.2 Rôle du calix[4]arène	184
2. Les calixarènes et la biologie : état des connaissances	186
2.1 Les calixarènes en tant qu'outils de reconnaissance moléculaire	186
2.2 Les mimes enzymatiques	188
2.3 Les autres dérivés calixaréniques pouvant trouver des applications	190
2.4 Calix[4]arène bioactifs développées au GEVSM	192
3. Les calixarènes porteurs de peptides : état des connaissances	194
3.1 Complexation moléculaire par des peptidocalix[4]arènes	194
3.2 La catalyse	196
3.3 Les peptidocalix[4]arène a visée biomédicale	197
3.4 Calixarène et tripeptide RGD	198
4. Greffage du RGD sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène	200
4.1 Stratégie de synthèse	200
4.2 Préparation d'esters activés des calix[4]arènes D et 15	200
4.3 Couplages peptidiques avec un dipeptide GD	204
4.4 Couplages peptidiques avec le tripeptide RGD libre sur la partie N-terminale	214
4.5 Libération de la fonction acide sur le résidu aspartyle des composés 52b et 52c	223
4.6 Bilan des greffages de peptide sur le calix[4]arène D	228
4.7 Bilan des greffages sur le calix[4]arène 15	228
5. Conclusions et perspectives	229
Références bibliographiques	230
<i>Conclusion générale</i>	232
<i>Partie Expérimentale</i>	234

Chapitre 1

Introduction générale

Calix[4]arènes fonctionnels pour ancrage sur polymère naturel et antennisation par le tripeptide RGD préparé par synthèse convergente

1. Les calix[4]arènes

L'un des principaux thèmes de recherches, développés au GEVSM, porte sur la **valorisation** du calix[4]arène (figure 1.1), en tant que complexant de métaux de transition ou de vecteurs de principes actifs.

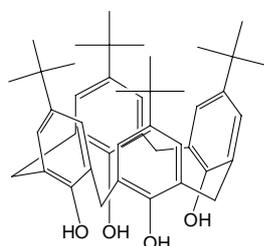


Figure 1.1 : *Calix[4]arène.*

Objet moléculaire à structure tridimensionnelle particulière, on considère le calix[4]arène comme une plate-forme moléculaire organisatrice, sur laquelle il est possible d'introduire des fonctionnalités spécifiques, qui, par leur emplacement, sur la partie haute ou basse et leur orientation spatiale, dans un environnement contraint et défini, confèrent à l'ensemble différentes propriétés de reconnaissance et d'attachement.

Les fonctionnalités spécifiques sont destinées à complexer (des substrats ioniques ou quelquefois organique neutres), s'ancrer sur des supports polymères, développer des propriétés physico-chimiques particulières, créer des membranes ou vectoriser (transport et ciblage) des principes actifs.

Les domaines d'application potentiels sont l'industrie (matériaux, tensioactifs, catalyseurs,...), le vivant (médecine, biotechnologies) et les nanotechnologies.

Nos objectifs :

Valoriser le calix[4]arène, en tant que :

- complexant de métaux de transition, immobilisé sur un matériau.
- vecteur de principes actifs, capable d'être reconnu par la cellule.

L'objectif est donc d'introduire des fonctionnalités, qui vont conférer au calix[4]arène les propriétés citées ci-dessus : **complexation**, **attachement** et **reconnaissance cellulaire**.

Notre travail se décompose en 4 phases principales :

Monofonctionnalisation sélective d'un calix[4]arène

Greffage sur polymère naturel

Préparation d'une antenne de reconnaissance de type RGD (séquence Arg-Gly-Asp)

Incorporation de l'antenne de reconnaissance sur un calix[4]arène.

2. Monofonctionnalisation sélective sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène

Dans cette première partie du projet, il s'agit d'introduire un bras d'ancrage ou espaceur (voir figure 1.2). Le travail de synthèse commun aux deux sous-parties portera sur la monofonctionnalisation sélective sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène. Ce travail, qui s'appuie sur quelques résultats déjà obtenus au cours d'un travail de thèse antérieur, nous permettra d'accéder à une série de calix[4]arènes monofonctionnalisés.

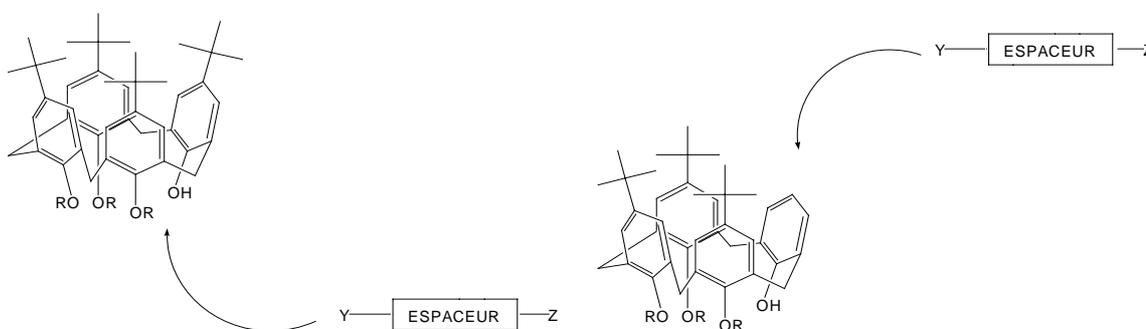


Figure 1.2 : Incorporation sur la partie basse (fig. de gauche) et sur la partie haute (fig. de droite) d'une fonctionnalité (Z) sur un calix[4]arène.

L'incorporation d'un seul groupe fonctionnel, selon notre choix sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène s'explique par la nécessité d'avoir à disposition les autres sites potentiellement fonctionnalisables. Il s'agit de doter le calix[4]arène, d'un bras espaceur portant une fonction réactive spécifique (Z) à son extrémité : amine, aldéhyde, alcène, acide. En même temps, la nature des groupements R sur la partie basse pourra être différente : libres (R=H), protecteurs (R=CH₃) ou encore complexants (R = bipyridyle).

Nos objectifs :

- Utiliser une chimie la plus simple possible, pour accéder rapidement aux structures souhaitées, en s'appuyant sur les résultats antérieurs¹ acquis au GEVSM.
- Contrôler la régiosélectivité de nos réactions.
- Contrôler la conformation des calix[4]arènes obtenus.
- Pouvoir adapter les méthodes de synthèse à des calix[4]arènes portant des groupements R variables sur la partie basse.
- Réaliser une chimiothèque de composés calixaréniques, pouvant répondre à un besoin spécifique dans l'élaboration de chaque projet (complexation, ancrage et antennisation).

3. Greffage de calix[4]arènes sur polymère naturel

La finalité de ce projet est d'obtenir des calix[4]arènes potentiellement complexants de substrats ioniques ou organiques, supportés par des polymères naturels abondants (cellulose, dextran), car issus de la biomasse, solubles ou non dans l'eau, et récupérables. L'application pressentie est la récupération sélective de cations métalliques ou de substances organiques issus de milieux aqueux pollués.

A partir des calix[4]arènes porteurs d'une fonction amine préparés, la méthode de travail s'inspirera de celle de l'incorporation d'un colorant réactif sur les fibres textiles. Le choix du polymère se portera prioritairement sur un polymère naturel, en particulier :

- **la cellulose** : très abondante, peu coûteuse, parfois textile, biocompatible et disponible sous des formes variées (poudre, papier, gaze,...),
- **le dextran** : utilisé en bio-industrie ; soluble dans l'eau, le DMSO.

Notons que ce thème fut déjà amorcé dans un travail de thèse précédent¹, à partir de quelques approches simples, en particulier, le greffage sur chitosane.

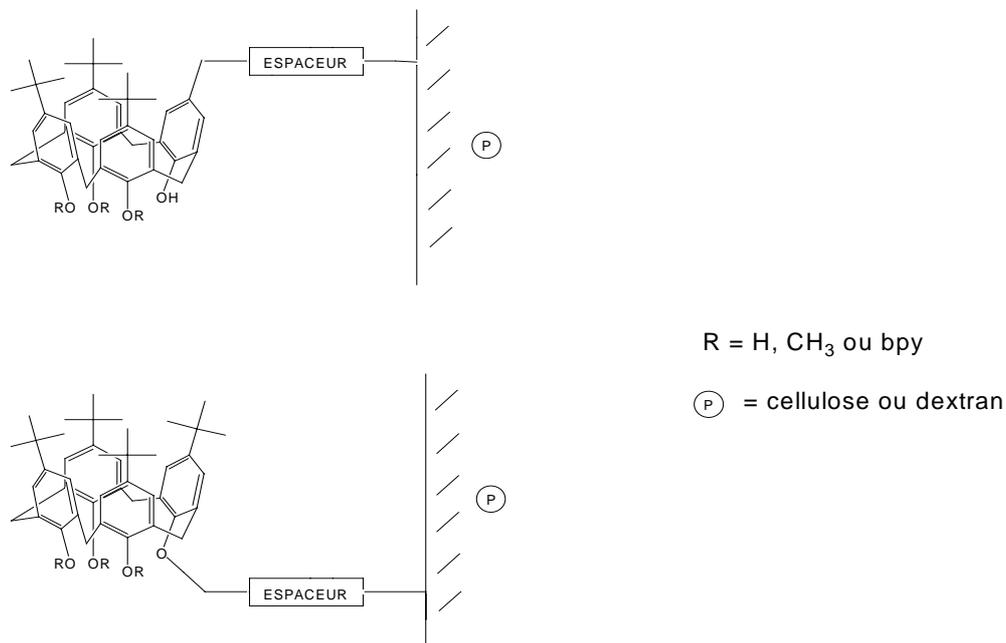


Figure 1.3 : Modes d'ancrage sur polymère naturel envisagés d'un calix[4]arène doté d'un bras espaceur.

Nos objectifs :

- Mettre au point un protocole de greffage, à partir de calix[4]arène aisément accessibles, ou encore d'entités bishétérocycliques (pourvues de propriétés de complexation ou de fluorescence).
- Reproduire ce protocole avec des calix[4]arènes plus complexes (trisbipyridyle, par exemple).
- Etudier la solubilité des polymères (dextran, cellulose) afin d'améliorer leur réactivité.
- Mettre en œuvre des méthodes d'analyse (RMN, UV, IR) afin d'évaluer le taux de greffage et les propriétés complexantes de cations métalliques (dosages UV-Visible).

4. Synthèse convergente du tripeptide RGD

Présent dans la plupart des protéines d'adhésion cellulaire, le motif tripeptidique **RGD** ou **Arg-Gly-Asp** (figure 1.4) présente des propriétés biologiques (adhésion cellulaire) connues depuis une vingtaine d'années. En effet, depuis 1984 et la publication de Pierschbacher et Ruoslahti² dans *Nature*, l'intérêt pour cette séquence tripeptidique, isolée ou non, n'a cessé de croître, aussi bien dans les domaines de la chimie, la biochimie, la pharmacologie et de la médecine.

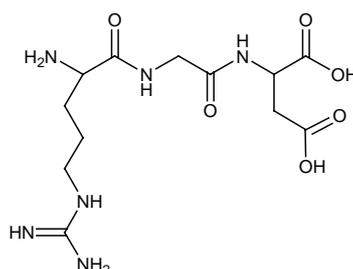


Figure 1.4 : Formule semi-développée de la séquence **Arg-Gly-Asp** ou **RGD** libre sur les parties N-et C-terminales.

Notre choix se justifie tout d'abord dans ce chapitre par le développement et l'amélioration de la synthèse de dérivés RGD en solution, à partir de sa préparation linéaire connue et brevetée³ (figure 1.5), sur lesquels une évaluation biologique en ophtalmologie a été mise en œuvre⁴. Il s'agit, pour nous, de montrer l'avantage d'une synthèse convergente (figure 1.6) en solution par rapport à une synthèse linéaire, en terme de rendement et de temps d'élaboration. Nous souhaitons également accéder à une chimiothèque de tripeptides RGD fonctionnalisés ou non sur les parties N-terminale et C-terminale et les produire en grande quantité et dans des intervalles de temps raisonnables.

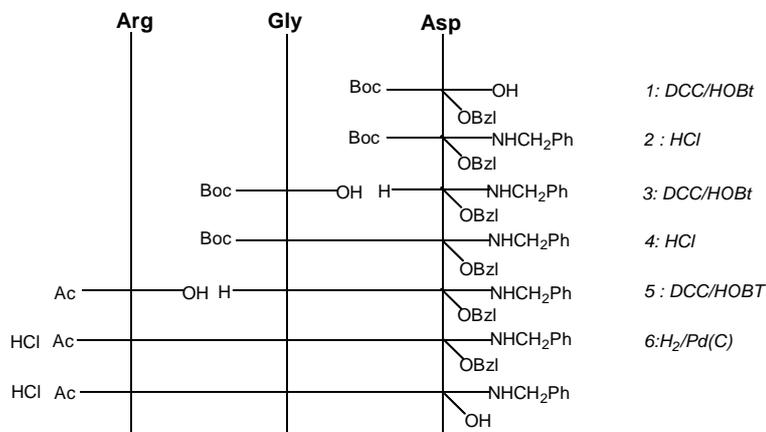


Figure 1.5 : Synthèse linéaire d'un tripeptide RGD pseudo-peptidisé sur les parties N et C-terminales, mise au point par Regnouf-de-Vains³.

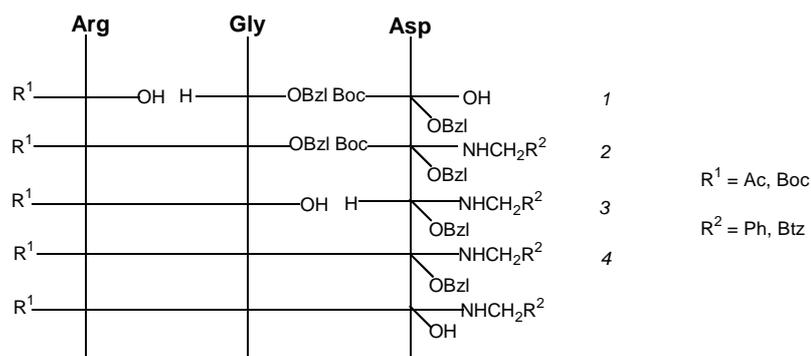


Figure 1.6 : Plan de synthèse convergente de tripeptides RGD comprenant des parties C et N-terminales variables.

Nos objectifs :

- Préparer différents types de synthons, ce qui, par combinaison convergente, permettra d'accéder à un éventail de structures, dans lesquelles des fonctionnalités (hétérocycliques ou protectrices, par exemple) ont été introduites.
- Rechercher des possibilités de synthèses « one-pot » pour limiter le nombre d'étapes et donc optimiser des méthodes de synthèse.
- Utiliser une chimie des peptides la plus simple possible en solution, et en particulier, simplifier le plus possible les étapes de purification.
- Les produire en grande quantité et dans des intervalles de temps raisonnables, afin de développer des applications, en particulier dans la possibilité de greffage sur un calix[4]arène (dernière phase de notre travail).
- Evaluer l'activité biologique, en terme d'effet inhibiteur des différents éléments de notre chimiothèque de peptides sur l'adhésion des cellules exprimant les intégrines $\alpha_v\beta_3$.

5. Incorporation du tripeptide RGD sur un calix[4]arène

Notre objectif est de réaliser le greffage d'un tripeptide RGD sur un calix[4]arène, pourvu d'une fonction acide apte à réagir avec ce peptide. Nous avons souhaité réaliser au cours de ce travail la synthèse convergente d'une série de tripeptides RGD fonctionnalisés sur leurs parties N et C-terminales. Parmi ces RGD modifiés, un sera destiné spécifiquement à son incorporation sur un calix[4]arène.

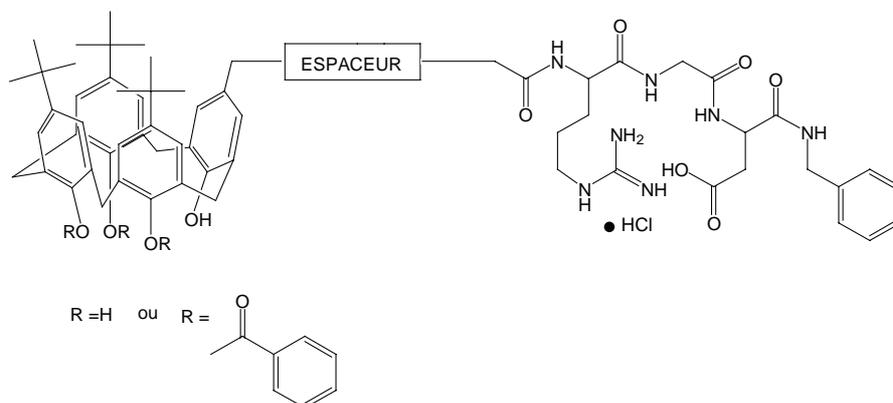


Figure 1.7 : Structures cibles modèles : tripeptide **RGD** greffé sur la partie haute d'un calix[4]arène.

Ce tripeptide RGD doit jouer le rôle d'antenne de reconnaissance cellulaire placé sur une plate-forme organisatrice spatiale matérialisée par le calix[4]arène. Nous savons que la bioactivité est établie pour la partie N-terminale du RGD pseudo-peptidisée, ce qui nous autorise à introduire le calix[4]arène par cette voie.

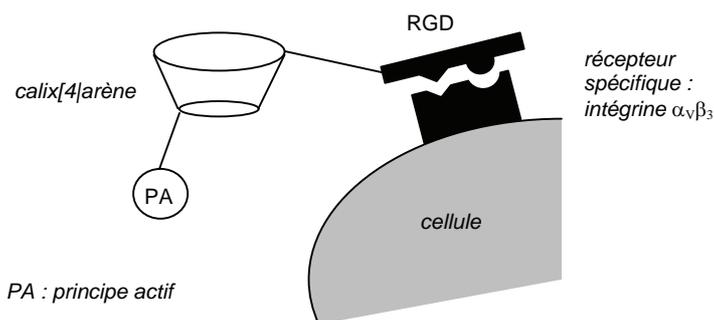


Figure 1.8 : Reconnaissance et ligandage entre le motif RGD et un récepteur spécifique de la cellule.

Nos objectifs :

- Obtenir un modèle de vecteur supramoléculaire de principe actif calix[4]arénique.
- Travailler à partir d'un calix[4]arène acide et valider les possibilités de couplage peptidique, en travaillant à partir d'esters activés isolés, et stockables dans le temps.
- Valider les méthodes de couplage vis-à-vis d'un dipeptide GD, disponible en quantités plus importantes au laboratoire.
- Utiliser une chimie de peptides en solution la plus simple possible.
- Contrôler la conformation des structures obtenues.

Une évaluation biologique des composés obtenus est également envisageable.

Références bibliographiques du chapitre 1

1. S. Berthalon, *Thèse d'Université*, Université Claude Bernard, Lyon, **1998**.
2. M.D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Nature*, **1984**, 309, 30.
3. J.B. Regnouf-de-Vains, O. Chambon, C. Bonne, PCT Int. Appl. WO 9401456, **1994**.
4. F. Palmade, O. Sechoy-Chambon, J.B. Regnouf de Vains, C. Coquelet, C. Bonne, *J. Ocul. Pharmacol.*, **1994**, 10, 623.

Chapitre 2

*Les calix[4]arènes : généralités,
propriétés organisatrices et complexantes*

1. Les calixarènes : structure, histoire

1.1 Les calixarènes : des molécules en forme de calice

Les $[1_n]$ métacyclophanes, plus connus sous le nom de calixarène¹ depuis 1978, sont des molécules cyclo-oligomères du phénol, qui dans une de leurs conformations, présentent une forme similaire à un type de vase appelé *calix crater*.

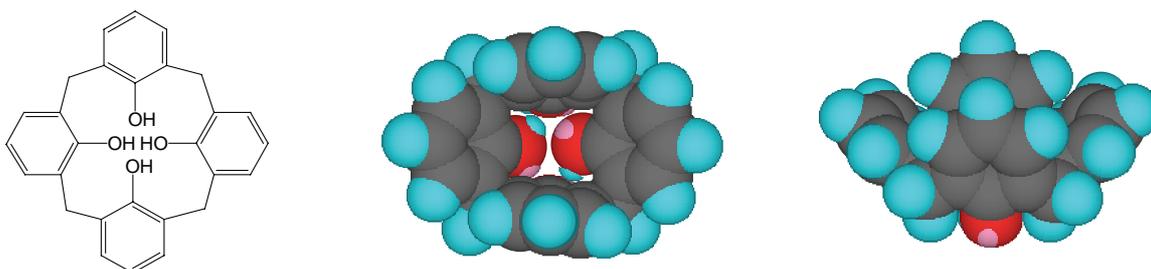


Figure 2.1 : Représentation plane et représentations tridimensionnelles en modèle CPK (Chem 3D) d'un calix[4]arène.

C'est cette structure tridimensionnelle particulière qui va ouvrir d'innombrables perspectives. En effet, les calixarènes sont des molécules assimilables à une plate-forme sur laquelle l'incorporation de fonctions diverses lui confère un rôle d'organisateur spatial. Cette notion est développée ci-après dans ce deuxième chapitre. De plus, leur haute stabilité chimique et thermique permet un large éventail de conditions de travail et d'utilisation.

Le terme calixarène désigne une large variété de structures relatives à ce type de composés. Aujourd'hui, il regroupe plusieurs catégories de cyclo-oligomères : les dérivés de type phénolique, résorcinolique (ou résorcarènes), les calixnaphthalènes, les thiacalixarènes, les mercaptocalixarènes, les sulfynylcalixarènes, les thiamercaptocalixarènes, les homooxalixarènes, les homoazacalixarènes et les structure plus complexes comme les doubles calixarènes, les cavitands et les carcérands² (figure 2.2).

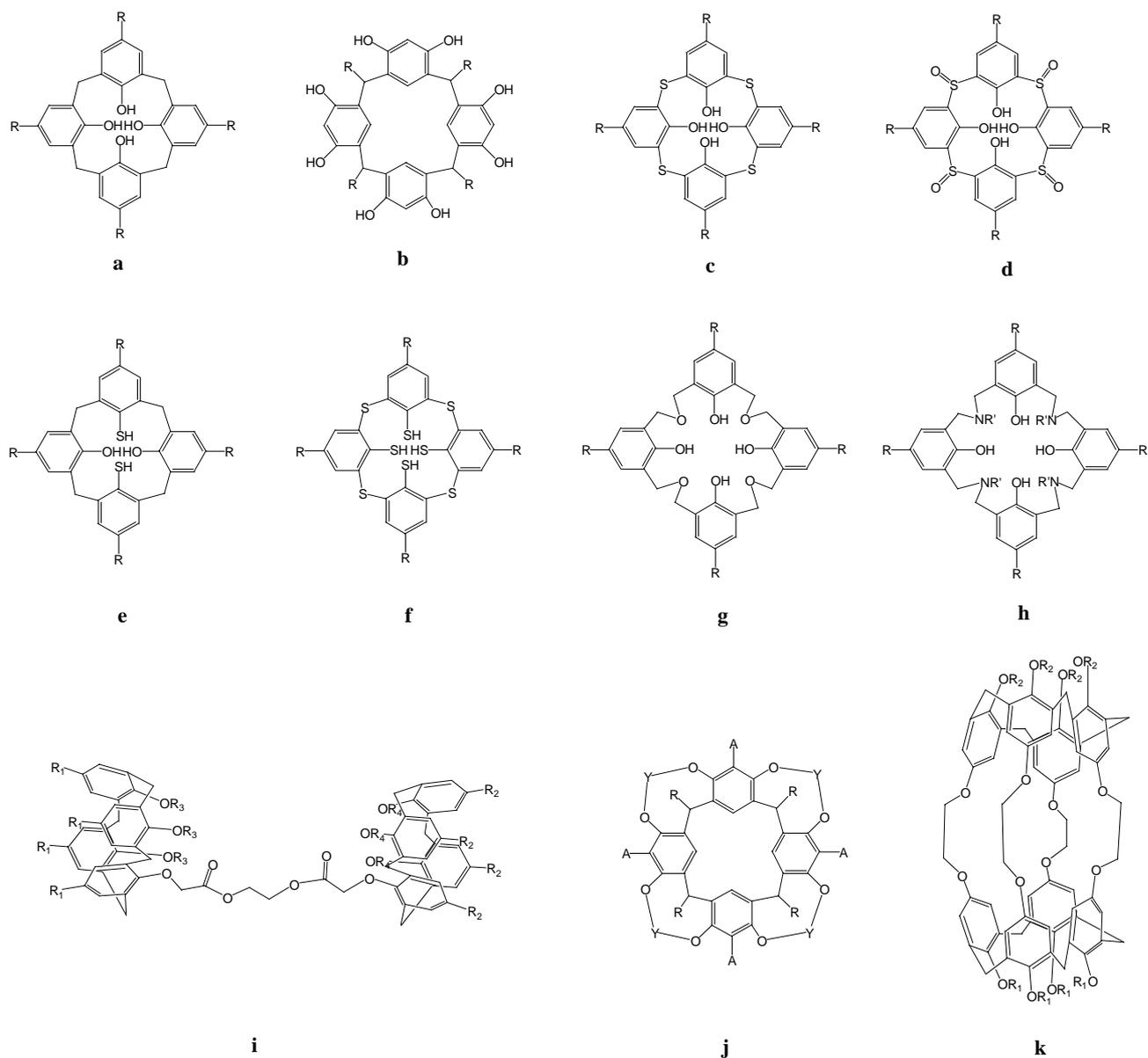


Figure 2.2 : Quelques exemples de composés calixaréniques² : (a) calix[4]arène, (b) résorc[4]arène, (c) thiacalix[4]arène, (d) sulfinylcalix[4]arène, (e) mercaptocalix[4]arène, (f) thiamercaptocalix[4]arène, (g) octahomotétraoxacalix[4]arène, (h) octahomotetraazacalix[4]arène, (i) double calix[4]arène, (j) cavitand, (k) pontage de 2 cavitands..

Ce travail de thèse étant dédié à la chimie des calixarènes de type phénolique, nous nous intéresserons exclusivement à ce type de calixarènes appelés officiellement *calix[n]arènes*. En voici quelques exemples sur la figure 2.3.

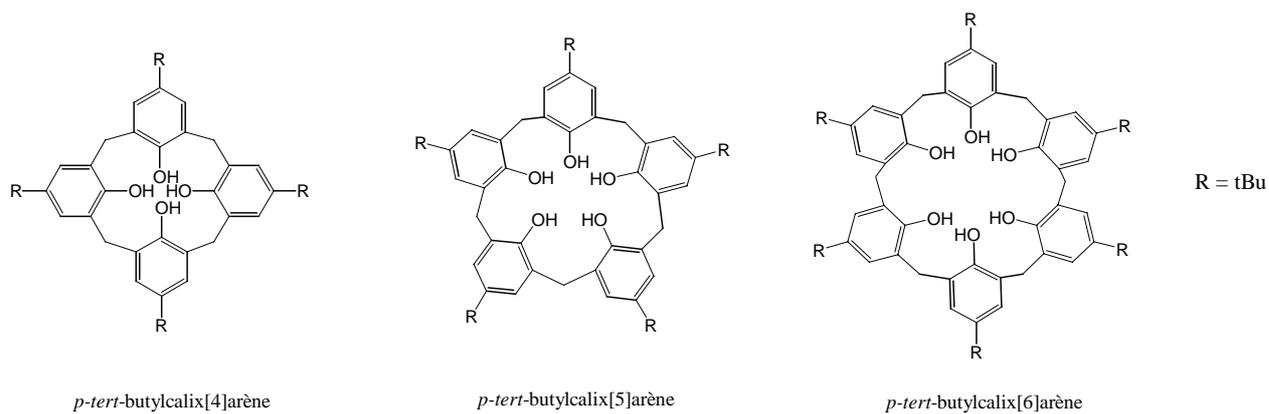


Figure 2.3 : Quelques exemples de p -tert-butylcalix[4]arènes.

Le composé nommé p -tert-butylcalix[4]arène constitue la « matière première » de notre travail, qui consiste en quelque sorte à façonner cet objet moléculaire à des fins bien définies.

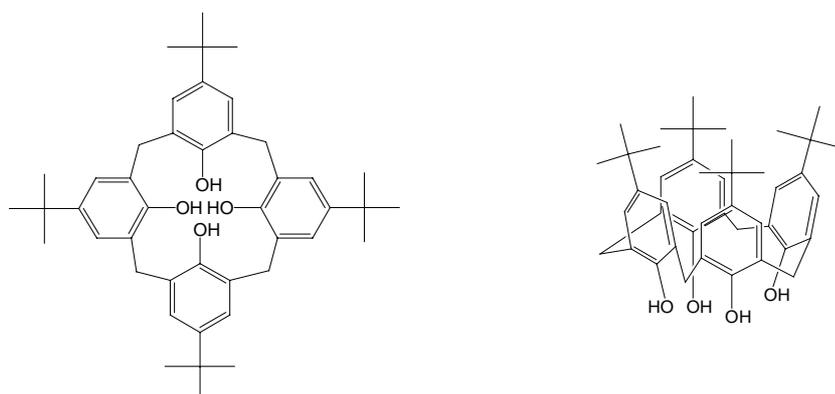


Figure 2.4 : Représentations plane et spatiale en conformation cône du p -tert-butylcalix[4]arène.

Ce choix du p -tert-butylcalix[4]arène se justifie de plusieurs façons :

- Quantité disponible importante
- Savoir-faire synthétique et analytique du laboratoire sur les calix[4]arènes
- Fonctionnalisation aisément contrôlable pour $n = 4$
- Maîtrise et contrôle de la conformation (voir figure 2.14)
- Aisance de l'analyse conformationnelle par rapport aux calixarènes de taille supérieure.

1.2 Nomenclature et représentations adoptées

Les carbones des cycles phénoliques et des groupements méthylènes de jonction sont numérotés selon la figure 2.5. Les substituants en *para* ou *méta* sont ajoutés en préfixe.

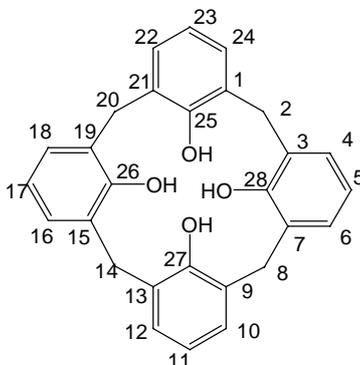


Figure 2.5 : Numérotation conventionnelle des carbones dans le *p*-*tert*-butylcalix[4]arène

Le nom officiel du *p*-*tert*-calix[4]arène, dans la nomenclature IUPAC, est : 5,11,17, 23-tétra-*tert*-butylpentacyclo-[19.3.1.1^{3,7}.1^{19,13}.1^{15,19}]-octacos-1(25),3,5,7(28), 9,11,13-(27), 15, 17,19(26)-21,23-dodécane-25,26,27,28-tétrol.

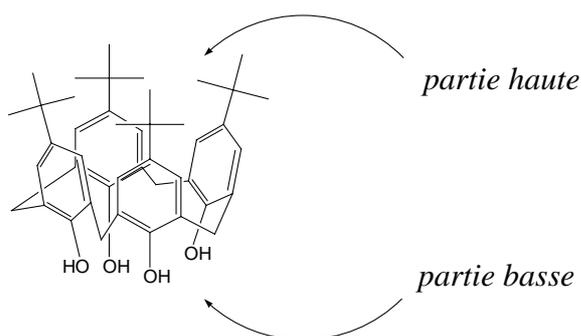


Figure 2.6 : Désignation conventionnelle des parties haute et basse d'un calix[4]arène.

1.3 Origines des calix[4]arènes.

La découverte des calixarènes est liée à celle de la chimie des phénols et du formaldéhyde, initiée dès 1872 par Von Baeyer. Ce dernier, en faisant réagir en particulier le benzène-1,2,3-triol (pyrogallol) et le benzaldéhyde³ obtint un produit qu' il assimila à une sorte de ciment, ce que nous désignerions aujourd'hui par résine, dont la structure supposée, à l'époque, est représentée sur la figure 2.9.

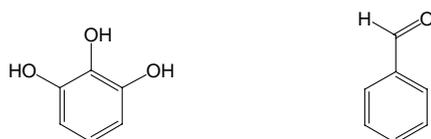


Figure 2.7 : Benzène-1,2,3-triol et benzaldéhyde.

Puis, dans le même esprit, Lederer⁴ et Manasse⁵ en 1894 étudièrent séparément la réaction entre du phénol et du formaldéhyde hydraté, et obtinrent un mélange de deux produits dont la structure permet d'affirmer que la réaction s'effectuait en position *ortho* et *para* du phénol.

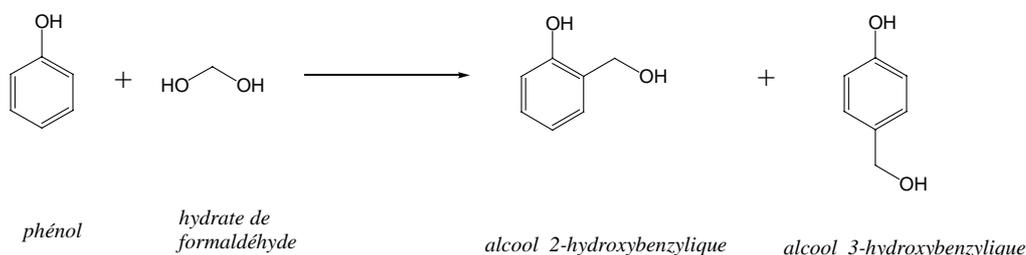


Figure 2.8 : Réaction entre le phénol et le formaldéhyde hydraté.

Mais le véritable point de départ de l'obtention des calixarènes prend place dans une réaction mise au point en 1908 par Baekeland. Connu pour avoir créé le papier photographique « Velox » développable en lumière artificielle, Baekeland constate que faire réagir du phénol sur du formaldéhyde permet d'obtenir un matériau dur : la Bakélite⁶. C'est en quelque sorte l'une des premières matières plastiques commerciales, après le celluloid, le PVC, la galalithe et la viscosse. Mais compte tenu des techniques d'analyse disponibles au début du 20^{ème} siècle, le flou va persister longtemps quant à la structure exacte des constituants de ce matériau.

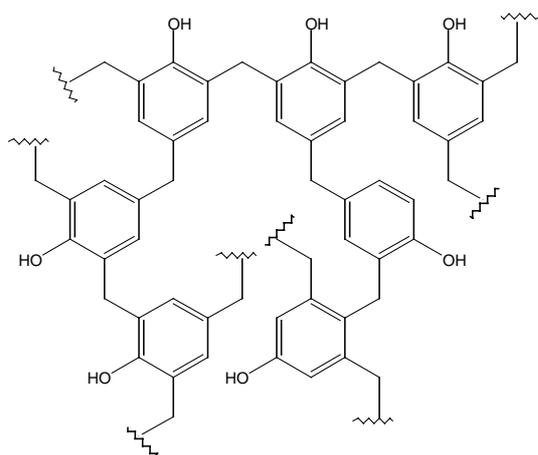


Figure 2.9 : Structure proposée pour la Bakélite⁶

C'est pourquoi, beaucoup plus tard, en 1942, Zinke et Ziegler décidèrent pour étudier la réaction de Baekeland, de simplifier le problème. En effet, depuis Lederer, on savait que la réaction était orientée en *para* et en *ortho*, aboutissant à un phénomène de réticulation; ils choisirent d'utiliser des phénols *para*-substitués afin d'éviter cette dernière. Ils purent ainsi émettre une hypothèse solide quant à la structure du produit obtenu⁷.

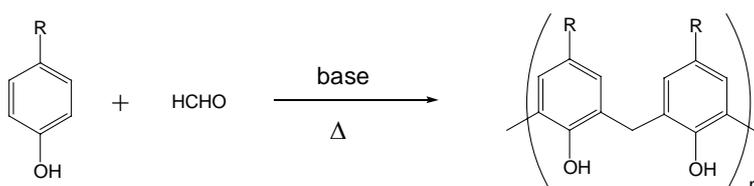


Figure 2.10 : Réaction entre le phénol substitué en *para* et le formaldéhyde⁷

En 1944, ils réalisèrent en particulier la réaction entre le *para-tert*-butyl phénol et le formaldéhyde⁸.

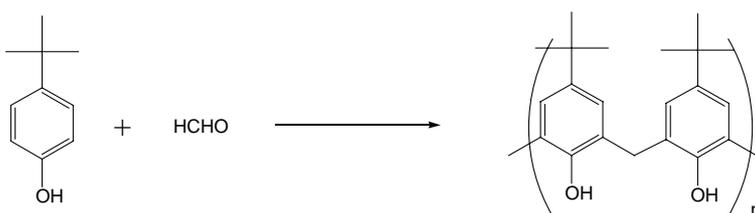


Figure 2.11 : Réaction entre le *para-tert*-butylphénol et le formaldéhyde⁸

Les premières hypothèses émises quant à la structure exacte des produits de la réaction vont ensuite apparaître, avec ce que l'on appelle encore le « produit de Zinke ». Hayes et Hunter⁹ proposèrent l'idée d'une structure cyclique (figure 2.12).

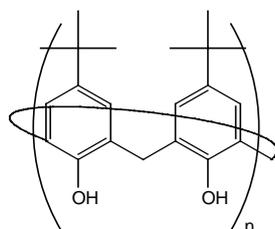


Figure 2.12 : *Structure cyclique proposée du produit de Zinke⁹.*

Zinke détermina enfin la masse molaire, et en déduit que son produit contenait une structure cyclique tétramère du phénol.

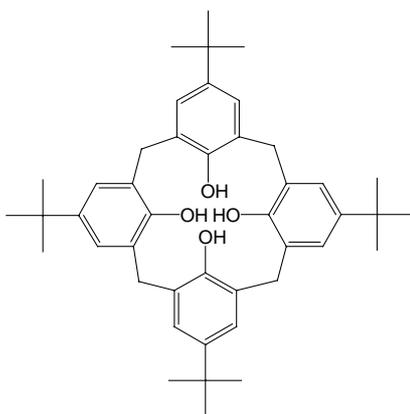


Figure 2.13 : *Structure cyclique tétramère du produit de Zinke*

Dès 1955, Cornforth¹⁰ sera à l'origine de la détermination structurale du produit de Zinke, en isolant deux produits différents ; il mit en évidence la présence d'isomères de conformation pour les tétramères cycliques (figure 2.14).

Enfin, la RMN du proton naissante mettra un point final quelques années plus tard (Kämmerer¹¹ en 1972) à la détermination exacte de ces structures, et en 1975, Gutsche montra que le fameux produit de Zinke est un mélange de tétramères, hexamères et octamères, produits qu'il baptisera *calixarènes* en 1978.

1.4 Conformations et moyens d'analyse des calix[4]arènes

Les calixarènes sont des molécules très flexibles, adoptant des conformations très différentes les unes des autres. Dès 1955, Cornforth¹⁰ a démontré l'existence de quatre conformations limites pour les calix[4]arènes, en considérant un groupement axial R par rapport au plan médian contenant les méthylènes pontants. Puis Gutsche¹², a défini la

conformation *cône* symbolisée par (u,u,u,u), *cône partiel* (u,u,u,d), *1,2-alternée* (u,u,d,d) et *1,3-alternée* (u,d,u,d), avec u pour « up » et d pour « down ».

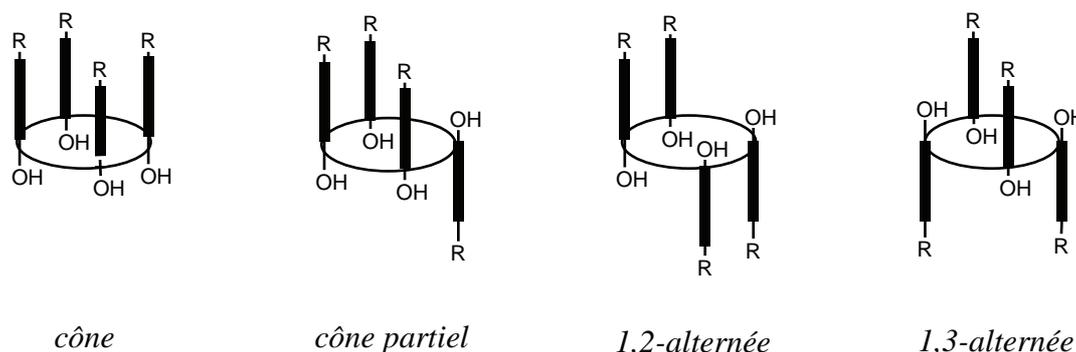


Figure 2.14 : Représentation simplifiée des quatre conformations limites d'un calix[4]arène¹².

La conformation d'un calix[4]arène flexible se détermine en solution par RMN ¹H et ¹³C, celle à l'état solide se détermine par diffraction des rayons X.

1.4.1 Conformation des calix[4]arènes flexibles à l'état solide

L'analyse cristallographique par diffraction des rayons X montre que le calix[4]arène à l'état solide adopte une conformation *cône*¹³, décrite sur la figure 2.14. Les groupements hydroxyle se trouvent alors dans le même plan, autorisant de ce fait l'existence de liaisons hydrogène. L'existence de ces liaisons hydrogène génère une apolarité par diminution ou perte du caractère phénolique des groupes hydroxyle qui se traduit par un comportement chromatographique particulier : migration au front de solvant dans des conditions d'éluant apolaire (silice, dichlorométhane/hexane).

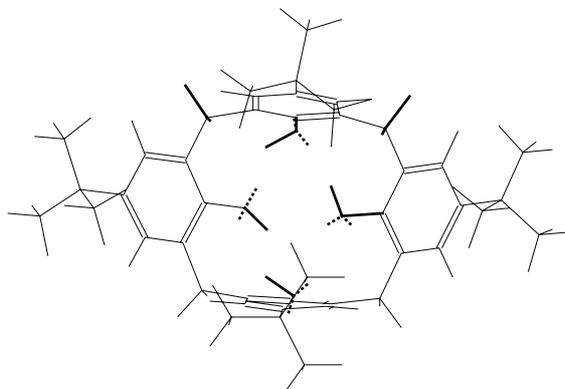


Figure 2.15 : Vue par la face hydroxylée (« lower rim » ou « partie basse ») du *p*-tert-butylcalix[4]arène dans sa conformation *cône* (chem 3D).

1.4.2 Conformation des calix[4]arènes flexibles en solution

Les mesures en RMN ^1H dynamique ont montré que les calix[4]arènes existent préférentiellement en conformation *cône*, mais sont mobiles à température ambiante, (l'interconversion moyenne étant de 100 cycles par seconde). Les quatre conformations moyennes décrites sur la figure 2.14 sont accessibles par rotation de groupement aryle autour d'un axe correspondant à la liaison entre le carbone en *méta* d'un noyau phénolique et un méthylène pontant. Le tableau (figure 2.16) présente les caractéristiques des signaux RMN ^1H et ^{13}C des méthylènes pontants ($\text{Ar-CH}_2\text{-Ar}$) correspondant à chaque conformation moyenne en solution¹².

<i>Conformation</i>	<i>Forme du signal RMN ^1H</i>	<i>Nombre de signaux RMN ^{13}C</i>
cône	Une paire de doublets (système AB)	1 signal
cône partiel	Une paire de doublet (système AB) et un singulet [1 : 1]	2 signaux
1,2 alternée	Une paire de doublet (système AB) et un singulet [1 : 1]	2 signaux
1,3 alternée	Un singulet	1 signal

Figure 2.16 : Caractéristiques des signaux RMN ^1H et ^{13}C des méthylènes pontants $\text{Ar-CH}_2\text{-Ar}$ ¹².

Cependant, il existe d'autres types de conformations moyennes plus difficiles à caractériser, en particulier le 25, 26, 27-triméthoxy-tetraparatertiobutylcalix[4]arène-28-ol que nous rencontrerons dans ce travail, qui adopte une conformation dite *cône partiel aplati*¹² (« flatnened partial cone » en anglais).

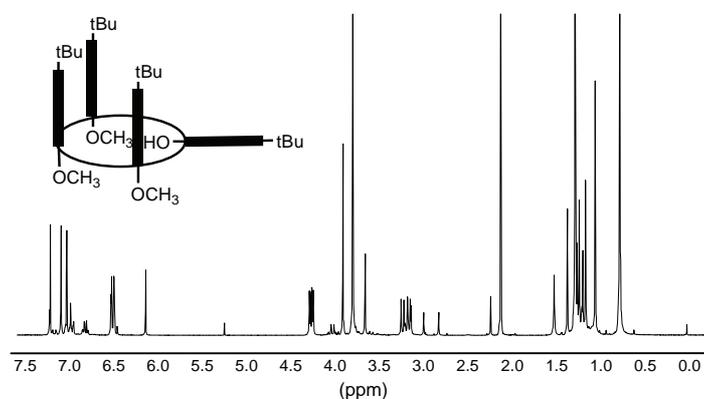


Figure 2.17 : Conformation moyenne « cône partiel aplati » du 25,26,27-triméthoxy-tetraparatertiobutylcalix[4]arène-28-ol et son spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) réalisé au laboratoire.

2. Les propriétés organisatrices des calix[4]arènes.

2.1 Introduction

On entend ici par propriété organisatrice l'aptitude d'un calix[4]arène à mettre en place, dans un environnement contraint et défini, des groupements spécifiquement destinés à :

- Complexer (le plus souvent des ions métalliques, alcalins, alcalino-terreux, de transition).
- S'ancrer sur des supports polymères.
- Développer des propriétés physico-chimiques particulières (optiques, électrochimiques).
- Créer des membranes artificielles (films monomoléculaires).
- Vectoriser des principes actifs thérapeutiques, et apporter des fonctionnalités pour la reconnaissance et le ciblage cellulaire, notamment en développement au sein du laboratoire.

La nature des groupements fonctionnels à incorporer dépendra donc des objectifs à atteindre.

2.2 Introduction de groupements fonctionnels sur un calix[4]arène

La grande majorité des travaux dédiés au calix[4]arène porte sur sa fonctionnalisation sur la partie haute ou basse. A partir du calix[4]arène de base, il est possible, par le biais de réactions plus ou moins complexes, d'accéder à des édifices organisés. La fonctionnalisation consiste en l'introduction régiosélective de 1 à 4 groupements, soit sur la partie haute, soit sur la partie basse.

2.2.1 Introduction de groupements fonctionnels sur la partie haute

La tableau récapitulatif¹⁴ (figure 2.18) présente les diverses réactions possibles, sur les quatre sites *para* de la partie du calix[4]arène, par substitution ou addition nucléophile, ou encore par élimination, dans l'objectif d'amener des fonctionnalités de nature différente.

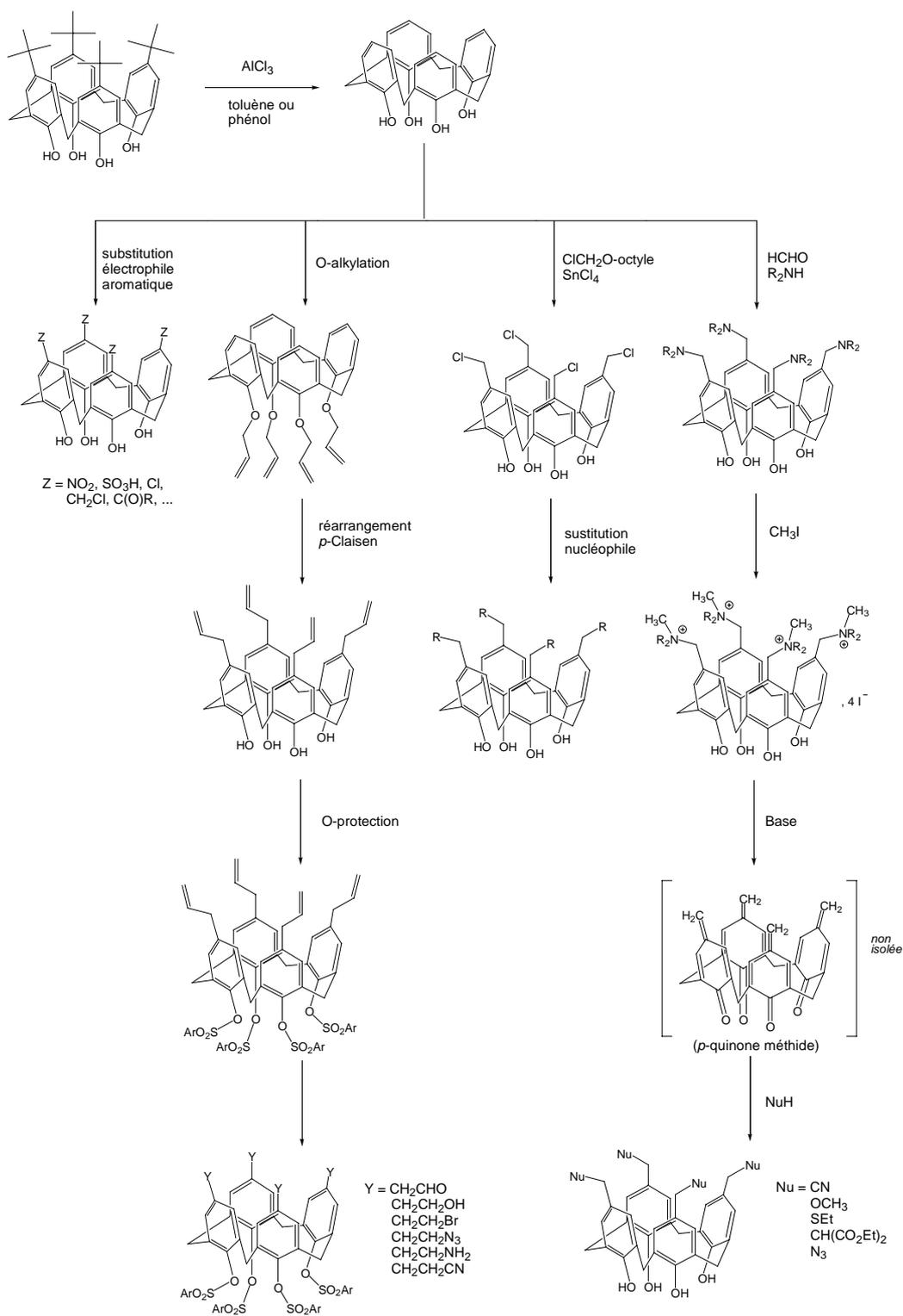


Figure 2.18 : Les principales voies d'incorporation de fonctionnalités sur la partie haute du calix[4]arène¹⁴.

La figure 2.18 décrit les cas de la tétra-substitution sur la partie haute. Il est possible toutefois de contrôler la régiosélectivité et le degré de fonctionnalisation sur la partie haute.

La stratégie consiste à préparer le ou les sites à fonctionnaliser par une détertiobutylation sélective du *p*-tert-butylcalix[4]arène. Les voies d'incorporation seront ensuite les mêmes que celles décrites en figure 2.18, dans la limite où les groupes tertibutyles restant résistent aux conditions réactionnelles : dans le cas de la sulfonation ou de la nitration, l'existence d'un mécanisme *ipso* nécessite de conserver la protection des groupes OH engagés lors de la détertiobutylation sélective¹⁵.

La méthode décrite sur la figure 2.19 permet également d'accéder à des calix[4]arènes difonctionnalisés (1,2 et 1,3) et trifonctionnalisés¹⁵.

Exemple : « monodétertiobutylation » puis monoalkylation

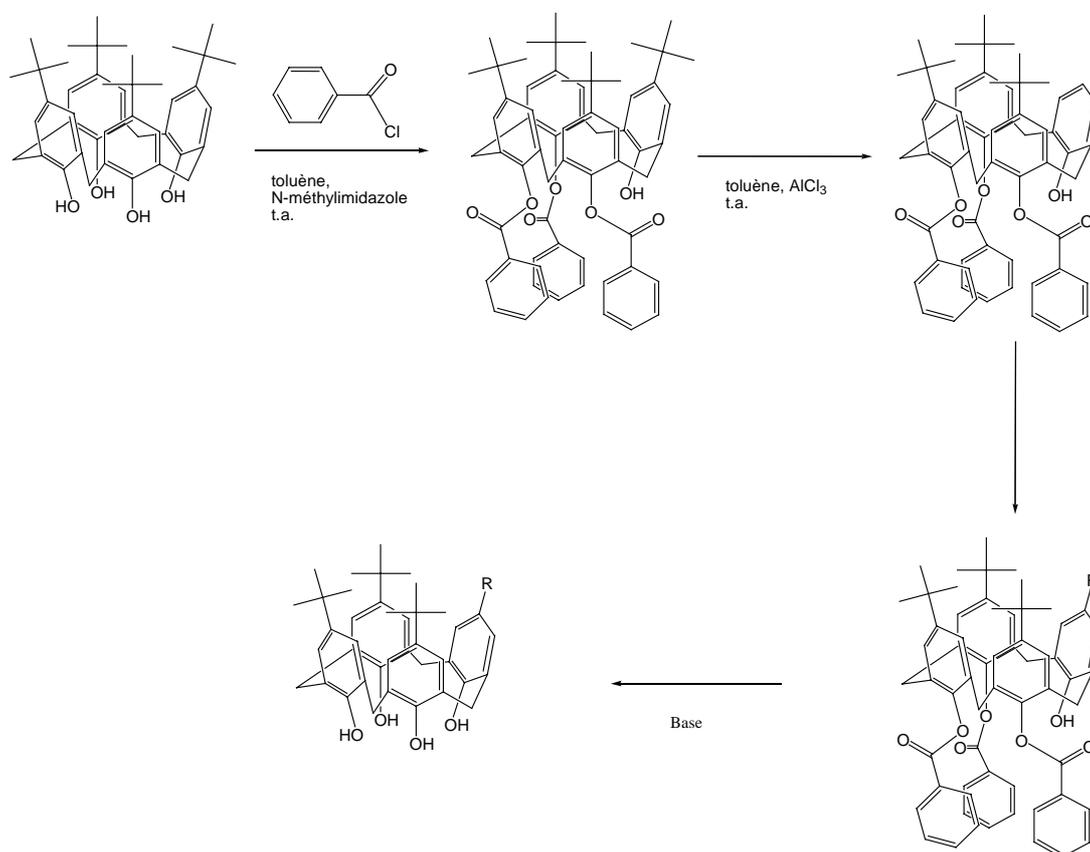


Figure 2.19 : Stratégie d'incorporation sélective d'un seul groupement fonctionnel R sur la partie haute du *p*-tert-butylcalix[4]arène¹⁵.

2.2.2 Introduction de groupements fonctionnels sur la partie basse

Les calix[4]arènes réagissent sur la partie basse par les groupements hydroxyle, pour former soit des éthers par O-alkylation (élimination ou addition), soit des esters par O-acylation *via* des réactions de substitution nucléophile.

Dans les réactions d'O-alkylation, plusieurs méthodes sont utilisées, l'agent alkylant étant un dérivé halogénure d'alkyle ou analogue (tosylate, mésylate par exemple) porteur le plus souvent de fonctionnalités qui en seraient exploitées ultérieurement. Le degré de substitution et la régiosélectivité dépendent de la nature de la base, du solvant et de la stoechiométrie ainsi que le montre le schéma de la figure 2.20. Ces méthodes ont été initiées par Shinkai et coll.^{16,17} et Gutsche et coll.¹⁸.

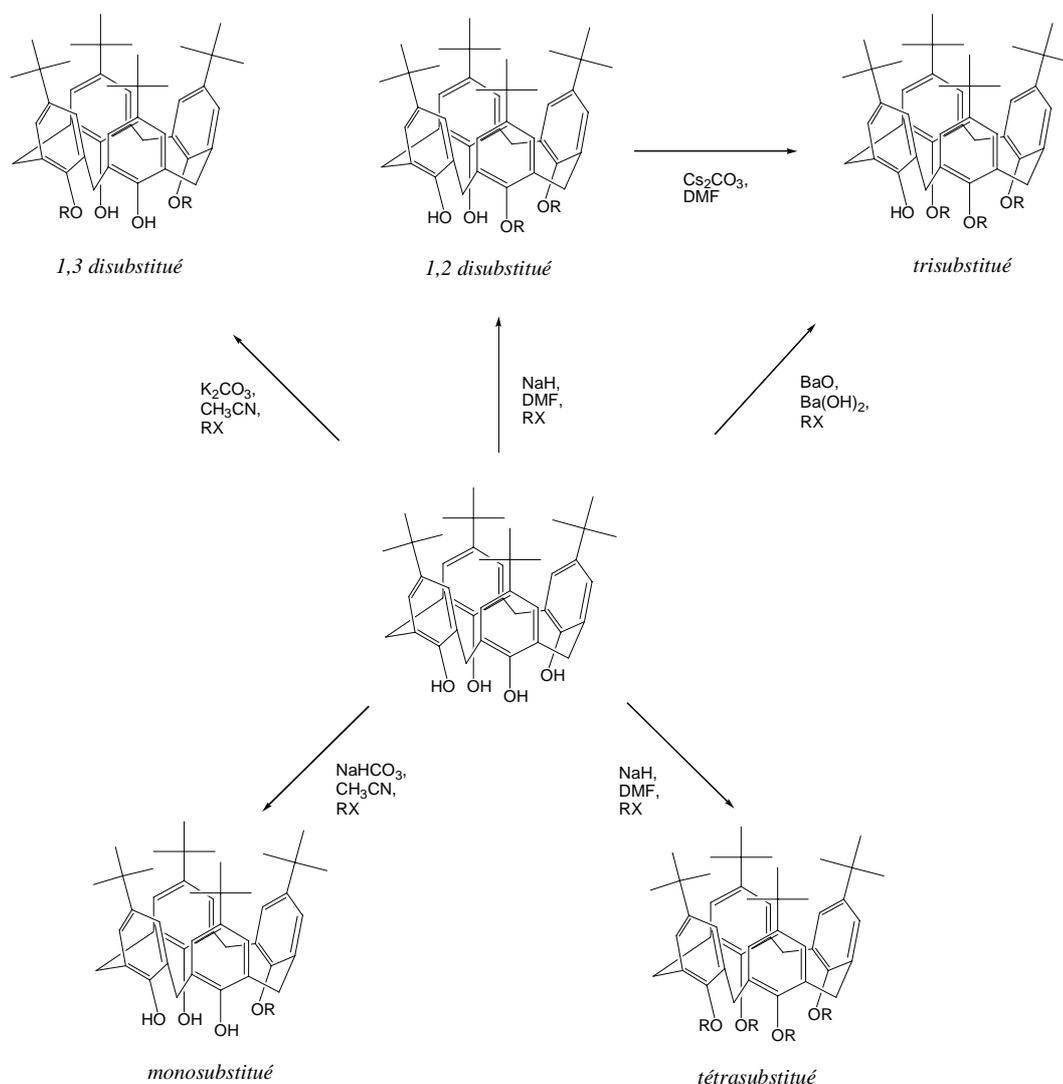


Figure 2.20 : Les bases et les solvants utilisés dans les différents types d'O-alkylation sur la partie basse du p-tert-butylcalix[4]arène¹⁹.

Dans les réactions d'O-acylation, on fait généralement réagir le chlorure d'acyle pour obtenir les esters correspondants. On peut également y contrôler la régiosélectivité, en jouant sur la nucléophilie de la base nécessaire à l'avancement de la réaction^{17,20}.

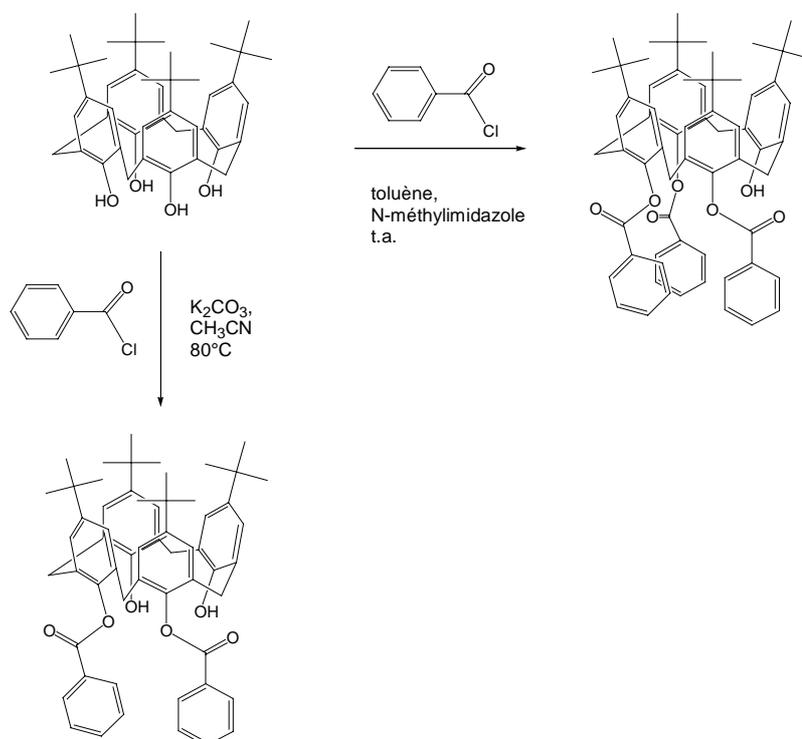


Figure 2.21 : Exemples d'O-acylation (estérification) sur la partie basse du *p*-*tert*-butylcalix[4]arène^{15,20}.

2.3 Les propriétés complexantes du calix[4]arène

2.3.1 Complexation de molécules neutres ou chargées

A l'état solide, de nombreux exemples d'un calix[4]arène « piégeant » dans sa cavité des molécules neutres ou chargées ont été mis en évidence depuis 1979 et en particulier, les plus anciens d'entre eux, les complexes calix[4]arène avec le chloroforme²¹, le benzène²¹, l'anisole²², le xylène²², le toluène²³ ou encore le dichlorométhane²⁴.

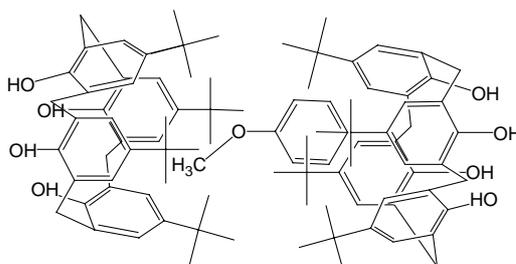


Figure 2.22 : Représentation schématique du complexe *p*-*tert*-butylcalix[4]arène – anisole²²

L'aptitude du calix[4]arène à complexer des entités chargées a été également mise en évidence, en particulier le complexe calix[4]arène – ammonium²⁵.

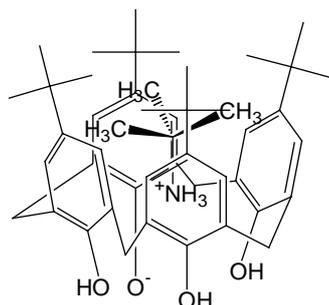


Figure 2.23 : Complexe d'inclusion *p*-tert-butylcalix[4]arène – tertbutylammonium²⁵.

2.3.2 Complexation de cations de métaux de transition

Une grande partie des travaux qui ont jusqu'à présent porté sur les composés calixaréniques a été consacrée à l'étude de leurs affinités vis-à-vis des cations métalliques. Il a fallu pourtant attendre 1985 pour voir apparaître le premier complexe de métal de transition contenant une unité calixarénique²⁶.

Puis, les objectifs recherchés se sont progressivement orientés vers l'amélioration de la sélectivité, et ouvrir la voie à des applications à des fins catalytiques, analytiques, séparatrices ou biologiques.

La notion même de complexation s'étend également aux métaux alcalins, alcalino-terreux et aux lanthanides.

On distingue plusieurs catégories de ligands calix[4]aréniques :

- Complexes impliquant les cycles aryles du calix[4]arène

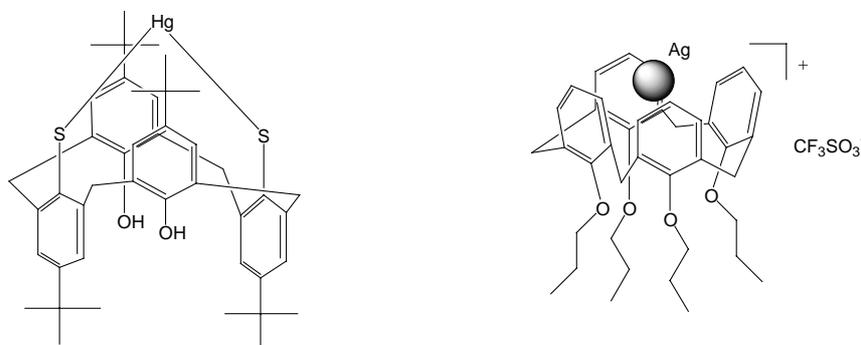


Figure 2.24 : Complexe de mercure²⁷ et complexe argent - calix[4]arène conique (complexe π)²⁸.

- Complexes de type O, N ou P donneurs

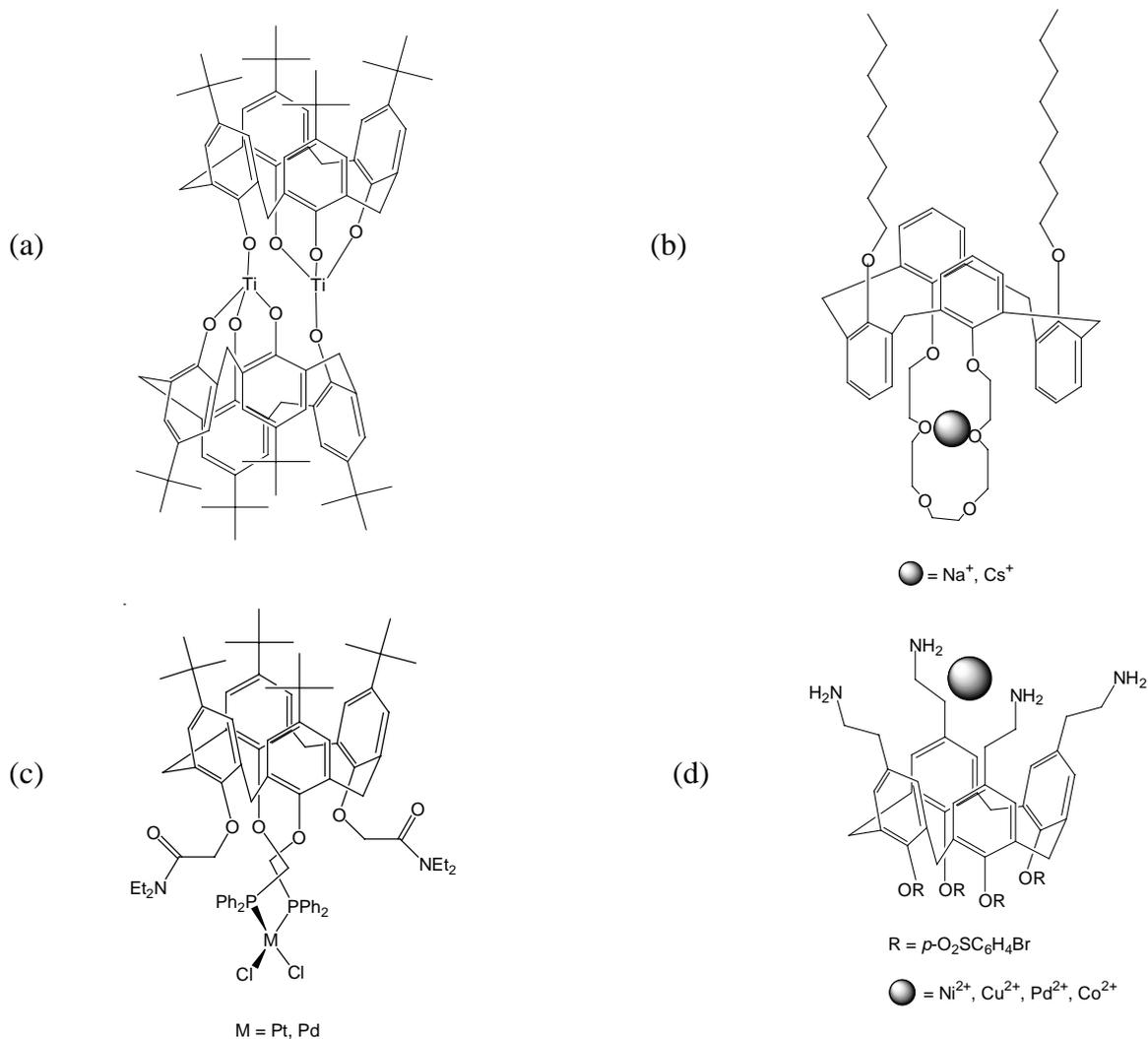


Figure 2.25 : (a) complexe de titane dimère²⁹ ; (b) complexe métal alcalin – calix[4]arènegrown-6³⁰ ; (c) complexe de platine ou de palladium³¹ ; (d) complexe de métal de transition³²

- Complexes avec unités hétérocycliques greffées

Ce sont essentiellement des ligands hétérocycliques azotés qui ont été développés à partir des années quatre-ving dix. Des unités complexantes ont été greffées aussi bien sur la partie basse que sur la partie haute. Ce sont, entres autres, des unités de types : 2-picoline, pyrrolles, indoazole, thiazole, imidazole, quinoléine.

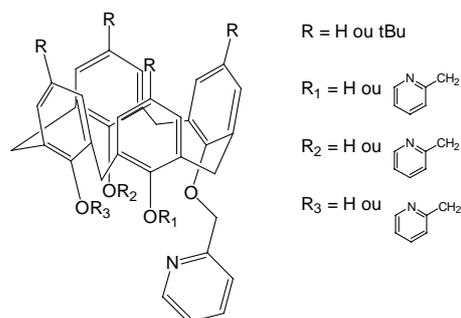


Figure 2.26 : Calix[4]arènes étherifiés par des picolines³³

Puis, les unités de bi-hétérocycliques chélatantes ont fait leur apparition, comme par exemple les bipyridyles³⁴ ou les bithiazolyles³⁵, aussi bien sur la partie basse (figure 2.27), que sur la partie haute²⁰ (figure 2.28).

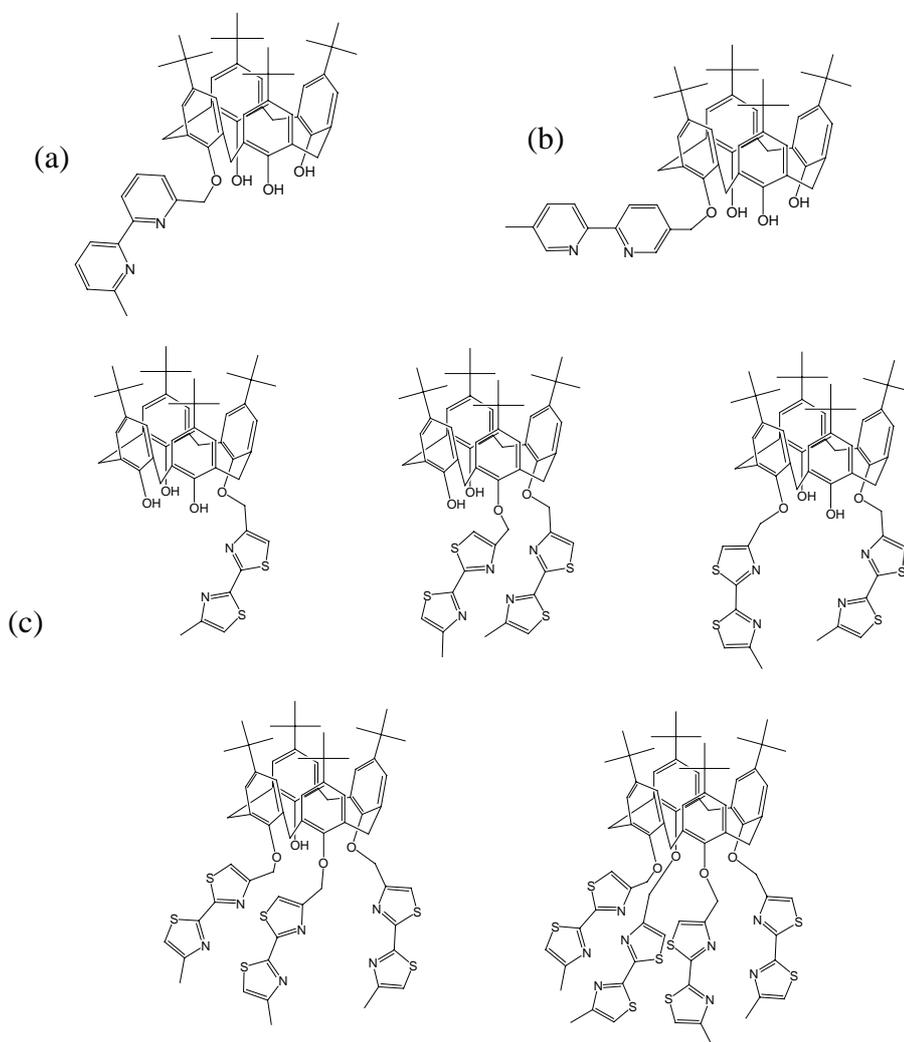


Figure 2.27 : (a) Unité 6,6'-diméthyl-2,2'-bipyridines greffée sur la partie basse du *p*-tert-butylcalix[4]arène³⁴ ; (b) Unité 5,5'-diméthyl-2,2'-bipyridine greffée sur la partie basse du *p*-tert-butylcalix[4]arène ; (c) Unités 4,4'-diméthyl-2,2'-bithiazole greffées sur la partie basse du *p*-tert-butylcalix[4]arène³⁶.

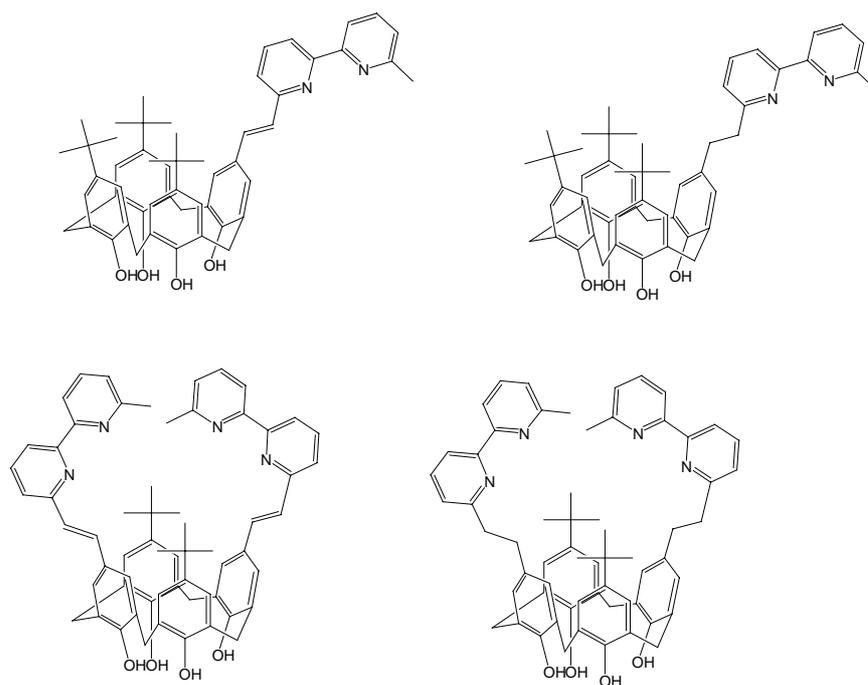


Figure 2.28 : Unités 6,6'-diméthyl-2,2'-bipyridines greffées sur la partie haute du *p*-*tert*-butylcalix[4]arène²⁰.

3. Les calix[4]arènes bipyridylés : propriétés et utilisations

3.1 Les premières structures calix[4]aréniques pyridylées complexantes

La première étude d'une entité hétérocyclique portée par un calix[4]arène vis-à-vis de cations métalliques alcalin et alcalino-terreux, réalisée par Bottino et col.³³ en 1989 mettait en jeu des structures mono-, di-, tri- et tétra substituées par des unités 2-picolines (voir figure 2.26).

Dans la foulée, des structures portant des unités hydroxyméthylpicolines qui présentaient une affinité pour les métaux de transition sont apparues³⁷.

Mais les propriétés de complexation furent améliorées à partir de l'utilisation d'unités bipyridyles, dont l'affinité vis à vis des métaux de transition était connue depuis longtemps. Intéressons-nous à ces structures que nous utiliserons comme modèle d'agent complexant de métaux de transition.

3.2 Propriétés de complexation des calix[4]arènes bipyridylés

Le premier composé décrit par Beer et coll.³⁷ résulte du greffage sur la partie basse du calix[4]arène, avec la création de liaisons éther. Ce complexe présente une affinité particulière pour les cations Cu^+ et Ag^+ en formant les complexes mono-métalliques (décrits comme tétraédriques, mais non démontrés), et bi-métalliques, comme décrit ci-dessous sur la figure 2.29.

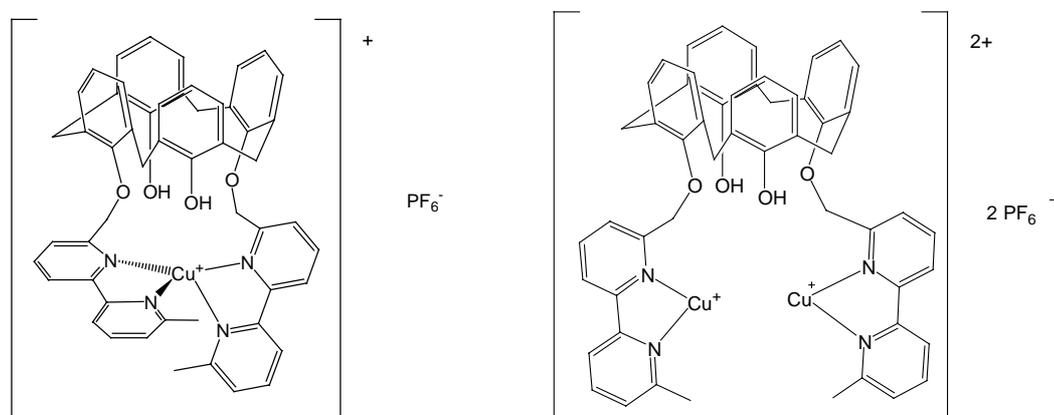


Figure 2.29 : Complexes monométalliques tétraédriques et bi-métalliques de l'ion Cu^+ ³⁷.

Puis Regnouf de Vains et coll.³⁸ démontrent la nature tétraédrique et chirale de ces complexes monométalliques de Cu^+ par une étude cristallographique.

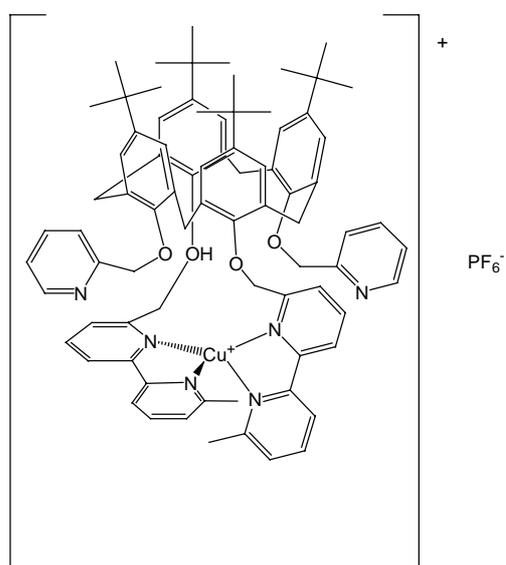


Figure 2.29 : *Complexe tétraédrique mononucléaire de Cu^+* ³⁸.

Ces mêmes structures ont d'ailleurs montré une très grande affinité pour l'ion Ag^+ , rendant ainsi son extraction d'une solution aqueuse possible contre l'ion Pb^{2+} ³⁹, même à des concentrations infimes (98 % de rendement d'extraction pour un rapport $\text{Ag}^+/\text{Pb}^{2+}$ au 1/10000).

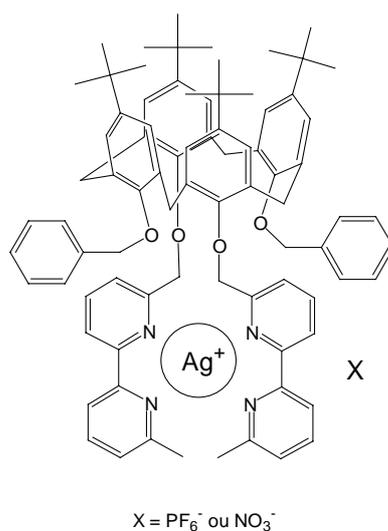
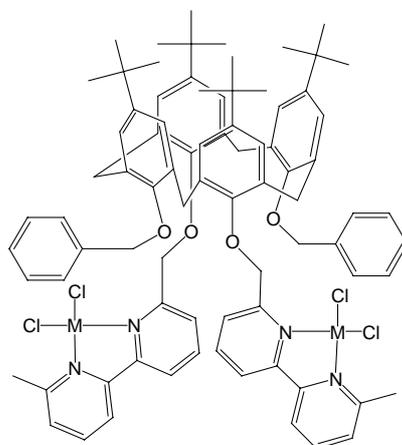


Figure 2.30 : *Complexe mononucléaire de l'ion Ag^+* ³⁹.

Regnouf de Vains et coll.^{20,39} ont montré que cette structure présentait également une affinité pour les ions Cu^+ , Zn^{2+} , et ont développé une série de complexes binucléaires de métaux de transition tels les Co(II) , Ni(II) et Zn(II) selon la figure 2.31.



M = Co(II), Ni(II) ou Zn(II)

Figure 2.31 : Complexes binucléaires de Co(II) , Ni(II) ou Zn(II) ²⁰.

3.3 Utilisations de telles structures dans notre projet

L'utilisation d'une structure complexante prend place essentiellement dans les projets relatifs aux chapitres 3 et 4. Il s'agit de préparer un calix[4]arène trisbipyridyle (figure 2.32), dont nous maîtrisons la préparation et connaissons la structure du complexe avec l'ion Cu^+ ³⁸.

Nous disposons ainsi, avec ce calix[4]arène d'un modèle d'entité complexante, qu'il s'agira de monofonctionnaliser, en vue de son greffage sur polymère naturel, pour doter ce dernier de propriétés de complexation de l'ion Cu^+ .

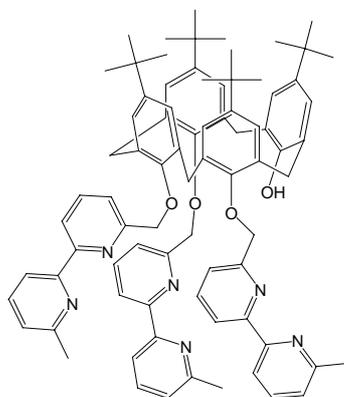


Figure 2.32 : 25,26 27 – tris[bipyridyl]-p-tertbutylcalix[4]arène.

Références bibliographiques du chapitre 2

1. C.D. Gutsche, R. Muthukrishnan, *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 4905
2. In *Calixarène 2001*, Z. Asfari et al. (eds), Kluwer Academic Publishers, **2001**.
3. a) A. Baeyer, *Ber.*, **1872**, *5*, 25; b) A. Baeyer, *Ber.*, **1872**, *5*, 280; c) A. Baeyer, *Ber.*, **1872**, *5*, 1094.
4. L. Lederer, *J. Prakt. Chemie*, **1894**, *50*, 223.
5. O. Manasse, *Ber.*, **1894**, *27*, 2409.
6. L.H. Baekeland, U.S. Patent 942,699; October **1908**.
7. C.D. Gutsche, *Calixarenes*, The Royal Society of chemistry, **1989**, p.6.
8. A. Zinke, E. Ziegler, *Ber.*, **1944**, *77*, 264.
9. a) B.T. Hayes, R.F. Hunter, *Chem. Ind.*, **1956**, 193 ; b) B.T. Hayes, R.F. Hunter, *J. Appl. Chem.*, **1958**, *8*, 743.
10. a) J.W. Cornforth, P. D'Arcy Hart, G.A. Nicholls, R.J. W. Rees, J.A. Stock, *Br. J. Pharmacol.* **1955**, *10*, 73 ; b) J.W. Cornforth, E.D. Morgan, K.T. Potts, R.J. Rees, *Tetrahedron*, **1973**, *29*, 1659.
11. H. Kämmerer, G. Happel, F. Ceasar, *Makromol. Chem.*, **1972**, *162*, 179.
12. C.D. Gutsche, B. Dhawan, J.A. Levine, K.H. No, L.J. Bauer, *Tetrahedron*, **1983**, *39*, 409.
13. a) G.D. Andreetti, R. Ungaro, A. Pochini, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 1005. b) G.D. Andreetti, A. Pochini, R. Ungaro, *J. Chem. Soc., Perkins Trans. 2*, **1983**, 1773.
14. C. Wieser, C.B. Dieleman, D. Matt, *Coord. Chem. Rev.*, **1997**, *165*, 93-161.
15. S. Berthalon, *Thèse d'Université*, Université Claude Bernard, Lyon, **1998**.
16. S.Shinkai, T.Otsuda, K. Araki, T.Matsuda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, *62*, 4055.
17. K.Iwamoto, K.Fujimoto, T. Matsuda, S. Shinkai, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31*, 7169.
18. C.D. Gutsche, P.A. Reddy, *J.Org. Chem.*, **1991**, *56*, 4783.
19. S. Pellet-Rostaing, *Thèse d'Université*, Université Claude Bernard, Lyon, **1997**.
20. J.O. Dalbavie, J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, M. Perrin, S. Lecocq, B. Fenet, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2002**, 901.
21. C.D. Gutsche, B.Dhawan, K.H. No, R. Muthukrishnan, *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, 3782.
22. M. Coruzzi, G.D. Andreetti, V.Bocchi, A. Pochini, R.Ungaro, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1982**, 1133.
23. G.D. Andreetti, R. Ungaro, A. Pochini, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 1005.
24. S. Berthalon, L. Mota-Viola, J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, S. Lecocq, M. Perrin, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 2269.
25. a) L.J. Bauer, C.D. Gutsche, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 6063 ; b) C.D. Gutsche, M. Iqbal, I. Alam, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 4314.
26. S.R. Izatt, R.T. Hawkins, J.J. Christensen, R.M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 63.
27. X. Delaigue, M.W. Hosseini, N. Kyritsakas, A. De Cian, J. Fischer, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1995**, 609.
28. A. Ikeda, H. Tsuzuki, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1994**, 2073.
29. M.M. Olmstead, G. Sigel, H. Hope, X. Xu, P.P. Power, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 8087.
30. R. Ungaro, A. Casnati, F. Ugozzoli, A. Pochini, J.F. Dozol, C. Hill, H. Rouquette, *Angew. Chem., Int. Ed. Eng.*, **1994**, *33*, 1506.
31. C. Wieser, D. Matt, résultats non publiés, **1996**
32. C.D. Gutsche, K.C. Nam, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 6153.
33. F. Bottino, L. Giunta, S. Pappalardo, *J. Org. Chem.*; **1989**, *54*, 5407.

34. J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, *Helv. Chimica. Acta*, **1994**, *77*, 1817.
35. N. Sabbatini, M. Guardigli, I. Manet, R. Ungaro, A. Casnati, C. Fischer, R. Ziessel, G. Ulrich, *New. J. Chem.*, **1995**, *19*, 137.
36. S. Pellet-Rostaing, J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, *Tetrahedron Lett.*; **1996**, *37*, 5889.
37. P.D. Beer, J.P. Martin, M.G.B. Drew, *Tetrahedron*, **1992**, *48*, 9917.
38. J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, B. Fenet, C. Bavoux, A. Thozet, M. Perrin, *Helv. Chem. Acta.*, **1995**, *78*, 1607.
39. J.B. Regnouf de Vains, J.O. Dalbavie, R. Lamartine, B. Fenet, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 2681.

Chapitre 3

*Monofonctionnalisation sélective sur la partie
haute et basse d'un calix[4]arène présentant un
caractère complexant*

1. Introduction

La monofonctionnalisation sélective sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène représente le travail préliminaire à la réalisation des deux projets énoncés dans l'introduction générale. Un calix[4]arène monofonctionnalisé sur sa partie haute ou basse doit être apte à réagir et se lier de façon covalente soit à un polymère naturel, soit à un motif peptidique. Cette partie traite donc de l'incorporation sur un calix[4]arène d'un bras d'ancrage défini selon la figure 3.1 :

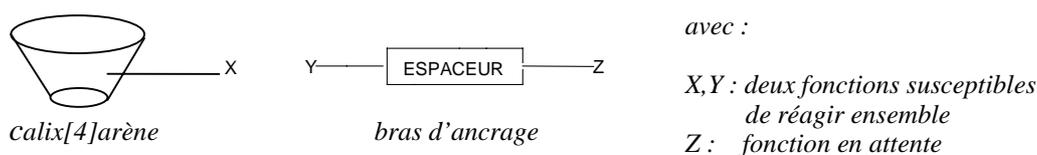


Figure 3.1 : Calix[4]arène et bras d'ancrage.

L'incorporation d'un seul groupe fonctionnel, selon notre choix sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène s'explique par la nécessité d'avoir à disposition les autres sites potentiellement fonctionnalisables. Cette monofonctionnalisation fera appel à une chimie la plus simple possible, permettant d'accéder le plus rapidement possible aux structures souhaitées et surtout de ne pas modifier la conformation cône du calix[4]arène modifié, afin de maintenir la possibilité de piégeage de substances hydrophobes dans la cavité. Cette monofonctionnalisation prend place dans les deux projets :

- Incorporer un seul site d'ancrage en vue du greffage sur polymère naturel (Chapitre 4)

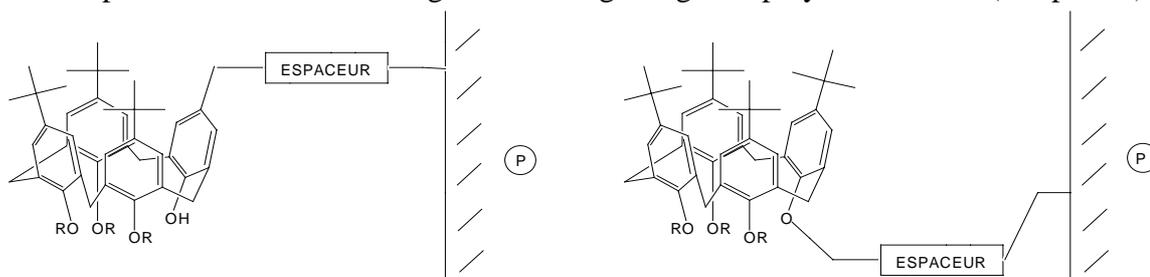


Figure 3.2 : Calix[4]arène immobilisé sur support polymère naturel

- Greffer un motif peptidique, l'antenne de reconnaissance RGD (Chapitre 6)

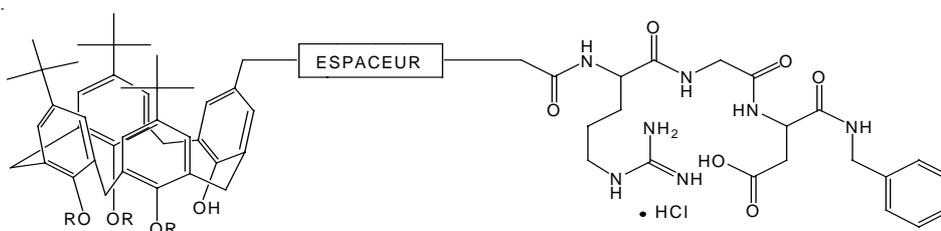


Figure 3.3 : Motif tripeptide RGD greffé via sa terminaison N.
sur la partie haute d'un calix[4]arène

2. Etat des lieux des connaissances

2.1 Introduction

La fonctionnalisation du calix[4]arène a permis de développer des applications à caractère industriel, renforçant de ce fait son intérêt initial. On dénombre plusieurs centaines de brevets depuis plus de vingt ans, dans des domaines très variés. En 2007, les brevets déposés traitaient, par exemple, d'agents anti-cancéreux¹, d'extraction d'alumine dans des carburants², de réactif du cholestérol dans les lipoprotéines de haute densité³, de résines thermodurcissables⁴.

A partir des années quatre-vingt s'est développée une chimie destinée à fonctionnaliser les calix[4]arènes sur leur partie haute ou basse. La quantité de travaux n'a cessé de s'accroître dans la décennie suivante⁵. Nous présentons ici les acquis concernant la monofonctionnalisation du calix[4]arène.

2.2 Monofonctionnalisation sur la partie basse

Nous avons vu dans le chapitre 2 que les calix[4]arènes réagissent sur la partie basse par les groupements hydroxyle (formation d'esters et d'éthers) selon des mécanismes de substitutions nucléophiles. Nous nous intéressons ici à la monofonctionnalisation sélective dont les conditions sont déjà décrites sur les figures 2.20 et 2.21 (voir chapitre 2).

- Monoester (O-acylation)

On distingue plusieurs méthodes d'acylation : l'acylation directe, qui consiste à faire réagir directement un acide sur un phénol du calix[4]arène. Par exemple, Chowdhury et coll.⁶ ont introduit une fonction triflate sur la partie basse du calix[4]arène, par réaction de l'anhydride trifluoroacétique et sulfonique en présence de NaH, dans le THF (figure 3.4)

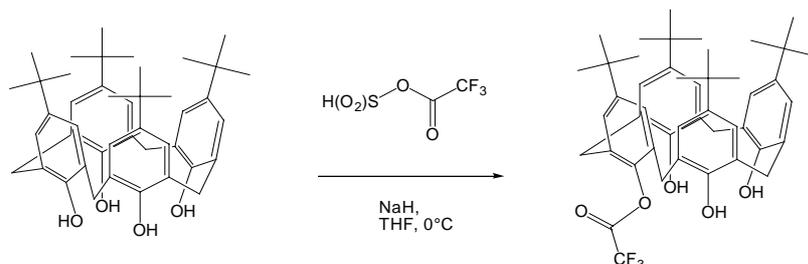


Figure 3.4 : Introduction d'un groupement triflate sur la partie basse du calix[4]arène⁶.

Une autre méthode, proposée par Gutsche et coll.⁷ consiste à introduire un groupement 3,5-dinitrobenzoate à partir du dérivé 1,3-diester, selon la réaction décrite sur la figure 3.5.

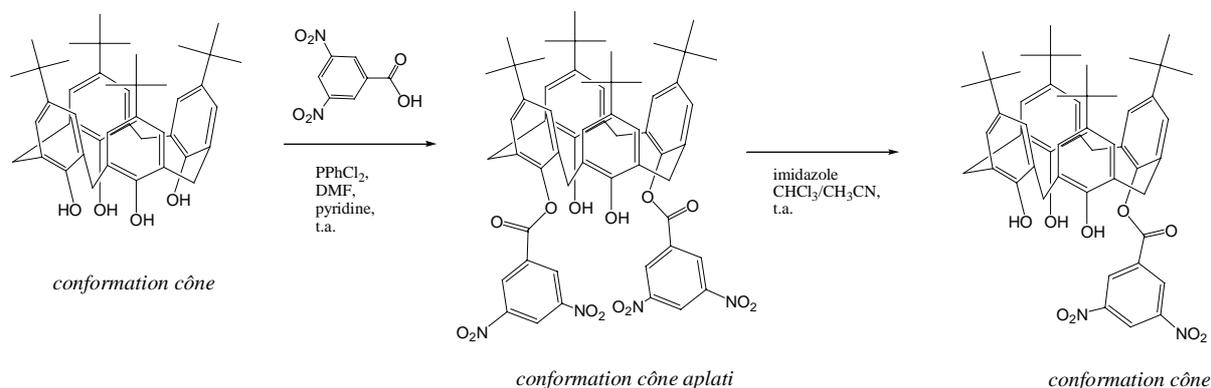


Figure 3.5 : Introduction d'un groupement 3,5-dinitrobenzoate sur la partie basse du calix[4]arène⁷.

Kalchenko et coll.⁸ ont réalisé l'introduction d'un groupement acylecarbamate à partir de dérivés 1,3-diéther (figure 3.6), en présence d'un excès d'un acyleisocyanate. Une méthode identique à la précédente, en deux étapes (diesterification, puis hydrolyse), par Nam et coll.⁹.

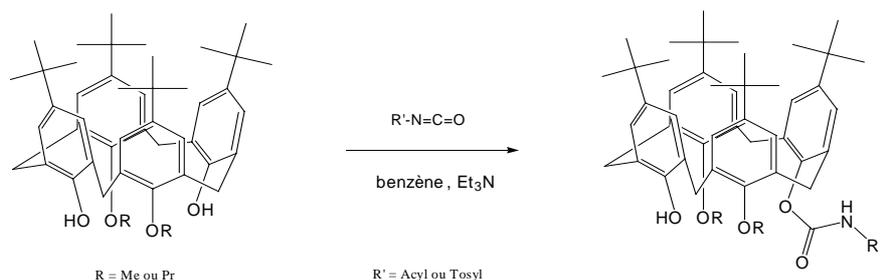


Figure 3.6 : Introduction d'un groupement acylcarbamate sur la partie basse d'un calix[4]arène⁸.

- Monoéther (O-alkylation)

La méthode la plus commune pour préparer un monoéther de calix[4]arène consiste à utiliser un agent alkylant, en contrôlant la réaction par la quantité de base faible introduite. Ungaro et coll.¹⁰ ont utilisé K_2CO_3 dans l'acétonitrile, pour préparer un éther méthylique (figure 3.7).

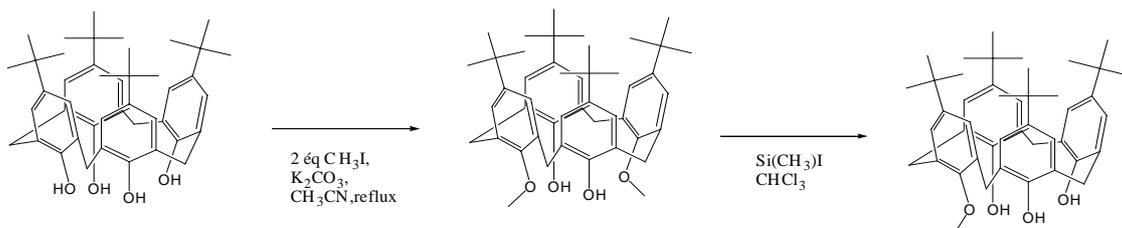


Figure 3.7 : Préparation d'un calix[4]arène monométhoxy, selon la méthode d'Ungaro¹⁰.

On recense également l'utilisation de NaH dans le toluène¹¹ ou de Ba(OH)₂ dans le DMF^{11,12} pour la préparation de monoéthers.

Une autre possibilité repose sur la préparation de mono- ou de triesters protecteurs (par O-acylation), puis la monofonctionnalisation et l'hydrolyse finale permet de recouvrir un calix[4]arène, triol, monofonctionnalisé. Gutsche et Lin¹⁴, puis Berthalon et Regnouf-de-Vains¹⁵ ont réalisé l'incorporation d'une fonction allyle via la préparation contrôlée d'un tris-*t*Bu-calix[4]arène tribenzoate (figure 3.12). Ce tris-*t*Bu-calix[4]arène s'obtient par « monodéteriobutylation » sélective d'un tétra-*t*Bu-calix[4]arène (figure 3.8).

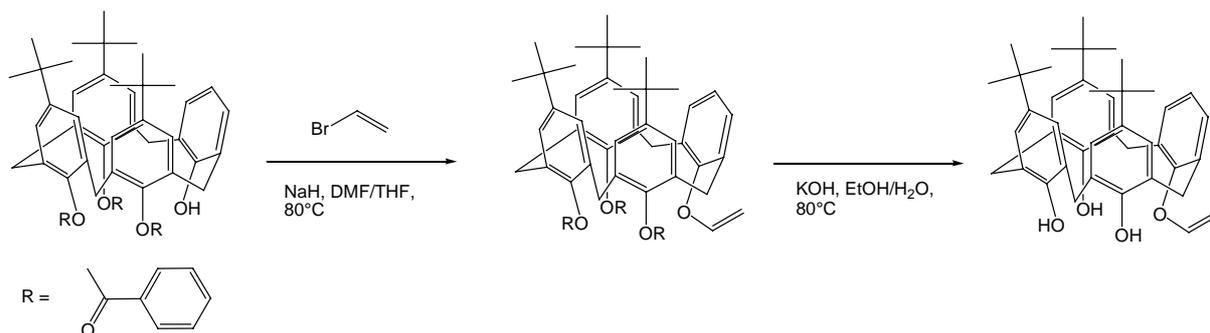


Figure 3.8 : Monofonctionnalisation sur la partie basse d'un calix[4]arène protégé par des groupements benzoates puis sa déprotection¹⁵

2.3 Monofonctionnalisation sur la partie haute

La fonctionnalisation sur la partie haute d'un calixarène s'effectue en position *para* sur les motifs phénoliques ; ce sont des réactions de substitution électrophile classique ou *ipso*, si le calixarène de départ est tertibutylé. Les différentes réactions ont été décrites sur la figure 2.21 (voir chapitre 2). Nous décrivons ici en détail le cas de la monofonctionnalisation sélective.

La monofonctionnalisation contrôlée d'un calix[4]arène sur sa partie haute impose nécessairement une « monodéteriobutylation » sélective préalable, selon une réaction de type rétro Friedel-Craft nécessitant la protection des trois phénols résiduels.

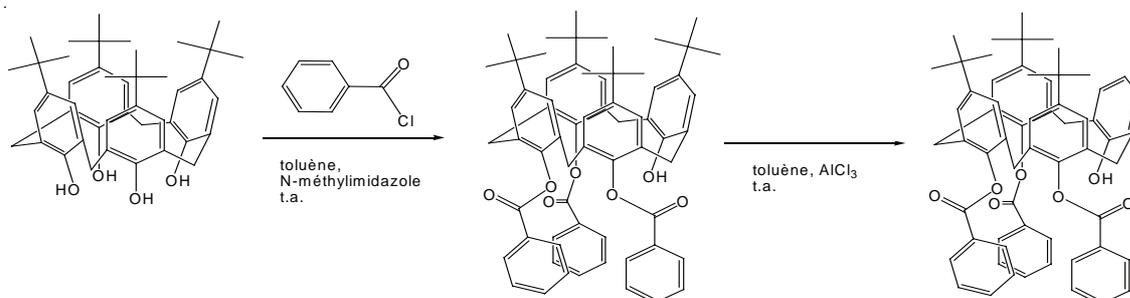


Figure 3.9 : « Monodéteriobutylation » du *p*-*tert*-butyl-calix[4]arène (en fait la conformation n'est pas conique)¹⁵.

Ensuite, des réactions de type alkylation ou acylation de Friedel-Craft en présence d'un acide de Lewis (TiCl_4 , AlCl_3) permet d'incorporer un groupe fonctionnel en *para* du groupement hydroxyle, comme par exemple un groupement nitro, mais aussi carboxaldéhyde, chlorométhyle, acétyl, succinyle. Il est nécessaire de préciser que la présence des groupements benzoates est essentielle pour éviter l'ipso-nitration.

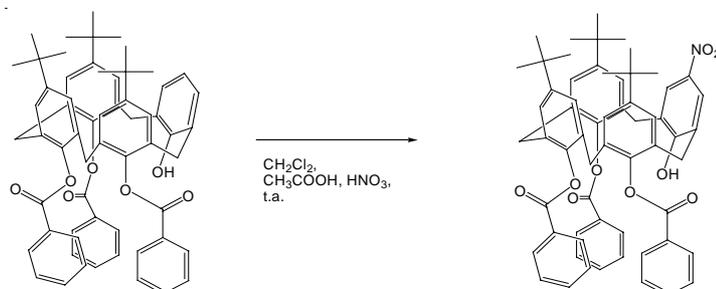


Figure 3.10 : Incorporation d'un groupement nitro sur la partie haute d'un calix[4]arène¹⁵.

De cette manière, il est possible d'accéder à une grande variété de calix[4]arènes monofonctionnalisés¹⁶ (figure 3.11).

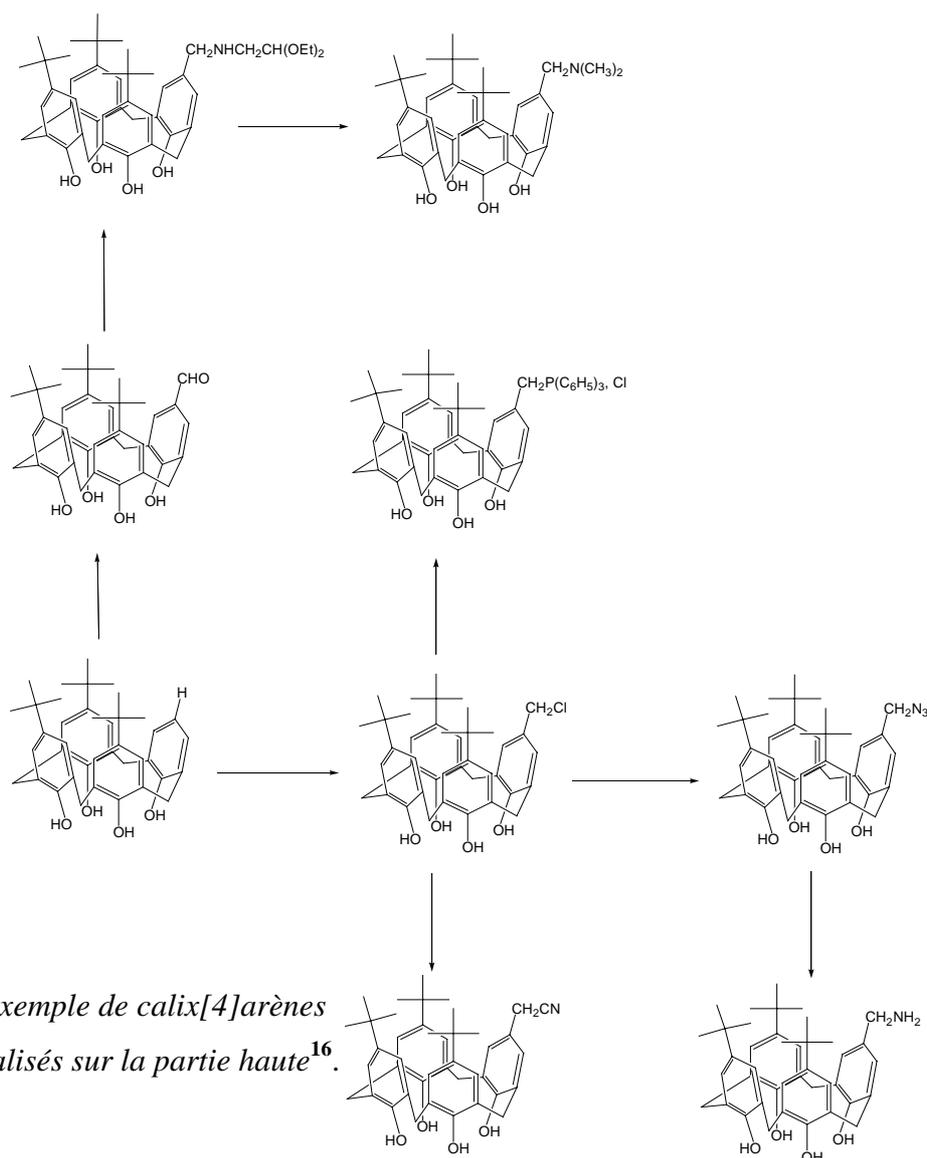


Figure 3.11 : Exemple de calix[4]arènes monofonctionnalisés sur la partie haute¹⁶.

3. Objectifs recherchés, choix des fonctions

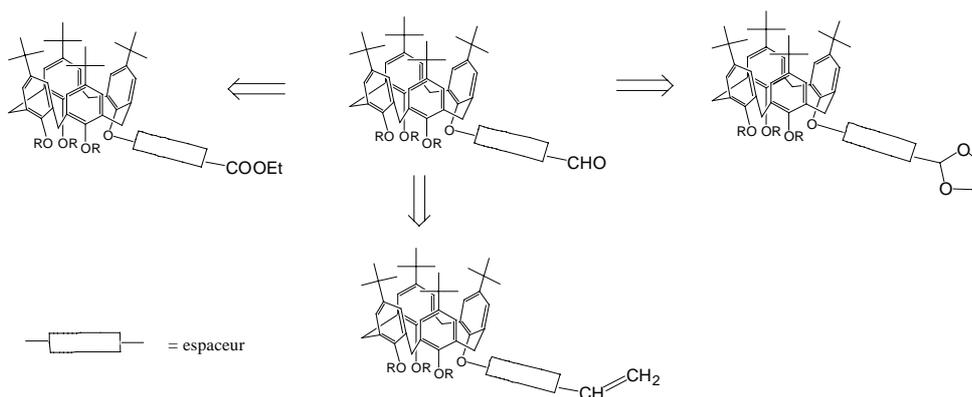
3.1 Dans le projet greffage de calix[4]arène sur polymère naturel

Notre choix s'est porté prioritairement sur un polymère naturel, en particulier : **la cellulose**, car très abondante, peu coûteuse, biocompatible et disponible sous des formes variées (poudre, papier, gaze...) ou encore le **dextran** car soluble dans l'eau, le DMSO. Nous cherchons à incorporer des groupes fonctionnels aptes à réagir de façon covalente sur un polymère naturel sachant que :

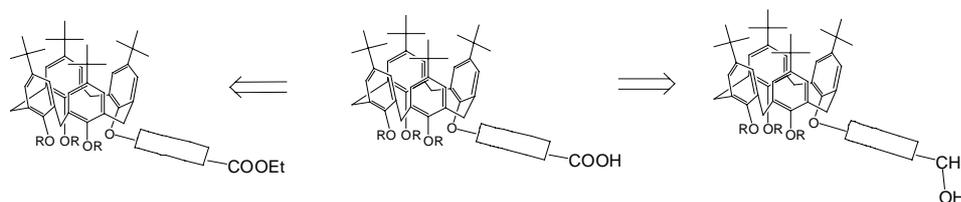
- la fonction NH_2 réagit sur la cellulose ou le dextran en présence de chlorure de cyanuryle qui joue le rôle d'agent de jonction (voir chapitre 4).
- la fonction aldéhyde CHO réagit directement sur la fonction NH_2 des motifs glucosamine dans le chitosane en présence de NaBH_3CN , pour donner une amine secondaire.

Ces fonctions peuvent être obtenues à partir de méthodes relativement simples décrites ci-dessous sur la figure 3.12.

Accès à une fonction aldéhyde sur la partie basse du calix[4]arène :



Accès à une fonction acide sur la partie basse du calix[4]arène :



Accès à une fonction amine sur la partie basse du calix[4]arène :

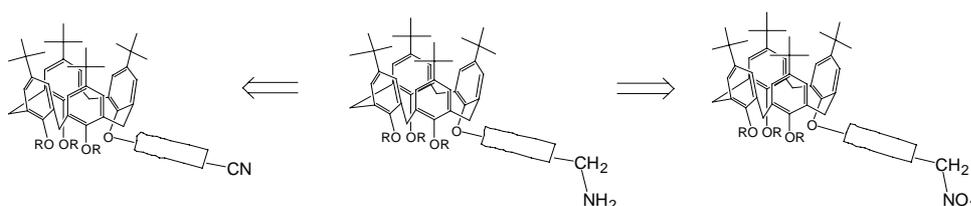


Figure 3.12 : Schéma rétrosynthétique justifiant le choix des fonctions à incorporer sur un calix[4]arène.

3.2 Dans le projet greffage du tripeptide RGD

Il s'agit d'obtenir également un calix[4]arène pourvu d'une fonction acide carboxylique, qui puisse réagir par couplage peptidique sur la partie N-terminale du tripeptide RGD benzylamide. Un fois peptidisé sur ses parties N- et C-terminales, ce RGD présente une bioactivité¹⁷ qui permettrait d'envisager son utilisation en temps qu'antenne de reconnaissance supportée par un calix[4]arène. Ce projet est décrit dans le chapitre 6.

3.3 Autres applications possibles du calix[4]arène monofonctionnalisé

Nous cherchons à incorporer une fonction alcène qui puisse ouvrir la voie à des réactions de polymérisation ou de création de chaînes de longueurs variables par des réactions de type Wittig (figure 3.13).

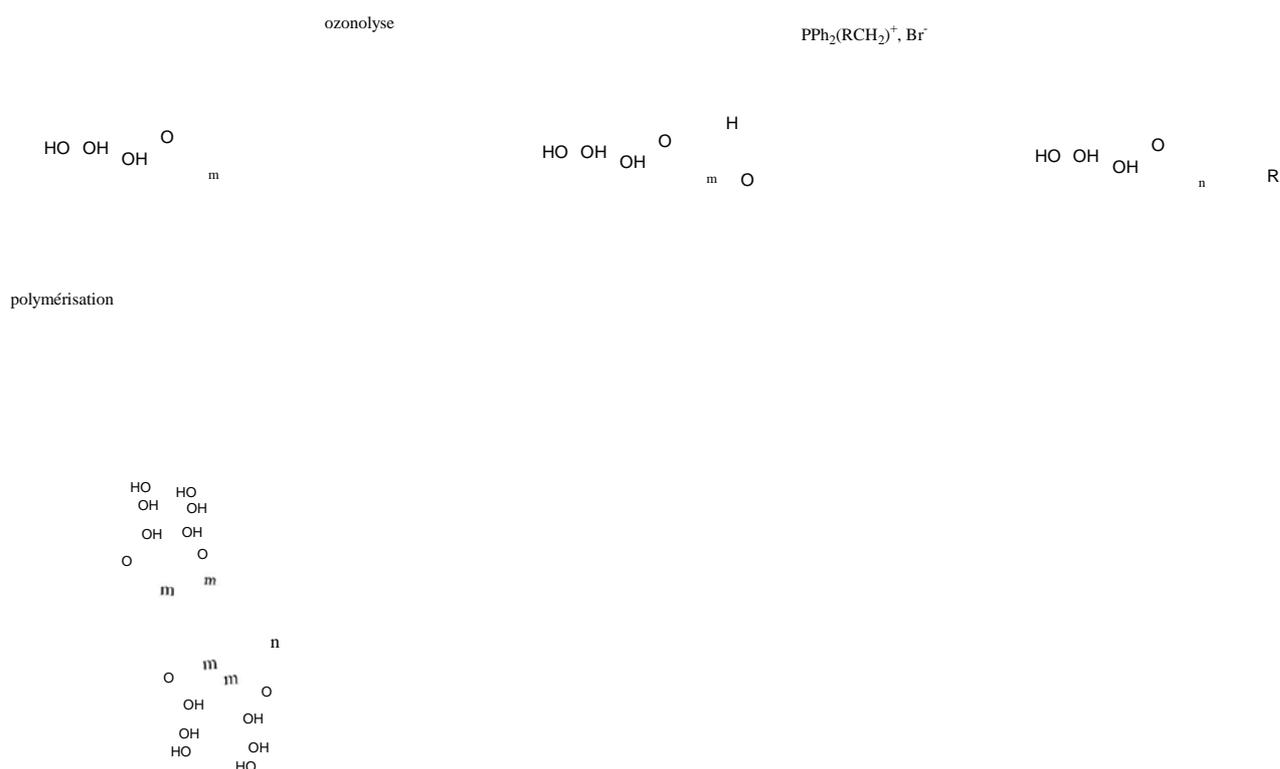


Figure 3.13 : Réactions possibles, de type Wittig ou de polymérisation, à partir d'un calix[4]arène, pourvu d'un fonction alcène terminale sur la partie basse.

4. Monofonctionnalisation sélective sur la partie basse d'un calix[4]arène

4.1 Introduction

Notre méthode consiste à préparer trois séries de composés monofonctionnalisés, à partir des trois calix[4]arènes, nommés A, B et C, et décrit ci-dessous.

- **p-tert-butylcalix[4]arène (A)**

Le calix[4]arène de base, disponible en grande quantité, permettra de tester la mise au point des réactions de monofonctionnalisation, contrôlées par l'utilisation de K_2CO_3 ou $NaHCO_3$. Ce composé, qui adopte une conformation cône en solution, en raison de la présence des liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupements hydroxyles des phénols (voir chapitre 2), permettra également de vérifier si nos réactions n'affectent pas cette dernière.

- **25,26,27-triméthyl-p-tert-butylcalix[4]arène (B)**

Notre choix du calix[4]arène **B** se justifie par le fait qu'il ne possède qu'un seul site capable de réagir avec une base forte et des groupements méthoxy capable de résister à ces conditions réactionnelles. Ces groupements font donc également office de groupement protecteur des hydroxyles phénoliques du calix[4]arène. C'est un composé aisément accessible, sur lequel nous pourrions valider des méthodes de monofonctionnalisation, avant de les appliquer au calix[4]arène **C**, dont la préparation est nettement plus délicate et coûteuse. Le calix[4]arène **B** a été préparé selon la méthode de Gutsche²¹. Notons que ce composé adopté une conformation cône partielle, décrite dans le chapitre 2.

- **25,26,27-tris[bipyridyl]-p-tert-butylcalix[4]arène (C)**

Le calix[4]arène **C** ne possède également qu'un seul site capable de réagir. Outre ses propriétés de complexation de cations de métaux de transition, déjà décrites, il présente, en solution, une conformation cône, dont l'objectif est la conservation de cette dernière après l'incorporation de fonctionnalité. Nous avons développé une nouvelle voie de synthèse faisant appel au travail de Pellet-Rostaing ($BaO + Ba(OH)_2$)¹⁸.

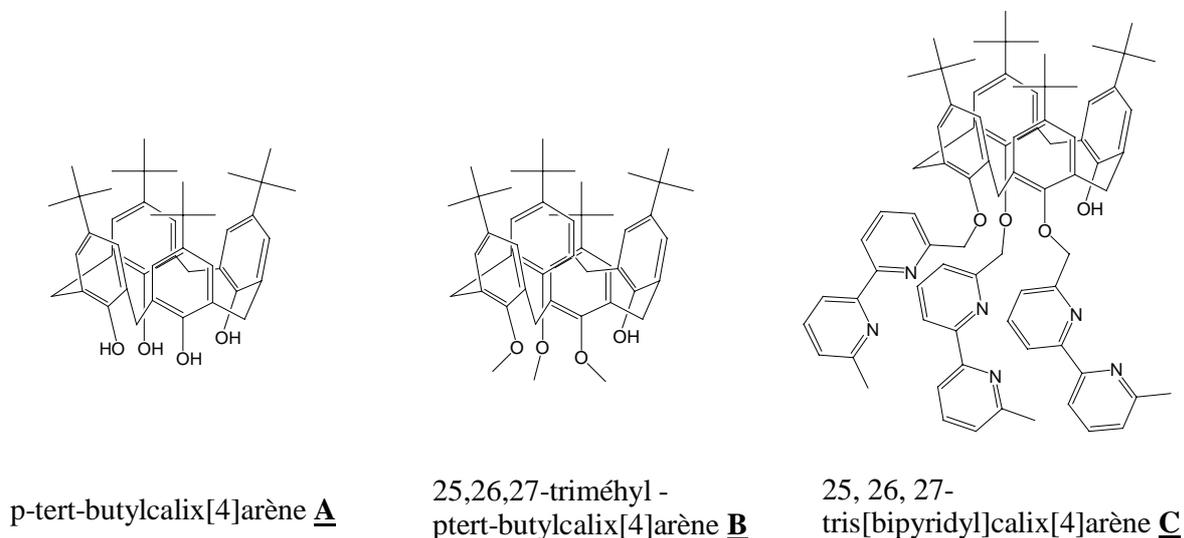


Figure 3.14 : Calix[4]arène **A** tétrol, calix[4]arène **B** triméthoxy et calix[4]arène **C** trisbipyridyle.

4.2 Premières approches : travail sur le calix[4]arène **A** tétrol

4.2.1 Méthode

Nous choisissons de réaliser la monofonctionnalisation sur la partie basse du calix[4]arène **A**. La méthode générale sera de mettre en contact un composé bromé porteur de fonctions de type acétal, undécènyle, valérate d'éthyle et p -nitrophénoxy en présence d'un équivalent de NaHCO_3 dans l'acétonitrile et de porter à reflux¹⁹. Les composés bromés sont ceux disponibles dans le commerce, à l'exception du composé 1-bromo-3- p -nitrophénoxy propane, préparé à partir de la méthode mise au point par Dodic et coll.²⁰ à partir de 1,3-dibromopropane et de paranitrophénol (figure 3.15).

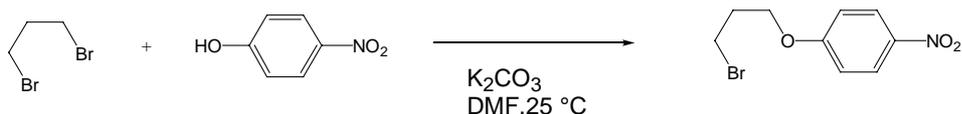


Figure 3.15 : Préparation du 1-bromo-3- p -nitrophénoxy propane à partir du 1,3-dibromopropane et du paranitrophénol²⁰.

4.2.2 Incorporation d'une fonction acétal sur le calix[4]arène **A**

Notre objectif est d'obtenir une seule fonction aldéhyde sur la partie basse du p -tert-butylcalix[4]arène (ou calix[4]arène **A**). L'incorporation d'un groupement acétal permettrait ainsi par une réaction suivante d'hydrolyse de recouvrir une fonction aldéhyde. Nous utilisons le composé commercial 2-(2-bromoéthyl)-1,3-dioxolane, mis en contact avec le calix[4]arène **A** et NaHCO_3 , à reflux dans l'acétonitrile.

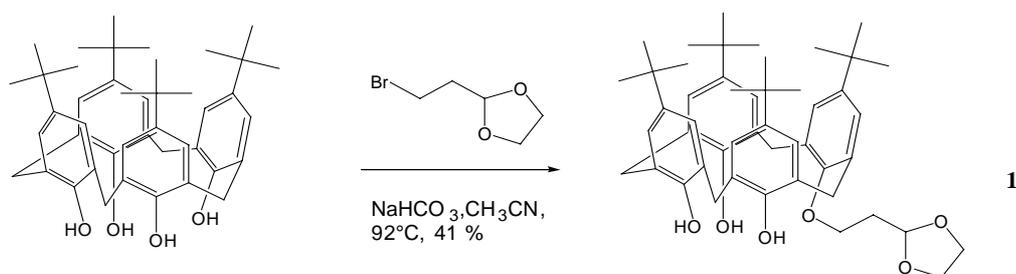


Figure 3.16 : Introduction d'une fonction acétal sur la partie basse du *p*-*tert*-butylcalix[4]arène.

Cependant, la formation simultanée du composé 1,3 bisubstitué sur le calix[4]arène (observée sur plaque de chromatographie sur couche mince) nous impose la séparation de ce dernier et du monosubstitué par chromatographie, ce qui explique un rendement très moyen (41 %). Les analyses RMN ^1H du composé **1** (figures 3.17 et 3.18), présente les signaux de résonance attendus, et nous confirment la conservation de la conformation cône. En effet, nous sommes en présence de deux systèmes AB caractéristiques des méthylènes pontant du calix[4]arène en conformation cône²¹ (voir figure 2.14).

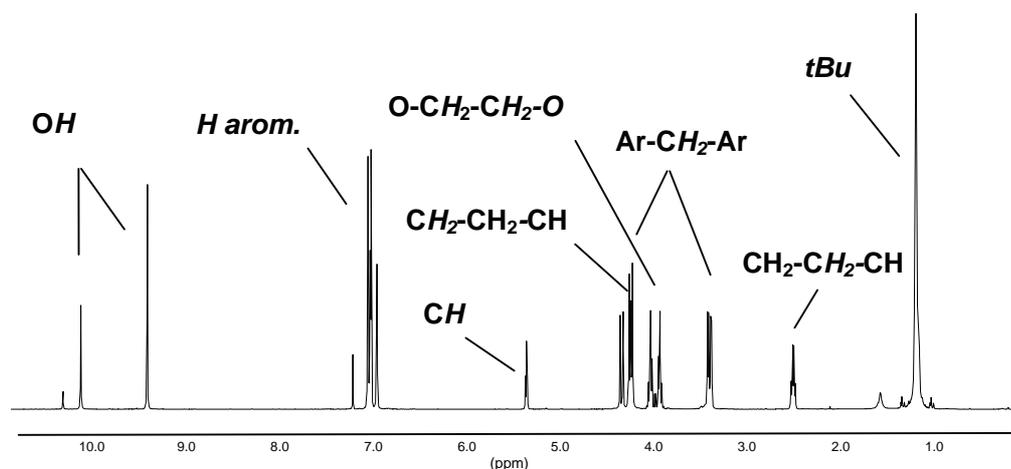


Figure 3.17 : Spectre RMN ^1H du composé **1** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

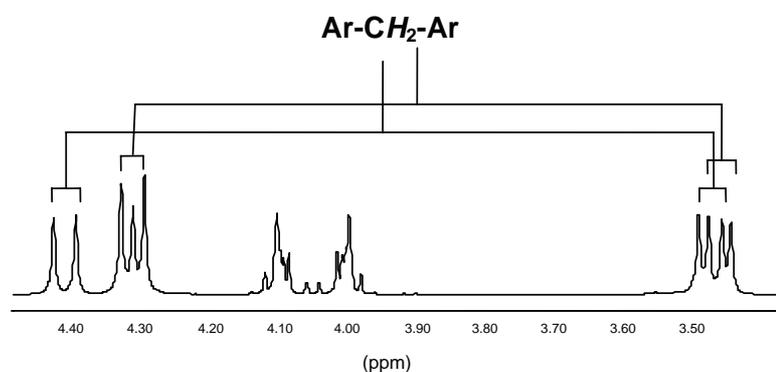


Figure 3.18 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **1** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

L'analyse en RMN ^{13}C (figures 3.19 et 3.20) nous confirme également la conformation cône du composé **1**. En effet, d'après de Mendoza et coll.²², la présence de deux singulets caractéristiques des méthylènes pontant du calix[4]arène existe pour une conformation cône de ce dernier (voir figure 2.12).

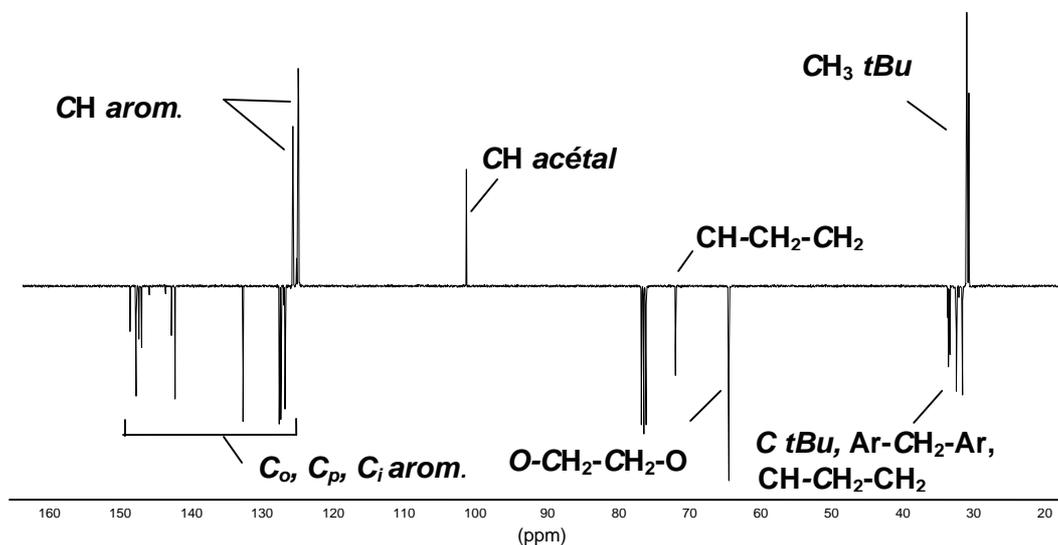


Figure 3.19 : Spectre RMN ^{13}C du composé **1** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

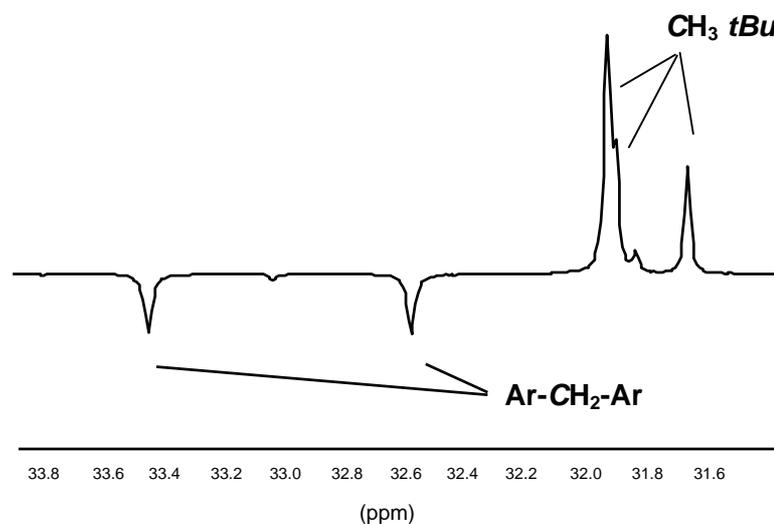


Figure 3.20: Spectre RMN ^{13}C partiel du composé **1** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

4.2.3 Incorporation d'une fonction undécényle sur le calix[4]arène **A**

L'incorporation d'une fonction undécényle sur la partie basse du calix[4]arène **A** pourrait nous rendre possible la polymérisation du composé **2** obtenu, *via* la double liaison en bout de chaîne. La mise en contact du 11-bromoundéc-1-ène avec le calix[4]arène **A** dans les mêmes conditions que précédemment aboutit au composé **2**, isolable, après chromatographie,

sous forme d'une huile. Notons les faibles rendements, dus à la formation d'autres composés, essentiellement 1,3 et 1,2 bi-substitués.

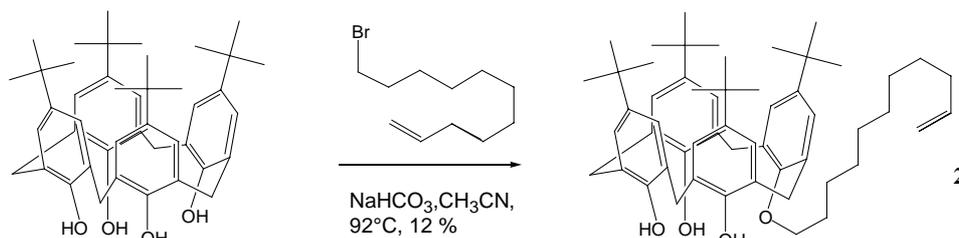


Figure 3.21 : Introduction d'une fonction undécényle sur la partie basse du *p*-*tert*-butylcalix[4]arène.

L'analyse spectroscopique RMN ^1H (figure 3.22) en solution nous montre l'existence des systèmes AB pour les protons Ar-CH₂-Ar de la couronne calixarénique, et confirme ainsi la conservation de la conformation cône du composé **2**. L'état physique à température ambiante (huile) du composé **2** n'autorise cependant pas d'analyses complémentaires.

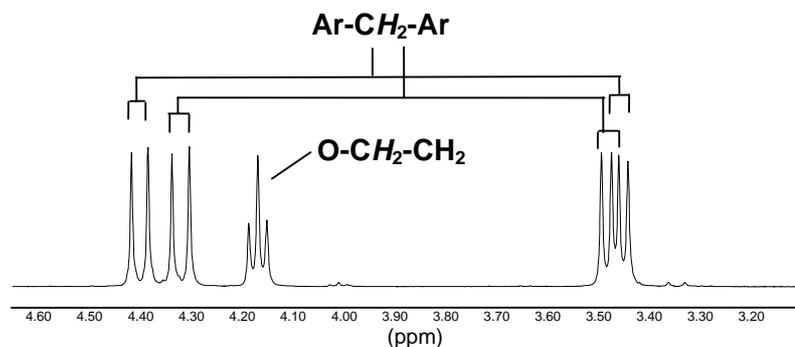


Figure 3.22 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **2** (400 MHz, *t.a.*, CDCl₃).

4.2.4 Incorporation d'une fonction valérate d'éthyle sur le calix[4]arène A

Une fonction ester est potentiellement convertible en fonction acide (*via* saponification) ou aldéhyde (*via* réduction par les hydrures). L'incorporation d'un bras de type valérate d'éthyle est réalisée par mise en contact du bromovalérate d'éthyle (5-bromopentanoate d'éthyle) en présence de K₂CO₃ dans l'acétonitrile à reflux. La formation de produit disubstitué s'observe également. Le composé **3** est isolable après chromatographie sur colonne de silice.

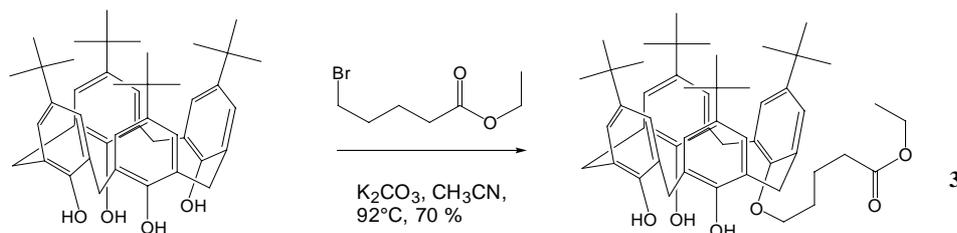


Figure 3.23 : Introduction d'une fonction valérate d'éthyle sur la partie basse du *p*-*tert*-butylcalix[4]arène.

L'analyse spectroscopique RMN ^1H (figures 3.24 et 3.25) en solution nous montre l'existence des systèmes AB pour les protons $\text{Ar-CH}_2\text{-Ar}$ de la couronne calixarénique, et confirme ainsi la conservation de la conformation cône du composé **3**.

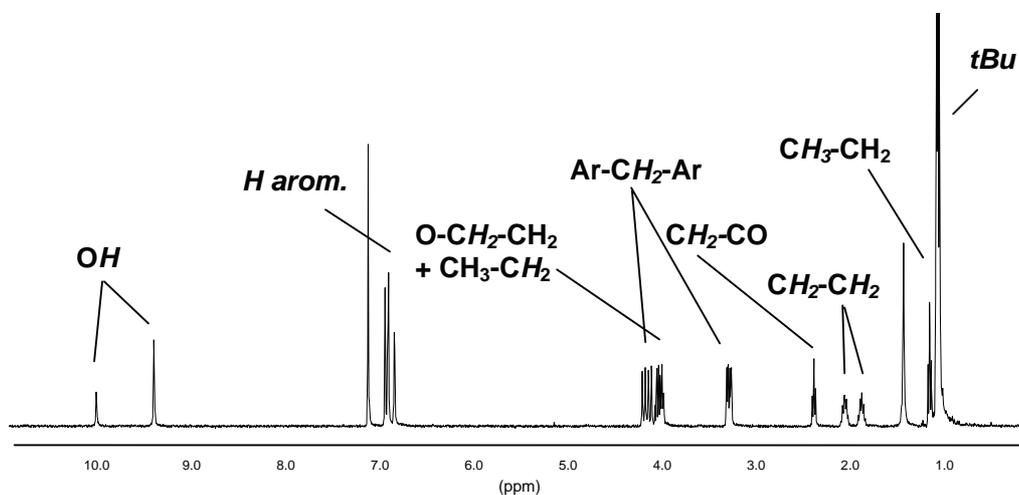


Figure 3.24 : Spectre RMN ^1H du composé **3** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

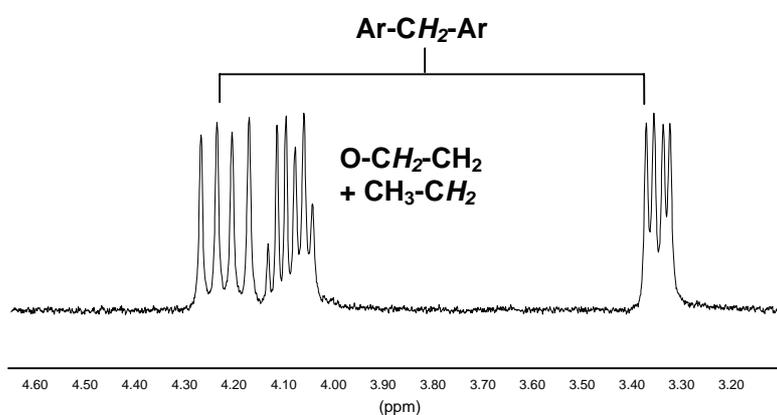


Figure 3.25 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **3** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

4.2.5. Incorporation d'une fonction *p*-nitrophénoxy sur le calix[4]arène **A**

Le 1-bromo-3-*p*-nitrophénoxy propane, synthétisé au préalable, est mis en contact avec le calix[4]arène en présence de NaHCO_3 dans l'acétonitrile à reflux. Nous obtenons le composé **4** porteur d'une fonction nitro (figure 3.26), potentiellement convertible en fonction amine, dans le cadre de notre projet de greffage sur polymère naturel.

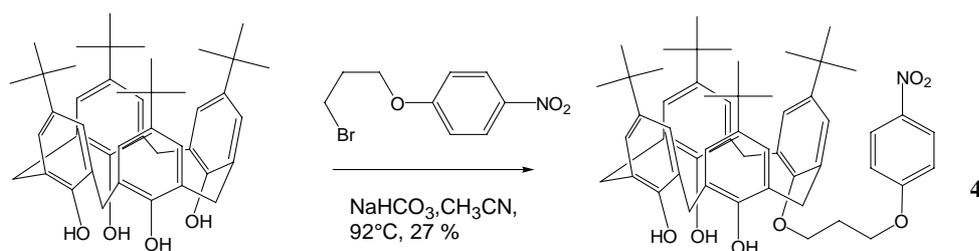


Figure 3.26 : Introduction d'une fonction *p*-nitrophénoxy sur la partie basse du *p*-tert-butyl-calix[4]arène.

Les analyses RMN ^1H en solution nous confirment la conservation de la conformation cône du composé **4**.

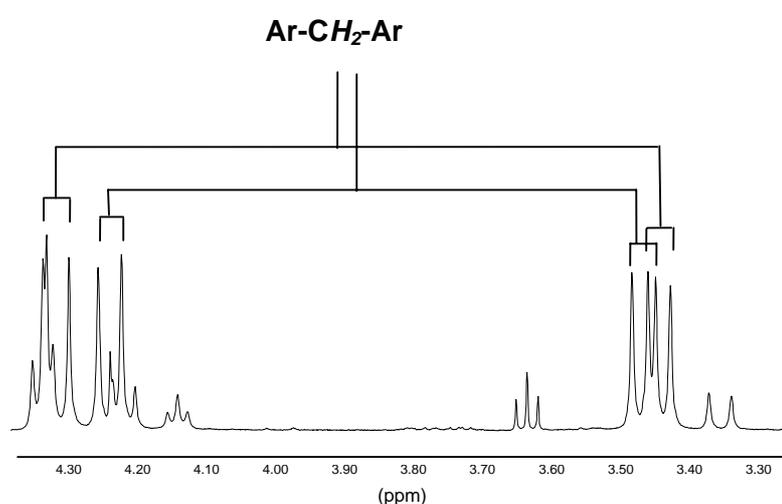


Figure 3.27 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **4** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

4.2.6 Conclusion

Nous avons réalisé l'incorporation sur la partie basse du *p*-tert-butylcalix[4]arène des fonctions suivantes : acétal, undécényle, valérate d'éthyle et *p*-nitrophénoxy. La conformation cône des composés **1**, **2**, **3** et **4** obtenus est conservée et confirmée par les spectroscopies RMN ^1H et ^{13}C .

Cependant, ces synthèses présentent de faibles rendements ; nous cherchons donc à présent à travailler de telle façon à obtenir un produit de monofonctionnalisation unique sans formation de produit secondaire di- et tri-substitué. Ainsi, nous avons choisi de travailler sur des calix[4]arènes tétrol protégés sur trois des quatre groupements hydroxyles de la partie basse, c'est-à-dire ne présentant qu'un seul site hydroxyle potentiellement réactif. Il s'agit pour nous de redéfinir la méthode, en termes de choix de la base et de solvant.

4.3 Fonctionnalisation sur le calix[4]arène **B** ou 25,26,27-triméthyl-p-tert-butylcalix[4]arène (**B**)

4.3.1 Propriétés du calix[4]arène **B**

Notre choix du calix[4]arène **B** se justifie par le fait qu'il ne possède qu'un seul site capable de réagir avec une base forte et des groupements méthoxy capables de résister à ces conditions réactionnelles.

Le calix[4]arène **B** a été préparé selon la méthode d'Araki et coll.²⁸. Le p-tert-butylcalix[4]arène est mis en contact avec CH₃I, et BaO, Ba(OH)₂·8H₂O dans le DMF à température ambiante.

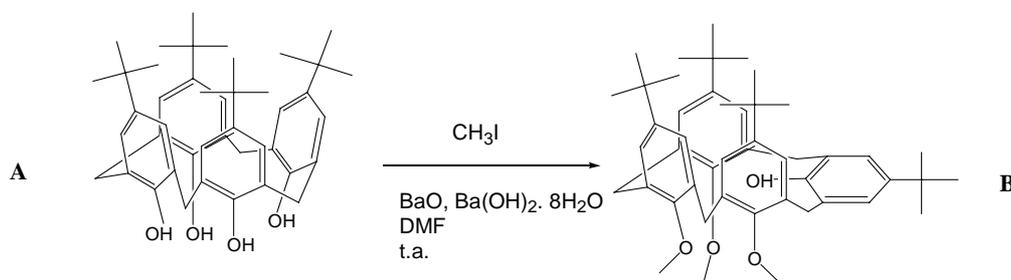


Figure 3.28 : Préparation du calix[4]arène **B** selon la méthode d'Araki et al.²⁸.

Le calix[4]arène **B** présente une conformation particulière *cône partiel aplati*²¹ évoquée dans le chapitre 2 (figure 2.14).

4.3.2 Méthode de travail sur le calix[4]arène **B**

La méthode générale employée est l'utilisation de NaH, dans le DMF en tant que base forte, ce qui permet d'obtenir un phénolate du calix[4]arène **B**. Ce dernier réagit en présence du dérivé bromé. Cette réaction peut s'effectuer dans un mélange toluène/DMF, favorisant respectivement la dissolution du calix[4]arène et du NaH. Il s'agit d'accéder aux analogues des calix[4]arènes **1**, **2**, **3** et **4**.

4.3.3 Incorporation d'une fonction acétal sur le calix[4]arène **B**

Le réactif commercial 2-(2-bromoéthyl)-1,3-dioxolane, utilisé pour la préparation du composé **1**, nous permet d'accéder à une fonction aldéhyde sur le calix[4]arène **B**. A température ambiante, en présence de NaH dans un mélange toluène/DMF, nous accédons au composé **5**, par précipitation sélective, avec un rendement élevé.

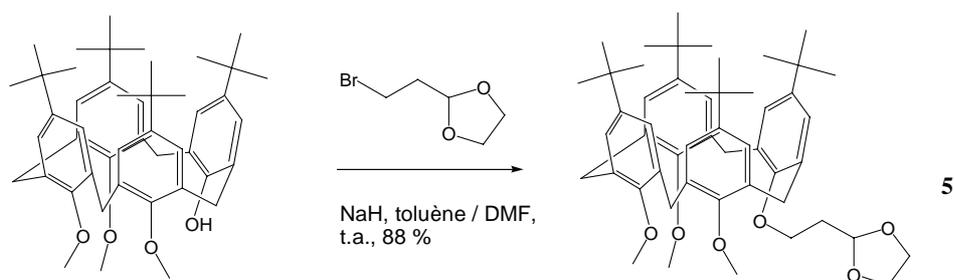


Figure 3.29 : Introduction d'une fonction acétal sur la partie basse du calix[4]arène **B**.

Les analyses spectroscopiques RMN ^1H en solution du composé **5** sont difficilement exploitables (figure 3.30). En effet, le composé **5** obtenu n'adopte pas de conformation moyenne déterminée, et on peut supposer qu'il n'est pas possible de recouvrir une conformation moyenne à partir de la conformation intermédiaire cône aplati du calixarène **B**.

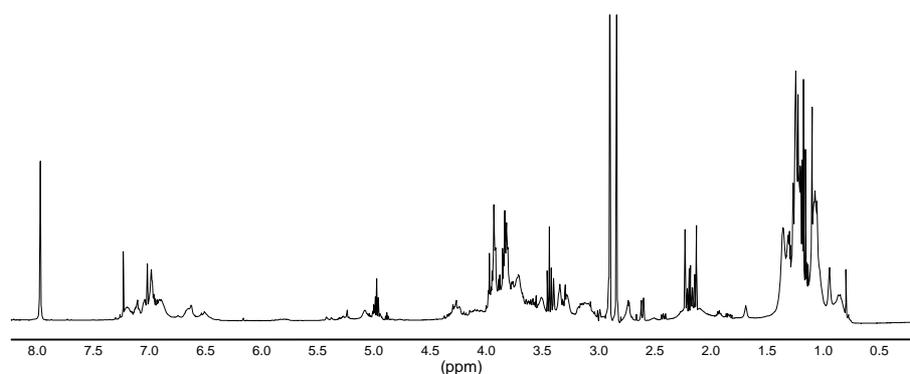


Figure 3.30 : Spectre RMN ^1H du composé **5** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

Le composé **5** et son analogue (le composé **1**) n'adoptent pas la même conformation en solution (figure 3.31).

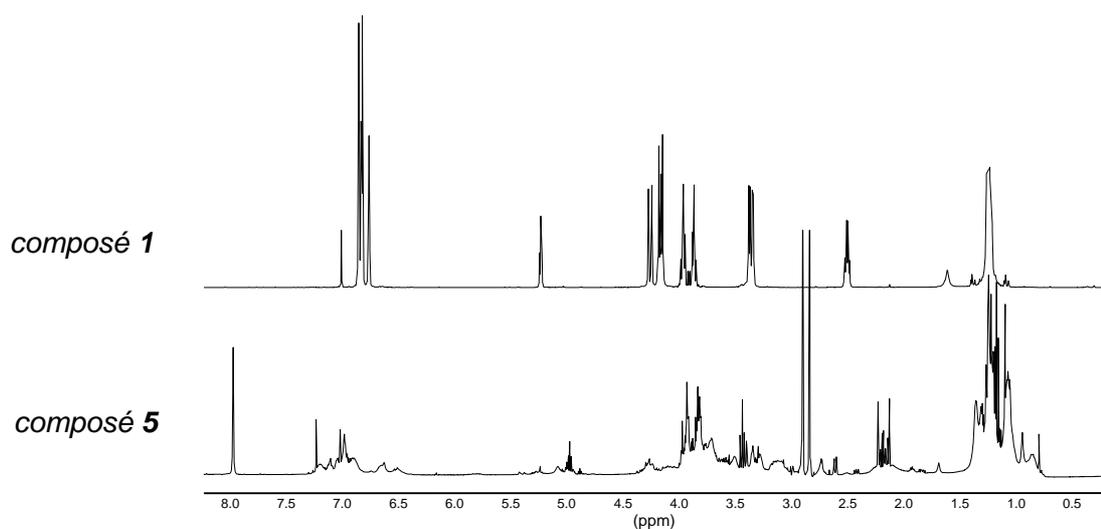


Figure 3.31 : Spectres RMN ^1H des composés **1** et **5** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

La spectrométrie de masse (figure 3.32) et l'analyse élémentaire nous sont nécessaires pour démontrer que nous avons bien obtenu la structure attendue pour le composé **5**.

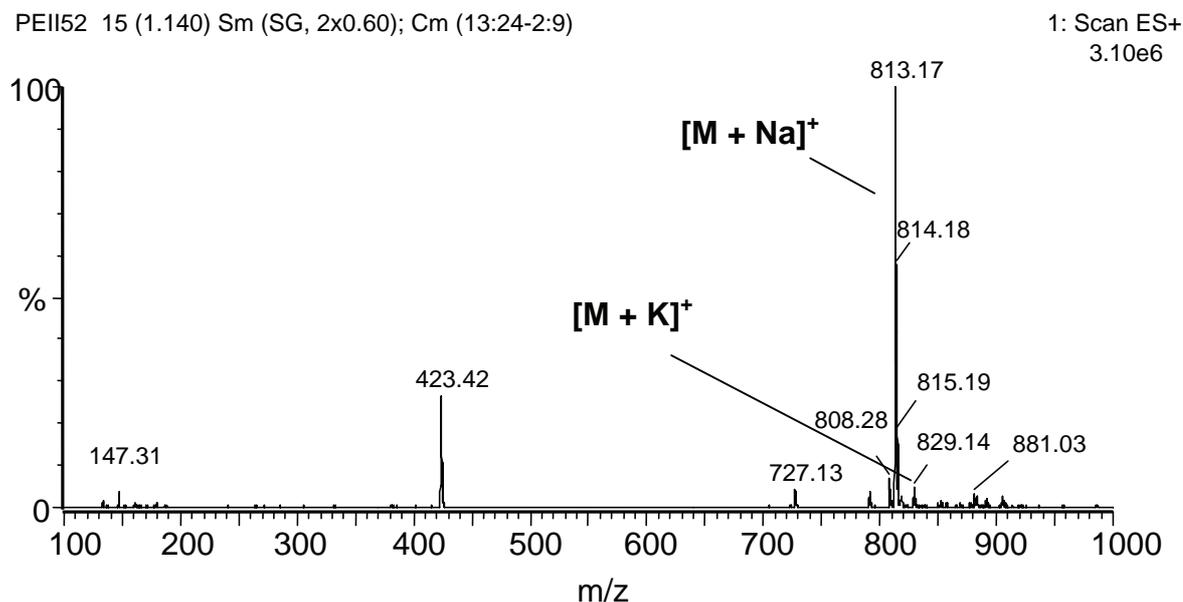


Figure 3.32 : Spectre de masse (ES+) du composé **5**.

4.3.4 Incorporation d'une fonction undécényle sur le calix[4]arène **B**

L'analogue du composé **2** est préparé à partir du même composé commercial, le 11-bromoundéc-1-ène. Ce dernier, mis en contact avec le calix[4]arène **B**, en présence de NaH, dans le DMF et à température ambiante nous permet d'accéder après chromatographie sur colonne de silice, au composé **6**.

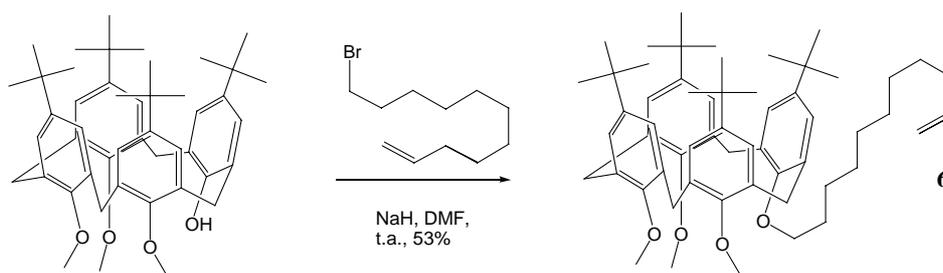


Figure 3.33 : Introduction d'une fonction undécényle sur la partie basse du calix[4]arène **B**.

La conformation du composé **6** en solution n'est cependant pas définie et les spectres RMN ^1H et ^{13}C ne sont pas exploitables (figure 3.34).



Figure 3.34 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **6** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

La spectrométrie de masse (figure 3.35) et l'analyse élémentaire nous sont nécessaire pour démontrer que nous avons bien obtenu la structure attendue pour le composé **6**.

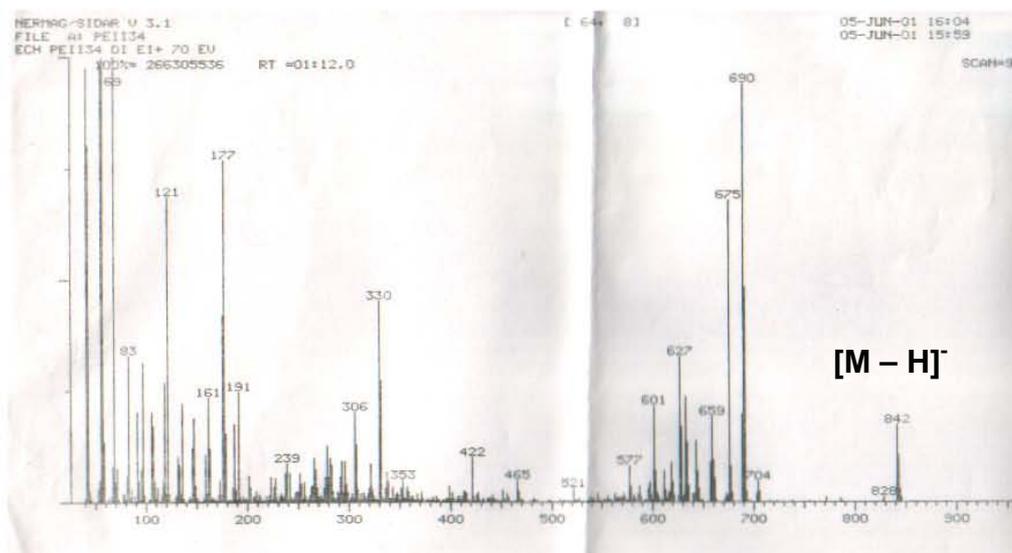


Figure 3.35 : Spectre de masse (ES-) du composé **6**

4.3.5 Incorporation d'une fonction valérate d'éthyle sur le calix[4]arène **B**

L'analogue du composé **3**, porteur d'une fonction valérate d'éthyle potentiellement convertible en une fonction acide ou aldéhyde, s'obtient par mise en contact du bromovalérate d'éthyle dans un mélange toluène/DMF en présence de NaH à température ambiante. Après chromatographie sur colonne d'alumine, nous obtenons le composé **7** qui présente, comme ses homologues une conformation indéterminée en solution.

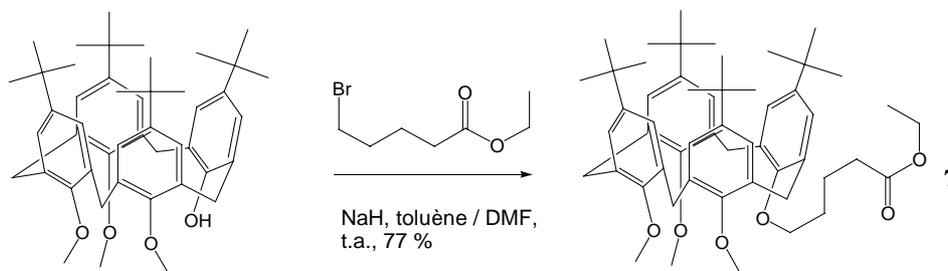


Figure 3.36 : Introduction d'une fonction valérate d'éthyle sur la partie basse du calix[4]arène **B**.

La conformation du composé **7** en solution n'est cependant pas définie et les spectres RMN ^1H et ^{13}C ne sont pas exploitables (figure 3.37).

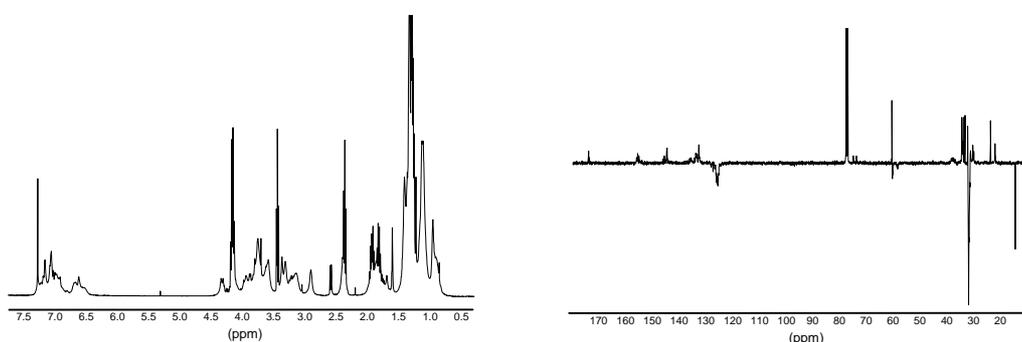


Figure 3.37 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **7** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

La spectrométrie de masse (figure 3.38) et l'analyse élémentaire nous sont nécessaires pour démontrer que nous avons bien obtenu la structure attendue pour le composé **7**.

2PE137 21 (1.602) Sm (SG, 2x0.60); Cm (14:24-2:9)

1: Scan ES+
5.15e6

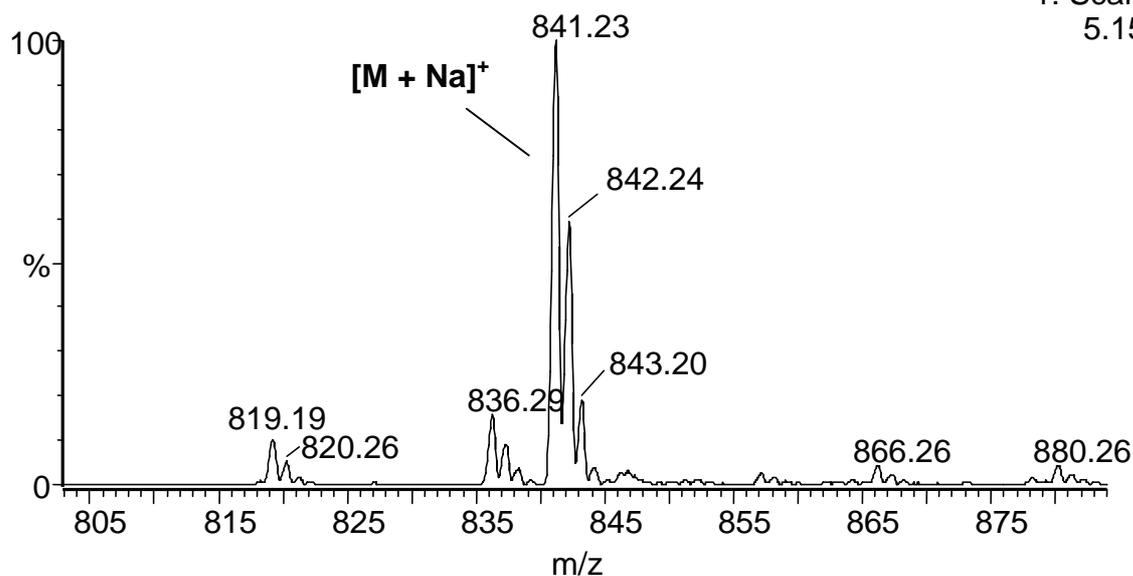


Figure 3.38 : Spectre de masse (ES+) du composé **7**.

4.3.6 Incorporation d'une fonction *p*-nitrophénoxy sur le calix[4]arène **B**

L'analogue du composé **4**, porteur d'une fonction *p*-nitrophénoxy, potentiellement convertible en une fonction amine, s'obtient par mise en contact du 1-bromo-3-*p*-nitrophénoxy propane (voir figure 3.15 pour la préparation) dans un mélange toluène/DMF en présence de NaH à température ambiante. Après chromatographie sur colonne de silice, nous obtenons le composé **8** qui présente, comme ses homologues **5**, **6** et **7**, une conformation indéterminée en solution.

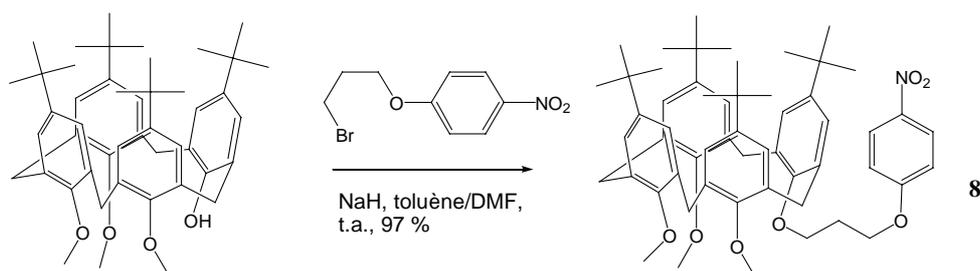


Figure 3.39 : Introduction d'une fonction *p*-nitrophénoxy sur la partie basse du calix[4]arène **B**.

La conformation du composé **8** en solution n'est pas définie et le spectre RMN ^1H n'est pas exploitable (figure 3.40).

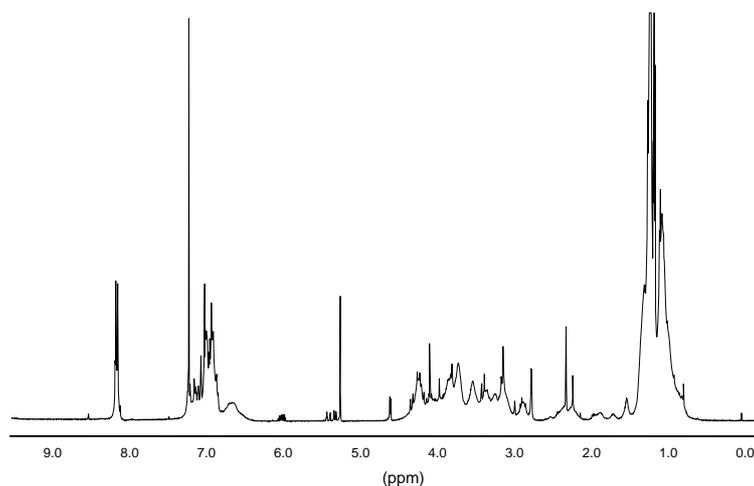


Figure 3.40 : Spectre RMN ^1H du composé **8** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

La spectrométrie de masse (figure 3.41) et l'analyse élémentaire nous sont nécessaires pour démontrer que nous avons bien obtenu la structure attendue pour le composé **8**.

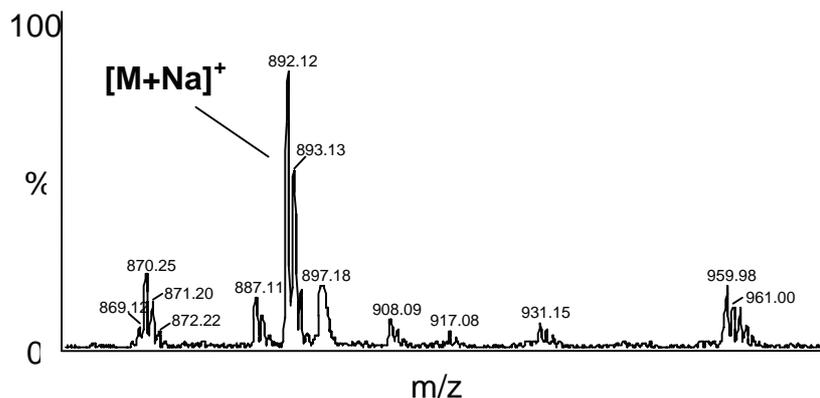


Figure 3.41 : Spectre de masse (ES+) du composé **8**.

4.3.7 Conclusion

Les analyses spectroscopiques RMN nous indiquent que les calix[4]arènes obtenus n'adoptent pas, en solution, de conformation moyenne déterminée (voir figure 3.28), contrairement au calix[4]arène **B** de départ. Les spectres de masse et l'analyse élémentaire nous montrent cependant que nous avons bien obtenu les produits attendus.

4.4 Obtention de composés fonctionnels à partir des composés **1**, **3**, **5**, **7** et **8**

4.4.1 Obtention des composés pourvus d'une fonction aldéhyde à partir des composés **1** et **5**

Nous avons préparé 2 types de calix[4]arènes potentiellement porteurs d'une fonction aldéhyde. Pour les calix[4]arènes **1** et **5**, les tentatives successives d'hydrolyse des acétals n'ont pas permis d'obtenir les aldéhydes correspondants. On retrouve, après ces tentatives, ces deux composés **1** et **5** intacts.

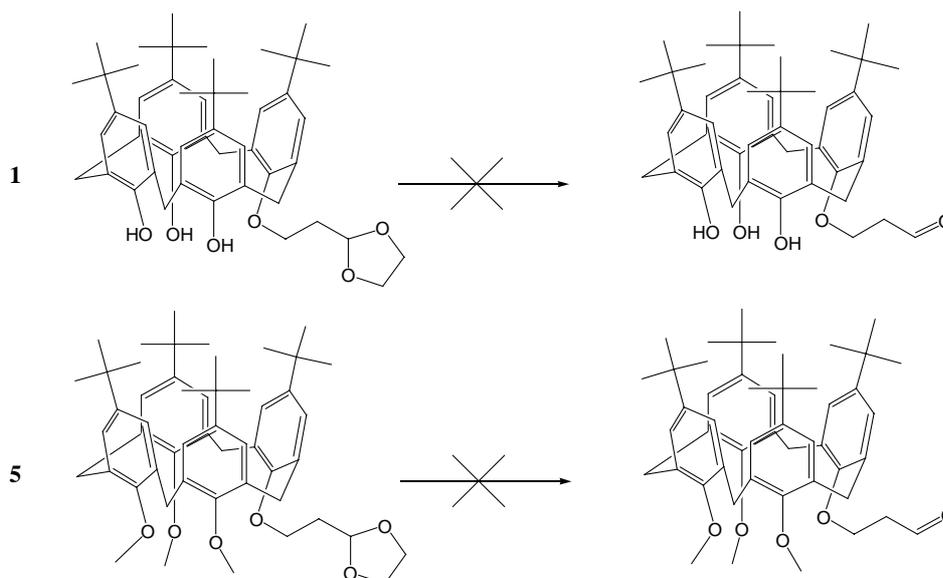


Figure 3.42 : Tentatives d'hydrolyse des acétals **1** et **5** dans différentes conditions : HCl, TsOH, TsOH + SiO₂, AcOH.

Même dans des conditions fortes, les acides utilisés tels que HCl, TsOH, TsOH + SiO₂, AcOH²³ se sont révélés inefficaces. Face à ces étonnants insuccès, nous nous sommes reportés sur le composé **3** monoester. En effet, la tentative de réduction en utilisant du DiBAIH, dans le toluène à -70°C nous a permis d'obtenir une fonction aldéhyde.

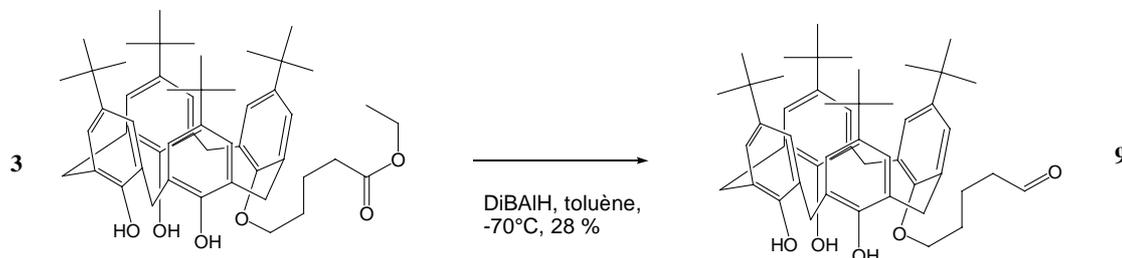


Figure 3.43 : Réduction du composé **3**, calix[4]arène valérate d'éthyle en aldéhyde.

L'analyse des spectres RMN ¹H et ¹³C nous confirme l'obtention du composé **9** attendu (figures 3.44 et 3.45). Ce dernier présente une conformation cône, comme le prévoient Mendoza et coll.²² (figure 3.46).

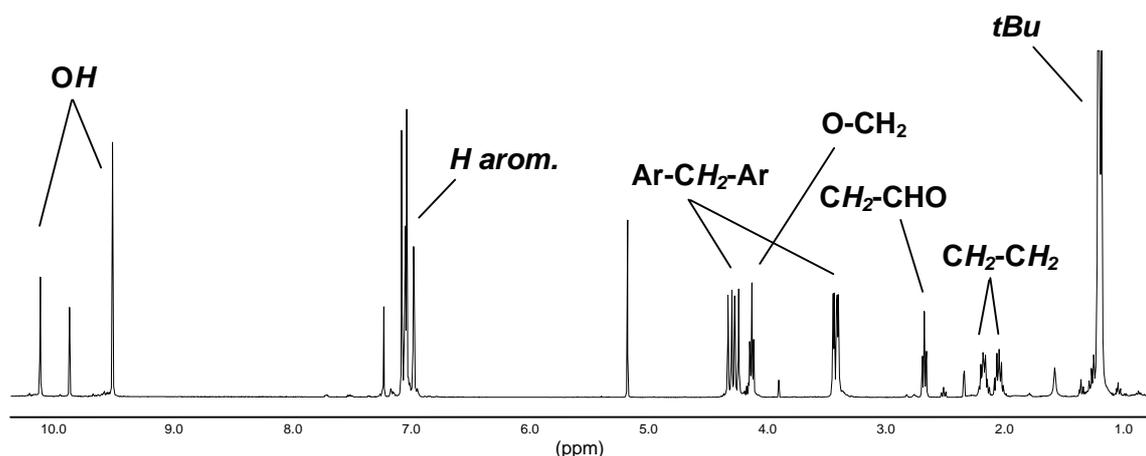


Figure 3.44 : Spectre RMN ¹H du composé **9** (400 MHz, t.a., CDCl₃)

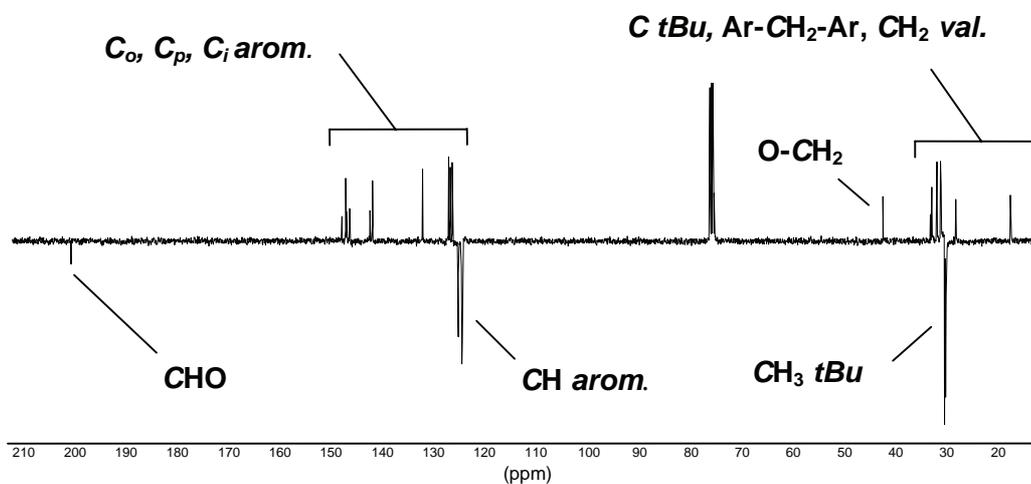


Figure 3.45 : Spectre RMN ¹³C du composé **9** (400 MHz, t.a., CDCl₃).

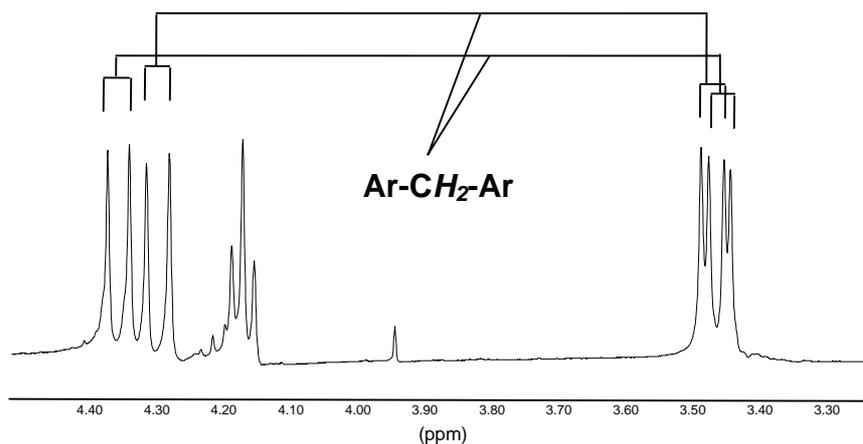


Figure 3.46 : Spectre RMN ^{13}C du composé **9** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

Nous avons appliqué une méthode identique au composé **7**, analogue triméthoxy du composé **3** valérate d'éthyle. Dans les mêmes conditions de réaction, nous obtenons le composé **10** aldéhyde avec un rendement de 85 % (figure 3.47).

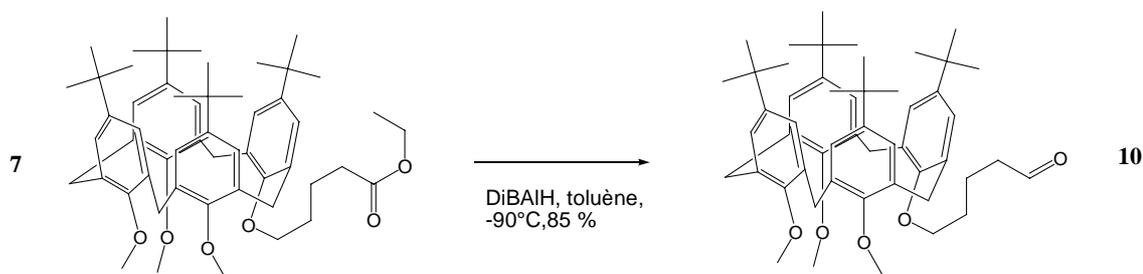


Figure 3.47 : Réduction du composé **7** valérate d'éthyle en aldéhyde.

Pendant, les problèmes de conformation fluxionnelle, rencontrés pour les analogues triméthoxy, se sont posés pour le composé **10**. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C sont peu exploitables (figure 3.48).

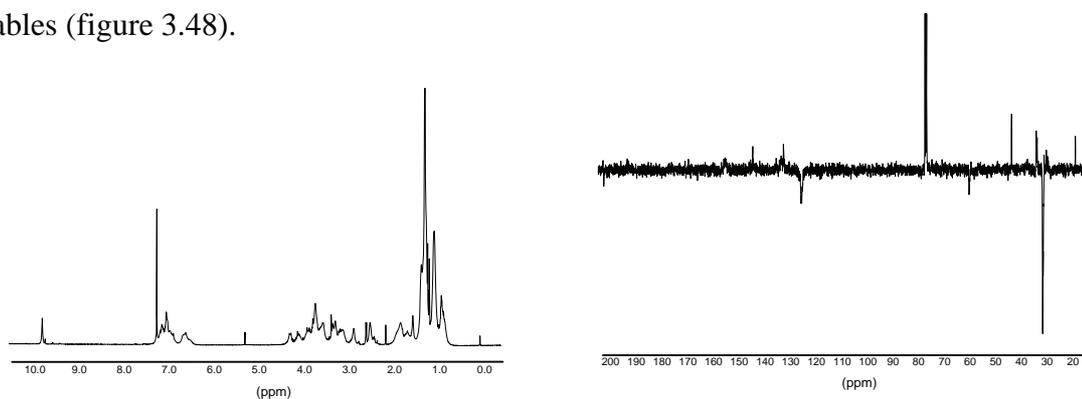


Figure 3.48 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **10** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

Le spectre partiel RMN ^{13}C (figure 3.49), dans les champs faibles (*ca* 200 ppm), la spectrométrie de masse (figure 3.50) ainsi que l'analyse élémentaire confirment que nous avons obtenu l'aldéhyde **10** attendu.

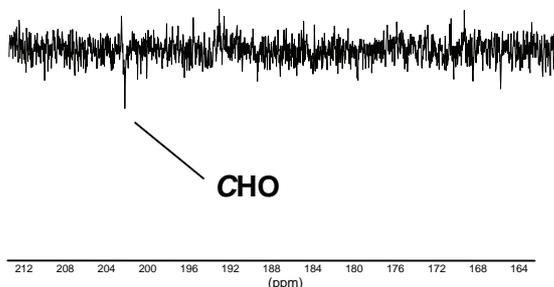


Figure 3.49 : Spectre RMN ^{13}C partiel (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3) du composé **10**.

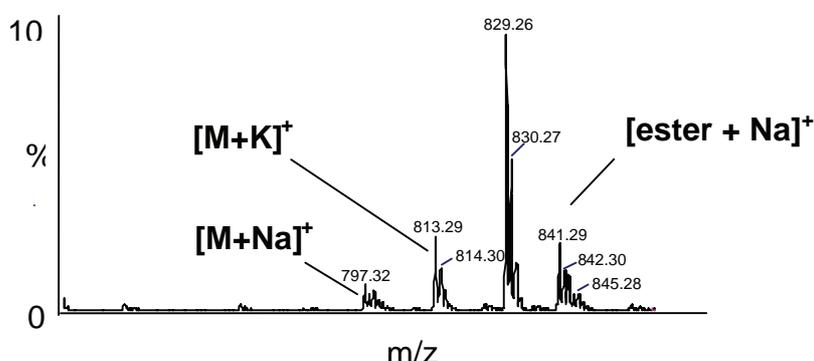


Figure 3.50 : Spectre de masse (ES+) du composé **10**.

4.4.2 Obtention de la fonction amine à partir du composés **8**

A partir de la méthode de réduction du groupement NO_2 aromatique du calix[4]arène **8** par SnCl_2 ²⁴ et adapté de Bellamy²⁵, nous obtenons le calix[4]arène amino **11** correspondant. Ceci nous a permis de vérifier la viabilité de cette réduction. Nous n'avons pas envisagé d'obtenir l'amine, analogue calix[4]arène tétrol **4**, qui, en raison de la présence des phénols libres, est sans doute plus difficile à obtenir.

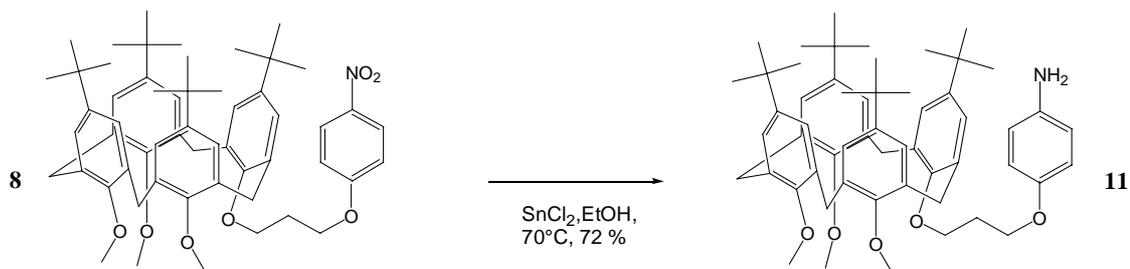


Figure 3.51 : Réduction de la fonction nitro par SnCl_2 dans le calix[4]arène **8**.

Ici encore, les analyses par RMN ^1H et ^{13}C montrent la fluxionalité de la structure calix[4]arène (figure 3.52).



Figure 3.52 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C du composé **11** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

La présence du produit de réduction nous est confirmée par l'analyse élémentaire, la spectrométrie de masse et la spectroscopie infrarouge avec disparition de la bande NO_2 à 1340 cm^{-1} du composé **8** (figure 3.53 et figure 3.54).

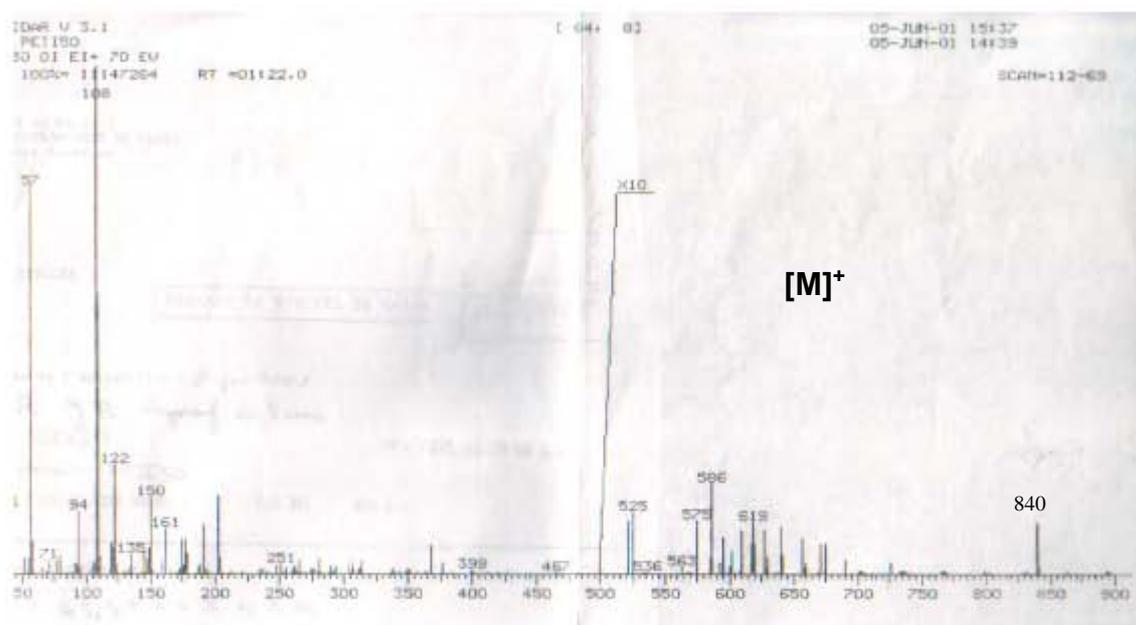


Figure 3.53 : Spectre de masse (ES^+) du composé **8**.

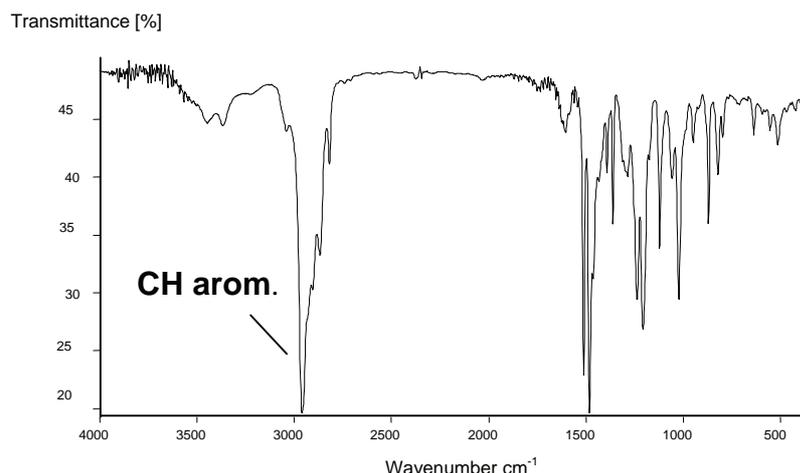


Figure 3.54: Spectre FT-IR (KBr) des composés **8**.

Au cours de cette réaction, il apparaît un produit secondaire, séparable par chromatographie, difficile à caractériser par spectroscopie RMN. Pour éviter cet inconvénient, nous avons réalisé l'hydrogénation catalytique de la fonction NO₂ aromatique du composé **8**, qui donne uniquement le composé **11** (H₂, PtO₂/EtOH/CH₂Cl₂/t.a./96 %).

4.5 Fonctionnalisation sur le calix[4]arène **C** ou trisbipyridyl, **25**, **26**, **27** – tris[bipyridyl]-*p*-*tert*butylcalix[4]arène

4.5.1 Préparation du calix[4]arène **C**

A partir des résultats obtenus et des méthodes mises au point précédemment, sur des modèles aisément accessibles, nous avons monofonctionnalisé le calix[4]arène **C**. Ce trisbipyridyl calix[4]arène, initialement préparé à partir du *p*-*tert*-butylcalix[4]arène et de la 6-bromométhyl-6'-méthyl-2,2'-bipyridine²⁶, a été obtenu, en une étape, et avec un meilleur rendement (79 %) à partir des mêmes réactifs mais en utilisant le couple BaO:Ba(OH)₂ en tant que base dans le DMF²⁷.

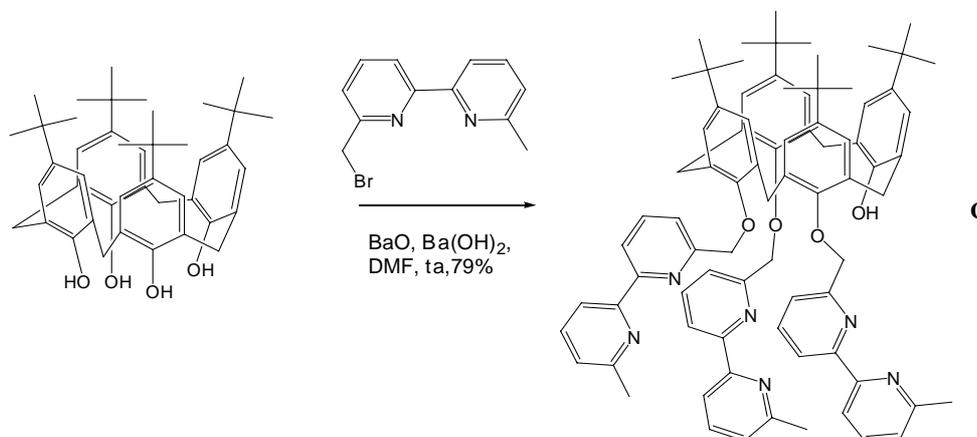


Figure 3.55 : Nouvelle préparation du calix[4]arène **C**, adaptée de Pellet-Rostaing et Regnouf-de-Vains²⁶.

Les analyses structurales RMN ^1H et ^{13}C en solution confirment l'obtention de la structure attendue et montrent que la conformation cône est conservée, selon Mendoza et coll.²² (figures 3.56, 3.57 et 3.58).

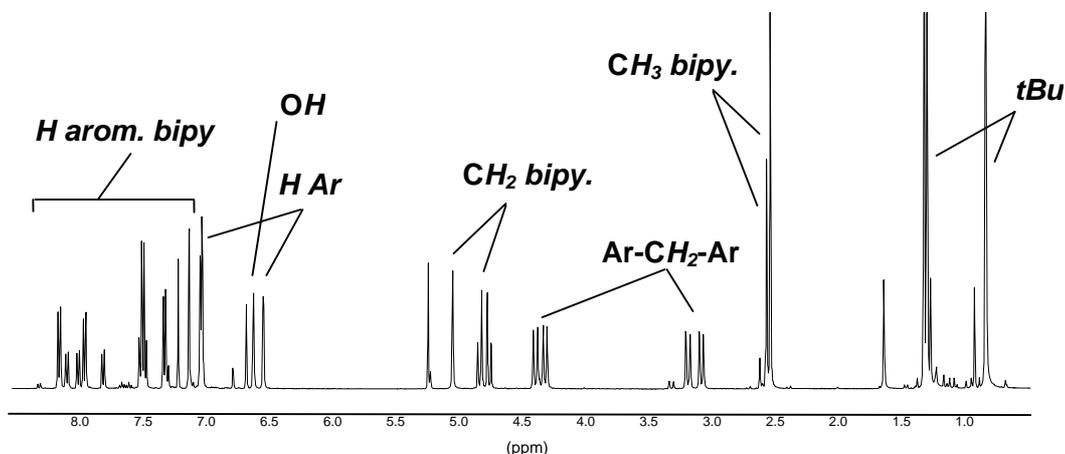


Figure 3.56 : Spectre RMN ^1H du calix[4]arène **C** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

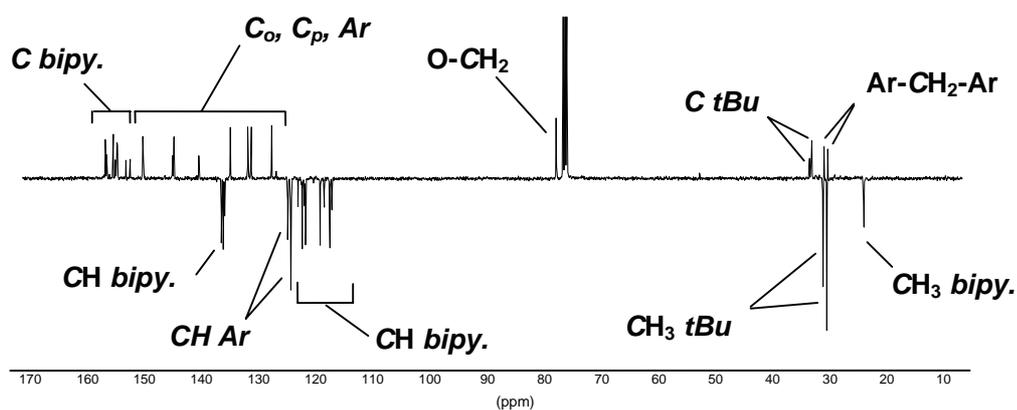


Figure 3.57 : Spectre RMN ^{13}C du calix[4]arène **C** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

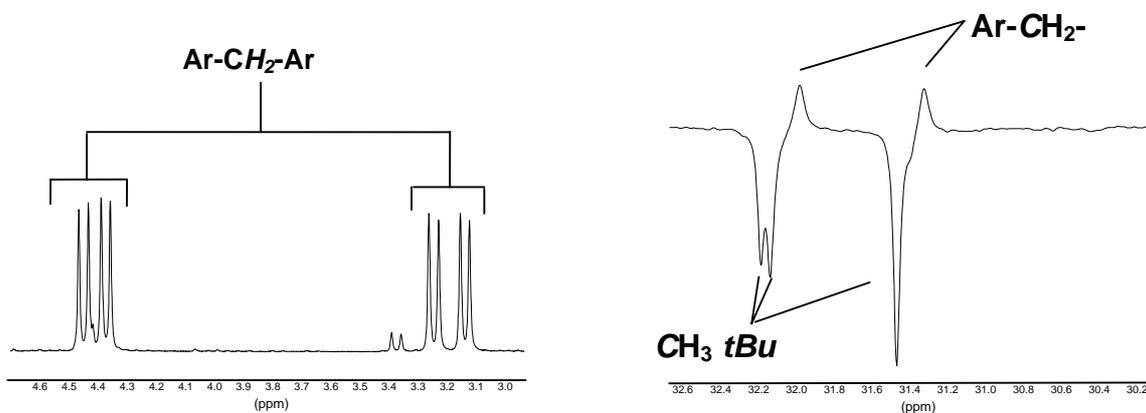


Figure 3.58 : Spectres RMN ^1H et ^{13}C partiels du calix[4]arène **C** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

4.5.2 Incorporation d'une fonction valérate d'éthyle sur le calix[4]arène C

A partir du calix[4]arène **C**, nous adaptons le méthode utilisée pour préparer le composé valérate d'éthyle **7**. La mise en contact du calix[4]arène **C** avec le bromovalérate d'éthyle en présence de NaH, dans le DMF, nous permet d'obtenir, après chromatographie sur alumine, le composé **12**, avec un rendement de 62 %.

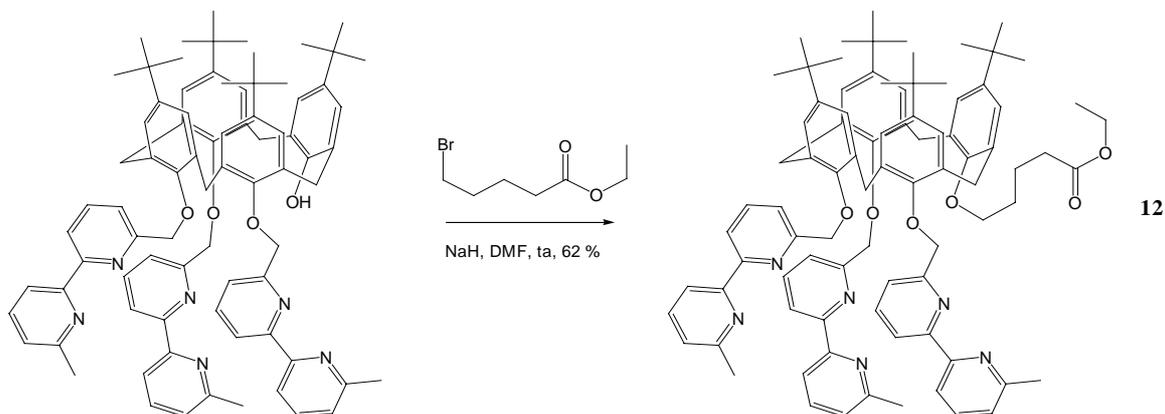


Figure 3.59 : Introduction d'une fonction valérate d'éthyle sur la partie basse du calix[4]arène **C**.

Les analyses RMN ^1H et ^{13}C en solution confirment l'obtention de la structure attendue pour le composé **12** (figures 3.60 et 3.61), et montrent que la conformation cône est conservée, selon Mendoza et coll.²² (figures 3.62 et 3.63).

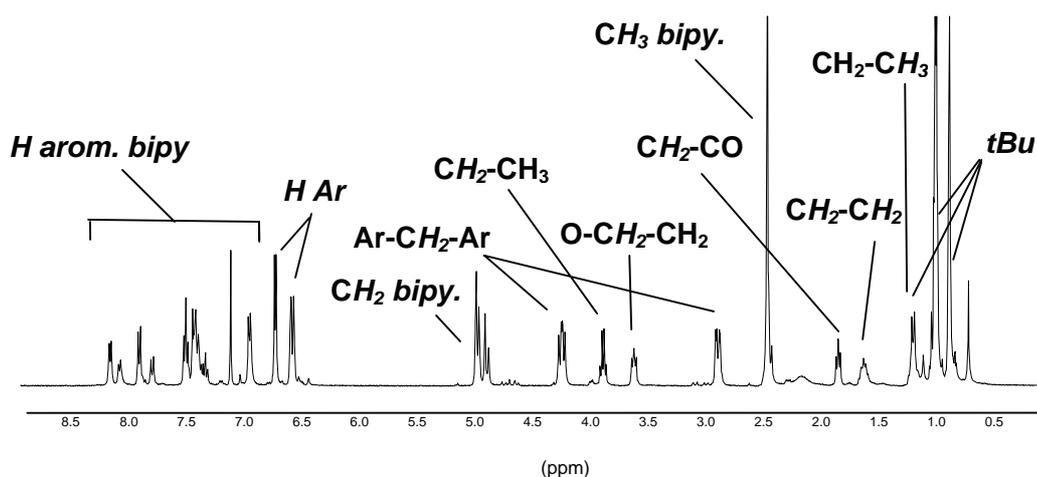


Figure 3.60 : Spectre RMN ^1H du composé **12** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

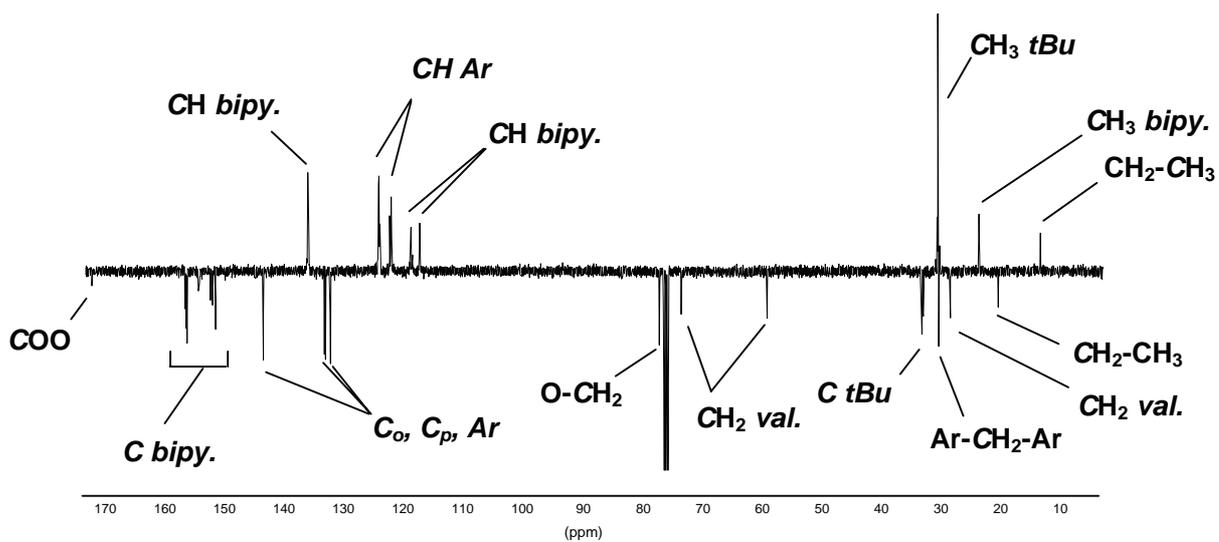


Figure 3.61: Spectre RMN ^{13}C du composé **12** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

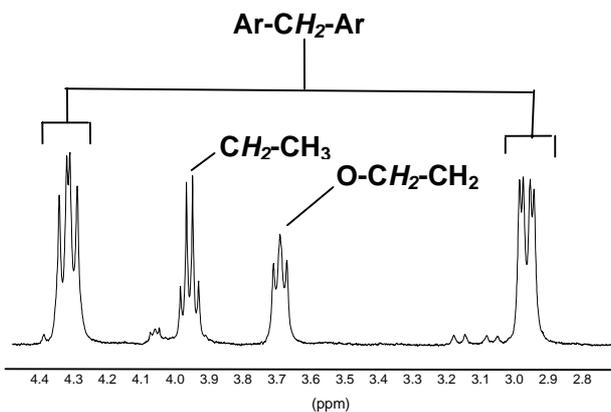


Figure 3.62 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **12** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

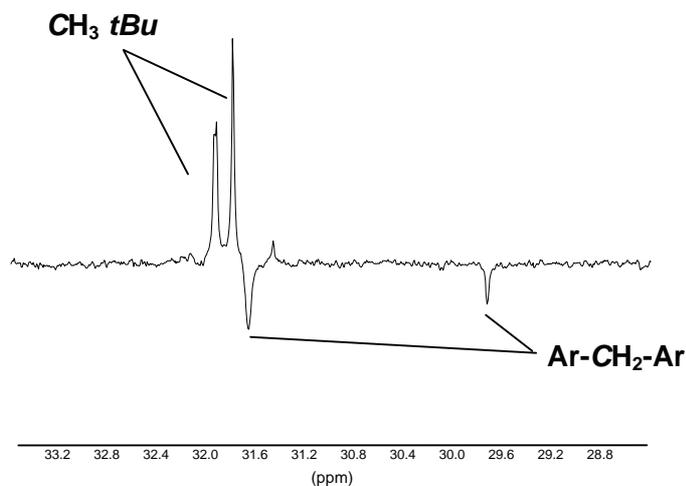


Figure 3.63 : Spectre RMN ^{13}C partiel du composé **12** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

4.5.3 Incorporation d'une fonction nitrophénoxy sur le calix[4]arène C

La mise en contact du calix[4]arène **C** avec le 1-bromo-3-*p*-nitrophénoxy propane, en présence de NaH, dans le DMF, nous permet d'obtenir, après chromatographie sur silice, le composé **13**, avec un rendement élevé de 93 %.

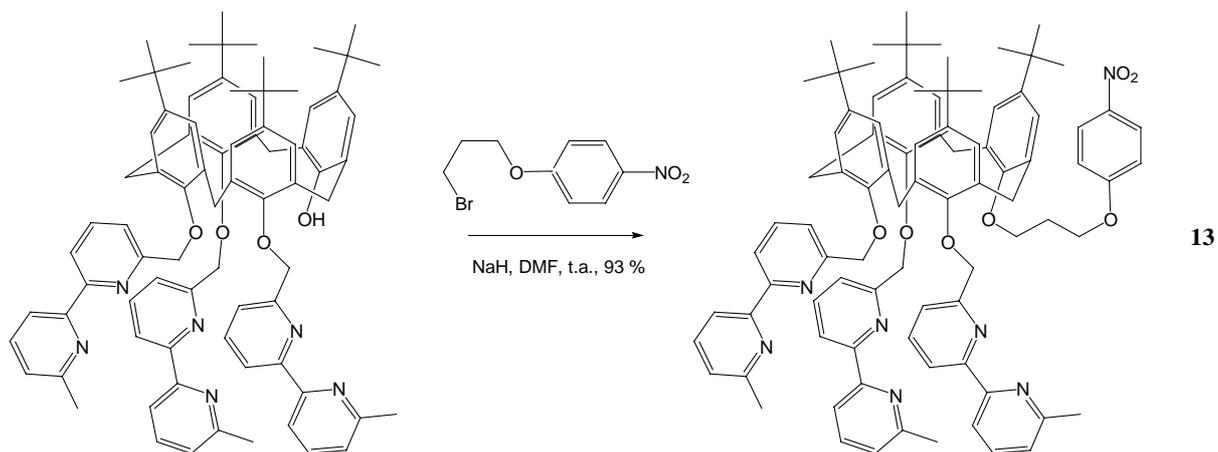


Figure 3.64 : Introduction d'une fonction *p*-nitrophénoxy sur la partie basse du calix[4]arène **C**.

Les analyses RMN ^1H et ^{13}C en solution confirment l'obtention de la structure attendue pour le composé **13** (figures 3.65 et 3.66), et montrent également que la conformation cône est conservée, selon Mendoza et coll.²² (figures 3.67 et 3.68).

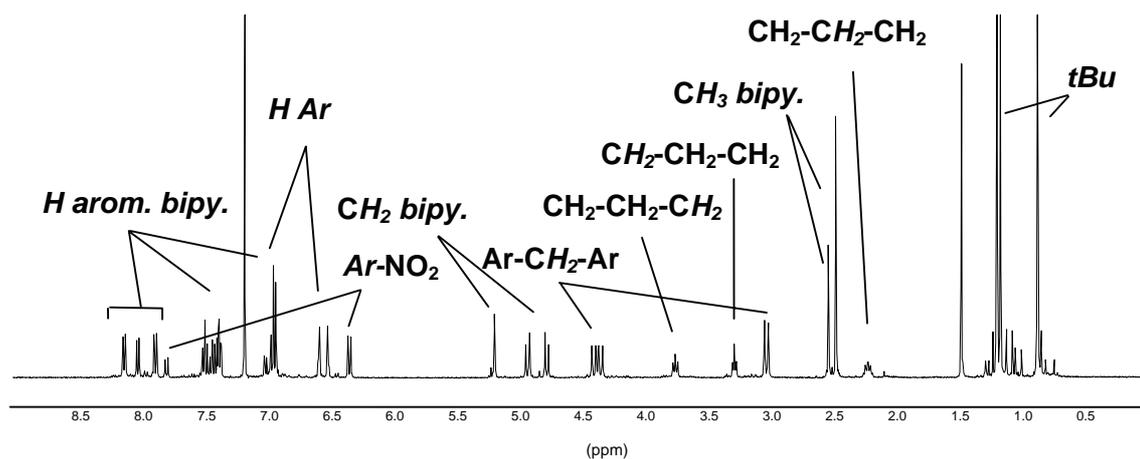


Figure 3. 65 : Spectre RMN ^1H du composé **13** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

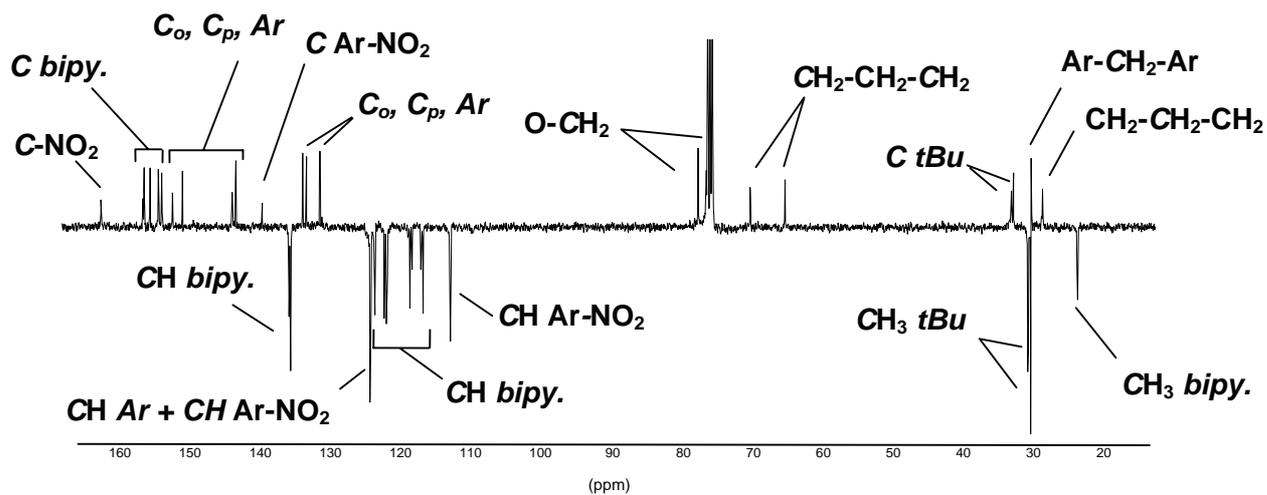


Figure 3.66 : Spectre RMN ^{13}C du composé **13** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

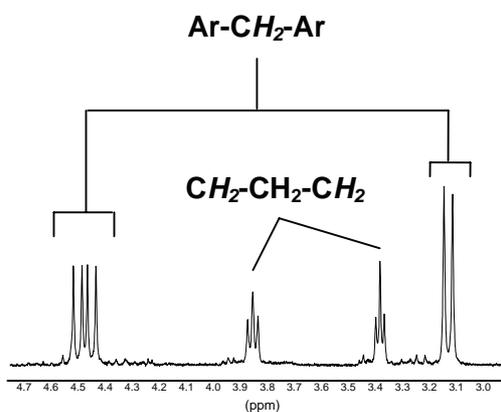


Figure 3.67 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **12** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

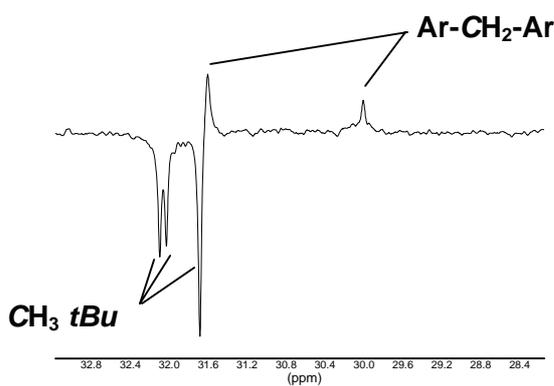


Figure 3.68 : Spectre RMN ^{13}C partiel du calix[4]arène **13** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

Les figures 3.67 et 3.68 nous montrent que la conformation cône est conservée. La formation du complexe de Cu^+ dans l'acétonitrile se vérifie pour ces deux composés **12** et **13** (observation d'une coloration orange sur plaque CCM), dont la structure, et d'après Regnouf de Vains et coll.²⁶ doit être mononucléaire, selon la figure 3.69.

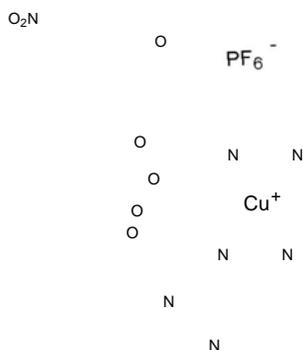


Figure 3.69 : Complexe calix[4]arène **13**–Cu(I).

4.5.4 Obtention d'une fonction amine à partir du composé **13** nitro

La réduction du groupement nitro du calix[4]arène **13** se fait correctement, à l'aide de SnCl_2 , dans l'éthanol pour donner l'amine **14**, avec un rendement de 64 %, après chromatographie sur colonne de silice. Notons, la présence d'un produit secondaire, non caractérisable, observé en chromatographie sur couche mince.

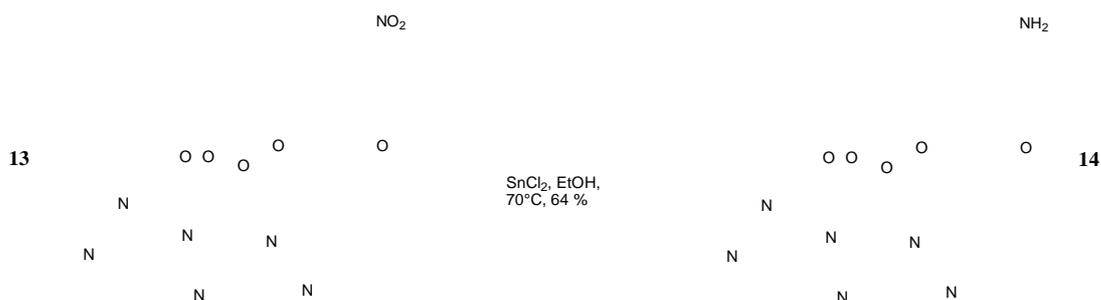


Figure 3.70 : Réduction de la fonction nitro par SnCl_2 sur le calix[4]arène **13**.

L'analyse RMN ^1H en solution contient les signaux de résonance attendus pour le composé **14** (figure 3.71).

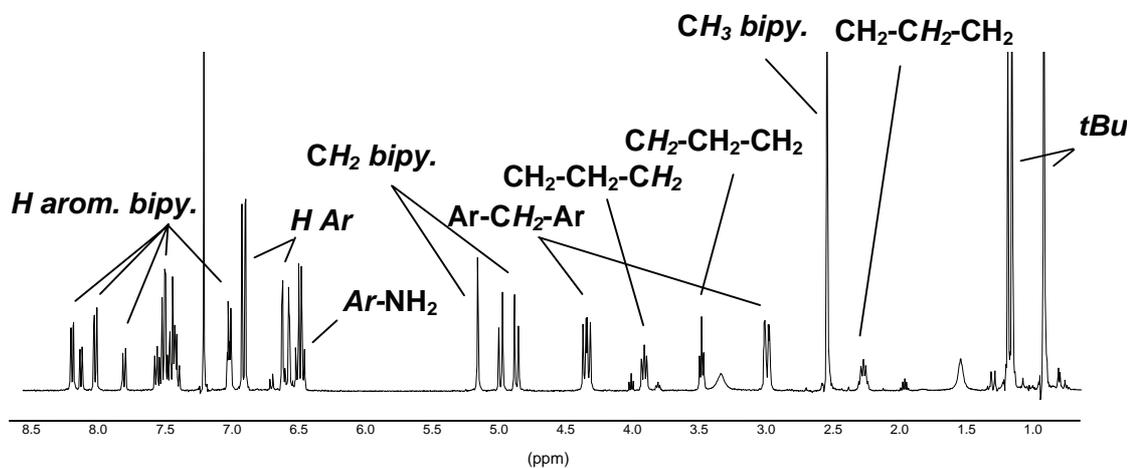


Figure 3.71 : Spectre RMN ^1H du composé **14** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

Sur cette même analyse (figure 2.72), on remarque l'évolution des signaux (système AB), des protons nitrophénoxy (Ar-NO_2) du composé **13** en signaux des protons aniline (Ar-NH_2).

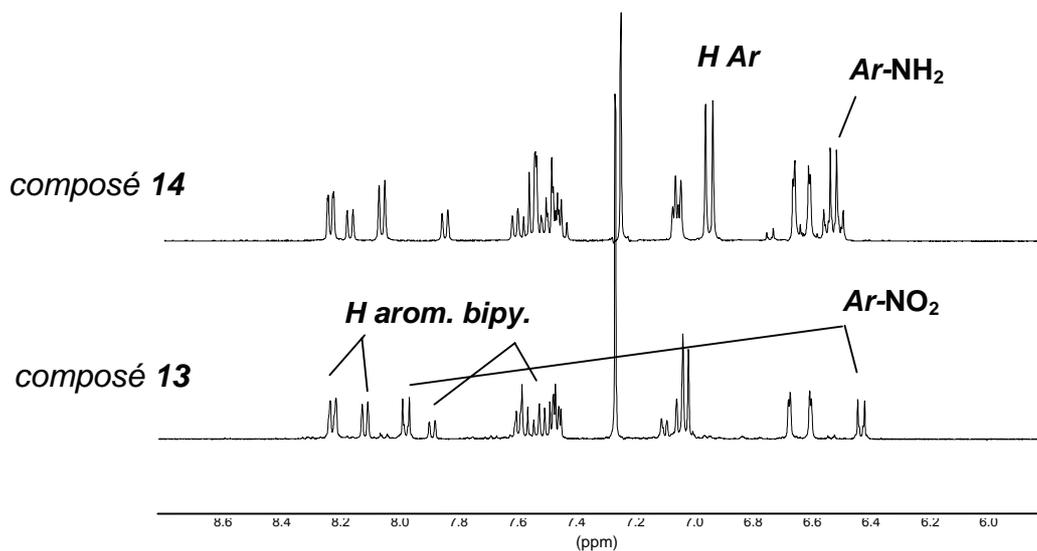


Figure 3.72 : Spectres RMN ^1H partiels des composés **13** et **14** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

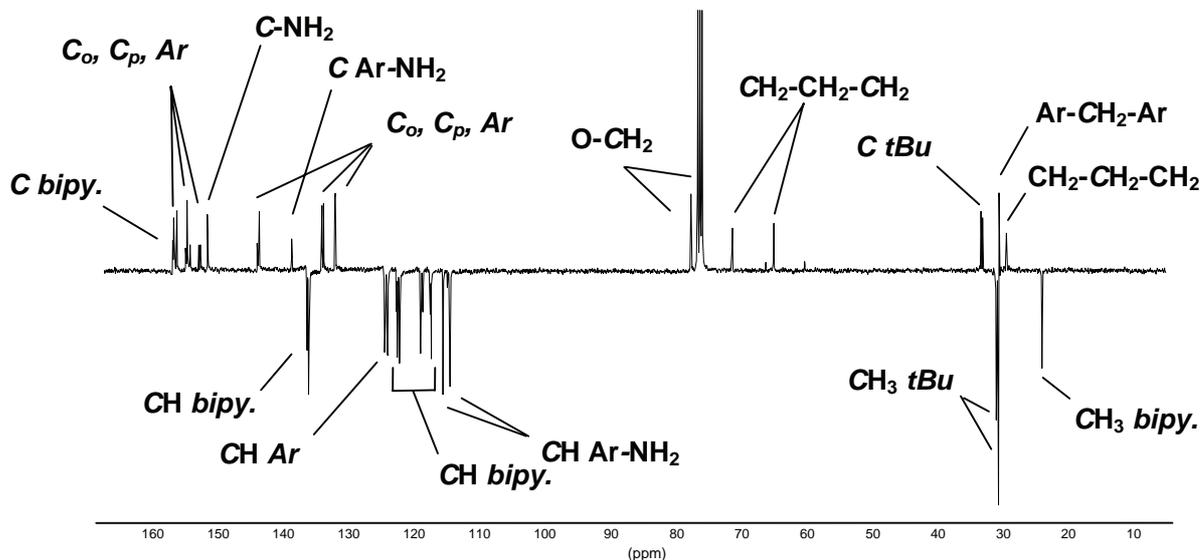


Figure 3.73 : Spectre RMN ^{13}C du composé **14** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

Ces analyses nous montrent également que la conformation cône est conservée, selon Mendoza et coll.²² (figures 3.74 et 3.75).

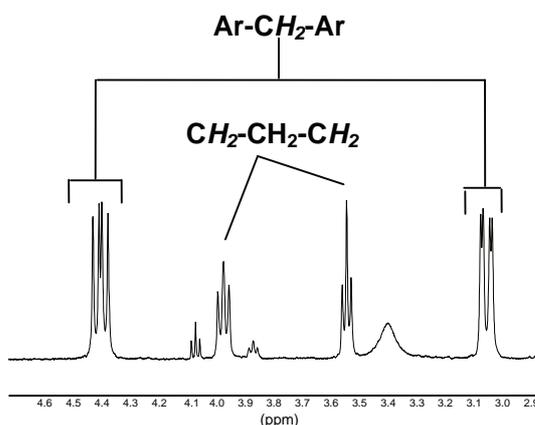


Figure 3.74 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **14** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

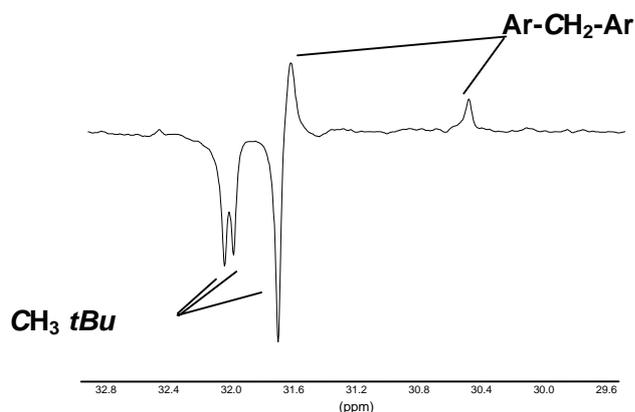


Figure 3.75 : Spectre RMN ^{13}C partiel du composé **14** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

Remarque : la méthode de réduction catalytique mise au point pour le calix[4]arène **8** se révèle inefficace pour le calix[4]arène **13**. On peut supposer que la présence d'unités bipyridyles inhibe l'action du catalyseur.

5. Monofonctionnalisation sélective sur la partie haute du calix[4]arène

5.1 Introduction

L'objectif de cette approche est directement lié à l'incorporation du tripeptide d'adhésion RGD, sur sa partie N-terminale, sur le calix[4]arène porteur d'une fonction acide. C'est pourquoi ce travail s'oriente sur l'incorporation d'une monofonctionnalité sur la partie haute du calix[4]arène.

Notre choix de la fonction acide carboxylique s'est porté sur le groupement 4-oxobutyrique issu d'une réaction de Friedel et Craft du calix[4]arène monodéteriobutylé-trisbenzoate avec l'anhydride succinique. Le calix[4]arène **D** est préparé selon la méthode mise au point par Berthalon et Regnouf de Vains¹⁵ (figure 3.76), et adopte une conformation cône partiel (voir figure 2.14).

L'utilisation de l'acide de Lewis AlCl_3 en grande quantité d'une part et la faible solubilité du calix[4]arène **D** dans les solvants chlorés ; d'autre part, rendent les étapes d'extraction liquide-liquide (au chloroforme) très difficiles.

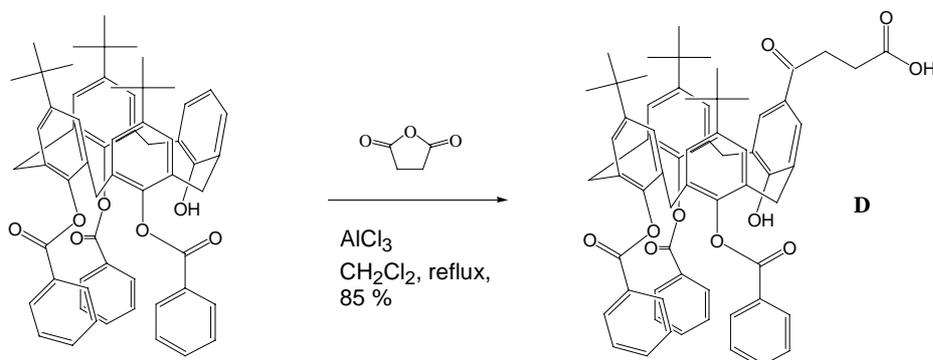


Figure 3.76 : Préparation du calix[4]arène **D**, selon la méthode mise au point par Berthalon et Regnouf de Vains¹⁵.

5.2 Déprotection des fonctions hydroxyle sur la partie basse du calix[4]arène **D**

A partir du calix[4]arène **D**, il est possible de déprotéger les groupements hydroxyles par saponification, en présence de NaOH , en milieu hydro-alcoolique, pour obtenir le calix[4]arène **15** tétrol :

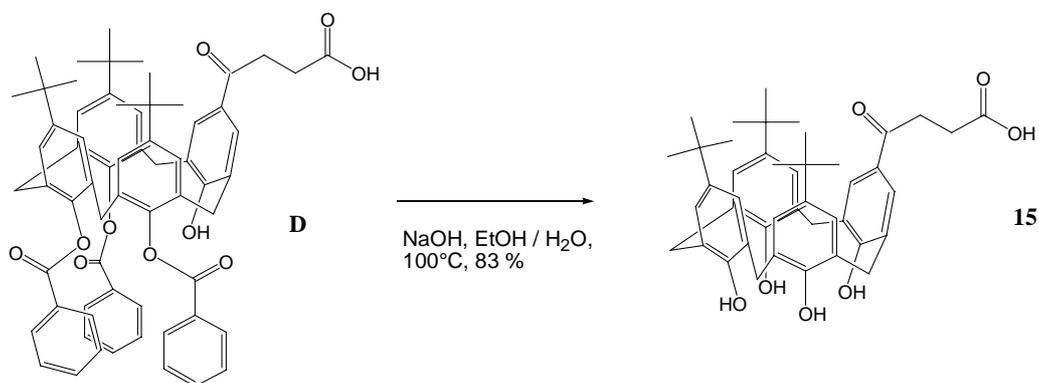


Figure 3.77 : Saponification du calix[4]arène **D** en calix[4]arène **15**

Notons qu'une étape de chromatographie est rendue difficile, les composés **D** et **15**, migrant selon un rapport frontal très proche sur silice. Des étapes nombreuses d'extraction sont nécessaires, le composé **15** étant moyennement soluble dans les solvants chlorés. Le produit est récupéré par évaporation à froid d'une solution dans un mélange dichlorométhane/éthanol.

Les analyses RMN ^1H et ^{13}C (figures 3.78 et 3.79) présentent les signaux de résonance attendus pour le composé **15**. Ces analyses confirment que la fonction cétone a résisté aux conditions basiques de la réaction. On remarque, en particulier la présence des protons de l'éthanol, dont la résonance apparaît sous forme de quadruplet (ca 3.6 ppm) et de triplet (ca 1.0 ppm) sur le spectre RMN ^1H .

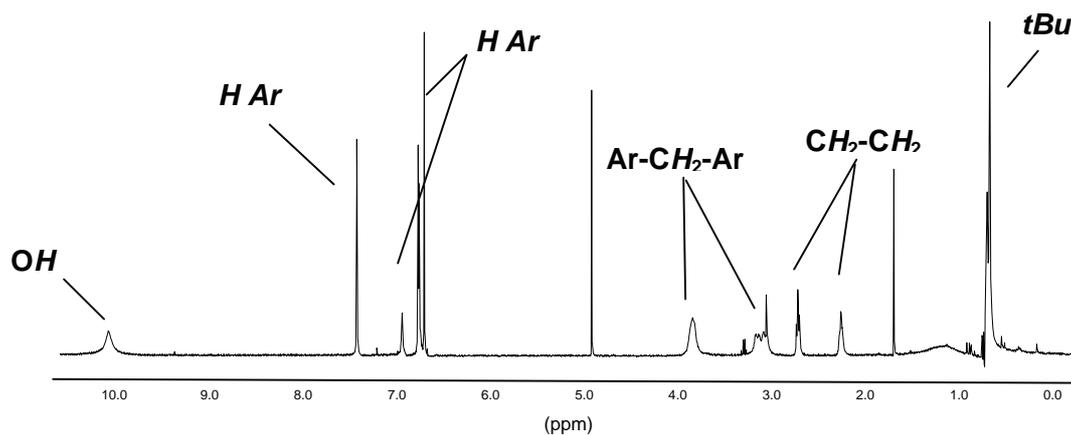


Figure 3.78 : Spectre RMN ^1H du composé **15** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

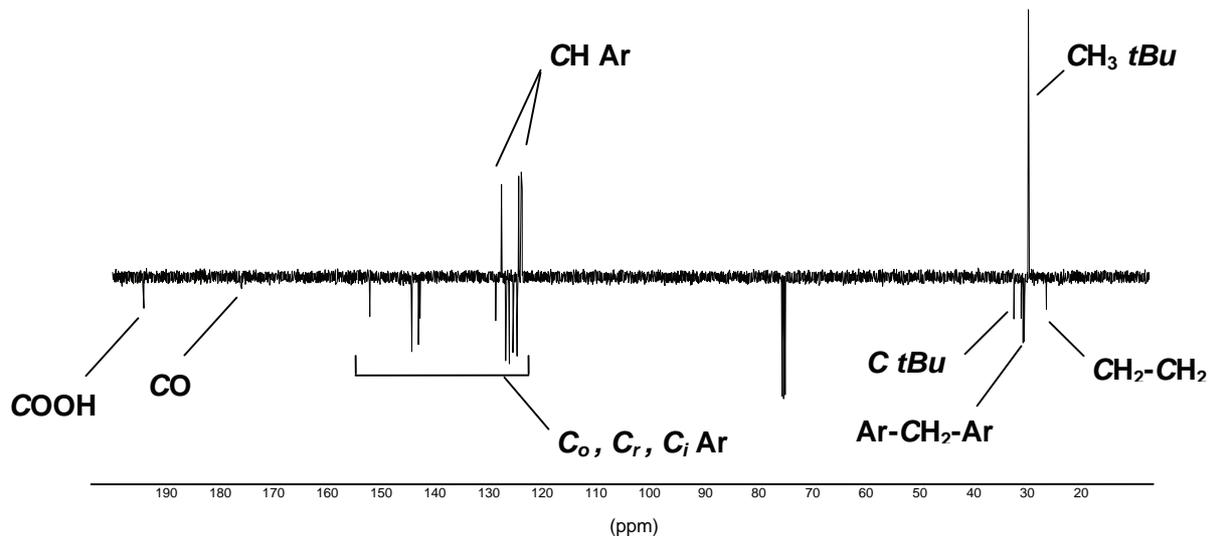


Figure 3.79 : Spectre RMN ^{13}C du composé **15** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

Les analyses RMN ^1H et RMN ^{13}C (figures 3.80 et 3.81), confirment que le calix[4]arène **15** récupère, d'après Mendoza et coll.²² une conformation *cône*, en raison de la libération des OH des phénol. On remarque, en particulier une coalescence des signaux des protons Ar-CH₂-Ar (deux systèmes AB), qui explique une probable fluxionalité de la conformation cônica en solution dans le chloroforme.

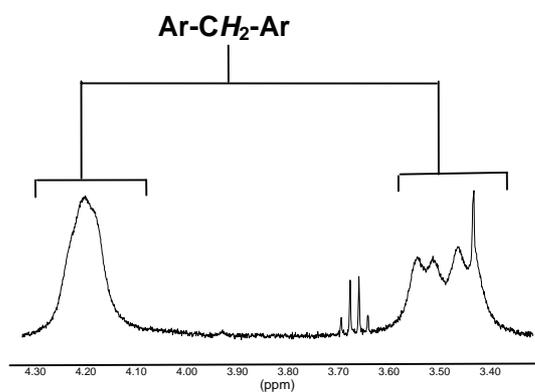


Figure 3.80 : Spectre RMN ^1H partiel du composé **15** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

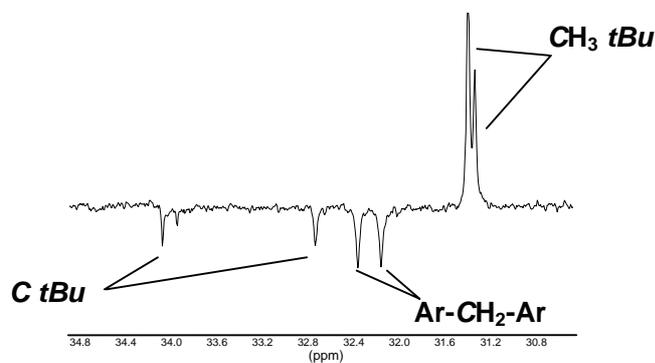


Figure 3.81 : Spectre RMN ^{13}C du composé **15** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

5.3 Tentatives de réduction du carbonyle succinique du calix[4]arène 15

Les réductions de type Wolff-Kishner (Huan-Minlon) permettent de réduire un carbonyle en méthylène, par utilisation d'hydrazine, suivie de l'hydrolyse de l'hydrazone formée. Nous choisissons d'adapter un protocole « ancien »²⁹, c'est-à-dire l'utilisation de KOH et d'hydrazine hydratée, à reflux dans le diéthylèneglycol (245°C). La littérature traite des problèmes inhérents de formation de produits secondaires³⁰ dans ces conditions.

Cette réaction, qui a été quelquefois améliorée, est plus difficile à mettre en œuvre lorsqu'il s'agit d'utiliser l'hydrazine anhydre et d'isoler l'hydrazone intermédiaire formée³⁰.

Les publications les plus récentes mentionnent toujours l'utilisation des mêmes réactifs, dans le triéthylèneglycol pour ce type de réduction³¹ (figure 3.82).

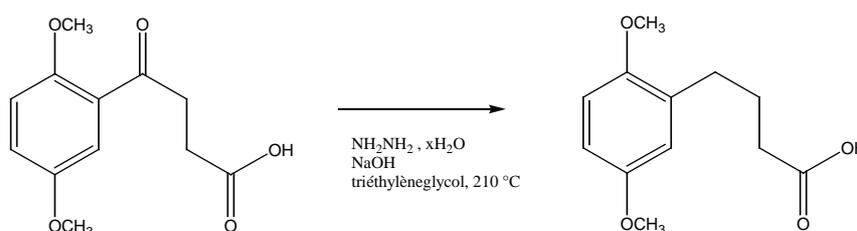


Figure 3.82 : Préparation de l'acide 4-(2',5'-diméthoxyphényl)butanoïque par réduction de type Wolff-Kishner/Huan-Minlon³¹.

Nous avons tenté plusieurs fois une réduction de type Wolff-Kishner (Huan-Minlon) sur le dérivé **D**, et observé d'innombrables produits secondaires. Au cours d'une tentative, nous avons une seule fois isolé le calix[4]arène butyrique **16** : l'isolation du produit de réduction s'est faite en très petite quantité (30 mg) et n'a pu être reproduite. Il est nécessaire de préciser ici la présence accidentelle de mercure dans le milieu issu de l'explosion d'un thermomètre non adapté aux conditions de réactions (ébullition du diéthylèneglycol : 240°C). Nous n'avons pas eu le temps matériel d'approfondir cette méthode.

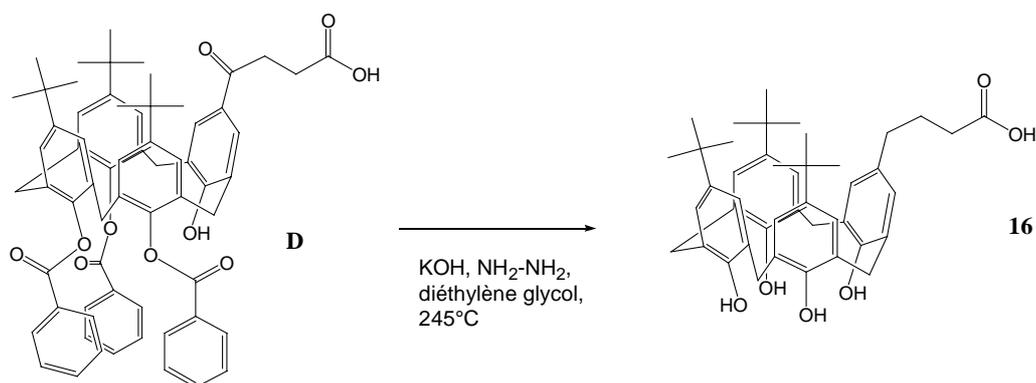


Figure 3.83 : Saponification des benzoates et réduction de la fonction cétone de la partie succinique du calix[4]arène **D**.

L'analyse RMN ^1H (figure 3.84) nous confirme la structure attendue pour le composé **16**, avec l'apparition d'un nouveau système $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ (ca 1,9-2,6 ppm).

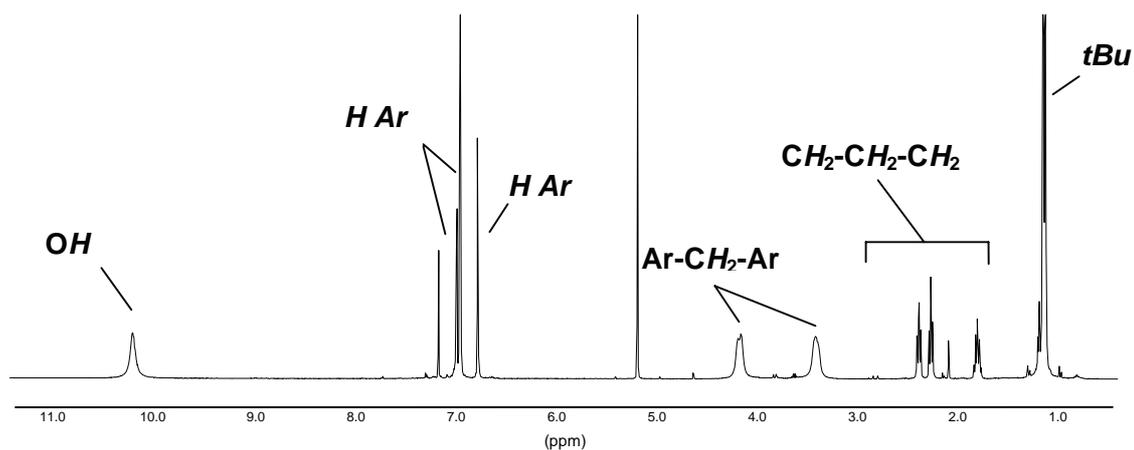


Figure 3.84 : Spectre RMN ^1H du composé **16** (400 MHz, t.a., CDCl_3).

La structure du bras d'ancrage du calix[4]arène **16** nous est confirmée par le spectre RMN ^1H (figure 3.85), qui compare le calix[4]arène succinique saponifié **15** et le produit de réduction obtenu. Nous observons en fait le passage d'un système à deux triplets ($\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$) à un système de deux triplets et un sextuplet ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$). Les faibles quantités isolées (30 mg), nous autorisent seulement à une analyse supplémentaire en spectroscopie de masse. Cette dernière confirme l'obtention du composé **16** (701,4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 717,4 $[\text{M}+\text{K}]^+$, 677,4 $[\text{M}-\text{H}]^-$).

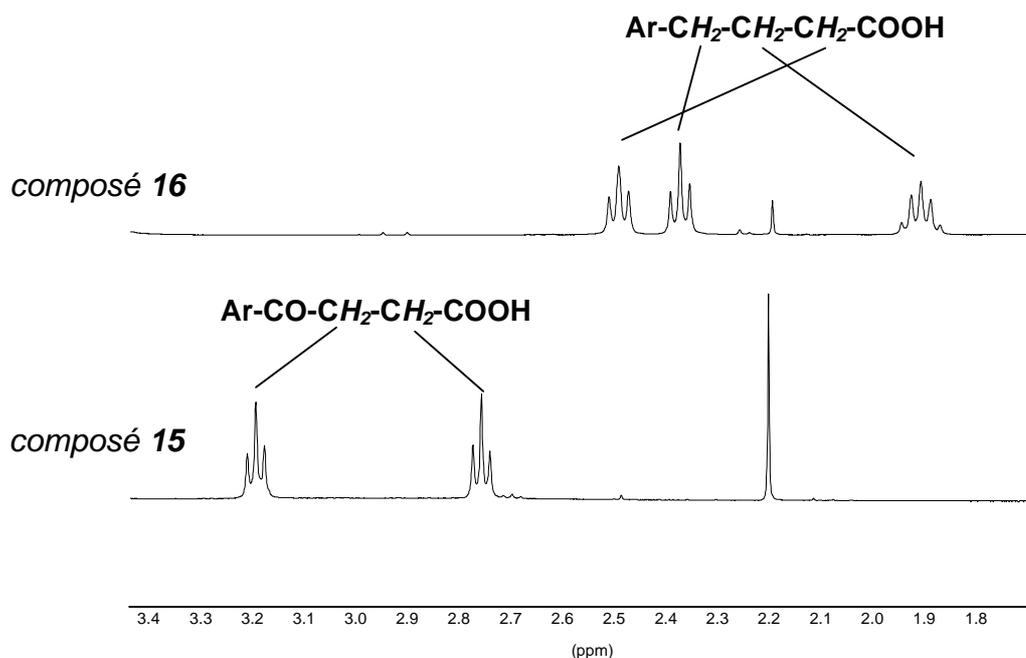


Figure 3.85 : Spectres RMN ^1H partiels des calix[4]arènes **15** et **16** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

L'analyse RMN ^1H (figure 3.86), confirme que le calix[4]arène **16** récupère, d'après Mendoza et coll.²², une conformation *cône*, en raison de la libération des OH des phénols. On remarque une coalescence nette des signaux des protons $\text{Ar-CH}_2\text{-Ar}$ (deux systèmes AB), encore plus accentuée que son analogue **15** (figure 3.80). On peut supposer que la disparition du groupement carbonyle du bras succinique sur le composé **15** accentue la fluxionalité de la conformation conique en solution dans le chloroforme.

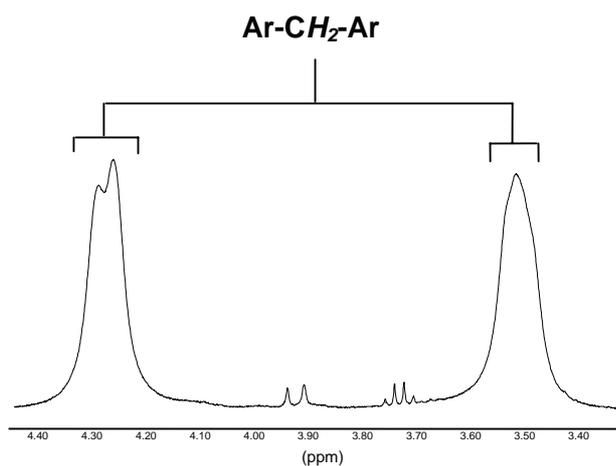


Figure 3.86 : Spectre RMN ^1H du composé **16** (400 MHz, *t.a.*, CDCl_3).

Devant la difficulté de reproduire cette dernière réaction de réduction, nous nous contenterons de poursuivre le travail engagé sur le composé **15**.

6. Bilan et conclusion

6.1 Bilan synthétique de monofonctionnalisation sur la partie basse

6.1.1 Monofonctionnalisation du calix[4]arène A : série triol

Les composés **1**, **2**, **3**, **4** ci-dessous (figure 3.87) ont été obtenus par monofonctionnalisation contrôlée sur la partie basse du calix[4]arène A. Ces composés sont obtenus, après chromatographie, avec de faibles rendements. Tous les composés de la série « triol » adoptent une conformation cône en solution.

Composé	Structure	Conformation	Conditions	Rendement
1		cône	 A/NaHCO ₃ /CH ₃ CN/92°C	41 %
2		cône	 A/NaHCO ₃ /CH ₃ CN/92°C	12 %
3		cône	 A/ K ₂ CO ₃ /CH ₃ CN/92°C	70 %
4		cône	 A/NaHCO ₃ /CH ₃ CN/92°C	27 %
9		cône	3/DiBAIH/toluène/-70°C	28 %

Figure 3.87 : Récapitulatif des composés monofonctionnalisés, obtenus à partir du calix[4]arène A.

6.1.2. Monofonctionnalisation du calix[4]arène **B** : série triméthoxy

Les composés **5**, **6**, **7** et **8** ci-dessous (figure 3.88) ont été obtenus par utilisation d'une base forte (NaH). Ces composés sont obtenus, avec des rendements plus élevés que leurs homologues « triol » respectifs. Tous les composés de la série « triméthoxy » adoptent une conformation non définie en solution.

Composé	Structure	Conformation	Conditions	Rendement
5		non définie	 B/NaH/DMF/toluène/t.a.	88 %
6		non définie	 B/NaH/DMF/t.a.	53 %
7		non définie	 B/NaH/DMF/toluène/t.a.	77 %
8		non définie	 B/NaH/DMF/toluène/t.a.	97 %
10		non définie	7/DiBAIH/toluène/-90°C	85 %
11a		non définie	8/SnCl ₂ /EtOH/70°C	72 %
11b		non définie	8/H ₂ /PtO ₂ /EtOH/CH ₂ Cl ₂ /t.a.	96 %

Figure 3.88 : Récapitulatif des composés monofonctionnalisés, obtenus à partir du calix[4]arène **B**.

6.1.3 Monofonctionnalisation du calix[4]arène **C** : série trisbipyridine

Les composés **12** et **13** ont été obtenus, avec des rendements élevés, par utilisation d'une base forte (NaH), à laquelle la structure de départ a résisté. Les composés de la série « trisbipyridine » adoptent une conformation « cône » en solution et conservent les propriétés de complexation intrinsèques du calix[4]arène **C**, vis-à-vis du Cu^+ dans l'acétonitrile. Notons que l'obtention potentielle de l'aldéhyde, à partir du composé **12**, n'a pu être envisagée dans les délais impartis.

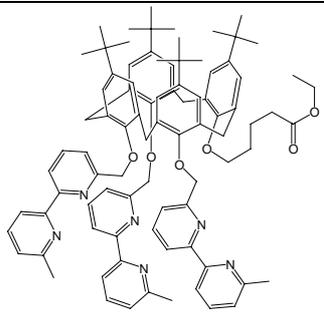
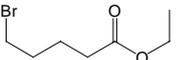
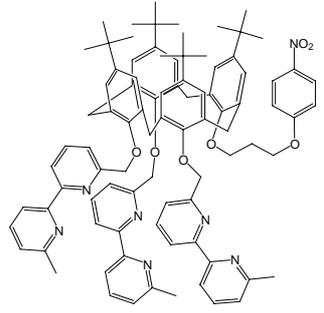
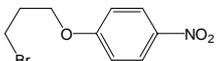
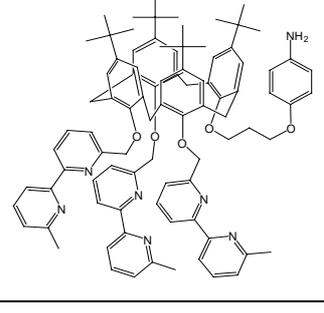
composé	structure	conformation	conditions	rendement
12		cône	 C/NaH/DMF/t.a.	62 %
13		cône	 C/NaH/DMF/t.a.	93 %
14		cône	13/SnCl₂/EtOH/70°C	64 %

Figure 3.89: Récapitulatif des composés monofonctionnalisés, obtenus à partir du calix[4]arène **C**.

6.2 Bilan synthétique de monofonctionnalisation sur la partie haute

Nous disposons des composés **D** et **15**, pourvus d'une antenne succinique. Ils sont obtenus avec des rendements élevés, bien que nécessitant des étapes d'extractions (liquide-liquide) assez lourdes, compte tenu de leurs solubilités limitées dans les solvants chlorés. Notons que ces deux derniers n'adoptent pas la même conformation en solution. Le composé **16**, certes caractérisé, n'est pour l'instant pas exploitable pour la suite de nos projets.

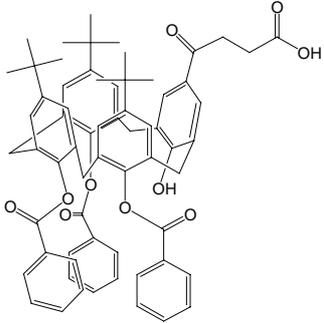
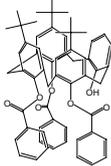
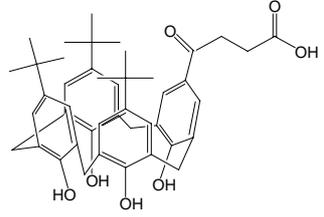
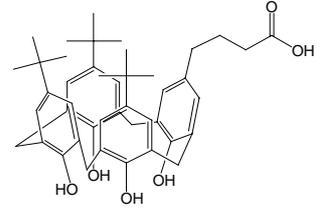
Composé	Structure	Conformation	Conditions	Rendement
D		cône partiel¹⁵	 anhydride succ./ AlCl ₃ /CH ₂ Cl ₂ /rflx ¹⁵	85 %
15		cône	D/NaOH/EtOH/H₂O/ 100°C	83 %
16		cône	D/KOH/NH₂NH₂/ diéthylèneglycol/ 240°C	ε

Figure 3.90 : Récapitulatif des composés monofonctionnalisés, obtenus à partir du calix[4]arène **D**.

Références bibliographiques du chapitre 3

1. A.W. Coleman, L.G. Baggetto, A.N. Lazard, M.H. Michaud, S. Magnard, *Patent* WO 2007119027, **2007**.
2. J. Besida, *Patent* WO 2007112497, **2007**.
3. Y. Sakai, K. Yamashita, K. Sakaguchi, *Patent* JP 2007195443, **2007**.
4. Y. Lei, H. Shen, M. Zhang, *Patent* CN 1927905, **2007**.
5. C.D. Gutsche, In *Calixarene revisited*, The Royal Society of chemistry, **1998**.
6. S. Chowdhury, J.N. Bridson, P. E. Georghiou, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 3299
7. K.A. See, F.R. Fronczek, W.H. Watson, R.P. Kashyap, C.D. Gutsche, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 7256.
8. A.V. Yakovenko, V. I. Boyko, O.V. Kushnir, I.F. Tsymbal, J. Lipkowski, A. Shivanyuk, V.I. Kalchenko, *Organic Letters*, **2004**, 6(16), 2769.
9. K.C. Nam, S.W. Ko, J.M. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **1998**, 19, 345.
10. L.C. Groenen, B.H.M. Ruel, A. Casnati, W. Verboom, A. Pochini, R. Ungaro, D.N. Reinhoudt, *Tetrahedron*, **1991**, 47, 8379.
11. K. Iwamoto, K. Araki, S. Shinkai, *Tetrahedron*, **1991**, 47, 4325.
12. R. Milbradt, J. Weiss, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 2999.
14. C.D. Gutsche, L.G. Lin, *Tetrahedron*, **1986**, 42, 1633.
15. S. Berthalon, *Thèse d'Université*, Université Claude Bernard, Lyon, **1998**
16. S. Berthalon, J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 8527.
17. (a) J.B. Regnouf de Vains, O. Chambon, C. Bonne, PCT Int. Appl. WO 9401456, **1994** ;
(b) F. Palmade, O. Sechoy-Chambon, J.B. Regnouf de Vains, C. Coquelet, C. Bonne, *J. Ocul. Pharmacol.*, **1994**, 10, 623.
18. S. Pellet-Rostaing, J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, *Tetrahedron Lett.*; **1996**, 37, 5889.
19. S. Pellet-Rostaing, *Thèse d'Université*, Université Claude Bernard, Lyon, **1997**.
20. N. Dodic, B. Dumaître, A. Daugan, P. Pianetti, *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 2418.
21. C.D. Gutsche, B. Dhawan, J.A. Levine, K.H. No, L.J. Bauer, *Tetrahedron*, **1983**, 39, 409.
22. (a) C. Jaime, J. de Mendoza, P. Prados, P. M. Nieto, C. Sanchez, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 3372 ; (b) J. O. Magrans, J. de Mendoza, M. Pons, P. Prados, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 4518
23. T.W. Greene, P.G.M. Wuts, *Protective groups in organic synthesis*, Wiley-Interscience, **1999**.
25. F.D. Bellamy, K. Ou, *Tetrahedron Lett.*, **1984**, 25, 839.
26. J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, *Helv. Chimica. Acta*, **1994**, 77, 1817.
27. P. Engrand, J.B. Regnouf de Vains, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 8863
28. Araki and coll., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1990**, 63, 3480.
29. N. Rabjohn, In *Organic Syntheses, collective volume IV*, J. Wiley and sons, **1963**, p. 510.
30. M.F. Grundon, H.B. Henbest, M.D. Scott, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 1855.
31. P. Wipf, J.K. Jung, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65(20), 6319.

Chapitre 4

*Application à l'immobilisation
d'un calix[4]arène complexant sur polymère
naturel de type cellulose ou dextran*

1. Etat des lieux des connaissances

Dans ce chapitre, nous décrivons les acquis concernant la polymérisation de calixarènes et leur immobilisation directe sur des polymères.

1.1 Les premières approches de polymérisation directe de calixarènes

L'implication des calixarènes dans la chimie des polymères, naturels ou synthétiques, remonte à la seconde moitié des années quatre-vingt. Harris et coll.¹ furent les premiers à obtenir une structure polymères avec attachement aussi bien sur la partie basse (figure 4.1) que sur la partie haute (figure 4.2) à l'aide de dérivés de type dithiols.

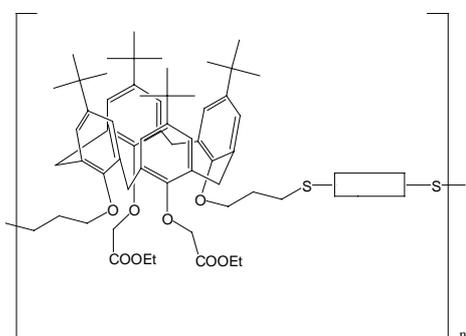


Figure 4.1: Calix[4]arène polymère, polymérisé par la partie basse¹.

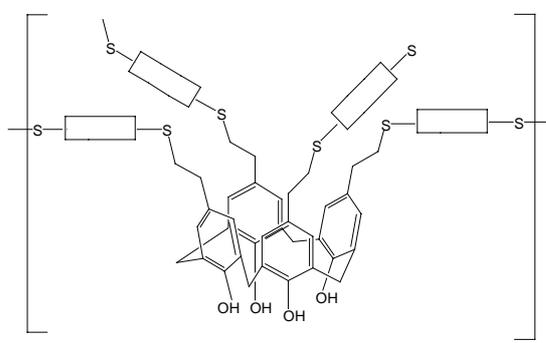


Figure 4.2: Calix[4]arène polymère, polymérisé par la partie haute¹.

Ensuite, suivi d'autres publications prouvèrent l'aptitude de ces polymères à complexer des cations métalliques. En particulier, les travaux de Nakamoto et coll.² et surtout Shinkai et coll.³ montrèrent l'affinité de polymères de calix[6]arène envers l'ion uranyle UO_2^{2+} , destinés à la récupération et la valorisation d'ions métalliques (simples ou sous forme d'oxyde). A partir de cette période, on trouve également des publications traitant de l'homopolymérisation directe de calixarène. En particulier, Buffenoir et Bidan⁴ ont obtenu des films de calix[4]arènes polypyrrole, par polymérisation électrochimique (figure 4.3).

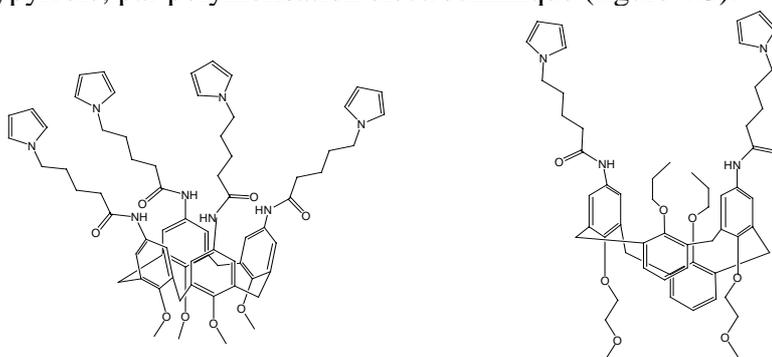


Figure 4.3 : Calix[4]arènes polymérisables électrochimiquement, en films de polypyrrole⁴.

1.2 Immobilisation de calixarènes sur polymère

L'autre approche envisagée pour obtenir des calixarènes est de les immobiliser, en les greffant directement sur le support polymère.

Harris et coll.¹ parvinrent à immobiliser un calix[6]arène sur du polystyrène chlorométhylé (polymère de Merrifield), travail que l'on peut considérer comme le premier résultat de greffage d'un calixarène sur polymère (figure 4.4).

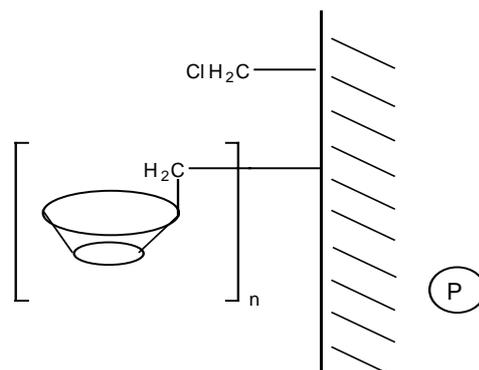


Figure 4.4 : Calix[6]arène ancré directement sur polystyrène chlorométhylé¹

Un certain nombre de travaux a été développés lié au greffage de calix[4]arènes sur silice⁵ (figure 4.5).

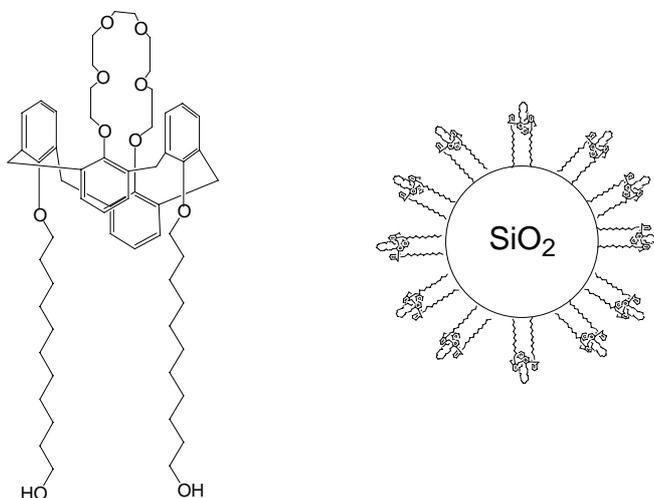


Figure 4.5 : Greffage du 25,27-bis[(11-hydroxyundecyl)oxy]calix[4]aren-crown-6 sur silice⁵.

Plus récemment, Tabakci et coll.⁶ ont mis au point une résine de polysiloxane contenant un bis(cyanométhoxy)calix[4]arène, potentiellement complexant d'ions métalliques Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} et Pd^{2+} et de l'ion $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (figure 4.6).

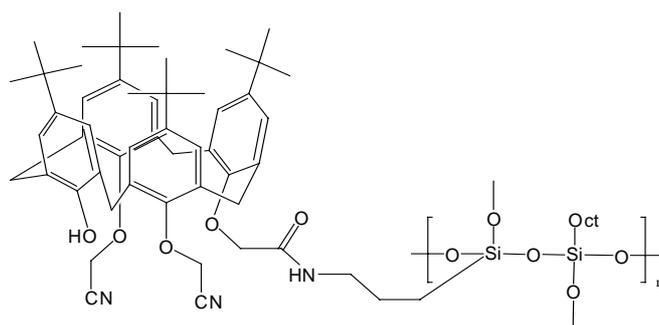


Figure 4.6 : *Bis(cyanométhoxy)calix[4]arène, supporté par une résine polysiloxane⁶.*

Mais, jusqu'à présent, le greffage de calixarènes sur polymère naturel n'a fait l'objet d'aucune publication. Les premières études du greffage de calix[4]arène sur chitosane ont été réalisées par Berthalon et Regnouf de Vains⁷ (figure 4.7).

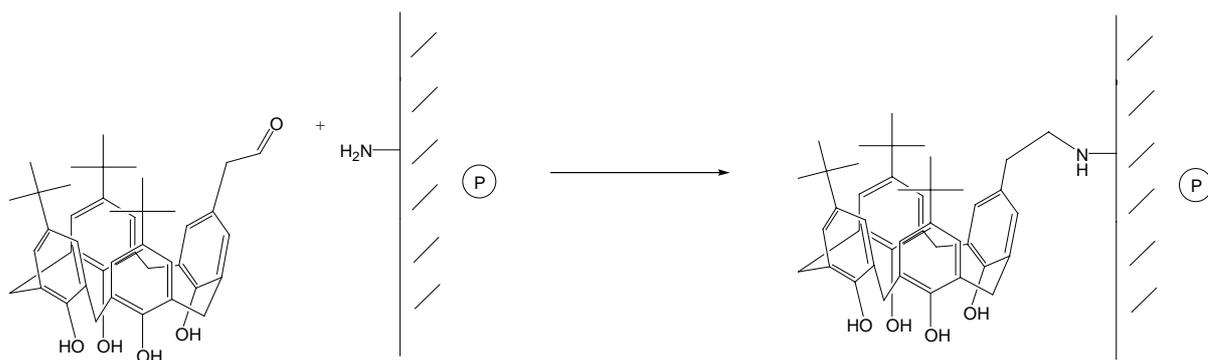


Figure 4.7 : *Greffage d'un calix[4]arène sur chitosane⁷.*

Nous disposons ainsi d'une première approche de greffage sur polymère naturel. C'est pourquoi nous choisirons, au cours de ce travail de thèse, d'étendre nos études sur tous les autres supports polymères naturels tels que la cellulose, le dextran, poursuivant ainsi les travaux amorcés sur le chitosane.

2. Objectifs et utilisations

L'objectif principal de ce travail de thèse s'oriente vers la valorisation des calix[4]arènes en tant que complexants de métaux de transition. Nous cherchons à mettre au point des structures qui sont à la fois manipulables et organisées, de façon à les utiliser comme instruments de récupération sélectifs, bon marché et réutilisables. Il s'agit avant tout de valider la possibilité de greffage d'une entité calix[4]arénique présentant un caractère complexant sur polymère naturel.

Afin d'établir en premier lieu un modèle de polymère manipulable et capable de supporter des entités complexantes, nous disposons des calix[4]arènes **11** et **14**, monofonctionnalisés (portant des unités complexantes ou non), aptes à se greffer de façon covalente à un support polymère *via* un groupe réactif, dédié au greffage, et introduit sélectivement.

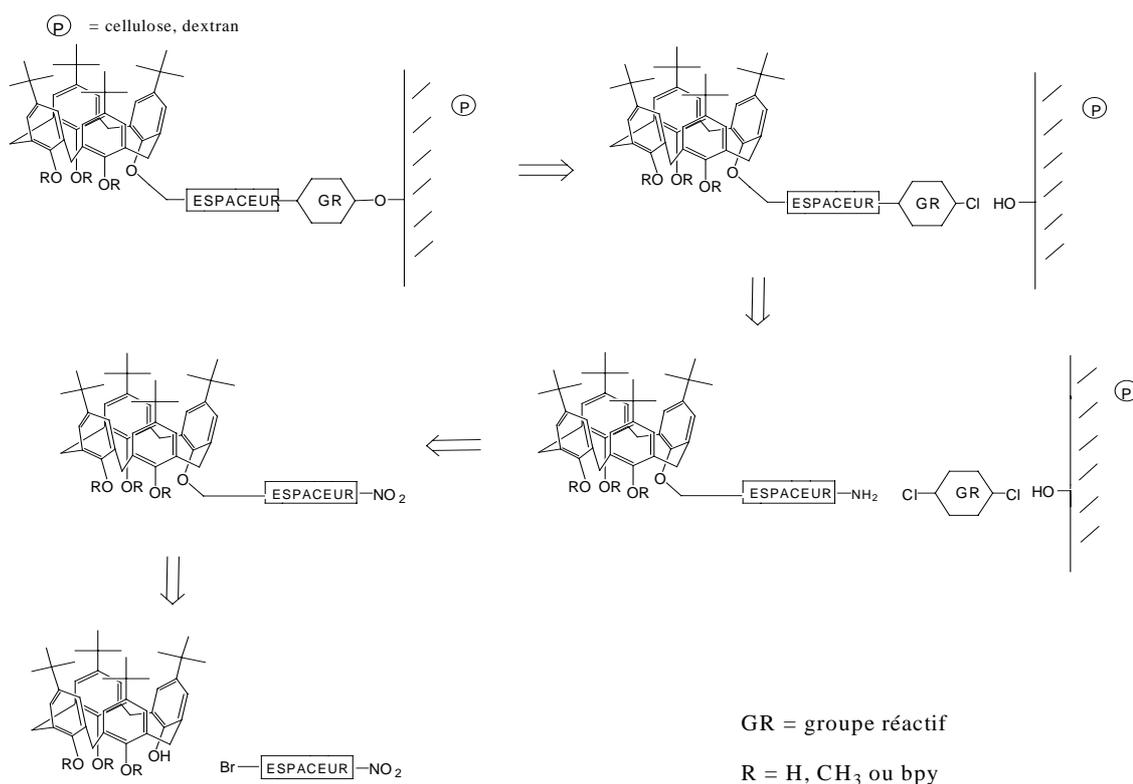


Figure 4.8 : Exemples de stratégie possible d'ancrage sur polymère naturel envisagées d'un calix[4]arène via un bras espaceur.

A partir des amines préparées, la méthode de travail s'inspirera de celle de l'incorporation d'un colorant réactif sur les fibres textiles. Le choix du polymère se portera prioritairement sur un polymère naturel, en particulier :

- **la cellulose** : très abondante, peu coûteuse, parfois textile, biocompatible et disponible sous des formes variées (poudre, papier, gaze...)
- **le dextran** : utilisé en bio industrie ; soluble dans l'eau, le DMSO.

L'évaluation du taux de greffage sur le polymère se fera à l'aide des techniques telle que la RMN ^1H et ^{13}C en solution ou du solide, la spectroscopie IR, la spectroscopie UV-Visible ou le dosage du ligand complexant par spectroscopie UV-Visible et la microanalyse.

3. La chimie des colorants réactifs pour les fibres textiles

3.1 Introduction

La chimie des colorants réactifs moléculaires décrit l'immobilisation de ces derniers de façon covalente sur un polymère cellulosique. C'est en s'inspirant des connaissances acquises dans ce domaine que nous souhaitons réaliser l'incorporation d'une entité moléculaire sur un polymère naturel, *via* des groupements réactifs similaires, de type hydroxyle, chloro ou amine. Les problèmes de solubilisation de la cellulose et des réactifs utilisés sont également traités dans les lignes suivantes.

3.2 Les premiers colorants réactifs

Avec l'apparition, il y a une soixantaine d'années, des fibres synthétiques, la plupart étant hydrophobe, les problèmes se sont posés aux fabricants de matières colorantes. En effet, jusqu'à cette époque, les procédés de teinture des fibres cellulosiques avec les colorants directs et de la laine avec les colorants acides sont basés sur l'adsorption par la fibre du colorant (rétention mécanique ou liaisons électrostatiques entre les sels d'ammonium de la kératine et carboxylates ou sulfonates des colorants). Mais ces liaisons apparaissaient relativement fragiles face à une liaison covalente entre le colorant et la fibre⁸.

Dès 1895, Cross et Bevan⁹ avaient proposé de préparer un dérivé ester *p*-nitro-benzoate de la cellulose, et par réactions successives, décrites sur la figure 4.9, de synthétiser au sein même de la fibre un colorant azoïque. Cependant, ce procédé ne fut jamais appliqué, car on craignait entre autres l'action d'agents alcalins, utilisés pour les lavages, sur le pont ester.

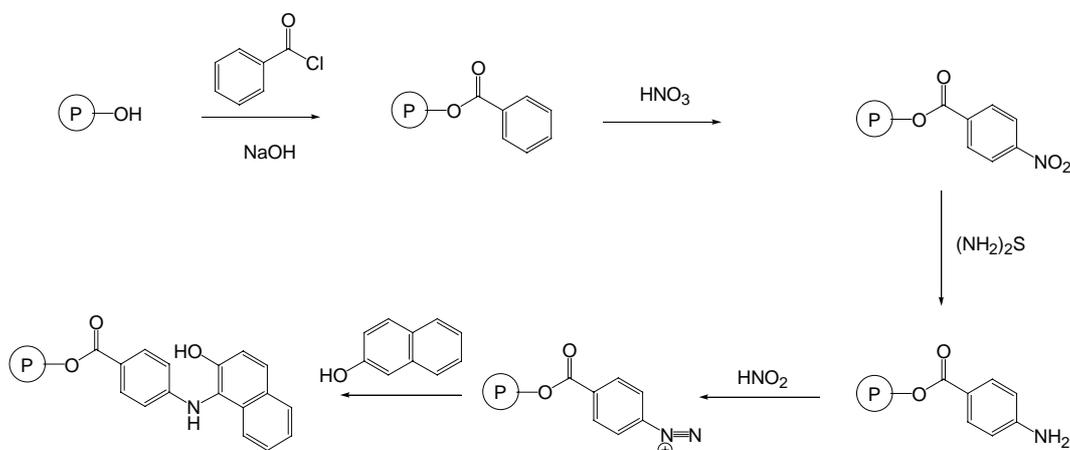


Figure 4.9 : Schéma de synthèse d'un colorant azoïque sur la cellulose proposé par Cross et Bevan⁹.

La cellulose étant considérée encore à cette époque comme relativement inerte, les premiers résultats concernant les colorants réactifs ont tardé. En 1960, sont apparus les colorants de type « cybalane brillant »¹⁰, conçus pour se fixer chimiquement à la fibre de laine.

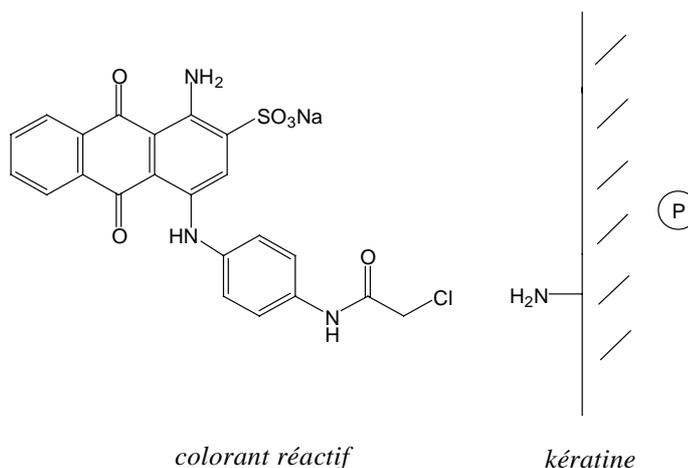


Figure 4.10 : *Un colorant réactif pour la fibre de laine, le bleu cibalane brillant.*

En 1956, la société ICI lance sur le marché sous le nom de « Procion » les premiers colorants chlorotriaziniques pour fibres cellulosiques¹¹. Ces colorants sont préparés selon la méthode décrite sur la figure 4.11.

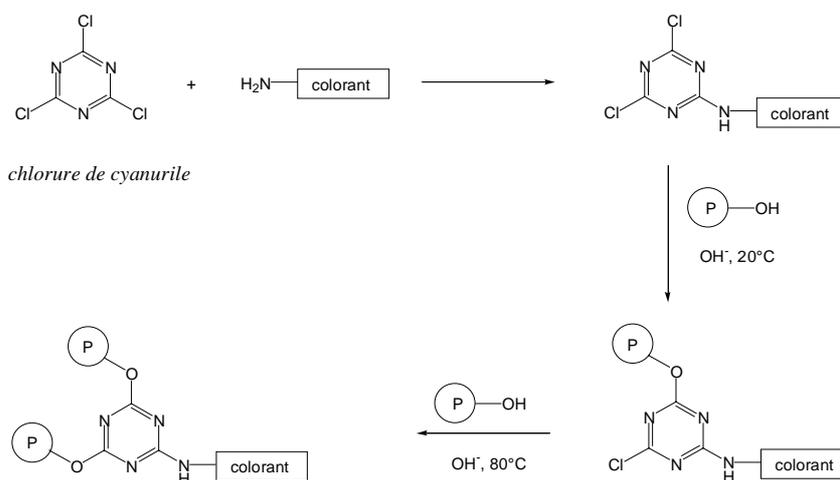


Figure 4.11 : *Méthode d'incorporation d'un colorant, via une jonction chlorotriazinique, sur la cellulose¹¹.*

3.3 Structure d'un colorant réactif

Hedayatullah⁸ a proposé une formule générale pour les colorants réactifs décrite sur la figure 4.12.

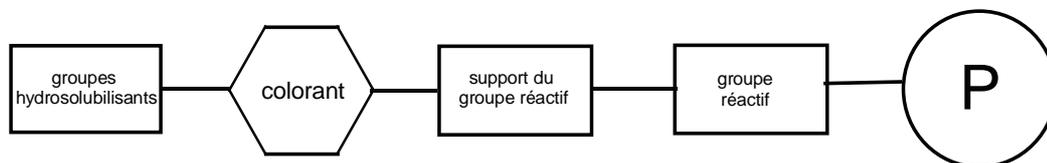


Figure 4.12 : Formule générale d'un colorant réactif⁸.

On entend par :

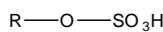
- Groupes hydrosolubilisants (ou plastosolubilisants) : groupes sulfoniques, carboxyliques, ammonium quaternaires.
- Colorant : structure responsable de la couleur - type azoïque et phénylazopyrazolonique pour les colorants jaunes, types monoazoïque pour les orangés et les rouges, type anthraquinonique pour les bleus, type phtalocyanique (de cuivre et de nickel) pour les bleus, turquoises et verts, type complexes de cuivre, de chrome, de cobalt de la série azoïque pour les violets, bleus, bruns, gris et noirs.
- Support du groupe réactif : assure la stabilité de la liaison colorant-fibre.
- Groupe réactif : groupe réagissant sur la fibre par addition, réarrangement, substitution ou élimination.

La nature des groupes réactifs est très diverse, en voici quelques exemples ci-dessous :

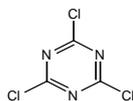
halogénures d'alkyle :



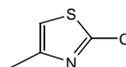
esters sulfuriques ou sulfoniques :



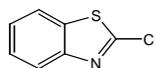
dérivés aromatiques :



chlorure de cyanuryle



2-chloro-4-méthylthiazole



2-chlorobenzothiazole

Figure 4.13 : Quelques exemples de groupes réactifs.

3.4 Rapprochement de la chimie des colorants réactifs avec le projet

Notre objectif consiste à remplacer le colorant par une entité complexante organisée (calix[4]arène) ou non (bipyridine, bithiazole). Il s'agira, dans un premier temps, de tester différentes approches en travaillant avec le polymère à l'état solide ou en solution, selon les possibilités de solubilité qui nous sont offertes. Le polymère sera sous diverses formes. La structure générale du « greffon » est décrite sur la figure 4.14.

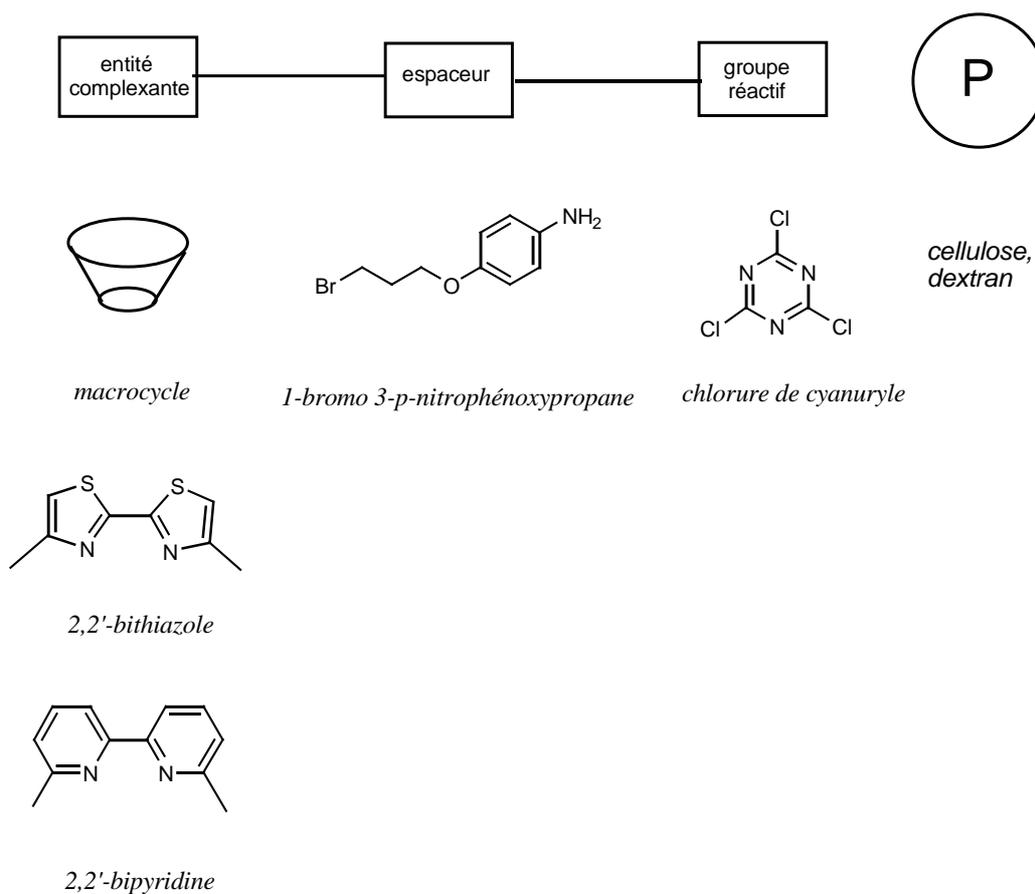


Figure 4.14 : Approche générale de greffage d'entités complexantes sur polymères naturels de type cellulose ou dextran, proposée dans notre travail.

Le choix s'est porté sur un espaceur de type aminophénoxypropyle, dont le dérivé bromé peut s'incorporer facilement par substitution nucléophile, et le groupe réactif (chlorure de cyanuryle) en raison de leur facilité d'accès et leur coût relativement bas. Le chlorure de cyanuryle est en outre très utilisé dans les études les plus récentes concernant le greffage de colorants sur des fibres cellulosiques¹⁹.

4. Greffage sur cellulose

4.1 Structure du polymère

La cellulose est un polymère linéaire à unité β -(1 \rightarrow 4)-D-glucofuranose en conformation chaise. Bien qu'isolée pour la première fois par Payen en 1838, sa structure fut établie définitivement par Cross et Bevan au début du 20^{ème} siècle.

Dans la chaîne cellulosique, les unités glucose sont sous la forme pyranose, liées par une simple liaison de type acétal entre le C₁ d'un cycle et le C₄ du cycle suivant.

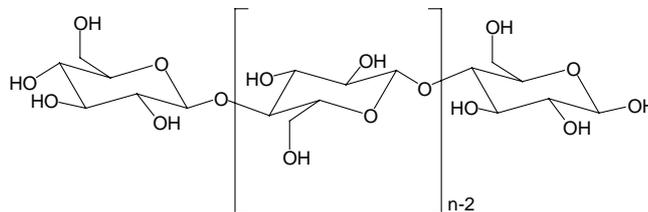


Figure 4.15 : Représentation de la chaîne cellulosique

4.2 Les différentes formes de cellulose¹²

La cellulose est la matière organique la plus abondante sur Terre. Elle se trouve soit à l'état pur dans certaines plantes, soit comme constituant principal du bois. Cette source de matière renouvelable peut s'utiliser soit directement, soit par fabrication de produits dérivés ou régénérés. La matière première est toujours une pâte à bois, appelée pâte chimique, qui a été obtenue à partir du bois par diverses opérations de purification et d'élimination de la matière ligneuse. La pâte à bois contient au minimum 95 % de cellulose.

- **Le coton**

Les fibres de coton sont constituées de cellulose pure. Le coton présente une capacité d'absorption de l'humidité sans pour autant modifier ses propriétés intrinsèques.

- **Le bois**

C'est un composite constitué de cellulose, lignine et hémicellulose.

- ***Le papier***

Il est constitué de la partie cellulosique du bois, sans destruction de la structure fibrillaire de la cellulose qui donne au papier ses qualités.

- ***Les dérivés de la cellulose (esters)***

La cellulose étant un polyalcool, il est possible par réaction d'estérification sur ses fonctions d'obtenir des dérivés thermoplastiques dont les plus connus sont les nitrates (explosifs, premiers verres sécurité), acétates (vêtements, pellicules, verre sécurité), phtalates, triacétates et acétobutyrate de cellulose.

- ***Les celluloses régénérées***

Ce terme désigne des celluloses ayant subi une opération de dissolution dans un solvant, suivie d'une opération de régénération, en général dans un non-solvant. Selon les procédés, on obtient la viscose, l'acétate, le triacétate, le cupro, le modal et le lyocell.

La viscose est une des premières celluloses obtenues (Cross, Bevan et Beadley en 1892). Le procédé xanthogène consiste à faire tremper la pulpe de bois dans une solution de soude caustique, puis après brassage, le sulfure de carbone y est ajouté, pour former des xanthates. Après filtration, la coagulation a lieu dans un bain contenant de l'acide sulfurique, des sulfates de sodium et de zinc.

4.3 Réactivité de la cellulose¹³

Chaque unité monosaccharique de la cellulose possède trois groupes hydroxyle potentiellement réactifs. C'est pourquoi ses dérivés sont caractérisés en terme de degré de substitution (noté DS), ce qui représente une moyenne comprise entre 0 et 3. Les hauts degrés ont pour conséquence de réduire les liaisons intermoléculaires et de modifier la solubilité et la structure des réseaux cristallins. On rencontre plusieurs grandes classes de réaction possibles

- ***Estérification***

Tout comme les alcools, les hydroxyles de la cellulose réagissent avec les acides carboxyliques ou d'autres agents acétylants. La nitration a permis de fabriquer les premières

fibres artificielles (nitrocellulose). Les propriétés des matériaux obtenus dépendent du degré de substitution.

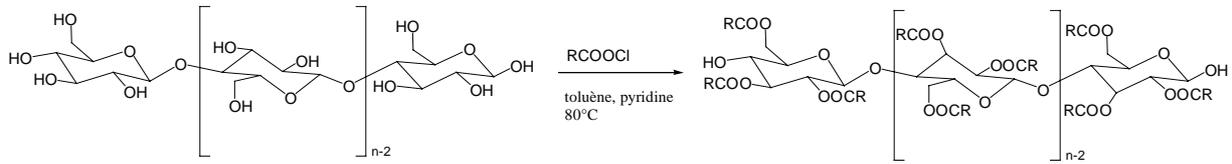


Figure 4.16 : Exemple de réaction d'estérification ($DS=3$) de la cellulose.

- **Ethérification**

Les éthers sont préparés avec les agents alkylants courants. Les éthers méthyliques et éthyliques sont produits en quantités importantes, les plus utilisés présentent un degré de substitution compris entre 0.5 et 2.

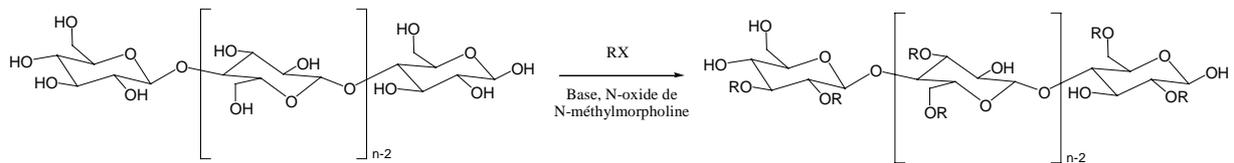


Figure 4.17 : Exemple de réaction d'éthérification ($DS = 2$) de la cellulose.

- **Formation d'acétals**

Les acétals se forment en présence d'aldéhydes ou d'hémiacétals. Ils sont destinés à l'élaboration de matières textiles (viscose ou rayonne). Ces dernières sont obtenues à partir de formaldéhyde.

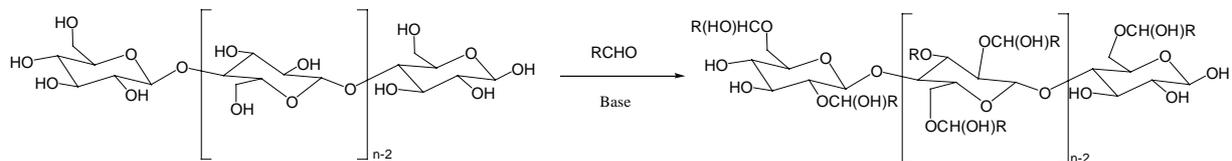


Figure 4.18 : Exemple de formation d'acétals ($DS = 2$) de la cellulose.

- **Hydrolyse**

Bien que la cellulose soit très stable, l'hydrolyse acide ou basique est envisageable. Les acides attaquent les liaisons 1→4 et nécessitent des conditions moins fortes que les bases. L'hydrolyse est aussi possible par voie enzymatique (hydrolases).

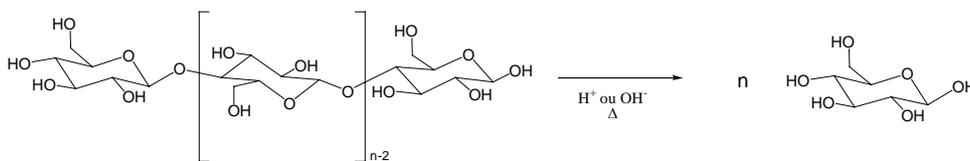


Figure 4.19 : Réaction d'hydrolyse de la cellulose.

- **Dégradation oxydante**

L'oxydation dans des conditions fortes transforme la cellulose en CO, CO₂ et H₂O. Dans des conditions plus douces, il est possible d'oxyder les fonctions alcool primaire en aldéhydes, cétones et carboxyles.

- **Dégradation thermique**

A basse température, la cellulose subit l'hydrolyse ou l'oxydation en raison de l'humidité, la lumière, l'oxygène de l'air. A haute température (> 200 °C), l'eau absorbée s'évapore, puis une élimination d'eau à partir des hydroxyles a lieu. A plus hautes températures, on observe un dégagement d'eau, de CO, de CO₂ et des réarrangements peuvent s'effectuer.

4.4 Les solvants de la cellulose

Les analyses RMN et UV sont indispensables pour mener à bien la réalisation de nos objectifs. Or, la solubilisation de la cellulose est un problème délicat, la principale difficulté étant la rupture des liaisons hydrogène inter- et intra-moléculaires. Les solvants polaires apportent une forte énergie d'interaction et permettent d'obtenir les meilleurs résultats.

Les solvants connus ou potentiels peuvent être classés en trois catégories. En voici quelques exemples¹².

- **Les solvants vrais**

La dissolution s'effectue par solvation classique du soluté par le solvant. Par exemple : l'acide phosphorique ; l'hydrazine ; les oxydes d'amines tertiaires, comme le N-oxyde de N-méthylmorpholine, sur la figure 4.20 (diluable par DMSO, DMF ou DMAc).



Figure 4.20 : N-oxyde de N-méthylmorpholine.

- *Les solvants complexes*

C'est le cas de l'hydroxyde de cupri-éthylènediamine ou CED (figure 4.21), en milieu aqueux. L'interaction entre le complexe organométallique et les groupes hydroxyle de la cellulose provoque la rupture des liaisons hydrogène et la mise en solution de la cellulose.

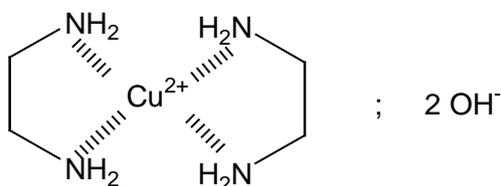


Figure 4.21: Formule du complexe hydroxyde de cupri-éthylènediamine.

- *Les solvants réactifs*

La dissolution se produit par l'intermédiaire de la formation d'un dérivé soluble.

Par exemple : le mélange NaOH / CS₂ ; l'oxyde d'azote (NO ou NO₂) dans le DMSO, le DMF ou la pyridine ; le paraformaldéhyde dans le DMSO, DMF ou DMAc.

4.5 Hypothèses de travail sur la cellulose

A partir de ces connaissances acquises sur les possibilités éventuelles de dissolution de la cellulose, nous envisageons de travailler avec :

- Des celluloses en solution, à condition que le solvant puisse être compatible avec la réactivité des autres réactifs mis en jeu.
- Des celluloses solides ; l'obtention de solutions diluées homogènes pour des analyses spectroscopiques UV seraient alors nécessaires.
- Du coton hydrophile ou de la gaze, en vue d'applications potentielles pharmaceutiques.
- Du papier (type filtre), dans l'objectif de développer des filtres capables de complexer sélectivement des cations métalliques.

4.6 Nos essais de solubilisation de la cellulose

Nous procédons en premier lieu à des essais de solubilisation de la cellulose en poudre en vue d'obtenir des solutions diluées.

Dans des solutions aqueuses de NaOH (2, 3 et 5M) à froid, les tentatives sont infructueuses. Les résultats semblent s'améliorer dans une solution aqueuse de $ZnCl_2$ 1M (méthode décrite par Ott¹⁴) avec des solutions légèrement troubles. Nous retiendrons le mélange DMSO/paraformaldéhyde²⁷, ce qui nous permettra éventuellement de comparer la différence de solubilité entre la cellulose et le produit de greffage.

La dissolution de cellulose en poudre ou sous forme de coton hydrophile dans un mélange DMSO/TBAF (structure sur la figure 4.22), selon le procédé mis au point par Heinze et coll.¹⁵, aboutit, dans nos différents essais, à la formation de gels, peu exploitables *a priori*.

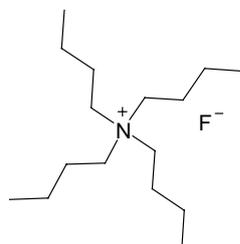


Figure 4.22 : Fluorure de tétrabutylammonium(TBAF).

Le N-oxyle de N-méthylmorpholine dans le DMSO permet également d'accéder à des solutions diluées qui pourraient s'avérer utiles en analyse spectroscopique UV-Visible et spectrométrie RMN.

Ces premiers résultats sont consignés dans le tableau, sur la figure 4.23.

<i>Solvants</i>	<i>Résultats de dissolution de la cellulose en poudre</i>
NaOH _(aq)	insoluble
ZnCl _{2(aq)}	solution légèrement trouble
DMSO/paraformaldéhyde	solution diluée
DMSO / TBAF	gel
DMSO/N-oxyle de N-méthylmorpholine	solution diluée

Figure 4.23 : Nos résultats de solubilisation de la cellulose en poudre.

Ces résultats démontrent la difficulté à solubiliser des quantités importantes de cellulose (en poudre ou de coton). Nous redéfinissons donc notre stratégie en choisissant de travailler dans un premier temps sur support solide avec des celluloses en poudre ou du coton.

Pour des raisons d'économie de composé calixarénique complexant, les tentatives débiteront avec de simples unités complexantes de type bipyridinique ou bithiazolique, accessibles plus facilement, pour ensuite travailler avec le dérivé du calix[4]arène.

4.7 Nos premières tentatives de greffage d'hétérocycles sur cellulose en poudre

Les premiers essais permettent de mettre en œuvre plusieurs approches possibles en terme d'assemblage de l'unité complexante munie de l'espaceur, du réactif de couplage, du polymère naturel. Nous utiliserons par la suite la terminologie suivante :

P : polymère naturel
 R : groupe réactif
 E : espaceur
 G : molécule greffée

4.7.1 Approche par activation de la cellulose (P + R) + G

Les premiers résultats d'amines bioactives (protéines) greffées sur un support cellulosique (papier filtre) par une méthode employant le groupe réactif chlorure de cyanuryle ont été obtenus par Kay et Crook¹⁶ en 1967. Le principe était d'activer la cellulose par mise en contact direct avec une base forte et obtenir des sites alcoolates nucléophiles, réagissant avec le chlorure de cyanuryle. La structure obtenue, dénommée ainsi cellulose activée, présente des sites libres capables de réagir, *via* une attaque nucléophile, avec les groupements amines des protéines (figure 4.24).

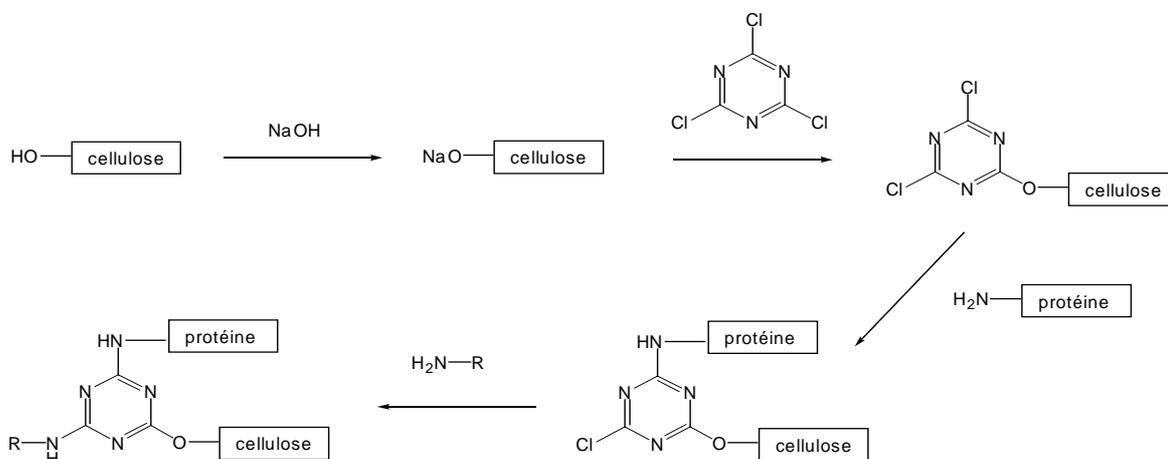


Figure 4.24 : Approche de greffage de protéines par activation de la cellulose¹⁶.

Cette méthode a également été utilisée sur des celluloses en poudre¹⁶, support sur lequel nous souhaitons effectuer nos premiers essais de greffage. Mais en l'absence d'une méthode analytique permettant de confirmer avec certitude si le greffage aurait lieu ou non, nous testons cette méthode en utilisant en guise de molécule test, un hétérocycle de type bithiazole, comprenant une fonction amine (composé **18**).

La molécule de 2,2'-bithiazole et ses analogues absorbent fortement dans l'UV, à environ 300 nm. Il fluoresce de façon intense, avec un rendement quantique proche de 1 à 396 nm¹⁷. Nous exploitons cette propriété pour utiliser le bithiazole en tant que traceur pour évaluer qualitativement le greffage. Le composé **18** a été préparé à partir du 4-bromométhyl-4'-méthyl-2,2'-bithiazole¹⁸, sur lequel la réaction de NaN₃ dans le DMSO permet d'isoler le dérivé azidométhyl **17** (figure 4.25). La réduction du groupe azido par hydrogénation catalytique donne l'amine **18**.

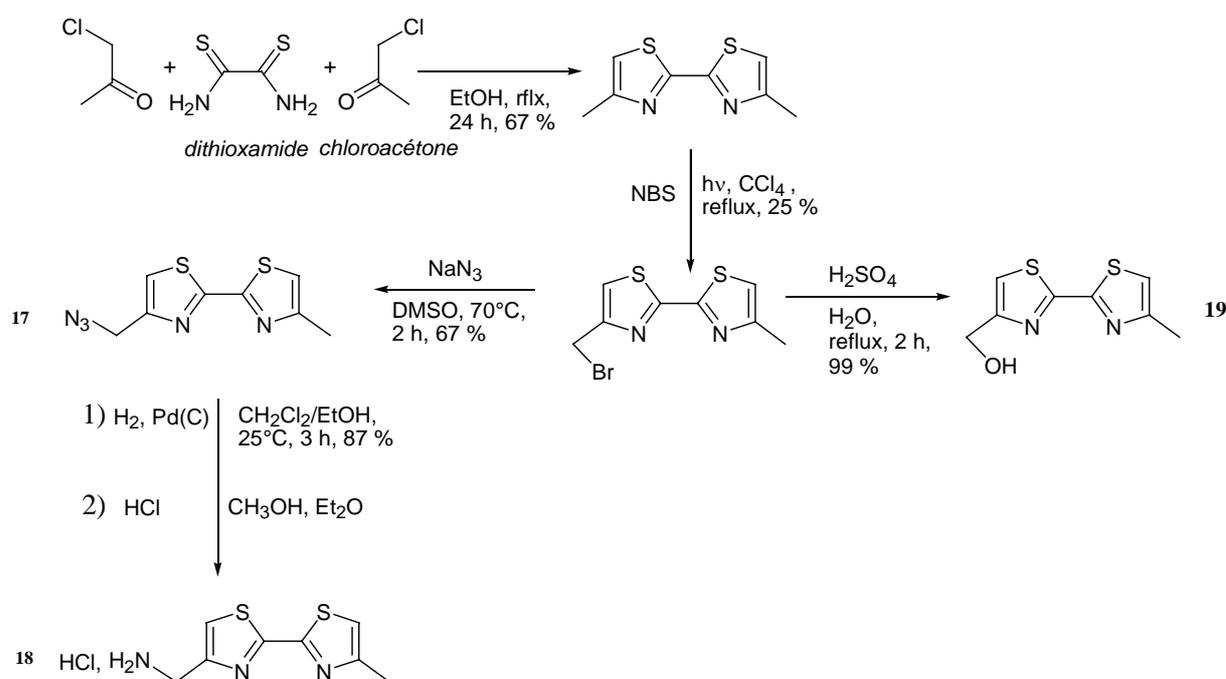


Figure 4.25 : Préparation du composé **18** à partir du 4,4'-diméthyle-2,2'-bithiazole.

Notre démarche de travail, avec un traceur tel que le bithiazole, est d'utiliser une cellulose activée (figure 4.26). Le composé **18**, sur lequel l'amine a été libérée en présence d'une base (la triéthylamine) a été mis en contact avec cette cellulose activée dans l'acétone, en présence de K₂CO₃ aqueux (figure 4.26).

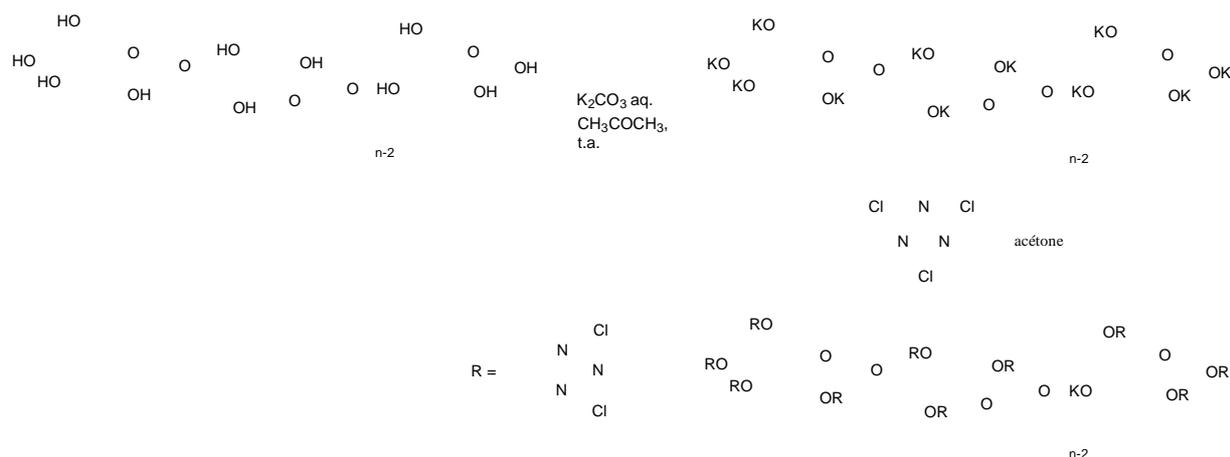


Figure 4.26 : *Activation de la cellulose.*

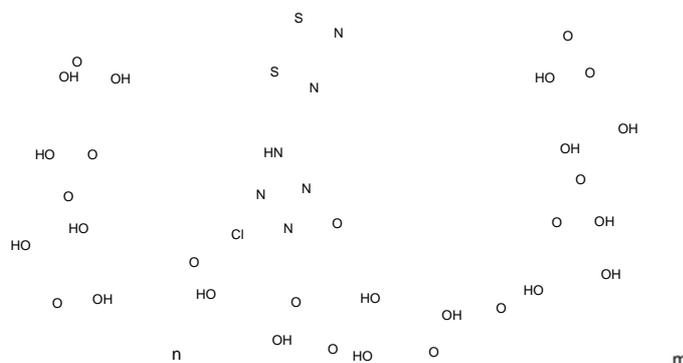


Figure 4.27 : *Proposition de structure pour le composé 20.*

Le composé **20** obtenu (figure 4.27) n'est pas analysable directement. Le solide absorbe aux environs de 300 nm et fluoresce de façon très nette sous irradiation à 254 nm et 365 nm, ce qui laisse supposer que le greffage s'est bien effectué et ne modifie pas la structure bithiazolique qui semble résister aux conditions de greffage. Notons que nous observons une légère coloration jaune en présence d'ions Cu^+ dans l'acétonitrile (la cellulose native ne donnant rien) : coloration caractéristique de la formation d'un complexe bithiazolique (MLCT dans $[\text{Cu}(\text{btz})_2]$), ce qui renforce l'hypothèse que le greffage a eu lieu.

Notons que les possibilités d'analyse sont limitées par les difficultés d'obtenir des solutions de polymère. En outre, l'analyse IR (en pastille dans KBr) et l'analyse élémentaire ne nous apportent pas d'informations supplémentaires.

4.7.2 Approche « one pot » (P + E) + R + G

Cette seconde approche met en jeu le composé **22**, un hétérocycle de type bipyridine, muni du bras espaceur, semblable à celui choisi pour nos greffages de calixarènes. Les conditions de préparation du composé **22** sont décrites sur la figure 4.28.

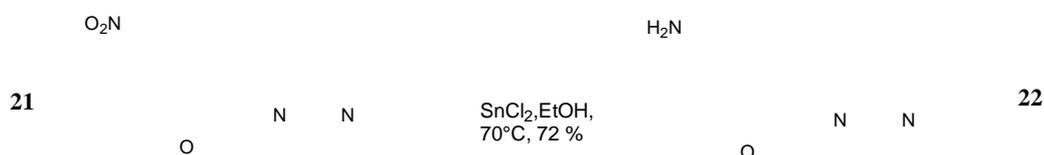


Figure 4.28 : Préparation du composé **22** par hydrogénation catalytique de la fonction nitro du composé **21**.

Pardal et coll.¹⁹ ont montré qu'il était possible de greffer un colorant de type cyanine (terme désignant une famille de colorant, répondant à la structure $\text{Ar-N}^+=\text{CH}[\text{CH}=\text{CH}]=\text{NAr}$, voir figure 4.29) possédant une fonction amine, sur de la cellulose microcristalline, en présence de chlorure de cyanuryle dans une réaction de type « one pot » dans des conditions relativement douces.

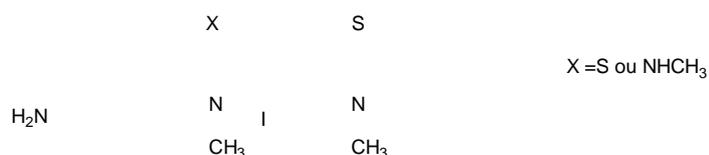


Figure 4.29 : Exemple de colorant de type cyanine¹⁹.

Les conditions utilisées pour notre greffage mettent en jeu la cellulose en poudre suspendue dans le DMF, solvant ayant donné les meilleurs résultats, lors du greffage des colorants cyanine¹⁹, et mise directement en contact avec une base (CO_3^{2-}) et le chlorure de cyanuryle. On ajoute rapidement l'amine (composé **22**) et le tout est porté à 70°C. Nous obtenons le composé **23** dont la structure supposée est décrite sur la figure 4.30.

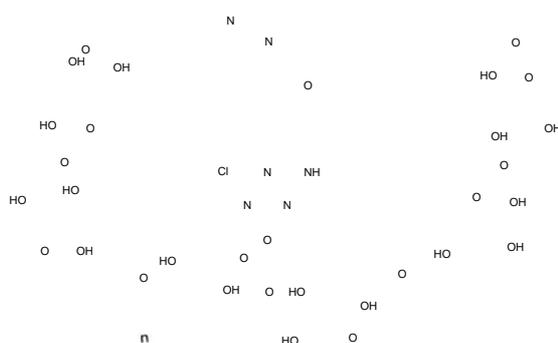


Figure 4.30 : Proposition de structure pour le composé **23**.

Le ligand utilisé nous permet de mettre en évidence la capacité du polymère **23** ainsi préparé à complexer l'ion Cu^+ (dans l'acétonitrile) et de confirmer que le greffage a bien eu lieu. On observe, en effet, une coloration jaune légère, correspondant à la MLCT du complexe $[\text{Cu}(\text{bpy})_2]^+$ formé. Il est à noter que cette observation nécessite d'admettre un rapprochement effectif des 2 bipyridines (ou 2 bithiazoles) autour de l'ion Cu^+ , donnant de probables repliements de chaînes.

4.7.3 Bilan de nos premiers greffages

Ces résultats de greffage sur cellulose d'unités bithiazoliques et bipyridiniques, utilisant respectivement les méthodes « cellulose activée » et « couplage one pot » nous permettent d'envisager de tester ces deux méthodes sur un calix[4]arène. Les problèmes de solubilisation sur la cellulose, greffée ou non, ne permettent cependant pas d'envisager immédiatement l'utilisation d'une méthode spectroscopique d'analyse.

4.8 Greffages du calix[4]arène **11** sur cellulose en poudre

Les premiers essais de greffage engageant une structure calix[4]arénique nous conduisent au composé **24**. Nous avons choisi le calix[4]arène **11**, aux fonctions hydroxyle protégées sous forme d'éther méthylique, dans un couplage de type « one-pot », déjà testé précédemment, dans les conditions K_2CO_3 aq/DMF/30-70°C. La protection des OH nous a semblé nécessaire afin d'éviter des interactions néfastes au couplage, dans les conditions utilisées.

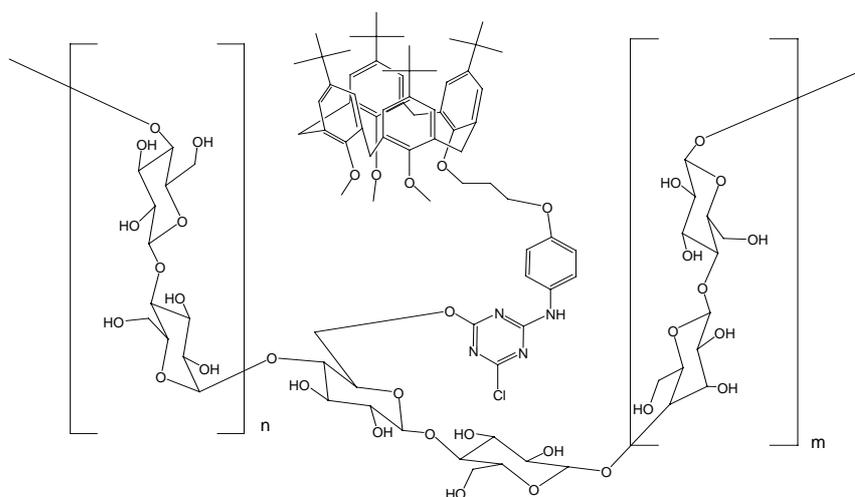


Figure 4.31 : Proposition de structure pour le composé **24**.

Il est important de remarquer que les essais de solubilisation du composé **24** laissent apparaître une nette augmentation de la solubilité (par rapport à la cellulose en poudre de départ) de ce matériau issu de cette réaction dans un mélange DMSO/paraformaldéhyde²⁷ (10 mL/55 mg) à 130°C après 30 minutes d'agitation.

Afin de mettre au point une méthode d'analyse fiable, nous avons préparé le composé **25**, produit de couplage entre le calix[4]arène **11** et le chlorure de cyanuryle (figure 4.32).

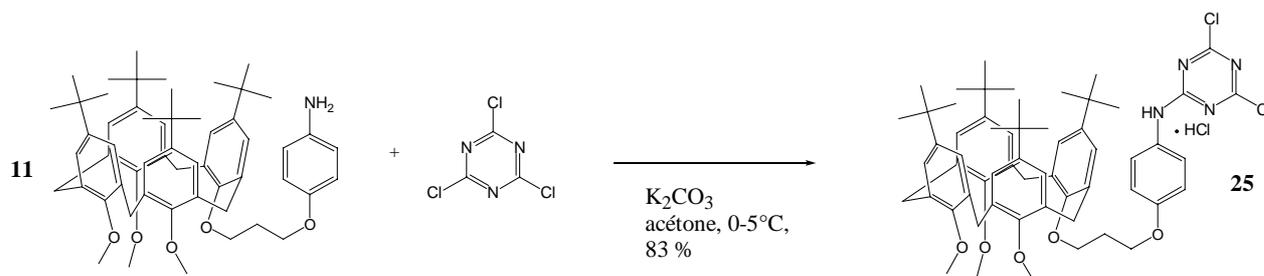


Figure 4.32 : Préparation du calix[4]arène **25**

La caractérisation du composé **25** est limitée par l'absence d'une conformation de calixarène déterminée, comme le montre les spectres RMN 1H et ^{13}C , peu exploitables (figures 4.33 et 4.34). On retrouve la fluxionalité caractéristique des analogues triméthoxycalix[4]arène, décrite précédemment.

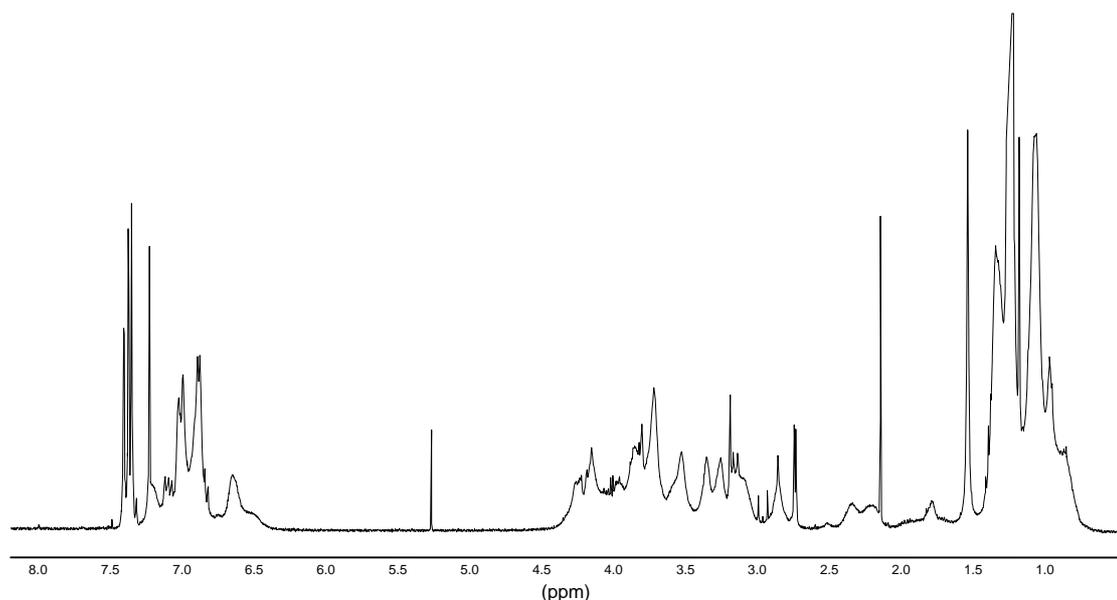


Figure 4.33: Spectre RMN 1H (400 MHz, t.a., $CDCl_3$) du composé **25**.

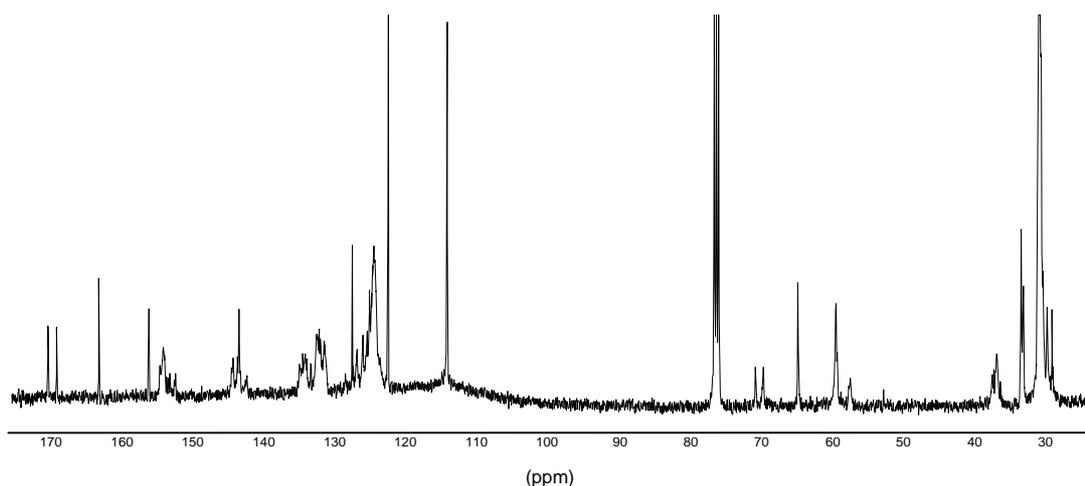


Figure 4.34 : Spectre RMN ^{13}C (400 MHz, t.a., CDCl_3) du composé **25**.

Toutefois, l'observation du spectre RMN ^{13}C dans les champs faibles nous permet de caractériser la présence des signaux de résonance des carbones triaziniques (figure 4.35).

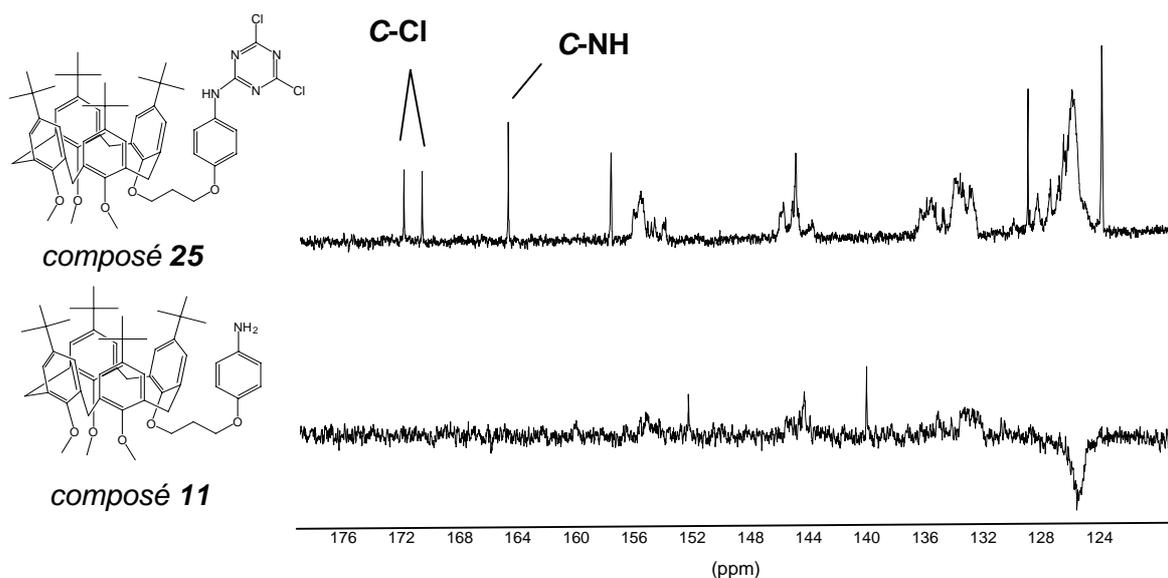


Figure 4.35 : Spectres RMN ^{13}C (400 MHz, t.a., CDCl_3) partiels (champs faibles) des composés **11** et **25**.

Nous nous reportons sur la spectroscopie de masse (figure 4.36), la spectroscopie UV-Visible (figure 4.37) et l'analyse élémentaire (qui confirme l'existence de ce composé sous forme de chlorhydrate) pour caractériser le composé **25**.

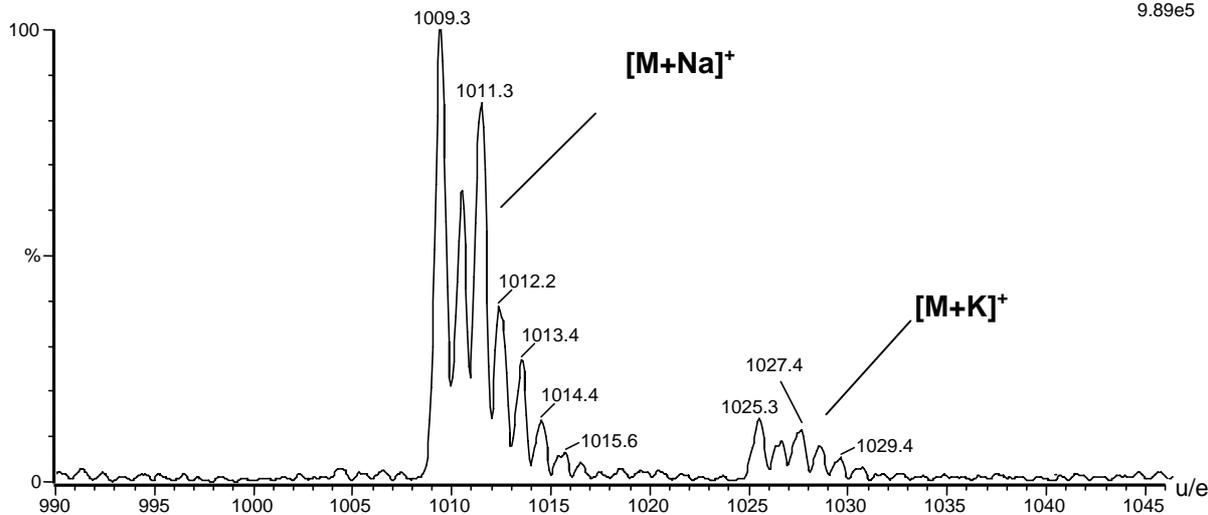


Figure 4.36 : Spectre de masse (ES+) du composé 25.

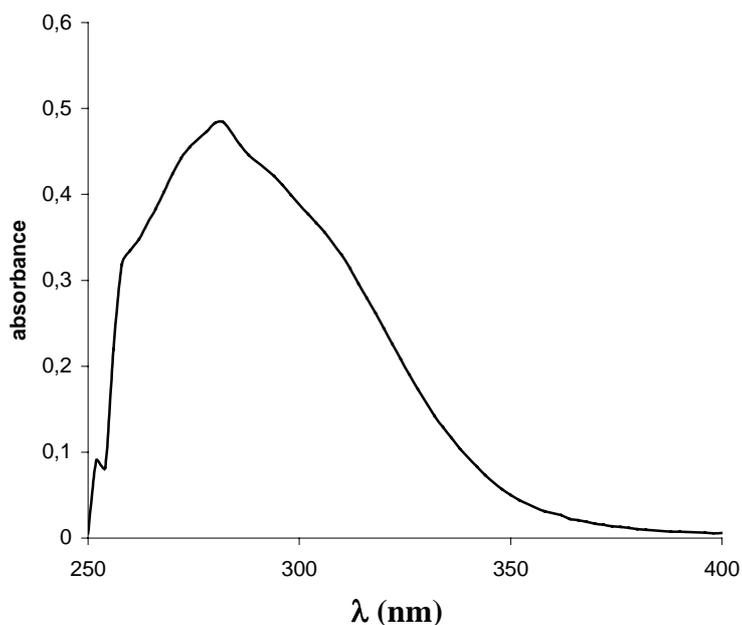


Figure 4.37 : Spectre UV-Visible (DMSO) du composé 25.

A partir de cette dernière analyse, nous procédons à l'analyse UV-Visible du composé cellulosique greffé **24**. La solution dans le DMSO + N-méthylmorpholine obtenue étant satisfaisante, l'analyse révèle une absorbance maximale à $\lambda_{\text{max}}=280$ nm pour des solutions de polymère à 10^{-2} mol.L⁻¹ (figure 4.38). Cette absorption correspond à la présence des chromophores du calix[4]arène, mais on ne peut exclure l'influence des groupements carbonyle provenant du DMF résiduel (qui présente également des longueurs d'absorption

voisines dans le DMSO). Le résultat n'est donc pas rigoureusement concluant, en considérant un rinçage imparfait.

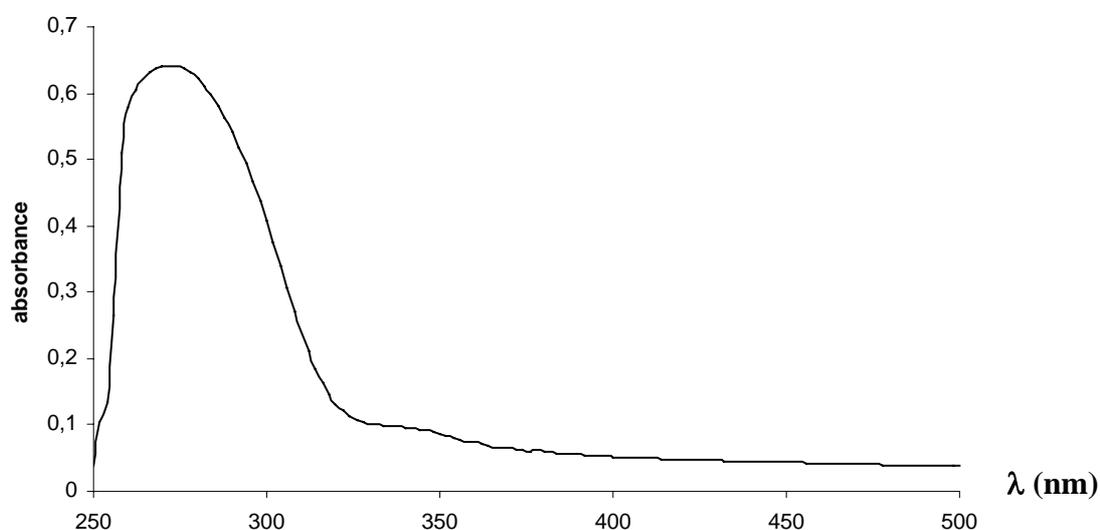


Figure 4.38 : Spectre UV-Visible (DMSO – N-méthylmorpholine) du composé **24**.

Une autre série d'analyses par spectroscopie UV-Visible à partir de solutions diluées dans le DMSO et le N-oxyde de N-méthylmorpholine (figure 4.39), et dans le DMSO et le paraformaldéhyde (figure 4.40), n'apportera rien de concluant, la longueur d'onde d'absorption maximale (260 nm) n'étant pas imputable uniquement aux chromophores du calix[4]arène. On constate, en particulier, sur la figure 4.39, des plateaux d'absorption dans les régions 280-300 nm et 420 nm.

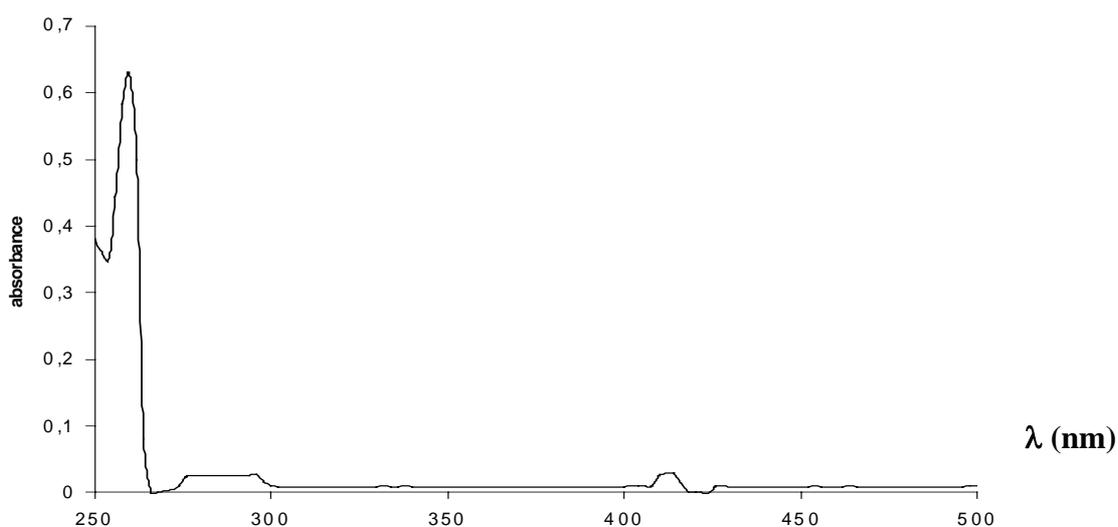


Figure 4.39 : Spectre UV-visible (DMSO – N-méthylmorpholine) du composé **24**.

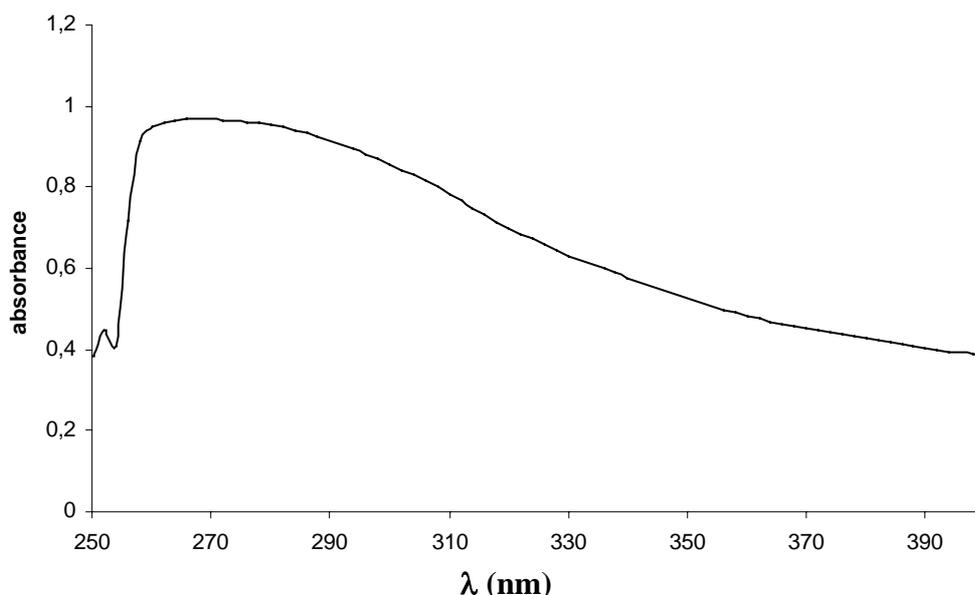


Figure 4.40 : *Spectre UV-Visible (DMSO - paraformaldéhyde) du composé 24.*

Cependant, en terme quantitatif, les analyses IR et RMN ^{13}C du solide pratiquées sur les ligands obtenus ne permettent pas d'évaluer le taux de greffage.

4.9 Greffages du calix[4]arène **14** sur cellulose en poudre

4.9.1 Mises au point

Les premiers essais de greffage du calix[4]arène tris-bipyridyle **14** sur cellulose en poudre selon la méthode « cellulose activée » se sont avérés inefficaces. En revanche, la méthode « one-pot » nous a rapidement permis d'accéder à nos premiers résultats intéressants et d'obtenir nos premiers ligands polymères **26a**, **26b** et **26c**. Il nous a surtout été possible d'étudier la stoechiométrie de nos réactions de greffage, en contrôlant les quantités de composé **14** engagées dans le bain de greffage (tableau de la figure 4.41).

<i>composé</i>	<i>rapport stoechiométrique calixarène 14 / cellulose*</i>	<i>conditions</i>
26a	3 %	DMF, chlorure de cyanuryle, Na ₂ CO ₃ aq. 30°C - 70°C
26b	15 %	
26c	30 %	

**le rapport stoechiométrique correspondant au quotient du nombre de mole de calix[4]arène engagé par le nombre de mole d'unité glucose de la cellulose.*

Figure 4.41 : *Conditions opératoires du greffage du calix[4]arène 14 sur la cellulose en poudre, relatives à la préparation des composés 26a, 26b et 26c.*

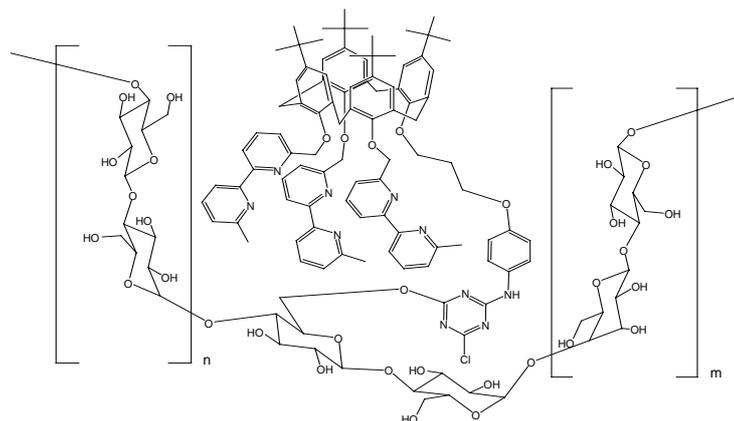


Figure 4.42 : Proposition de structure pour les composés **26a**, **26b** et **26c**.

D'un point de vue mécanistique, il est à noter que l'intermédiaire **27** que nous avons préparé séparément se forme *in situ* dans le bain de greffage (figure 4.43), d'après les observations par CCM. Cependant, les tentatives d'incorporation directe du composé **27** dans le bain de greffage se révèlent inefficaces. Il est donc nécessaire de procéder à une réaction de type « one pot » pour obtenir des résultats concluants.

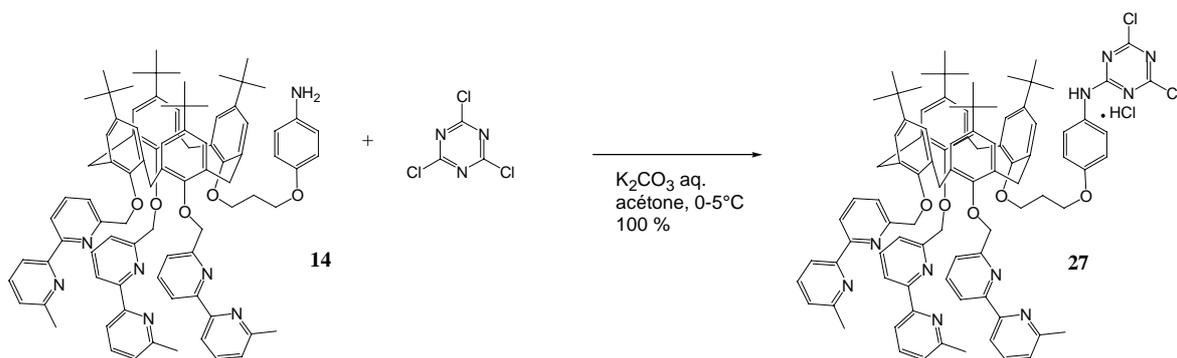


Figure 4.43 : Préparation du calix[4]arène **27**, intermédiaire observé de la réaction de synthèse des composés **26a**, **26b** et **26c**.

Les analyses RMN ^1H (figure 4.44) et ^{13}C (figures 4.45 et 4.46) contiennent les signaux de résonance attendus pour le composé **27**, avec en particulier :

- Deux systèmes AB (*ca* 3,0- 4,4), en RMN ^1H , caractéristiques des protons Ar-CH₂-Ar, confirmant ainsi la conformation cône pour le calix[4]arène **27**.
- La présence des signaux relatifs aux carbones triaziniques en RMN ^{13}C , confirmant ainsi le couplage entre le calixarène **14** et le chlorure de cyanuryle.

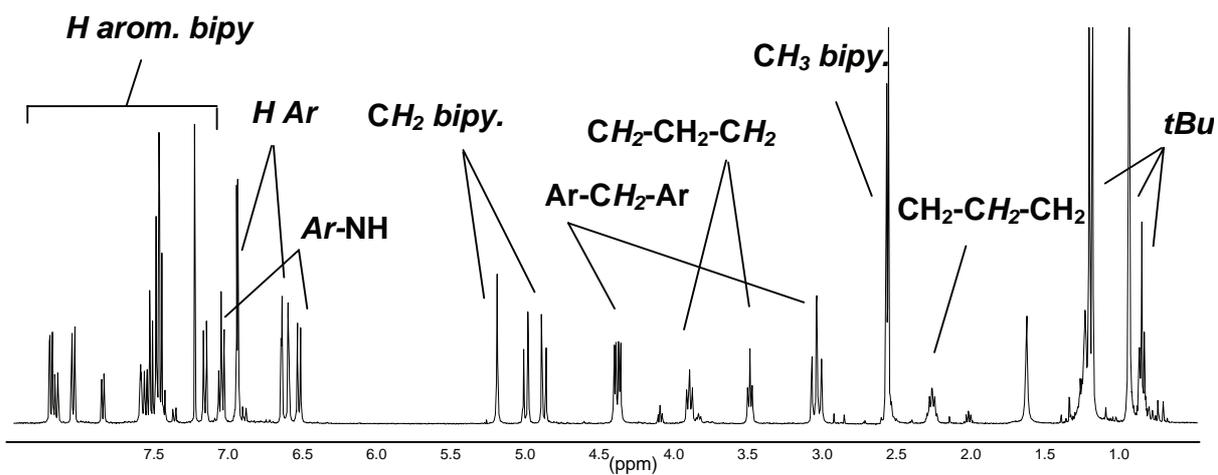


Figure 4.44 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, t.a., CDCl_3) du composé 27.

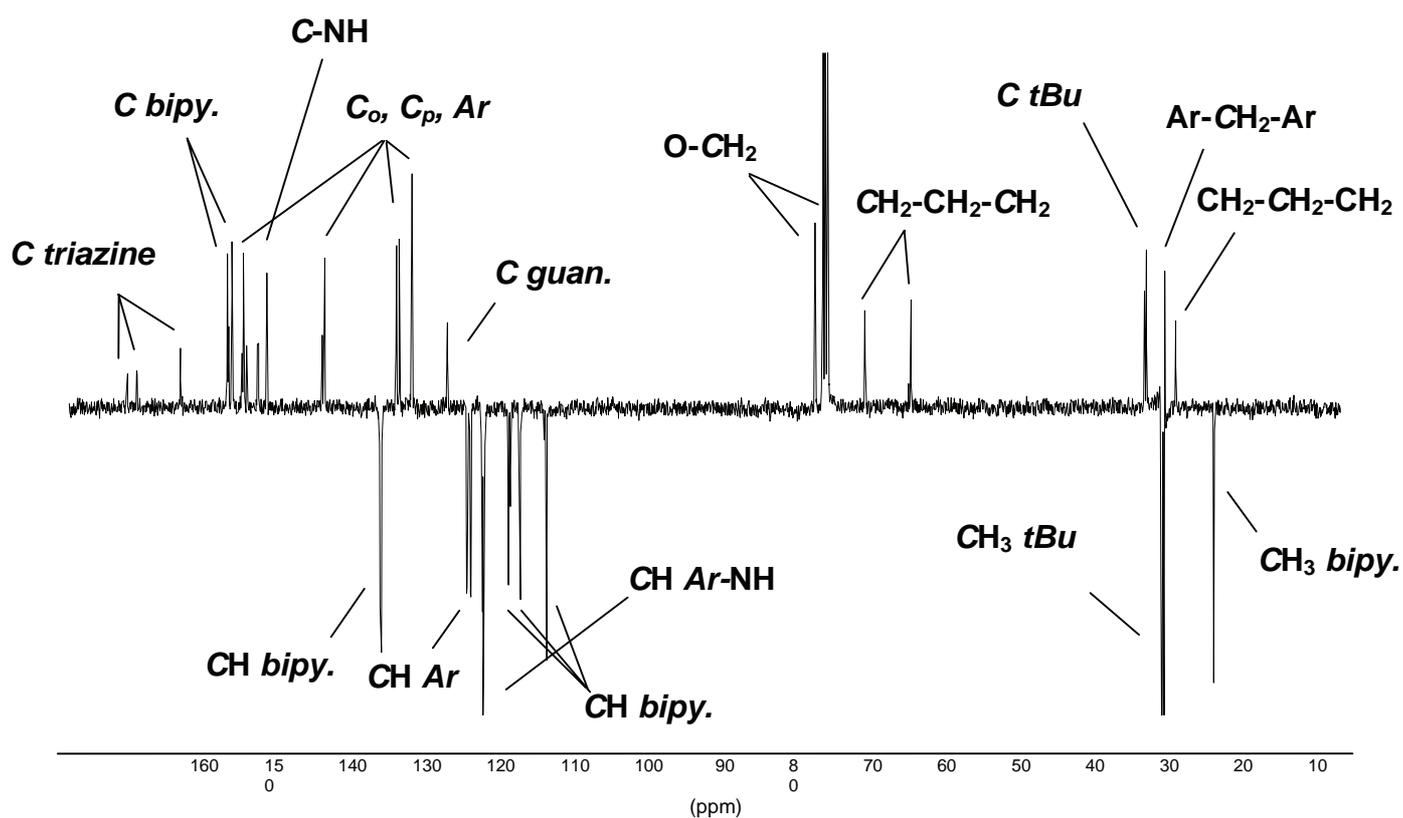


Figure 4.45 : Spectre RMN ^{13}C (400 MHz, t.a., CDCl_3) du composé 27.

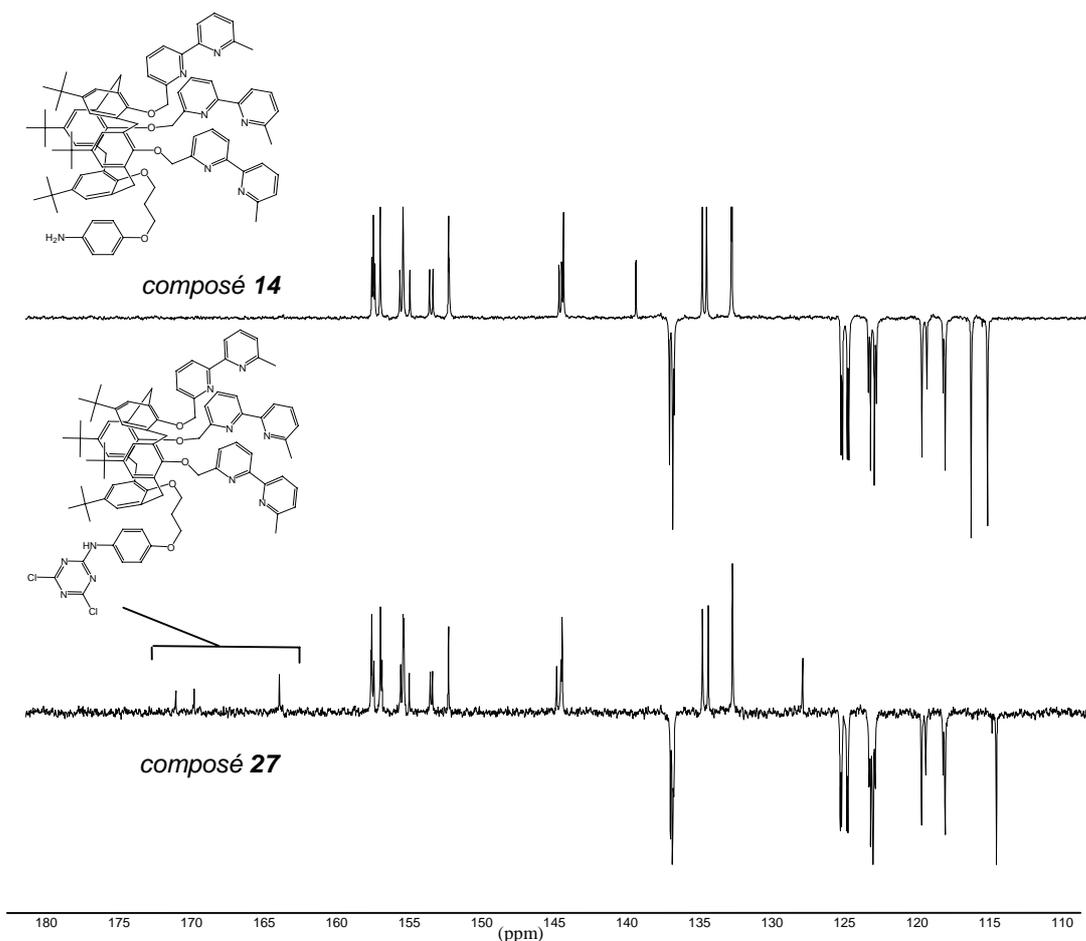


Figure 4.46 : Spectres RMN ^{13}C (400 MHz, t.a., CDCl_3) partiels des composés **14** et **27**.

L'aptitude à la complexation de l'ion Cu^+ dans l'acétonitrile permet d'évaluer qualitativement le taux de greffage. Ce dernier semble augmenter avec la quantité relative de calix[4]arène par rapport à la cellulose en poudre présent dans le bain de greffage. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant (figure 4.47).

<i>Ligands polymères</i>	<i>Rapport calix[4]arène 14/cellulose (en quantité de matière)</i>	<i>Observation de la coloration jaune (mise en contact cellulose greffée / Cu^+ dans CH_3CN)</i>
<i>composé 26a</i>	3 %	<i>légère</i>
<i>composé 26b</i>	15 %	<i>nette</i>
<i>composé 26c</i>	30 %	<i>très nette*</i>

*On observe également une modification du spectre IR.

Figure 4.47 : Tableau comparatif entre la quantité de calix[4]arène **14** engagée et la coloration du ligand en contact avec les ions Cu^+ dans l'acétonitrile.

4.9.2 Analyses des polymères greffés obtenus

L'analyse en spectroscopie FT-IR présente une modification dans la région 1350-1800 cm^{-1} entre la cellulose et le produit obtenu (figure 4.48).

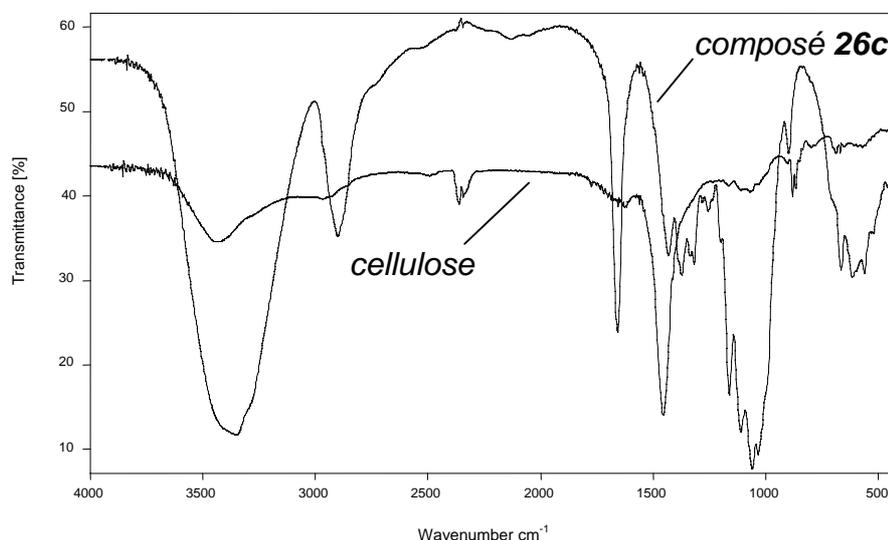


Figure 4.48 : Spectres FT-IR (KBr) comparatifs de la cellulose en poudre et du composé **26c**.

4.9.3 Bilan des greffages sur cellulose en poudre

La méthode « one pot » s'est avérée la mieux adaptée pour les greffages sur cellulose solide, en milieu hétérogène. Nous avons pu démontrer son efficacité à travers le greffage du calix[4]arène **14**, et les possibilités de complexation du ligand polymère obtenu, avec un taux de greffage, certes, relativement faible. Nous nous heurtons encore aux difficultés concernant l'analyse spectroscopique en solution des polymères greffés obtenus.

4.10 Greffage sur coton hydrophile et sur gaze

La mise en contact du coton hydrophile (composé **28**) ou de gaze (composé **29**) avec le « bain de greffage » dans les mêmes conditions, nous permet d'observer une légère coloration en présence d'ions Cu^+ dans l'acétonitrile. Cependant, nous n'obtenons pas de résultats aussi satisfaisants que ceux obtenus avec la cellulose en poudre, en raison probable d'une surface de contact avec le solvant relativement réduite pour le coton hydrophile et la gaze.

4.11 Bilan général des greffages réalisés sur cellulose

Le tableau suivant (figure 4.49) résume nos résultats de greffage sur différents supports de type cellulosique.

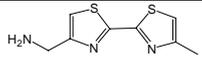
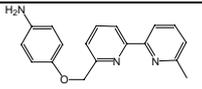
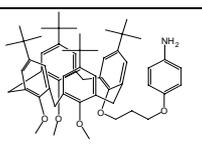
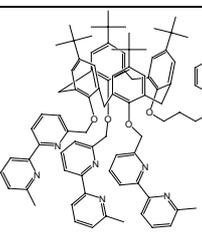
<i>Entité greffée</i>	<i>Support cellulosique</i>	<i>Méthode employée</i>	<i>Observations sur le polymère greffé</i>
 18	<i>poudre</i>	<i>cellulose activée</i>	<i>fluorescence bleue</i>
 22	<i>poudre</i>	<i>one pot</i>	<i>complexation de l'ion Cu⁺</i>
 11	<i>poudre</i>	<i>one pot</i>	<i>solubilité dans DMSO/paraformaldéhyde</i>
 14	<i>poudre</i>	<i>one pot</i>	<i>complexation de l'ion Cu⁺</i> <i>spectre FT-IR</i>
	<i>gaze</i>		<i>complexation de l'ion Cu⁺</i>
	<i>coton hydrophile</i>		<i>complexation de l'ion Cu⁺</i>

Figure 4.49 : Bilan de nos résultats de greffage sur supports cellulosiques.

4.12 Conclusion

Ce travail nous a permis de mettre au point un mode opératoire de greffage reproductible. Cependant, on peut supposer qu'une faible quantité est effectivement greffée par rapport aux quantités introduites dans le milieu réactionnel. On observe effectivement une dégradation de l'intermédiaire calixarène/chlorure de cyanuryle **27** en milieu basique, si bien que le produit non greffé n'est plus récupérable. Cette dégradation est due probablement à la sensibilité du groupement dichlorotriazine aux anions hydroxyde^{20,21}. Nous sommes également limités à l'utilisation du DMF comme solvant de réaction.

L'outil analytique, en particulier la RMN du proton, est également limité en raison de la difficulté de solubilisation des celluloses greffées. Les dosages UV-Visible des ligands polymères obtenus sont également difficiles à mettre en œuvre, car nous ne pouvons obtenir que des solutions diluées colloïdales.

Afin de procéder à des améliorations en terme de conditions opératoires, de stoechiométrie et d'analyse, nous souhaitons développer ce programme sur un polymère naturel : le dextran, qui présente une plus grande souplesse d'utilisation en raison de sa solubilité dans des solvants tels que l'eau ou le DMSO, tout en conservant un caractère polymère.

5. Greffage sur dextran

5.1 Structure des dextrans²²

Les dextrans sont des polymères naturels hydrosolubles à unités saccharidiques, d'origine bactérienne, composés essentiellement de chaînes linéaires d'unité glucopyranoses avec des liaisons α -1-6.

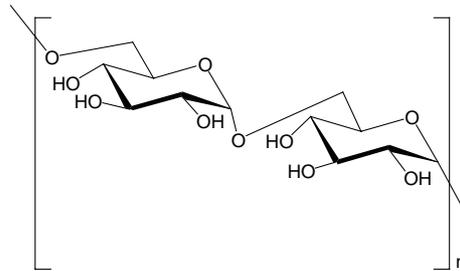


Figure 4.50 : Représentation de la chaîne polymère du dextran.

5.2 Les différentes formes de dextrans

La biocompatibilité des dextrans et de ses dérivés explique pourquoi on les rencontre dans les formulations cosmétiques, dans la pharmacie (en tant qu'adjuvant sanguin, ou lubrifiant dans la composition des gouttes ophtalmologiques), dans l'imagerie ainsi que dans d'autres domaines où il joue le rôle d'agent transporteur et/ou protecteur d'autres composés²².

- ***Le dextran natif***

On le trouve sous plusieurs poids moléculaires moyens. Nous utiliserons des dextrans de poids moléculaires moyens de 110 000 et 10 000.

- ***Le DEAE-Dextran***

Le diéthylaminoéthyl-Dextran ou DEAE-Dextran est un dérivé polycationique du dextran. Ses utilisations sont nombreuses : adjuvant dans la production de vaccins, stabilisateur et transporteur de protéines et d'acides nucléiques, agent dans la thérapie génique, agent flocculant dans le traitement des eaux... Son poids moléculaire moyen est de l'ordre de 500 000 dalton⁶⁴.

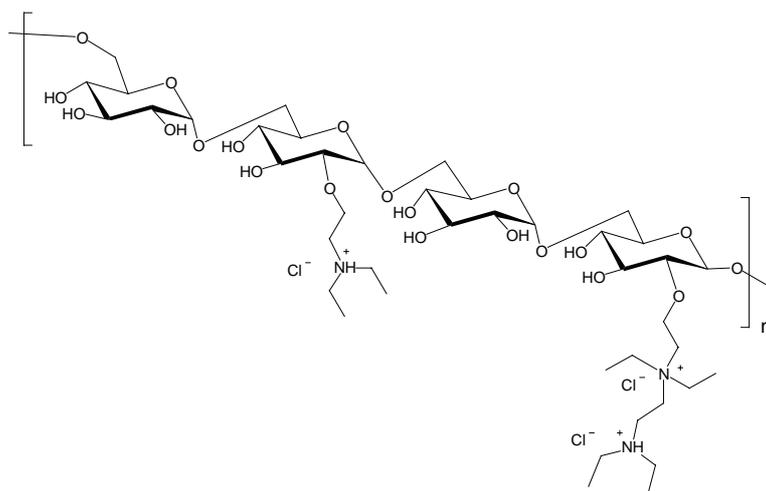


Figure 4.51 : Structure du DEAE-Dextran.

- **Le dextran-sulfate ou DS**

Le dextran sulfate est un dextran donc les groupements hydroxyle sont substitués par des groupements sulfonates. On le trouve généralement associé aux cations Na^+ .

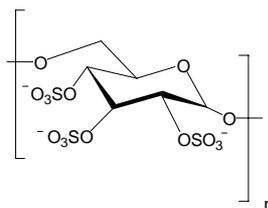


Figure 4.52 : Structure du dextran-sulfate.

L'utilisation du dextran-sulfate concerne le domaine biomédical. Il est connu entre autre comme apte à faire précipiter sélectivement des lipoprotéines²³, ou à inhiber l'adsorption à une cellule cible en se fixant sur l'enveloppe virale du HIV²³. Le dextran-sulfate possède également des propriétés anti-coagulantes, en raison des capacités de ce dernier d'activer la protéase nexine I (NP-1)²⁴.

5.3 Réactivité du dextran

De par sa structure, on peut rencontrer le même type de réactions décrites précédemment pour la cellulose, c'est-à-dire : hydrolyse, oxydation, estérification. Il ne présente cependant que des fonctions alcool secondaire, de réactivité considérée comme équivalente à la cellulose.

5.4 Solubilité du dextran

Le dextran présente le net avantage sur la cellulose d'être soluble dans l'eau, le DMSO et partiellement dans le DMF. Ces propriétés devraient nous permettre de disposer de moyens analytiques tels que la RMN ou la spectroscopie UV-visible.

5.5 Nos premiers essais de greffage sur dextran 110 000

5.5.1 Stratégies choisies

Nous choisissons, en premier lieu, d'adapter le mode opératoire « one pot », mis au point pour la cellulose en poudre, en substituant cette dernière par le dextran 110 000. Nous utiliserons d'abord, de la même façon, et à fin de mise au point, le composé bipyridine avant d'effectuer des tentatives avec le calix[4]arène, et ce pour des raisons de coût. Dans un deuxième temps, il s'agira de vérifier l'influence de la stoechiométrie (rapport molécule à greffer/dextran), et l'incidence des conditions de solvant.

5.5.2 Nos premières tentatives de greffage sur dextran 110 000

Dès les premiers essais de greffage de l'amine bipyridinique (composé **22**), nous constatons que le protocole mis au point pour la cellulose s'avère être très efficace sur le dextran 110 000. En effet, le dextran présente une solubilité partielle intéressante dans le DMF, solvant préconisé pour le greffage. Les premiers tests de complexation (visuels) du Cu^+ nous indiquent une densité de ligands greffés sur le dextran 110000 nettement supérieure à celle obtenue sur cellulose. Le composé polymère **30** a été obtenu en engageant une quantité stoechiométrique relative de 30 % (rapport entre la quantité de bipyridines et de chaînes polymères dextran).

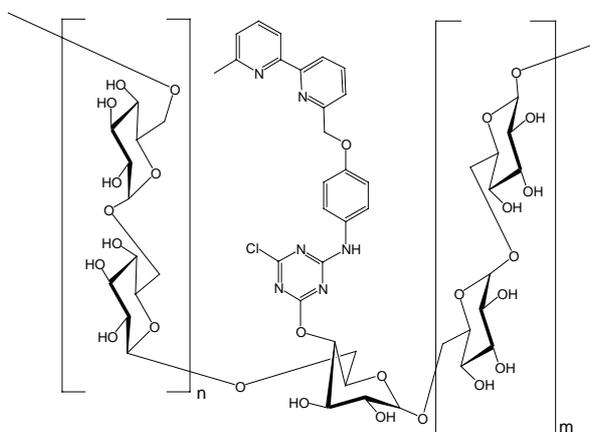


Figure 4.53 : Proposition de structure pour le composé **30**.

Ces résultats se confirment en appliquant toujours le même protocole de greffage au calix[4]arène **14**, en quantité stoechiométrique relative de 3 %. Nous devons obtenir un ligand polymère **31** capable de complexer l'ion Cu^+ (couleur caractéristique du complexe visible).

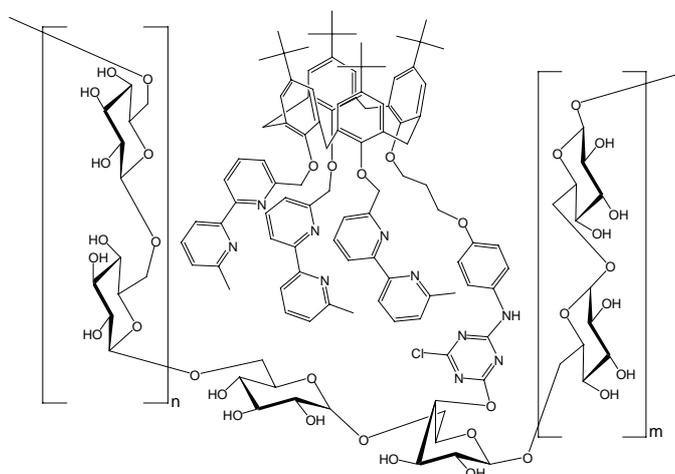


Figure 4.54 : Proposition de structure pour le composé **31**.

5.5.3 Analyses des premières structures obtenues

Le composé **31** obtenu est soluble dans l'eau et le DMSO. De ce fait, en solution, la mise en œuvre de techniques d'analyse en solution devient alors possible. Le spectre RMN ^1H du polymère **31** en solution dans D_2O et DMSO-d_6 (figure 4.55) confirme la présence de protons aromatiques appartenant au calix[4]arène greffé ; ces signaux n'apparaissent pas dans D_2O pure, semblant indiquer un repliement du calixarène hydrophobe au cœur du polymère, lui faisant perdre son caractère de solubilité.

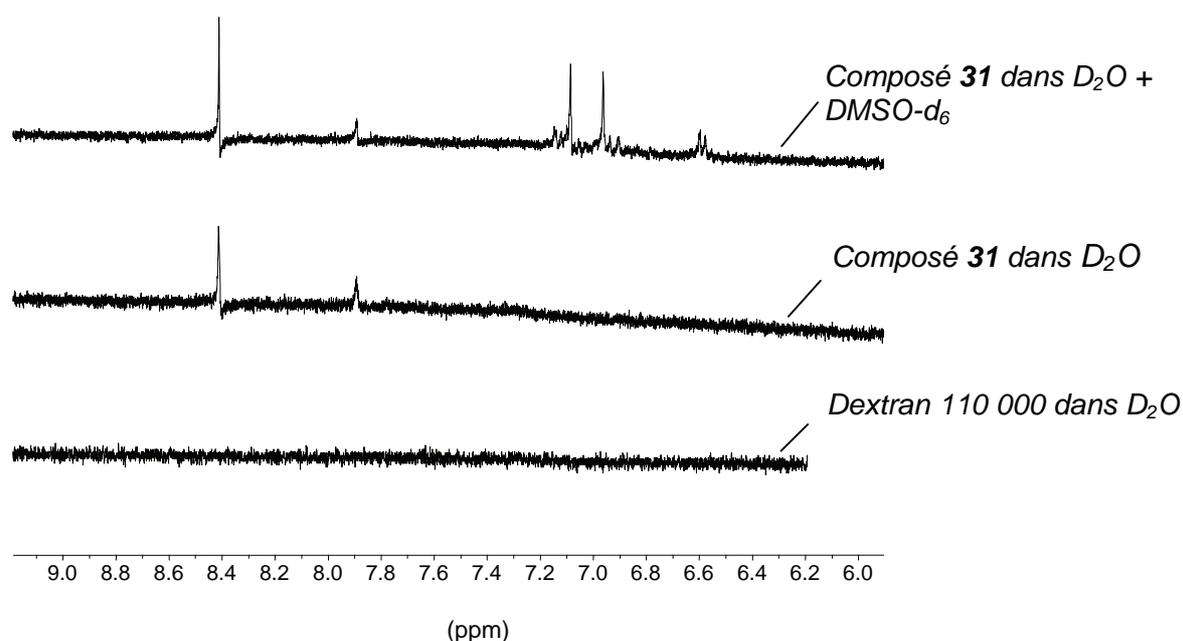


Figure 4.55 : Comparaison des spectres partiels-partie des champs faibles-du dextran 110000 (D_2O) et du composé **31** (D_2O et $\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO d}_6$) ; RMN ^1H (400 MHz, t.a.).

Cependant, les signaux des protons aromatiques sont encore trop faibles pour procéder à une intégration qui permettrait d'évaluer directement le taux de greffage.

La spectroscopie UV-visible sur le polymère ligand **31** seul dans l'eau est rendue cette fois possible (figure 4.56). Cependant, le taux de greffage calculé dans ce cas est beaucoup trop faible (environ 1 unité greffée pour 1000 chaînes dextran). Il est vrai que la valeur de l'absorbance maximale, située à 284 nm n'est pas exploitable. En effet, le calixarène **14** composé n'étant pas soluble dans l'eau, il n'est pas possible de déterminer rigoureusement la longueur d'onde maximale d'absorption (λ_{\max}) dans l'eau du composé **31**.

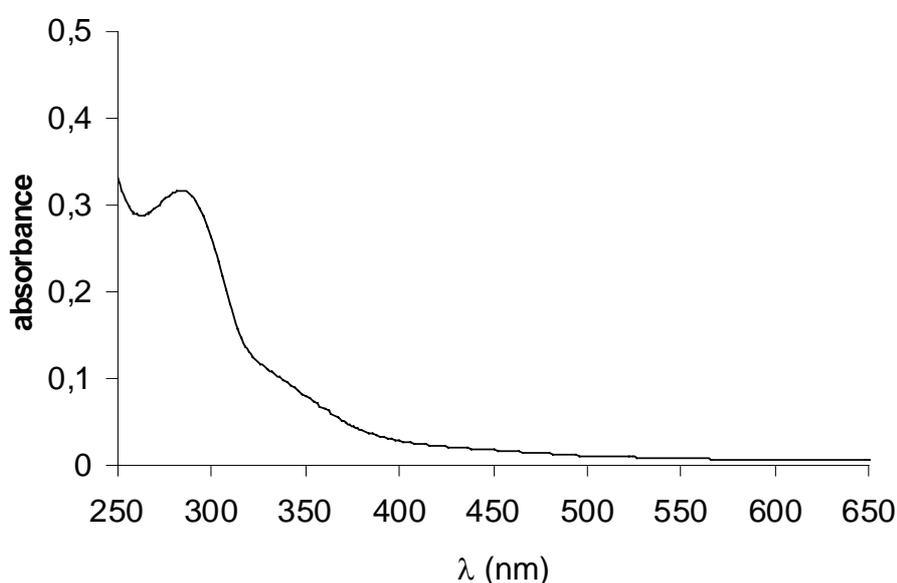


Figure 4.56 : Spectre UV-Visible (H_2O) du composé **31**.

Nous avons tenté de mettre en œuvre également un premier dosage par le Cu^+ dans l'eau. Nous utilisons une solution de Cu^{2+} , et nous ajoutons dans la solution de ligand de l'hydrazine hydratée. Nous n'observons pas de MLCT vers 455 nm (caractéristique du complexe $Cu[bpy]_2$), même après un ajout de 100 équivalents par rapport au taux supposé (0,1 %).

Le remplacement de l'hydrazine par l'acide ascorbique génère une opacité de la solution qui ne nous permet pas d'effectuer un dosage rigoureux.

On peut conclure que les dosages dans l'eau sont difficiles à mettre en œuvre, compte tenu de la stabilité de l'ion Cu^+ dans cette dernière (dismutation en Cu^0 et Cu^{2+}).

5.6 Développement du protocole de greffage sur dextran 10 000

Ce dextran présente un poids moléculaire moyen de 10000 D. Ce sont des chaînes polymères plus courtes que le dextran 110 000 utilisé précédemment. Notre choix s'est porté sur cette forme de dextran pour des raisons de solubilité. En effet, le dextran 10 000 est plus soluble dans le DMF que le dextran 110 000, et surtout très soluble dans le DMSO et dans l'eau. Nous espérons ainsi transposer cette augmentation de solubilité au polymère greffé, mais surtout pouvoir obtenir un taux de greffage en solution supérieur, du fait d'une meilleure accessibilité des réactifs aux sites actifs des dextrans. Le dextran 10 000 comprend un nombre moyen de 62 motifs sucres contre 679 motifs sucres pour le dextran 110 000.

5.6.1 Greffage du composé bithiazolique **18**

Une nouvelle fois, pour initier une nouvelle démarche, nous exploitons les propriétés de fluorescence du bithiazole, pour l'utiliser en tant que traceur pour évaluer qualitativement le greffage. Ce greffage permet de tester le mode opératoire « one pot » sur le dextran 10 000. Nous obtenons le composé **32**, qui présente les propriétés attendues de fluorescence dans le bleu.

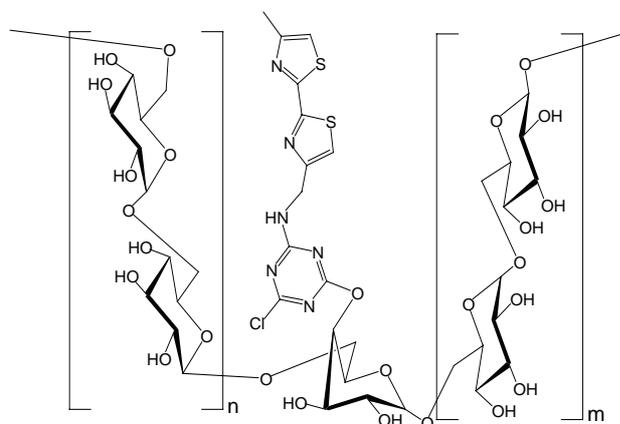


Figure 4.57 : Proposition de structure pour le composé **32**.

5.6.2 Greffage du calix[4]arène trisbipyridyle **14**

Les difficultés de fabrication du composé **14** (en coût et en temps), nous impose de revoir notre stratégie afin de minimiser les pertes encourues au cours du greffage, dues à des dégradations en milieu basique du réactif calixarénique à greffer. Nous avons étudié les meilleures conditions de solubilité du dextran 10 000 et de réaction en jouant sur la composition de solvant (DMF et/ou DMSO).

Nous avons trouvé que le DMSO est un excellent solvant pour le dextran 10 000. Cependant, les premiers essais de greffage que nous avons effectués en substituant le DMF par le DMSO se sont révélés infructueux. En effet, le composé intermédiaire **27** qui se forme *in situ*, demeure inchangé lors du contrôle sur CCM du milieu réactionnel. On peut donc supposer que la présence de DMF est indispensable à son couplage au polymère.

Afin de vérifier la nécessité de la présence de DMF, nous avons tenté la réaction dans un mélange DMSO/DMF 9:1 qui suffit à solubiliser totalement le dextran 10 000, et qui se révèle être nettement plus efficace dans la réaction de couplage « one-pot ». Les résultats ont été obtenus pour des quantités engagées avec des rapports stoechiométriques calix[4]arène/dextran variables (5 %, 10 % et 30 %), pour obtenir respectivement les composés **33a**, **33b** et **33c**, hydrosolubles et capables de complexer également l'ion Cu^+ dans l'acétonitrile en solution aqueuse (figure 4.58).

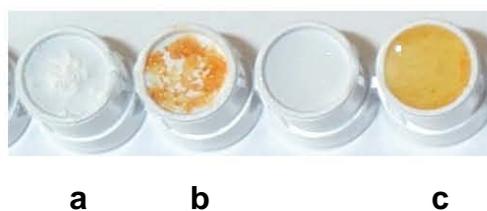


Figure 4.58 : Visualisation de la complexation :
 (a) composé **33c** solide ;
 (b) composé **33c** solide + Cu(I) dans l'acétonitrile ;
 (c) solution aqueuse du composé **33c** + Cu(I) dans l'acétonitrile.

On peut également remarquer que le complexe composé **33c**- Cu(I) est particulièrement stable en solution aqueuse pendant plusieurs semaines.

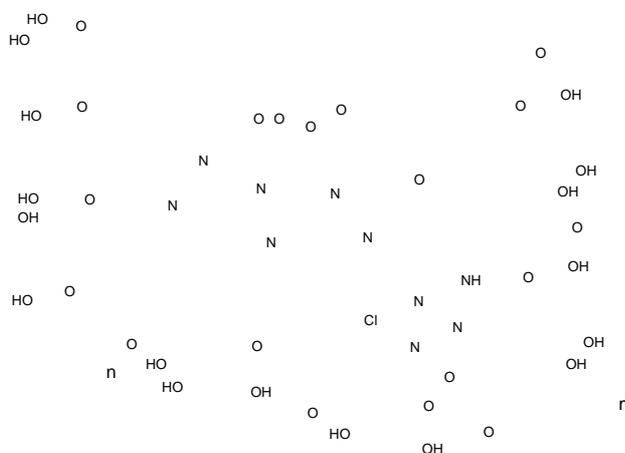


Figure 4.59 : Proposition de structure des composés **33a**, **33b** et **33c**.

5.6.3 Analyses spectroscopiques RMN ^1H des composés **33a**, **33b** et **33c**

Les analyses spectroscopiques RMN ^1H dans le DMSO- d_6 sur la figure 4.60 du composé **33b** nous confirment la présence de signaux aromatiques et alkyles, que l'on attribue aux calix[4]arènes.

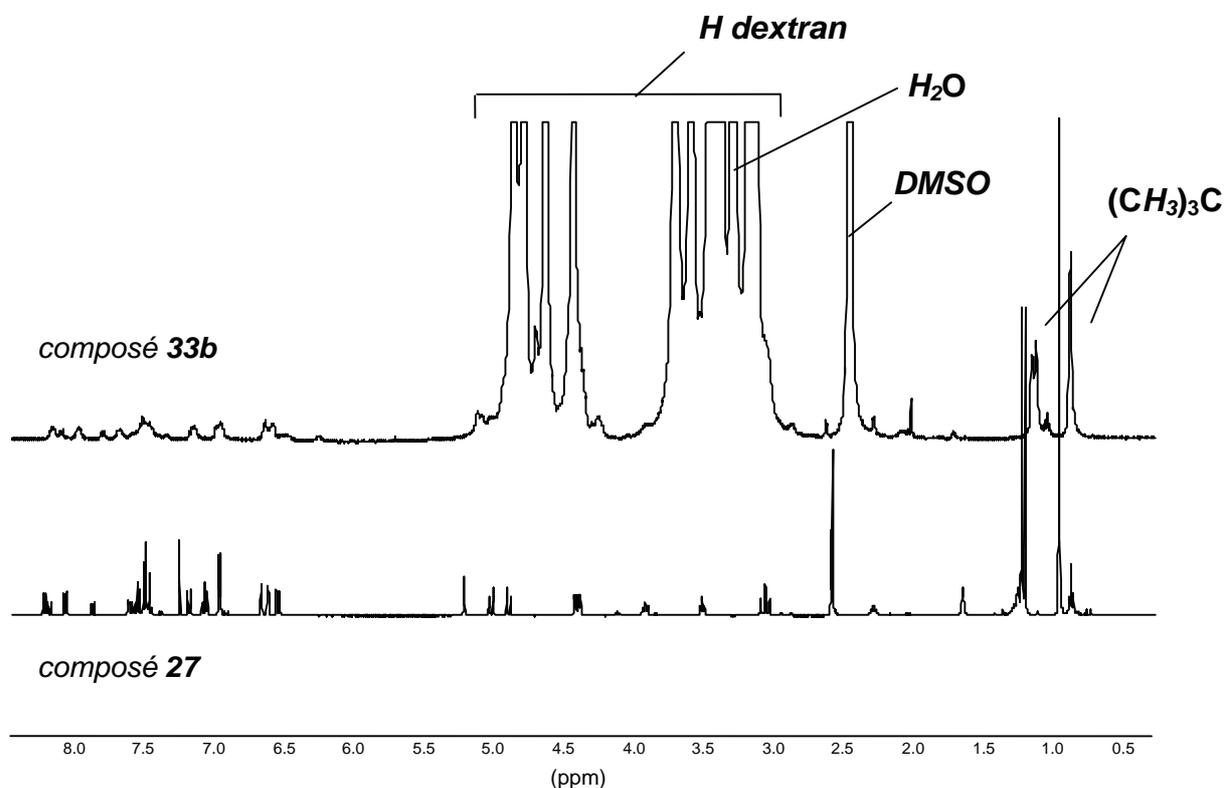


Figure 4.60 : Spectres RMN ^1H (t.a., 400 MHz) du composé intermédiaire calixarénique **27** (CDCl_3) et du composé **33b** ($\text{DMSO}-d_6$).

Les intégrations comparatives entre le dextran et le calix[4]arène nous autorisent à évaluer le taux de greffage. Il est également possible de déterminer la quantité d'eau associée au polymère par intégration du signal des protons H_2O en RMN ^1H du dextran 10 000, ce qui permettra de déterminer la masse réelle de polymère en solution pour les analyses et le dosage UV-Visible décrit ci-après.

Nous utiliserons, pour évaluer le greffage, un pourcentage signifiant un rapport molaire, c'est-à-dire le nombre de calixarène greffé pour 100 chaînes polymères.

Exemple de calcul pour le composé 33b :

- Taux de greffage évalué par RMN ^1H dans le DMSO d_6

Sélecteur : H tertiobutyles du calixarène à [0,5 - 1,2 ppm] et H du dextran [3,0 – 5,5 ppm]

L'intégration sur le spectre nous donne : 36 H correspondant et H appartenant aux protons des groupements tertiobutyles d'un calix[4]arène greffé, et 1050 H correspondant aux protons du dextran 10 000 (10 H par sucre ; 62 sucres par chaîne) (figure 4.60).

Soit :

- 36 H calix[4]arène pour 1050 H dextran
- 1 calix[4]arène greffé pour $\frac{1050}{10} = 105$ motifs sucre du dextran
- 1 calix[4]arène greffé pour $\frac{105}{62} = 1,7$ chaîne de dextran
- 0,59 calix[4]arène greffé pour 1 chaîne de dextran
- 59 calix[4]arène greffé pour 100 chaînes de dextran (soit un taux de greffage de **59 %**)

- Pourcentage massique en eau

L'intégration sur le spectre nous donne : 360 H correspondant aux protons H_2O , et 1050 H correspondants aux protons du dextran 10 000 (figure 4.60).

Soit :

- 180 moles d'eau pour 1,7 mole de dextran 10 000 (à raison de 620 protons par mole de dextran).
- 3240 g d'eau pour 17000 g de dextran.
- 3240 g d'eau dans 20240 g de mélange dextran + eau.
- 16 g d'eau pour 100 g de mélange (soit **16 %** en masse d'eau).

Composé	Taux de greffage évalué en RMN ^1H	Part d'eau associée en masse
33a	11 %	33 %
33b	59 %	16 %
33c	48 %	27 %

Figure 4.61 : Taux de greffage et part d'eau en masse associée des composés 33a, 33b et 33c calculés à partir des intégrations des spectres RMN ^1H dans le DMSO d_6 .

5.6.4 Analyses par spectroscopie UV-Visible des composés **33a**, **33b** et **33c**

Dans le DMSO, les trois composés **33a**, **33b** et **33c** montrent une absorption maximale à 279 nm, due à la présence des chromophores du calix[4]arène (groupements bipyridine et triazine). En la comparant aux valeurs déterminées pour le composé **27** seul ($\epsilon = 55700 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$) dans le même solvant, les taux de greffage peuvent être évalués, en partant de l'hypothèse selon laquelle le dextran n'absorbe pas dans ces longueurs d'onde (figure 4.62).

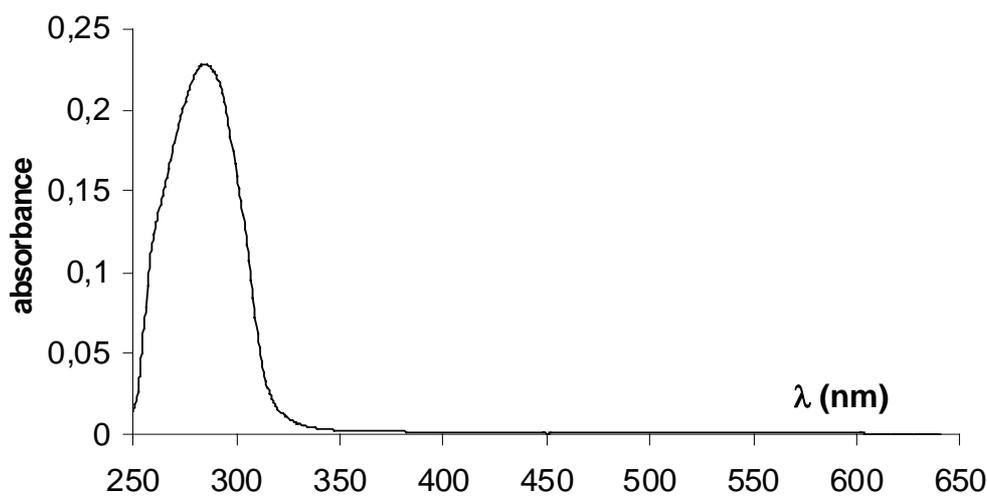


Figure 4.62 : Spectre UV-Visible du composé **33b** dans le DMSO.

Exemple de calcul pour le composé **33b** :

- Masse réelle pesée (calculée à partir du pourcentage massique en eau associée au dextran 10000) : $1,56 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ (soit $1,56 \cdot 10^{-7} \text{ mol}$) puis dissoute dans 2 mL de DMSO et diluée 10 fois.
- Coefficient d'extinction molaire dans le DMSO du composé **27** :
 $\epsilon = 55000 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ ($\lambda_{\text{max}} = 285 \text{ nm}$)
- Absorbance mesurée : $A = 0,22334$
- Selon la loi de Beer-Lambert : $c = \frac{0,22334}{55000} = 4,06 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- Concentration de la solution de polymère greffé : $c' = \frac{1,56 \cdot 10^{-7}}{0,002} \times 10 = 7,82 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- Soit taux de greffage : $\frac{c}{c'} = \frac{4,06}{7,82} \times 100 = 52\%$

<i>Composé</i>	<i>Taux de greffage</i>
33a	30 %
33b	52 %
33c	55 %

Figure 4.63 : Taux de greffage des composés **33a**, **33b** et **33c** obtenus par spectroscopie d'absorption UV-visible dans le DMSO.

5.6.5 Dosages par spectroscopie UV-Visible des composés **33a**, **33b** et **33c**

La spectroscopie UV-Visible dans l'eau nous confirme la présence de chromophore caractéristiques à 285 nm, que l'on peut attribuer au calix[4]arène greffé. L'addition contrôlée d'une solution de $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ dans l'acétonitrile permet d'observer l'apparition attendue d'une bande de type MLCT (metal-to-ligand charge-transfer) à 449 nm (figure 4.64). En considérant qu'une unité calix[4]arène complexe un seul ion Cu^{+25} , et que seul les bipyridines et Cu^+ sont responsables de cette MLCT, le taux de greffage peut être également évalué par cette méthode (figure 4.65).

<i>Volume ajouté de $[\text{Cu}]^+ = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ dans CH_3CN, en μL</i>	<i>Longueur d'onde du MLCT en nm</i>	<i>Absorbance à λ_{MLCT}</i>
0		0
5	449	0,0085
10	449	0,0130
15	449	0,0148
20	449	0,0155
25	449	0,0165
30	449	0,0170
35	449	0,0170
40	449	0,0170

Figure 4.64 : Exemple de dosage du ligand **33b** par Cu^+ dans l'eau.

Exemple de calcul du taux de greffage pour le composé 33b :

On considère que $V_{\text{éq}} = 20 \mu\text{L}$ à minima, d'après les résultats consignés dans la figure 4.64.

Soit :

- $5 \cdot 10^{-4} \times 20 \cdot 10^{-6} = 1,0 \cdot 10^{-8}$ mol de calix[4]arène greffé, porté par $1,8 \cdot 10^{-7}$ mol (1,80 mg) de composé **33b**

-taux de greffage : $\frac{1}{18} \times 100 = 55\%$

Composé	Taux de greffage
33a	29 %
33b	55 %
33c	58 %

Figure 4.65 : Taux de greffage des composés **33a**, **33b** et **33c** évalués par dosage spectroscopique UV-visible du ligand dans l'eau.

Cependant, l'augmentation irrégulière de l'absorbance à 455 nm nous indique l'existence de problèmes non déterminés en opérant dans l'eau. C'est pourquoi nous avons choisi de procéder au dosage dans le DMSO, dans lequel le comportement de nos ligands **33a**, **33b** et **33c** a été décrit plus haut.

Le dosage des ligands **33a**, **33b** et **33c** dans le DMSO, avec $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ dans l'acétonitrile (figure 4.66) se traduit, comme attendu, par l'apparition régulière d'une MLCT à 455 nm, nous donnant des taux de greffage résumés dans le tableau 4.67.

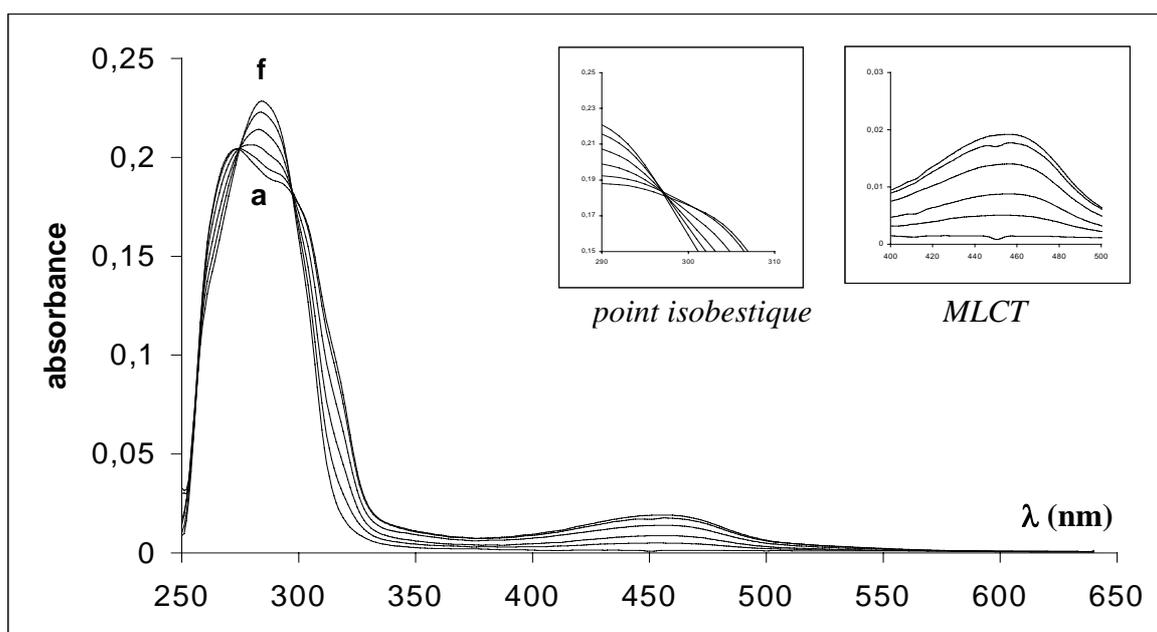


Figure 4.66 : Dosage UV-Visible du composé **33b** par $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ dans le DMSO. (a) : ligand libre : (f) ligand libre + 1 équivalent du $\text{Cu}(\text{I})$.

Exploitation du dosage UV-Visible (figure 4.66):

<i>Courbe</i>	<i>Volume, en μL, ajouté de $[\text{Cu}]^+ = 5.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ dans CH_3CN</i>	<i>Longueur d'onde du MLCT en nm</i>	<i>absorbance à λ_{MLCT}</i>
a	0		0
b	5	455	0,005
c	10	455	0,009
d	15	455	0,014
e	20	455	0,017
f	25	455	0,019
	30	455	0,019
	35	455	0,019
	40	455	0,019

Figure 4.67 : Exemple de dosage du ligand **33b** par Cu^+ dans le DMSO.

On considère que $V_{\text{éq}} = 20 \mu\text{L}$ à minima, d'après les résultats consignés dans la figure 4.66.

Soit :

- $5.10^{-4} \times 20.10^{-6} = 1,0.10^{-8} \text{ mol}$ de calix[4]arène greffé, porté par $1,73.10^{-7} \text{ mol}$

(1,80 mg) de composé **33b**

- taux de greffage : $\frac{1}{17,3} \times 100 = 58\%$

<i>Composé</i>	<i>Taux de greffage</i>
33a	12 %
33b	58 %
33c	59 %

Figure 4.68 : Taux de greffage des composés **33a**, **33b** et **33c** évalués par dosage spectroscopique UV-Visible au cuivre(I) dans le DMSO.

5.6.6 Analyse par IR-TF des composés **33a**, **33b** et **33c**

L'analyse par IR-TF des polymères greffés a été effectuée en pastille de KBr ; elle ne montre pas de différence apparente entre le spectre du dextran 10 000 et le polymère greffé **33b** (figure 4.69).

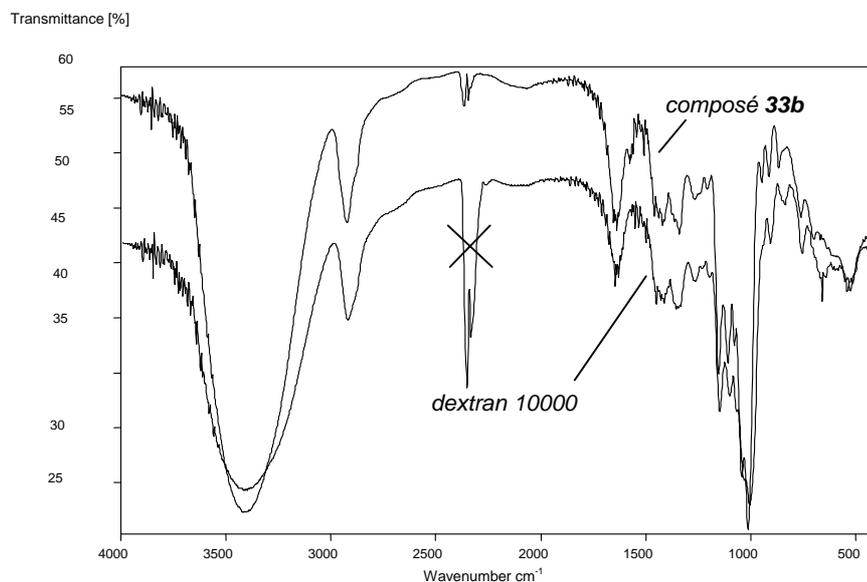


Figure 4.69 : Spectres IR-TF (KBr) du dextran 10 000 pur et du composé 33b.

Nous n'avons pas décelé de déplacement de bande d'absorption qui, spécifique à un motif sucre greffé, nous permettrait d'évaluer quantitativement l'efficacité du greffage. A ce stade, l'analyse IR-TF n'est pas exploitable.

5.7 Bilan des greffages réalisés sur dextrans

Le tableau suivant (figure 4.70) résume nos résultats de greffage sur dextran 10 000.

<i>Composé</i>	<i>RMN ¹H dans DMSO-d₆</i>	<i>Spectroscopie UV-Visible dans DMSO</i>	<i>Dosage spectroscopique UV-Visible par Cu(I) dans H₂O</i>	<i>Dosage spectroscopique UV-Visible par Cu(I) dans DMSO</i>
33a	11 %	30 %	29 %	12 %
33b	59 %	52 %	55 %	58 %
33c	48 %	55 %	58 %	59 %

Figure 4.70 : Nos résultats de greffages sur dextran 10 000.

5.8 Conclusion

Malgré des taux de greffage encore relativement faibles (59 % au maximum, soit 59 entités calixaréniques pour 100 chaînes de dextran), ce travail sur les dextrans 110 000 et 10 000 a abouti à des résultats plus satisfaisants que ceux obtenus sur différentes espèces de cellulose. Le greffage en solution conduit à des taux de greffage nettement supérieurs à un greffage sur cellulose en phase solide. Nous avons surtout eu accès, avec ces dextrans greffés, à des analyses spectroscopiques poussées, et donc pu démontrer l'immobilisation covalente des entités sur le support polymère. Nous avons également pu montrer qu'il existait une corrélation entre les taux de greffage calculés par spectroscopie RMN ^1H , la spectroscopie UV-visible ainsi que les dosages du ligand par cette technique (tableau de la figure 4.71).

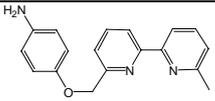
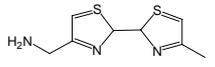
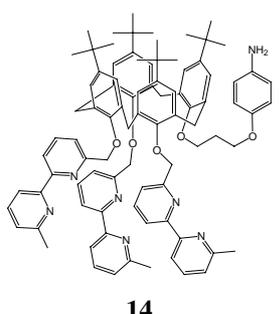
<i>Entité greffée</i>	<i>support dextran</i>	<i>Méthode employée</i>	<i>Analyses sur le polymère greffé</i>	<i>Taux de greffage</i>
	110 000	one pot DMF	complexation de l'ion Cu^+	non déterminé
	10 000	one pot DMF	fluorescence à 396 nm	non déterminé
 14	110 000	one pot DMF	RMN ^1H (DMSO- d_6) : aromatiques 5,5-8,5 ppm UV : $\lambda_{\text{max}} = 284 \text{ nm}$ (H_2O) dosage / Cu^+ : $\lambda_{\text{MLCT}} = 455 \text{ nm}$ (DMSO)	non déterminé
	10 000	one pot DMF/DMSO	RMN ^1H (DMSO- d_6) : alkyles 0,9-1,2 ppm, aromatiques 5,5-8,5 ppm UV : $\lambda_{\text{max}} = 284 \text{ nm}$ (H_2O) FT-IR : 1800-1350 cm^{-1} (KBr) dosage / Cu^+ : $\lambda_{\text{MLCT}} = 455 \text{ nm}$ (DMSO)	59 % maximum

Figure 4.71 : Tableau comparatif des taux de greffage calculés par RMN ^1H , spectroscopie UV-Visible et dosage par le Cu(I) des composés **33a**, **33b** et **33c**.

6. Conclusion sur le travail de greffage et perspectives

Nous avons mis au point un mode opératoire reproductible sur différents supports polymères naturels de type saccharidique permettant l'immobilisation de calix[4]arènes capables de complexer des métaux de transition. Ces résultats constituent une première étape au projet global.

Il reste à développer d'autres stratégies de greffage afin d'améliorer des taux de greffage encore faibles sur des polymères solubles et insolubles. D'autres résultats ont depuis été obtenus au GEVSM, en particulier le greffage sur dextran 10000 d'un calix[4]arène porteur de 3 unités 5,5'-diméthyl-2,2'-bipyridyles avec l'utilisation alternative du groupement 2-méthyl-4,6-dichlorotriazine (figure 4.72)²⁶ et le greffage sur polymère de synthèse de type Merrifield avec des taux élevés.

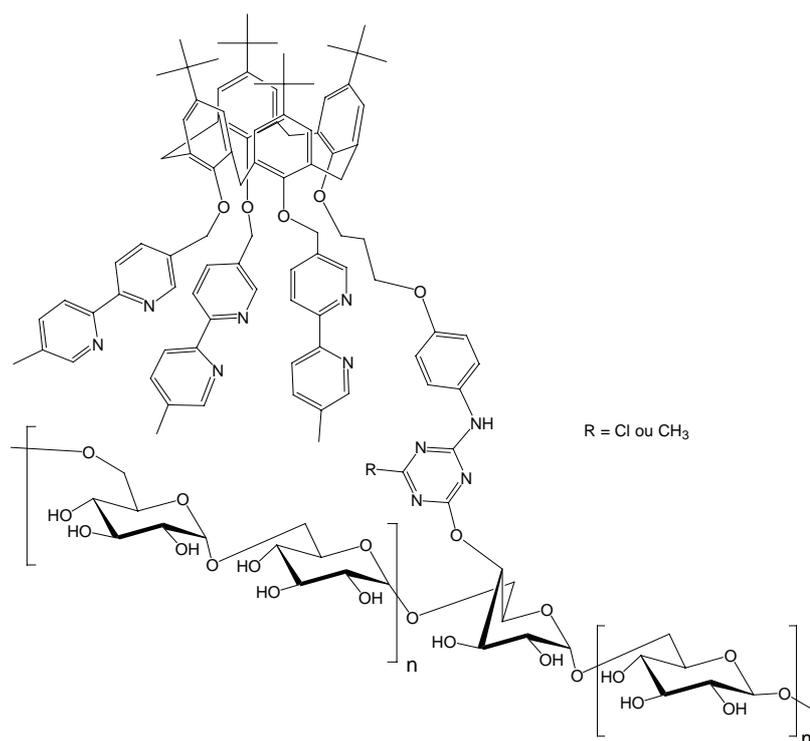


Figure 4.72 : Proposition de structure de dextran 10 000 greffé par un calix[4]arène portant trois unités 5,5'-diméthyl-2,2'-bipyridyles²⁶.

Références bibliographiques du chapitre 4

1. S.J. Harris, J.G. Woods, J.M. Rooney, *U.S. Patent* 4,642,362, **1987**.
2. a) Y. Nakamoto, S. Ishida, Y. Yoshimura, *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, JP 62,96,505, **1987** ; b) *idem.*, *ibid.*, 62,96,440, **1987**.
3. a) S. Shinkai, O. Manabe, Y. Kondo, T. Yamamoto, *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, JP 62,136,242, **1987** ; b) Y. Kondo, T. Yamamoto, O. Manabe, S. Shinkai, *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, JP 62,210,055, **1987**.
4. A. Buffenoir, G. Bidan, *Synthetic metal*, **1999**, 102 (1-3), 1300.
5. Par exemple : A.M. Nechifor, A.P. Philipse, F. de Jong, J.P.M. van Duynhoven, R.J.M. Egberink, D.N. Reinhoudt, *Langmuir*, **1996**, 12(16), 3844.
6. M. Tabakci, M. Ersoz, M. Yilmaz, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, **2006**, 43, 57.
7. S. Berthelon, *Thèse d'Université*, Université Claude Bernard, Lyon, **1998**.
8. M. Hedayatullah, *Bull. Soc. Chim. France*, **1972**, n°11, 4425.
9. Cross, Bevan, *Researches on Cellulose*, **1895**, p. 34.
10. L.T. Dawson, A.S. Fern, C. Preston, *J. Soc. Dyers and colourists*, **1960**, 76, 210.
11. a) T. Vickerstaff, *J. Soc. Dyers and colourists*, **1957**, 73, 237 ; b) T. Vickerstaff, *Hexagon digest (ICI)*, **1960**, n°6, 5-29.
12. D. Mancier, M. Vincendon, *Bull. Soc. Chim. France*, **1981**, n°7-8, 319.
13. www.fibersource.com
14. E. Ott, In *Cellulose and cellulose derivative : a monograph prepared by a staff of specialist* New York, Interscience Publ., **1946**
15. T. Heinze, R. Dicke, A. Koschella, A. H. Kull, E. A. Klohr, W. Koch, *Macromol. Chem. Phys.*, **2000**, 201, 627.
16. (a) G. Kay, E.M. Crook, *Nature*, **1967**, 216, 514 ; (b) E.M. Crook, G. Kay, *US Pat.* 742,978, **1971**.
17. J.B. Regnouf-de-Vains, S. Pellet-Rostaing, R. Lamartine, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 5745.
18. a) P. Karrer, M.C. Sanz, *Helv. Chim. Acta*, **1944**, 27, 619 ; b) P. Karrer, P. Leiser, W. Graf, *Helv. Chim. Acta*, **1944**, 27, 624 ; c) P. Karrer, F. Foster, *Helv. Chim. Acta*, **1945**, 28, 315 ; d) P. Karrer, W. Graf, *Helv. Chim. Acta*, **1945**, 28, 824.
19. A.C. Pardal, S.S. Ramos, L. Santos, P. Almeida, *Color. Technol.*, **2001**, 117, 43.
20. J.T. Thurston, J.R. Dudley, D.W. Kaiser, I. Hechenbleikner, F.C. Schaefer, D. Holm-Hansen, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 2981.
21. S. Horrobin, *J. Chem. Soc.*, **1963**, 4130
22. www.dextran.net
23. (a) R. Pauwels, E. De Clercq, *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.*, **1996**, 1, 211 ; (b) T. Kawamura, S.S. Cohen, D.L. Borris, E.A. Aquilino, S. Glushakova, L.B. Margol, J.M. Orenstein, R.E. Offord, A.R. Neurath, A. Blauvelt, *J. Exp. Med.*, **2000**, 192, 1491.
24. : Par exemple : R.W. Scott, *Patent* WO91/005566, **1991**.
25. J.B. Regnouf de Vains, R. Lamartine, *Helv. Chimica. Acta*, **1994**, 77, 1817.
26. E. Marchal, *Rapport de DEA*, Université Henri-Poincaré, Nancy, **2004**.
27. B. Philipp, B. Lukanoff, H. Schleicher, W. Wagenknecht, *Z. Chem.*, **1986**, 26, 50.

Chapitre 5

*Synthèse convergente de
tripeptides RGD fonctionnalisés sur les
parties N-terminales et C-terminales*

1. La bioactivité du tripeptide RGD

1.1 Généralités

La séquence Arg-Gly-Asp ou RGD (figure 5.1) est présente dans la majorité des protéines d'adhésion cellulaire, telles que les fibronectines, laminines, fibrinogènes, facteurs de Von Willebrand, entactines, collagènes type I et vitronectines^{1,2,3,4,5}. Ces dernières possèdent toutes au moins un site RGD, qui joue son rôle dans la reconnaissance et le ligandage des matrices cellulaires grâce à sa structure courbe β . Les récepteurs (cibles) spécifiques de la séquence RGD sont des glycoprotéines hétérodimères réceptrices transmembranaires, appartenant à la catégorie des intégrines⁶.

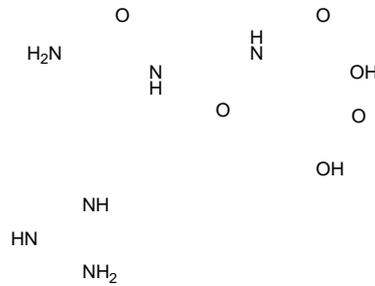


Figure 5.1 : Formule semi-développée de la séquence Arg-Gly-Asp ou RGD libre sur les parties N et C-terminales.

La séquence RGD est donc impliquée dans la reconnaissance cellule-cellule et cellule-matrice et agit par interaction avec les intégrines (figure 5.2). Ces dernières sont composées de sous-unités variables α et β , comme par exemple les intégrines $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_{IIb}\beta_3$.

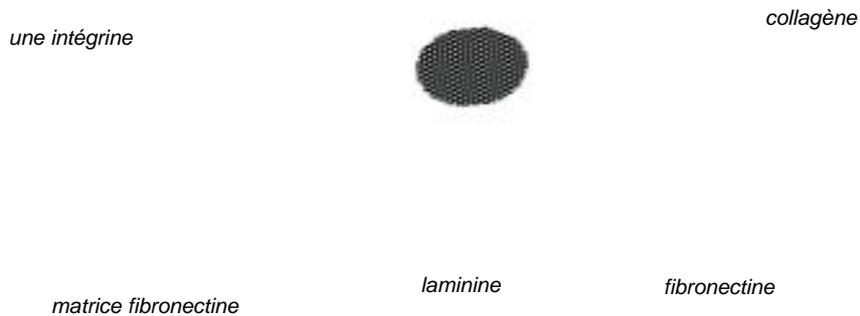


Figure 5.2 : Modèle schématique de plusieurs interactions cellulaires avec les glycoprotéines extracellulaires – Séquences de reconnaissance spécifique³.

Il a été démontré que les peptides courts (linéaires ou cycliques) de synthèse possédant la séquence RGD ou leurs mimes sont reconnaissables compétitivement par les glycoprotéines réceptrices spécifiques^{1,7,8}.

Son implication dans des mécanismes pathologiques responsables des thromboses, des migrations et proliférations cellulaires, est ainsi démontrée. Le tripeptide RGD s'avère donc être intéressant dans la recherche de nouvelles thérapies et représente une nouvelle génération d'anti-thrombotiques, d'anti-angiogènes, d'anti-métastases^{1,9}.

1.2 Quelques exemples de thématiques de recherches biomédicales impliquant le tripeptide RGD

L'angiogenèse¹⁰ est une des thématiques de la recherche biomédicale qui suscite un intérêt croissant, en particulier, dans la recherche de traitements du cancer à tumeurs solides (prostate, utérus, colon), du sarcome de Kaposi, de l'arthrite rhumatoïde, de la rétinopathie diabétique ou encore du psoriasis. Les travaux portent sur le récepteur $\alpha_v\beta_3$, qui est impliqué dans le processus de l'angiogenèse qui régule la migration. Des composés radioactifs¹¹ (¹⁸F, ⁹⁹Tc, ⁶⁴Cu) contenant la séquence RGD ont été développés comme traceurs pour visualiser l'expression des intégrines $\alpha_v\beta_3$.

Le tripeptide RGD est également impliqué dans la biologie osseuse. Des résultats montrent l'influence du RGD sur la régénération osseuse¹². Par ailleurs, il a démontré que l'incorporation du tripeptide RGD sur des biomatériaux (prothèse en titane par exemple) facilitait l'ancrage des cellules osseuses sur ces derniers¹³.

En ophtalmologie, on retrouve des publications et des brevets concernant les possibilités de traitement de la cataracte² ou encore du glaucome¹⁴ par le tripeptide RGD ou ses mimes.

Enfin, on trouve quelques références concernant l'hépatologie¹⁵, la culture de cellules tumorales impliquées dans le phéochromocytome⁶, le ciblage en thérapie génique¹⁷, ou la régénération de tissus cartilagineux¹⁸.

2. Objectifs recherchés

Outre l'intérêt porté pour la valorisation de ce tripeptide RGD dans la thématique de recherche sur les vecteurs supramoléculaires, notre choix se justifie tout d'abord dans ce chapitre par le développement et l'amélioration de la synthèse de dérivés RGD en solution, à partir de sa préparation linéaire connue et brevetée² sur laquelle une évaluation biologique en ophtalmologie a été mise en œuvre.

Nous souhaitons :

- Montrer l'avantage d'une synthèse convergente en solution par rapport à une synthèse linéaire, en termes de rendement et de temps d'élaboration.
- Accéder à une chimiothèque de tripeptides RGD fonctionnalisés ou non sur les parties N-terminales et C-terminales.
- Les produire en grande quantité et dans des intervalles de temps raisonnables, afin de développer des applications, en particulier dans la possibilité de greffage sur un calix[4]arène (travaux décrits au chapitre 6) ou dans tout autre projet concernant la vectorisation supramoléculaire de principes actifs.

Notre démarche en synthèse sera la suivante :

- Préparer différents types de synthons, ce qui, par combinaison convergente, permettra d'accéder à un éventail de structures, dans lesquelles des fonctionnalités ont été introduites.
- Rechercher des possibilités de synthèse « one pot » pour limiter le nombre d'étapes et donc optimiser des méthodes de synthèses.
- Utiliser une chimie la plus simple possible en solution, et en particulier, simplifier le plus possible les étapes de purification.
- Enfin, évaluer l'activité biologique, en terme d'effet inhibiteur des différents éléments de notre chimiothèque de peptides sur l'adhésion des cellules exprimant les intégrines $\alpha_v\beta_3$.

3. La synthèse du RGD : état des connaissances

Depuis une dizaine d'années, une littérature abondante est apparue concernant la synthèse totale de la séquence Arg-Gly-Asp (protégée ou non sur les parties N- et C-terminales), en solution ou sur support solide. On trouve également une littérature fournie sur la préparation de dérivés comprenant la séquence RGD incorporée à des peptides, des pseudopeptides, ou encore des polymères. On y recense également des travaux portant sur l'élaboration de mimes de la séquence RGD. On dispose quelquefois de publications accompagnées d'une évaluation biologique.

3.1 La synthèse linéaire de la séquence Arg-Gly-Asp en solution par voie chimique

Outre la synthèse linéaire décrite dans un brevet², on recense à partir de 2003 quelques publications décrivant la préparation de RGD par voie exclusivement chimique.

Liu et coll.¹⁹ ont synthétisé en 2006 la séquence Arg-Gly-Asp (RGD), selon une méthode linéaire à partir des Boc-aminoacides correspondants, activés par la DCC dans la N-méthylmorpholine et déprotégés par le TFA et le CF₃SO₃H, le rendement total s'élevant à 71 %.

Une autre méthode utilisant cette fois des anhydrides mixtes a été également développée. La séquence Boc-Arg(NO₂)-Gly-Asp(OBzl)₂ préparée par Song et coll.²⁰ utilise la DCC comme activateur et Pd(C) pour libérer l'acide du résidu aspartyle et aboutit à un rendement de 57 % pour l'acide libre.

En 2003, un brevet²¹ présente des intermédiaires sous forme de chimiothèque de RGD destinés à la préparation de cyclopeptides contenant la séquence RGD (figure 5.3).

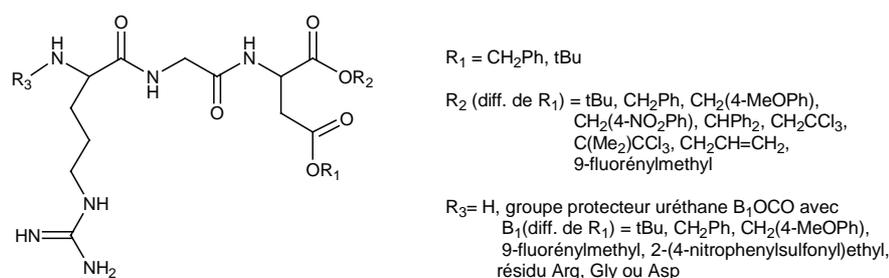


Figure 5.3 : Chimiothèque de RGD mise au point par Samukov et al.²¹.

Abo-Ghalia et coll.²² ont proposé en 2002 une synthèse linéaire du RGD en solution à partir du résidu aspartyle, ainsi que d'un mime en substituant le résidu glycyle par un résidu sarcosyle (figure 5.4).

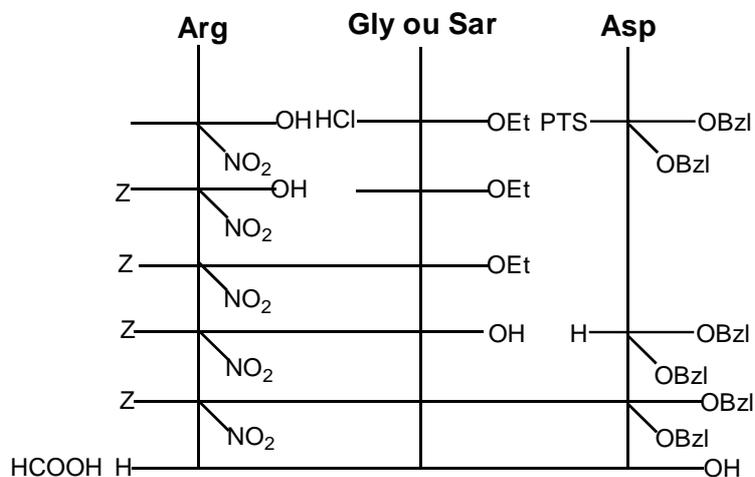


Figure 5.4 : Schéma de synthèse linéaire de la séquence $H\text{-Arg-Gly-Asp-OH}^{22}$.

3.2 Les synthèses de la séquence Arg-Gly-Asp par voie mixte chimique/enzymatique

Song et coll.²³ proposèrent en 2004 une méthode mixte chimique/enzymatique pour préparer la séquence $Z\text{-Arg-Gly-Asp}(\text{OBzl})_2$ avec un rendement de 42 % dans l'ultime étape, en faisant intervenir la trypsine (figure 5.5).

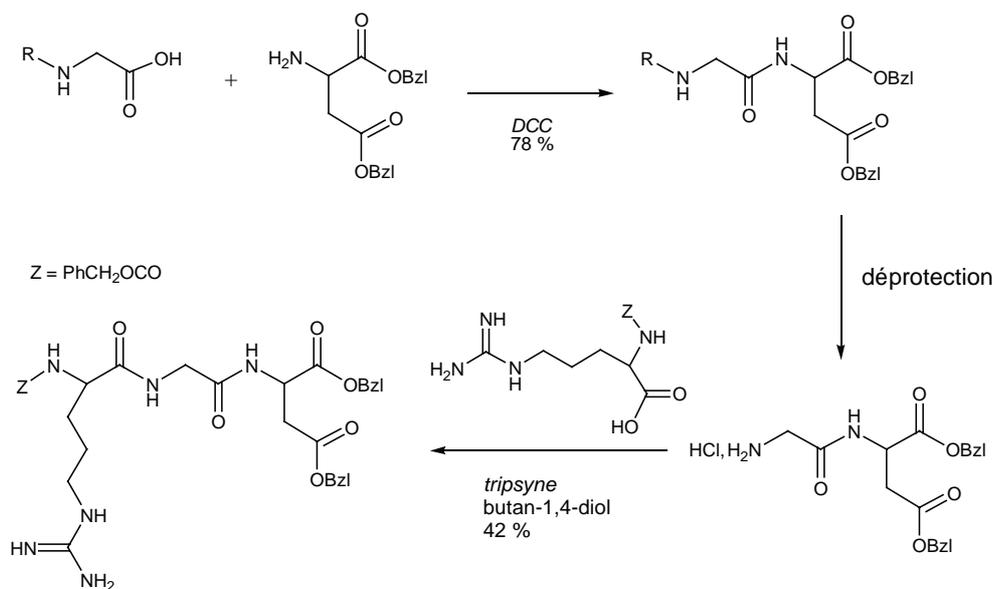


Figure 5.5 : Schéma de la synthèse mixte du composé $Z\text{-Arg-Gly-Asp}(\text{OBzl})_2^{23}$.

Cette méthode mixte se retrouve antérieurement pour la séquence Bzl-Arg-Gly-Asp(OMe)₂ obtenue par utilisation de lipase pancréatique porcine (PPL) avec un rendement maximal de 76 % et mise au point par Zhang et coll.²⁴ (figure 5.6).

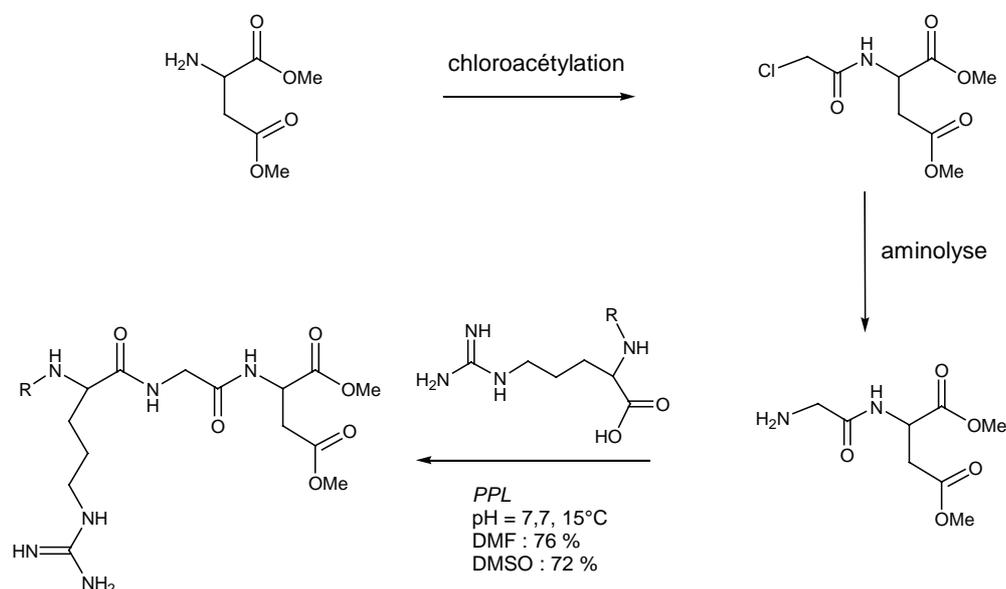


Figure 5.6 : Synthèse de la séquence Bzl-Arg-Gly-Asp(OMe)₂ par voie mixte chimique et enzymatique²⁴.

3.3 Synthèse par voie exclusivement enzymatique

Kim et coll.²⁵ ont réalisé la synthèse de la séquence Bz-Arg-Gly-Asp(OMe)-OH avec un rendement de 70 % par voie exclusivement enzymatique à l'aide de trypsine et d'une protéase, la chymopapaïne (figure 5.7).

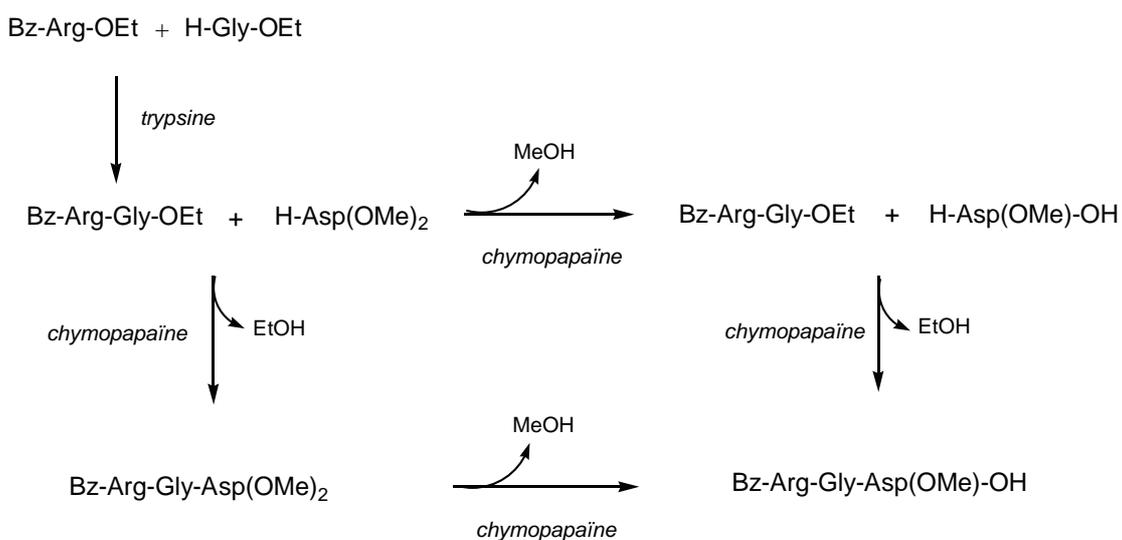


Figure 5.7 : Synthèse de la séquence Bz-Arg-Gly-Asp(OMe)-OH par voie enzymatique²⁵.

4. Les principales méthodes de synthèse peptidique en solution

4.1 La création de la liaison peptidique : les différents agents de couplages²⁶

Les aminoacides forment généralement des sels en solution. De plus, la création de liaison amide nécessiterait une activation à des températures élevées, ce qui est incompatible avec les aminoacides. Une catalyse acide n'est pas, non plus, envisageable, la fonction amine étant basique, sa disponibilité en serait ainsi diminuée. Il a donc été nécessaire de faire appel à la préparation d'espèces activées dans des conditions douces en présence de différents agents.

La synthèse peptidique en solution repose sur deux grandes méthodes : l'activation et couplage, ou la voie enzymatique.

Jones²⁶ propose un schéma général (figure 5.8) de préparation d'un dérivé carboxylique et de l'aminolyse.

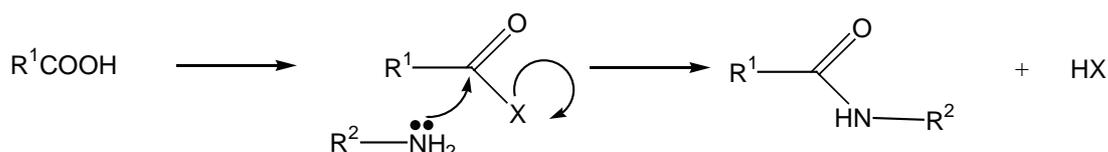


Figure 5.8 : Schéma général de couplage peptidique selon le principe activation-couplage.

On distingue trois types précis de procédures à partir de ce schéma général :

- La réaction de l'acide carboxylique avec un agent activant, suivie immédiatement du traitement par l'amine.
- L'isolation et la purification de l'acide carboxylique activé avant sa mise en contact avec l'amine.
- L'intermédiaire acylant est généré en présence de l'amine, par addition d'un agent d'activation au mélange des deux composés (acide + amine) à coupler.

Dans ces trois modes de préparation, l'agent activant est généralement un électrophile qui agit sur l'acide soit par addition, soit par substitution.

4.1.1 Les méthodes « anciennes »

- **Les chlorures d'acyle**

En 1949, Sheehan et Franck²⁷ proposèrent la synthèse du composé PhtGlyGlyOH via un chlorure d'acyle (figure 5.9). La fonction carboxylique est activée par transformation en chlorure d'acyle, *via* PCl_5 ou SOCl_2

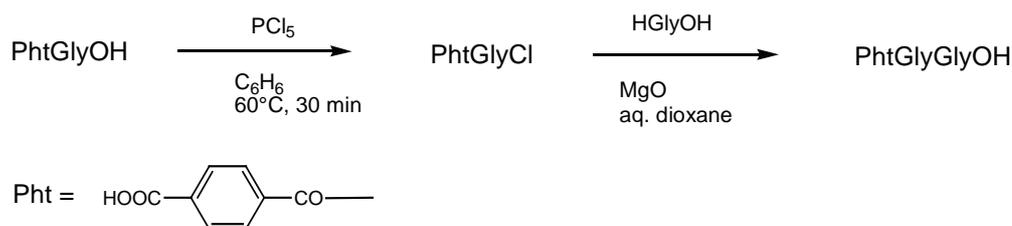


Figure 5.9 : *Couplage peptidique via un chlorure d'acyle*²⁷.

Cette méthode présentait l'inconvénient d'avoir des réactifs, certes isolables, mais instables.

- **Les azidures d'acyle**

Cette méthode, proposée dès 1902 par Curtius²⁸, consiste à préparer une hydrazide à partir de l'acide et de procéder à sa réduction en azidure, activant de ce fait l'aminolyse finale. Honzl et Rudinger²⁹ ont développé cette méthode au début des années soixante (figure 5.10).

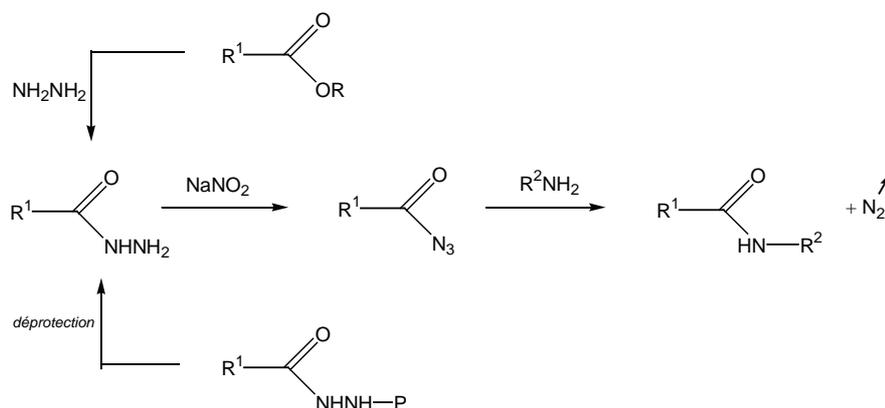


Figure 5.10 : *Couplage peptidique via un azidure d'acyle*²⁹.

- **Les anhydrides**

L'utilisation d'anhydrides simples ou mixtes a été développée depuis longtemps. On peut citer, par exemple, la méthode de préparation puis l'aminolyse d'un anhydride carboxylique-carbonique³⁰ (figure 5.11). L'attaque nucléophile se fait préférentiellement sur le carbone ester que sur le carbonate, ce dernier étant un meilleur groupe partant.

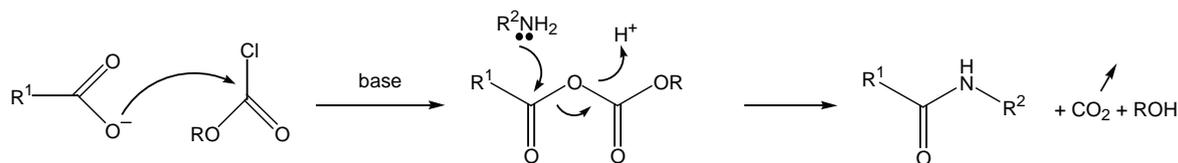


Figure 5.11 : *Couplage peptidique via un anhydride carboxylique-carbonique³⁰.*

4.1.2 Les méthodes actuelles

- **Les carbodiimides**

Connus depuis 1955, suite aux travaux de Sheehan et Hess³¹, les réactifs du type carbodiimide, comme le DCC (dicyclohexylcarbodiimide), se sont imposés comme étant les agents d'activation les plus efficaces en synthèse peptidique en solution.

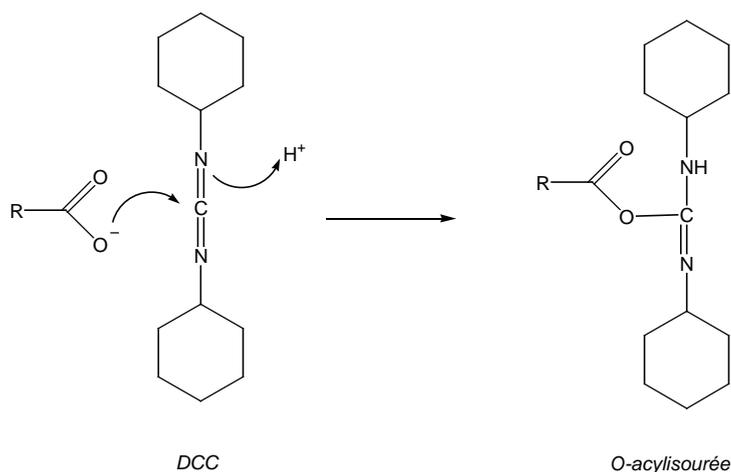


Figure 5.12 : *Réaction du carboxylate sur la DCC et formation de l'intermédiaire O-acylisourée.*

Le composé O-acylisourée n'est cependant pas isolable. De plus, si l'aminolyse est effectuée directement sur cet intermédiaire très réactif, il a été démontré que l'on obtient inévitablement des produits secondaires (en particulier la N-acylurée) par réaction entre l'urée et des anhydrides formés à cette occasion, en particulier dans des solvants tel que le DMF. Des problèmes de purification et de racémisation apparaissent. C'est pourquoi l'utilisation d'un nucléophile qui réagit très rapidement sur l'espèce activée O-acylisourée, avant que ces réactions secondaires n'interviennent, s'est imposée. Les premiers résultats sont apparus dès 1966 avec l'utilisation de la N-hydroxysuccinimide³² (NOHS) puis de l'hydroxybenzotriazole (HOBt) en 1970 par König et Geiger³³ (figure 5.13). La réaction avec cette dernière s'avère être très rapide dans des solvants tels que le chloroforme ou le dichlorométhane³⁴. L'intérêt de cette dernière méthode est d'obtenir des esters activés isolables mais assez réactifs pour réaliser le couplage peptidique.

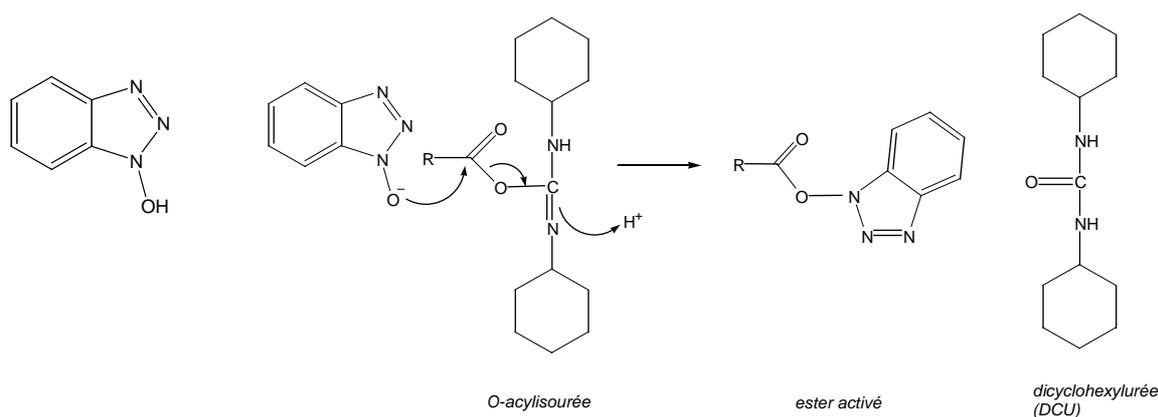


Figure 5.13 : La molécule d'HOBt et sa réaction sur le complexe O-acylurée.

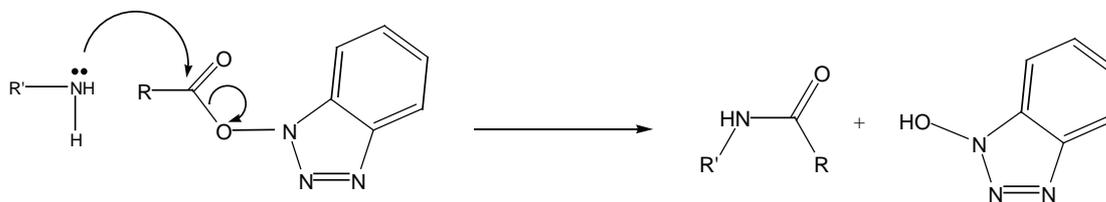


Figure 5.14 : Réaction d'aminolyse sur l'ester activé.

L'efficacité d'autres carbodiimides a été depuis démontrée comme, par exemple, la diisopropylcarbodiimide³⁵ ou le WSCI (« water soluble carbodiimide »)³⁶ (figure 5.15).

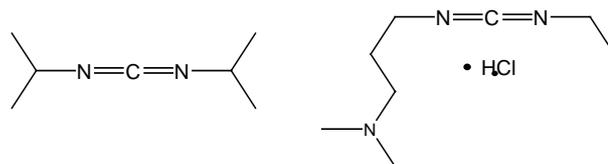


Figure 5.15 : Diisopropylecarbodiimide et WSCI.

- **Les phosphoniums**

L'utilisation des phosphoniums comme intermédiaires s'est présentée comme une alternative aux carbodiimides. Par exemple, la méthode utilisant le BOP et l'HOBt, développée par Castro et coll.³⁷ (figure 5.16).

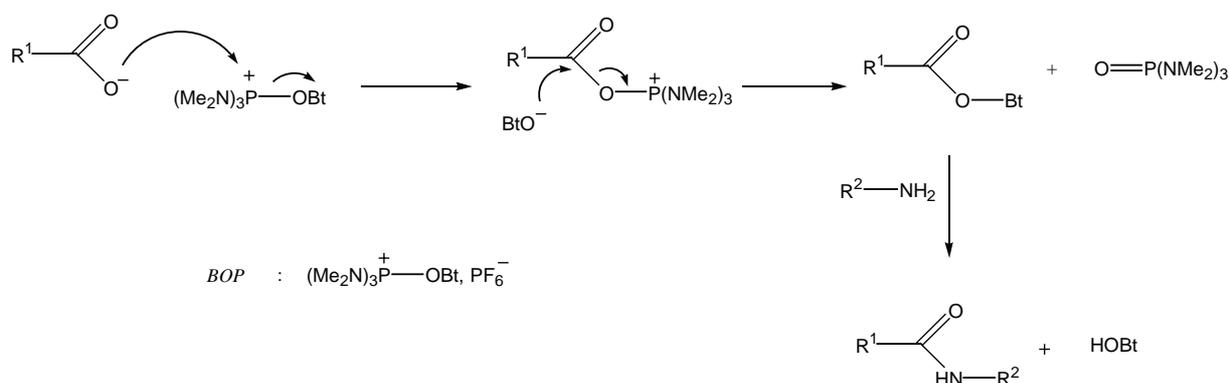


Figure 5.16 : Couplage peptidique via un réactif de type phosphonium³⁷.

Cependant, ces réactifs au sels de phosphonium n'ont pas supplanté la DCC, car ils présentent un risque non négligeable de racémisation³⁸, en plus de générer des coproduits toxiques.

- **Les N-carboxyanhydrides**

Les N-carboxyanhydrides ou anhydrides de Leuchs sont obtenus par traitement d'un α -aminoacide par le phosgène, ou par décomposition thermique³⁹ (figure 5.17).

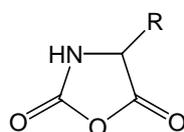


Figure 5.17 : N-carboxyanhydride d'un α -aminoacide.

A partir de cet anhydride, on peut soit aboutir à la formation d'un homopolyminoacide⁴⁰ par introduction d'un initiateur nucléophile (figure 5.18) ou d'un dipeptide⁴¹ dans des conditions plus contrôlées (figure 5.19).

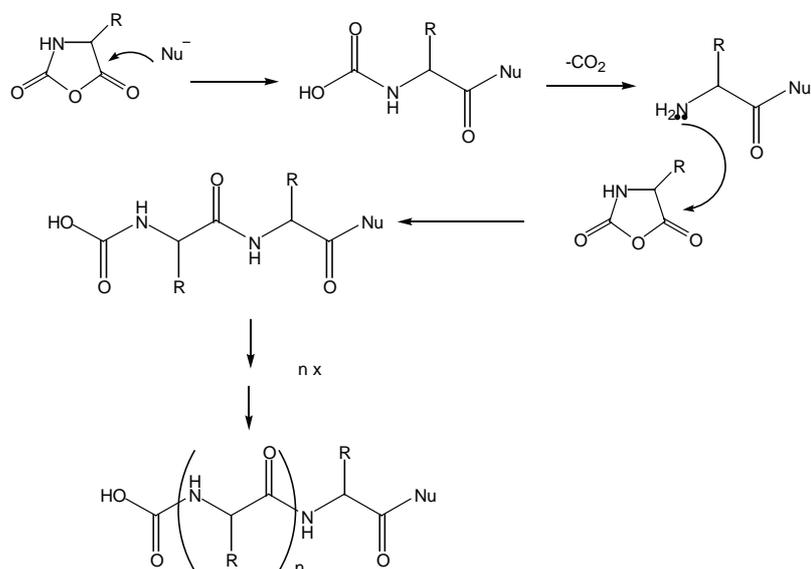


Figure 5.18 : Synthèse d'un homopolypeptide via un *N*-carboxyanhydride⁴⁰.

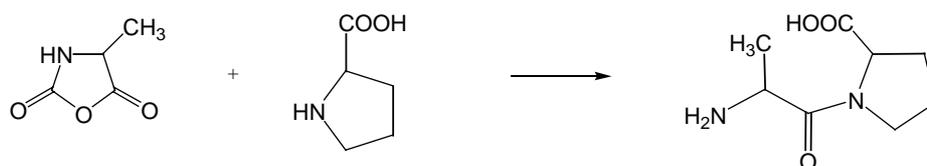


Figure 5.19 : Synthèse du dipeptide HAlaProOH via un *N*-carboxyanhydride⁴¹.

• Les nouveaux réactifs activateurs

Ces dernières années ont vu l'apparition de nouveaux réactifs activateurs, améliorant la cinétique et le rendement des réactions de couplage, tout en diminuant les risques de racémisation. On trouve couramment comme réactifs : le PyBroP⁴², le BTFFH⁴³ et le BOP-Cl⁴⁴.

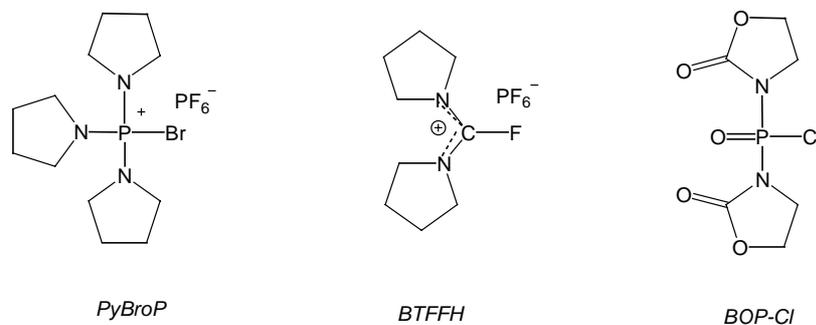


Figure 5.20 : Structures du PyBroP, du BTFFH et du BOP-Cl.

En particulier, les sels de thiazolium, imminium et pyridinium ont fait l'objet de publications. Li et Xu⁴⁵ ont décrit plusieurs méthodes d'activation utilisées dans la synthèse totale de la cyclosporine O. On y recense les sels de thiazolium tels le BEMI, les sels de d'immonium comme le BOMI, le BDMP, le BPMP, l'AOMP et le FOMP et les sels de pyridinium comme le BEP. Ces réactifs de couplage s'utilisent généralement seuls en solution.

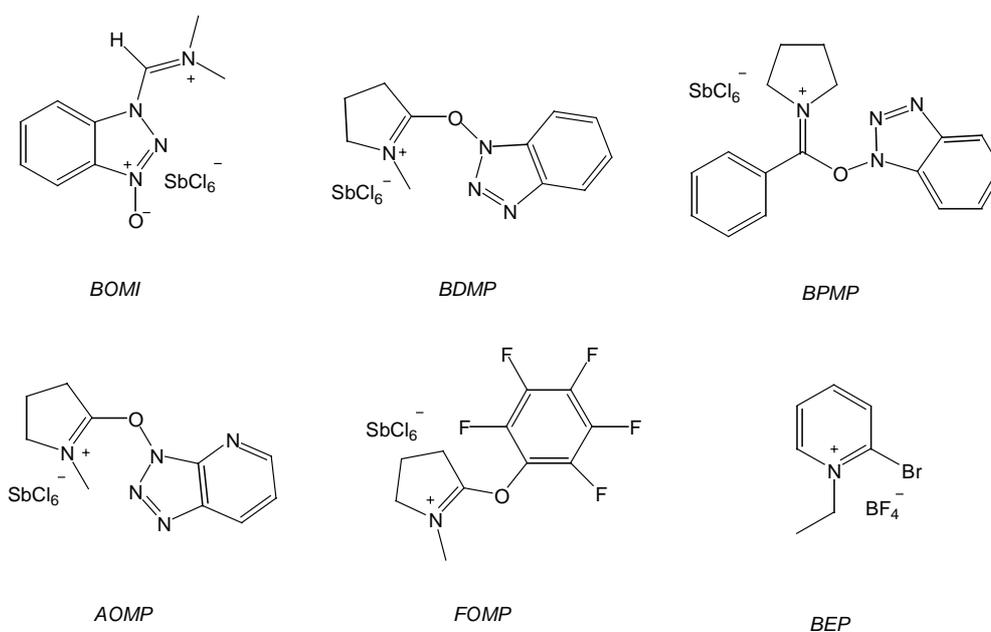


Figure 5.21 : Structure du BOMI, BDMP, BPMP, AOMP, FOMP et BEP.

4.2 Les groupements protecteurs des fonctions acides et amines en synthèse peptidique

4.2.1 Les groupements protecteurs de la fonction α -amino

C'est à partir de 1932 que l'on dispose des premiers groupements protecteurs de type ester benzyloxycarbone, ou « Z », mis au point par Bergmann et Zervas⁴⁶. Ce composé initie la série des groupements protecteurs de type alkoxy-carbone. Suivront en particulier le *t*-Butoxycarbone (Boc) et le 9-Fluorenylméthoxycarbone (Fmoc). Ils demeurent parmi les plus utilisés encore aujourd'hui.

Le tableau (figure 5.22) résume les principaux groupements protecteurs de la fonction α -amino, ainsi que les méthodes de déprotection respectives.

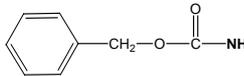
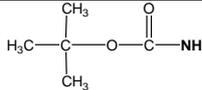
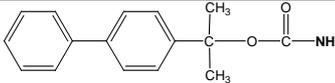
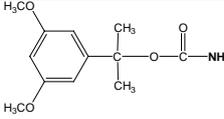
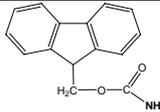
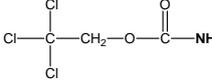
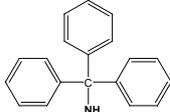
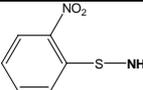
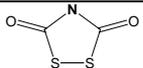
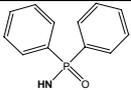
<i>Nom</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Structure</i>	<i>Déprotection</i>
<i>Benzyloxycarbonyl</i>	Z		HBr/AcOH ou H ₂ cat.
<i>t-Butoxycarbonyl</i>	Boc		TFA ou dioxane HCl/Et ₂ O
<i>2-(4-Biphenyl)-isopropoxycarbonyl</i>	Bpoc		pipéridine/DMF
<i>α,α-diméthyl-3,5-diméthoxybenzyloxycarbonyl</i>	Ddz		hv
<i>9-Fluorenylméthoxycarbonyl</i>	Fmoc		pipéridine/DMF
<i>2,2,2-Trichloroéthoxycarbonyl</i>	Troc		Zn/AcOH
<i>Triphénylméthyl (trityl)</i>	Trt		AcOH
<i>2-Nitrophénylsulphényl</i>	Nps		HCl/Et ₂ O
<i>Dithiasuccinoyl</i>	Dts		RSH/Et ₃ N/CH ₂ Cl ₂
<i>Diphénylphosphinyl</i>	Dpp		TFA

Figure 5.22 : *Les principaux groupements protecteurs de la fonction α-amino et les méthodes de déprotection respectives.*

4.2.2 Les groupements protecteurs de la fonction α -carboxy

Dans une très grande majorité des cas, les fonctions acides protégées le sont sous forme d'ester. Les premiers groupements protecteurs furent des esters méthyliques et éthyliques. Dès 1953, une publication⁴⁷ décrit l'obtention d'un ester méthylique par traitement d'un aminoacide avec du chlorure de thionyle et du méthanol. Bien que ces esters étaient résistants à divers autres traitements (comme la déprotection des groupements amino), sa trop grande stabilité imposait des conditions de déprotection trop forte comme la saponification conduisait à des racémisations⁴⁸. De plus, la cyclisation par réaction d'une amine libre sur le carbonyle de l'ester méthylique s'effectuait aisément. Depuis, d'autres groupements protecteurs, éliminables dans des conditions plus douces remplacèrent les esters méthyliques et éthyliques.

<i>Nom</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Structure</i>	<i>Déprotection</i>
<i>Benzyl ester</i>	Bzl		Pd(C)/H ₂ ou HBr/AcOH
<i>t-Butyl ester</i>	tBu		TFA
<i>2-Triméthylsilylethyl ester</i>	Tmse		Pd(C)/H ₂ ou TFA
<i>Phényl ester</i>	Ph		HOOH/pH=10.5/aq. DMF
<i>Allyl ester</i>			complexes Rh(I) ^o ou Pd(0)
<i>Phénacyl ester</i>			Zn/AcOH

Figure 5.23 : Les principaux groupements protecteurs de la fonction α -carboxy, et les méthodes de déprotection respectives.

5. Les stratégies en synthèse peptidique en solution

5.1 Synthèse linéaire et synthèse convergente

Le choix d'une synthèse linéaire ou convergente se pose à partir de 4 résidus aminoacides à assembler. En effet, comme le montre la figure 5.24, parmi les cinq stratégies envisageables, quatre sont dites linéaires et une seule convergente.

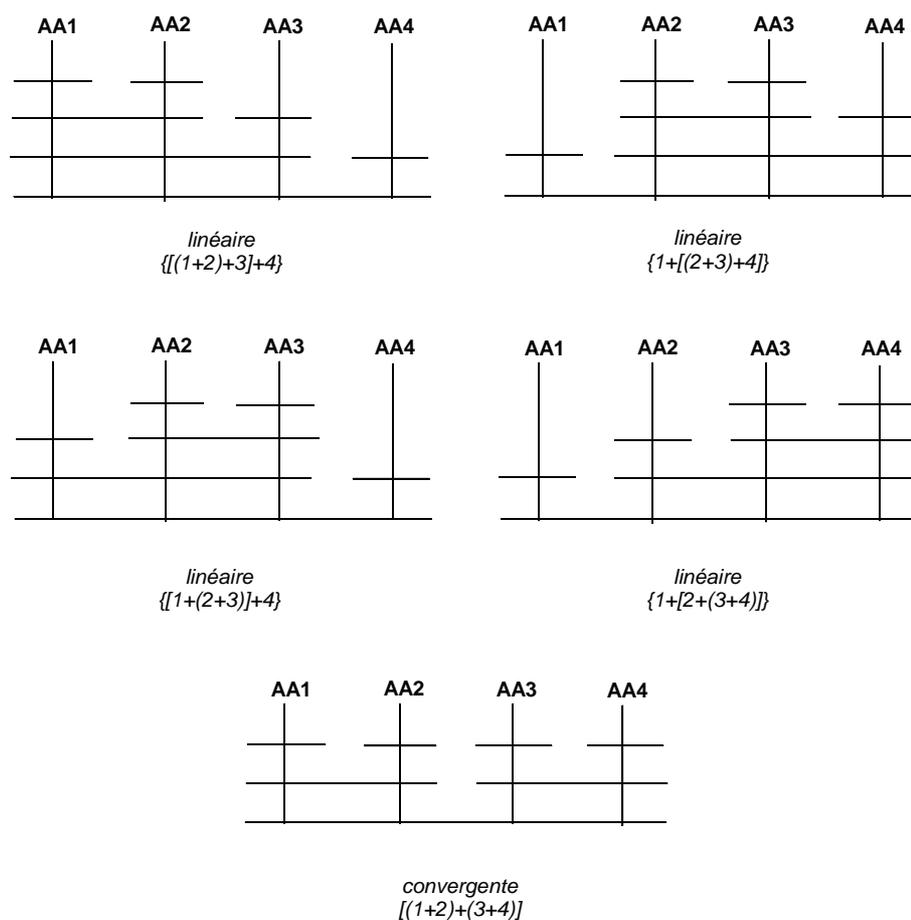


Figure 5.24 : Approche linéaire et convergente de la synthèse d'un térapeptide.

Une phase correspondant à un même niveau horizontal, elle est constituée de réactions de couplage et de déprotection.

5.2 Les facteurs déterminants dans le choix de la stratégie de synthèse peptidique en solution

5.2.1 Rendement

En général, la synthèse convergente aboutit à un meilleur rendement, en considérant un simple calcul à partir du rendement r_i de chaque étape :

- Pour une synthèse linéaire : $R = \prod_{i=1}^{i=n} r_i$
- Pour une synthèse convergente, le rendement correspond au produit des rendements minimaux d'un même niveau.

Par exemple, pour réaliser la synthèse d'un peptide à quatre résidus, en considérant un rendement de 80 % à chaque étape, une synthèse linéaire de quatre résidu aboutirait à un rendement de 51 % ($0,8 \times 0,8 \times 0,8$), alors que la synthèse convergente s'achèverait par un rendement de 64 % ($0,8 \times 0,8$) pour l'obtention du produit final.

5.2.2 Gestion du temps

La synthèse convergente offre la possibilité de mener plusieurs réactions en parallèle, c'est-à-dire qu'il est possible de réaliser plusieurs couplages ou déprotections en une seule phase. On entend par phase, la réalisation concomitante de plusieurs réactions sur un même niveau. Sur la figure 5.24, l'approche convergente nécessite 3 phases distinctes, contrairement à la synthèse linéaire qui comporte 5 étapes ou phases.

On peut généraliser sur le nombre de phases nécessaires pour synthétiser un peptide qui comprend n résidus.

- *synthèse linéaire*

$n - 1$ étapes de couplage et $n - 2$ étapes de déprotection, soit $2n - 3$ étapes ou phase.

- *synthèse convergente*

- Pour n pair : $\frac{n}{2}$ phases de couplage et $\frac{n}{2} - 1$ phases de déprotection, soit $n - 1$ phases au total.

- Pour n impair : $\frac{n+1}{2}$ phases de couplage et $\frac{n+1}{2} - 1$ phases de déprotection, soit n phases au total.

5.2.3 Les problèmes de racémisation

L'utilisation de la méthode DCC/HOBt en solution pour réaliser un couplage minimise dans tous les cas le risque de racémisation. En effet, les carbodiimides sont trop réactifs et, utilisés seuls, provoquent la racémisation des acides aminés. C'est pourquoi, l'utilisation de HOBt s'impose, ce dernier réagissant avec l'urée O-acylée formées par réaction de la DCC sur l'acide aminé, pour former des esters moins réactifs, diminuant ainsi le risque de racémisation.

Par cette méthode, la synthèse d'un peptide de 27 résidus aminoacides en solution a pu être réalisée⁴⁹. Au-delà de ce nombre, une synthèse en phase solide est plus appropriée.

5.3 Position du problème dans la synthèse du RGD

5.3.1 Cas de la synthèse linéaire

Le schéma de la synthèse linéaire d'un tripeptide RGD fonctionnalisé sur les parties C- et N-terminale, mise au point par Regnouf de Vains et coll.², est décrite sur la figure 5.25.

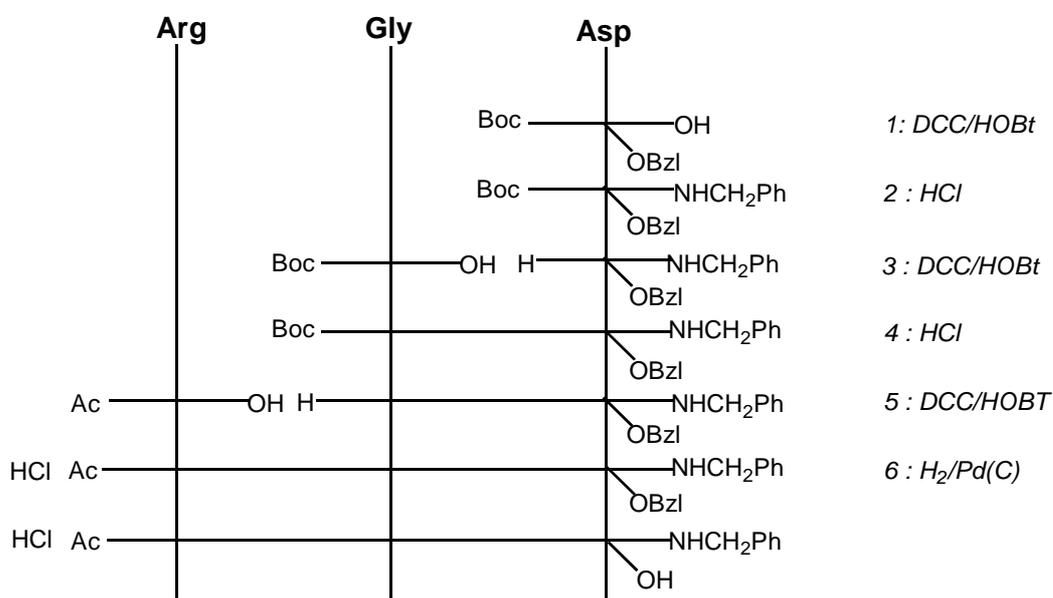


Figure 5.25: Synthèse linéaire d'un tripeptide RGD pseudo-peptidisé sur les parties N et C-terminales².

Cette synthèse a été réalisée en 6 phases distinctes (après libération de l'acide sur le résidu aspartyle) pour un rendement global dans les conditions optimales de **43 %**.

Notre objectif est de mettre au point un plan de synthèse convergente, avec des parties C- et N-terminales modulables et d'en vérifier les avantages.

5.3.2 Approche convergente

Dans le cas de notre tripeptide RGD à fonctionnaliser uniquement sur la partie C-terminale (la partie N-terminale étant pré-fonctionnalisée via le composé commercial R^1 -Arg-OH), on peut prévoir une synthèse convergente réalisée en 3 phases, auxquelles il faut ajouter une étape supplémentaire éventuelle de libération de l'acide protégé sur le résidu aspartyle, voire de déprotection de l'amine terminale, soit 4 phases au total. Le plan de cette synthèse est représenté sur la figure 5.26.

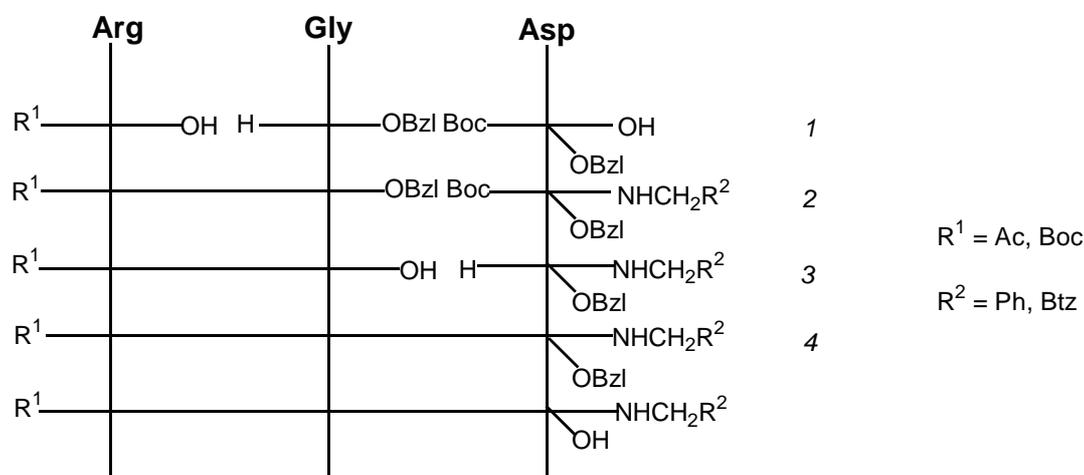


Figure 5.26 : Plan de synthèse convergente de tripeptides RGD comprenant des parties C et N-terminales variables.

Il s'agit donc pour nous de valider cette méthode, quelle que soit la nature des groupements N- et C-terminaux, respectivement R^1 et R^2 . A partir de ce plan de synthèse convergente, nous définirons dans les lignes suivantes nos molécules cibles.

6. Choix des synthons intervenant dans la préparation des RGD cibles par synthèse convergente

6.1 Description des RGD cibles

Le choix des synthons intervenant dans la synthèse du tripeptide RGD fonctionnalisé sur ses parties N- et C-terminales dépend des objectifs à réaliser. Nous souhaitons accéder par synthèse convergente à des structures permettant :

- d'évaluer l'activité biologique du RGD peptidisé sur ses parties N- et C-terminales (par exemple, respectivement par des groupes acétyle et benzamide) et de montrer l'avantage de sa synthèse convergente.

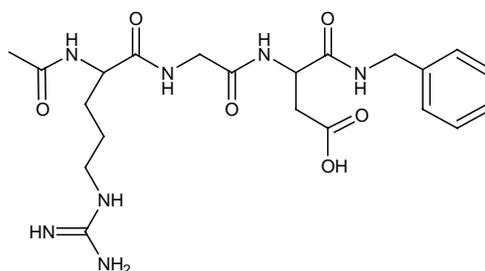


Figure 5.27 : RGD peptidisé sur les parties N- et C-terminales.

- de greffer le RGD sur un macrocycle potentiellement transporteur, ici le calix[4]arène pourvu d'un bras d'ancrage acide (voir 2^{ème} chapitre) et l'utiliser en tant qu'antenne de reconnaissance cellulaire. Le RGD comportera une fonction protectrice de type « Boc », convertissable en fonction amine libre apte à réagir sur une fonction acide portée par un calix[4]arène.

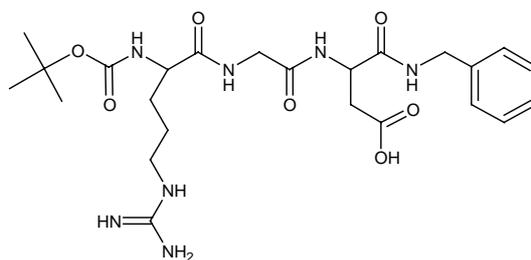


Figure 5.28 : RGD protégé sur sa partie N-terminale et pseudo-peptidisé sur la partie C-terminale.

- d'intégrer au RGD une sonde fluorescente bithiazolique⁵⁰ permettant de suivre vis-à-vis de la cellule l'internalisation ou la fixation de cette molécule bioactive sur les intégrines et la greffer éventuellement sur un calix[4]arène.

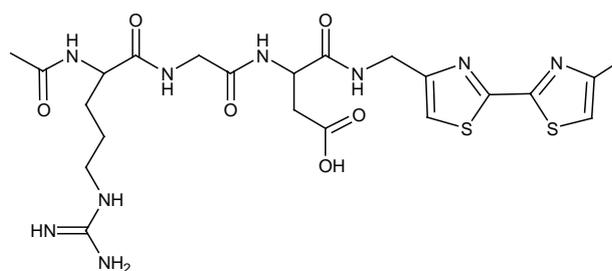


Figure 5.29 : RGD peptidisé sur sa partie N-terminale et pseudo-peptidisé sur la partie C-terminale par un groupement bithiazolyle.

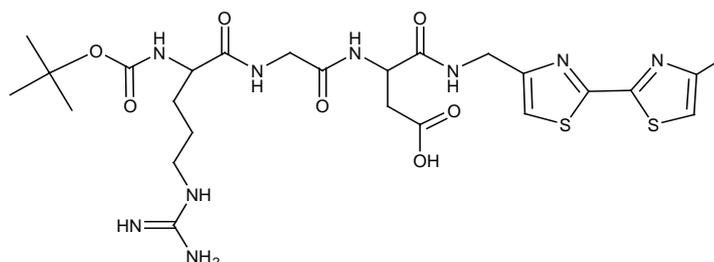


Figure 5.30 : RGD protégé sur sa partie N-terminale et pseudo-peptidisé sur la partie C-terminale par un groupement bithiazolyle.

6.2 Choix des synthons

Par cette méthode convergente, il s'agit donc de préparer 2 types de synthons « à gauche » et 2 type de synthons « à droite », aptes à être couplés de façon convergente, ce qui nous permettra d'accéder par combinaison à 4 structures différentes de RGD fonctionnalisés sur les parties N- et C-terminales. Cette stratégie se résume ci-dessous :

	<p>35</p>	<p>37</p>
<p>39a,b</p>		
<p>41a,b</p>		

Figure 5.31 : Composés **35**, **37**, **39a,b** (selon deux méthodes) et **41a,b** (selon deux méthodes) précurseurs des différents RGD par couplages convergents.

Nous procéderons en premier lieu à la préparation des 4 synthons principaux, puis par le couplage convergent et la déprotection le cas échéant des RGD cibles.

7. Préparation des synthons **35**, **37**, **39a,b** et **41a,b**

7.1 Préparation du composé **35**

Le composé **35** se prépare à partir du produit commercial *Boc-Asp(ω -benzylester)-OH*, protégé sur la chaîne latérale par un ester benzyle. Il s'agit de peptidiser cet aminoacide sur sa partie C-terminale par la benzylamine pour obtenir le composé **34**. La méthode employée est un couplage « one pot » en présence d'HOBt (hydroxybenzotriazole) et de DCC (dicyclohexylcarbodiimide) dans le THF.

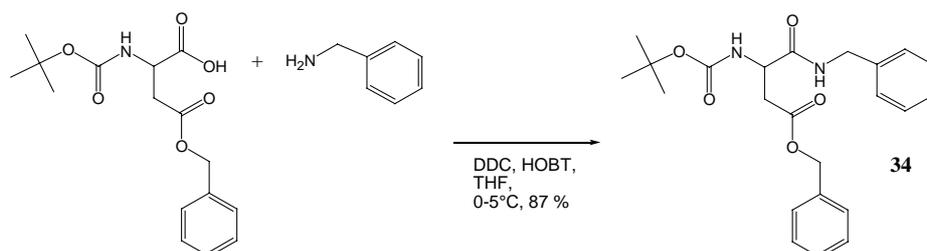


Figure 5.32 : Peptidisation sur la partie C-terminale du composé *Boc-Asp(ω -benzylester)-OH* par un groupement benzylamine.

La déprotection de la fonction amine sur le composé **34** constitue l'étape suivante. En présence de chlorure d'hydrogène dans l'acétate d'éthyle, nous obtenons le composé **35** sous forme de sel d'ammonium.

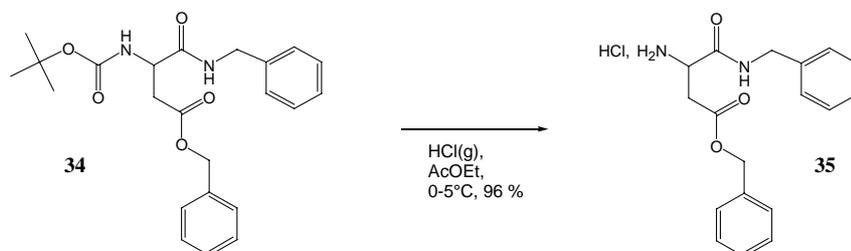


Figure 5.33 : Déprotection de la fonction amine sur le composé **34**.

Sur l'analyse RMN ^1H des composés **34** et **35** (figure 5.34), on remarque :

- La présence d'un système ABX correspondant à la résonance des protons CH_2 aspartyles dans les composés **34** et **35**.
- L'absence du singulet caractéristique des protons du groupement « Boc » dans le composé **34**, ce qui confirme la déprotection de la fonction amine de ce dernier.
- La présence d'un singulet (*ca* 8,5 ppm) intégrant pour 3 protons et confirmant la forme salifiée sous forme d'ammonium du composé **35**.

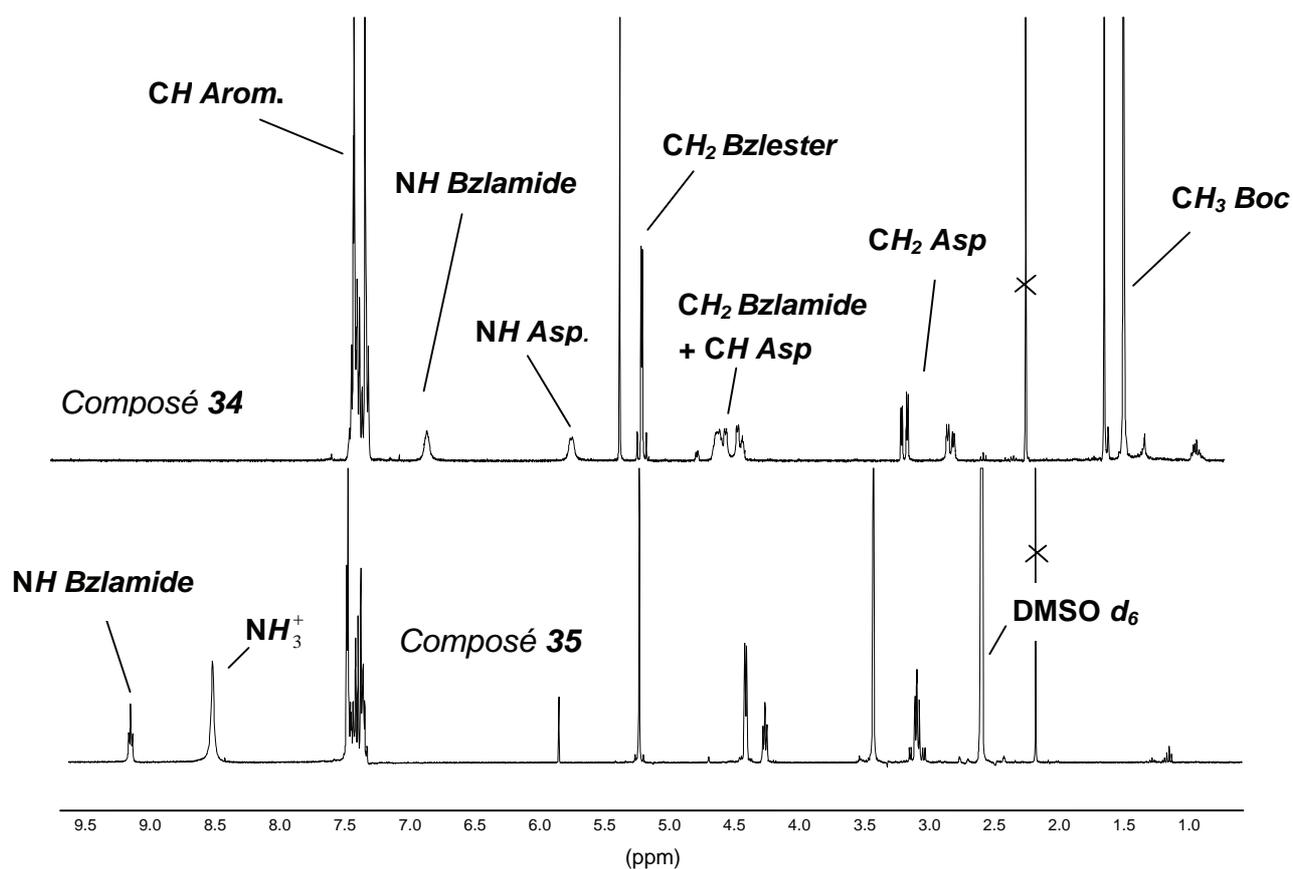


Figure 5.34 : Spectres RMN ^1H (400 MHz, t.a.) des composés **34** (CDCl_3) et **35** ($\text{DMSO } d_6$).

7.2 Préparation du composé **37**

Il s'agit tout d'abord d'incorporer sur la partie C-terminale le motif bithiazolyyle, *via* l'amine **18**, sur le composé *Boc-Asp(ω -Bzl)-OH* et d'obtenir le dérivé protégé **36**, précurseur du composé **37**. Une première étude sur cette réaction a permis d'accéder au composé **36** *via* la préparation d'un ester activé par la N-hydroxysuccinimide en présence de DCC.

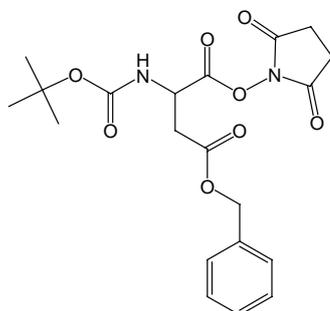


Figure 5.35 : Ester activé du *Boc-Asp(ω -benzylester)-OH* par N-hydroxysuccinimide (composé non isolé).

Cet ester activé est ensuite mis en contact avec l'amine libre **18**, pour obtenir le composé **36**, après purification par chromatographie. Cette méthode nécessite deux étapes, pour un rendement global de 65 % et une durée de 24 heures.

Nous avons souhaité améliorer la méthode en utilisant pour le couplage peptidique HOBt et DCC « one pot ». Cette méthode s'avère être la plus efficace. Cependant, une étape de purification par chromatographie est également nécessaire, un produit secondaire bithiazolé (visible sur CCM par fluorescence dans le visible à 396 nm) apparaissant à cette occasion. La durée de réaction est réduite à seulement 3 heures, ce qui confirme l'hypothèse de cinétique élevée formulée pour ce type de couplage peptidique dans le dichlorométhane³⁴. On obtient le composé **36** avec un rendement de 86 %.

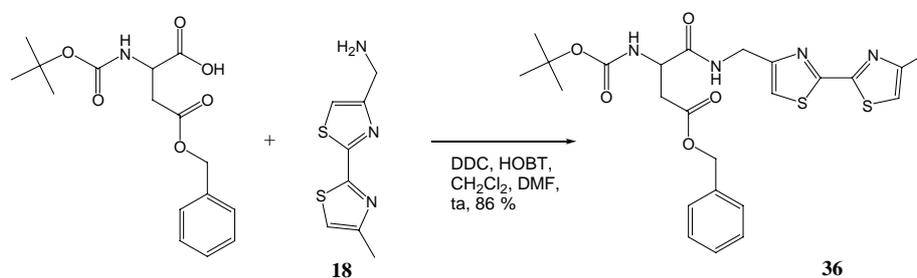


Figure 5.36 : Incorporation par couplage peptidique du groupement bithiazolylole sur le composé Boc-Asp(ω -benzylester)-OH.

La libération de l'amine protégée sur le composé **36** permet d'accéder au composé **37** attendu sous forme de sel d'ammonium.

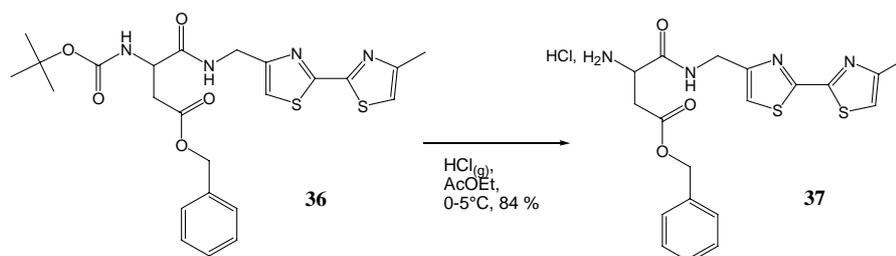


Figure 5.37 : Déprotection de la fonction amine sur le composé **36**.

Sur l'analyse RMN ¹H des composés **36** et **37**, on remarque des comportements similaires à leurs analogues **34** et **35**, c'est-à-dire :

- La présence d'un système ABX correspondant à la résonance des protons CH₂ aspartyles dans les composés **36** et **37**.
- L'absence du singulet caractéristique des protons du groupement « Boc » dans le composé **36**, ce qui confirme la déprotection de la fonction amine de ce dernier.

- La présence d'un singulet (ca 8,5 ppm) intégrant pour 3 protons et confirmant la forme salifiée sous forme d'ammonium du composé **37**.

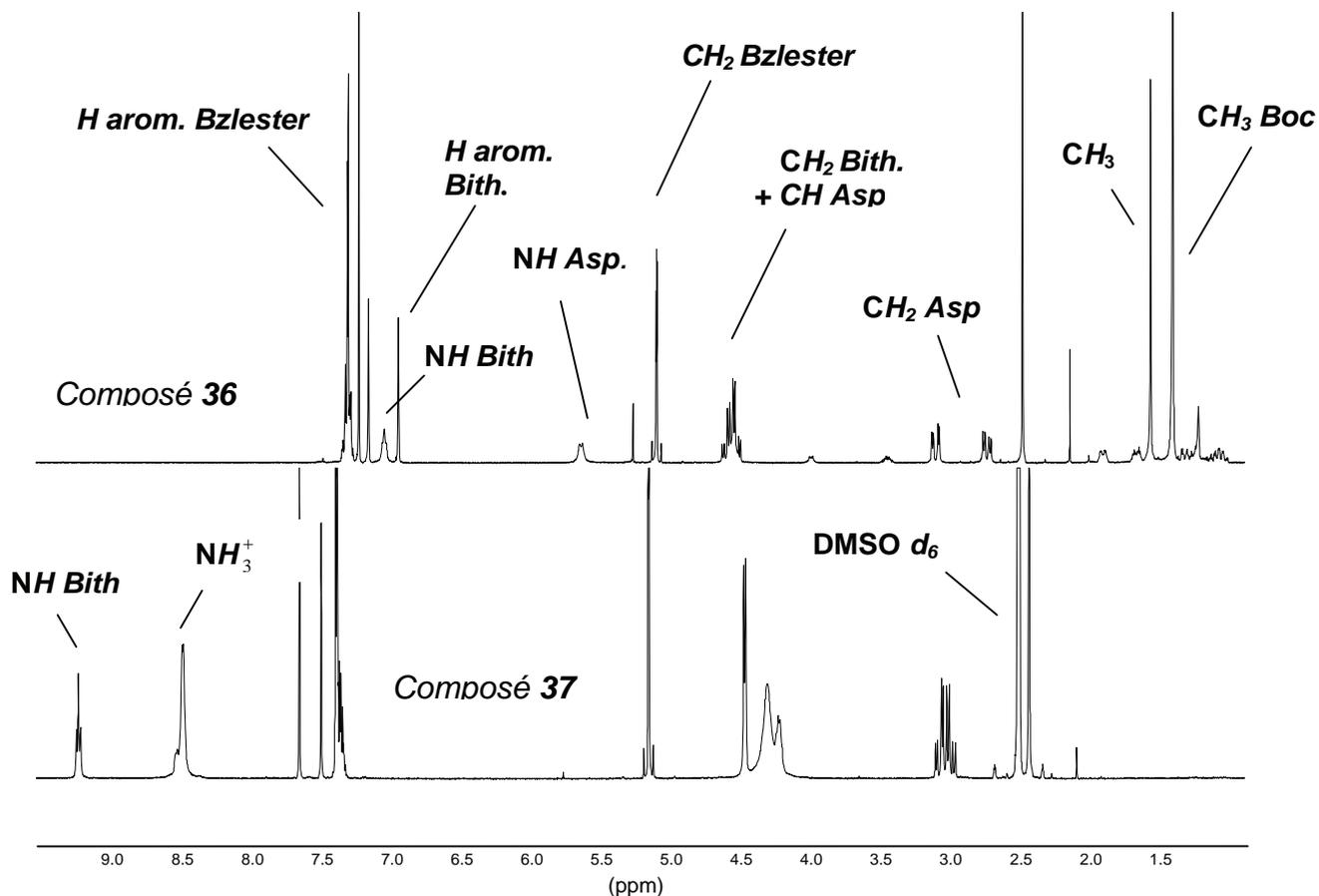


Figure 5.38 : Spectres RMN ^1H (400 MHz, t.a.)
des composés **36** (CDCl_3) et **37** ($\text{DMSO}-d_6$).

7.3 Préparation du composé **39**

Il s'agit de préparer la partie « gauche » des molécules cibles, c'est-à-dire le composé *Ac-Arg-Gly-OH* à partir des produits commerciaux *Ac-Arg-OH* et *(HCl)H-Gly-OBzl*. Nous décrivons ci-après les deux méthodes mises au point.

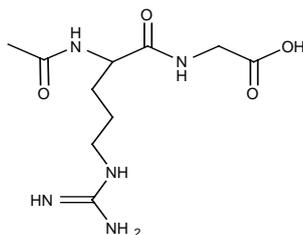


Figure 5.39 : Structure du composé **39** *Ac-Arg-Gly-OH*.

7.3.1 Approche en deux étapes : couplage-déprotection

Le couplage peptidique engageant les composés commerciaux *Ac-Arg-OH* et *(HCl)NH₂-Gly-OBzl* avec HOBt et DCC dans le DMF conduit au composé **38** sous forme de sel de guanidinium. La présence de la guanidine libre permet d'éviter l'utilisation d'une base nécessaire pour libérer l'amine libre de la glycine.

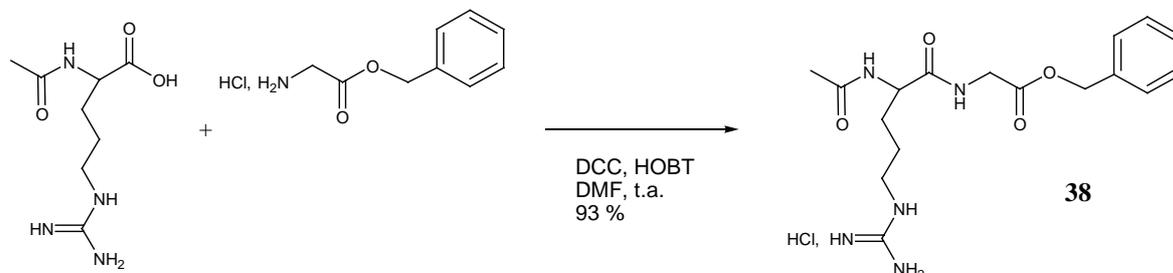


Figure 5.40 : Couplage peptidique entre le résidu arginine protégé sur sa partie N-terminale et la glycine protégée sur sa fonction acide.

Cependant, l'étape de purification du produit, en particulier l'élimination du HOBt résiduel par jeu de solvant est longue et génère des pertes. Le spectre RMN ¹H du composé **38** (figure 5.41) nous montre la présence d'HOBt résiduel (ca 7,5 ppm).

On remarque également sur ce spectre :

- La présence d'un système ABX pour les protons CH₂ glycole (ca 4,0 ppm)
- L'absence de signaux relatifs aux protons NH et guanidinium échangeables dans D₂O.

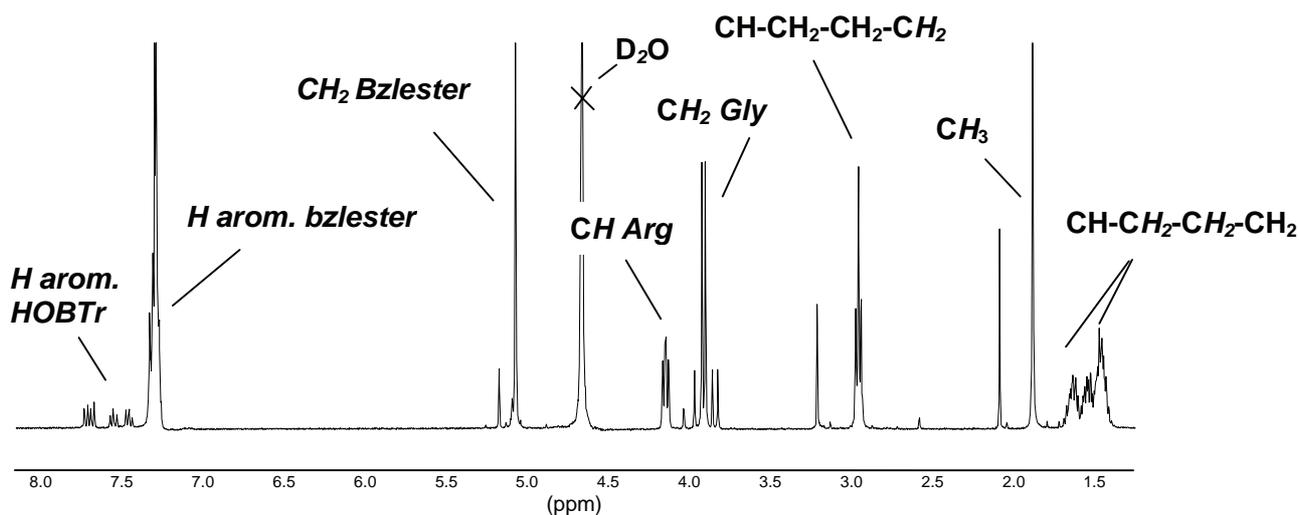


Figure 5.41 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, t.a., D₂O) du composé **38**.

L'étape suivante est une hydrogénation catalytique de l'ester benzyle **38** qui permet de libérer la fonction acide du composé **39a**. Le rendement global de ces deux étapes successives est de 92 %.

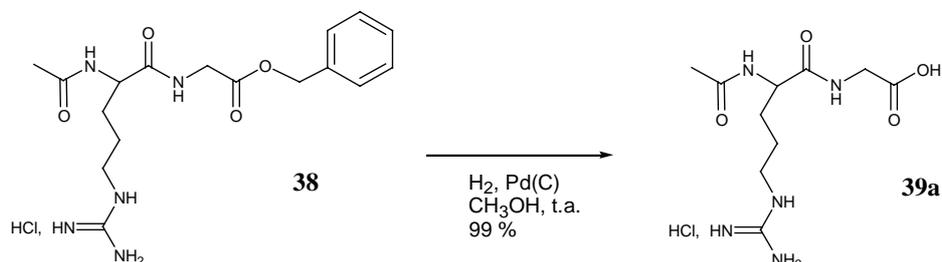


Figure 5.42 : Déprotection de la fonction acide sur le composé **38**.

Sur l'analyse RMN ¹H des composés **38** et **39a**, on remarque :

- La disparition des systèmes caractéristiques des protons aromatiques et du CH₂ benzylester appartenant au composé **38**, ce qui nous confirme que la réaction de libération de la fonction acide de ce dernier s'est effectivement réalisée.
- Un signal entre 6,8 et 7,6 ppm, intégrant pour quatre protons, correspondant à la résonance des protons du guanidinium.
- La présence de signaux caractéristiques de traces de HOBt (ca 7,5 ppm).

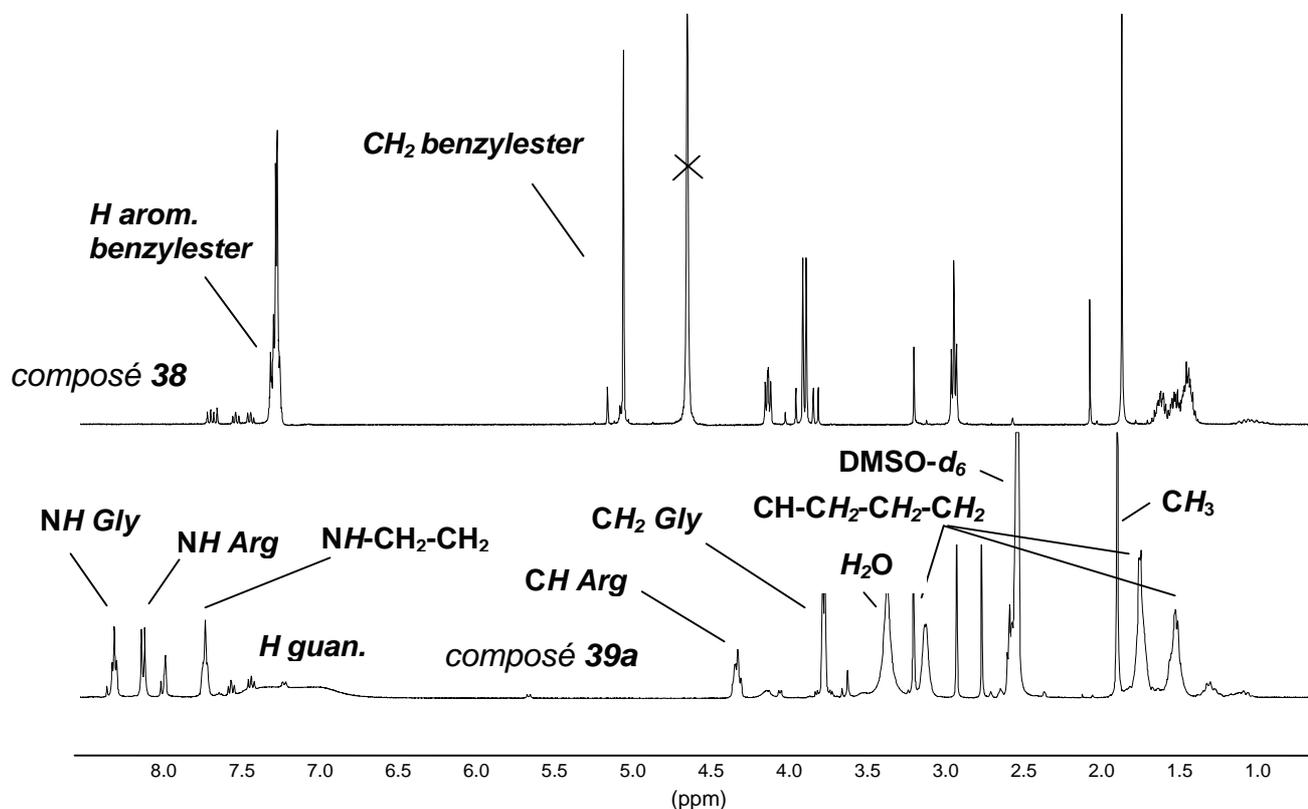


Figure 5.43 : Spectres RMN ¹H (400 MHz, t.a.) des composés **38** (D₂O) et **39a** (DMSO-d₆).

7.3.2 Approche « one pot »

Devant les difficultés d'élimination du HOBt résiduel dans la préparation de grandes quantités de composé **38**, nous avons testé une approche « one pot ». Par hydrogénation catalytique directe du brut réactionnel, séparé seulement de la DCU résiduelle par filtration, on obtient le composé **39b**, sous forme de sel de guanidine. On constate que le HOBt résiduel ne résiste pas à l'hydrogénation catalytique, ou bien reste fixé sur le catalyseur. Cette méthode aboutit au composé **39b** avec un rendement de 83 % et permet de s'affranchir d'une étape de purification par trituration .

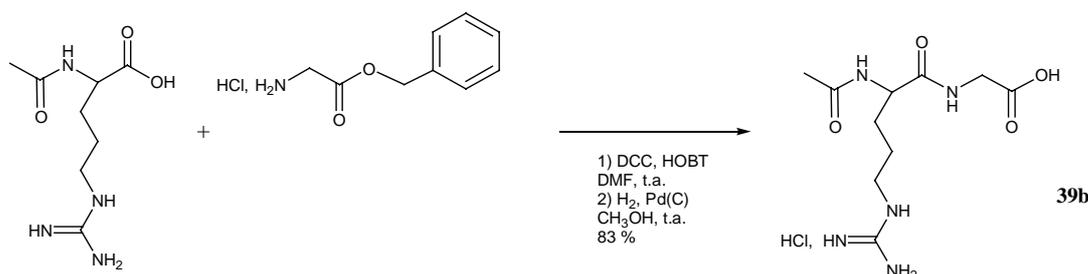


Figure 5.44 : Approche « one-pot » dans la préparation du composé Ac-Arg-gly-OH **39b** : couplage puis déprotection.

Sur l'analyse RMN ¹H du composé **39b**, on retrouve des résonances identiques à celles correspondantes aux protons du composé **39a**. On remarque également :

- Un signal entre 6,8 et 7,6 ppm, intégrant pour quatre protons, correspondant à la résonance des protons du guanidinium.
- La présence d'eau confirmant l'observation de l'hygroscopicité du composé **39b**.

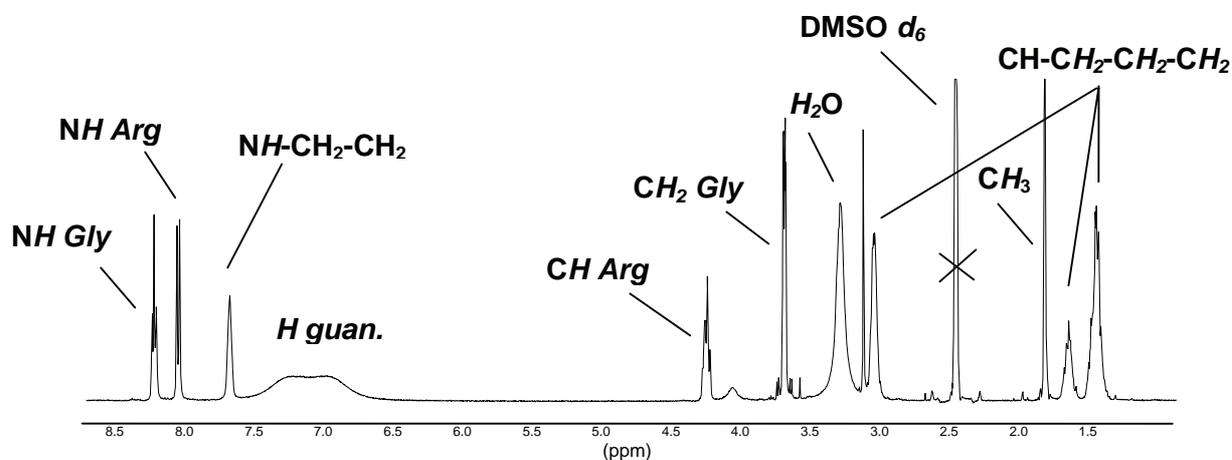


Figure 5.45 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, t.a., DMSO-d₆) du composé **39b**.

7.4 Préparation du composé 41

A l'exemple des composés **39a** et **39b**, il s'agit d'obtenir la « partie gauche » d'un RGD pourvu d'une partie N-terminale libre. Nous travaillons donc avec une amine protégée par un groupement «Boc», qui sera libéré dans l'ultime étape. En premier lieu, nous effectuons le couplage entre les produits commerciaux *Boc-Arg-OH* et *(HCl)H-Gly-OBzl*.

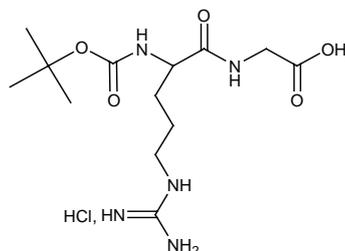


Figure 5.46 : Structure du composé **41** *Boc-Arg(HCl)-Gly-OH*.

7.4.1 Approche en deux étapes : couplage-déprotection

Le couplage peptidique engageant les composés *Boc-Arg-OH* et *H-Gly-OBzl* avec HOBt et DCC dans le DMF conduit au composé **40** sous forme de sel de guanidinium. L'utilisation d'une base dans ce cas n'est pas nécessaire, la fonction libre guanidine du réactif *Boc-Arg-OH* en fait office.

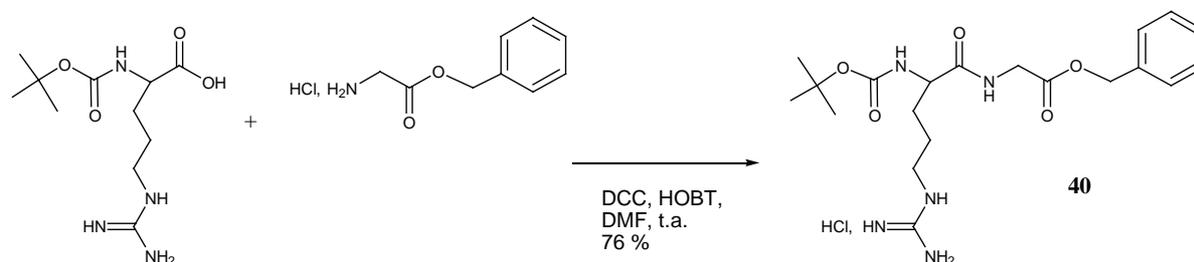


Figure 5.47 : Couplage peptidique entre l'arginine protégée sur sa fonction amine et la glycine protégée sur sa fonction acide.

L'étape suivante est une hydrogénation catalytique sur l'ester benzylique du composé **40** qui permet de libérer la fonction acide du composé **41a**. L'ensemble des deux étapes aboutit à un rendement de 76 %

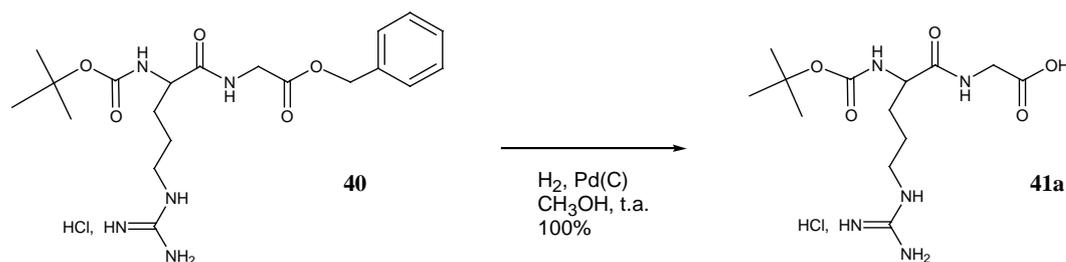


Figure 5.48 : Déprotection de la fonction acide sur le composé **40**.

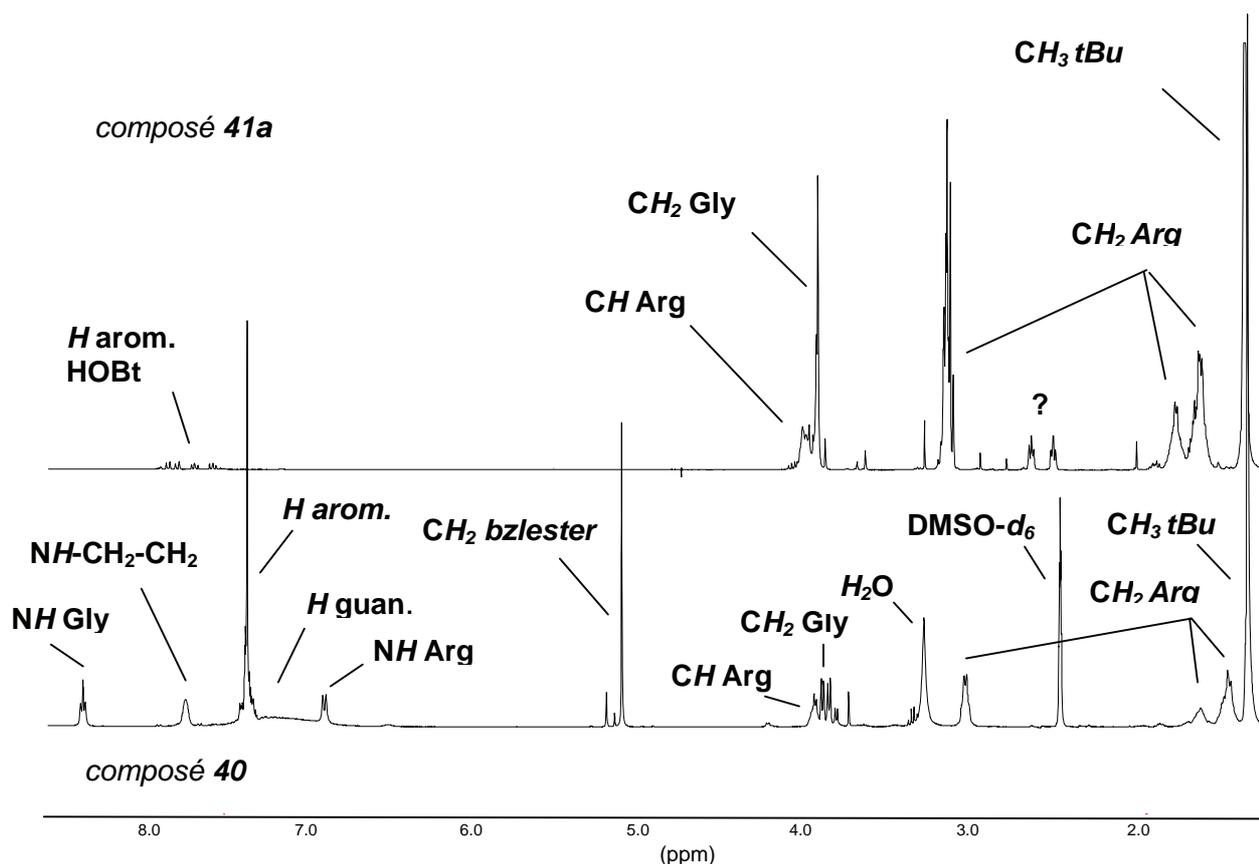


Figure 5.49 : Spectres RMN ^1H (400 MHz, t.a.) des composés **40** (DMSO-d_6) et **41a** (D_2O).

Sur l'analyse RMN ^1H des composés **40** et **41a** (figure 5.49), on remarque :

- La présence d'un système ABX correspondant à la résonance des protons CH_2 glycole dans le composé **40**.
- L'absence du singulet caractéristique des protons du groupement benzylester dans le composé **40**, ainsi que l'absence des protons aromatiques dans ce dernier, ce qui confirme la déprotection de la fonction ester sur le composé **40**.
- La présence de signaux caractéristiques de traces de HOBt (ca 7,5 ppm) dans le composé **41a**, ainsi qu'une pollution (ca 2.6 ppm).
- L'absence de signaux relatifs aux protons NH et guanidinium, échangeables dans D_2O , dans le composé **41a**.

7.4.2 Approche « one pot »

L'isolation du composé **40** nécessite une phase de purification assez lourde, en particulier du HOBt résiduel. Nous avons envisagé, à l'exemple du composé **39**, la possibilité de préparer le composé **41b** en « one pot ». De la même manière que précédemment, après élimination de la DCU par filtration, l'hydrogénation catalytique de l'ester benzylique est

pratiquée directement sur le brut réactionnel. On constate que le HOBt résiduel ne résiste pas à l'hydrogénation catalytique, ou bien reste fixé sur le catalyseur. Les deux étapes enchaînées successivement aboutissent à un rendement de 83 %.

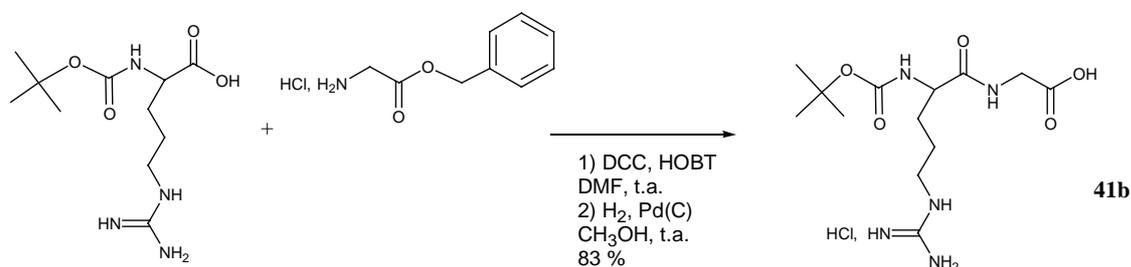


Figure 5.50 : Approche « one pot » dans la préparation du composé Ac-Arg-gly-OH **41b** : couplage puis déprotection.

Sur l'analyse RMN ¹H du composé **41b** (figure 5.51), on retrouve des résonances identiques à celles correspondantes aux protons du composé **41a**. On remarque également :

- Un signal entre 6,5 et 7,5 ppm, intégrant pour quatre protons, correspondant à la résonance des protons du guanidinium.
- La présence d'un système ABX correspondant à la résonance des protons CH₂ glycole.

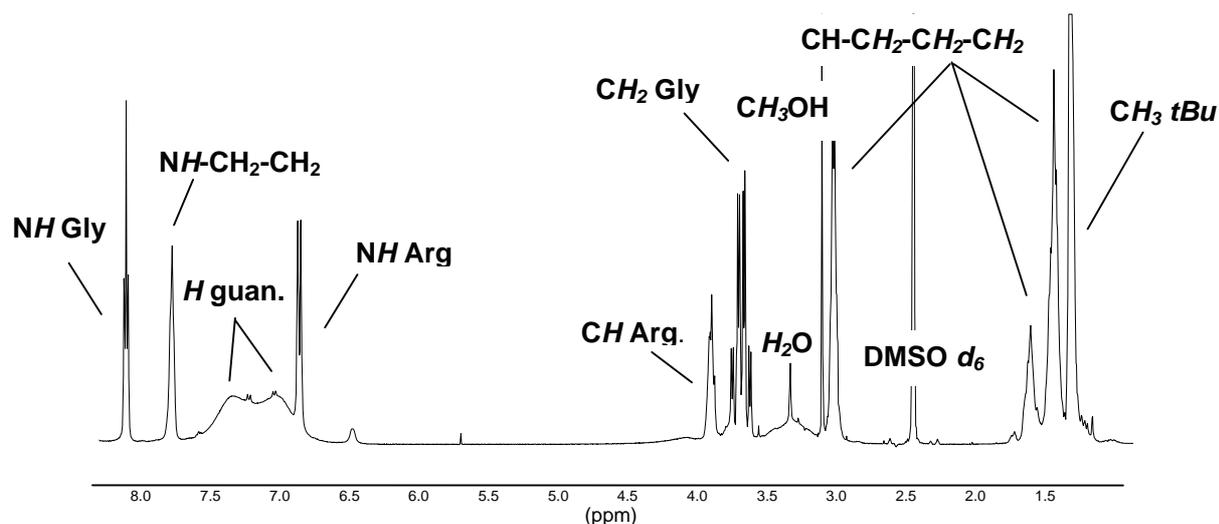


Figure 5.51 : Spectre RMN ¹H (400 MHz, t.a., DMSO d₆) du composé **41b**.

7.5 Conclusion

Nous disposons des 4 synthons **35**, **37**, **39** et **41** obtenus avec des rendements élevés. Nous avons pu ainsi nous passer des étapes de purification intermédiaire pour les composés **39b** et **41b**, optimisant de ce fait la méthode de synthèse convergente en terme de temps et de rendement.

8. Couplages peptidiques convergents

8.1 Préparation des composés 42 et 43

La préparation du composé **42** est réalisée en solution par couplage peptidique convergent à partir des composés **39** et **35**, en utilisant HOBt et DCC et en présence d'une base nécessaire à la libération de la fonction amine sur le composé.

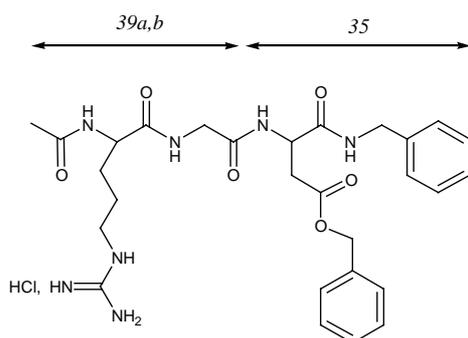


Figure 5.52 : Structure du composé **42**, RGD pseudo-peptidisé sur les parties N- et C-terminales et protégé sur la fonction acide latérale de la chaîne acide aspartique.

8.1.1 Approche par utilisation de la triéthylamine en tant que base

Le dérivé **35** étant sous forme de chlorhydrate, l'utilisation de triéthylamine s'est avéré nécessaire pour autoriser le couplage. Au cours des premiers essais de synthèse, l'élimination de cette base et de ses sels par extraction liquide/liquide s'est avérée délicate du fait de sa solubilité dans l'eau, aussi rencontrée pour le produit **42** recherché. Un ajout de carbonate de sodium lors d'un essai d'extraction liquide/liquide, destiné à libérer la triéthylamine a conduit à la modification structurale du tripeptide obtenu, confirmée par l'apparition d'un nouveau produit en CCM. Au cours du traitement, le composé **42** en milieu basique se cyclise (figure 5.53), suite à l'hydrolyse du benzyloxyester, selon la structure possible proposée. Cette constatation repose sur l'analyse du spectre de masse ES⁺ (figure 5.56) et sur le spectre RMN ¹H qui confirme l'absence d'un signal (ca 5,2 ppm) relatif aux protons CH₂ benzyloxyester (figure 5.55).

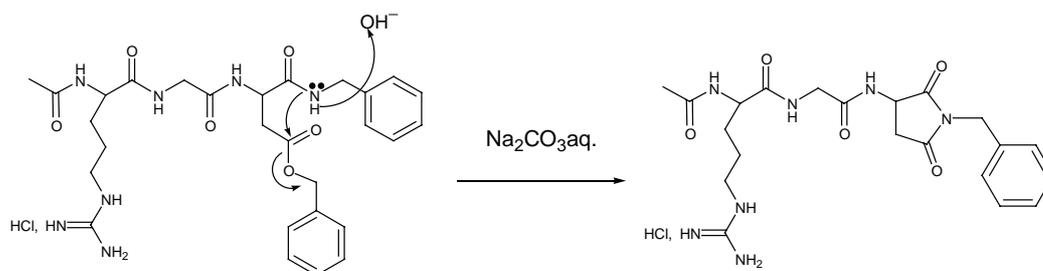


Figure 5.53 : Proposition de structure du composé obtenu après traitement du composé **42** par une base en solution aqueuse.

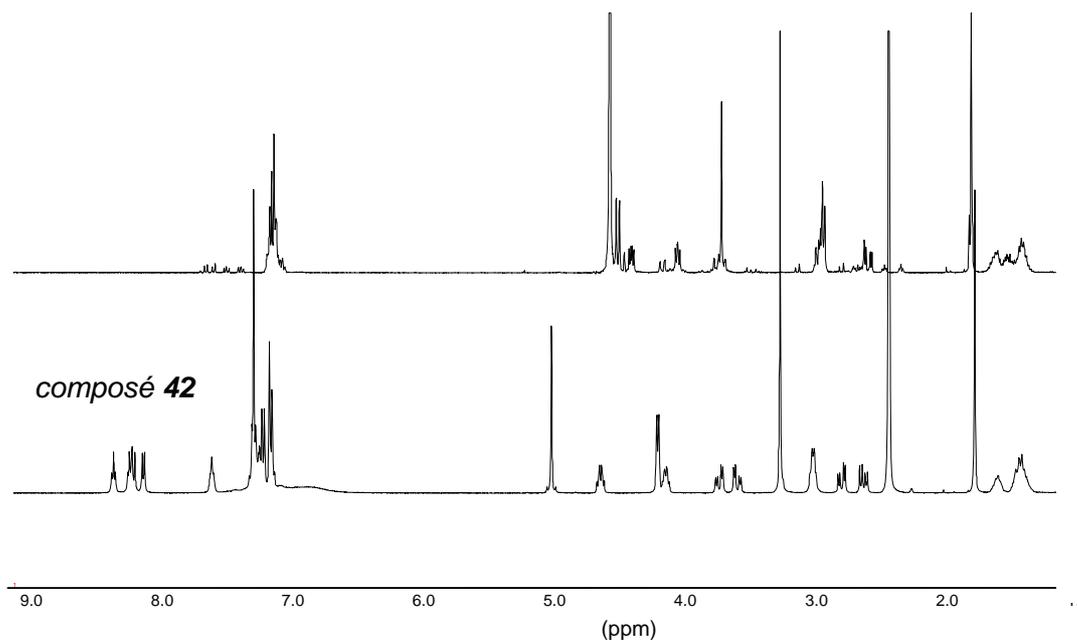


Figure 5.54 : Spectres RMN ¹H (400 MHz, t.a.) du composé cyclisé (D₂O) et du composé **42** (DMSO-*d*₆).

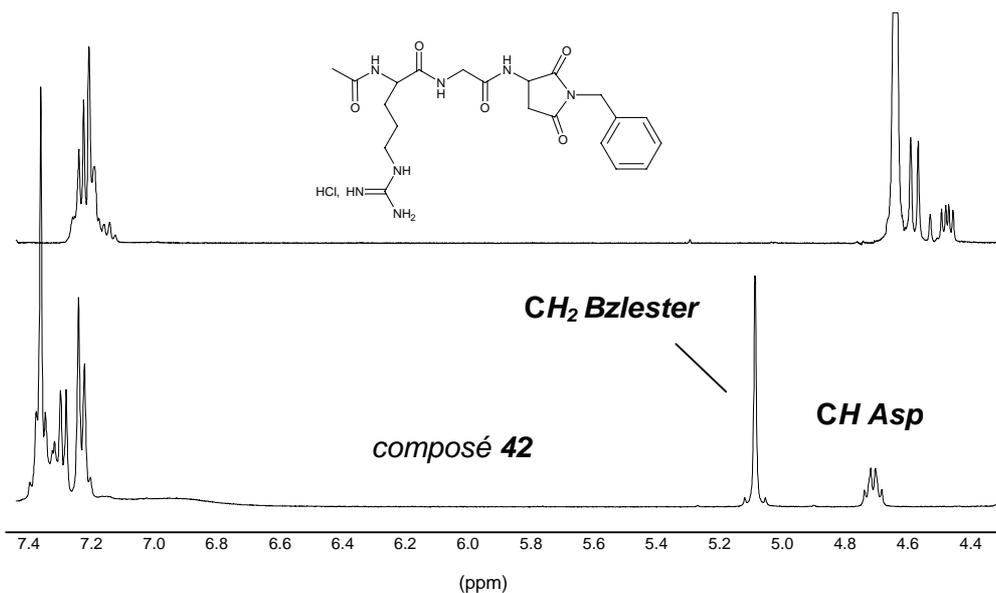
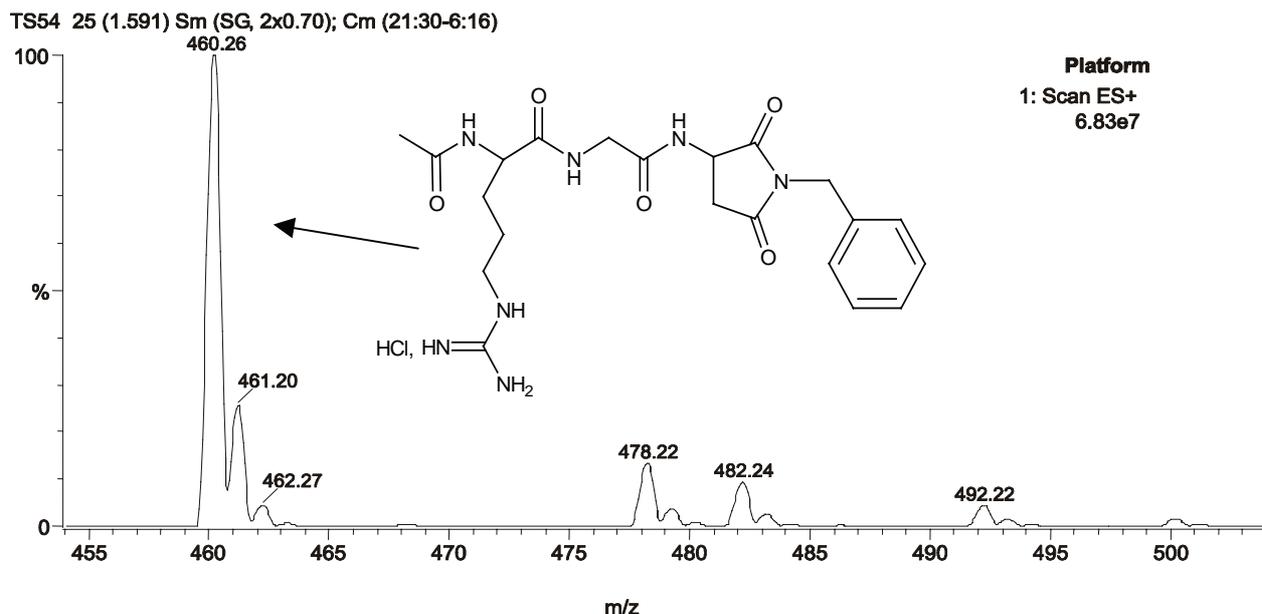


Figure 5.55 : Spectres RMN ¹H partiel (400 MHz, t.a.) du composé cyclisé (D₂O) et du composé **42** (DMSO-*d*₆).



Le pic à 478,22 attribué à $[M-Cl-CH_2Ph+H]^+$ confirme la disparition du groupement benzyle, et celui à 460,26 a été attribué à l'espèce $[M-Cl-CH_2Ph-H_2O+H]^+$ issue de l'élimination d'une molécule d'eau, accompagnée de cyclisation entre l'amide terminal et l'acide du groupe aspartyle. Bien que l'hypothèse de formation de cycles de taille plus importante ne soit pas à exclure, une étude en RMN 1H (figure 5.58) réalisée au laboratoire par M. Boisbrun a permis de mettre en évidence l'évolution, en fonction de la température et du temps, de la formation de la structure cyclique succinimide à partir du composé 35 en solution dans le DMSO- d_6 .

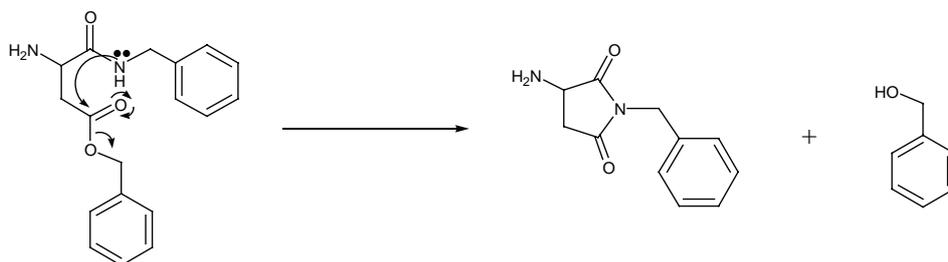


Figure 5.57 : Mécanisme supposé de dégradation cyclisante du composé 35.

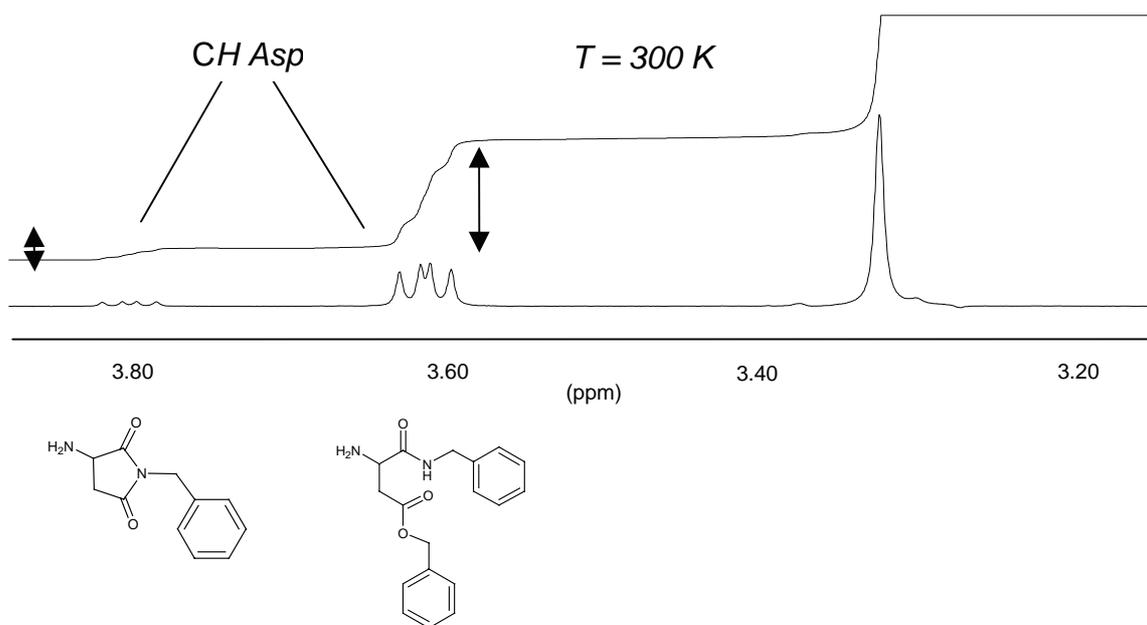


Figure 5.58 : Spectre partiel RMN ^1H (400 MHz, $T = 300\text{ K}$, $\text{DMSO } d_6$) du composé **46** et son intégration.

8.1.2. Couplage avec utilisation d'une base plus lipophile, la tributylamine.

Le composé **42** étant hydrosoluble, nous choisissons d'utiliser une base beaucoup plus lipophile, la tributylamine, en vue d'une séparation par extraction liquide/liquide. En effet, le sel de tributylamine devrait se partager davantage dans la phase organique. Le choix de la tributylamine s'est avéré être intéressant. A partir des informations acquises sur le comportement du composé **42**, l'introduction des réactifs est le suivant : composés **39b** et **35**, DCC et HOBT. Puis, 30 minutes plus tard, introduction de la base (Bu_3N). Ceci afin d'éviter un contact prolongé de la base avec le composé **35**.

Une fois la réaction terminée (contrôle CCM), une extraction liquide/liquide ($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) pour éliminer le sel de tributylamine, puis une étape de chromatographie sur colonne de silice, nous donne le composé **42**, avec un rendement de 63 %.

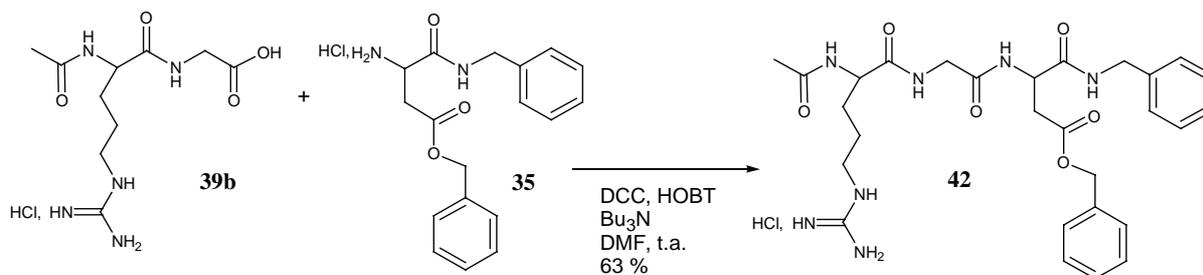


Figure 5.59 : Couplage peptidique convergent entre le composé **39b** et le composé **35**.

L'analyse RMN ^1H du composé **42** (figure 5.60) nous montre la présence des résonances attendues des protons de ce dernier, ce qui nous confirme la réalisation du couplage peptidique convergent. On remarque également :

- La présence de systèmes ABX correspondant à la résonance des protons CH_2 glycyle et CH_2 aspartyle du composé **42**.
- Un signal entre 6,7 et 7,6 ppm, intégrant pour quatre protons, correspondant à la résonance des protons du guanidinium du composé **42**.
- Le composé **42** n'a pas été affecté par une cyclisation parasite. Le signal singulet à 5,1 ppm correspondant à la résonance des protons CH_2 benzylester intègre bien pour 2 protons.

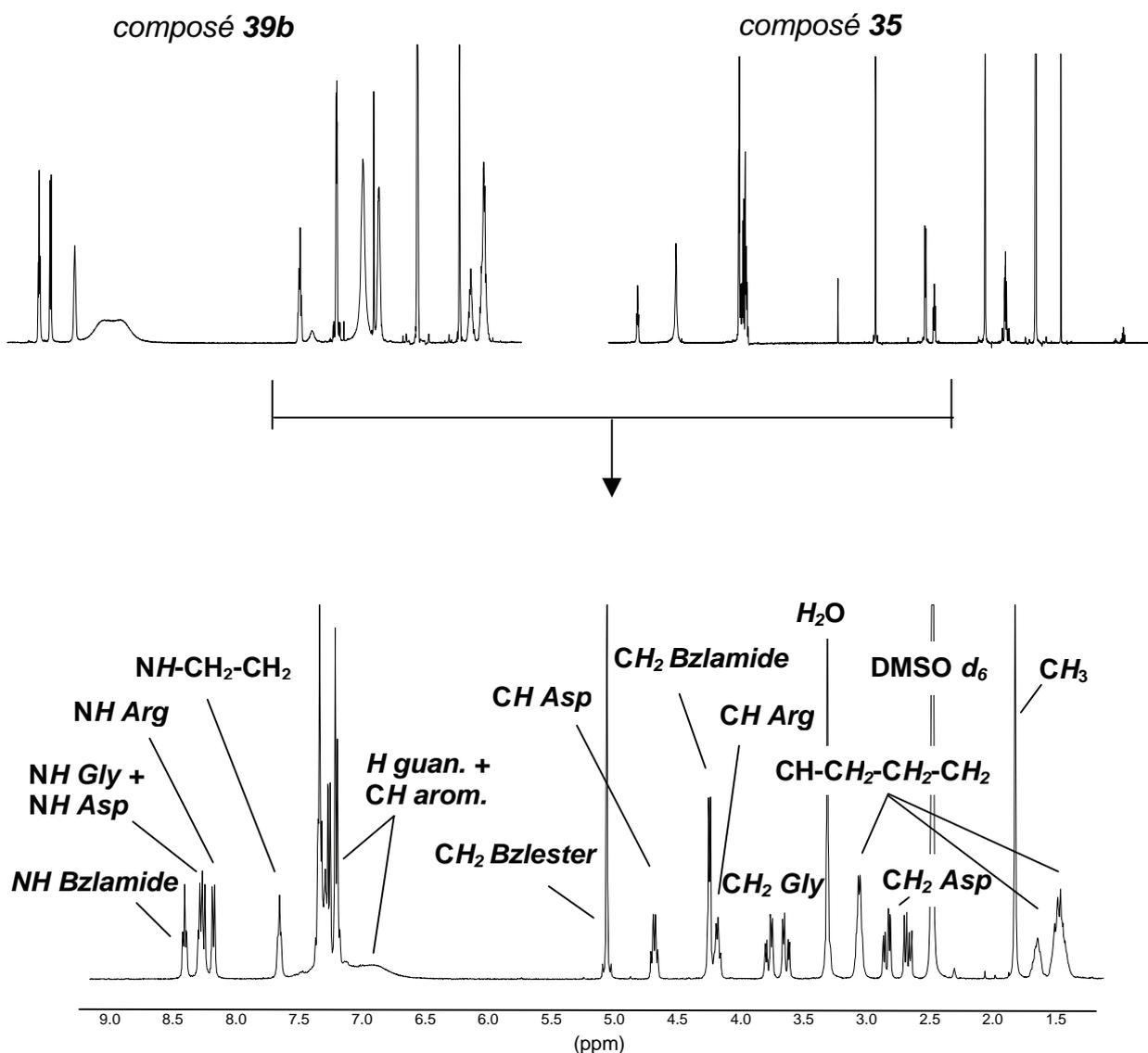


Figure 5.60 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, t.a., $\text{DMSO } d_6$) du composé **42**.

8.1.3 Obtention du dérivé peptidique Acétyl-RGD-benzylamide **43**

Pour rendre le composé **42** biodisponible, la libération de la fonction acide sur le résidu aspartyle est nécessaire. On procède par la méthode habituelle (hydrogénation catalytique) pour éliminer le groupement benzyle protecteur.

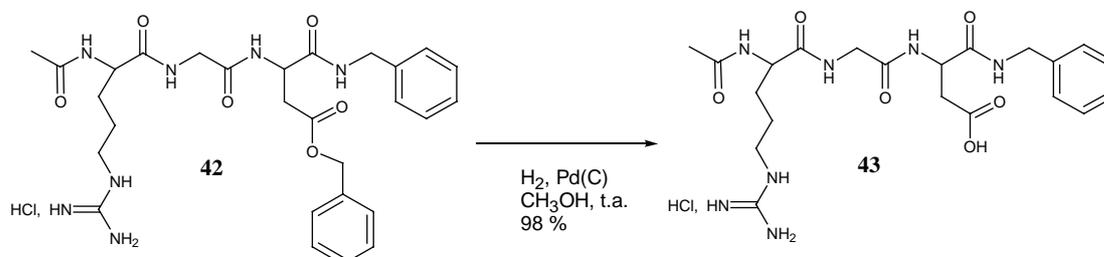


Figure 5.61 : Réaction de déprotection de la fonction acide sur le composé **42**.

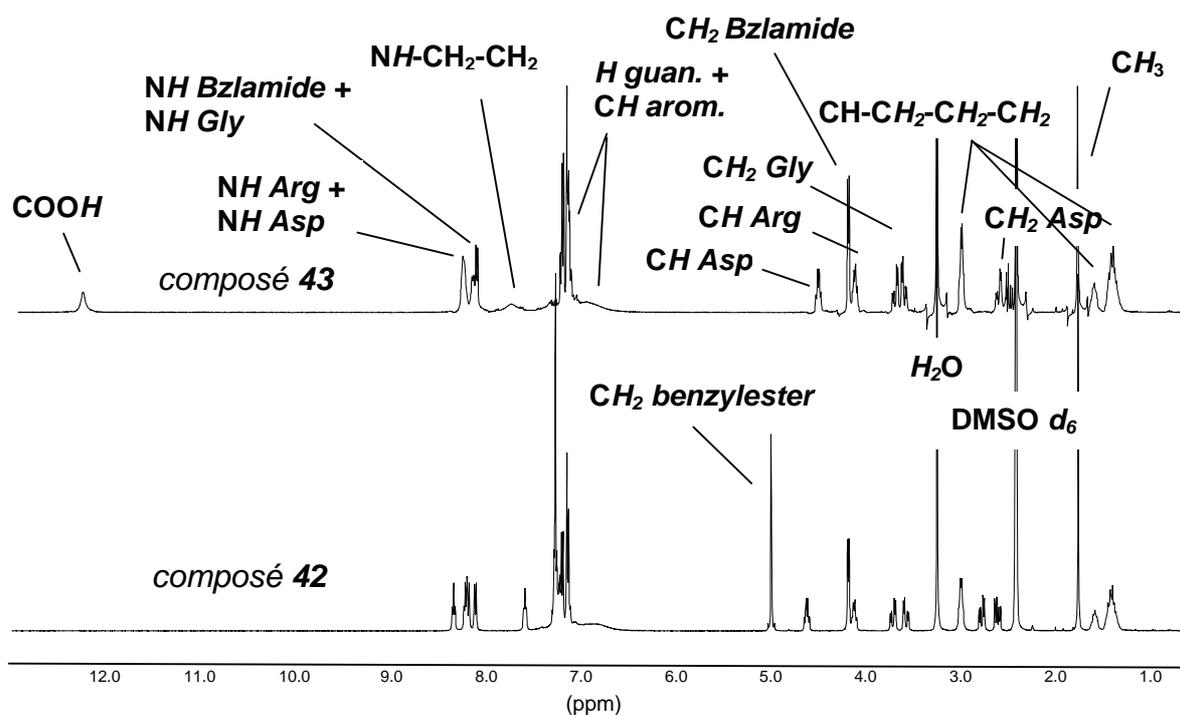


Figure 5.62 : Spectres $\text{RMN } ^1\text{H}$ (400 MHz, t.a., $\text{DMSO } d_6$) des composés **42** et **43**.

Sur l'analyse $\text{RMN } ^1\text{H}$ des composés **42** et **43**, on remarque :

- La disparition des systèmes caractéristiques des protons aromatiques et du CH_2 benzylester appartenant au composé **42**, ce qui nous confirme que la réaction de libération de la fonction acide de ce dernier s'est effectivement réalisée.

- La présence du signal d'un proton acide (*ca* 12 ppm) appartenant au composé **43**.
- La présence de systèmes ABX correspondant à la résonance des protons CH_2 glycyle et CH_2 aspartyle du composé **43**.
- La modification des signaux relatifs aux protons guanidinium dans le composé **43**, ce qui peut probablement se traduire par une interaction avec le groupement carboxylate, préférant ainsi la structure courbe du tripeptide RGD.

8.1.4 Bilan de la synthèse convergente du composé **43**

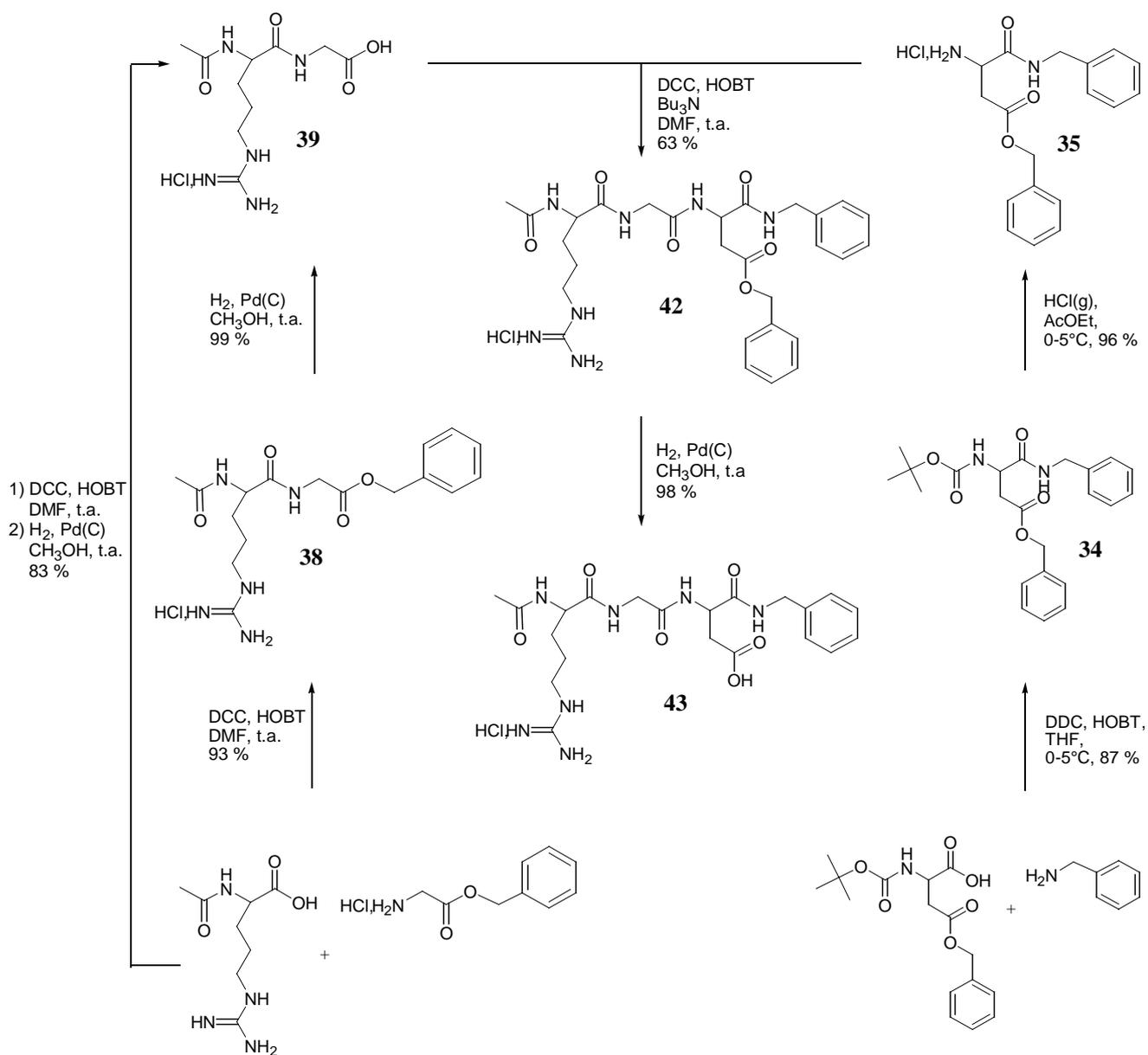


Figure 5.63: Bilan de la synthèse convergente du composé **43**.

Le rendement global de la synthèse convergente du composé **43** dans les conditions optimales s'élève à **52 %** dans les deux cas :

- Méthode “one pot” : $R = 0,87 \times 0,96 \times 0,63 \times 0,98 = 0,52$
- Méthode “two steps” : $R = 0,83 \times 0,63 \times 0,98 = 0,52$

Rappelons que la synthèse linéaire du même composé **43** a été réalisée avec un rendement final de 43 %.

8.2 Préparation des composés **44** et **45**

La préparation du composé **44** est réalisée par couplage peptidique convergent à partir des composés **41b** et **35**, en utilisant HOBt et DCC et en présence de tributylamine, base nécessaire à la libération de la fonction amine sur le composé.

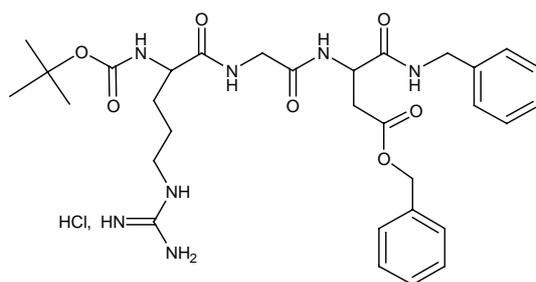


Figure 5.64 : Structure du composé **44**.

8.2.1 Réaction de couplage convergent

La méthode mise au point pour l'analogue acétylé (composé **42**) est adaptée pour la préparation du composé **44**. Après une trituration et une chromatographie sur colonne, le composé **44** s'obtient avec un rendement de 68 %.

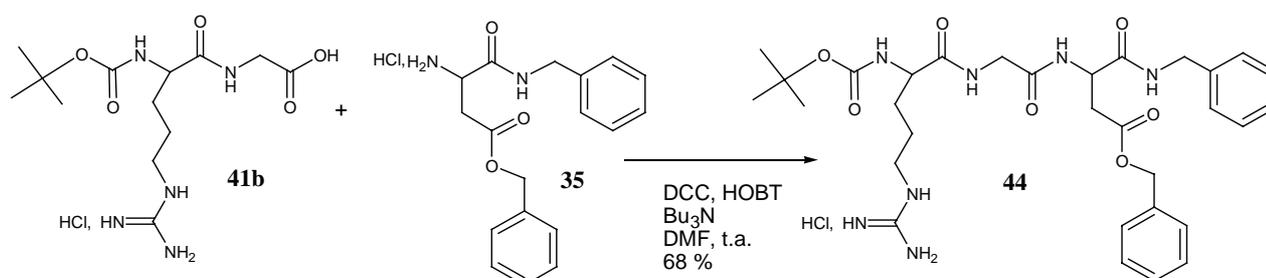


Figure 5.65 : Couplage peptidique convergent entre le composé **41b** et le composé **35**.

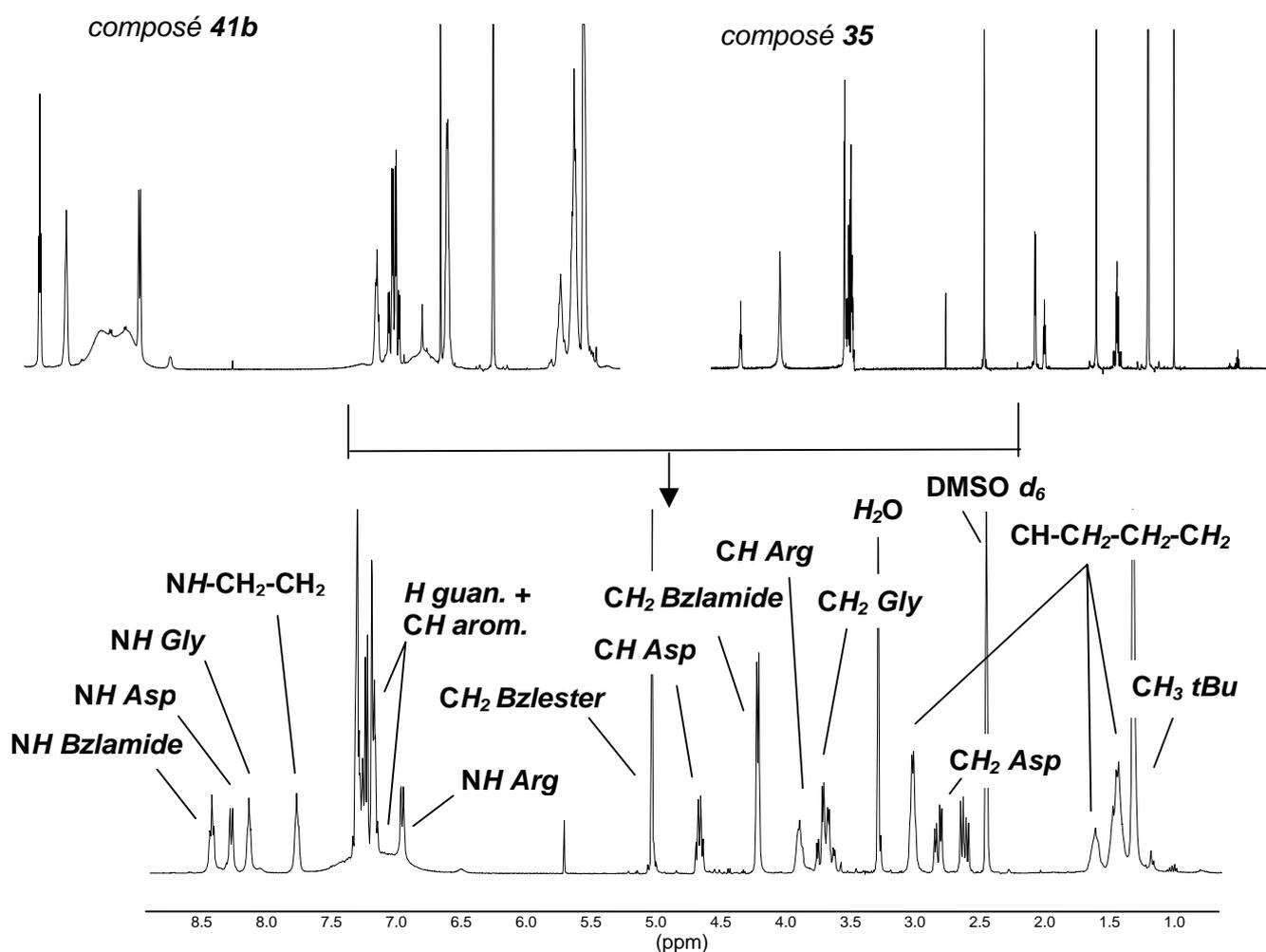


Figure 5.66 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, *t.a.*, DMSO d_6) du composé **44**.

L'analyse RMN ^1H du composé **44** (figure 5.66) nous montre la présence des résonances attendues des protons de ce dernier, ce qui nous confirme la réalisation du couplage peptidique convergent. On remarque également :

- La présence de systèmes ABX correspondant à la résonance des protons CH_2 glycyle et CH_2 aspartyle du composé **44** (déjà présents sur le spectre du composé **42**, figure 5.60).
- Un signal entre 6,5 et 7,5 ppm, intégrant pour quatre protons, correspondant à la résonance des protons du guanidinium du composé **44**.
- Le composé **44** n'a pas été affecté par une cyclisation parasite. Le signal singulet à 5,1 ppm correspondant à la résonance des protons CH_2 benzylester intègre bien pour 2 protons.

8.2.2 Déprotection de la fonction amine sur la partie N-terminale du résidu arginyle du composé 44

Il s'agit de libérer la fonction amine sur la partie N-terminale, et ainsi avoir la possibilité d'incorporer le composé 45 obtenu sur une entité plus complexe, en l'occurrence un calix[4]arène pourvu d'un bras d'ancrage de type acide. Le groupement protecteur de la fonction acide du résidu aspartyle doit être bien entendu conservé dans cette optique d'utilisation. La réaction d'élimination du groupement protecteur « Boc » de l'amine s'effectue en présence d'HCl gazeux. On obtient le composé 45 avec un rendement de 99 %.

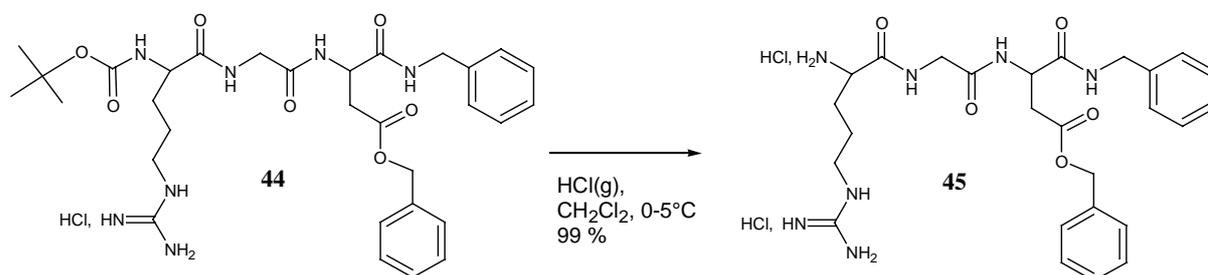


Figure 5.67 : Réaction de déprotection de la fonction amine du résidu aspartyle du composé 44.

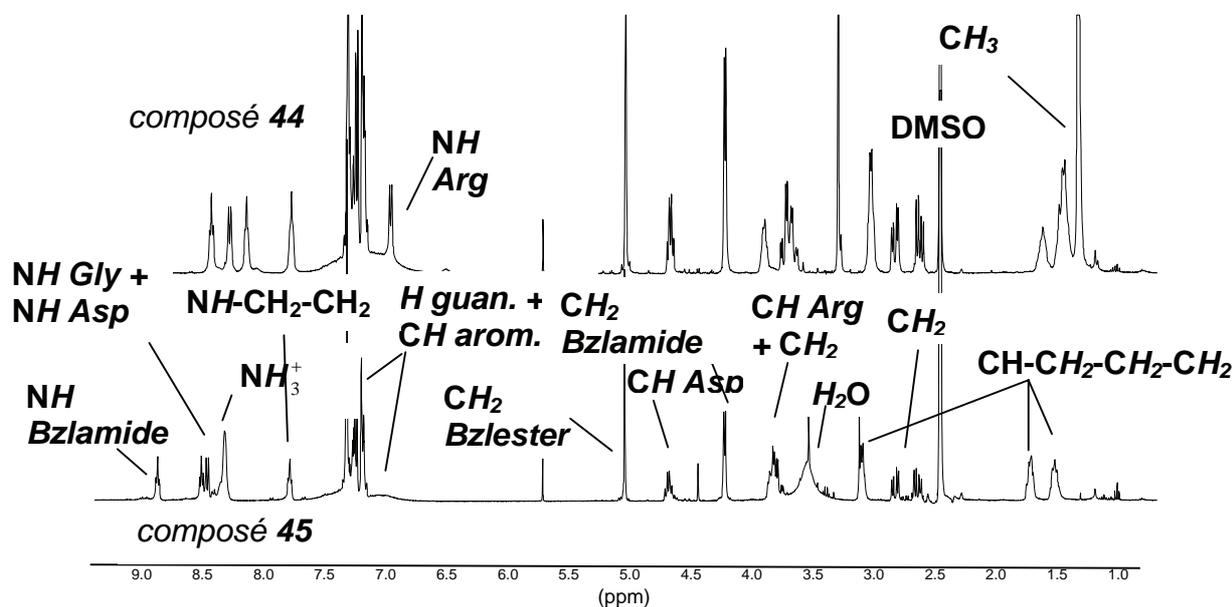


Figure 5.68 : Spectres RMN ^1H (400 MHz, t.a., DMSO- d_6) des composés 44 et 45.

Les analyses RMN ^1H des composés 44 et 45 (figure 5.68) mettent en évidence :

- L'absence du singulet caractéristique des protons du groupement « Boc » dans le composé 44, ce qui confirme la déprotection de la fonction amine de ce dernier.

Le rendement global de la synthèse convergente du composé **45** dans les conditions optimales s'élève à **56 %** au maximum :

- Méthode “one pot” : $R = 0,83 \times 0,68 \times 0,99 = 0,56$
- Méthode “two steps” : $R = 0,76 \times 0,68 \times 0,99 = 0,51$

Notons que la synthèse linéaire du composé **45** n'a pas été réalisée.

8.3 Préparation du composé **46**

L'objectif est d'obtenir un tripeptide RGD muni d'une sonde fluorescente de type bithiazole. L'incorporation de cet hétérocycle a lieu dans un processus convergent identique à celui réalisé précédemment.

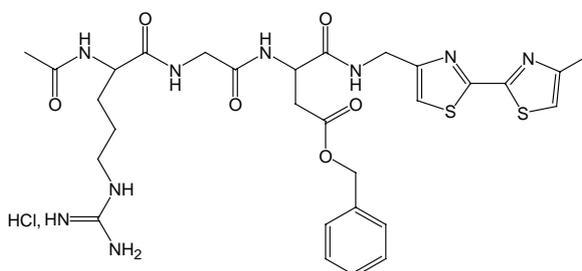


Figure 5.70 : Structure du composé **46**.

8.3.1 Couplage convergent

Le couplage peptidique convergent entre le composé **39b** (Ac-Arg-Gly-OH) et **37** (Asp(OBzl)-CH₂Btz) s'effectue en présence de DCC et de HOBT. Le composé **37** est préalablement traité avec de la triéthylamine pour libérer la fonction amine et récupéré par précipitation. Cette méthode ne permet néanmoins pas de séparer le sel de triéthylamine du composé **37**. Des étapes de purification nombreuses (triturations dans le diéthyléther et le dichlorométhane nous amènent à un rendement relativement faible (35 %).

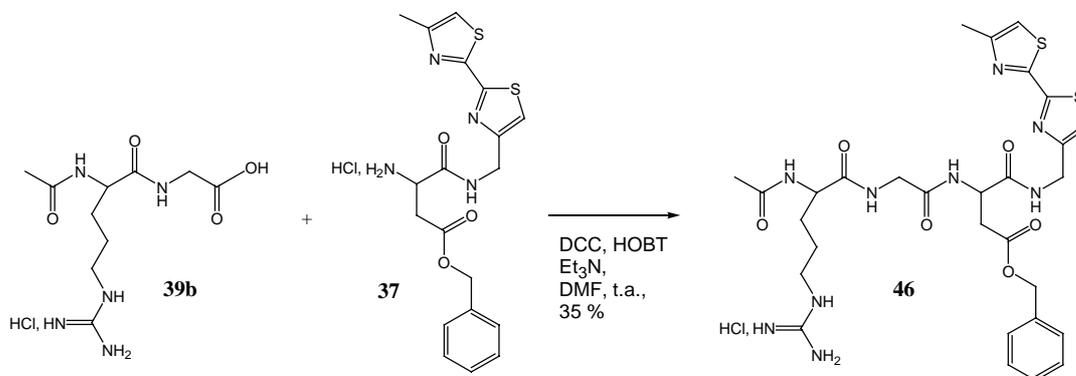


Figure 5.71 : Couplage convergent entre le composé **39b** et le composé **37**.

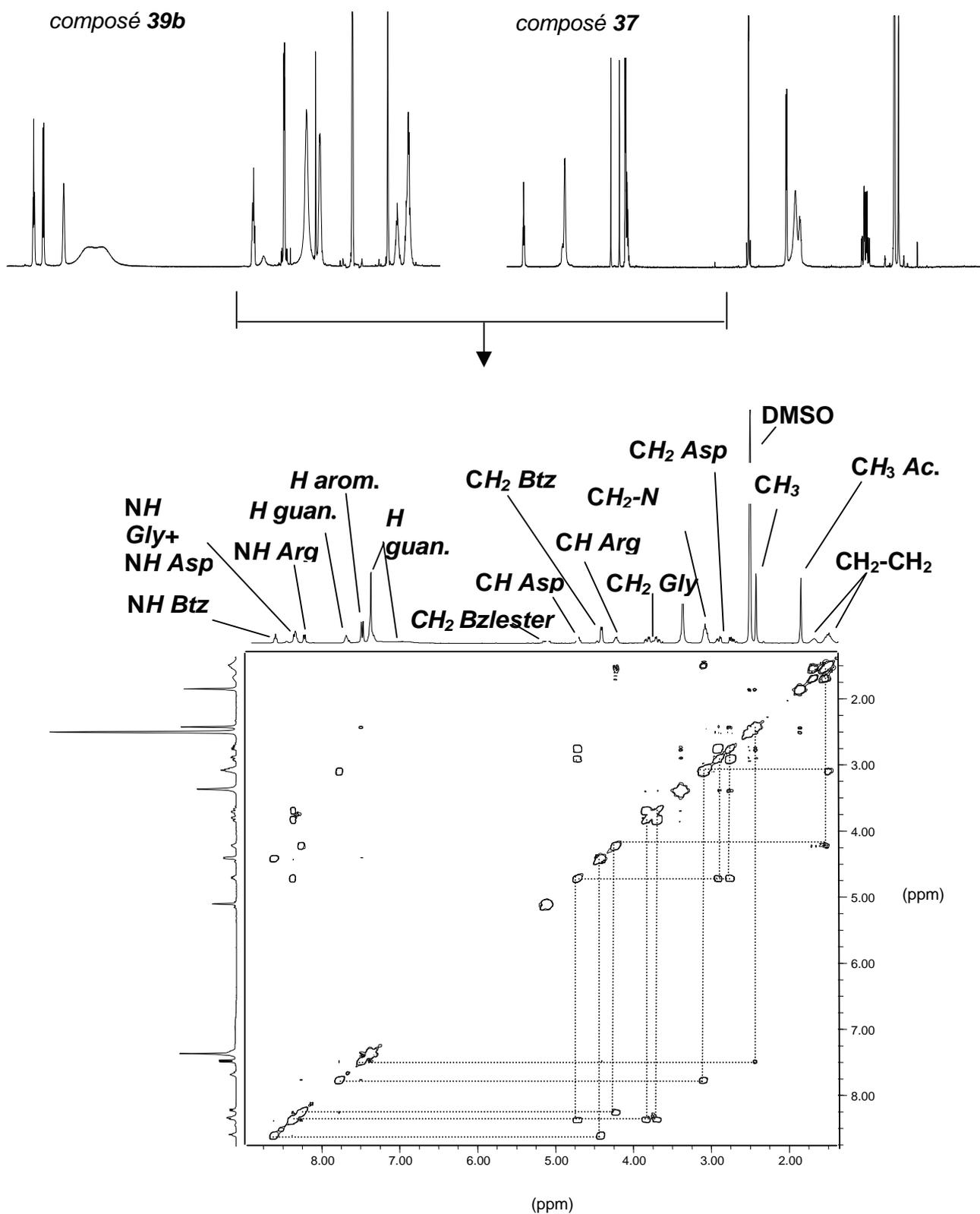


Figure 5.72 : Spectre RMN ^1H COSY (400 MHz, t.a., DMSO d_6) du composé 46.

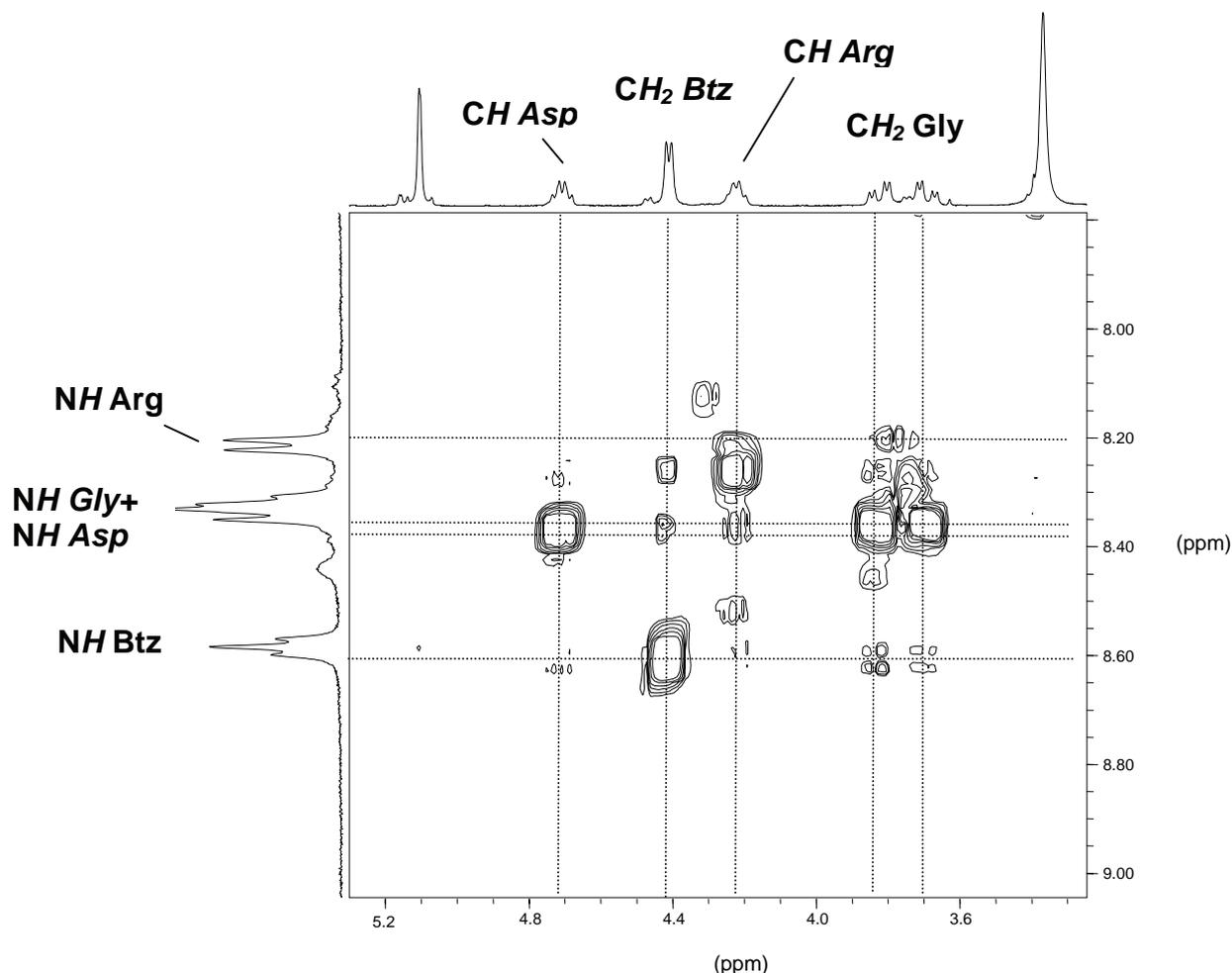


Figure 5.73 : Spectre RMN ^1H COSY partiel (400 MHz, t.a., DMSO-d_6) du composé **46**.

Les analyses spectroscopiques RMN ^1H 1D et 2D (COSY) du composé **46** nous confirment la réalisation du couplage convergent entre les composés **39b** et **37**. En effet, les corrélations fines sur la figure 5.73 entre les signaux des protons CH_2 glycyde et NH arginyle et bithiazolyde s'établissent par la création de la liaison covalente entre peptidique entre les deux précurseurs : l'amine **37** et l'acide **39b**. On y remarque également :

- De la même manière que dans les composés **42** et **44**, la présence des système ABX pour les protons CH_2 Asp et CH_2 Gly.
- La présence du signal singulet, correspondant à la résonance des protons CH_2 benzyloxy intégrant 2 protons, ce qui confirme l'absence de cyclisation parasite.

8.3.2 Tentatives de libération de la fonction acide sur le résidu aspartyle du composé **46**

Le composé **46** une fois obtenu, nous avons souhaité libérer la fonction acide afin d'envisager une évaluation en milieu biologique, comme le composé **43**. Cependant, les mêmes problèmes que ceux rencontrés précédemment (voir composé **13**, §4.5.4 du chapitre 3) se sont posés pour le composé **46**. La présence de l'hétérocycle bithiazole semble rendre la catalyse au Palladium inefficace pour l'hydrogénation catalytique ; on peut donc supposer que la proximité de l'ester benzylique de l'hétérocycle empêche le déroulement normal de la réaction. Ce phénomène de « passivation » est supposé être rencontré dans d'autres conditions avec d'autres dérivés bithiazolés mais pas dans la réduction du composé 4,4'-bis(azidométhyl)-2,2'-bithiazole ($N_3-CH_2-Btz-CH_2-N_3$)⁵¹. L'effet du soufre sur la désorption de l'hydrogène du palladium a été souvent décrit dans la littérature⁵².

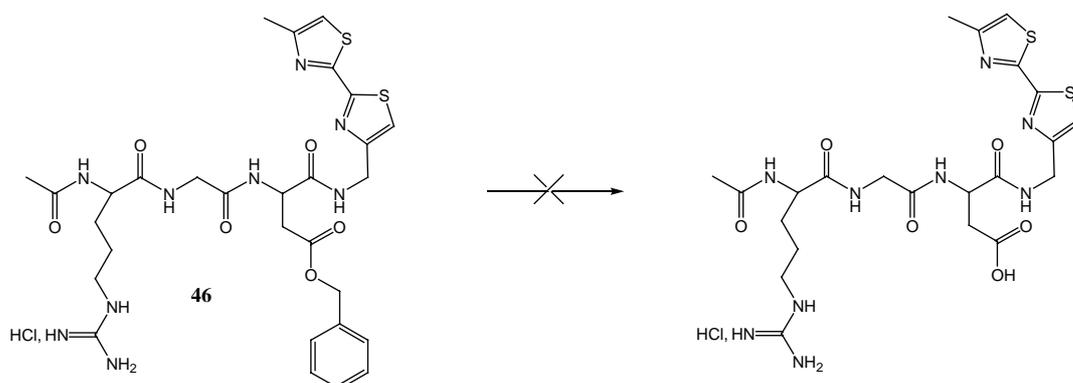


Figure 5.74 : Tentative d'hydrolyse de la fonction ester sur le composé **46**
dans les conditions $H_2/Pd(C)/CH_3OH/t.a.$

Devant l'impossibilité d'obtenir la structure souhaitée, et en raison du temps imparti, nous choisissons de ne pas poursuivre dans cette voie. L'utilisation éventuelle de tributylamine dans l'étape de couplage n'a pas été envisagée pour ces raisons.

8.3.3 Conclusion

La stratégie de ce travail entre bithiazole et RGD est donc à redéfinir. Entre temps, d'autres voies ont été envisagées au laboratoire, en particulier l'incorporation de l'hétérocycle pourvu d'un fonction acide sur la partie N-terminale du composé **45**⁵⁴.

9. Evaluation biologique des dérivés RGD synthétisés

Cette étude a été réalisée par Alexandre Salsmann et Nelly Kieffer, au Laboratoire de Biologie et Physiologie Intégrée (CNRS/GDRE/ITI), Université du Luxembourg.

9.1 Molécules évaluées

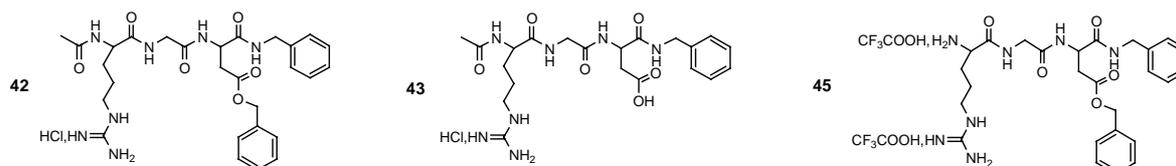


Figure 5.75 : Les composés évalués **42**, **43** et **45**, obtenus par synthèse convergente.

Afin d'évaluer rigoureusement l'effet éventuel lié à la présence ou non du groupement « Boc », les composés acides suivants, correspondant aux composés **44** et **45**, et préparés postérieurement au laboratoire⁵⁵ ont été également testés. Nous nommerons ces composés respectivement **44a** et **45a**.

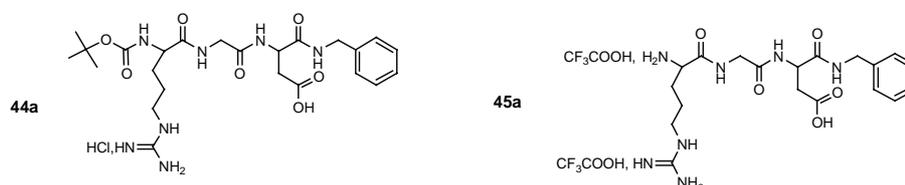


Figure 5.76 : Les composés acides **44a** et **45a**.

Le térapeptide commercial RGDS (Arg-Gly-Asp-Ser) a servi de référence à cette évaluation biologique.

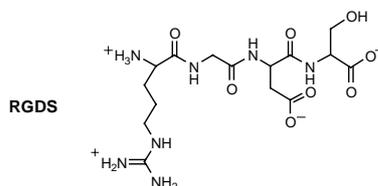


Figure 5.77 : Structure du térapeptide *RGDS*, composé bioactif de référence.

9.2 Matériels et méthode

Les tests d'inhibition de l'adhésion cellulaire ont été réalisés sur des cellules ovariennes de hamster de Chine (CHO), cellules exprimant les intégrines recombinantes humaines $\alpha_V\beta_3$. Pour chaque expérience, 3×10^4 cellules lavées ont été préincubées pendant 30 minutes à température ambiante en présence ou en absence du peptide testé, et ajoutées à un puits enduit de fibrinogène (20 $\mu\text{g/mL}$). Après 2 heures d'incubation à 37°C, les cellules ont été microphotographiées dans le puits sans prélavage des plaques ou élimination des cellules non-adhérentes. Les valeurs de l' IC_{50} (concentration de peptide qui inhibe de 50 % l'adhésion cellulaire) ont été calculées pour différents peptides RGD à partir de 3 expériences par comptage d'au moins 100 cellules selon leur forme, soit non-adhérente (cellules circulaire), soit adhérentes (cellules fibroblastoïdes).

9.3 Résultats

L'activité biologique des dérivés RGD testés a été comparée au tétrapeptide RGDS, ainsi qu'aux résultats décrits par Regnoul de Vains et coll.² en 1994. Les cellules ont été déposées soit sur fibrinogène, un ligand spécifique pour les intégrines β_3 , soit sur fibronectine, le ligand caractéristique des intégrines $\alpha_5\beta_1$ ⁵³.

Nous constatons que :

- Contrairement au tétrapeptide de référence RGDS, tous les dérivés RGD testés révèlent une sélectivité élevée vis-à-vis des intégrines $\alpha_V\beta_3$, car ils ne présentent aucun effet inhibiteur sur les intégrines $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ et $\alpha_5\beta_1$ (ces résultats ne sont pas présentés ici).
- En présence de fibrinogène (intermédiaires intégrines $\alpha_V\beta_3$), l'activité du composé **45a**, déprotégé sur le résidu arginyle, présente l'activité inhibitrice la plus élevée avec un IC_{50} de l'ordre de 4 μM , 5 fois plus élevée que le RGDS de référence (IC_{50} de 0,7 μM) (figure 5.79) .
- Les résultats sont similaires avec les composés acides **43** (N-acetyl) et **44a** (N-Boc), légèrement moins actifs que le composé **45a**.
- Les précurseurs intermédiaires benzylester **42** et **45** présentent les plus faibles activités inhibitrices avec des IC_{50} respectifs de 180 et 350 μM .

Ces résultats sont consignés dans le tableau en figure 5.78.

composés	IC ₅₀ , μM	IC ₅₀ , μM
	<i>obtenue sur CHO cancéreuses</i>	<i>pour référence² (sur cellule de cristallin cataracté)</i>
42	180 (±45)	4000
45	350 (±90)	non testé
43	6 (±3)	4
44a	12 (±2)	3000
45a	4 (±2)	non testé
RGDS	0.7 (±0.6)	200

Figure 5.78 : Effet inhibiteur des dérivés RGD sur l'adhésion des cellules (exprimant $\alpha_v\beta_3$).
Comparaison aux références RGDS (décrites dans le brevet²).

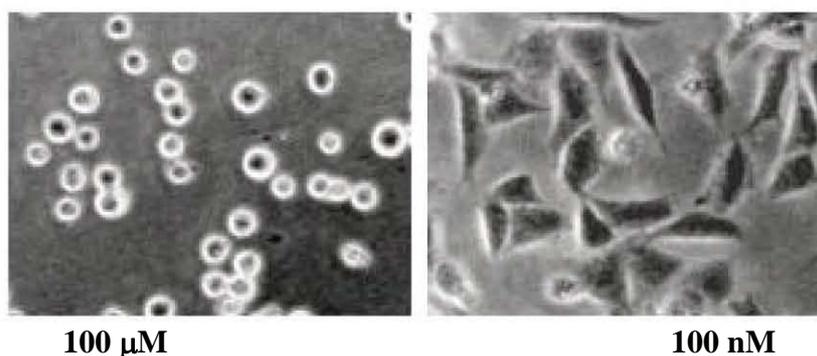


Figure 5.79 : Microphotographies des cellules ovariennes (exprimant les intégrines $\alpha_v\beta_3$) appliquées sur fibrinogène et traitées avec le composé **45a** 100 μM (100 % d'inhibition de l'adhésion cellulaire) ou 100 nM (0 % d'inhibition de l'adhésion cellulaire).

9.4 Interprétation des résultats

Pris dans leur globalité, nos résultats confirment l'intérêt de la pseudo-peptidisation², au moins sur le résidu aspartyle du tripeptide RGD, et nous amènent à constater une activité inhibitrice proche du RGDS de référence. De plus, on peut supposer que la présence du groupement protecteur carboxylate de l'aspartyle nuit à l'activité, que la protection de la fonction amine de l'arginyle n'est pas nécessaire et enfin que la présence du groupement benzylamide sur le C-terminal est probablement responsable de la sélectivité vis-à-vis des intégrines $\alpha_v\beta_3$.

10. Conclusion et perspectives

Nous avons mis au point une méthode de synthèse convergente de dérivés RGD, bioactifs pour certains d'entre eux, applicable à des quantités de l'ordre du gramme, avec des parties N- et C-terminales modulables. En comparaison avec la synthèse linéaire précédemment développée², nous avons amélioré les rendements (entre 51 et 56 %) et allégé des étapes de traitement. Le développement de cette méthode avec d'autres structures variables C- et N-terminales est en cours d'étude.

Les limites de cette méthode ont été également cernées, en particulier le fait d'engager des structures hétérocycliques ayant une influence néfaste sur des réactions catalytiques. Actuellement, une méthode d'incorporation directe du RGD sur une structure bithiazolique est en cours de développement au laboratoire (figure 5.80).

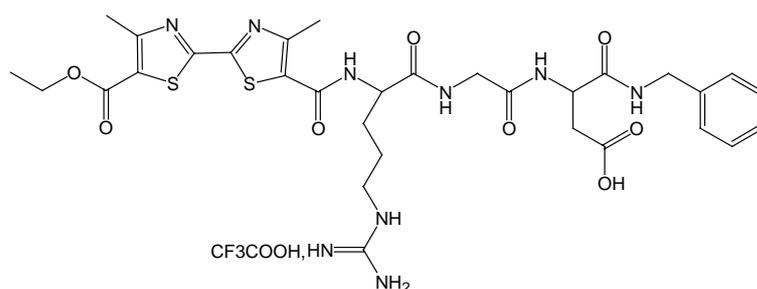


Figure 5.80 : *Unité bithiazolyle incorporée sur la partie N-terminale du RGD, développée au laboratoire⁵⁵.*

L'évaluation biologique nous ouvre également de nouvelles perspectives. En effet, l'activité inhibitrice de l'adhésion cellulaire et la sélectivité vis-à-vis des intégrines $\alpha_v\beta_3$ de certains de ces composés est un point de départ pour d'autres projets dans la thématique du laboratoire, en particulier l'incorporation sur des macrocycles vecteurs ou encore des traceurs hétérocycliques ou supramoléculaires.

Références bibliographiques du chapitre 5

1. M.D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Nature*, **1984**, 309, 30.
2. (a) J.B. Regnouf de Vains, O. Chambon, C. Bonne, PCT Int. Appl. WO 9401456, **1994** ; (b) F. Palmade, O. Sechoy-Chambon, J.B. Regnouf de Vains, C. Coquelet, C. Bonne, *J. Ocul. Pharmacol.*, **1994**, 10, 623.
3. K.M. Yamada, *J. Biol. Chem.*, **1991**, 286, 12809.
4. L. Robert, *Pathol. Biol. (Paris)*, **2001**, 49/4, 279.
5. E.H. Sage, *J. Clin. Invest.*, **2001**, 107/7, 781.
6. O. Richard, *Cell.*, **1987**, 148, 549.
7. N.R. Shashidhar, *Peptide Research*, **1992**, 5/3, 147.
8. B.T. Houseman, M. Mrksich, *Biomaterials*, **2001**, 22/9, 943.
9. (a) K.M. Yamada, D.W. Kennedy, *Bone*, **1991**, 12/4, 271; (b) A.J. Nichols, R. Jr. Ruffolo, W.F. Huffman, G. Poste, J. Samanen, *Trends Pharmacol. Sci.*, **1992**, 13/11, 413. (c) L.B. Peter, B. Sherron, B. Stuart, J. Daniel et al., *Med. Chem*, **1992**, 35, 2040; (d) K. Marcus, H. Martin, G. Ranier, K. Horst, L. Simon, A.J. Goodman, *Helv. Chim. Acta*, **1997**, 80/4, 1280; (e) S. Shosuke, H. Akiko, T. Yoichi, T. Takahashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **1999**, 47/12, 1799.
10. R. Haubner, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, **2006**, 33, 54
11. Par exemple : (a) R. Haubner, B. Kuhnast, C. Mang, W.A. Weber, H. Kessler, H.J. Wester, M. Schwaiger, *Bioconjugate Chem.*, **2004**, 15, 61; (b) A. Mitra, J. Mulholland, A. Nan, E. McNeill, H. Hamidreza, R. Bruce, *Journal of Controlled Release*, **2005**, 102(1), 191.
12. Par exemple, (a) U. Magdolen, J. Auernheimer, D. Joerg, J. Schauwecker, H. Gollwitzer, J. Tuebel, R. Gradinger, H. Kessler, M. Schmitt, P. Diehl, *International Journal of Molecular Medicine*, **2006**, 17(6), 1017
13. Par exemple, B. Elmengaard, J.E. Bechtold, K. Soballe, *Biomaterials*, **2005**, 26(17), 3521.
14. (a) J. Kumar, V. Rao, D. Epstein, PCT Int. Appl. WO 2001058931, **2001** ; (b) ; (c) Y. Tsukamoto, A. Sasabe, K. Kishida, M. Tano, A. Kiriodoshi, *Patent JP10017488*, **1998**.
15. G.G.M. Pinkse, R. Jiawan-Lalai, J.A. Bruijn, E. De Heer, *Journal of Hepatology*, **2005**, 42(1), 87.
16. K.H. Park, K. Na, K.C. Lee, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **2004**, 97(3), 207.
17. K. Kunath, T. Merdan, O. Hegener, H. Haerberlein, T. Kissel, *Journal of Gene Medicine*, **2003**, 5(7), 588.
18. R. Chen, S.J. Curran, J.M. Curran, J.A. Hunt, *Biomaterials*, **2006**, 27(25), 4453.
19. L. Liu, F. Cui, G. Zhao, H. Wang, *Huaxue Shiji*, **2006**, 28(1), 55.
20. M. Song, P. Ju, J. Cao, S. Shen, *Shengwu Jiagong Guocheng*, **2005**, 3(2), 23
21. V.V. Samukov, P.I. Pozdnyakov, S. Prantika, Z. Pol, *Patent RU2214416*, **2003**.
22. M. Abo-Ghalia, S. Abd El-Rahman, A. El-Kafraway, A. Kalomuch, *Amino Acids*, **2003**, 24, 405.
23. M. Song, P. Ju, J. Cao, S. Shen, *Nanjing Gongye Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, **2004**, 26(5), 17-19, 36.
24. L.Q. Zhang, Y.D. Zhang, L. Xu, X.L. Li, X.C. Yang, G.L. Xu, X.X. Wu, H.Y. Gao, W.B. Du, X.T. Zhang, X.Z. Zhang, *Enzyme and Microbial Technology*, **2001**, 29(2-3), 129.
25. J.E. So, J.S. Shin, B.G. Kim, *Enzyme and Microbial Technology*, **2000**, 26, 108.
26. a) Pour une revue récente : "Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis", S.Y. Han, Y.A. Kim, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 2447 ; b) J. Jones, "The chemical Synthesis of Peptides", *Clarendon Press-Oxford*, **1994**, p. 54
27. J.C. Sheehan, V.S. Franck, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 1856.
28. T. Curtius, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1902**, 35, 3226.
29. J. Honzl, J. Rudinger, *Collections of Czechoslovak Chemical Communication*, **1961**, 26, 2333.

30. J. Meienhofer, The mixed carbonic anhydride method of peptide synthesis. In *the peptide, Vol.1 Academic press, London, 1979, chapter 4.*
31. J.C. Sheehan, G.P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 1067.
32. a) F. Weygand, D. Hoffmann, E. Wunsch, *Zeitschrift für Naturforschung*, **1966**, 21B, 426; b) E. Wunsch, F. Drees, *Chem. Ber.*, **1966**, 99, 110.
33. W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.*, **1970**, 103, 788
34. B.J. Balcom, N.O. Petersen, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 1922
35. D. Sarantakis, J. Teichman, E.L. Lien, R.L. Fenichel, *Biochemical and biophysical Research Communication*, **1976**, 73, 336.
36. J.C. Sheehan, P.A. Cruickshank, G.L. Boshart, *J. Org. Chem*, **1961**, 26, 2525.
37. D. Le Nguyen, B. Castro, 1988, In peptide Chemistry 1987 (ed. T. Shiba and S. Sakakibara), pp 231-238.
38. R. Steinauer, F.M.F. Chen, N.L. Benoiton, *International Journal of Peptide and Protein Research*, **1989**, 34, 295.
39. Par exemple, H.R. Kricheldorf, “ α -Amino-N-carboxyanhydrides and related heterocycles”, Springer-Verlag, Berlin.
40. G.D. Fasman, « poly- α -aminoacide », **1967**, Edward Arnold, London.
41. T.J. Blacklock, R.F. Schuman, J.W. Butcher, W.E. Shearin Jr., J. Budavari, V.J. Grenda, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 836.
42. J. Coste, E. Frerot, P. Jouin, *J. Org. Chem*, **1994**, 59, 2437.
43. A. El-Faham, *Chem. Lett.*, **1998**, 671.
44. C. Van der Auwera, M. J. O. Anteunis, *Bull. Soc. Chim. Bel*, **1986**, 95, 203.
45. P. Li, J.C. Xu, *J. Org. Chem*, **2000**, 65, 2951.
46. M. Bergmann, L. Zervas, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1932**, 65, 1192
47. M. Brenner, W. Huber, *Helv. Chimica Acta*, **1953**, 36, 1109.
48. a) I.J. Galpin, P.M. Hardy, G.W. Kenner, J.R. McDermott, R. Ramage, J.H. Seely, R.G. Tyson, *Tetrahedron*, **1979**, 35, 2577; b) J.R. McDermott, N.L. Benoiton, *Canadian Journal of chemistry*, **1973**, 51, 2555.
49. M. Bodanszky, M.A. Ondetti, S.D. Levine, N.J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 6753.
50. J.B. Regnouf de Vains, S. Pellet-Rostaing, R. Lamartine, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 5745.
51. a) J.B. Regnouf de Vains, *Thèse d'Université*, Université Louis Pasteur, Strasbourg, **1989** ; b) J.M. Lehn, J.B. Regnouf-de-Vains, *Helv. Chimica Acta*, **1992**, 75, 1221.
52. Par exemple : a) F.J. Castro, G. Meyer, G. Zampieri, *Journal of Alloys and Compounds*, **2002**, 330-332, 612-616 ; b) L.J. Hoyos, M. Primet, H. Pralialud, *Journal of the Chemical society, Faraday Transactions*, **1992**, 88(22), 3367 ; c) G.A. Del Angel, B. Coq, F. Figueras, *Nouveau Journal de Chimie*, **1983**, 7(3), 173.
53. A. Salsmann, E. Schaffner-Reckinger, F. Kabile, S. Plançon, N. Kieffer, *J. Biol.Chem.*, **2005**, 280(36), 33610.
54. M. Boisbrun, J.B. Regnouf de Vains, *en cours de publication.*
55. M. Boisbrun, J.B. Regnouf de Vains, *en cours de publication.*

Chapitre 6

*Antennisation par le tripeptide
d'adhésion RGD d'un calix[4]arène,
pourvu d'un bras d'ancrage*

1. Objectifs recherchés dans l'incorporation d'un tripeptide RGD sur un calix[4]arène

L'objectif recherché dans ce projet est la mise au point d'un modèle de vecteur supramoléculaire de principes actifs. Ce projet entre dans la thématique principale développée au GEVSM. Ce projet se construit à partir de nos résultats décrits dans les troisième et cinquième chapitres.

1.1 Rôle du RGD

Nous disposons d'un tripeptide RGD bioactif capable d'être incorporé de façon covalente à un calix[4]arène *via* sa partie N-terminale. Ce tripeptide RGD doit jouer le rôle d'antenne de reconnaissance cellulaire placée sur une plate-forme organisatrice spatiale matérialisée par le calix[4]arène. Nous savons que la bioactivité est établie pour la partie N-terminale du RGD pseudo-peptidisée (voir chapitre 5, § 9), ce qui nous autorise à introduire le calix[4]arène par cette voie. A proximité de la cellule, le RGD est capable de se ligander facilement aux intégrines spécifiques $\alpha_v\beta_3$ et pourrait ainsi prolonger la proximité du calix[4]arène à la cellule et de favoriser son activité potentielle ou bien encore son internalisation.

1.2 Rôle du calix[4]arène

Le calix[4]arène joue le rôle d'organisateur spatial. Il dispose d'une antenne de reconnaissance et peut éventuellement être porteur de façon covalente ou non d'autres fonctions biologiquement actives : antibiotique, cation métallique complexé, stéroïde, sucre, ..., orientées de façon bien déterminée.

Dans ce cas, nous cherchons ainsi à augmenter l'activité du principe actif que le calix[4]arène vectorise, par son action à proximité de la cellule. On peut schématiser le mode d'action du calix[4]arène à proximité de la cellule par la figure 6.1.

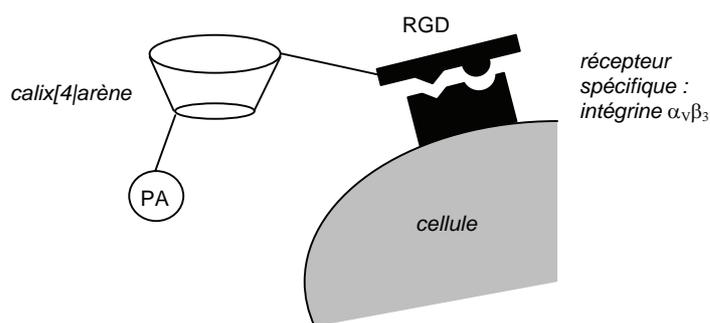


Figure 6.1 : *Reconnaissance et ligandage entre la séquence motif RGD et un récepteur spécifique de la cellule.*

Dans un premier temps, il s'agira d'obtenir un modèle de vecteur supramoléculaire calix[4]arénique. Comme nous l'avons défini dans la première partie de l'introduction, l'objectif synthétique est d'obtenir les structures suivantes (figure 6.2).

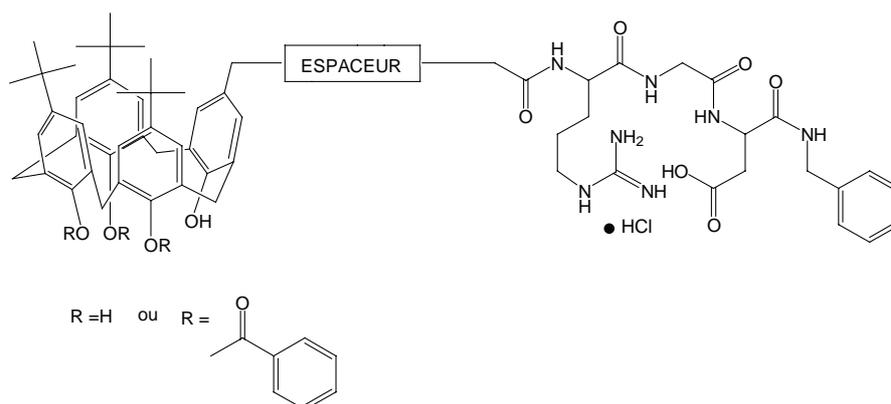


Figure 6.2 : *Structures cibles modèles : tripeptide RGD greffé sur la partie haute d'un calix[4]arène.*

Les techniques de synthèses adoptées seront des couplages peptidiques classiques en solution et des déprotections. La complexité relative des structures attendues nous amènera à travailler essentiellement avec des techniques spectroscopiques en 2 dimensions, plus particulièrement la RMN ^1H COSY.

2. Les calixarènes et la biologie : état des connaissances

On ne peut que remarquer la faible quantité d'articles en rapport direct avec la biologie comparée à l'abondance de publications sur les calixarènes.

Jusqu'à présent, les publications décrivent l'utilisation de calixarènes sous forme native ou modifiée, en tant qu'outils de reconnaissance moléculaire, de mimes enzymatiques ou encore d'inhibiteurs. Dans les lignes suivantes, nous citons quelques exemples en rapport avec ces thématiques.

2.1 Les calixarènes en tant qu'outils de reconnaissance moléculaire¹

La reconnaissance moléculaire et la complexation de molécules biologiques par des calixarènes représentent le sujet le plus répandu dans le domaine à l'interface calixarène et biologie. Ces phénomènes se retrouvent avec des calixarènes porteurs le plus souvent d'antennes de reconnaissances, essentiellement de nature saccharidique ou peptidique.

2.1.1 Antennisation par des motifs saccharidiques

L'antennisation de calixarène par des entités saccharidiques est une des voies menant à la reconnaissance spécifique de certains substrats. Par exemple, des calixarènes substitués sur leurs parties basses par des unités thiosialosyles² ou acétyl-galactosamines³ ont montré une grande affinité pour des lectines végétales (figure 6.3).

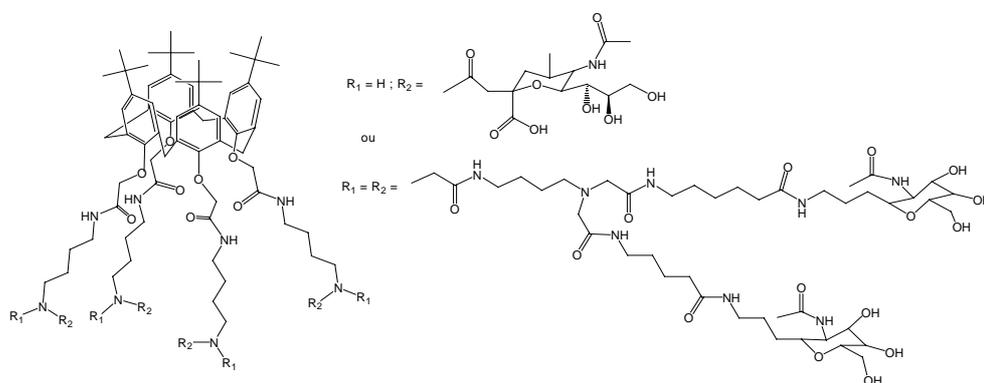


Figure 6.3 : Calix[4]arène antennisé par des unités acétyl-galactosamines³.

2.1.2 Complexation par des calix[n]arènes porteurs de groupements ammonium

Shi et Schneider⁴ ont démontré l'affinité entre des calix[n]arènes porteur de groupements ammonium sur leurs parties hautes et des acides nucléiques. En outre, l'affinité de ces ligands pour les acides nucléiques augmente avec le nombre de groupements ammonium quaternaires (figure 6.4). Cependant, la sélectivité vis-à-vis des bases nucléiques complexées demeure relativement modeste.

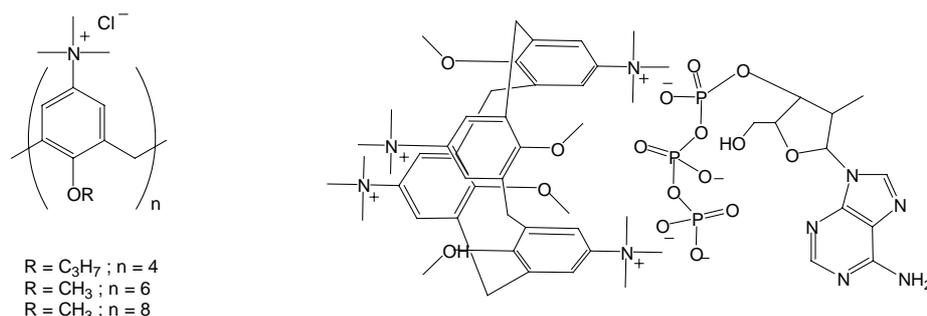


Figure 6.4 : Calix[n]arènes porteurs de groupements ammonium complexant d'acides nucléiques⁴.

2.1.3 Complexation par des calix[n]arènes porteurs de fonctions sulfonates

La complexation de biomolécules par des calixarènes ne se limite pas seulement aux peptides, sucres, lectines ou autres bases nucléiques. La complexation de la testostérone par un calix[n]arène sulfoné hydrosoluble a été mise en évidence par Millership⁵. On remarque en outre que la solubilité de la testostérone dans l'eau s'améliore avec la taille du calix[n]arène utilisé (n = 4, 6 ou 8).

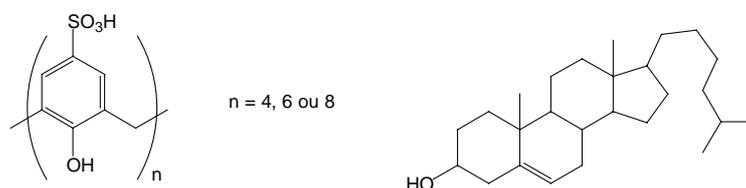


Figure 6.5 : Calix[n]arène sulfoné et testostérone⁵.

On trouve également des calix[4]arènes sulfonés capables de complexer des aminoacides ; par exemple, deux calix[6]arènes dont les complexes d'inclusion avec 15 aminoacides ont été mis en évidence par Coleman et coll.⁶ en 2002 (figure 6.6).

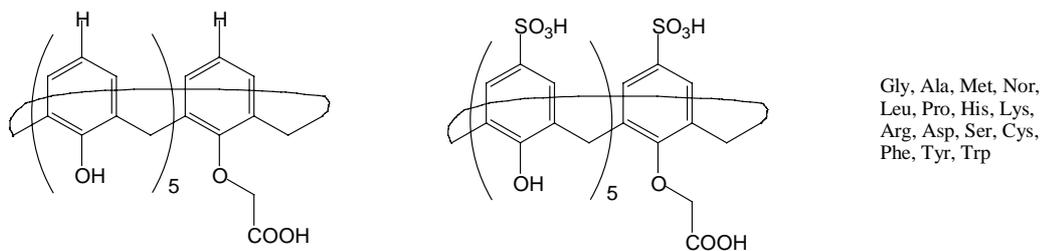


Figure 6.6 : *p*-H-37-(2-carboxy-méthoxy)-calix[6]arène et *p*-sulphonato-37-(2-carboxy-méthoxy)-calix[6]arène, potentiellement complexant de 15 aminoacides⁶.

Plus récemment, Mutihac et coll.⁷ ont montré la complexation et la séparation d'amines, d'acides aminés, de di- et de tripeptides par des calix[n]arènes. En particulier, des calix[4]arènes et calix[6]arènes sulfonés, hydrosolubles, forment des complexes avec une série de di- et tripeptides, en solution aqueuse (figure 6.7).

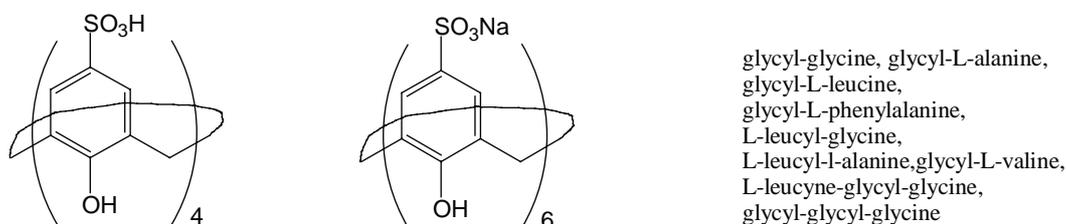


Figure 6.7 : Calix[4]arène et calix[6]arène, sulfonés, potentiellement complexant de di- et tri-peptides en solution aqueuse⁷.

2.2 Les mimes enzymatiques

En s'inspirant de processus biologiques, plusieurs études ont été dédiées à la mise au point de catalyseurs à partir de calixarènes modifiés. Shinkai et coll.⁸ furent les premiers en 1986 à mettre en évidence l'accélération de l'hydratation d'un dérivé du nicotinamide par des calix[n]arènes porteurs de groupements sulfonates sur leur partie haute. L'hypothèse mécanistique décrite sur la figure 6.8 repose sur l'assistance de groupements à protons labiles à proximité de la cavité calixarénique, susceptible d'accueillir le substrat.

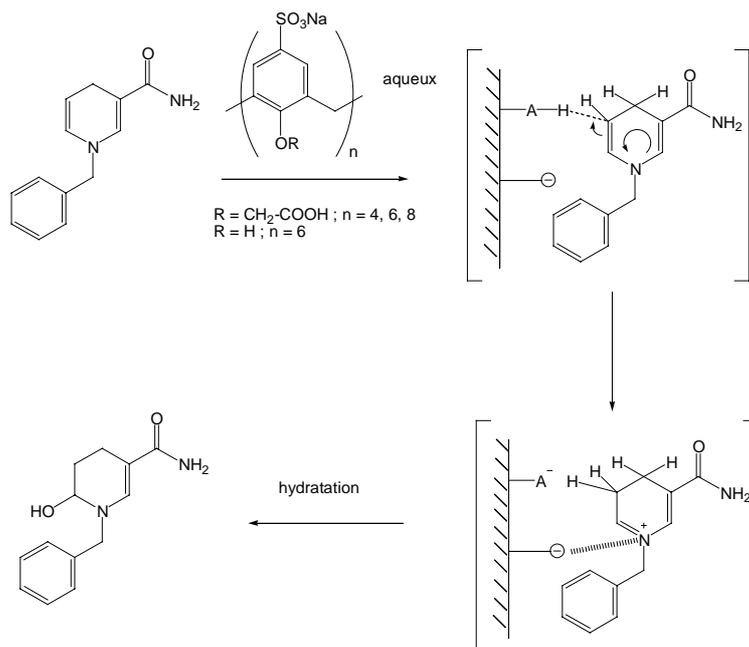


Figure 6.8 : Mécanisme supposé de l'activité catalytique des calix[n]arènes sulfonés sur le 1-benzyl-1,4-dihydropyridinamide⁸.

Dans une littérature plus récente⁹, on trouve également d'autres mimes enzymatiques agissant sur des alcaloïdes : un calix[6]arène mimant la choline estérase sur le *p*-nitrophényl-carbonate-choline. Des complexes calix[4]aréniques de métaux de transition (Cu^{2+} et Zn^{2+}) sont également capables de mimer une phosphodiesterase¹⁰. Les unités 2,6-bis-aminométhyl-pyridines ou N-méthylimidazole sur la partie haute d'un calix[4]arène constituent ainsi des ligands aptes à complexer des métaux de transition. En outre, les phosphatases naturelles possèdent généralement deux ions métalliques sur leurs sites actifs parmi Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} et Fe^{3+} .

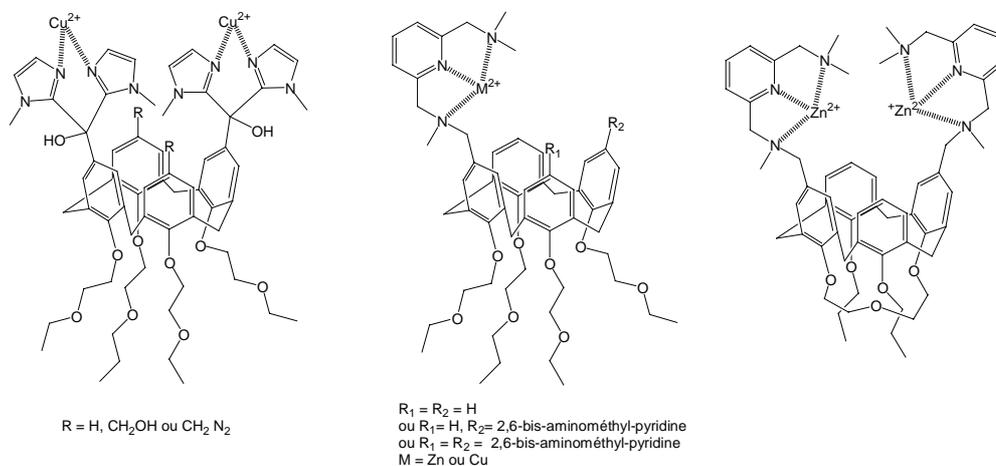


Figure 6.9 : Exemples de calix[4]arène mimes de phosphodiesterase¹⁰.

Dans les mécanismes envisagés par les mêmes auteurs⁸, il faut noter le rôle important joué par la cavité du calix[4]arène.

2.3 Les autres dérivés calixaréniques pouvant trouver des applications potentielles dans le domaine biomédical

2.3.1 Calixarènes présentant des propriétés antibiotiques, antivirales ou antimycotiques

On trouve dans quelques publications ou brevets mentionnant une activité antibiotique pour des calixarènes. Les premiers d'entre eux, mis au point par Cornforth et coll.¹¹, sont le Macrocyclon qui possède des propriétés anti-tuberculeuses et le HOC-60 (figure 6.10).

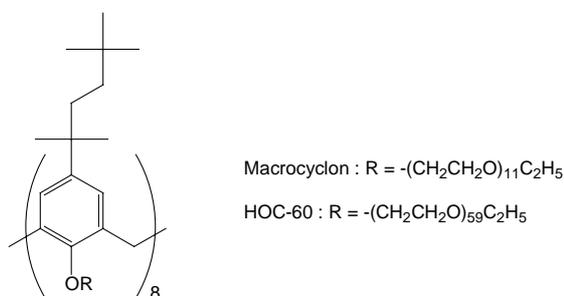


Figure 6.10 : *Le Macrocyclon et le HOC-60¹¹.*

Une étude plus récente¹² sur le mécanisme d'action de ces deux composés indique leur capacité à agir sur des enzymes telles que la triglycéride lipase et la phospholipase extracellulaire ; le Macrocyclon inhibe ces enzymes en bloquant la multiplication bactérienne et le HOC-60 en stimulant ces enzymes, activant de ce fait la multiplication bactérienne.

Vis-à-vis des virus VIH-1 et VIH-2, deux brevets^{13,14} mentionnent des résultats avec notamment des calix[4]arènes de type pyrogallol, tri-oxy-acétylés sur chaque noyau au niveau de la couronne supérieure.

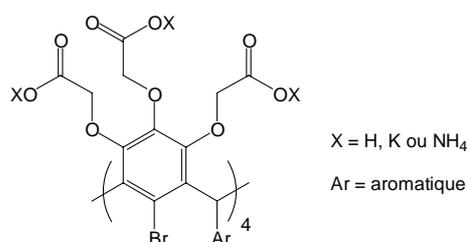


Figure 6.11 : *Les calix[4]arène-pyrogallols à activité anti-VIH^{13,14}.*

Ces composés de type calix[4]arène pyrogallols possèdent en outre des propriétés antibactérienne (avec *Corynebacterium*)¹⁵ et anti-mycotiques¹³.

2.3.2 Calix[n]arènes agissant sur les membranes cellulaires

Une étude menée par Jin et coll.¹⁶ sur une série de calix[n]arènes esters a montré leur capacité à s'insérer dans des membranes phospholipidiques et d'y discriminer le passage d'ions alcalins (Na^+ , K^+ et Cs^+) en fonction de leur taille. Par exemple, pour $n = 4$, le calix[4]arène ne laisse passer que les ions Na^+ , alors que pour $n = 5$, le passage de l'ion K^+ est favorisé. L'ion Cs^+ se trouve être préférentiellement intégré pour $n = 6$ ou 7.

2.3.3 Complexes radioactifs pouvant être utilisables en radiothérapie

Parmi la grande variété de complexes de métaux avec des calixarènes, on peut trouver des complexes calixarène/métal radioactif utilisables en radiothérapie anticancéreuse. En particulier, des complexes de rhénium¹⁷ et d'actinium¹⁸.

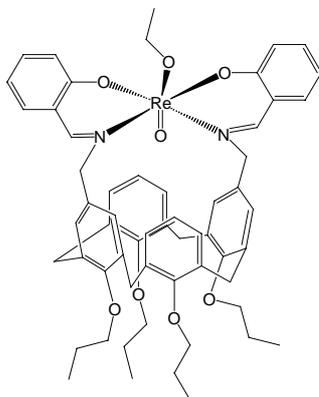


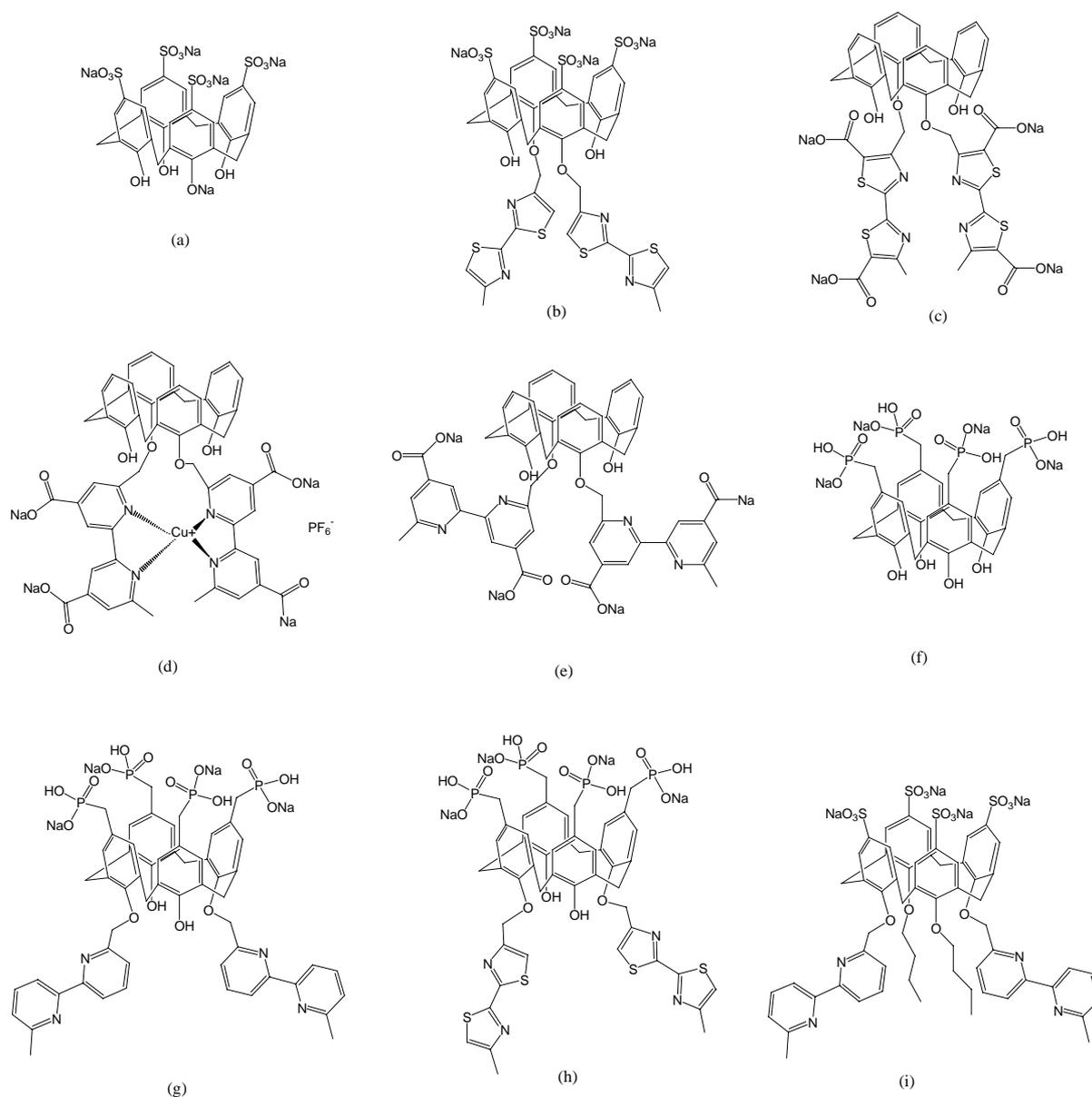
Figure 6.12 : *Complexe de rhénium radioactif*¹⁷.

2.3.4 Calixarènes présentant une activité anti-coagulante et anti-fibrotique

L'activité anticoagulante de calixarènes sulfonés ou sulfinés a été mise en évidence dans deux brevets¹⁹. On trouve également dans un autre brevet²⁰ une activité anti-fibrotique pour un calix[6]arène hexasulfonate.

2.4 Calix[4]arènes bioactifs développées au GEVSM

Psychogios et Regnouf-de-Vains²¹ ont préparé des composés sulfonés, carboxylés et phosphonés dont certains présentent des propriétés anti-virales vis-à-vis des virus Herpes Simplex I et II et Polio II. Certains de ces composés développés au GEVSM présentent également des activités bactéricides vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella pneumoniae* (figure 6.13).



Herpès Simplex I et II : (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h)
 Polio II : (b)

E. faecalis : (a), (c)
S. aureus : (c), (e), (i)

B. subtilis : (c), (e), (i)
K. pneumoniae : (c), (e), (i)

Figure 6.13 : Composés calixaréniques sulfonés, carboxylés et phosphonés, développés au GEVSM et présentant une activité virucide et/ou bactéricide²¹.

Une autre série de composés de type *para*-guanidinoéthylcalix[4]arène a été développée par Mourer et Regnouf-de-Vains²², et évaluée au GEVSM. Une activité anti-bactérienne élevée vis-à-vis d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* a été mise en évidence²³.

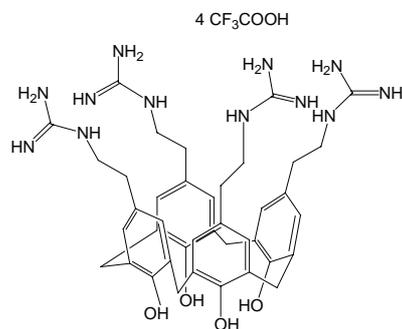


Figure 6.14 : *para*-guanidinoéthylcalix[4]arène, développé au GEVSM^{22,23}.

3. Les calixarènes porteurs de peptides : état des connaissances

C'est à partir de 1996 que sont développées des chimiothèques de calixarènes porteurs de peptides, que nous nommerons peptidocalixarènes, très souvent destinés à des criblages. On y recense des orientations aussi bien vers le domaine biomédical que la recherche d'agents sélectifs de complexation moléculaire ou la catalyse. On peut cependant remarquer une bibliographie relativement pauvre relative à ces thématiques.

3.1 Complexation moléculaire par des peptidocalix[4]arènes

Hioki et coll.²⁴ ont publié à partir de cette période jusqu'à aujourd'hui une série de travaux démontrant l'aptitude de calix[4]arènes porteurs de peptides à complexer des oligopeptides. On trouve, en particulier une chimiothèque de calix[4]arènes, supportés par une résine polystyrène, antennisés sur leurs parties basses par des peptides. Ces structures montrèrent une affinité particulière vis-à-vis d'oligopeptides substrats²⁵.

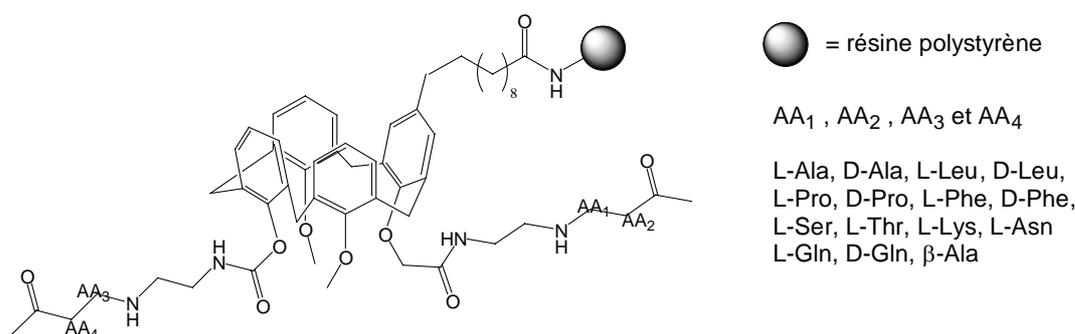


Figure 6.15 : Chimiothèque de calix[4]arènes antennisés par des unités peptidiques et ancrés sur une résine polystyrène²⁵.

Dans cette démarche, la sélectivité vis-à-vis d'autres aminoacides est d'autant plus importante que l'on incorpore de résidus aminoacide sur le calixarène.

Plus récemment, la même équipe a démontré l'aptitude de certains peptidocalix[4]arènes à complexer des peptides et à les entraîner en milieu aqueux²⁶.

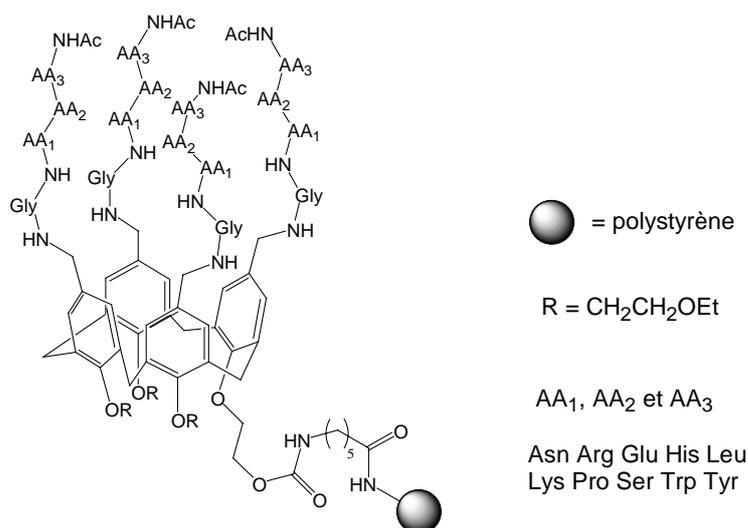


Figure 6.16 : *Chimiothèque de calix[4]arènes hydrophiles antennisés par des unités peptidiques et ancrés sur une résine polystyrène²⁶.*

Ungaro et coll.²⁷ ont mis au point des peptidocalix[4]arènes récepteurs sélectifs pour hydrates de carbone. Ces structures ont montré une affinité plus importante pour un octyl α -D-glucoside devant son anomère octyl β -D-glucoside et son stéréoisomère β -D-galactoside dans le chloroforme.

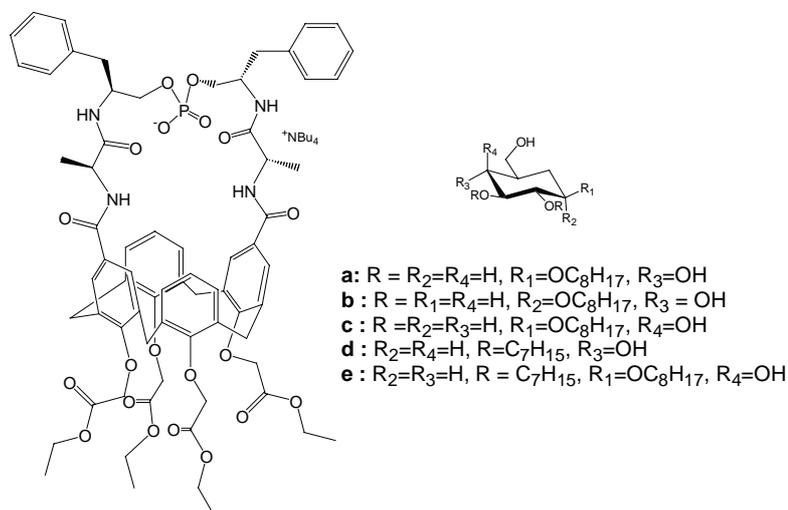


Figure 6.17 : *Calix[4]arène antennisé par des unités peptidiques et ses hôtes²⁷.*

On trouve également des possibilités de complexation de substrats inorganiques par des peptidocalixarènes. Molard et al.²⁸, en 1999, ont réalisé la synthèse d'un calix[4]arène porteurs de groupements glycyloxy (a,b) ou histidyle (c,d) sur la partie basse (figure 6.16). En particulier, les composés (c) et (d) présentent des propriétés de complexation du chlorure de cobalt (II).

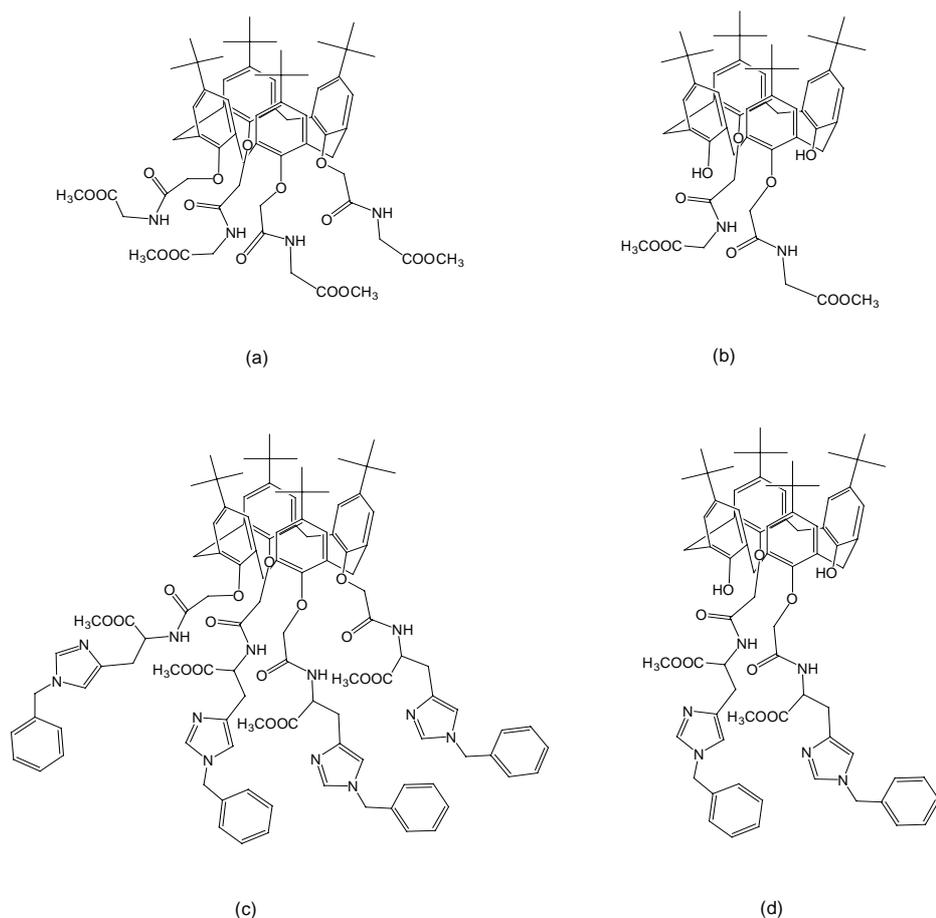


Figure 6.18 : Calix[4]arène porteurs de groupements glycyles (a,b) et histidyles (c,d) sur la partie basse²⁸.

3.2 La catalyse

Parmi une chimiothèque de 120 peptidocalix[4]arènes sur support solide mise au point en 2005 par Brewster et al.²⁹, un calix[4]arène porteur de la séquence peptidique His-Ser-His s'avère être un catalyseur efficace de l'hydrolyse de l'acétate de *p*-nitrophényle.

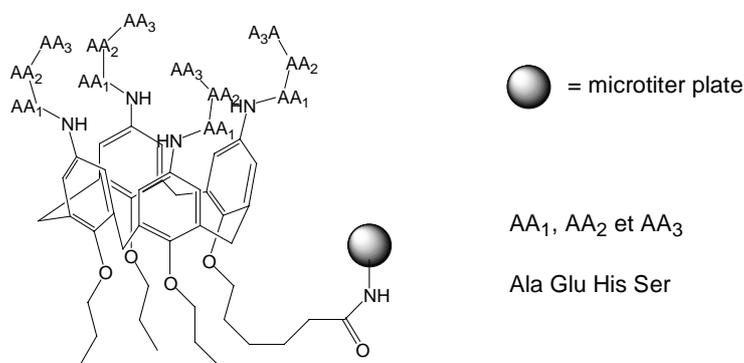


Figure 6.19 : Chimiothèque de peptidocalix[4]arène ancrés sur support solide²⁹.

3.3 Les peptidocalix[4]arène a visée biomédicale

Dès 1997, Hamilton et coll.³⁰ ont préparé un peptidocalix[4]arène mime d'anticorps capable de reconnaître le cytochrome C. Il a été démontré que la présence de ce calix[4]arène diminue *in vitro* la proportion de la réduction par l'ascorbate du complexe Fe^{III}-cytochrome C.

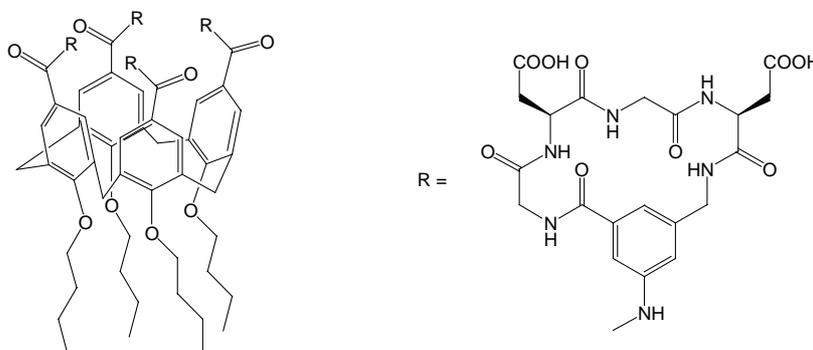


Figure 6.20 : Peptidocalix[4]arène mime d'anticorps³⁰.

Plus récemment, Mayo et coll.³¹ ont mis au point une chimiothèque de calix[4]arènes amphiphiles, mimes de protéines anti-angiogènes. Certains d'entre eux présentent des propriétés inhibitrices de l'angiogenèse et de la croissance de cellules tumorales (MA 148 et B16) *in vitro*.

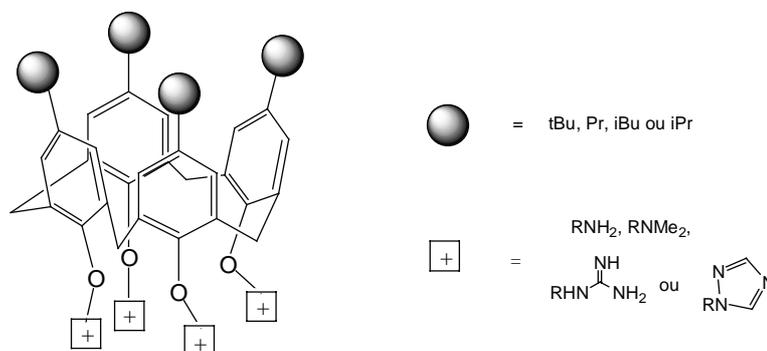


Figure 6.21 : Chimiothèque de calix[4]arènes amphiphiles, mimes de protéines antiangiogènes³¹.

3.4 Calixarène et tripeptide RGD

Au moment des premières approches de réalisation de ces greffages sur calix[4]arène, aucune publication ne faisait état du tripeptide RGD greffé sur des macrocycles (calixarène, cyclodextrine, cryptate, éther-couronne, porphyrine).

Récemment, au GEVSM, ont été développés des structures de type tétraphénylporphyrine et tétraphénylchlorine, antennisées par le tripeptide RGD³². Ces dernières présentent des propriétés photophysiques intéressantes, potentiellement applicables dans le domaine de la thérapie photodynamique (PDT) anti-cancéreuse (figure 6.22). Ce travail constitue le prolongement des résultats décrits dans le chapitre 5. Il s'agit du greffage sur une entité macrocyclique du composé 45, obtenu par synthèse convergente en solution.

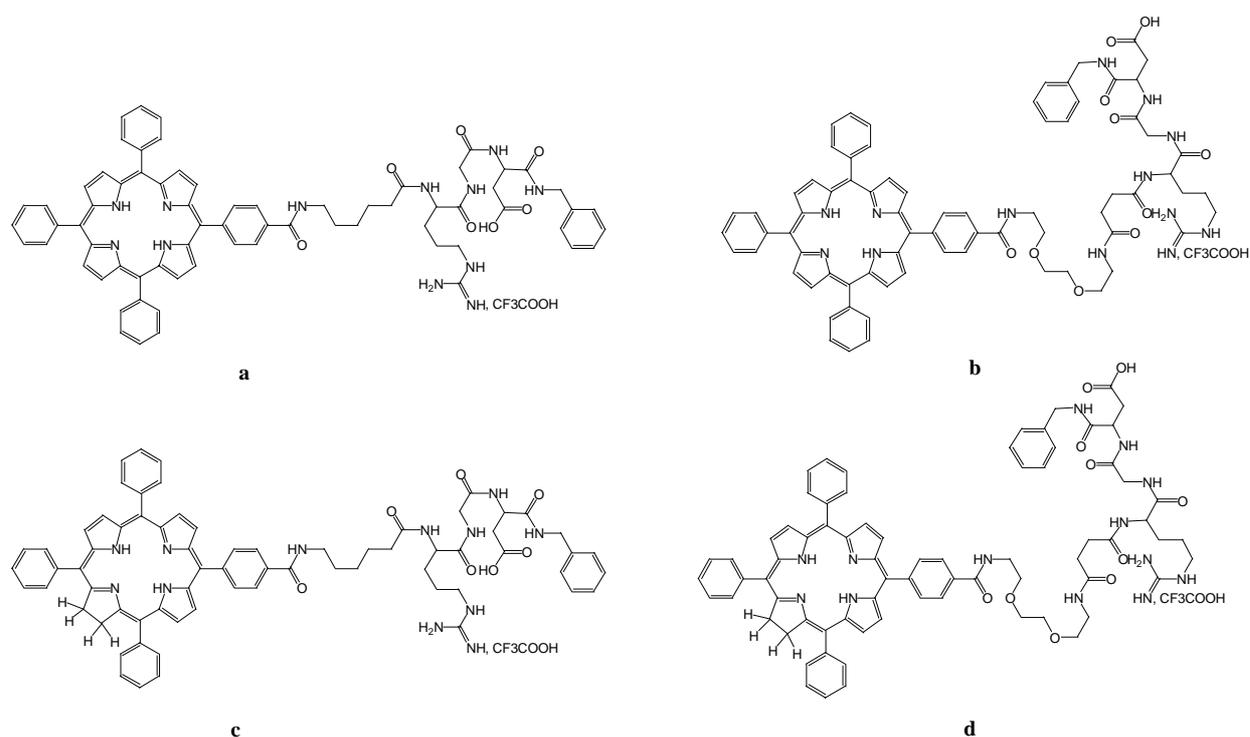


Figure 6.22 : *Tripeptide RGD greffé sur une unité tétraphénylporphyrine (a,b) et tripeptide greffé sur une unité tétraphénylchlorine (c,d)*³².

Les couplages ont été effectués en solution selon des méthodes de couplages identiques à celles développées pour le calix[4]arène, en utilisant des espaceurs de natures différentes (figure 6.23). Notons qu'une méthode de synthèse de ces mêmes entités, sur support solide, a été également développée³².

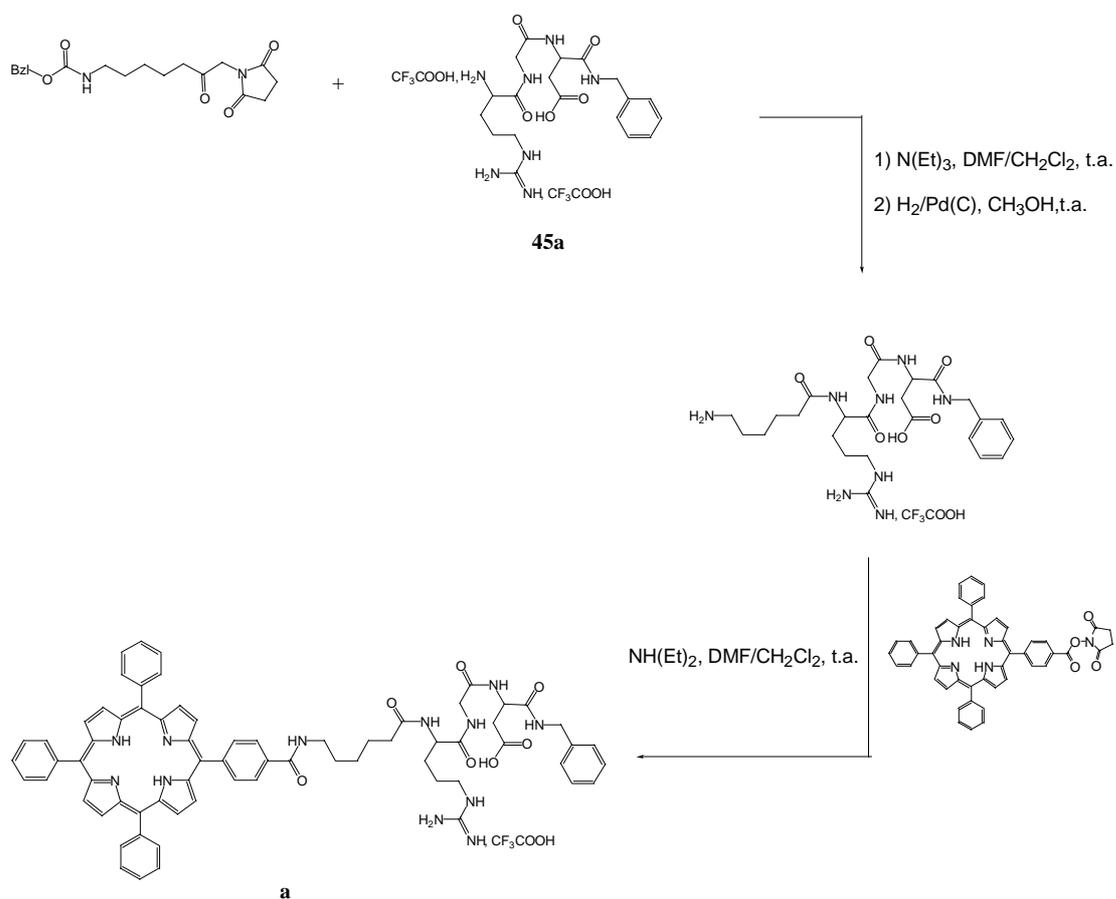


Figure 6.23 : Exemple de schéma synthétique utilisé dans la préparation du composé **a**.

4. Greffage du RGD sur la partie haute ou basse d'un calix[4]arène

4.1 Stratégie de synthèse

Disposant des calix[4]arènes acides **D** et **15** (figure 6.24), nous souhaitons incorporer par couplage peptidique le composé **45**, c'est-à-dire le tripeptide RGD libre sur la partie N-terminale et pseudo-peptidisé sur la partie C-terminale.

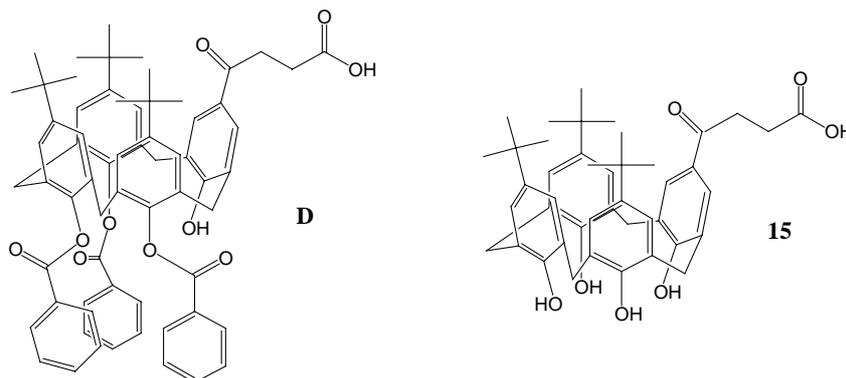


Figure 6.24 : calix[4]arène **D** et calix[4]arène **15**

Notre stratégie consiste à préparer les esters activés des calix[4]arènes cités plus haut et s'assurer également de leur stabilité et leur possibilité de stockage. Nous disposerons d'esters activés polyvalents, aptes à recevoir éventuellement d'autres motifs peptidiques, dont le motif GD, disponible en quantité suffisante au laboratoire.

Nous avons souhaité travailler sur un calix[4]arène protégé par des groupements benzoates ou non sur les fonctions alcools. Il s'agira de s'assurer que les fonctions alcools interfèrent ou non sur la formation de l'ester activé correspondant. Nous nous assurerons également de la conservation de la conformation cône des structures obtenues.

4.2 Préparation d'esters activés des calix[4]arènes **D** et **15**

4.2.1 Préparation de l'ester activé du calix[4]arène **D**(tribenzoate)

En présence de DCC, la N-hydroxysuccinimide se condense sur la fonction acide du calix[4]arène **D**. L'isolement du composé **47** nécessite une étape de purification par chromatographie rapide sur silice. Le composé **47** s'obtient avec un rendement de 65 %.

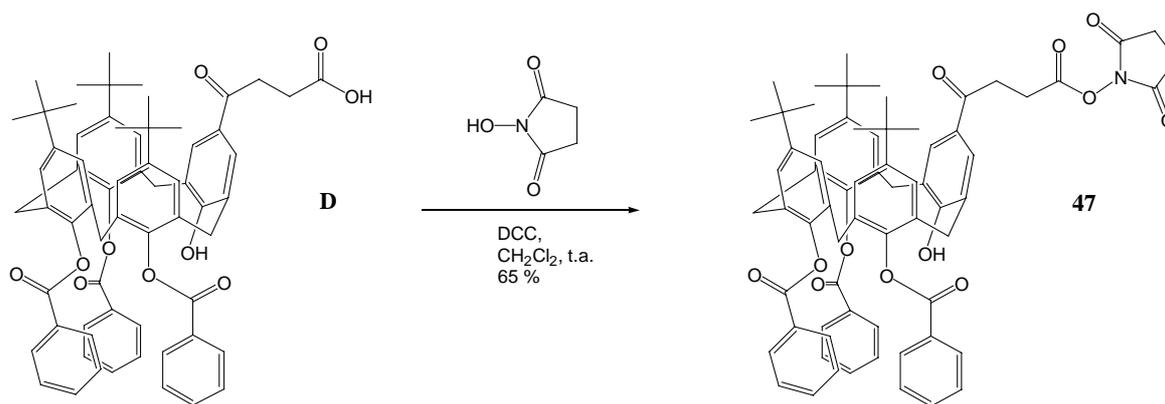


Figure 6.25 : Préparation de l'ester activé **47** en présence de DCC et de N-hydroxysuccinimide.

Bien que l'on suppose une dégradation du produit sur la colonne de silice, nous avons constaté la stabilité de cet ester en solution dans l'acétone vis-à-vis de l'eau ajoutée dans le milieu. Le produit est stable et se conserve aisément à une température de -5°C .

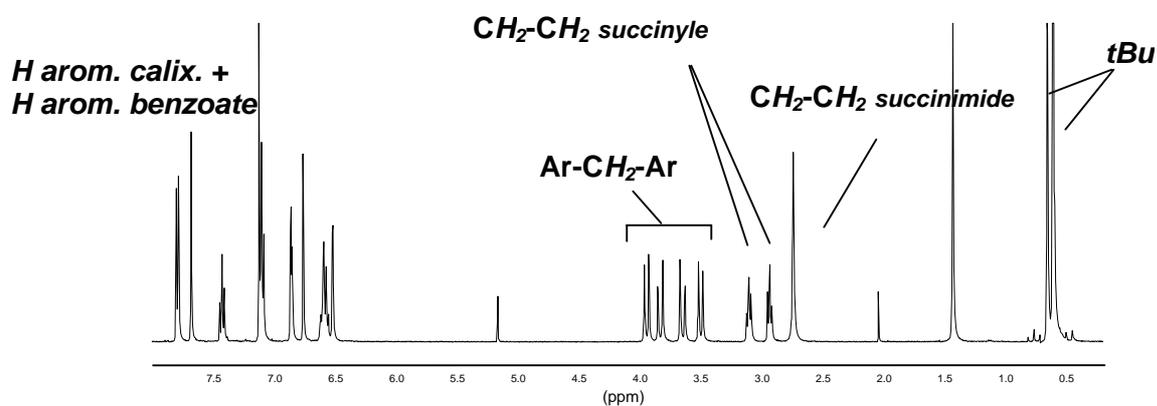


Figure 6.26 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **47**.

Sur l'analyse RMN ^1H (figure 6.26), on remarque :

- La présence d'un singulet caractéristique des protons CH_2 succinimide (ca 2,7 ppm), intégrant pour 4 protons et confirmant ainsi l'obtention du composé **47** attendu.
- Les deux systèmes triplés attribués aux protons $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinyles.
- La présence des multiplets caractéristiques de la résonance des protons aromatiques des groupements benzoates, ce qui prouve la stabilité de ces derniers vis-à-vis de la réaction de couplage avec la N-hydroxysuccinimide.

On remarque également sur l'analyse RMN ^1H (figure 6.27) que dans la région 3,5-4,1 ppm, l'analyse RMN ^1H nous confirme la présence de deux systèmes AB, caractéristiques de la conservation de la conformation cône³³ pour le composé **47**. Notons que son précurseur, le calix[4]arène **D** adopte une conformation cône partiel. Cette modification est due très probablement à l'apport du groupement succinimide, qui « verrouille » la forme conique du calixarène par encombrement stérique.

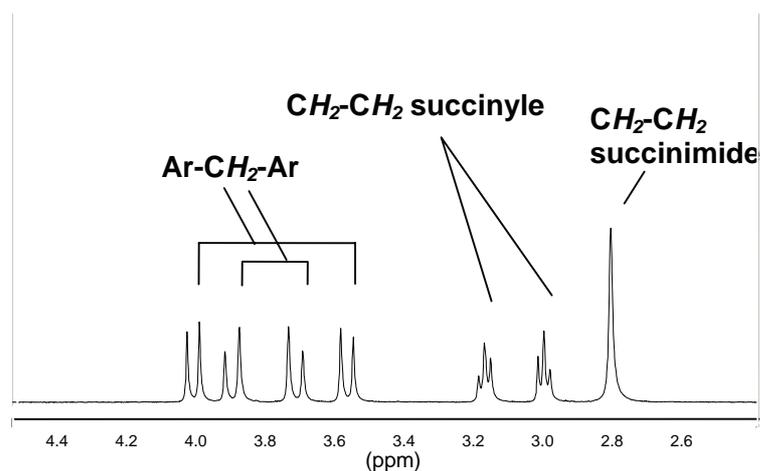


Figure 6.27: Spectre partiel RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **47**.

4.2.2 Préparation de l'ester activé du calix[4]arène tétrol **48**

Nous appliquons la même méthode que précédemment sur le calix[4]arène **15** tétrol. En présence de DCC et N-hydroxysuccinimide, nous obtenons l'ester activé **48**. Nous remarquons ainsi que les fonctions alcool sur la partie basse ne gêne en rien la condensation de la N-hydroxysuccinimide sur la fonction acide du calix[4]arène **15**. Nous isolons l'ester activé **48** après une colonne rapide de silice, une dégradation de ce produit étant très certainement possible. Le rendement de la réaction est de 74 %.

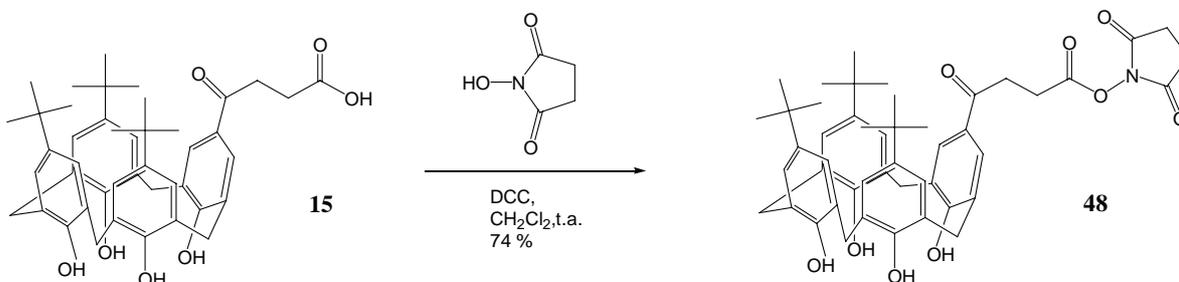


Figure 6.28 : Préparation de l'ester activé **48** en présence de DCC et de N-hydroxysuccinimide.

Le composé **48** présente également une bonne stabilité dans le temps, son stockage à basse température ne pose aucun problème. L'analyse RMN ^1H nous confirme la structure du produit attendu. En effet, on y remarque :

- La présence d'un singulet caractéristique des protons CH_2 succinimide (ca 2,8 ppm), intégrant pour 4 protons et confirmant ainsi l'obtention du composé **48** attendu.
- Le singulet large (ca 10.2 ppm) intégrant pour 4 protons, qui confirme que les phénols calixaréniques ne sont pas affectés par la réaction de couplage avec la N-hydroxysuccinimide.

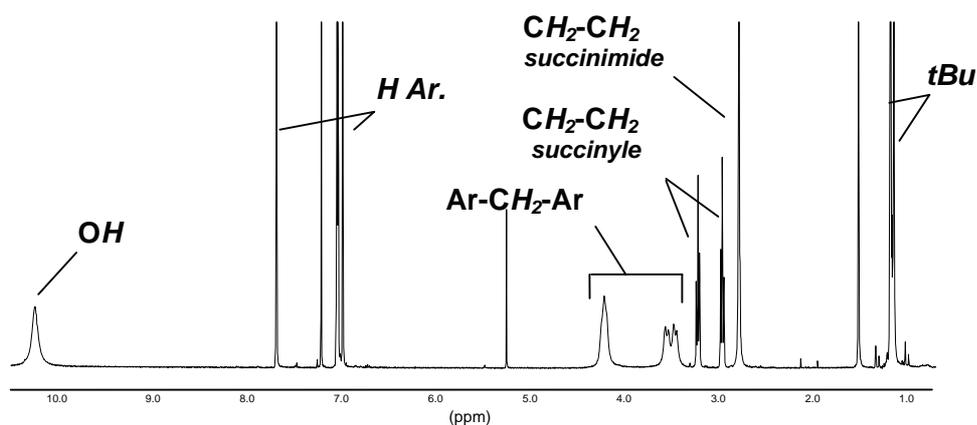


Figure 6.29 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **48**.

Dans la région 3,5-4,3 ppm l'analyse RMN ^1H (figure 6.30) nous confirme la présence de deux systèmes AB caractéristiques de la conservation de la conformation cône³¹ pour le composé **48**. En comparaison avec le composé tribenzoate **47**, on observe une fluxionalité de la structure du composé **48** (pics coalescents). Ce phénomène peut s'expliquer par l'absence des groupements benzoates qui stabilisent la conformation de l'analogue **47**.

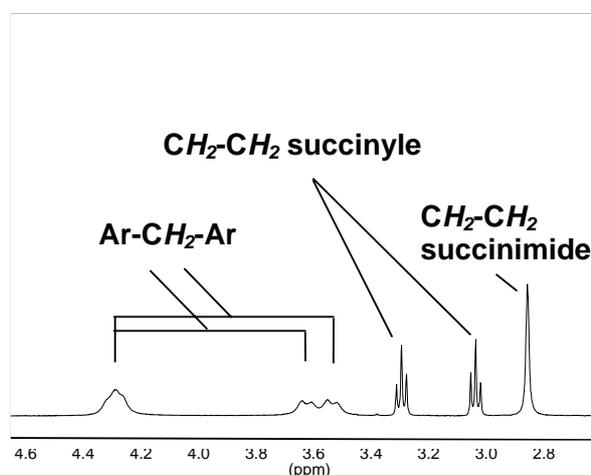


Figure 6.30 : Spectre partiel RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **48**.

4.3 Couplages peptidiques avec un dipeptide GD

Avant d'entamer directement l'étude du greffage du tripeptide RGD, nous souhaitons tester la réactivité de nos deux esters activés **47** et **48** vis-à-vis d'un dipeptide GD disponible en grande quantité, sans risque d'engager prématurément le tripeptide RGD.

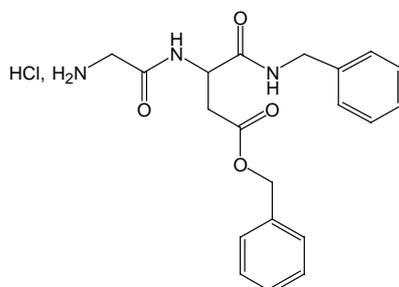


Figure 6.31 : Dipeptide GD ou (HCl)H-Gly-Asp(OBzl)-NHCH₂Ph.

4.3.1 Couplage entre l'ester activé **47** et le motif dipeptidique GD

La mise en contact de l'ester activé **47** et le dipeptide GD nécessite l'utilisation d'une base, la triéthylamine pour libérer la fonction amine. Nous obtenons le composé **49**, isolable par chromatographie sur colonne de silice sans dégradation, en raison de la lipophilie apportée par le calix[4]arène.

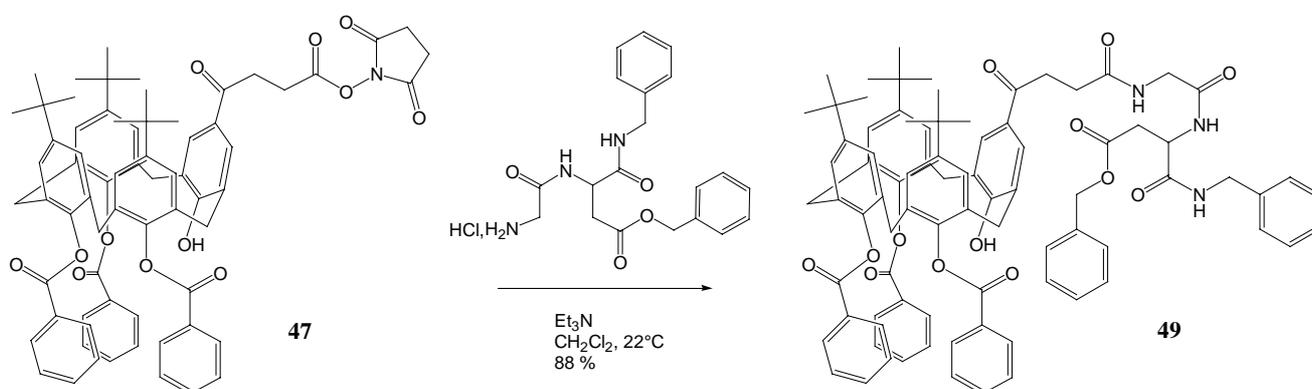


Figure 6.32 : Réaction de couplage entre l'ester activé **47** et le dipeptide GD.

Notons que des bases organiques de type imidazole, pyridine, butylimidazole et méthylimidazole permettent le clivage sélectif des groupements benzoates³⁴. En utilisant la triéthylamine, aucun problème de stabilité de ces derniers ne fut rencontré.

Les signaux de résonance (déplacement chimique, multiplicité, intégration) attendus sur le spectre RMN ^1H du composé **49** nous confirment que le greffage s'est bien effectué.

**H arom. calix. +
H arom. benzoates + H arom.
benzyles**

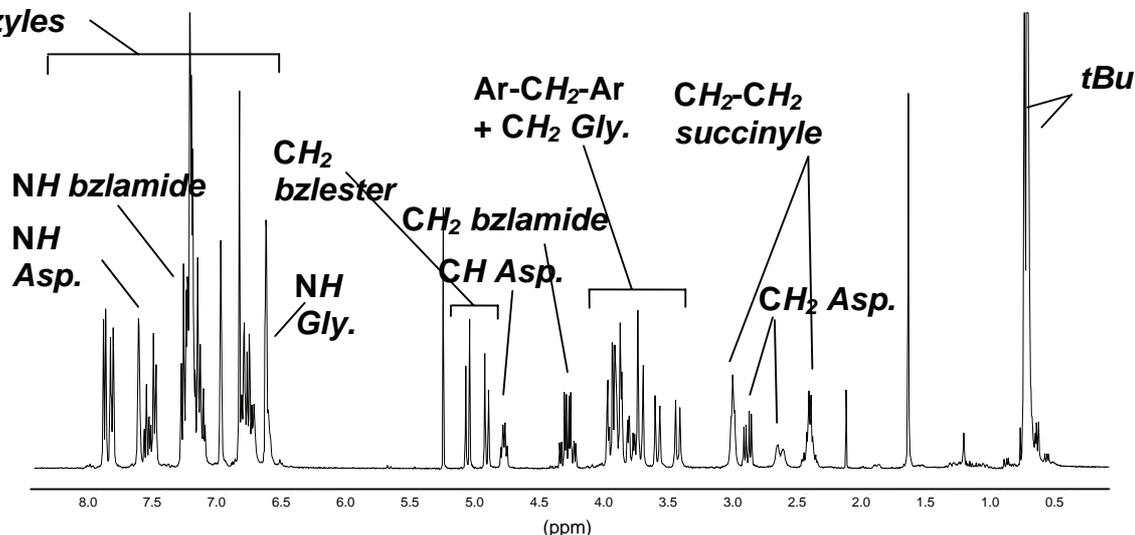


Figure 6.33 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **49**.

On remarque à l'issue de l'analyse RMN ^1H du composé **49** la présence d'un système ABX relatif à la résonance des protons CH_2 benzylamide. En particulier, la disparition du singulet caractéristique des protons $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinimides (ca 2,8 ppm) du composé **47** (figure 6.34) et le rapport d'intégration calix[4]arène/GD (figure 6.35) confirment l'incorporation quantitative du dipeptide GD sur le bras d'ancrage acide du calix[4]arène.

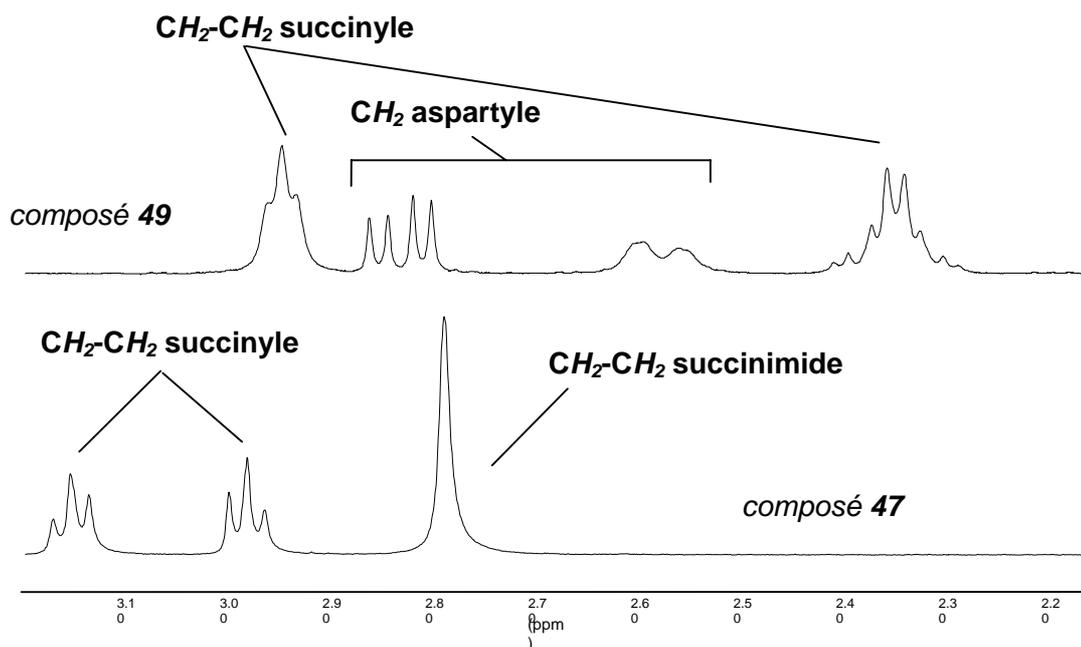


Figure 6.34 : Spectres RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) partiels des composés **47** et **49**.

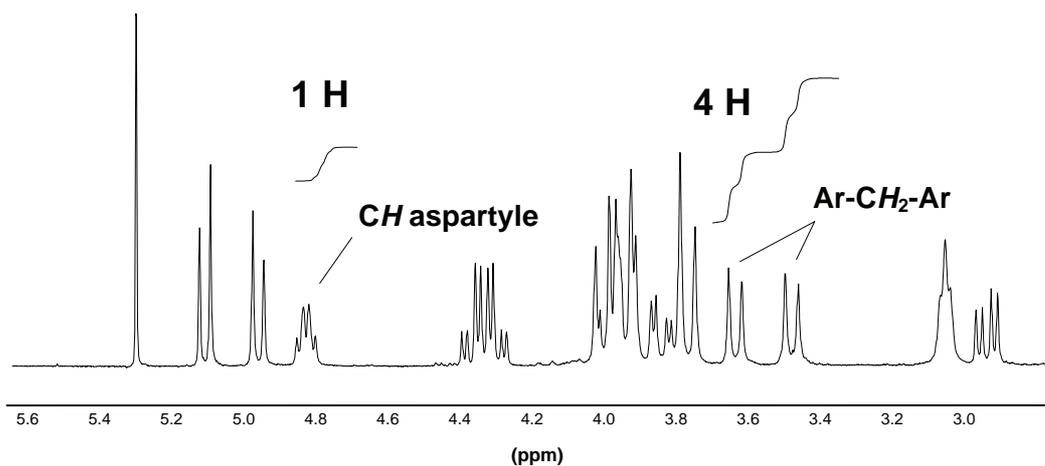


Figure 6.35 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) partiel du composé **49**.

L'analyse par RMN ^1H COSY du composé **49**, nous a permis d'attribuer l'ensemble des signaux de résonance. Sur la figure 6.36, dans la région 3,4-4,2 ppm, l'analyse spectroscopique RMN ^1H COSY nous confirme la présence de deux systèmes AB caractéristiques de la conservation de la conformation cône³³ pour le composé **49**.

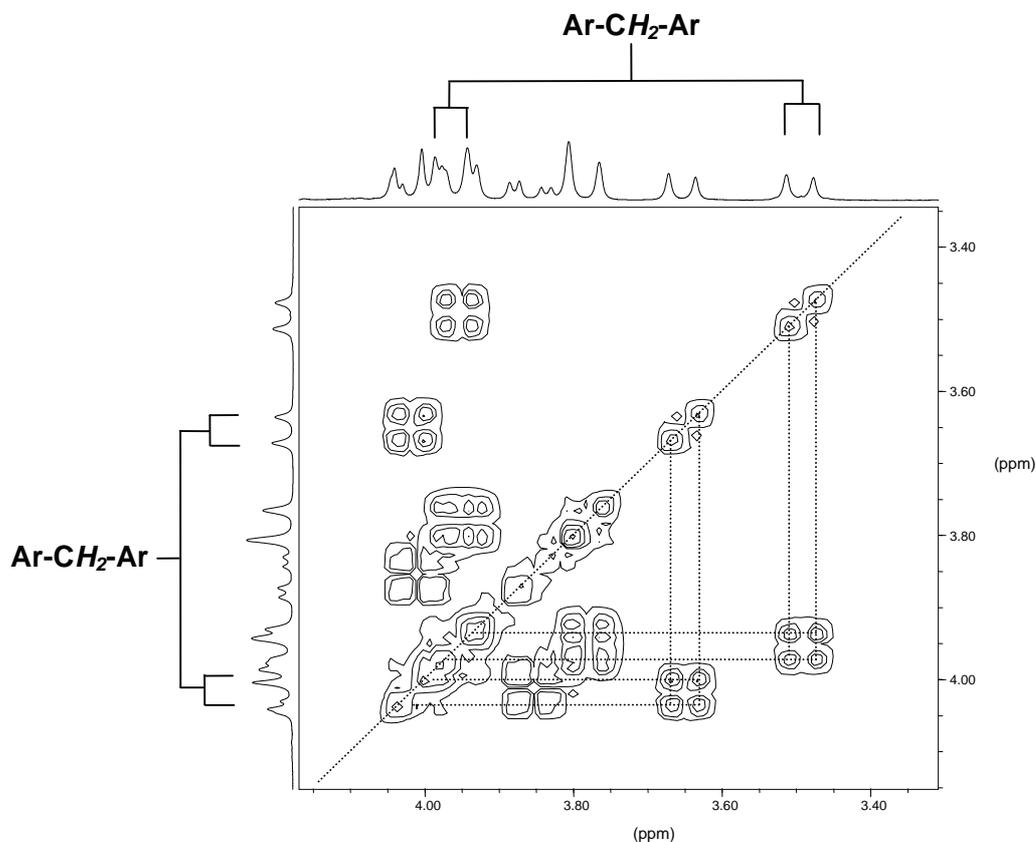


Figure 6.36 : Spectre RMN ^1H COSY partiel (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **49**.

Les corrélations fines sur l'analyse RMN ^1H COSY confirment l'incorporation du bras dipeptidique GD sur le calix[4]arène (figure 6.37). En particulier, on remarque l'existence d'une corrélation fine entre les protons CH_2 succinyles et $\text{Ar-CH}_2\text{-Ar}$ et le proton NH glycyle.

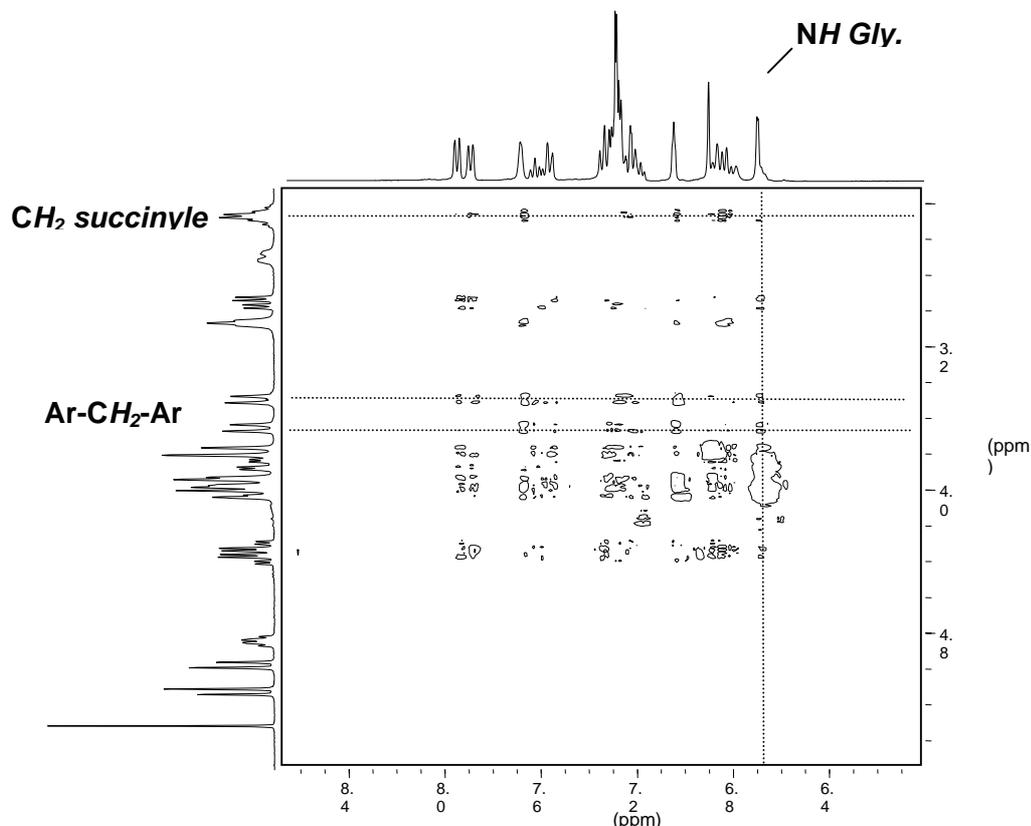


Figure 6.37 : Spectre RMN ^1H COSY partiel (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé 49.

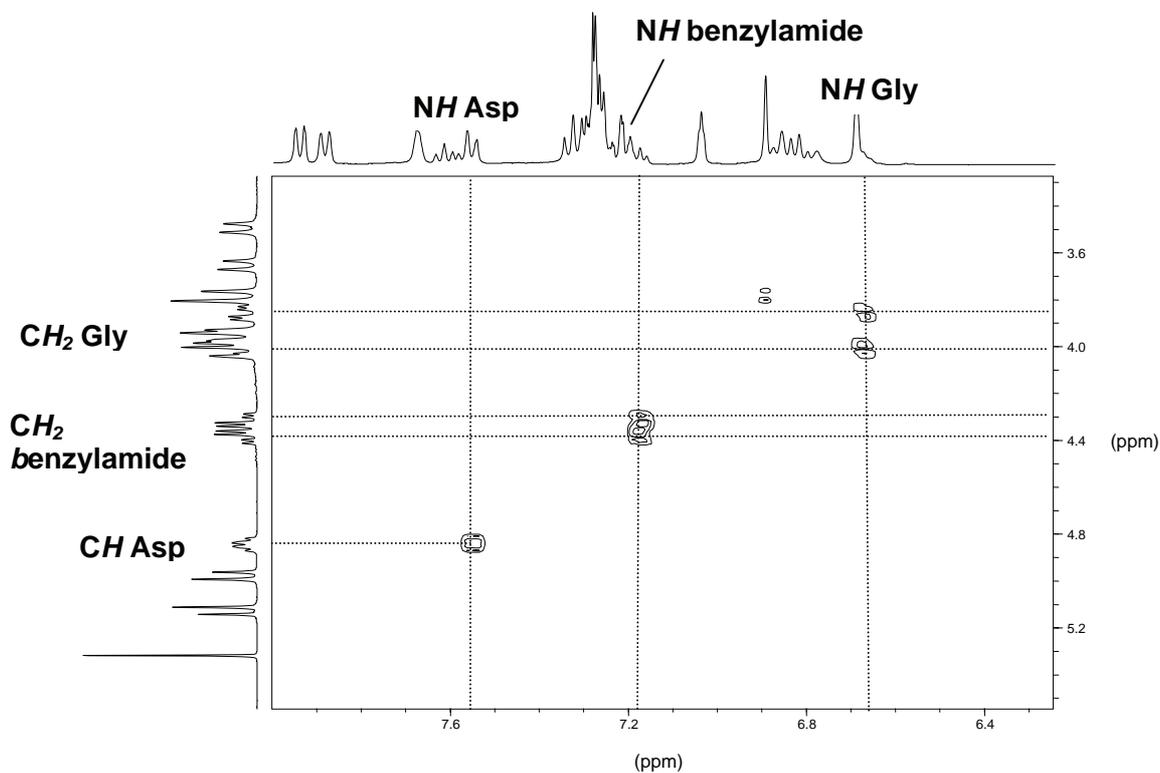


Figure 6.38 : Spectre RMN ^1H COSY partiel (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé 49

Sur cette même analyse RMN ^1H COSY sont représentées les corrélations attendues au sein des groupes NH-CHR de chaque aminoacide, permettant ainsi de clarifier la partie aromatique du spectre du composé **49** (figure 6.38).

4.3.2 Couplage entre l'ester activé **48** et le motif dipeptidique GD

Dans les mêmes conditions que pour le composé **49**, le couplage entre l'ester activé **48** et le dipeptide GD , nous conduit au composé **50**. Ce dernier est chromatographiable sur colonne de silice, ici encore grâce à la lipophilie apportée par le calix[4]arène tétrol. En outre, les fonctions alcools du calix[4]arène ne gênent en rien à la réaction de couplage.

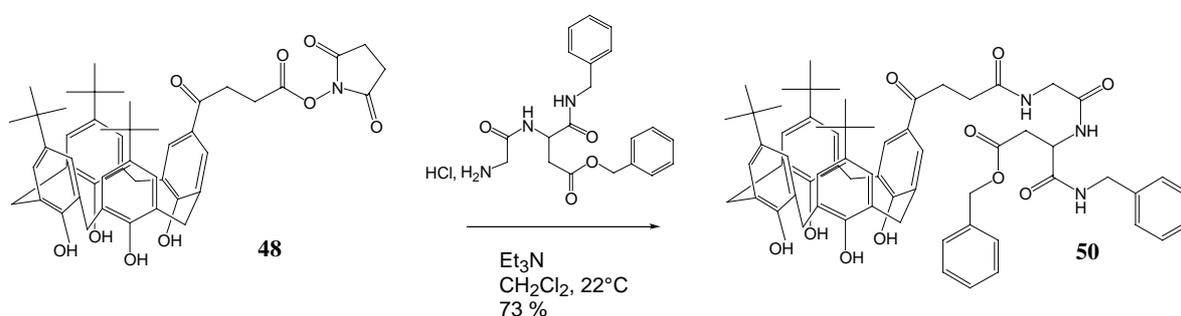


Figure 6.39 : Réaction de couplage entre l'ester activé **48** et le dipeptide GD .

Les signaux de résonance (déplacement chimique, multiplicité, intégration) attendus sur le spectre RMN ^1H du composé **50** nous confirment que le greffage s'est bien effectué (figure 6.40).

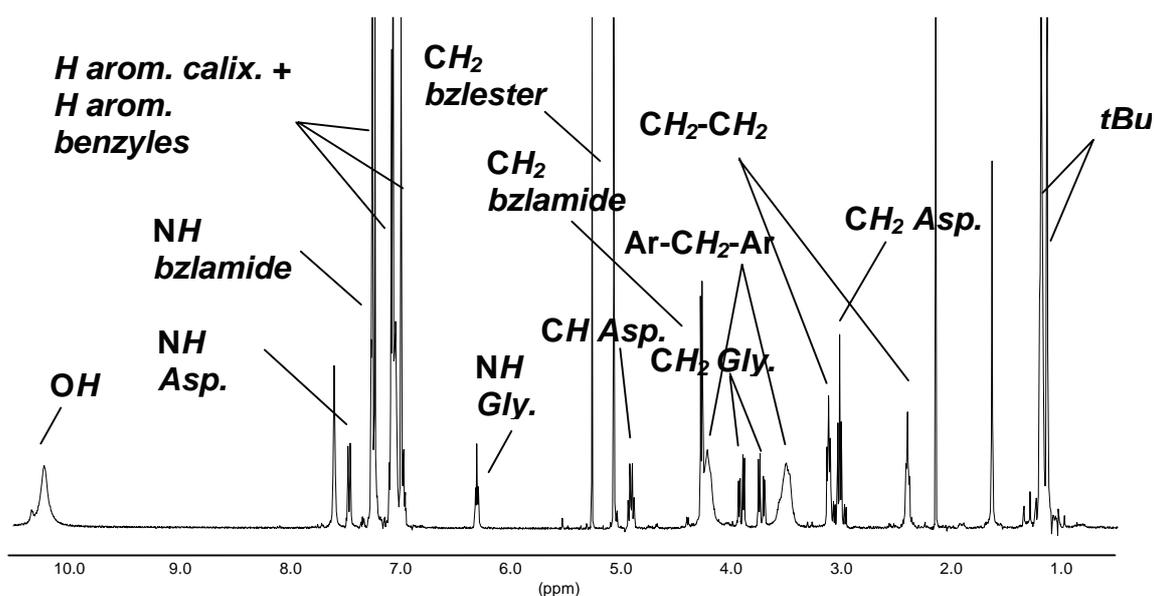


Figure 6.40 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **50**.

On remarque sur l'analyse RMN ^1H du composé **50** :

- La présence de deux systèmes ABX relatifs à la résonance, d'une part des protons CH_2 aspartyles, et d'autre part des protons CH_2 glycyloxy.
- Les quatre fonctions alcools ne sont pas affectées par la réaction de greffage épididique.

En particulier, la disparition du singulet caractéristique des protons $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinimides (*ca* 2,8 ppm) du composé **48** (figure 6.41) et le rapport d'intégration calix[4]arène/GD (figure 6.42) confirment l'incorporation quantitative du dipeptide GD sur le bras d'ancrage acide du calix[4]arène.

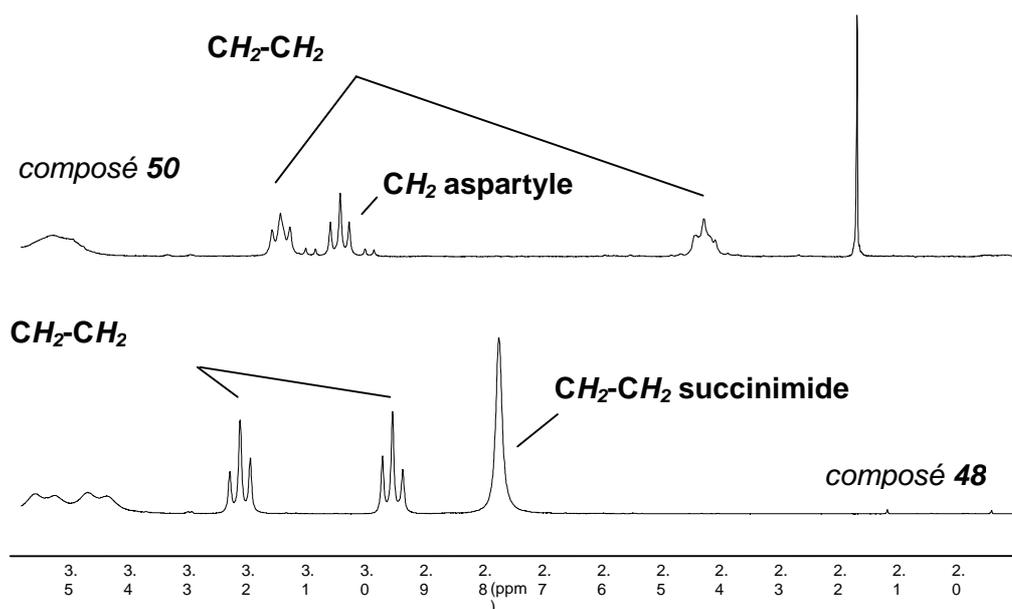


Figure 6.41 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, *t.a.*) partiels des composés **48** et **50**.

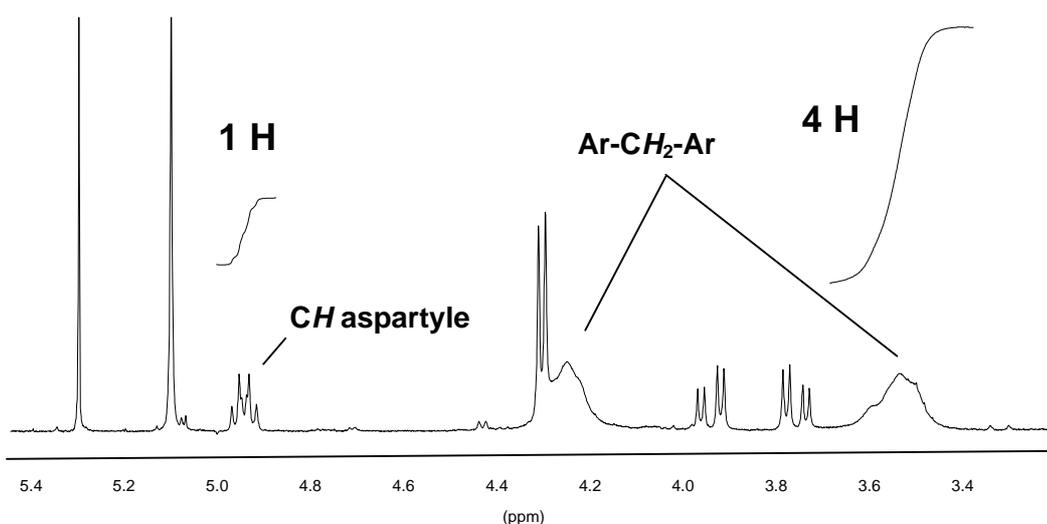


Figure 6.42 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, *t.a.*) partiel du composé **50**.

Dans la région 3,4-4,4 ppm l'analyse spectroscopique RMN ^1H COSY (figure 6.43) nous confirme la présence de deux systèmes AB confondus caractéristiques de la conservation

de la conformation cône³³ pour le composé **50**. En comparaison de l'ester activé **48**, on y observe la même fluxionalité de la structure (pics coalescents). Ce phénomène peut une nouvelle fois s'expliquer par l'absence des groupements benzoates qui stabilisent la conformation de l'analogue **49**.

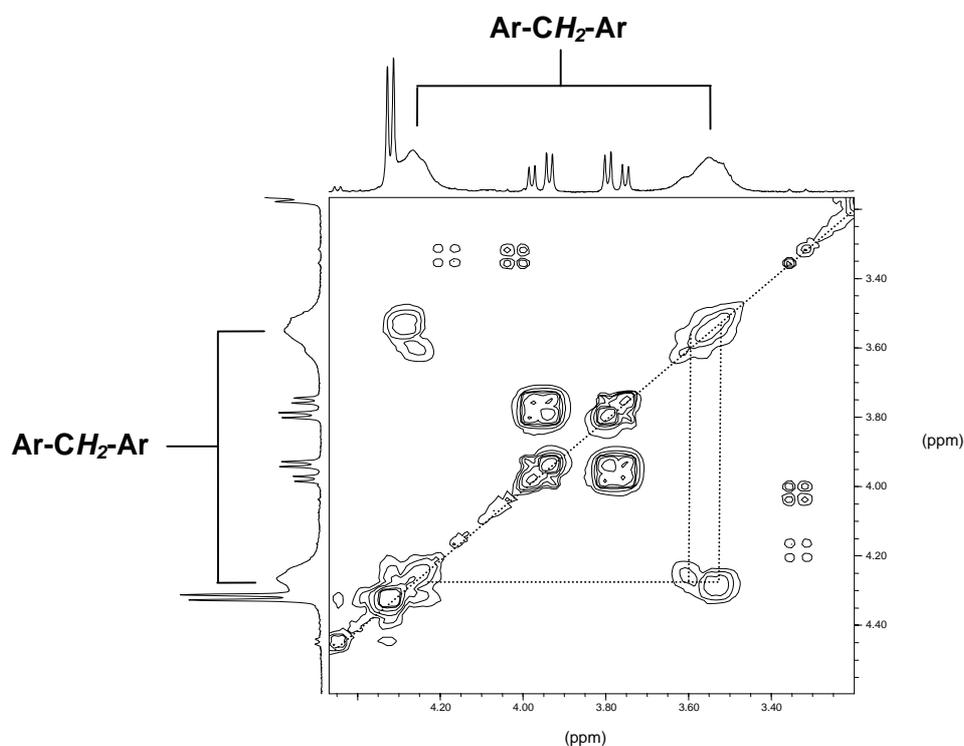


Figure 6.43 : Spectre partiel RMN ¹H COSY (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **50**.

Les corrélations fines sur l'analyse RMN ¹H COSY (figure 6.41) confirment l'incorporation du bras dipeptidique GD sur le calix[4]arène **49**. En particulier, on observe l'existence de corrélations fines entre :

- les protons CH_2 succinyles et le proton NH glycyle.
- les protons CH_2 succinyles et le proton NH benzamide.

Sur cette même analyse RMN ¹H COSY sont représentées les corrélations attendues au sein des groupes NH-CHR de chaque aminoacide, permettant ainsi de clarifier la partie aromatique du spectre du composé **50** (figure 6.41).

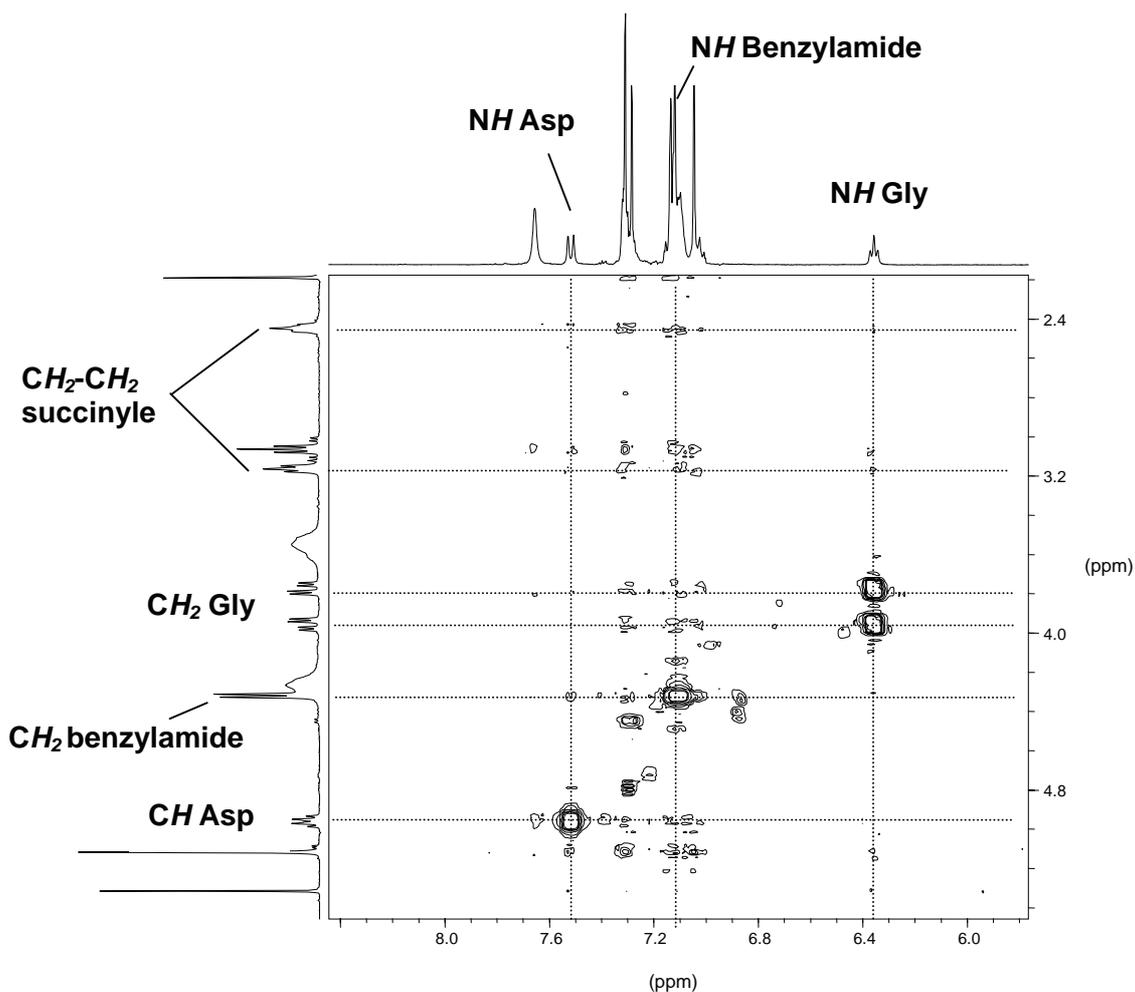


Figure 6.44 : Spectre partiel RMN ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz, t.a.) du composé **50**.

4.3.3. Bilan sur le greffage du dipeptide GD

En premier lieu, nous disposons d'esters activés du calix[4]arène tribenzoate **47** et tétrol **48**, relativement stables, sur lesquels le greffage de motifs peptidiques est réalisable. Il est également intéressant de disposer de composés chromatographiables et peu sensibles à cette opération, ce qui nous garantit une purification plus confortable que pour les peptides isolés.

Nous appliquons à présent ces méthodes au couplage des calix[4]arènes **47** et **48** avec le RGD.

4.4 Couplages peptidiques avec le tripeptide RGD libre sur la partie N-terminale

4.4.1 Couplage entre l'ester activé **47** et le motif tripeptidique RGD

Le principe est identique au travail mené avec le dipeptide GD. Le couplage entre le composé **47** et le composé **45**, après avoir libéré l'amine, conduit au composé **51**, isolable sans étape de chromatographie, avec un rendement de 62 %. On peut remarquer la présence dans ce cas de DMF, nécessaire à la solubilisation du composé **45** dans le milieu réactionnel.

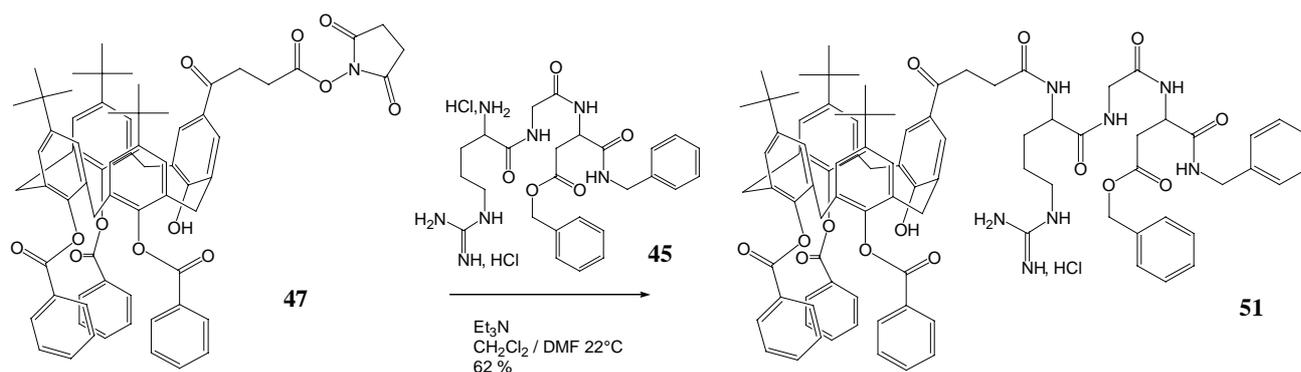


Figure 6.45 : Réaction de couplage entre l'ester activé **47** et le tripeptide **45**.

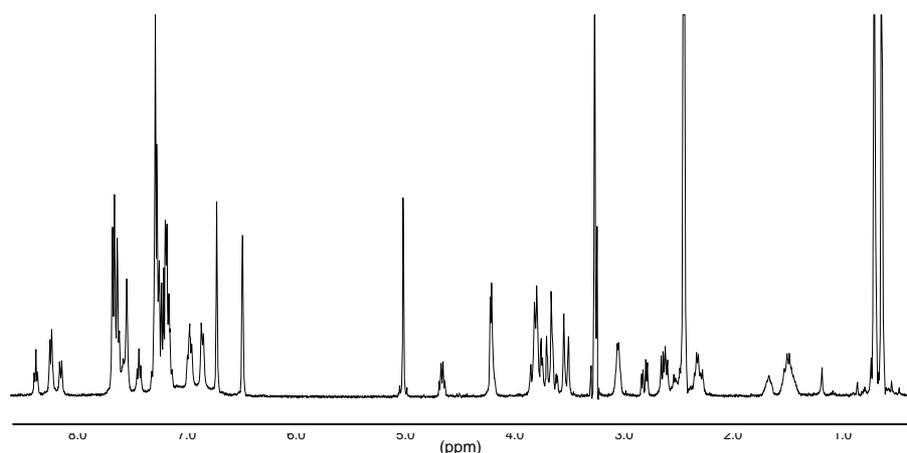


Figure 6.46 : Spectre RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) du composé **51**.

Les signaux de résonance (déplacement chimique, multiplicité, intégration) attendus sur le spectre RMN ^1H du composé **51** nous confirment que le greffage s'est bien effectué (figure 6.46). Sur cette analyse RMN ^1H , on y remarque en particulier que les systèmes ABX, habituellement rencontrés pour des analyses en solution dans le chloroforme, n'apparaissent plus de façon aussi évidente dans le DMSO- d_6 . En particulier, la disparition du singulet caractéristique des protons $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinimides (ca 2.8 ppm) du composé **47** (figure 6.47) et le rapport d'intégration calix[4]arène/RGD (figure 6.48) confirment l'incorporation quantitative du tripeptide RGD sur le bras d'ancrage acide du calix[4]arène.

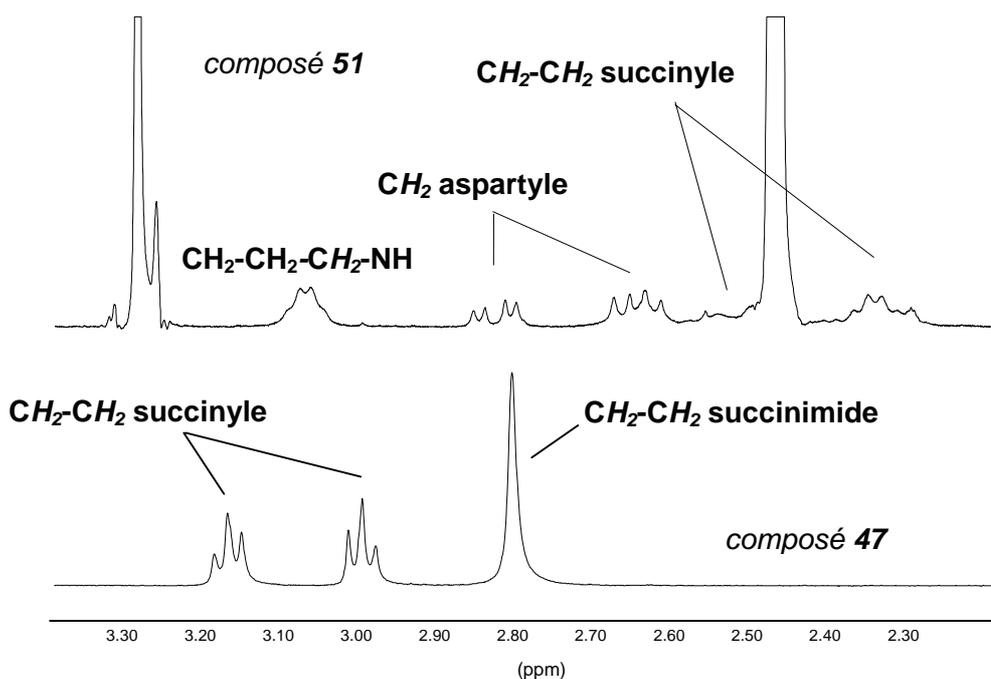


Figure 6.47 : Spectres RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) partiels des composés 47 et 51.

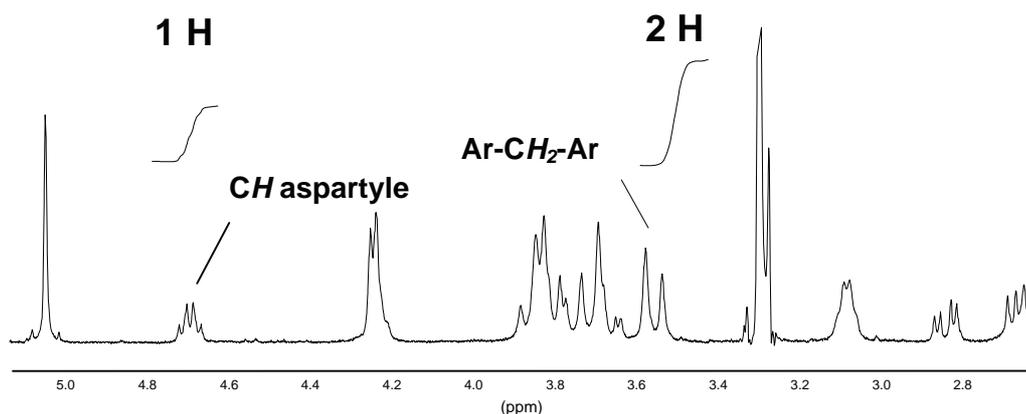


Figure 6.48 : Spectre RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) partiel du composé 51.

L'analyse par RMN ^1H COSY du composé **51** nous a permis d'attribuer l'ensemble des signaux de résonance. Sur la figure 6.46, dans la région 3,5-3,9 ppm, l'analyse spectroscopique RMN ^1H COSY nous confirme la présence de deux systèmes AB caractéristiques de la conservation de la conformation cône³³ pour le composé **51**.

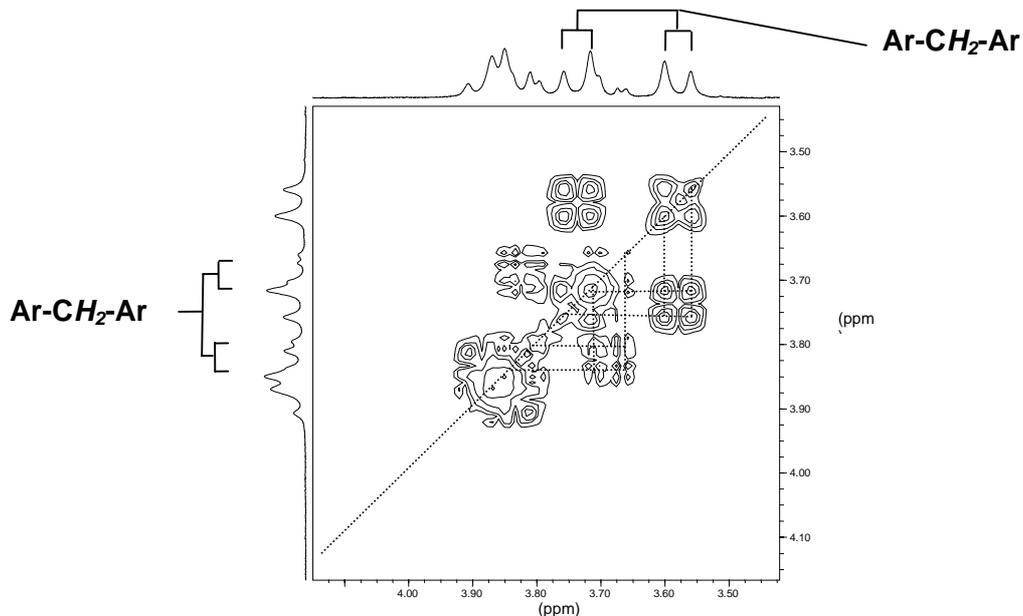


Figure 6.49 : Spectre RMN ^1H COSY (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) partiel du composé **51**.

Les corrélations très fines en analyse RMN ^1H COSY (figure 6.50) confirment l'incorporation du bras dipeptidique RGD sur le calix[4]arène **51**. En particulier, on observe l'existence de corrélations fines entre : les protons CH_2 succinyles et le proton NH-CHR arginyle ; les protons CH_2 succinyles et le proton NH glycyle ; les protons CH_2 succinyles et le proton NH benzamide.

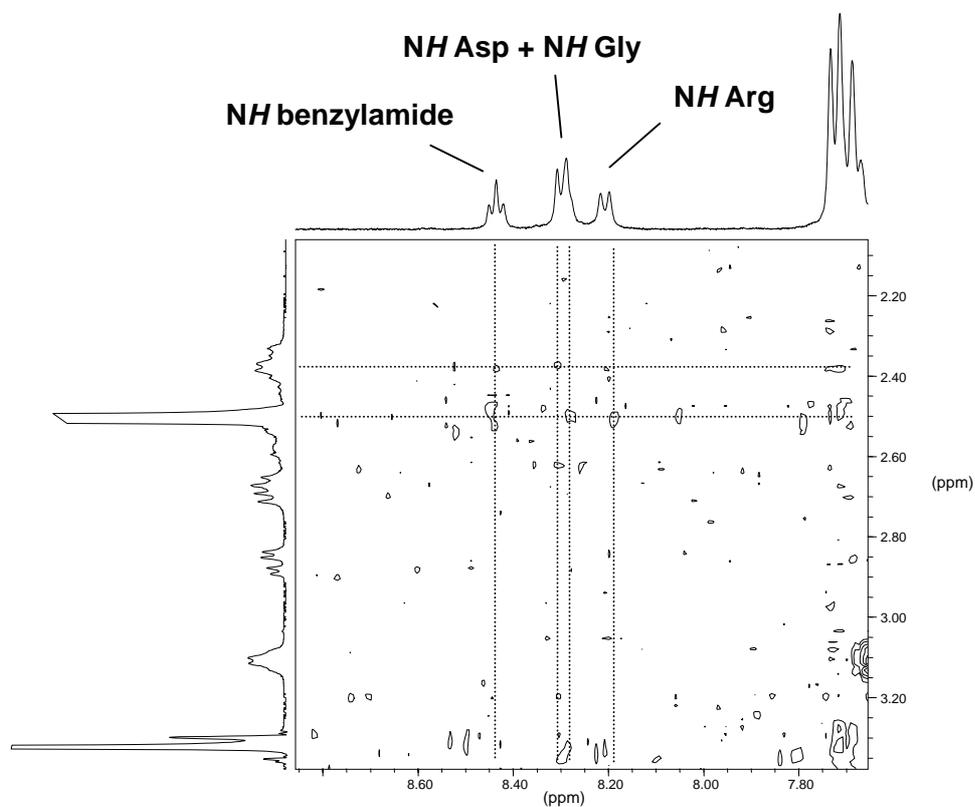


Figure 6.50 : Spectre RMN ^1H COSY (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) partiel du composé **51**

Sur cette même analyse RMN ^1H COSY sont représentées les corrélations attendues au sein des groupes NH-CHR de chaque aminoacide, permettant ainsi de clarifier la partie aromatique du spectre du composé **51** (figure 6.48).

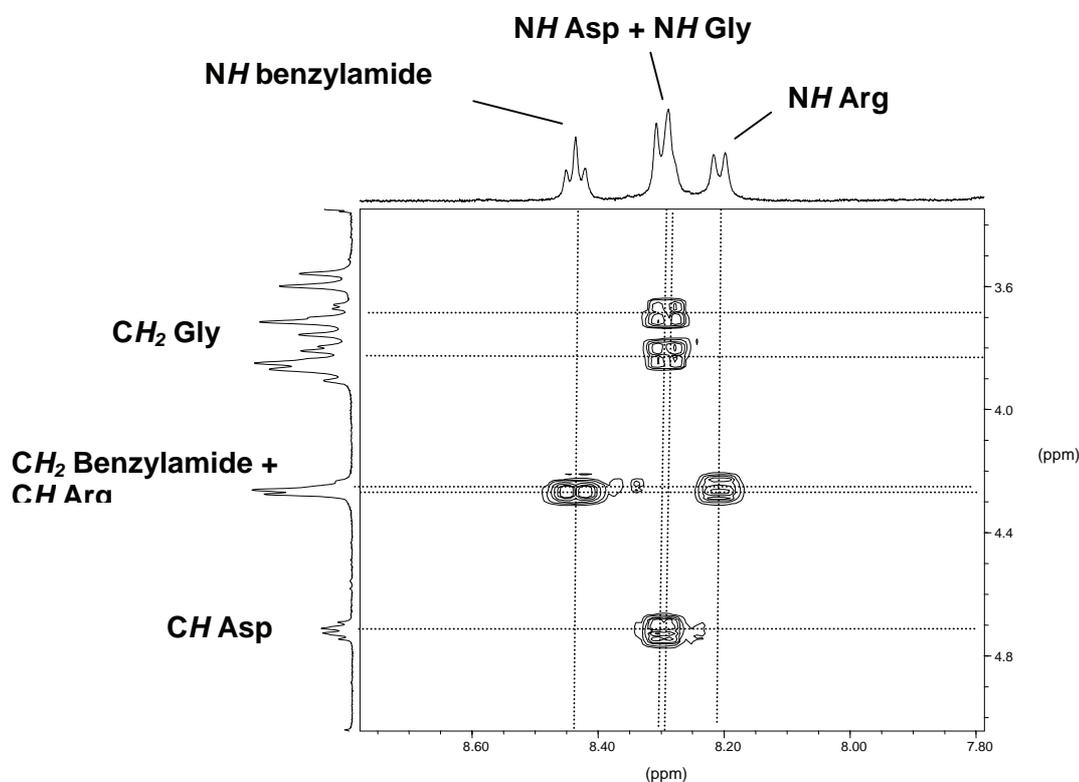


Figure 6.51 : Spectre RMN ^1H COSY (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) partiel du composé **51**.

4.4.2 Couplage entre l'ester activé **48** et le motif tripeptidique RGD

A l'occasion de la mise au point de la réaction de couplage entre le composé **45** (tripeptide RGD) et le composé **48**, plusieurs méthodes furent employées, variant aussi bien les quantités de base utilisées que le traitement. Ceci a donné naissance aux composés **52a**, **52b**, **52c** (figure 6.52). Nous avons pu constater des différences sur les spectres RMN ^1H dans la région 3,0-4,5 ppm (figure 6.54) pour les produits des couplages, ce qui laisse supposer immédiatement une différence de structures conformationnelles entre les composés **52a**, **52b** et **52c** obtenus dont les résultats sont discutés ci-après.

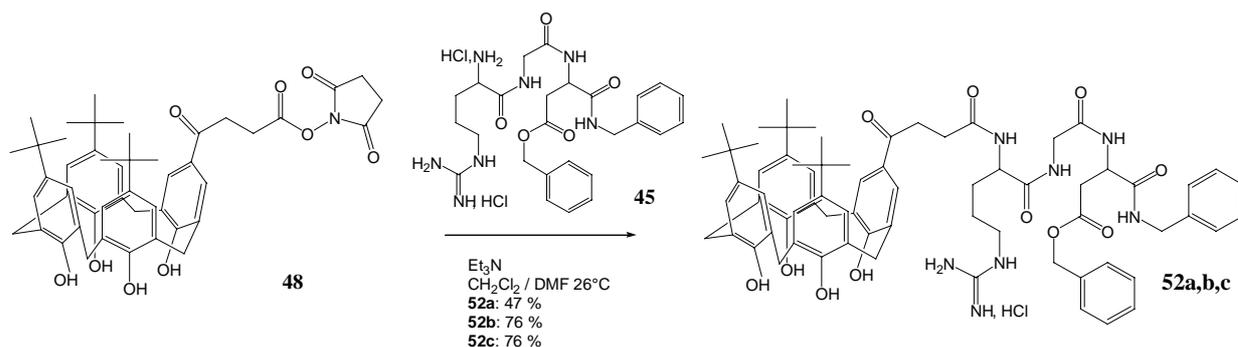


Figure 6.52 : Réaction de couplage entre l'ester activé **48** et le tripeptide **45**.

Une explication peut se trouver dans la différence de modes opératoires utilisés dans les trois cas. Les modes opératoires pour les composés **52a**, **b** et **c** sont consignés dans le tableau ci-dessous.

<i>Composés</i>	<i>Solvants</i>	<i>Base</i>	<i>« Work up »</i>	<i>Conformation</i>
52a	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF } 1:1$	2 équivalents de NEt_3 introduits à t_0		intermédiaire
52b	DMF à t_0 puis ajout à t' du même volume de CH_2Cl_2	1 équivalent de NEt_3 introduit à t_0 puis 1 équivalent ajouté à t'		cône
52c	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF } 1:1$	2 équivalents de NEt_3 introduits à t_0	chromatographie sur colonne de silice	intermédiaire

Figure 6.53 : Modes opératoires utilisés pour la préparation des composés **52a**, **52b** et **52c**.

Concernant ces trois modes opératoires, nos stratégies ont été les suivantes :

- Le tripeptide RGD a été mis directement en contact avec 2 équivalents de triéthylamine pour les composés **52a** et **52c**. Ces deux équivalents correspondent à un excès raisonnable de base, sachant qu'il existe des risques potentiels au niveau de la cyclisation du tripeptide RGD (voir chapitre 5, § 8.1.1). Pour ces deux modes opératoires, le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ s'avère être le plus efficace pour dissoudre à la fois le tripeptide RGD **45** et le calixarène **48**.
- En ce qui concerne le composé **52b**, nous avons constaté que le fait d'introduire un seul équivalent de triéthylamine limitait l'avancement de la réaction. C'est pourquoi

un nouvel équivalent de base fut nécessaire à la disparition des réactifs, ainsi que l'ajout de CH_2Cl_2 , pour reproduire les conditions utilisées pour les composés **52a** et **52c**.

- La série d'analyses en RMN ^1H décrite ci-après va permettre d'émettre des hypothèses vis-à-vis des conséquences sur les conformations des produits de couplage obtenus.

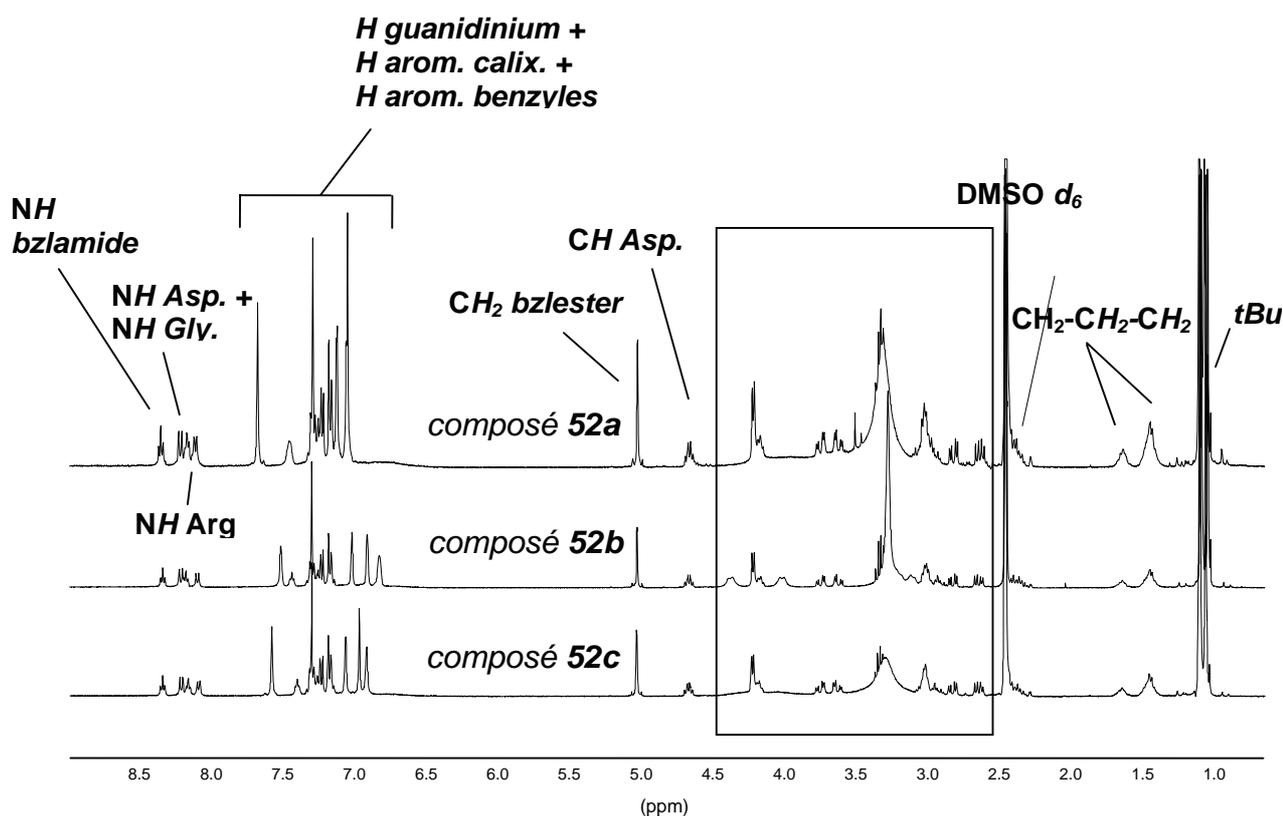


Figure 6.54 : Spectres RMN ^1H ($\text{DMSO } d_6$, 400 MHz, t.a) des composés **52a**, **52b** et **52c**.

Les signaux de résonance (déplacement chimique, multiplicité, intégration) attendus sur les trois spectres RMN ^1H des composés **52a**, **52b** et **52c** nous confirment que le greffage s'est bien effectué, malgré les conformations différentes que présentent ces trois composés. La fenêtre de la région 2,5-4,5 ppm (figure 6.54) est décrite de manière précise sur la figure 6.52. Sur ces analyse RMN ^1H en solution dans le DMSO d_6 , on remarque tout d'abord des systèmes ABX caractéristiques des protons CH_2 aspartyles et CH_2 glycyloxy, habituellement rencontrés pour des analyses en solution dans le chloroforme.

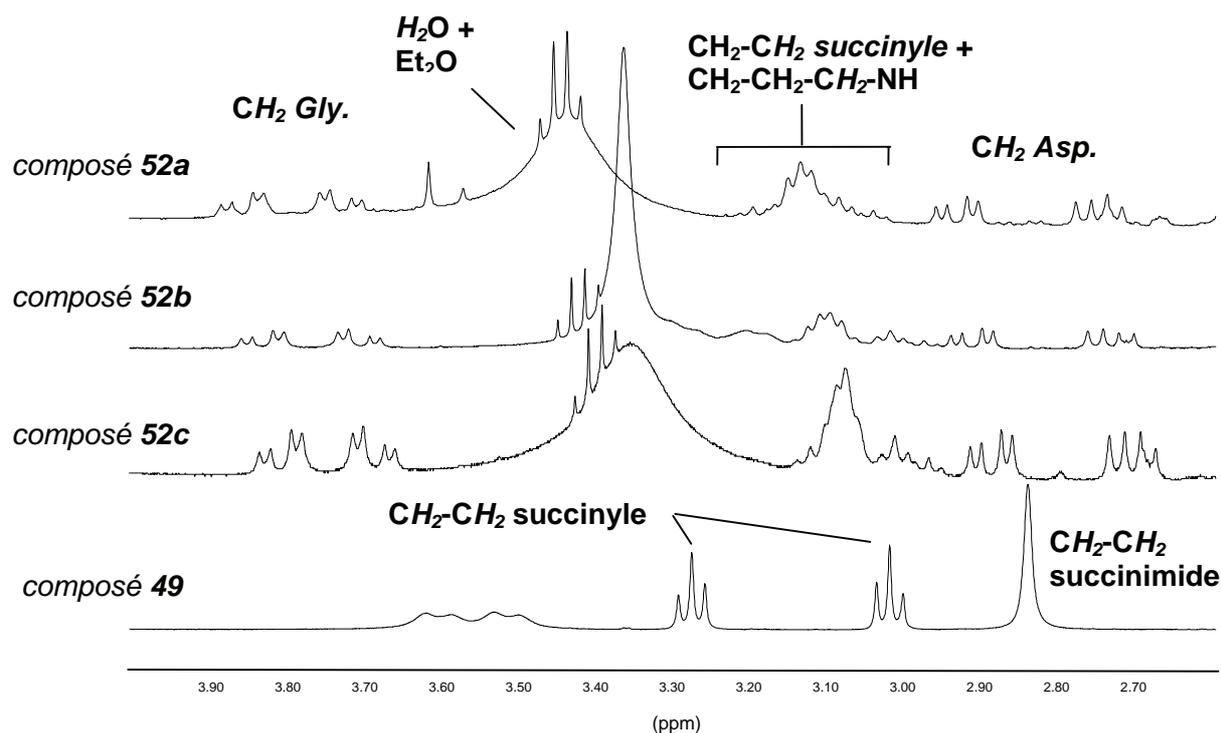


Figure 6.55 : Spectres RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a) partiels des composés **49**, **52a**, **52b** et **52c**.

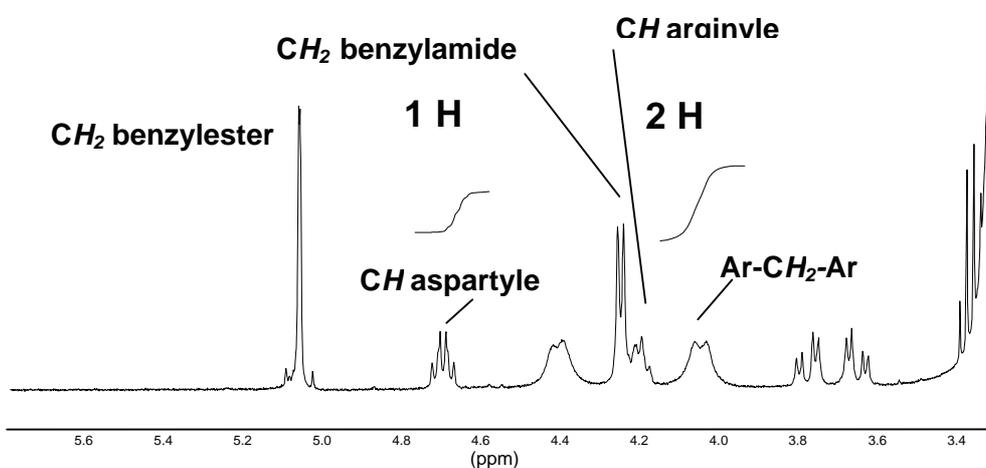


Figure 6.56 : Spectre RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a) partiel du composé **52b**.

La preuve de l'attachement du tripeptide RGD sur le calixarène nous est confirmée par la disparition du singulet caractéristique des protons CH_2-CH_2 succinimide du composé **49** (figure 6.55). Par ailleurs, le rapport d'intégration calix[4]arène / RGD (figure 6.56) sur le composé **52b** (conformation cône) confirme l'incorporation quantitative du tripeptide RGD sur le bras d'ancrage acide du calix[4]arène.

Les corrélations fines sur l'analyse RMN 1H COSY du composé **52c** confirment l'incorporation du bras tripeptidique RGD sur le calix[4]arène (figure 6.57). En particulier, on remarque l'existence d'une corrélation fine entre les protons CH_2 succinyles et les protons NH glycyle, argynyle, apsartyle.

Cette même analyse RMN 1H COSY permet de clarifier la partie aromatique du spectre du composé **52c** et d'observer les corrélations attendues CHR et NH .

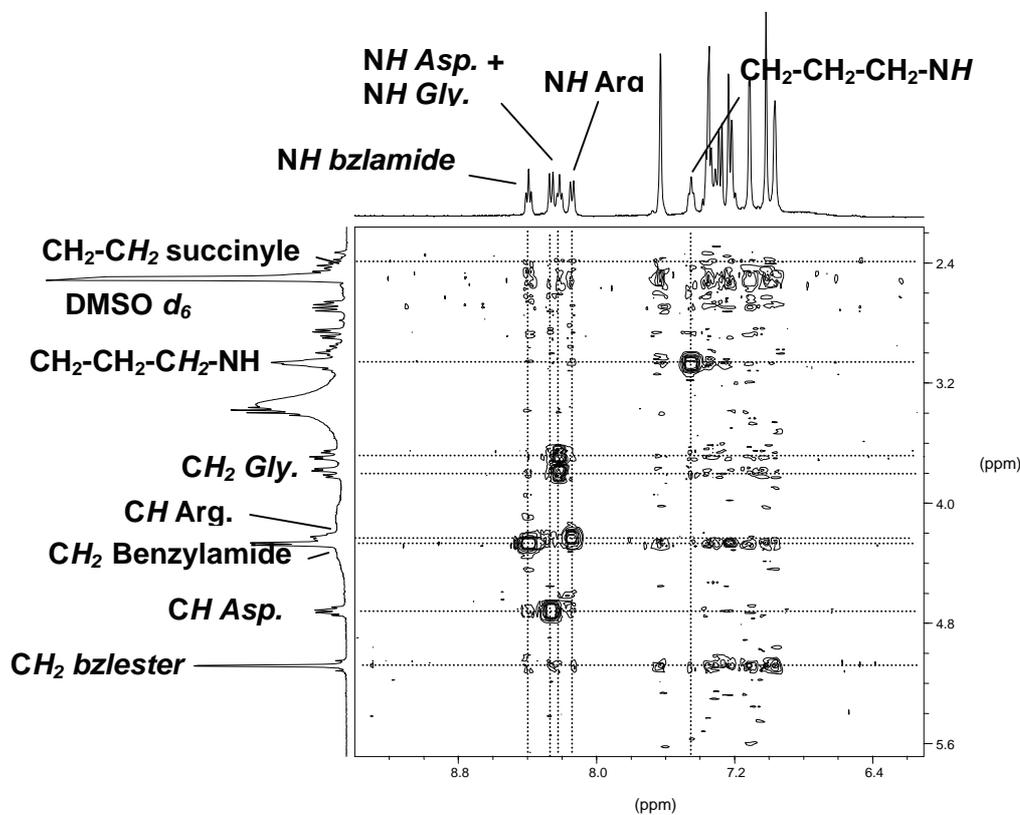


Figure 6.57 : Spectre partiel RMN 1H COSY (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) du composé **52c**.

L'analyse conformationnelle *via* les signaux de résonance des protons Ar-CH₂-Ar du calix[4]arène nous permet d'observer une différence dans la région 3,9-4,6 ppm entre le composé **52b** et les composés **52a** et **52c** (figures 6.58 et 6.59).

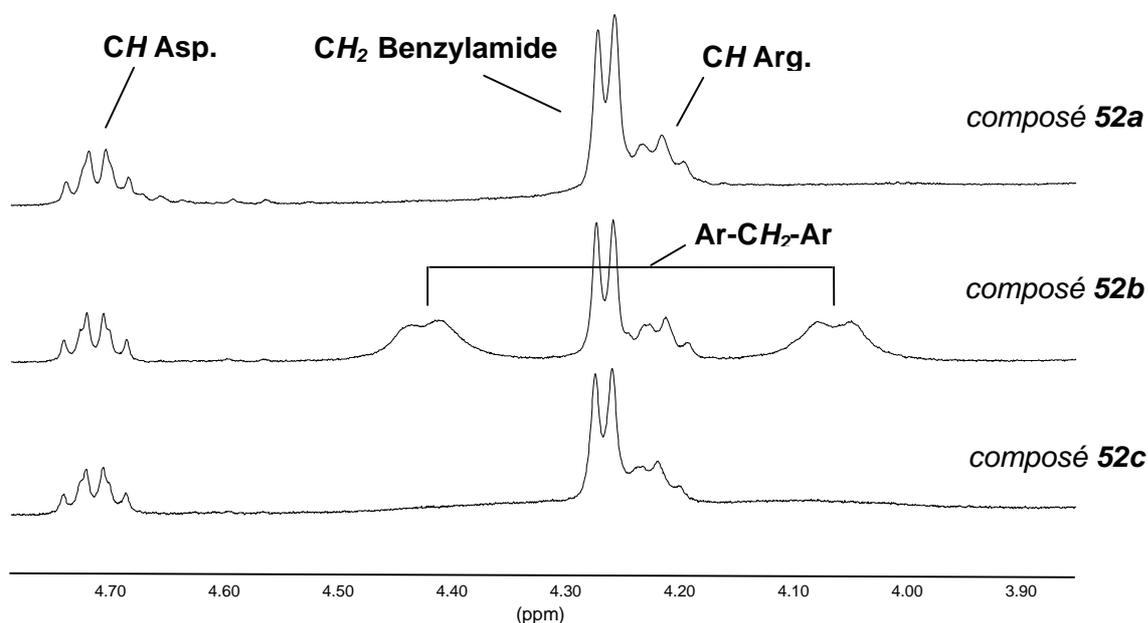


Figure 6.55 : Spectres RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, t.a.) partiels des composés **52a**, **52b** et **52c**.

En effet, la figure 6.55 nous montre bien l'absence d'un système AB caractéristique d'une conformation cône pour le composé **52c** (absence de système AB confirmée en analyse RMN ¹H COSY). Il est à noter que la région 4,0-4,5 ppm intègre bien 4 protons Ar-CH₂-Ar de la couronne du calix[4]arène pour les composés **52a** et **52c** (figure 6.56).

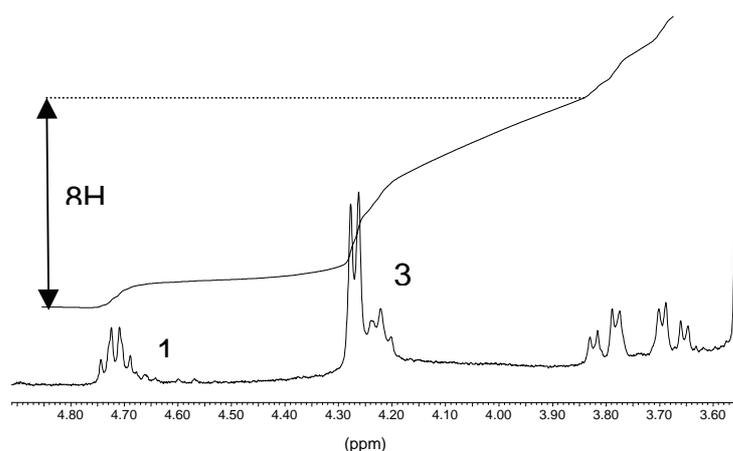


Figure 6.59 : Spectre partiel RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, t.a.) du composé **52c** et son intégration.

Il en est de même pour le composé **52a**, dont les analyses RMN ^1H aboutissent aux mêmes conclusions. A partir de toutes ces analyses, nous pouvons conclure que le composé **52b** adopte une conformation cône³³, démontrée par la présence du système AB caractéristique des protons Ar-CH₂-Ar. En revanche, les composés **52a** et **52c** adoptent des conformations intermédiaires. Ces éléments nous permettent de formuler des hypothèse qui pourraient expliquer la différence de conformation induite par les conditions réactionnelles :

- Les quantités initiales de base (triéthylamine) introduites diffèrent entre le composé **52b** et les composés **52a** et **52c**.
- L'effet du solvant est également une hypothèse plausible. En effet, le fait d'utiliser un mélange CH₂Cl₂/DMF provoquerait une perte de stabilité de la conformation cône initiale.
- Notons enfin que le fait de chromatographier le produit ne permet pas de recouvrer la conformation cône initiale (composés **52a** et **52c**).

Compte tenu de nos objectifs de synthèse, nous privilégierons la méthode employée pour préparer le composé **52b**, ce qui nous permet de contrôler la conformation du produit obtenu.

4.5 Libération de la fonction acide sur le résidu aspartyle des composés **52b** et **52c**

Avec les composés **52b** et **52c**, nous sommes en présence de deux types de conformations différentes. C'est pourquoi nous tentons ici la réaction de déprotection à la fois sur le composé **52b** et le composé **52c**. Le mode opératoire adopté dans les deux cas est le même. C'est une hydrogénolyse du groupement benzyle sur le résidu aspartyle en présence de dihydrogène et de catalyseur au palladium sur charbon. Nous obtenons respectivement à partir des composés **52b** et **52c** les calix[4]arènes acides **53b** et **53c**. avec des rendements respectifs de 83 % et 93 %.

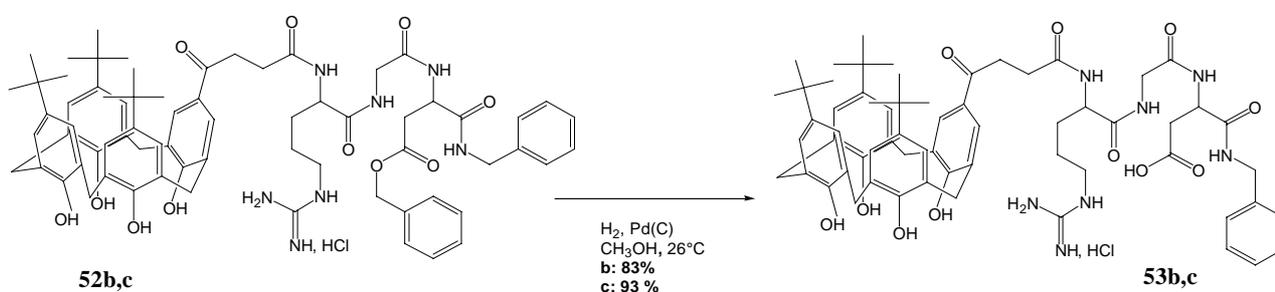


Figure 6.60 : Libération de la fonction acide sur les composés **52b** et **52c**.

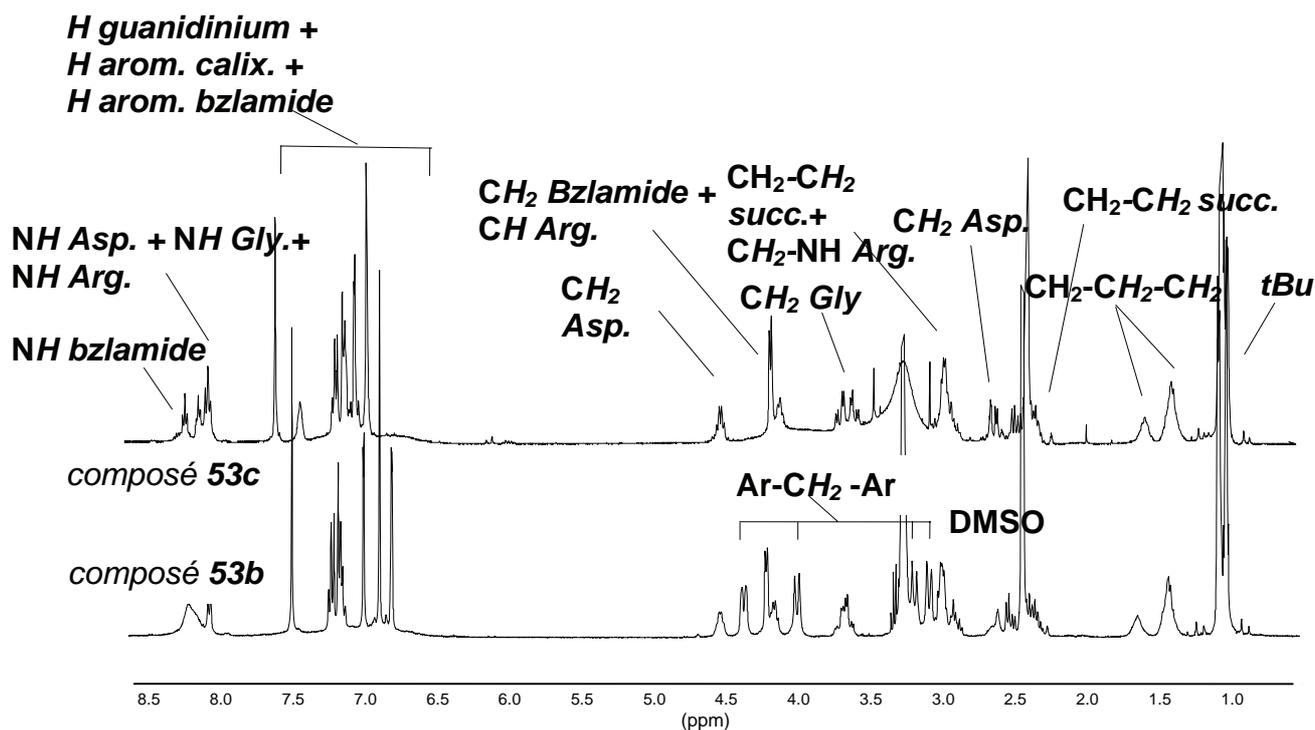


Figure 6.61 : Spectres RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) des composés **53b** et **53c**.

Les analyses RMN ^1H (figures 6.61, 6.62 et 6.63) des composés confirment la disparition du système caractéristique des protons du groupement benzyle sur les composés **52b** et **52c**, libérant ainsi la fonction acide sur les composés **53b** et **53c**.

Ces analyses (figures 6.62 et 6.63) montrent également que la réaction d'hydrogénation catalytique n'affecte pas la conformation du produit obtenu aussi bien sur le composé **53b** (conique) que sur le composé **53c** (intermédiaire). Notons que le composé **53c** présente une conformation intermédiaire déjà constatée sur son précurseur, le composé **52c**.

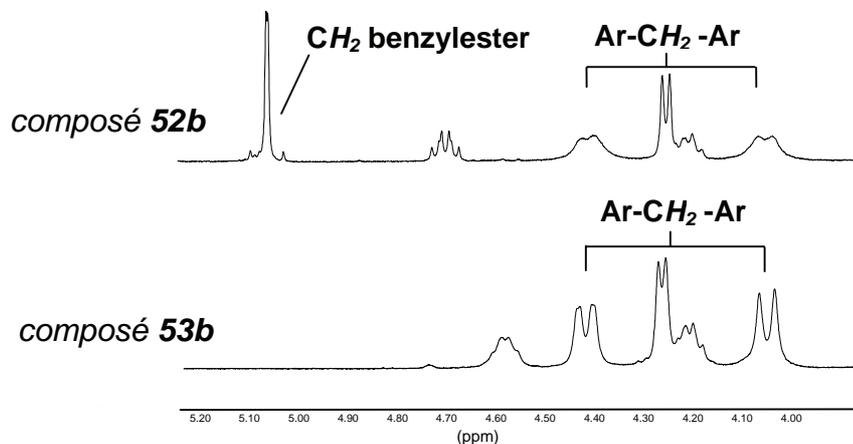


Figure 6.59 : Spectres partiels RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) de **52b** et **53b**.

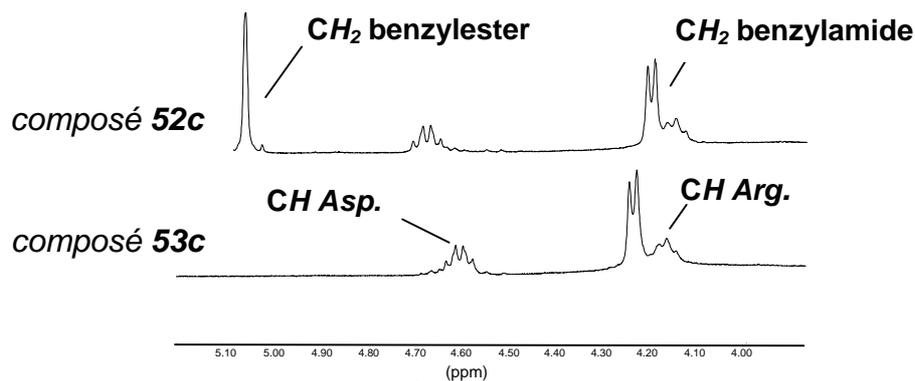


Figure 6.63 : Spectres partiels RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) de **52c** et **53c**.

Les différences de conformations se retrouvent en analysant les spectres RMN ^1H des composés **53b** et **53c** et surtout RMN ^1H COSY du composé **53c** (figure 6.61), dont l'absence de système AB dans la région 4,0-4,5 ppm caractérise une conformation intermédiaire pour ce dernier.

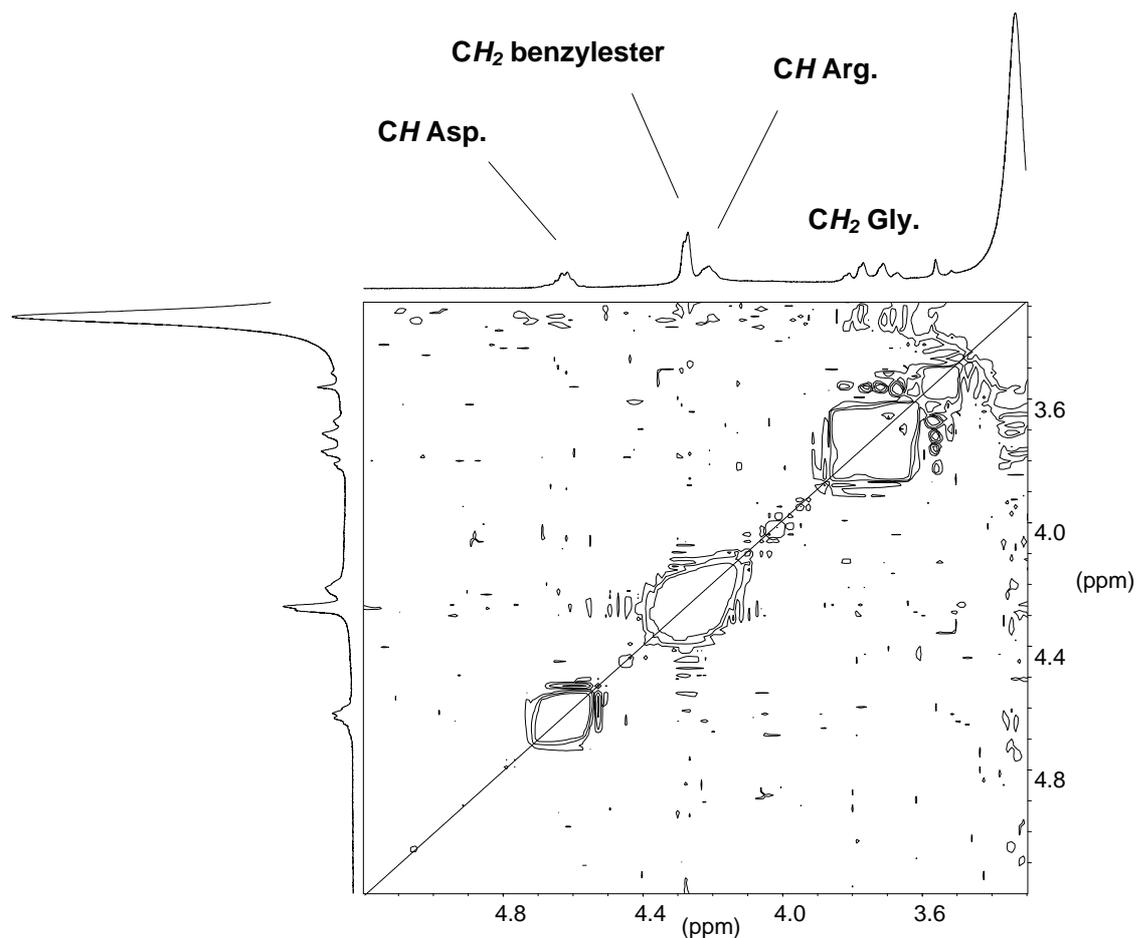


Figure 6.64 : Spectre partiel RMN ^1H COSY (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) du composé **53c**.

Sur cette même analyse RMN ^1H COSY, les corrélations faibles (CH_2 succinyles et NH peptidique) confirment l'attachement de la partie peptidique sur le calixarène. Les corrélations fortes attendues permettent de clarifier la partie aromatique du spectre RMN ^1H du composé acide **53c**.

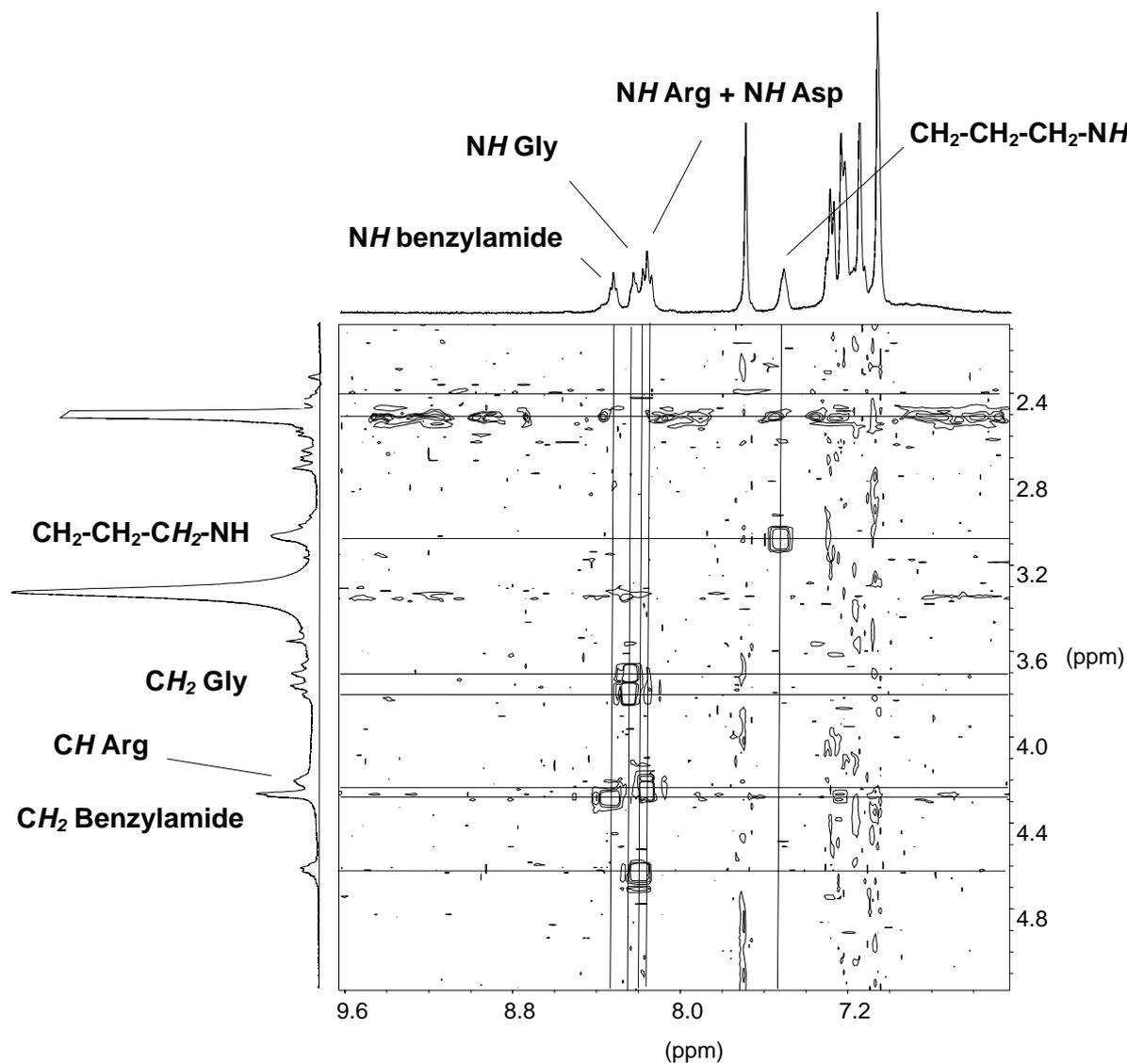


Figure 6.65 : Spectre partiel RMN ^1H COSY (DMSO- d_6 , 400 MHz, t.a.) du composé **53c**.

La spectroscopie de masse (ES+) du composé **53c** (figure 6.66) confirme l'obtention du produit attendu, avec en particulier :

- les pics à 1110,06, attribué à $[M+H]^+$, et à 1131,98, attribué à $[M+Na]^+$, démontrent l'obtention de la molécule cible acide **53c**.
- le pic à 1124,00, attribué à $[M+H^+CH_2]^+$ montre la présence d'un ester méthylique, produit de la réaction du méthanol sur le composé acide **53c** au cours de la phase de chromatographie sur colonne de silice. Quantitativement, cet ester méthylique n'est pas décelable en analyse RMN 1H . Compte tenu de la sensibilité de la mesure en spectroscopie de masse, cet ester méthylique est présent à l'état de traces.

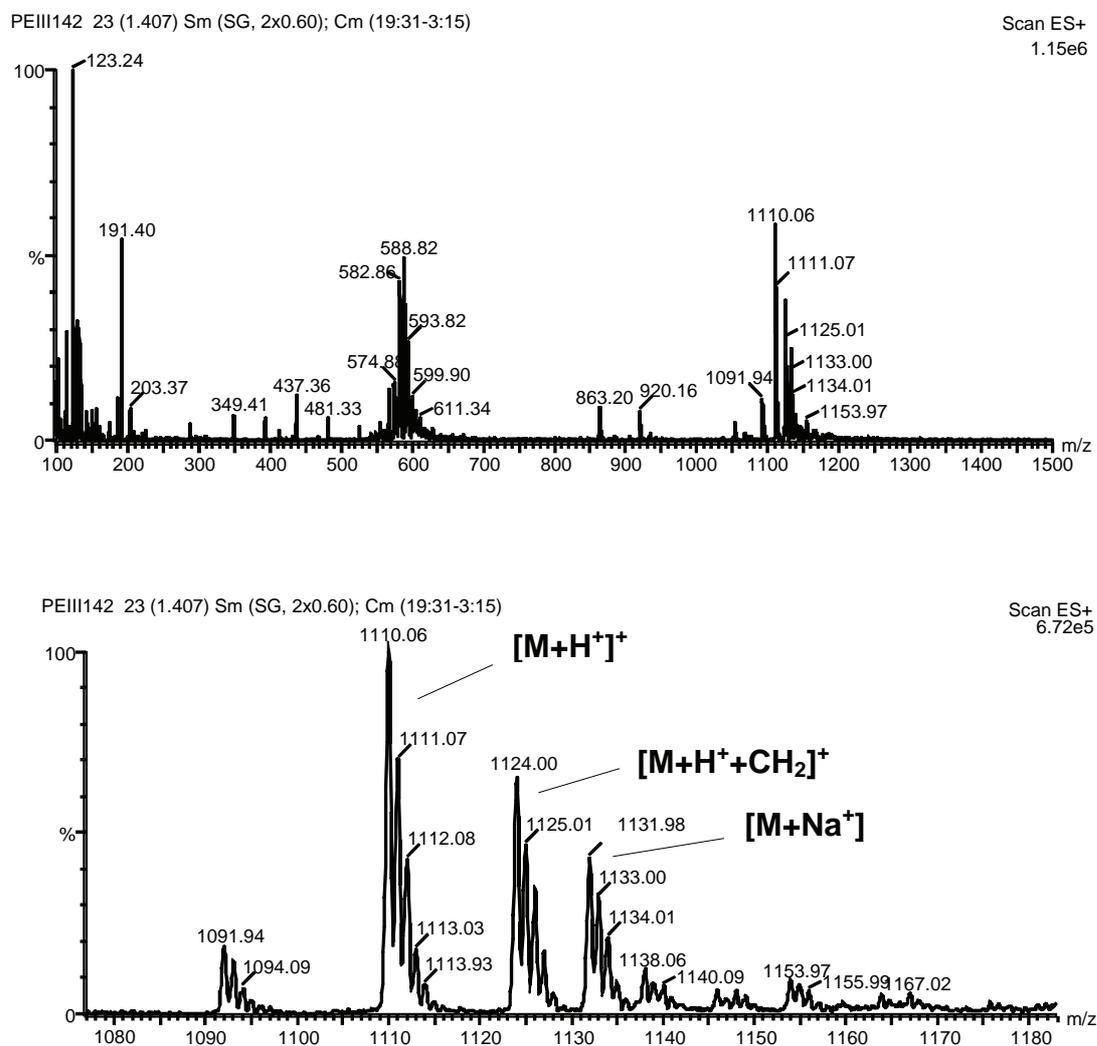


Figure 6.66 : Spectres de masse (ES+) du composé **53c**.

4.6 Bilan des greffages de peptide sur le calix[4]arène D

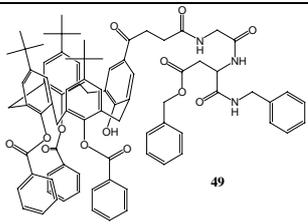
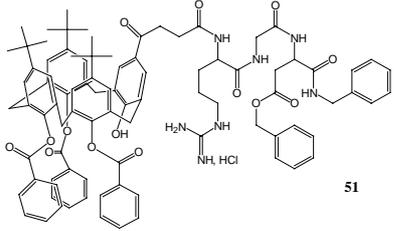
	<i>Structure</i>	<i>Conformation</i>	<i>Rendement</i>
	calix[4]arènetribenzoate – Gly-Asp(bzlester)-CH ₂ -Ph	cône	88 %
	calix[4]arène-tribenzoate- Arg(HCl)-Gly- Asp(bzlester)-CH ₂ -Ph	cône	62 %

Figure 6.67 : Récapitulatif des composés obtenus à partir du calix[4]arène D.

4.7 Bilan des greffages sur le calix[4]arène 15

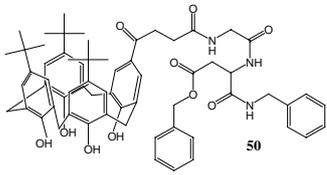
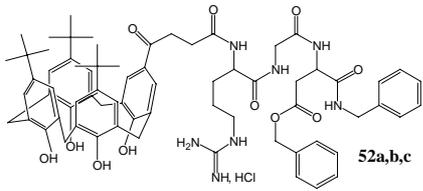
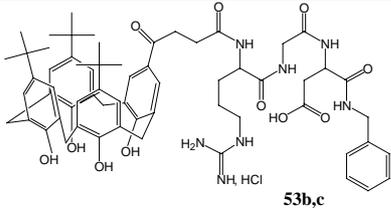
	<i>Structure</i>	<i>Conformation</i>	<i>Rendement</i>
	calix[4]arènetétrol– Gly-Asp(bzlester)- CH ₂ -Ph	cône	73 %
	calix[4]arènetétrol– Arg(HCl)-Gly- Asp(bzlester)-CH ₂ -Ph	(a) : intermédiaire (b) : cône (c) : intermédiaire	(a) : 47 % (b) : 76 % (c) : 76 %
	calix[4]arènetétrol– Asp(HCl)-Gly-Asp- CH ₂ -Ph	(b) : cône (c) : intermédiaire	(b) : 83 % (c) : 93 %

Figure 6.68 : Récapitulatif des composés obtenus à partir du calix[4]arène 15.

5. Conclusions et perspectives

Nous avons montré la possibilité de greffer l'antenne de reconnaissance tripeptide RGD sur un calix[4]arène libre ou protégé sur la partie basse, de libérer la fonction acide sur le résidu aspartyle tout en contrôlant la conformation cône d'un calix[4]arène tribenzoate ou tétrol. Ceci constitue une première étape vers l'obtention de modèles de vecteurs supramoléculaires calixaréniques.

La possibilité de greffage du même RGD sur la partie basse du calixarène **C** (trisbipyridine) est en cours d'étude, ce qui rendrait une telle structure potentiellement complexante de cation munie d'une antenne de reconnaissance. Il est possible, *via* les groupements hydroxyle libres d'adjoindre de façon covalente par exemple des principes actifs, dans des conditions douces, capables d'être libérés. Cette approche est en cours d'évaluation au laboratoire.

Enfin, nos résultats acquis concernant le greffage de calix[4]arènes sur polymères naturels pourraient également rejoindre ce projet, pour éventuellement concevoir des support polymères porteurs de RGD sur lesquelles des cellules pourraient s'ancrer, des biomatériaux ou encore des tissus celluloseux libérateurs de principes actifs.

Références bibliographiques du chapitre 6

1. Z. Asfari et coll., *Kluwers Academics Publishers : Calixarènes*, **2001**, 496
2. S.J. Meunier, R. Roy, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 5469
3. R. Roy, J.M. Kim, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1999**, 38, 369
4. Y. Shi, H.J. Schneider, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1999**, 2, 1797
5. J.S. Millership, *J. Incl. Phenom. and Macrocyclic Chem.*, **2001**, 39, 327
6. O.I. Kalchenko, E. Da Silva, A.W. Coleman, *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.*, **2002**, 43, 305.
7. L. Mutihac, H.J. Buschmann, R.D. Mutihac, E. Schollmeyer, *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.*, **2005**, 51, 1.
8. S. Shinkai, S. Mori, H. Koreishi, T. Tsubaki, O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 2409.
9. a) J.O. Magrans, A.R. Ortiz, M.A. Molins, P.H.P. Lebouille, J. Sanchez-Quesada, P. Prados, M. Pons, F. Gago, J. de Mendoza, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 1712 ; b) F. Cuevas, S. Di Stefano, J.O. Magrans, P. Prados, L. Mandolini, J. de Mendoza, *Chem. Eur. Journal*, **2000**, 6, 3228.
10. a) P. Molenveld, S. Kapsabelis, J.F.J. Engbersen, D.N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 2948 ; b) P. Molenveld, J.F.J. Engbersen, D.N. Reinhoudt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1999**, 38, 3189.
11. a) J.W. Cornforth, P. D'Arcy Hart, G.A. Nicholls, R.J.W. Rees, J.A. Stock, *Br. J. Pharmacol.* **1955**, 10, 73; b) J.W. Cornforth, E.D. Morgan, K.T. Potts, R.J. Rees, *Tetrahedron*, **1973**, 29, 1659.
12. P.D. Hart, J.A. Armstrong, *Infect. Immun.*, **1996**, 64, 1491
13. S.J. Harris, *Patent WO95/19974*, **1995**
14. S.J. Harris, *Patent WO02/44121*, **2002**
15. R. Lamartine, M. Tsukada, D. Wilson, A. Shirata, *C.R. Chimie*, **2002**, 5, 163
16. T. Jin, M. Kinjo, Y. Kobayashi, H. Hirata, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1998**, 94, 3135
17. K.J.C. van Bommel, W. Verboom, R. Hulst, H. Kooijmann, A. L. Spek, D.N. Reinhoudt, *Inorg. Chem.*, **2000**, 39, 4099.
18. M.H.B. Grote Gansey, A.S. de Haan, E.S. Bos, W. Verboom, D.N. Reinhoudt, *Bioconjugate Chem.*, **1999**, 10, 613
19. K.M. Hwang, Y.M. Qi, S.Y. Liu, T.C. Lee, W. Choy, J. Chen *Patent WO92/12708*, **1992**
20. D. Hulmes, A. Coleman, E. Aubert-Foucher, *Patent WO00/7585*, **2000**
21. N. Psychogios, *Thèse d'Université*, Université Henri-Poincaré, Nancy, **2003**.
22. M. Mourer, *Thèse d'Université*, Université Henri-Poincaré, Nancy, **2006**.
23. M. Grare, M. Mourer, S. Fontanay, J.B. Regnouf-de-Vains, C. Finance, R.E. Duval, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2007**, 60, 575.
24. H. Hioki, *Yakugaku Zasshi*, **2005**, 125(3), 263.
25. H. Hioki, T. Yamada, C. Fujioka, M. Kodama, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 6821
26. M. Kubo, E. Nashimoto, T. Tokiyo, Y. Morisaki, M. Kodama, H. Hioki, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 1927.
27. M. Segura, B. Bricoli, A. Castani, E.M. Munoz, S. Sansone, R. Ungaro, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 6296.
28. Y. Molard, C. Bureau, H. Parrot-Lopez, R. Lamartine, J.B. Regnouf-de-Vains, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 6383
29. R.E. Brewster, B.G. Dalton, S.B. Shuker, *Bioorganic Chem.*, **2005**, 33, 16.
30. a) Y. Hamuro, M.C. Mercedes, H.S. Park, A.D. Hamilton, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1997**, 36, 2680 ; b) Q. Ling, A.D. Hamilton, *C. R. Chimie*, **2002**, 5, 441.

31. R.P.M. Dings, X. Chen, D.M.E.I. Hellebrekers, L.I. Van Eijk, Y. Zhang, T.R. Hoye, A.W. Griffioen, K.H. Mayo, *Journal of the National Cancer Institute*, **2006**, 98, 932.
32. M. Boisbrun, R. Vandresse, P. Engrand, A. Olié, S. Hupont, J.B. Regnouf de Vains, C. Frochot, *Tetrahedron*, **2008**, 64, 3494.
33. C.D. Gutsche, B. Dhawan, J.A. Levine, K.H. No, L.J. Bauer, *Tetrahedron*, **1983**, 39, 409.
34. K.A. See, F.R. Fronczek, W.H. Watson, R.P. Kashyap, C.D. Gutsche, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 7256.

Conclusion générale

Nous avons obtenu, en premiers lieux, une série de calix[4]arènes, monofonctionnalisés sur la partie haute (par des fonctions de type acide butyrique et succinique) et sur la partie basse (par des fonctions de type aldéhyde, ester, nitro, amine, alcène). Ces calixarènes sont soit libres, protégés ou porteurs d'unités complexantes sur leur partie basse. Nous avons démontré la conservation de la conformation cône pour les composés de types tétrol et trisbypridines.

A partir de ce travail de préparation, nous avons pu mettre en œuvre le travail sur le greffage de calix[4]arène sur polymère. En particulier, les calix[4]arènes amino nous ont ouvert la voie vers leur greffage, d'une part sur des celluloses en poudre et d'autre part sur le dextran. Ce dernier est un support polymère qui autorise les taux de greffage les plus élevés, ainsi que des possibilités de complexation de l'ion Cu^+ , donnant lieu à des structures relativement stables en solution aqueuse. Nous disposons ainsi d'un protocole de greffage de type « one pot », reproductible et adaptable ultérieurement à des supports polymères différents.

Dans le cadre du second projet, nous avons pu démontrer les avantages de la préparation d'une série de tripeptides RGD par synthèse convergente en solution, à l'échelle du gramme, avec des rendements supérieurs à ceux obtenus par synthèse linéaire en solution. Cette méthode de synthèse permet d'accéder à une chimiothèque de tripeptides RGD, modulables sur leurs parties N- et C-terminales. Certains composés obtenus présentent une activité biologique intéressante pour le développement de nouveaux vecteurs supramoléculaires.

Le prolongement de ce dernier projet aboutit au greffage d'un tripeptide RGD, sur la partie haute d'un calix[4]arène succinique, tétrol ou tribenzoate. L'incorporation de ce tripeptide RGD, préalablement préparé par synthèse convergente, s'est réalisée par couplage peptidique classique, en solution, à partir d'esters activés de calixarènes isolables. Nous obtenons des structures, adoptant une conformation cône contrôlable à partir de modes opératoires déterminés.

Ces résultats, pris dans leur globalité, ont été destinés à initier des projets majeurs qui sont en cours de développement au laboratoire.

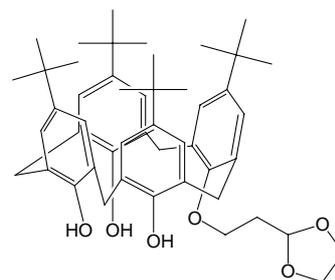
Partie expérimentale

Analyses

- Les spectres RMN ont été enregistrés sur appareil BRUKER DRX 400 MHz.
- Les points de fusion ont été mesurés sur un appareil à point de fusion capillaire ELECTROTHERMAL IA 9200.
- Les spectres Infra-Rouge ont été réalisés sur un appareil BRUKER Vector 22. Les échantillons ont été préparés en pastille dans des matrices de KBr.
- Les spectres de masse ont été réalisés à l'aide d'un appareil Micromass Platform (Electrospray).
- Les analyses UV-Visible ont été réalisées sur un appareil SAFAS Monaco UVmc2.
- Les analyses élémentaires ont été effectuées sur un appareil Thermofinnigan FlashEA.
- Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur les supports suivants :
 - Silice : MACHERAY-NAGEL, gel de silice 60M, 40-63 μm
 - Alumine : MERCK, Aluminium oxyde 90 standardisé.
- Les chromatographies sur couches minces ont été réalisées sur les supports suivants :
 - Silice : MACHERAY-NAGEL, ALUGRAM® G/UV₂₅₄.
 - Alumine : MERCK, Aluminium 60 F₂₅₄ neutral.

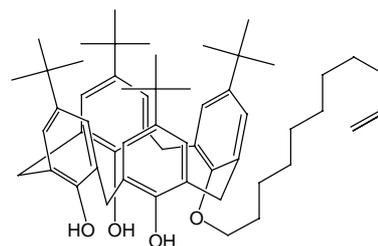
Composé 1

Une suspension de 1.000 g (1.541×10^{-3} mol) de calix[4]arène **A**, 0.180 mL (1.531×10^{-3} mol) de 2-(2-bromoethyl)-1,3-dioxolane et 0.130 g de NaHCO₃ dans 75 mL de CH₃CN est portée à 92°C. Après 46 heures d'agitation sous atmosphère d'argon, 0.065 g (0.5 équivalent) de NaHCO₃ sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 26 heures d'agitation dans les mêmes conditions, le milieu réactionnel est refroidi à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé sous vide. Le résidu est redissous dans un minimum de CH₂Cl₂. L'insoluble est filtré sur fritté une première fois. L'insoluble dans le filtrat est à nouveau filtré sur fritté, puis le nouveau filtrat est évaporé. Le résidu est redissout dans 10 mL de CH₂Cl₂ et la solution est lavée deux fois avec 10 mL d'eau. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ puis filtrée sur coton hydrophile et évaporée sous vide. Le résidu est chromatographié sur colonne de silice en éluant avec un mélange 1/1 dichlorométhane / hexane, puis avec du dichlorométhane pur. Le produit obtenu est ensuite redissout dans l'éthanol puis évaporé sous vide pour donner 0.476 g d'un solide blanc après séchage sous vide poussé (rendement 41 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, ppm) : 1.212 (s, 9H, *tBu*) ; 1.235 (s, 18H, *tBu*) ; 1.248 (s, 9H, *tBu*) ; 2.534-2.578 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH) ; 3.294-4.392 ('dd', AB, J_{AB}=13.1 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 3.457-4.294 ('dd' + t, AB, J_{AB}=13.6 Hz, 4H+2H, Ar-CH₂-Ar + O-CH₂) ; 3.953-4.132 (m, 4H, O-CH₂-CH₂-O) ; 5.413 (t, J=4.7 Hz, 1H, CH acétal) ; 6.970-7.105 (m, 8 H, H Ar.) ; 9.468 (s, 1H, OH) ; 10.179 (s, 1H, OH) ; **RMN** ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, ppm) : 31.685, 31.899, 31,928 ((CH₃)₃C) ; 32.577, 33.452 (Ar-CH₂-Ar) ; 34.334, 34.429, 34.516, 34.647 (C(CH₃)₃, O-CH₂-CH₂-CH) , 65.468 (O-CH₂-CH₂-O) ; 72.970 (O-CH₂) ; 102.456 (CH acétal) ; 126.051, 126.116, 126.131, 126.364, 126.867 (CH arom.) , 127.947, 128.114, 128.537, 128.770, 133.904, 143.470, 143.980, 148.216, 148.573, 148.924, 149.791 (C_o, C_p, C_i arom.) ; **SM ES**⁻ : 747.61 [M - H]⁻, **ES**⁺ : 771,56 [M + Na]⁺ ; **AE** : C₄₉H₆₄O₆ (MM = 749,04) calculée : C : 78.57 ; H : 8.61, obtenue : C : 78.34 ; H : 8.55 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 282.0 nm, ε = 10759 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 3400-3200 cm⁻¹ (m, large, OH) ; 2960 cm⁻¹ (F, fine, CH Aryl) ; **PF** : 238°C



Composé 2

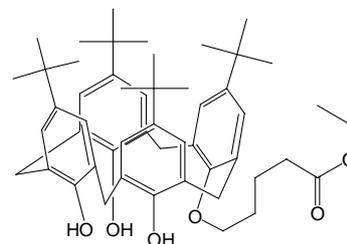
Une suspension de 2.000 g (3.082×10^{-3} mol) de calix[4]arène **A** et 0.240 g (2.857×10^{-3} mol) de NaHCO₃ dans 75 mL de CH₃CN est portée à 92°C. Puis 0.592 mL (2.699×10^{-3} mol) de 11-bromoundec-1-ène sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 17 heures d'agitation sous atmosphère d'argon, 0.100 mL (0.2 équivalent) de 11-bromoundec-1-ène sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 29 heures d'agitation dans les mêmes conditions, le solvant est évaporé sous vide. Le résidu est redissout dans 125 mL de CH₂Cl₂. Cette solution est lavée deux fois avec 60 mL d'eau, puis évaporée sous vide. Lorsque un précipité apparaît, l'insoluble est filtré sur fritté. Le filtrat est évaporé, l'huile obtenue est chromatographiée une première fois sur colonne d'alumine (CH₂Cl₂/hexane 30:70) puis sur colonne de silice (CH₂Cl₂/hexane 20:80) pour obtenir 0.274 g d'une huile translucide (rendement 12 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 1.207 (s, 9H, *tBu*) ; 1.371 (s, 18H, *tBu*) ; 1.509 (s, 9H, *tBu*) ; 1.228-1.386 (m, 10H, H undecenyl) ; 1.500-1.681 (q, 2H, H undecenyl) ; 1.909-2.045 (quintuplé, 2H, H undecenyl) ; 2.189-2.244 (m, 2H, H undecenyl) ; 3.341-4.365 ('dd', AB, J_{AB}= 13.1 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.071 (t, J=7.0 Hz, 2H,



O-CH₂) ; 3.351-4.244 ('dd', AB, J_{AB}=13.6 Hz , 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.842-4.945 (m, 2H, CH=CH₂) ; 5.695-5.796 (m, 1 H, CH=CH₂) ; 6.910-7.014 (m, 8H, H arom) ; 9.536 (s, 2H, OH) ; 10.125 (s, 1H, OH) ; UV : CH₂Cl₂, λ_{max} = 282.0 nm, ε = 7307 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; IR : KBr, 3400-3200 cm⁻¹ (m, large, OH) ; 2960 cm⁻¹ (F, fine, CH Aryl)

Composé 3

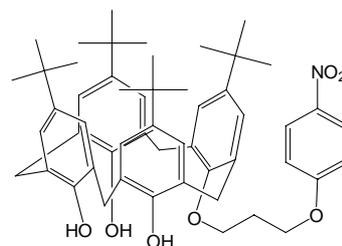
Une solution de 1.000 g (1.35×10⁻³ mol) de calix[4]arène A et de 0.112 g (0.800×10⁻³ mol, 0.6 éq.) de K₂CO₃ dans 40 mL de CH₃CN est portée à 92°C. Après 30 minutes d'agitation sous atmosphère d'azote, 1.700 g (8.00×10⁻³ mol) de bromovalérate d'éthyle est ajouté au milieu réactionnel. Après 19 heures d'agitation dans les mêmes conditions, le CH₃CN est évaporé sous vide, et le résidu repris dans du dichlorométhane. La



solution est ensuite lavée une fois à l'eau, puis filtrée sur coton hydrophile. Le résidu est repris dans du diéthyléther. Le précipité ainsi formé est filtré, et le filtrat évaporé sous vide. Le résidu obtenu est repris dans de l'éthanol et le nouveau précipité filtré. Les deux précipités obtenus sont ensuite dissous dans du dichlorométhane, puis chromatographiés sur colonne de silice en éluant avec du dichlorométhane pour donner 0.734 g d'un solide blanc (rendement : 70 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 1.187 (s, 9H, *tBu*) ; 1.206 (s, 18H, *tBu*) ; 1.218 (s, 9H, *tBu*) ; 1.26 (t, J =6.7 Hz, 3H, CH₃-CH₂-O) ; 1.80-2.35 (ABm, 4H, O-CH₂-CH₂-CH₂) ; 2.519 (t, J = 4.95 Hz, CH₂-CH₂-COO) ; 3.346-4.33 ('dd', AB, J_{AB} = 12.7 Hz, Ar-CH₂-Ar) ; 3.428-4.26 ('dd', AB, J_{AB} = 13.7 Hz, Ar-CH₂-Ar) ; 4.136 (t, J =6.7 Hz, O-CH₂-CH₂) ; 4.169 (q, J=7.1 Hz, CH₃-CH₂) ; 6.97-7.10 (m, 8H, H arom.) ; AE : C₅₁H₆₈O₆ (MM = 777,11) calculée : C : 78.83 ; H : 8.82 ,obtenue : C : 78.68 ; H : 8.88.

Composé 4

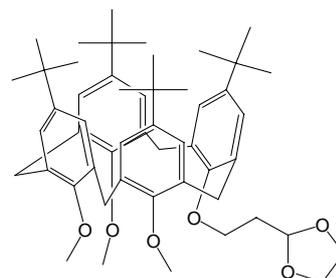
Une solution contenant 0.500 g (0.769×10⁻³ mol) de calix[4]arène A et 0.065 g (0.744×10⁻³ mol) de NaHCO₃ dans 35 mL de CH₃CN est portée à 72°C. Après 1 heure d'agitation sous atmosphère d'argon, 0.200 g (0.769×10⁻³ mol) de 1-bromo 3-*p*-nitrophénoxypropane sont ajoutés. Après 64 heures d'agitation dans les mêmes conditions, la solution est refroidie à température ambiante et le CH₃CN évaporé sous vide. Le résidu



est ensuite redissous dans un minimum de CH₂Cl₂ et l'insoluble filtré sur fritté. Après évaporation du filtrat, le brut est purifié sur plaque préparative de silice (80 % CH₂Cl₂ et 20 % CH₃OH, 1 élution). La zone prélevée est ensuite redissoute dans CH₂Cl₂ et quelques gouttes de CH₃OH, puis filtrée. Les filtrats sont évaporés pour obtenir 0.170 g d'un solide blanc (rendement 27 %). RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 1.214 (s, 9H, *tBu*) ; 1.235 (s, 18H, *tBu*) ; 1.251 (s, 9H, *tBu*) ; 2.650 (quint., 2H, CH₂-CH₂-CH₂) ; 3.435-4.339 ('dd', AB, J_{AB}=13.0 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 3.456-4.307 ('dd', AB, J_{AB}=13.5 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.344 (t, J=5.8 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂) ; 4.700 (t, J=6.1 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂) ; 7.014-7.185 (massif, 9H, Ar calix.+ Ar-NO₂) ; 8.200-8.272 (massif, 3H, Ar calix.+ Ar-NO₂) ; 9.529 (s, 2H, OH) ; 10,148 (s, 1H, OH). SM : ES- : 826.54 [M - H]⁻, ES+ : 850.49 [M + Na]⁺

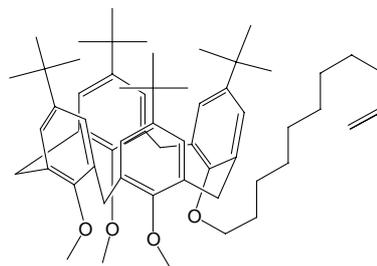
Composé 5

Une quantité de 0.100 g (1.042×10^{-3} mol) de NaH (60 %) est ajoutée à une solution de 0.300 g ($0,434 \times 10^{-3}$ mol) de calix[4]arène **B** dans 2 mL de toluène, puis 0.3 mL de DMF sont ajoutés. Après 5 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, on ajoute au milieu 0,056 mL ($0,477 \times 10^{-3}$ mol) de 2-(2-bromoéthyl)-1,3-dioxolane. Après 38 heures d'agitation, dans les mêmes conditions, 0.025 mL (0.5 éq.) de 2-(2-bromoéthyl)-1,3-dioxolane est ajouté, puis 32 heures plus tard, le toluène est évaporé sous vide puis le DMF est évaporé sous vide poussé à 60°C. Ensuite, 25 mL d'eau sont ajoutés au résidu. Le produit est extrait 3 fois avec 25 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont ensuite réunies, séchées sur Na₂SO₄, puis filtrées sur coton hydrophile. Le CH₂Cl₂ est évaporé sous vide. Le résidu ensuite redissous dans 12 mL d'un mélange CH₂Cl₂/CH₃OH 1:1. Le CH₂Cl₂ est évaporé sous vide à froid, et le précipité filtré sur fritté et rincé au CH₂Cl₂. Le solide obtenu est séché sous vide poussé pour obtenir 0.299 g d'un solide blanc (rendement : 88 %). **RMN** ¹H et ¹³C : *inexploitables* ; **SM** : **ES**⁺ : 813.17 [M + Na]⁺ ; 829.14 [M + K]⁺ ; **AE**: C₅₂H₇₀O₆ (MM = 791.09), *calculée* : C : 78.95 ; H : 8.92, *obtenue* : C : 78.89 ; H : 8.93 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 276.0 nm, ε = 4143 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 2960 cm⁻¹ (F, fine, CH Aryl) ; **PF** : 195 °C



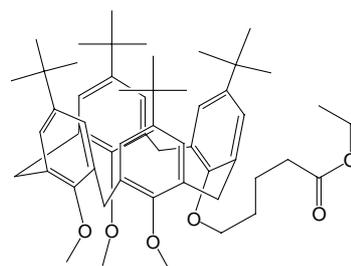
Composé 6

Une quantité de 0.120 g (1.737×10^{-3} mol) de NaH (60 %) est ajoutée à une suspension de 1.200 g (1.737×10^{-3} mol) de calix[4]arène **B** dans 10 mL de DMF. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, un volume de 0.418 mL (1.911×10^{-3} mol) de 11-bromo-1-undécène est ajouté à la solution. Après 1 heure 30 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, 10 mL de toluène sont ajoutés au milieu réactionnel. 2 heures plus tard, le toluène est évaporé sous vide. Puis 50 mL d'eau sont ajoutés au résidu. Le produit est extrait 2 fois avec 50 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies, séchées sur Na₂SO₄ puis filtrées sur coton hydrophile. Le CH₂Cl₂ est évaporé sous vide et le DMF évaporé sous vide poussé à 60°C. Le brut est chromatographié sur colonne de silice en éluant avec un mélange CH₂Cl₂/hexane 1:1. Le produit est chromatographié une seconde fois sur colonne de silice en éluant avec un mélange CH₂Cl₂/hexane 30:70. Les fractions sont évaporées pour obtenir 0.776 g d'un solide blanc (rendement : 53 %). **RMN** ¹H et ¹³C : *inexploitables* ; **SM** : **ES**⁻ : 842 [M - H]⁻ ; **AE** : C₅₈H₈₂O₄ (MM = 843.28), *calculée* : C : 82.61 ; H : 9.80, *obtenue* : C : 82.63 ; H : 9.76 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 276.0 nm, ε = 3226 mol⁻¹.L.cm⁻¹



Composé 7

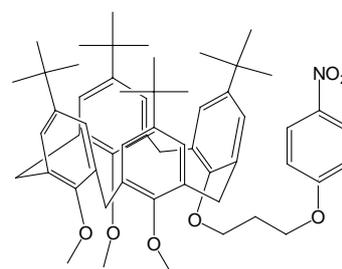
Une quantité de 0.140 g (2.896×10^{-3} mol) de NaH (60 %) est ajoutée à une solution de 1.000 g (1.447×10^{-3} mol) de calix[4]arène **B** dans 1.2 mL de toluène et 0.8 mL de DMF. Après 10 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, un volume 0.366 mL (2.315×10^{-3} mol) de bromovalérate d'éthyle est ajouté au milieu réactionnel. Après



6 heures d'agitation dans les mêmes conditions, le toluène est évaporé sous vide à 40°C et le DMF sous vide poussé. Le résidu est redissous dans 50 mL de CH₂Cl₂ et 50 mL d'eau. La phase aqueuse est neutralisée avec de l'acide chlorhydrique 0.25 M. Après une première extraction, le produit est extrait encore 2 fois avec 50 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ puis filtrées sur coton hydrophile. Après évaporation du filtrat, le résidu est chromatographié sur colonne d'alumine en éluant avec un mélange CH₂Cl₂/hexane 25:75. Les fractions sont évaporées et séchées 10 heures sous vide poussé, pour obtenir 0.911 g d'un solide blanc (rendement : 77 %). **RMN** ¹H et ¹³C : *inexploitables* ; **SM** : ES⁺ 841.23 : [M+Na]⁺ ; **AE** : C₅₄H₇₄O₆ + 0.3 H₂O (MM = 824.580), *calculée* : C : 78.65 ; H : 9.05 ; N : 0, *obtenue* : C : 78.72 ; H : 9.10 ; N : 0 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 276.0 nm, ε = 3212 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 2960 cm⁻¹ (F, fine, CH Aryl) ; 1737 cm⁻¹ (f, fine, C=O) ; **PF** : 99°C

Composé 8

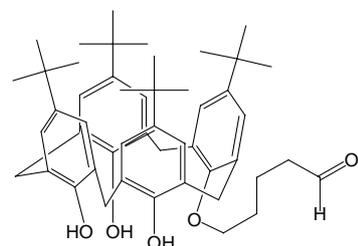
Une quantité de 0.140 g (3.500×10⁻³ mol, 2.4 éq) de NaH (60 %) est ajoutée à une solution de 1.000 g (1.448×10⁻³ mol) de calix[4]arène **B** dans 8.0 mL de toluène et 1.2 mL de DMF. Après 10 minutes d'agitation sous atmosphère d'argon, une fois le dégagement gazeux terminé, 0.570 g (2.316×10⁻³ mol, 1.6 éq.) de 1-bromo-3-p-nitrophénoxypropane est ajouté à cette solution.



Après 21 heures d'agitation à température ambiante sous atmosphère d'argon, le toluène (sous vide) et le DMF (sous vide poussé) sont évaporés. 50 mL d'H₂O et 50 mL de CH₂Cl₂ sont ajoutés au brut réactionnel. Le pH de la phase aqueuse est abaissé à 4 par de l'acide chlorhydrique 1 M. On extrait 3 fois le produit avec 50 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies, séchées sur Na₂SO₄, filtrées puis évaporée. Le produit est ensuite chromatographié sur colonne de silice (CH₂Cl₂/hexane : 20:80 puis 100:0). Les fractions propres sont réunies puis évaporées. Le verre obtenu est ensuite redissout dans 5 mL d'acétone. La solution est ajoutée goutte à goutte dans 50 mL d'eau. Le précipité est récupéré par filtration, séché sous vide pour obtenir 1.230 g (1.413×10⁻³ mol) d'un solide blanc (rendement : 97 %). **RMN** ¹H et ¹³C : *inexploitables* ; **SM** : ES⁺ : 892.12 [M + Na]⁺ ; **AE** : C₅₆H₇₁NO₇, : MM= 870.18 ; *calculée* : C : 77.30 ; H : 8.22 ; N : 1.61 ; *obtenue* : C : 77.56 ; H : 8.22 ; N : 1.50 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 310.0 nm, ε = 13417 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 1342.34 cm⁻¹ (F, NO₂) ; **PF** : 102°C

Composé 9

Une solution de 0.300 g (0.387×10⁻³ mol) de composé **3** dans 30 mL de toluène est portée à -70°C. Puis 0.350 mL (0.350×10⁻³ mol) d'une solution 1 mol.L⁻¹ de DiBAIH dans le toluène est ajouté au milieu réactionnel. Après 2 heures et 30 minutes d'agitation sous atmosphère d'argon, 30 mL d'une solution aqueuse saturée de NH₄Cl sont ajoutés. La phase organique est lavée deux fois avec 30 mL d'eau, séchée sur

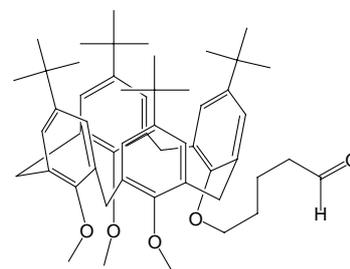


MgSO₄ et filtrée sur coton hydrophile. Après évaporation du toluène sous vide, le brut est purifié sur plaque préparative d'alumine en éluant 2 fois avec un mélange hexane/dichlorométhane 60 : 40. La zone prélevée est redissoute dans un mélange CH₂Cl₂ et quelques gouttes de CH₃OH, puis filtrée. Les solvants sont évaporés pour obtenir 0.079 g d'un solide blanc cassé (rendement : 28 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 1.233 (s, 8H,

tBu) ; 1.253 (s, 16H, *tBu*) ; 1.264 (s, 8H, *tBu*) ; 2.075-2.245 (m, 2H, CH_2 val.) ; 2.191-2.245 (m, 2H, CH_2 val.) ; 2.726 (t, J=7.0 Hz, 2H, CH_2 -CHO) ; 3.469-4.382 ('dd', AB, J_{AB} = 13.0 Hz, 4H, Ar- CH_2 -Ar) ; 4.181 (t, J=6.7 Hz, 2H, O- CH_2) ; 3.480-4.290 ('dd', AB, J_{AB} = 13.6 Hz, 4H, Ar- CH_2 -Ar) ; 7.030-7.128 (m, 8H, *H arom*) ; 9.569 (s, 2H, OH) ; 9.930 (s, 1H, OH) ; 10.177 (s, 1H CHO) ; **RMN** ^{13}C (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 18.989, 29.731, 32.649, 33.411, 34.332, 34.422, 34.653 (*C tBu*, Ar- CH_2 -Ar, CH_2 - CH_2 - CH_2 -CHO) ; 31.652, 31.905 (CH_3 *tBu*) ; 43.908 (O- CH_2) ; 126.060, 126.132, 126.204, 126.894 (*CH arom.*) ; 128.010, 128.440, 128.732, 133.834, 143.605, 144.107, 148.094, 148.668, 148.838, 149.625 (*C_o, C_p, C_i aromatiques*) ; 202.500 (CHO) ; **SM** : **ES**⁻ 731.30 : [M-H]⁻ ; **ES**⁺ 755.15 : [M + Na]⁺ ; 771.16 : [M + K]⁺ ; **AE** : C₄₉H₆₄O₁₆ (MM = 733.042), *calculée* : C : 80.29 ; H : 8.80, *obtenue* : C : 80.76 ; H : 8.93 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 282.0 nm, ϵ = 7088 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 3400-3200 cm⁻¹ (m, large, OH) ; 2960 cm⁻¹ (F, fine, CH Aryl), 1726 cm⁻¹ (m, fine, C=O) ; **PF** : 201 °C

Composé 10

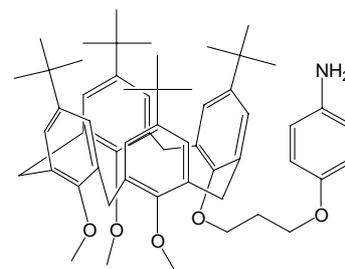
Une solution de 0.500 g (0.610×10^{-3} mol) de composé **7** dans 10 mL de toluène est portée à -90°C. Puis 0.610 mL (0.610×10^{-3} mol) d'une solution 1 mol.L⁻¹ de DiBALH dans le toluène est ajouté au milieu réactionnel. Après 7 heures et 30 minutes d'agitation sous atmosphère d'argon, 10 mL d'une solution aqueuse saturée de NH₄Cl et 10 mL de toluène sont ajoutés. L'eau est évacuée une première fois puis la phase organique est



lavée une nouvelle fois avec 10 mL d'eau. Cette phase organique est séchée sur MgSO₄ puis filtrée sur coton hydrophile. Après évaporation du toluène sous vide à 40°C, le brut est redissous dans un minimum d'hexane. Après filtration du précipité, le filtrat est évaporé sous vide pour obtenir 0.516 g d'un solide blanc (rendement : 85 %). **RMN** 1H et ^{13}C : *inexploitables* ; **SM** : **ES**⁺ : 797.32 [M + Na]⁺ ; 813.29 [M + K]⁺ ; **AE** : C₅₂H₇₀O₅ (MM = 775.122) ; *calculée* : C : 80,58 ; H : 9,10 ; *obtenue* : C : 80,71 ; H : 9,09 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 276.0 nm, ϵ = 2744 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 2960 cm⁻¹ (F, fine, CH Aryl) ; 1734 cm⁻¹ (f, fine, C=O) ; **PF** : 90°C

Composé 11a

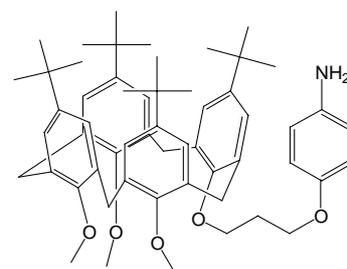
On porte à 70°C une suspension de 0.729 g (0.838×10^{-3} mol) du composé **8** et de 2.224 g (11.732×10^{-3} mol, 14 éq) de SnCl₂ dans 40 ml d'éthanol. Après 19 heures d'agitation sous atmosphère d'argon, la solution devenue limpide, l'éthanol est évaporé. On ajoute au brut réactionnel 40 mL d'H₂O et 75 mL de CHCl₃. Après agitation, la phase aqueuse est portée à pH=11 à l'aide de 40 ml d'une solution aqueuse de K₂CO₃ à 10 % w/w. Après une première extraction, on extrait le produit 3 fois avec 75 ml de



CHCl₃. Les phases organiques sont réunies, lavées avec 50 ml d'H₂O, séchées sur MgSO₄ puis filtré. Le CHCl₃ est ensuite évaporé et le brut séché sous vide. Le produit est ensuite purifié sur colonne de SiO₂ (CH₂Cl₂/CH₃OH 99.5:0.5). On obtient, après évaporation et séchage sous vide, 0,510 g (0.607×10^{-3} mol) d'un solide rose pâle (rendement : 72 %)

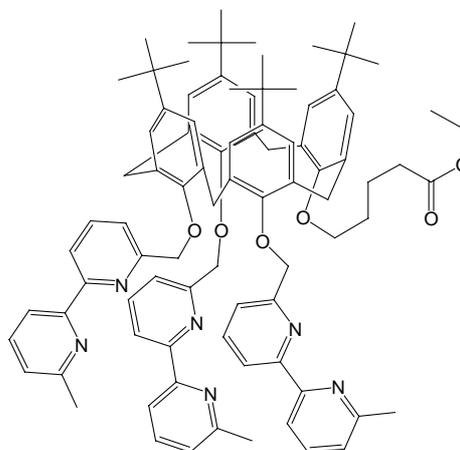
Composé 11b

Une quantité de 0.031 g (0.138×10^{-3} mol) de catalyseur PtO_2 est ajoutée à une solution de 0.120 g (0.138×10^{-3} mol) de composé **8** dans un mélange EtOH (20 mL) et CH_2Cl_2 (7 mL). Le milieu réactionnel est dégazé pendant 1 minute avec H_2 , puis placé pendant 17 heures sous atmosphère d' H_2 à température ambiante. Le catalyseur est filtré sur célite[®], puis rincé avec CH_2Cl_2 puis CH_3OH . Le filtrat est évaporé sous vide (35°C) puis séché sous vide, pour obtenir 0.112 g d'un solide rouge vermillon (rendement : 96 %). **RMN** ^1H et ^{13}C : *inexploitables* ; **SM** : ES^+ : 840 [M^+] ; **AE** : $\text{C}_{56}\text{H}_{73}\text{NO}_5$ (MM = 840,20), *calculée* : C : 80,05 ; H : 8,76, N : 1,67 , *obtenue* : C : 80,25 ; H : 8,77 ; N : 1,77 ; **UV** : CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{max}} = 276.0$ nm, $\varepsilon = 4980$ mol $^{-1}$.L.cm $^{-1}$; **IR** : 2960.83 cm $^{-1}$ (F, fine, CH) ; **PF** : 98°C



Composé 12

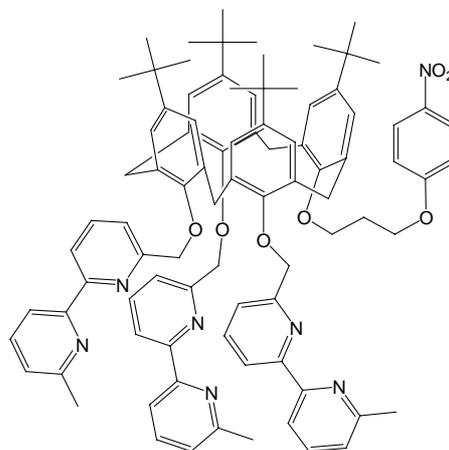
Une quantité de 0.013 g (0.336×10^{-3} mol) de NaH (60 % dans huile, après lavage) et un volume de 0.021 mL (0.134×10^{-3} mol) de bromovalérate d'éthyle est ajoutée à une solution de 0.100 g (0.084×10^{-3} mol) de calixarène **C** dans 1 mL de DMF. Après 17 heures d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, le DMF est ensuite évaporé sous vide à 60°C , puis 10 mL d'eau et 10 mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés au résidu. La phase aqueuse est neutralisée avec une solution d'acide chlorhydrique 1 M et le produit est extrait 3 fois avec 10 mL de CH_2Cl_2 . Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO_4 et sur Na_2SO_4 , puis filtrées sur coton hydrophile et évaporées. Le résidu est ensuite purifié sur plaque préparative d'alumine en éluant une fois avec du CH_2Cl_2 , puis séché 4 heures sous vide pour obtenir 0.069 g d'un solide blanc (rendement : 62 %). **RMN** ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 1.055 (s, 18H, *tBu*) ; 1.171 (s, 9H, *tBu*) ; 1.185-1.192 (m, 12H, *tBu* + CH_3 éthyle) ; 1.766-1.807 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ val.) ; 2.013 (t, $J=7.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOEt}$) ; 2.622 (s, 9H, CH_3 bpy.) ; 3.069-4.405 ('dd', 4H, AB, $J_{\text{AB}}=12.6$ Hz, Ar- CH_2 -Ar) ; 3.058-4.425 (4H, 'q', AB, $J_{\text{AB}}=12.4$ Hz, Ar- CH_2 -Ar) ; 3.790 ('q', 2H, O- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ val.) ; 4.055 (q, $J=2.5$ Hz, 2H, CH_2 éthyle) ; 5.042-5.156 (m, 4H, O- CH_2 bpy.) ; 5.156 (2H, s, O- CH_2 bpy.) ; 6.729-6.763 ('q', AB, $J_{\text{AB}}=2.5$ Hz, 4H, *H Ar*) ; 6.895 (s, 2H, *H Ar*) ; 6.910 (s, 2H, *H Ar*) ; 7.107 (d, $J=7.5$ Hz, 2H, *H bpy.*) ; 7.116 (d, $J=7.5$ Hz, 2H, *H bpy.*) ; 7.472-7.699 (m, 8H, *H bpy.*) ; 7.946 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, *H bpy.*) ; 8.064 (d, $J=7.9$ Hz, 2H, *H bpy.*) ; 8.217 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, *H bpy.*) ; 8.383 (d, $J=7.4$ Hz, 2H, *H bpy.*) ; **RMN** ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 14.596 (CH_3 éthyle) ; 21.676 (CH_2 éthyle) ; 24.935 (CH_3 bpy.) ; 29.733 (CH_2 val.) ; 31.468 (CH_3 *tBu*) ; 31.665 (Ar- CH_2 -Ar) ; 31.796 (CH_3 *tBu*) ; 31.928 (CH_3 *tBu*) ; 32.139 (CH_3 *tBu*) ; 34.210 (C *tBu*) ; 34.305 (C *tBu*) ; 34.494 (C *tBu*) ; 60.488 (CH_2 val.) ; 74.859 (CH_2 val.) ; 77.889 (O- CH_2 bpy.) ; 78.548 (O- CH_2 bpy.) ; 118.738 (CH bpy) ; 119.999 (CH bpy) ; 120.261 (CH bpy) ; 123.462 (CH bpy) ; 123.557 (CH bpy) ; 123.783 (CH bpy) ; 125.416 (CH Ar calix) ; 125.453 (CH Ar calix) ; 125.570 (CH Ar calix) ; 125.664 (CH Ar calix) ; 133.729 (Co,Cp Ar) ; 133.794 (Co,Cp Ar) ; 134.560 (Co,Cp Ar) ; 134.749 (Co,Cp Ar) ; 137.389 (CH bpy) ; 137.542 (CH bpy) ; 137.731 (CH bpy) ; 145.023 (Co,Cp Ar) ; 145.096 (Co,Cp Ar) ; 153.050 (Co,Cp Ar) ; 153.568 (Co,Cp Ar) ; 153.868 (Co,Cp Ar) ; 155.756, 155.909, 157.812, 157.899, 158.009,



158.132, (C(2),C(2'),C(6),C(6') bpy) ; 173.787 (C=O ester) ; **SM** : **ES**⁺ : 1346.84 [M + Na]⁺ ; **AE** : C₈₇H₉₈N₆O₆ (MM = 1323,78), *calculée* : C : 78.94 ; H : 7.46 ; N : 6.35 , *obtenue* : C : 78.72 ; H : 7.33 ; N : 6.22 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 288.0 nm, ε = 50075 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 2960 cm⁻¹ (F, fine, CH Aryl) ; 1735 (m, fine, C=O) ; **PF** : 81°C

Composé 13

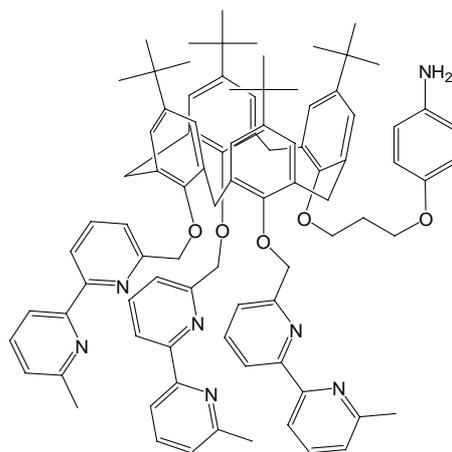
Une quantité de 0,120 g (5.000×10⁻³ mol, 6.3 éq) de NaH (60 % dans huile, après lavage) est ajoutée à une solution de 0,940 g (0,786×10⁻³ mol) de calix[4]arène **C** dans 10 mL de DMF. Après 5 minutes d'agitation sous atmosphère d'argon, une fois le dégagement gazeux terminé, 1,205 g (4,897×10⁻³ mol, 6.2 éq) de *l*-bromo 3-*p*-nitrophénoxy propane sont ajoutés à la solution. Après 41 heures d'agitation à température ambiante sous atmosphère d'argon, le DMF est évaporé sous vide poussé. 50 mL d'H₂O sont ajoutés au brut réactionnel. Le produit est extrait 3 fois avec 50 ml de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies,



séchées sur NaSO₄, filtrées puis évaporées. Le produit est ensuite chromatographié sur colonne de silice (CH₂Cl₂ pur puis CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1). Le solide obtenu (verre) est ensuite repris dans un minimum d'acétone puis précipité dans l'eau. Après filtration, le solide est placé au dessiccateur pour obtenir 1,007 g d'un solide blanc (rendement : 93 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 0.972 (s, 18 H, *t*Bu latéral) ; 1.269 (s, 9H, *t*Bu axial) ; 1.296 (s, 9H, *t*Bu axial) ; 2.321 (quint., 2H, CH₂-CH₂-CH₂) ; 2.579 (s, 6H, CH₃ bpyridine lat.) ; 2.636 (s, 3H, CH₃ bpyridine axial) ; 3.132-4.452 ('dd', AB, J_{AB}=12.6 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 3.385 (t, J=6.3 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂) ; 3.856 (t, J=7.6 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂) ; 3.132-4.503 ('dd', AB, J_{AB}=12.8 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.879-5.030 ('q', AB, J_{AB}=11.2 Hz, 4H, O-CH₂-bpyridine latéral) ; 5.296 (s, 2H, O-CH₂-bpyridine axial) ; 6.449-7.995 ('dd', AB, J_{AB}=9.2 Hz, 4H, Ar-NO₂) ; 6.625-6.613 (AB, J_{AB} = 2.3 Hz, 4H, Ar calix.) ; 7.036-7.127 (massif, 7H, 4H Ar calix.+ 3H . bpyridine) ; 7.468-7.620 (massif, 9H, H . bpyridine) ; 7.906 (d, J=7.8 Hz, 1H , H . bpyridine axial.) ; 8.134 (d, J=7.8 Hz, 2H , H . bpy) ; 8.242 (d, J=7.8 Hz, 3H, H arom . bpyridine) ; **RMN** ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 25.005 (CH₃ bpy.) ; 25.066 (CH₃ bpy.) ; 30,002 (CH₂-CH₂-CH₂) ; 31.598 (Ar-CH₂-Ar) ; 31.678 (CH₃ *t*Bu latéral) ; 32.024 (CH₃ *t*Bu central) ; 32.0894 (CH₃ *t*Bu) ; 34.151 (C *t*Bu) ; 34.415 (C *t*Bu) ; 34.451 (C *t*Bu) ; 66.754 (CH₂-CH₂-CH₂) ; 71.701 (CH₂-CH₂-CH₂) ; 77.991 (OCH₂ bpy.) ; 79.132 (OCH₂ bpy) ; 114.480 (CH Ar-NO₂) ; 118.401 (CH bpy) ; 118.668 (CH bpy) ; 119.950 (CH bpy) ; 120.250 (CH bpy) ; 123.446 (CH bpy) ; 123.579 (CH bpy) ; 123.828 (CH bpy) ; 123.911 (CH bpy) ; 125.291 (CH Ar calix) ; 125.374 (CH Ar calix) ; 125.814 (CH Ar calix) ; 125.962 (CH Ar calix + CH Ar-NO₂ ortho) ; 133.054 (Co,Cp Ar) ; 133.119 (Co,Cp Ar) ; 135.019 (Co,Cp Ar) ; 135.546 (Co,Cp Ar) ; 137.243 (CH bpy) ; 137.304 (CH bpy) ; 137.503 (CH bpy) ; 141.356 (C Ar-NO₂) ; 145.111 (Co,Cp Ar) ; 145.617 (Co,Cp Ar) ; 152.712 (Co,Cp Ar) ; 154.110 (Co,Cp Ar) ; 154.149 (Co,Cp Ar) ; 155.644, 155.698, 156,099, 156.146, 157.327, 158.092, 158.183, 158.324 (C(2),C(2'),C(6),C(6') bpy) ; 164.350 (C-NO₂) ; **SM** : **ES**⁺ 1375.74 [M+H]⁺, 1397.75 [M+Na]⁺ ; **AE** : C₈₉H₉₅N₇O₇ (MM = 1374.772), *calculée* : C : 77.76 ; H : 6.96 ; N : 7.13, *obtenue* : C : 77.53 ; H : 7.05 ; N : 7.03 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max}=291.0 nm, ε= 52403 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 2961 cm⁻¹ (F, fine, CH) 1341.71 cm⁻¹(fine, intense : NO₂) ; **PF** : 103°C

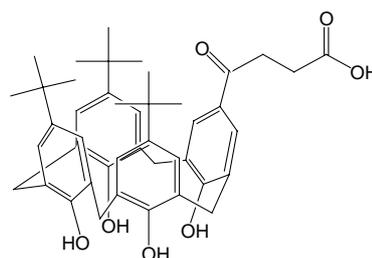
Composé 14

Une suspension de 0,800 g (0.582×10^{-3} mol) de composé **13** et de 1.700 g (8.966×10^{-3} mol, 15.4 éq.) de SnCl_2 dans 100 mL d'éthanol est portée à 70°C . Après 14 heures d'agitation sous atmosphère d'argon, la solution devenue limpide, l'éthanol est évaporé. 75 mL d' H_2O et 75 mL de CHCl_3 sont ajoutés au brut réactionnel. Après agitation, la phase aqueuse est portée à $\text{pH}=11$ à l'aide de 50 mL d'une solution aqueuse de K_2CO_3 à 10 % w/w. Après une première extraction, le produit est à nouveau extrait 2 fois avec 75 mL de CHCl_3 . Les phases organiques sont réunies, lavées avec 75 mL d' H_2O , séchées sur Na_2SO_4 puis filtrées. Le CHCl_3 est ensuite évaporé et le brut séché sous vide. Le produit est ensuite purifié sur colonne de SiO_2 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98,5:1,5) pour obtenir après évaporation et séchage sous vide, 0.499 g (0.371×10^{-3} mol) d'un solide rose pâle (rendement : 64 %). **RMN** ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 0.993 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.231 (s, 9H, *tBu*) ; 1.261 (s, 9H, *tBu*) ; 2.343 (quint, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 2.615 (s, 9H, CH_3 bpyridine) ; 3.032-4.400 ('dd', AB, $J_{\text{AB}} = 12.6$ Hz, 4H, Ar- $\text{CH}_2\text{-Ar}$) ; 3.555 (t, $J=6.4$ Hz, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 3.985 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 3.070-4.426 ('dd' ; AB, $J_{\text{AB}} = 12.4$ Hz, 4H, Ar- $\text{CH}_2\text{-Ar}$) ; 4.941-5.060 (AB, $J_{\text{AB}} = 11.8$ Hz, 4H, O- $\text{CH}_2\text{-bpyridine}$) ; 5.231 (s, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-bpyridine}$) ; 6.525-6.595 ('q', AB, $J_{\text{AB}} = 9.1$ Hz, 4H, Ar- NH_2) ; 6.643-6.696 ('dd', AB, $J_{\text{AB}} = 2.3$ Hz, 4H, Ar calix.) ; 6.971-6.996 ('d', 4H, Ar calix.) ; 7.080-7.107 (m, 3H, H bpyridine) ; 7.467-7.651 (massif, 9H, H bpyridine) ; 7.880 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H arom. bpyridine) ; 8.095 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, H bpyridine) ; 8.202 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H bpyridine) ; 8.267 (d, $J=7.3$ Hz, 2H, H bpyridine) ; **RMN** ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 25.048 (CH_3 bpy.) ; 30.501 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 31.461 (Ar- $\text{CH}_2\text{-Ar}$) ; 31.642 (CH_3 *tBu*) ; 32.006 (CH_3 *tBu*) ; 32.064 (CH_3 *tBu*) ; 34.151 (C *tBu*) ; 34.382 (C *tBu*) ; 66.162 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 72.499 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 77.7 (O CH_2 bpy.) ; 78.840 (O CH_2 bpy) ; 115.718 (CH Ar- NH_2) ; 116.805 (2C, CH Ar- NH_2) ; 118.607 (CH bpy) ; 118.759 (CH bpy) ; 119.874 (CH bpy) ; 120.203 (CH bpy) ; 123.334 (CH bpy) ; 123.467 (CH bpy) ; 123.749 (CH bpy) ; 123.901 (CH bpy) ; 125.255 (CH Ar calix) ; 125.356 (CH Ar calix) ; 125.692 (CH Ar calix) ; 125.782 (CH Ar calix) ; 133.314 (Co,Cp Ar) ; 133.368 (Co,Cp Ar) ; 135.044 (Co,Cp Ar) ; 135.340 (Co,Cp Ar) ; 137.275 (CH bpy) ; 137.373 (CH bpy) ; 137.604 (CH bpy) ; 139.944 (C Ar- NH_2 para) ; 144.916 (Co,Cp Ar) ; 145.035 (Co,Cp Ar) ; 145.223 (Co,Cp Ar) ; 152.799 (C- NH_2) ; 152.857 (Co,Cp Ar) ; 153.918 (Co,Cp Ar) ; 154.152 (Co,Cp Ar) ; 155.507, 155.969, 156.197, 157.558, 157.897, 158.013, 158.129, (C(2),C(2'),C(6),C(6') bpy) ; **SM** : **ES** $^+$: 1344.77 [M^+] ; **AE** : $\text{C}_{89}\text{H}_{95}\text{N}_7\text{O}_5$ (MM = 1344.789), calculée : C : 79.49 ; H : 7.27 ; N : 7.29, obtenue : C : 79.32 ; H : 7.17 ; N : 7.26 ; **UV** : CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{max}} = 290.0$ nm, $\epsilon = 43100$ $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; **IR** : KBr, 2961 cm^{-1} (F, fine, CH Aryl) ; **PF** : 102°C



Composé 15

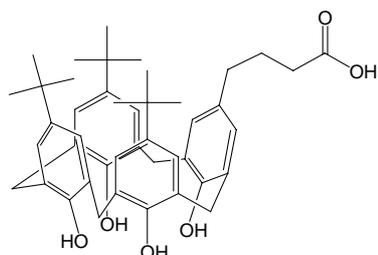
Une quantité de 0.720 g (18.000×10^{-3} mol, 12 éq.) d'hydroxyde de sodium est ajoutée à une suspension de 1.500 g (1.492×10^{-3} mol) de calix[4]arène **D** dans 80 mL d'un mélange 1:1 éthanol/eau. L'ensemble est agité à 100°C pendant 18 heures. La solution est refroidie, puis 20 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 M et 50 mL d'eau y sont ajoutés. Le produit est extrait de la phase aqueuse 3 fois



avec 100 mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de sodium puis filtrées. Le dichlorométhane est évaporé sous vide (30°C). Le résidu obtenu est redissous dans 32 mL d'un mélange 1:3 dichlorométhane/éthanol. Après évaporation à froid du dichlorométhane, le précipité formé est filtré sur fritté et rincé à l'éthanol. Le solide obtenu est séché 4 heures sous vide poussé pour obtenir 0.855 g (1.234×10^{-3} mol) d'un solide blanc (rendement : 83 %). **RMN** ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 1.115 (s, 9H, *tBu*) ; 1.147 (s, 18H, *tBu*) ; 2.658 (t, $J=6.6$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$) ; 3.094 (t, $J=6.6$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$) ; 3.431- 4.176 ('dd', AB, $J_{\text{AB}}=13.1$ Hz, 4H, Ar- CH_2 -Ar) ; 3.518- 4.205 ('t', AB, $J_{\text{AB}}=13.8$ Hz, 4H, Ar- CH_2 -Ar) ; 6.962 (s, 2 H, *H* arom.) ; 7.016 ('q', AB, $J_{\text{AB}}=2.3$ Hz, 4 H, *H* arom. latéraux) ; 7.658 (s, 2 H, *H* arom.) ; 10.224 (s large, 4 H, OH phénoliques) ; **RMN** ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 28.010 (CH_2 succ.) ; 31.335 (CH_3 *tBu*) ; 31.393 (CH_3 *tBu*) ; 32.159 (Ar- CH_2 -Ar) ; 32.363 (Ar- CH_2 -Ar) ; 32.363 (Ar- CH_2 -Ar) ; 33.945 (C *tBu*) ; 34.076 (C *tBu*) ; 125.698, 125.844, 126.326 (CH arom.) ; 126.638, 127.375, 128.126, 128.732 (C_o, C_p arom.) ; 129.504 (CH arom.) ; 130.613, 144.656, 144.962, 146.180, 146.289, 154.105 ; 177.933 (C=O) ; 196.176 (COOH) ; **SM** ES^+ : 715.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 731.4 $[\text{M}+\text{K}]^+$; ES^- : 691.3 $[\text{M}-\text{H}]^-$; **AE** : $\text{C}_{44}\text{H}_{52}\text{O}_7$, H_2O (MM = 710.905) ; *calculée* : C : 74.34 ; H : 7.66 ; N : 0, *obtenue* : C : 74.38 ; H : 7.71 ; N : 0 ; **UV** : CH_2Cl_2 , λ_{max} = 280.0 nm, ϵ = 14074 $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; **IR** : KBr, 3179 cm^{-1} (F, large, OH) ; 2959 cm^{-1} (F, fine, CH Aryl) ; 1677 cm^{-1} (F, fine, C=O) ; **PF** : 263°C.

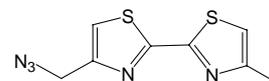
Composé 16

Une suspension de 0.430 g (0.428×10^{-3} mol) de calix[4]arène **D**, dans 10 mL de diéthylèneglycol est portée à 245°C. Après dissolution du produit, 2 mL d'hydrazine hydrate et 0.300 g de KOH sont ajoutés au milieu réactionnel (*avec présence accidentelle de mercure, issu d'un thermomètre, dans le milieu réactionnel*). Le milieu réactionnel étant toujours porté à 245°C, 3 ajouts successifs de 2 mL d'hydrazine hydrate sont effectués toutes les 4 heures. Après 12 heures de réaction, on laisse refroidir puis on ajoute une solution aqueuse d'HCl 1M pour neutraliser le milieu réactionnel. Le produit est ensuite extrait au dichlorométhane. Après évaporation, le brut réactionnel est purifié deux fois sur plaque préparative de silice (99/1 CH_2Cl_2 / CH_3OH puis CH_2Cl_2), pour obtenir 0.030 g d'un produit blanc cassé. **RMN** ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 1.254 (s, 27 H, *tBu*) ; 1.909 (quint. $J=7.5$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 2.375 (t, $J=7.3$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 2.494 (t, $J=7.5$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 3.523-4.268 ('dd' large, AB, 8H, Ar- CH_2 -Ar) ; 6.893 (s, 2 H, *H* arom.) ; 7.101 (s, 4 H, *H* arom. latéraux) ; 7.107 (s, 2 H, *H* arom.) ; 10.332 (s large, 4 H, OH) ; **SM** : ES^+ : 701.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 717.4 $[\text{M}+\text{K}]^+$, ES^- : 677.4 $[\text{M}-\text{H}]^-$



Composé 17

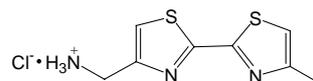
Une solution de 3,000 g ($10,911 \times 10^{-3}$ mol) de 4-bromométhyl-4'-méthyl-2,2'-bithiazole dans 30 mL de DMSO est porté à 70°C. Puis 2,600 mg ($40,000 \times 10^{-3}$ mol) de NaN₃ sont additionnés à la solution.



Après 2 heures d'agitation en milieu anhydre, le milieu réactionnel est refroidi puis 30 mL d'eau sont ajoutés. Le produit est ensuite extrait au toluène (4 x 75 mL). Les phases organiques sont réunies, lavées une fois avec 75 mL d'eau, séchées sur MgSO₄ puis évaporées. Le brut est chromatographié sur colonne d'Al₂O₃ en éluant par un mélange hexane/CH₂Cl₂ (50/50 puis 40/60). L'huile obtenue recristallise lentement pour obtenir 2,370 g d'un solide blanc (92 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 2.549 (d, J = 0.76 Hz, 3 H, CH₃) ; 4.548 (s, 2 H, CH₂) ; 7.025 (q., J = 0.76 Hz, 1 H, H arom.) ; 7.322 (s, 1 H, H arom.) ; **RMN** ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 17.537 (CH₃) ; 50.545 (CH₂) ; 116.549 (CH 5') ; 118.412 (CH 5) ; 152.683 (C 4') ; 154.792 (C 4) ; 160.555 (C 2') ; 162.769 (C 2) ; **AE** : C₈H₇N₅S₂ (MM=237.29) , calculée : C : 40.49 ; H : 2.97 ; N : 29.51 , obtenue : C : 40.48 ; H : 3.06 ; N : 29.46 ; **UV** : CH₃OH ; λ_{max} = 340 nm, ε = 17283 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **SM** : 273 [M]⁺ ; **IR** : KBr, 2200-2000 cm⁻¹ (large, F, N₃) ; **PF** : 37-38 °C

Composé 18

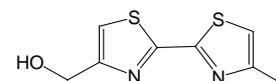
Une quantité de 0,800 g ($3,371 \times 10^{-3}$ mol) de composé 17 est dissoute dans 60 mL d'un mélange 1:3 dichlorométhane/éthanol. Puis, 0,250 g de catalyseur (Pd 10 % sur charbon) est ensuite



ajouté au milieu réactionnel et du dihydrogène est fait buller pendant 1 minute dans la solution. Après une nuit de vive agitation à température ambiante sous atmosphère de dihydrogène, le brut réactionnel est filtré sur célite[®] et lavé avec CH₂Cl₂ et CH₃OH. Le filtrat est ensuite évaporé. Le brut obtenu est redissous dans 250 mL d'eau puis la solution est neutralisée avec une solution aqueuse d'HCl 1 M. La solution est ensuite lavée avec CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). La phase aqueuse est ensuite évaporée puis séchée sous vide. Le brut est redissous dans 50 mL de CH₃OH et on fait précipiter le produit dans 200 mL de diéthyléther. Le précipité est filtré puis placé au dessiccateur pour obtenir 0,642 g d'un solide blanc (76 %). **RMN** ¹H (D₂O, 400 MHz, δ ppm) : 2.295 (s, 3 H, CH₃) ; 4.221 (s, 2 H, CH₂) ; 7.169 (s., 1 H, H arom.) ; 7.627 (s, 1 H, H arom.) ; **RMN** ¹³C (D₂O, 400 MHz, δ ppm) : 16.010 (CH₃) ; 38.679 (CH₂) ; 117.935 (CH 5') ; 121.698 (CH 5) ; 148.668 (C 4') ; 154.460 (C 4) ; 160.255 (C 2') ; 162.368 (C 2) ; **AE** : C₈H₁₀N₃S₂Cl, 0.1 H₂O (MM=249.575), calculée : C : 38.50 ; H : 4.12 ; N : 16.83, obtenue : C : 38.69 ; H : 4.05 ; N : 16.51 ; **UV** : CH₃OH, λ_{max} = 328 nm ; ε = 17332 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **SM** : 211 [M - HCl]⁺ ; **IR** : KBr, 3100-2800 cm⁻¹ (large, F, NH₃⁺) ; **PF** : 229-230 °C

Composé 19

Un mélange de 1 g ($3,63 \times 10^{-3}$ mol) de 4-bromométhyl-4'-méthyl-2,2'-bithiazole et d'une solution aqueuse d'acide sulfurique diluée (7 mL pour 100 mL d'eau) est chauffé à 110°C pendant 2 heures. Le

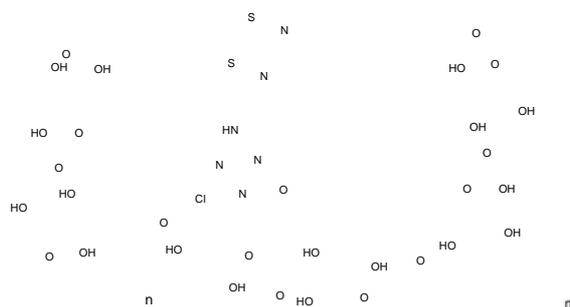


brut réactionnel est ensuite neutralisé à l'aide d'une solution de soude (10,480 g dans 50 mL d'eau). Le monoalcool est ensuite extrait au CH₂Cl₂ (5 x 50 ml). Les phases organiques sont ensuite séchées sur Na₂SO₄ puis évaporées. Le produit est réorganisé dans un mélange

CH₂Cl₂/hexane pour obtenir, après filtration, 0,770 g d'un solide rose pâle (99 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 2.534 (s, 3 H, CH₃) ; 4.851 (s, 2 H, CH₂) ; 7.012 (s, 1 H, H arom.) ; 7.299 (s, 1 H, H arom.) ; **RMN** ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 17.534 (CH₃) ; 61.421 (CH₂) ; 116.278 (CH 5') ; 116.769 (CH 5) ; 154.723 (C 4') ; 157.858 (C 4) ; 160.783 (C 2') ; 162.346 (C 2) ; **AE** : C₈H₈N₅S₂O (MM=212.296), *calculée* : C : 45.26 ; H : 3.80 ; N : 13.19, *obtenue* : C : 44.97 ; H : 3.80 ; N : 13.01 ; **UV** : CH₃OH, λ_{max} = 350 nm, ε = 16729 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 3400-3500 cm⁻¹ (large, F, OH) ; **PF** : 138°C

Composé 20

Une solution aqueuse 0.1 mol.L⁻¹ de K₂CO₃ est ajoutée progressivement à une solution de 0.025 g de composé **18** dans 2 mL d'eau jusqu'à obtention d'une suspension à pH=10. A cette suspension, on ajoute de l'acétone jusqu'à dissolution complète du précipité, puis 0.020 g de cellulose activée. Après 2 heures et 30 minutes d'agitation à température ambiante, le polymère est filtré, rincée successivement avec de l'eau, de l'acétone, du dichlorométhane et du méthanol.

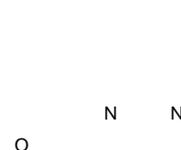


Composé 21

Une quantité de 0.415 g (2.972×10⁻³ mol) de K₂CO₃ est ajoutée à une solution de 0.413 g (2.972×10⁻³ mol) de *paranitrophénol* dans 8 mL de DMF. Après 20 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, 0.600 g (2.972×10⁻³ mol) de *6-bromométhyl-6'-méthyl-2,2'-bipyridine* est ajouté à la solution. Après 18 heures et 30 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, le DMF est évaporé sous vide à 60°C. Le résidu est ensuite séché sous vide poussé pendant 4 heures. 50 mL d'eau sont ensuite ajoutés à l'ensemble et le produit est extrait 3 fois avec 50 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont ensuite réunies, séchées sur Na₂SO₄ et filtrées sur coton hydrophile. Après évaporation du filtrat, le résidu est chromatographié sur colonne courte d'alumine en éluant avec du CH₂Cl₂ pur pour obtenir 0.940 g d'une poudre blanche. (rendement 98 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 2.581 (s, 3H, CH₃) ; 5.309 (s, 2H, CH₂) ; 7.011-8.155 ('dd', AB, J_{AB} = 9.3 Hz, 4H, H arom. Ar-NO₂) ; 7.131 (d, J= 7.8 Hz, 1H, H arom. bpy.) ; 7.403 (d, J=7.5 Hz, 1H, H arom. bpy.) ; 7.652 (t, J=7.8 Hz, 1H, H arom.bpy.) ; 7.882 (t, J= 7.8 Hz, 1H, H arom. bpy.) ; 8.113 (d, J=8 Hz, 1H, H arom. bpy.) ; 8.309 (d, J=7.8 Hz, 1H, H arom. bpy.). **AE** : C₁₈H₁₅N₃O₃ (MM=321.335), *calculée* : C : 67.28 ; H : 4.70 ; N : 13.08, *obtenue* : C : 67.42 ; H : 4.69 ; N : 13.08 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 294,0 nm, ε = 23416 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 1600 cm⁻¹ – 1500 cm⁻¹ : (F, fine, C=C aromatique), **PF** : 160°C

Composé 22

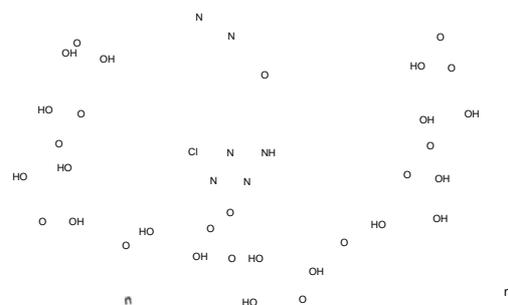
Une quantité de 0.083 g (0.078 mol) de catalyseur palladium sur charbon 10 % est ajoutée à une solution de 0.500 g (1.556×10⁻³ mol) du composé **21** dans 20 mL de CH₂Cl₂ et 30



mL d'éthanol, chauffée quelques instants pour permettre la dissolution. Cette solution est dégazée au dihydrogène pendant 1 minute. L'ensemble est placé ensuite sous atmosphère de dihydrogène et à température ambiante. Après 5 heures et 10 minutes de vive agitation dans les mêmes conditions, le catalyseur est filtré sur célite® puis rincé au CH₃OH puis au CH₂Cl₂. Le filtrat est évaporé sous vide à 35°C. Le résidu est ensuite chromatographié sur colonne d'alumine en éluant avec CH₂Cl₂ puis avec un mélange CH₂Cl₂/CH₃OH 99/1. Les fractions sont évaporées pour obtenir 0.380 g d'une poudre rougeâtre. (rendement 84 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 2.662 (s, 3H, CH₃); 5.240 (s, 2H, CH₂); 6.650-6.908 ('dd', AB, J_{AB}=8.8 Hz, 4H, H arom. Ar-NH₂); 7.197 (d, J= 7.5 Hz, 1H, H arom. bpy.); 7.541 (d, J= 7.5 Hz, 1H, H arom. bpy.); 7.725 (t, J=7.8 Hz, 1H, H arom.bpy.) ; 7.834 (t, J= 7.8 Hz, 1H, H arom. bpy.); 8.321 (d, J=7.8 Hz, 1H, H arom. bpy.) ; 8.44 (d, J= 7.5 Hz, 1H, H arom. bpy.); **AE** : C₁₈H₁₇N₃O (MM = 291.3520), *calculée* : C : 72.26 ; H : 6.33 ; N : 9.16, *obtenue* : C : 72.25 ; H : 6.32 ; N : 9.26 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max}= 290,0 nm, ε= 21819 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 3422 cm⁻¹, 3342 cm⁻¹ (m, N-H), 1500 – 1600 cm⁻¹ (F, fine, C=C aromatiques) ; **PF** : 121°C

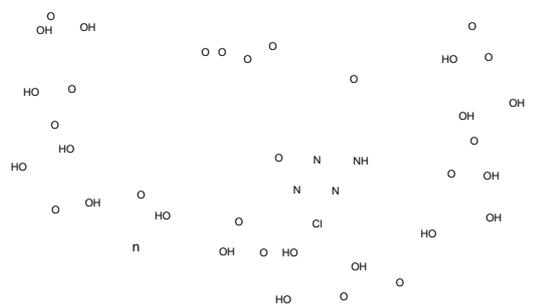
Composé 23

Une suspension de 0.100 g de cellulose en poudre dans 9 mL de DMF est portée à 30°C. Après 30 minutes d'agitation, 0.036 g (0.123×10⁻³ mol) de composé **22** puis 0.025 g (0.135×10⁻³ mol) de chlorure de cyanuryle sont ajoutés au milieu réactionnel. Une heure plus tard, 0.50 mL d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2.5 M est ajouté puis 20 minutes plus tard, 0.50 mL de la même solution est ajouté. Après 2 heures et 40 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à 70 °C pendant 1 heure et 30 minutes. Après refroidissement du milieu réactionnel, la cellulose est filtrée puis rincée successivement au DMF, à l'eau, puis à l'éthanol et au CH₂Cl₂. La cellulose greffée est ensuite séchée sous vide.



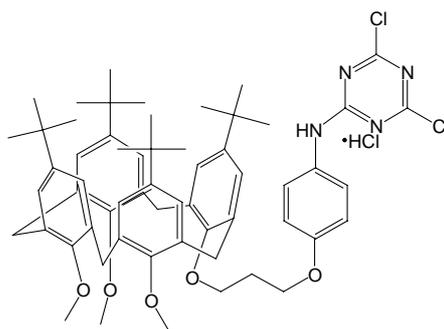
Composé 24

Une suspension de 0.100 g de cellulose en poudre dans 4 mL de DMF est portée à 30°C. Après 1 heure et 15 minutes d'agitation, 0.050 g (0.051×10⁻³ mol) de composé **11** puis 0.035 g (0.190×10⁻³ mol) de chlorure de cyanuryle sont ajoutés au milieu réactionnel. 1 heure et 25 minutes plus tard, 0.20 mL d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2.5 M est ajouté puis 1 heure plus tard, 0.20 mL de la même solution est ajouté. Après 3 heures et d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à 70°C pendant 2 heures. Après refroidissement du milieu réactionnel, la cellulose est filtrée puis rincée successivement au DMF, à l'eau, puis à l'éthanol et au CH₂Cl₂. La cellulose greffée est ensuite séchée sous vide, pour obtenir 0,098 mg d'une poudre blanche.



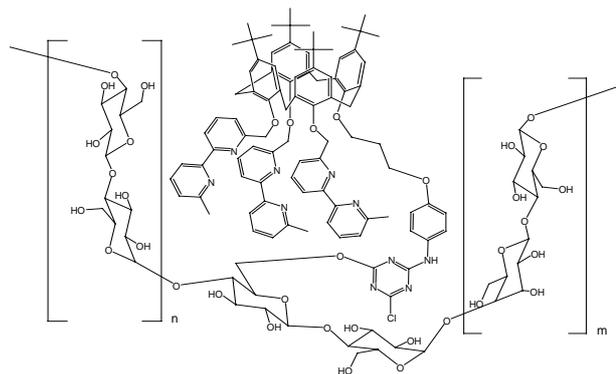
Composé 25

Un mélange de 0,510 g de composé **11** ($0,607 \times 10^{-3}$ mol, 1 éq.) dans 10 mL d'acétone et 0,084 g ($0,607 \times 10^{-3}$ mol, 1 éq.) de K_2CO_3 dans 2,5 mL d' H_2O est ajouté au goutte à goutte à une solution de 0,123 g ($0,668 \times 10^{-3}$ mol, 1,1 éq.) de chlorure de cyanuryle (préalablement recristallisé dans le chloroforme) dans 5 ml d'acétone refroidie entre 0 et $5^\circ C$. Après l'addition totale de la solution basique d'amine, la solution est laissée sous agitation à $0-5^\circ C$ pendant 45 minutes. L'acétone et l'eau une fois évaporées sous vide ($30^\circ C$), 30 mL de CH_2Cl_2 sont ajouté au brut réactionnel. La solution est lavée 2 fois avec 30 mL d' H_2O , séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée pour obtenir 0,515 g (0.503 mol) d'un solide rose (83 %). **RMN 1H** et **^{13}C** : *inexploitables* ; **SM** : **ES $^+$** : 1011.3 [M + Na] $^+$; 1027.4 [M + K] $^+$. **AE** : $C_{59}H_{72}N_4O_5Cl_2$, HCl (MM= 1024,61) ; *calculée* : C : 69,16, H : 7,08 N : 5,47 , *obtenue* : C : 68,84 H : 7,09 N : 5,59 ; **UV** : DMSO, $\lambda_{max}=280.0$ nm, $\epsilon= 27\ 714$ mol $^{-1}$.L.cm $^{-1}$; **IR** : KBr, 2961 cm $^{-1}$ (F, fine, -CH) ; **PF** : $126^\circ C$



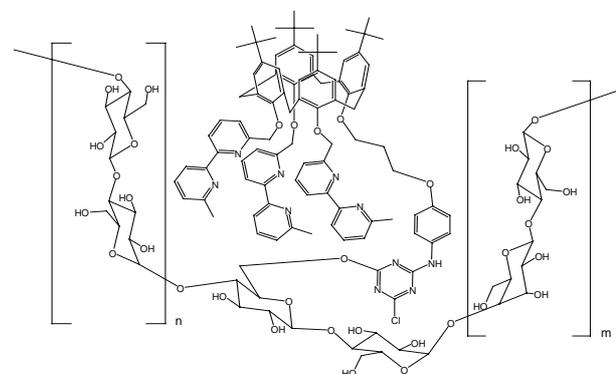
Composé 26a

Une suspension de 0.150 g de cellulose en poudre dans 7,5 mL de DMF est portée à $30^\circ C$. Après 1 heure et 20 minutes d'agitation, on ajoute 0.041 g (0.030 mol) de composé **14** puis 0.006 g (0.033 mol) de chlorure de cyanuryle. 40 minutes plus tard, on ajoute au milieu 0.12 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 2.5 M puis 20 minutes plus tard, on effectue un nouvel ajout de 0.12 mL de la même solution. Après 2 heures et 40 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à $70^\circ C$ pendant 1 heure 30 minutes. Après refroidissement du milieu réactionnel, la cellulose est filtrée puis rincée successivement au DMF, à l'eau, à l'éthanol et au CH_2Cl_2 , puis séchée sous vide.



Composé 26b

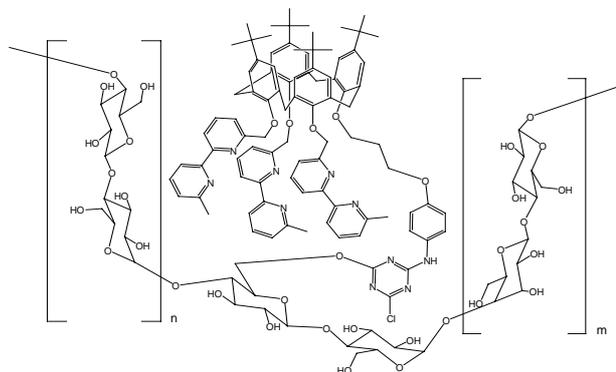
Une suspension de 0.075 g de cellulose en poudre dans 9 mL de DMF est portée à $30^\circ C$. Après 45 minutes d'agitation, on ajoute 0.100 g ($0,075 \times 10^{-3}$ mol) de composé **14** puis 0.015 g ($0,082 \times 10^{-3}$ mol) de chlorure de cyanuryle. 40 minutes plus tard, on ajoute au milieu 0.60 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 2.5 M puis 20 minutes plus tard, on effectue un nouvel ajout de 0.60 mL de la même solution. Après 2 heures et 40 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à $70^\circ C$ pendant 1 heure 30 minutes. Après refroidissement du milieu réactionnel, la cellulose est filtrée puis rincée successivement au



DMF, à l'eau, au CH₂Cl₂ et au CH₃OH. Après séchage sous vide, on obtient 0.110 g d'une poudre blanche.

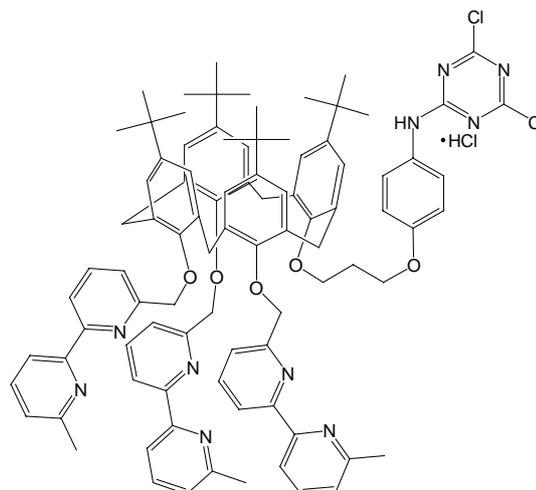
Composé **26c**

Une suspension de 0.075 g de cellulose en poudre dans 9 mL de DMF est portée à 30°C. Après 1 heure et 20 minutes d'agitation, on ajoute 0.187 g (0.139×10^{-3} mol) de composé **14** puis 0.028 g (0.153×10^{-3} mol) de chlorure de cyanuryle. 40 minutes plus tard, on ajoute au milieu 0.55 mL d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2.5 M puis 20 minutes plus tard, on effectue un nouvel ajout de 0.55 mL de la même solution. Après 2 heures et 40 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à 70 °C pendant 1 heure et 20 minutes. Après refroidissement du milieu réactionnel, la cellulose est filtrée puis rincée successivement au CH₂Cl₂, à l'eau puis à l'éthanol et séchée sous vide.



Composé **27**

Un mélange de 0,115 g de composé **14** ($0,086 \times 10^{-3}$ mol, 1 éq.) dans 5 mL d'acétone et 0,012 g ($0,086 \times 10^{-3}$ mol, 1 éq.) de K₂CO₃ dans 1 mL d'H₂O est ajouté au goutte à goutte à une solution de 0,018 g ($0,095 \times 10^{-3}$ mol, 1,1 éq.) de chlorure de cyanuryle (préalablement recristallisé dans le chloroforme) dans 2 mL d'acétone refroidie entre 0 et 5°C. Après l'addition totale de la solution basique d'amine, la solution est laissée sous agitation à 0-5°C pendant 1 heure. L'acétone et l'eau une fois évaporées sous vide (30°C), 10 mL d' H₂O sont ajoutés au brut réactionnel. Le produit est extrait

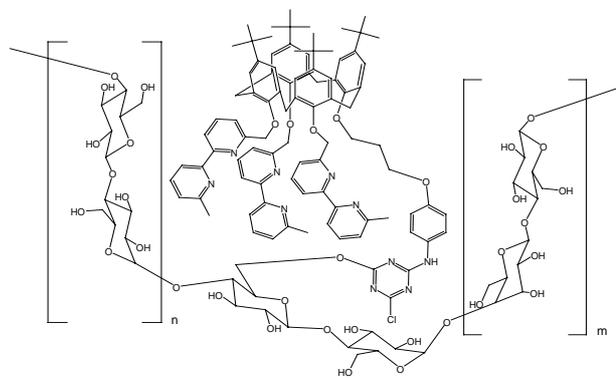


4 fois avec 10 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies puis séchées sur MgSO₄, puis filtrées. Après évaporation du CH₂Cl₂, le produit est séché sous vide pour obtenir 0,135 g ($0,088 \times 10^{-3}$ mol) d'un solide rose. (100 %). **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 0.995 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.240 (s, 9H, *tBu*) ; 1.263 (s, 9H, *tBu*) ; 2.322 (quint., 2H, CH₂-CH₂-CH₂) ; 2.615 (s, 6H, CH₃ bipyridine) ; 2.626 (s, 3H, CH₃ bipyridine) ; 3.080-3.115 ('dd', AB, J_{AB} = 12.5 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 3.547 (t, J=6.3 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂) ; 3.954 (t, J = 7.5 Hz, 2H, O-CH₂-CH₂-CH₂) ; 3.112-4.445 ('dd' ; AB, J_{AB} = 12.5 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.932-5.057 ('dd', AB, J_{AB} = 11.7 Hz, 4H, O-CH₂-bipyridine) ; 5.249 (s, 2H, O-CH₂-bipyridine) ; 6.581-7.215 ('dd', AB, J_{AB} = 9.0 Hz, 4H, Ar-NH) ; 6.653-6.700 (d, J = 2.3 Hz, 4H, Ar calix.) ; 6.993-7.001 (d, J=2.3 Hz, 4H, Ar calix) ; 7.087-7.122 (m, 3H, H arom. bipyridine) ; 7.485-7.650 (massif, 9H, H arom. bipyridine) ; 7.903 (d, J=7.8 Hz, 1H, H arom. bipyridine) ; 8.102 (d, J=7.8 Hz, 2H, 2H arom. bipyridine) ; 8.215 (d, J=7.8 Hz, 1H, H arom. bipyridine) ; 8.250 (d, J=7.6 Hz, 2H, 2H arom. bipyridine) ; **RMN** ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 25.059 (CH₃ bpy.) ; 30,197 (CH₂-CH₂-CH₂) ; 31.649 (Ar-CH₂-Ar) ; 31.728 (CH₃ *tBu*) ; 32.021 (CH₃ *tBu*) ; 32.071 (CH₃ *tBu* central) ; 34.173 (C *tBu*) ; 34.397 (C *tBu*) ; 66.913 (CH₂-CH₂-CH₂) ;

72.138 (CH₂-CH₂-CH₂) ; 77.923 (OCH₂ bpy.) ; 78.869 (OCH₂ bpy) ; 115.097 (CH Ar-NH méta) ; 118.632 (CH arom. bpy) ; 118.777 (CH arom. bpy) ; 119.961(CH arom. bpy) ; 120.250 (CH arom. bpy) ; 123.449 (CH arom. bpy) ; 123.619 (CH arom. bpy + CH Ar-NH ortho) ; 123.756 (CH arom. bpy) ; 123.872 (CH arom. bpy) ; 125.312 (CH arom. Ar calix) ; 125.399 (CH arom. Ar calix) ; 125.764 (CH arom. Ar calix) ; 125.854 (CH arom. Ar calix) ; 128.450 (C guanidinium) ; 133.267 (Co,Cp Ar) ; 134.957 (Co,Cp Ar) ; 135.344 (Co,Cp Ar) ; 137.333 (CH arom. bpy) ; 137.424 (CH arom. bpy) ; 137.557 (CH arom. bpy) ; 145.017 (Co,Cp Ar) ; 145.100 (Co,Cp Ar) ; 145.400 (Co,Cp Ar) ; 152.860 (Co,Cp Ar) ; 153.958 (Co,Cp Ar) ; 154.120 (Co,Cp Ar) ; 155.565, 155.933, 155.980, 156,157, 157.439 (C-NH) ; 157.544, 158.009, 158.136, 158.212), (C(2),C(2'),C(6),C(6') bpy) ; 164.509 (C-NH cyanuryl) ; 170.388 (C-Cl) ; 171.644 (C-Cl) ; **SM** : **ES**⁺ 1493.74 [M+H]⁺ ; 1516.72 [M+Na]⁺ ; **AE** : C₉₂H₉₆N₁₀O₅Cl₂, HCl (MM = 1529.201), *calculée* : C : 72.26 ; H : 6.33 ; N : 9.16, *obtenue* : C : 72.25 ; H : 6.32 ; N : 9.26 ; **UV** : DMSO, λ_{max}=289.0 nm, ε= 55700 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : KBr, 2960 cm⁻¹ (m, fine, CH) ; 1500-1600 cm⁻¹ : (F, fine , C=N) ; **PF** : 110°C

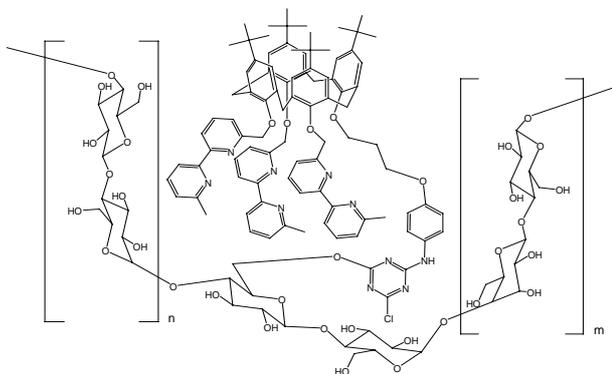
Composé 28

Une suspension de 0.075 g de coton hydrophile (préalablement séché sur P₂O₅) dans 10 mL de DMF est portée à 30°C sous agitation pendant 1 heure 20 minutes. Ensuite, 0.020 g (0.015×10⁻³ mol) du composé **14** et 0.003 g (0.016×10⁻³ mol) de chlorure de cyanuryl sont ajoutés successivement au milieu réactionnel. Après 40 minutes d'agitation à 30°C, 0.06 mL d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2.5 M est ajoutée et 20 minutes plus tard, 0.06 mL de cette même solution est ajouté de nouveau. Après 1 heure et 40 minutes d'agitation, le milieu est porté à 70°C pendant 1 heure et trente minutes. La pelote de coton hydrophile est ensuite plongée successivement dans des bain de rinçage contenant de l'eau (2 fois), de l'éthanol (une fois) puis du CH₂Cl₂. Le coton hydrophile est ensuite séché sous vide.



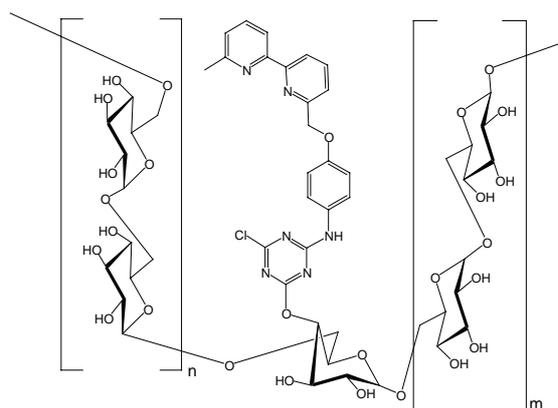
Composé 29

0.065 g de gaze Stérilux[®] enroulée autour d'un barreau aimanté est plongé dans 15 mL de DMF. L'ensemble est porté sous agitation à 30°C pendant 1 heure 20 minutes. Ensuite, 0.081 g (0.060×10⁻³ mol) du composé **14** puis 0.012 g (0,066×10⁻³ mol) de chlorure de cyanuryl sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 1 heure et 35 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, 0.24 mL d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2.5 M est ajouté puis 20 minutes plus tard, à nouveau 0.24 mL de la même solution. Après 16 heures d'agitation dans les mêmes conditions, le milieu réactionnel est porté à 70°C pendant 3 heures. La gaze est ensuite lavée successivement dans des bains d'eau, d'éthanol, de CH₂Cl₂ puis séchée sous vide.



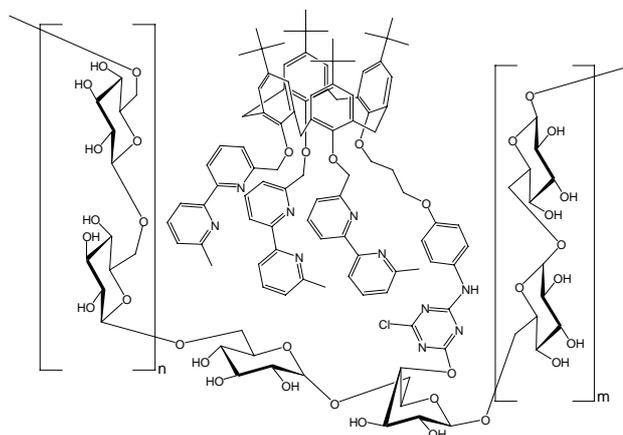
Composé 30

Une suspension de 0.100 g de dextran 110.000 dans 9 mL de DMF est portée à 30°C. Après 1 heure et 40 minutes d'agitation, 0.054 g (0.185×10^{-3} mol) de composé **22** puis 0.035 g (0.203×10^{-3} mol) de chlorure de cyanuryle sont ajoutés au milieu réactionnel. 1 heure et 40 minutes plus tard, 0.74 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 2.5 M est ajouté puis 20 minutes plus tard, 0.50 mL de la même solution est à nouveau ajouté. Après 2 heures et 40 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à 70°C pendant 1 heure 20 minutes. Après refroidissement du milieu réactionnel, l'insoluble est filtré puis rincé successivement au CH_2Cl_2 puis au CH_3OH . Le solide est ensuite séché sous vide.



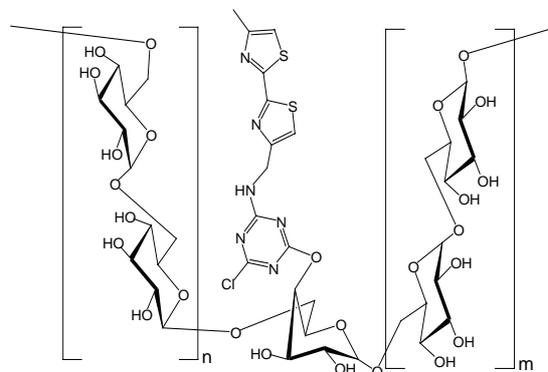
Composé 31

Une suspension de 0.075 g de dextran 110.000 dans 3 mL de DMF est portée à 30°C. Après 1 heure et 20 minutes d'agitation, on ajoute 0.020 g (0.015×10^{-3} mol) de composé **14** puis 0.003 g (0.016 mol) de chlorure de cyanuryle. 40 minutes plus tard, on ajoute au milieu 0.06 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 2.5 M puis 20 minutes plus tard, on effectue un nouvel ajout de 0.06 mL de la même solution. Après 2 heures et 40 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à 70°C pendant 1 heure 30 minutes. Après refroidissement du milieu réactionnel, le dextran est filtré puis rincée successivement à l'éthanol puis au CH_2Cl_2 et séché sous vide.



Composé 32

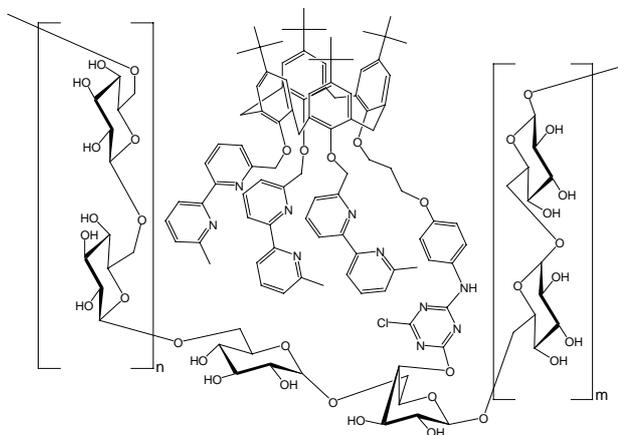
Une solution de 0.300 g de dextran 10.000 dans 5 mL de DMSO est portée à 30°C. Puis 0.056 g (0.306×10^{-3} mol) de chlorure de cyanuryle et 0.054 g (0.278×10^{-3} mol) du composé **18** sous forme d'une solution dans 1 mL de DMSO sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 1 heure et 10 minutes d'agitation, 1.112 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 2.5 M est ajouté puis 20 minutes plus tard, 1.112 mL de la même solution est à nouveau ajouté. Après 18 heures et 30 minutes d'agitation dans les mêmes conditions, l'ensemble est porté à 70°C pendant 2 heures. Après refroidissement du milieu réactionnel, l'insoluble est filtré puis rincé avec 2 mL de DMSO. 40 mL d'eau sont ajoutés au filtrat et le précipité apparu est filtré et lavé deux fois avec 10 mL de CH_2Cl_2 et



deux fois 10 mL de CH₃OH. Le produit est séché sous vide pendant 1 heure 30 minutes pour obtenir 0.588 g d'une poudre blanche.

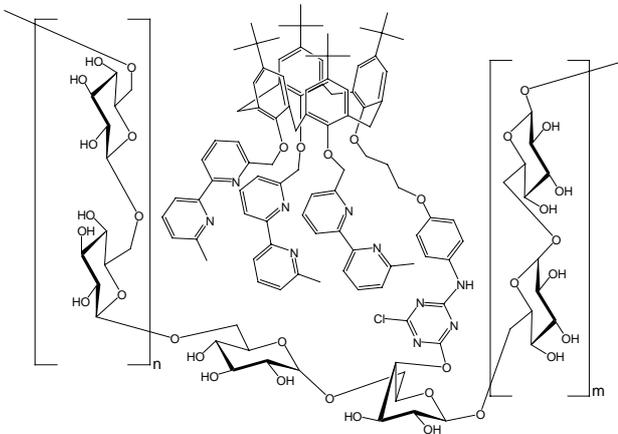
Composé **33a**

Un volume de 4 mL de DMF est ajouté à une solution de 0.100 g de dextran *10.000* (1×10^{-5} mol) dans 0.5 mL de DMSO. Après 60 minutes de chauffage à 30°C, 0.044 g (0.033×10^{-3} mol) de composé **14** est ajouté à la solution, puis 0.007 g (0.034×10^{-3} mol) le chlorure de cyanuryle (préalablement recristallisé dans le chloroforme) est ajouté. Après 2 heures et 20 minutes de chauffage à 30°C, 0.124 mL (0.310×10^{-3} mol) d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2.5 M est ajouté au milieu réactionnel. 20 minutes plus tard, un deuxième ajout de 0.260 mL de la même solution de Na₂CO₃ est effectué et le milieu réactionnel est porté à 70°C pendant 2 heures. Les solvants sont évaporés sous vide poussé. 4 mL de DMSO sont ensuite ajoutés au résidu et l'insoluble est filtré. Le solide est rincé avec 6 mL de DMSO. 20 mL de CH₃OH sont ajoutés au filtrat. Le précipité résultant est récupéré par filtration, puis rincé au CH₂Cl₂ pour obtenir 0.060 g d'une gomme blanche.



Composé **33b**

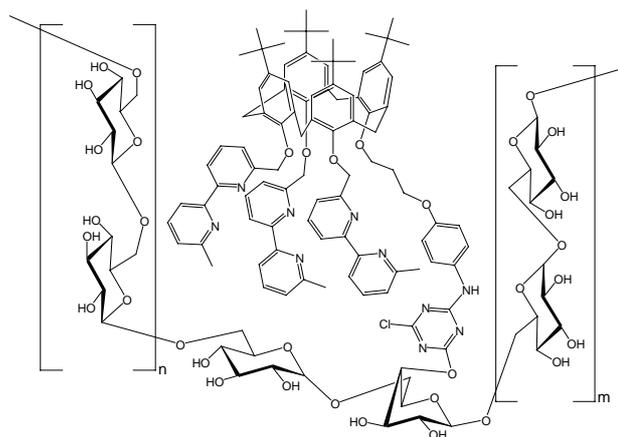
Un volume 8 mL de DMF est ajouté à une solution de 0.100 g de dextran *10.000* (1×10^{-5} mol) dans 1 mL de DMSO. Après 25 minutes de chauffage à 30°C, 0.088 g (0.065×10^{-3} mol) de composé **14** dissout dans 1 mL de DMF est ajouté goutte à goutte au milieu réactionnel, puis 0.013 g (0.072×10^{-3} mol) de chlorure de cyanuryle (préalablement recristallisé dans le chloroforme) est ajouté. Après 40 minutes chauffage à 30°C, 0.260 mL (0.650×10^{-3} mol) d'une solution aqueuse de



Na₂CO₃ 2.5 M est ajouté. 20 minutes plus tard, un deuxième ajout de 0.260 mL de la même solution de Na₂CO₃ est effectué et le milieu réactionnel est porté à 70°C pendant 5 heures. Les solvants sont évaporés sous vide poussé. 4 mL de DMSO sont ensuite ajoutés au résidu et l'insoluble est filtré. Le solide est rincé avec 1 mL de DMSO. 20 mL de CH₃OH sont ajoutés au filtrat. Le précipité résultant est récupéré par filtration, puis rincé successivement au CH₂Cl₂ (2 mL), CH₃OH (2mL) puis CH₂Cl₂ (2 mL) pour obtenir 0.026 g d'un solide blanc.

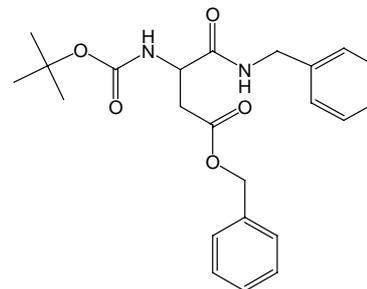
Composé 33c

Un volume de 24 mL de DMF est ajouté à une solution de 0.100 g de dextran 10.000 (1×10^{-5} mol) dans 3 mL de DMSO. La solution est ensuite portée à 30°C et 0.249 g (0.185×10^{-3} mol) de composé **14** est ajouté au milieu réactionnel, puis 0.037 g (0.203×10^{-3} mol) de chlorure de cyanuryle (préalablement recristallisé) est ajouté. Après 40 minutes de chauffage à 30°C, 0.740 mL (1.850×10^{-3} mol) d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 2.5 M, est ajouté à la solution. 20 minutes plus tard, on effectue un deuxième ajout de 0.260 mL de la même solution de Na_2CO_3 et le milieu réactionnel est porté à 70°C pendant 6 heures. Les solvants sont évaporés sous vide poussé. 10 mL de DMSO sont ajoutés ensuite au résidu et l'insoluble est filtré. Le solide est rincé avec 5 mL de DMSO. 40 mL de CH_3OH sont ajoutés ensuite au filtrat. Le précipité résultant est récupéré par filtration, puis rincé successivement au CH_3OH , CH_2Cl_2 (3 fois), CH_3OH puis CH_2Cl_2 pour obtenir 0.070 g d'un solide blanc.



Composé 34

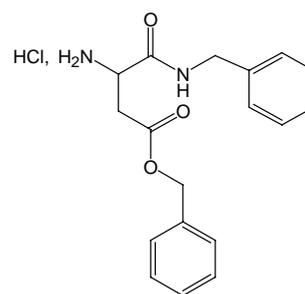
A une température entre 0 et 5°C, 1,000 g (3.093×10^{-3} mol) de *Boc-Asp(ω-benzylester)-OH* et 0,474 g (3.093×10^{-3} mol) d'HOBT (monohydrate) sont dissous dans 20 mL de THF. A ce mélange est additionné goutte à goutte une solution de 0.638 g (3.093×10^{-3} mol) de DCC dissous dans 1 minimum de THF. Après 15 minutes d'agitation, sous atmosphère d'argon, le mélange est placé à température ambiante et 0.340 mL (3.093×10^{-3} mol) de benzylamine est ajouté au milieu réactionnel.



Après 17 heures d'agitation, l'insoluble est filtré et rincé au THF. Le filtrat est évaporé (30°C). Le résidu est ensuite repris dans Et_2O et l'insoluble filtré et rincé au Et_2O . Le filtrat est évaporé et le résidu chromatographié sur colonne d'alumine en éluant avec un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (90/10). Les fractions sont évaporées et le solide séché pour obtenir 1,110 g (2.691×10^{-3} mol) d'un solide blanc (87 %), conservé entre 0 et 5°C. **RMN** ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 1.442 (s, 9H, Boc) ; 2.954 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=7.0$ Hz, $J_{\text{AX}}=4.6$ Hz, $J_{\text{BX}}=6.0$, 2H, CH_2 Asp.) ; 4.377- 4.555 (q. dédoublé + massif, 3H, CH Asp. + CH_2 benzylamide) ; 5.118 (s, 2H, CH_2 benzylester) ; 5.688 (d large, 1H, NH carbamate) ; 6.807 (d large, 1H, NH benzylamide) ; 7.259 – 7.403 (massif, 10H, H aromatiques) ; **RMN** ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 28.659 (CH_3 tBu) ; 36.455 (CH_2 Asp.) ; 43.940 (CH_2 benzylamide) ; 51.151 (CH Asp.) ; 67.263 (CH_2 benzylester) ; 81.014 (C tBu) ; 127.873, 127.930, 128.660, 128.819, 129.035, 129.079 (CH aromatiques) ; 135.781 (C benzylester) ; 138.315 (C benzylamide) ; 156.002 (CO Boc) ; 170.962 (CO ester) ; 172.186 (CO amide) ; **AE** : $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$ (MM = 412.48), calculée : C : 66.97 ; H : 6.84 ; N : 6.82 , obtenue : C : 67.132 ; H : 7.066 ; N : 6.933 ; **UV** : CH_3OH , 210.0 nm, $15336 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$, 262.0 nm, $1067 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; **IR** : KBr, 1667 cm^{-1} , 1687 cm^{-1} , 1734 cm^{-1} (fine, F, $\text{C}=\text{O}$) ; **PF** : 91°C

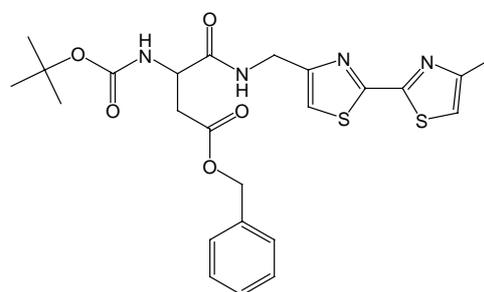
Composé 35

Une quantité de 0.650 g (1.576×10^{-3} mol) de composé **34** est dissoute à température ambiante dans 15 mL d'AcOEt. On fait buller dans le milieu réactionnel HCl gazeux pendant 1 heure 30 minutes à une température comprise entre 0°C et 5°C. Ensuite, 50 mL de Et₂O sont ajoutés au milieu réactionnel, le précipité est filtré. Le solide obtenu est séché sous vide pour obtenir 0.527 g (1.511×10^{-3} mol) d'un solide blanc (96 %), placé au dessiccateur puis conservé entre 0 et 5°C. **RMN** ¹H (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 3.006 ('m', ABX, J_{AB}=17.0 Hz, J_{AX}=5.5 Hz, J_{BX}=7.2 Hz, 2H, CH₂ Asp) ; 4.176 ('t', 1H, CH Asp.) ; 4.325 (d, J=5.9 Hz, 2H, CH₂ benzylamide) ; 5.145 (s, 2H, CH₂ benzylester) ; 7.242- 7.400 (massif, 10H, H aromatiques) ; 8.431 (s large, 3H, H ammonium) ; 9.062 (t, J=5.75 Hz, 1H, H amide) ; **RMN** ¹³C (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 35.982 (CH₂ Asp.) ; 43.298 (CH₂ benzylamide) ; 49.768 (CH Asp.) ; 67.050 (CH₂ benzylester) ; 127.800, 128.161, 128.934, 129.003, 129.133, 129.292 (CH aromatiques) ; 136.528 (C benzylester) ; 139.283 (C benzylamide) ; 167.997 (CO ester) ; 169.907 (CO amide) ; **SM** (ES⁺) : 313.23 : [M-Cl]⁺ **AE** : C₁₈H₂₁N₂O₃Cl (MM = 348.823), Calculée : C : 61.98 ; H : 6.07 ; N : 8.03, Obtenue : C : 61.761 ; H : 6.169 ; N : 7.997 ; **UV** : (CH₃OH) : 210.0 nm, 16401 mol⁻¹.L.cm⁻¹, 260.0 nm, 1021 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : 1666 cm⁻¹, fin, intense : C=O, 1730 cm⁻¹, fin, intense : C=O ; **PF** : 157°C



Composé 36

Une quantité de 0,517 g (1.600×10^{-3} mol) de Boc-Asp(ω -benzylester)-OH, 0,245 g (1.600×10^{-3} mol) d'HOBT (monohydrate) et de 0,330 g (1.600×10^{-3} mol) de DCC est dissoute dans 10 mL de CH₂Cl₂ et 1 mL de DMF. Cette solution est agitée à température ambiante sous atmosphère anhydre. Lorsque le précipité (DCU) apparaît, une solution de 0,396 g (1.600×10^{-3} mol) de composé **18** dans 0,160

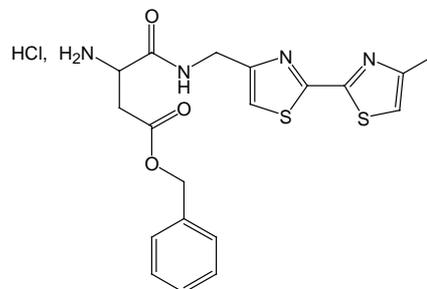


mL de diisopropyléthylamine et 10 mL de CH₂Cl₂ est ajoutée au milieu réactionnel. Après 3 heures d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, le précipité est filtré. Le filtrat est alors évaporé : CH₂Cl₂ sous vide puis DMF sous vide poussé. Le brut réactionnel est purifié sur colonne d'Al₂O₃ en éluant avec un mélange 99/1 CH₂Cl₂/CH₃OH. Après évaporation sous vide à température ambiante des fractions propres, le solide blanc obtenu est redissous dans 60 mL d'un mélange 1:1 CH₂Cl₂/hexane. Après évaporation à froid du CH₂Cl₂ sous vide, le précipité est filtré pour obtenir 0,710 g (1.374×10^{-3} mol) d'une poudre blanche (86 %), conservée entre 0 et 5°C. **RMN** ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 1.459 (s, 9H, tBu) ; 2.534 (s, 3H, CH₃) ; 2.759-3.182 ('qd', ABX, J_{AB}=7.2 Hz, J_{AX}=4.2 Hz, J_{BX}=6.1 Hz, 2H, CH₂ Asp.) ; 4.552-4.684 ('qd', ABX + d, 3H, CH₂ Bith. + CH Asp.) ; 5.157 (s, 2H, CH₂ Benzylester) ; 5.692 (d, J= 7.6 Hz, 1H, NH Asp.) ; 7.002 (s, 1H, CH arom. Bith.) ; 7.103 ('t', 1H, NH Bith.-Asp.) ; 7.216 (s, 1H, H arom. Bith.) ; 7.327-7.399 (m, 5H, H arom. benzyl) ; **RMN** ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm) : 17.512 (CH₃ bithiazole) ; 28.652 (CH₃ tBu) ; 36.535 (CH₂ Asp.) ; 40.167 (CH₂ bithiazole) ; 51.166 (CH Asp.) ; 67.213 (CH₂ benzylester) ; 80.931 (C tBu) ; 116.202 (C(5')) ; 117.094 (C(5)) ; 128.562, 128.757, 128.970 (CH benzyl) ; 135.716 (C benzyl) ; 154.615 (CO Boc) ; 155.908 (C(4')) ; 157.731 (C(4)) ; 160.707 (C(2')) ; 161.7974 (C(2)) ; 171.182 (CO ester) ; 172.027 (CO amide) ; **SM** : 539.2 : [M + Na]⁺, 551.4 :

[M + Cl⁻]; **AE**: C₂₄H₂₈N₄O₅S₂(MM = 516.641) *calculée*: C : 55.80 ; H : 5.46 ; N : 10.84, *obtenue*: C : 56.05 ; H : 5.67 ; N : 10.82; **UV**: (CH₃OH)λ_{max} = 330 nm, ε = 11976 mol⁻¹.L.cm⁻¹; **IR**: 1662 cm⁻¹, (fine, intense, C=O), 1689 cm⁻¹, (fine, intense, C=O), 1726 cm⁻¹, (fin, intense, C=O); **PF**: 133°C

Composé 37

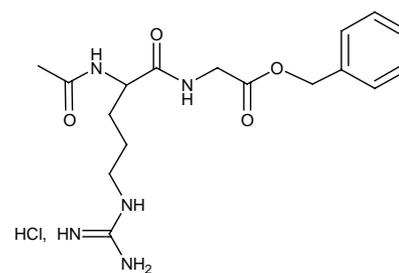
Une quantité de 0,600 g (1.161×10⁻³ mol) de composé **36** est dissoute à température ambiante dans 50 mL d'acétate d'éthyle. Dans le milieu réactionnel, on fait buller HCl gazeux pendant 1 heure à une température comprise entre 0°C et 5°C. Puis 25 mL de Et₂O sont ajoutés au milieu réactionnel, et le précipité filtré, en le lavant avec un mélange 1:1 Et₂O/AcOEt pour obtenir 0,480 g (0.963×10⁻³ mol) d'une poudre jaune pâle hygroscopique



(84 %), placée au dessiccateur puis conservée entre 0 et 5°C. **RMN** ¹H (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm): 2.431 (s, 3 H, CH₃); 2.958-3.100 ('qd', ABX, J_{AB}=7.2 Hz, J_{AX}=5.1 Hz, J_{BX}=7.3 Hz, 2H, CH₂ Asp.); 4.225 ('t large', 1H, CH Asp.); 4.466 (d, J=5.5 Hz, 2H, CH₂ Bith.); 5.156 (s, 2H, CH₂ Benzyl); 7.323-7.395 (m, 5H, H arom. Benzyl); 7.498 (s, 1H, H arom. Bith.); 7.654 (s, 1 H, H arom. Bith.); 8.483-8.528 (m, 3 H, ammonium); 9.235 (t, J=5.7 Hz, 1H, NH Bith.); **RMN** ¹³C (D₂O, 400 MHz, δ ppm): 15.819 (CH₃), 35.318 (CH₂ Asp.); 39.387 (CH₂ bithiazole); 49.729 (CH Asp.); 67.769 (CH₂ benzylester); 117.571 (C(5')); 118.881 (C(5)); 128.046, 128.707, 128.866 (CH benzyl); 134.983 (C benzyl); 153.178 (C(4')); 153.481 (C(4)); 159.818 (C(2')); 160.736 (C(2)); 168.427 (CO ester); 170.507 (CO amide); **SM** (ES⁺): 417.13 : [M-Cl]⁺; **AE**: C₁₉H₂₁N₄O₃S₂Cl, HCl, 0.5 H₂O (MM = 498.456) *calculée*: C : 45.78 ; H : 4.65 ; N : 11.24, *obtenue*: C : 45.78 ; H : 4.81 ; N : 11.19; **UV**: CH₃OH, λ_{max} = 329 nm, ε = 15000 mol⁻¹.L.cm⁻¹; **IR**: 1668 cm⁻¹, (fine, intense, C=O), 1723 cm⁻¹ (fine, intense, C=O); **PF**: 73°C

Composé 38

On dissous dans 20 mL de DMF, 1.297 g (6.000×10⁻³ mol) d'acétylarginine et 1.210 g (6.000×10⁻³ mol) de ochlrhydrate de glycine-ω-benzylester. Après 10 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, on ajoute à cette solution 0.919 g (6.000×10⁻³ mol) d'HOBT et 1.238 g (6.000×10⁻³ mol) de DCC. Après 16 heures d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, l'insoluble est filtré sur fritté. Le filtrat est évaporé sous vide poussé. Le résidu est ensuite trituré 2 fois avec 40 mL de diéthyléther puis 2 fois avec 40 mL d'acétate d'éthyle. Les filtrats une fois éliminés, la gomme formée est ensuite redissoute dans du méthanol puis la solution est évaporée sous vide à température ambiante pour donner 2.292 g (5.565×10⁻³ mol) d'un solide blanc hygroscopique (93 %), conservé entre 0 et 5°C.

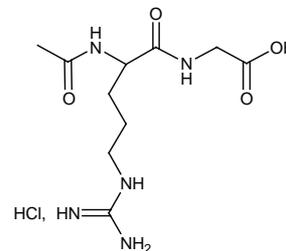


Le filtrat est évaporé sous vide poussé. Le résidu est ensuite trituré 2 fois avec 40 mL de diéthyléther puis 2 fois avec 40 mL d'acétate d'éthyle. Les filtrats une fois éliminés, la gomme formée est ensuite redissoute dans du méthanol puis la solution est évaporée sous vide à température ambiante pour donner 2.292 g (5.565×10⁻³ mol) d'un solide blanc hygroscopique (93 %), conservé entre 0 et 5°C. **RMN** ¹H (D₂O, 400 MHz, δ ppm): 1.450-1.727 (m, 4H, CH-CH₂-CH₂-CH₂); 1.920 (s, 3H, CH₃); 2.995 (t, J=6.9 Hz, 2H, CH-CH₂-CH₂-CH₂); 3.950 (d, J=8.8 Hz, 2H, CH₂ Gly); 4.187 ('t', 1H, CH Arg); 5.109 (s, 2H, CH₂ Bzl); 7.307-7.367 (m, 5H, CH Bzl). **RMN** ¹³C (D₂O, 400 MHz, δ ppm): 22.026 (CH₃); 24.506 (CH₂-CH₂-CH₂); 28.529 (CH-CH₂-CH₂-CH₂); 40.849 (CH-CH₂-CH₂-CH₂); 41.788 (CH₂ Gly); 53.755 (CH Arg); 67.982 (CH₂ Bzl); 128.606; 129.143; 129.245 (CH Bzl); 135.488 (C Bzl); 157.002 (C Arg); 171.442 (COO);

174.663 (CO Acétyl) ; 174.822 (CO Arg). **SM** : ES^+ : 364.20 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$; **AE** : $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_4\text{Cl}$, 0.66 H_2O (MM = 411.86), *calculée* : C : 49.52 ; H : 6.67 ; N : 16.94 , *obtenue* : C : 49.58 ; H : 6.69 ; N : 17.00 ; **UV** : (CH_3OH) : λ_{max} = 208.0 nm , ϵ = 12363 $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; **IR** : 1654 cm^{-1} (large, intense , C=N et C=O)

Composé **39a**

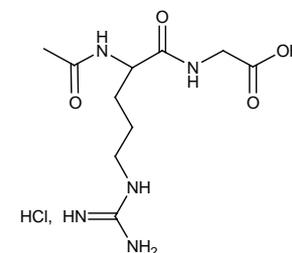
A une solution de 1.200 g (2.914×10^{-3} mol) de composé **38** dans 20 mL de méthanol, on ajoute 0.075 g de palladium sur charbon (10 %). Le milieu réactionnel est ensuite dégazé au dihydrogène pendant 10 minutes, puis est placé, à température ambiante, sous atmosphère de dihydrogène. Après 24 heures et 10 minutes de vive agitation, le catalyseur est filtré sur célite® puis rincé au CH_3OH . Le filtrat est ensuite évaporé à 25°C pour donner 0,902 g (2.914×10^{-3} mol) d'un



solide blanc cassé hygroscopique (99 %), conservé entre 0 et 5°C. **RMN ^1H** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.479-1.714 (massif, 3H + 1H, CH- CH_2 - CH_2 - CH_2) ; 1.867 (s, 3H, CH_3) ; 3.090 (massif , 2H, CH- CH_2 - CH_2 - CH_2) ; 3.745 (d, J=4.19 Hz , 2H, CH_2 Gly.) ; 4.274-4.308 (m, 1H, CH Arg) ; 6.8-7.6 (« bosse », 4H, H guanidinium) ; 7.702 ('t', 1H, NH Guanidinium) ; 8.099 (d, J=8.2 Hz , 1H, NH Arg) ; 8.283 (t, J=5.72, 1H, NH Gly) ; **RMN ^{13}C** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 23.394 (CH_3) ; 25.861 (CH_2 - CH_2 - CH_2) ; 30.024 (CH- CH_2 - CH_2 - CH_2) ; 41.156 (CH- CH_2 - CH_2 - CH_2) ; 41.463 (CH_2 Gly) ; 52.690 (CH Arg) ; 157.789 (C Arg) ; 170.225 (COOH) ; 171.904 (CO Acétyl) ; 172.782 (CO Arg) ; **SM ES $^+$** : 274.28 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$; **AE** : produit hygroscopique ; **UV** : (CH_3OH) : λ_{max} = 206.0 nm , ϵ = 8215 $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; **IR** : 1655 cm^{-1} (large, intense , C=N et C=O).

Composé **39b**

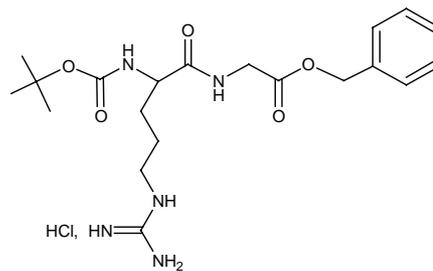
Couplage : On dissout dans 20 mL de DMF, 2.000 g (9.249×10^{-3} mol) d'acétylarginine et 1.865 g (9.249×10^{-3} mol) de chlorhydrate de glycyl- ω -benzylester. Après 10 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, on ajoute à cette solution 1.416 g (9.249×10^{-3} mol) d'HOBT et 1.908 g



(9.29×10^{-3} mol) de DCC. Après 20 heures d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, l'insoluble est filtré sur fritté et rincé avec 10 mL de DMF. Le filtrat est évaporé sous pompe à palette. *Déprotection* : Le résidu est dissous dans 60 mL de méthanol. A cette solution, ajoute 0.250 g de palladium sur charbon (10 %). Le milieu réactionnel est ensuite dégazé au dihydrogène pendant 10 minutes, puis est placé, à température ambiante, sous atmosphère de dihydrogène. Après 15 heures de vive agitation, le catalyseur est filtré sur célite® puis rincé au méthanol. Le filtrat est ensuite évaporé à 25°C. Le résidu est ensuite redissous dans 40 mL de méthanol. A cette solution, on ajoute 200 mL de diéthyléther. La gomme une fois formée sur les parois et le filtrat prélevé, on ajoute 40 mL de méthanol puis 250 mL de diéthyléther. Le filtrat une nouvelle fois prélevé, on renouvelle l'opération en ajoutant 30 mL de méthanol puis 250 mL de diéthyléther. Ce filtrat une fois prélevé, la gomme formée est séchée sous vide pour obtenir 2.385 g (7.700×10^{-3} mol) d'un solide blanc (83 %). **RMN ^1H** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.462-1.727 (massif, 3H + 1H, CH- CH_2 - CH_2 - CH_2) ; 1.868 (s, 3H, CH_3) ; 3.091 (massif , 2H, CH- CH_2 - CH_2 - CH_2) ; 3.686-3.793 ('dd', 2H, CH_2 Gly.) ; 4.273-4.314 (m, 1H, CH Arg) ; 6.8-7.6 (« bosse », 4H, H guanidinium) ; 7.728 ('t', 1H, NH Guanidinium) ; 8.099 (d, J=8.2 Hz, 1H, NH Arg) ; 8.271 (t, J=5.8 Hz, 1H, NH Gly).

Composé 40

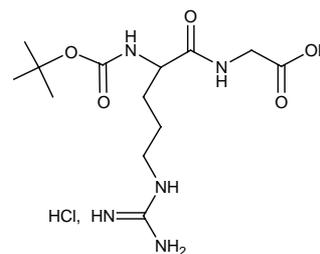
Une solution de 0.348 g (1.270×10^{-3} mol) de tertibutyloxycarbonylarginine, de 0.262 g (1.270×10^{-3} mol) de DCC et de 0.194 g (1.270×10^{-3} mol) d'HOBT dans 7.00 mL de DMF est agitée à température ambiante sous atmosphère d'argon jusqu'à formation d'un précipité. Ensuite, 0.256 g (1.270×10^{-3} mol) de chlorhydrate de glycine- ω -benzylester est ajouté à la suspension.



Après 12 heures d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, le précipité est filtré puis lavé 3 fois avec 4 mL d'acétate d'éthyle. Le solvant est ensuite évaporé sous vide poussé et le résidu dissous dans 15 mL de dichlorométhane. Le composé attendu est ensuite précipité sous forme de gomme en ajoutant du diéthyléther et trituré soigneusement dans le mélange de solvants. Ce dernier ensuite retiré et la gomme dissoute dans 15 mL de dichlorométhane et précipitée dans du diéthyléther puis triturée à nouveau. Le mélange de solvants une fois retiré, le résidu est retritureré dans 15 mL de diéthyléther, jusqu'à obtention d'une fine poudre blanche. Cette dernière est filtrée puis lavée au diéthyléther pour donner, après séchage, 0.440 mg (0.960×10^{-3} mol) d'une poudre blanche hygroscopique. (76 %). **RMN ^1H** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.38 (s, 9H, *tBu*) ; 1.50 (m, 3H, CH_2 Arg) ; 1.65 (m, 1H, CH_2 Arg) ; 3.07 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$) ; 3.80 – 4.00 (m, 3H, CH_2 Gly.+ CH Arg) ; 5.12 (s, 2H, CH_2 benzylester) ; 6.95 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, NH Arg.) ; 7.00-7.60 (« bosse » +m, 9H, H guanidinium + H arom.) ; 7.85 (m, 1H, NH Guanidinium) ; 8.40 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH Gly) ; **RMN ^{13}C** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 25.213 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 28.380 (CH_3) ; 29.243 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 40.454, 40.884 (CH_2 Arg. + CH_2 Gly.) ; 53.797 (CH Arg.) ; 66.006 (CH_2 benzylester) ; 78.293 (C tBu) ; 128.117 (CH arom.) ; 128.240 (CH arom.) ; 128.597 (CH arom) ; 136.061 (C arom.) ; 155.550, 157.178 (C guan. + CO boc.) ; 169.812, 172.726 (CO Arg. + CO Gly.) ; **AE** : $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_5\text{Cl}$, 0.5 H_2O (MM = 466,97), calculée : C : 51.44; H : 7.12; N : 14.99, obtenue : C : 51.67; H : 7.02 ; N : 14.84.

Composé 41a

A une solution de 1.471 g (3.205×10^{-3} mol) de composé 40 dans 20 mL de méthanol, on ajoute 0.075 g de palladium sur charbon (10%). Le milieu réactionnel est ensuite dégazé au dihydrogène pendant 10 minutes, puis est placé, à température ambiante, sous atmosphère de dihydrogène. Après 21 heures de vive agitation, le catalyseur est filtré sur célite[®] puis rincé au méthanol. Le filtrat est ensuite évaporé à 25°C. Le résidu est trituré dans 40 mL

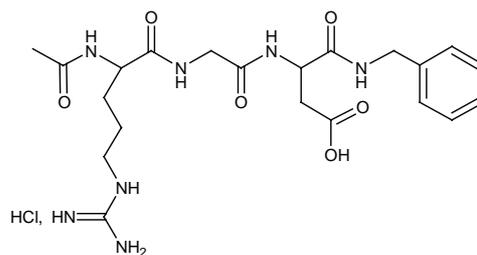


d'acétate d'éthyle puis filtré, pour donner 1.184 g (d'un solide blanc (100 %), conservé entre 0 et 5°C. **RMN ^1H** (D_2O , 400 MHz, δ ppm) : 1.325 (s, 9H, *tBu*) ; 1.600 (m, 3H, CH_2 Arg) ; 3.100 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$) ; 3.840-4.041 (m, 3H, CH_2 Gly.+ CH Arg).

Ce dernier est redissous dans 30 mL d'eau et lyophilisé pour obtenir 0.565 g (0.940×10^{-3} mol) d'une poudre blanche (63 %). **RMN ^1H** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.502 (m, 3H, CH_2 Arg.) ; 1.685 (m, 1H, CH_2 Arg.) ; 1.865 (s, 3H, CH_3) ; 2.703-2.868 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}} = 16.1$ Hz, $J_{\text{AX}} = 5.8$ Hz, $J_{\text{BX}} = 8.1$ Hz, 2H, CH_2 Asp.) ; 3.106 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$), 3.684 – 3.830 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}} = 16.6$ Hz, $J_{\text{AX}} = 5.6$ Hz, $J_{\text{BX}} = 5.3$ Hz, 2H, CH_2 Gly.) ; 4.218 (m, 1H, CH Arg.), 4.293 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H, CH_2 benzylamide) ; 4.731 (m, 1H, CH Asp.) ; 5.100 ('s', 2H, CH_2 benzylester) ; 6.70 – 7.60 (m, 14 H, H arom. + H guanidinium) ; 7.709 ('t', 1H, NH guanidinium) ; 8.228 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH Arg.) ; 8.25 – 8.38 (m, 2H, NH Asp. + NH Gly.) ; 8.447 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H, NH Benzylamide) ; **RMN ^{13}C** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 22.689 (CH_3) ; 25.270 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 28.800 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 36.514 (CH Asp.) ; 40.495 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 42.369 (CH_2 Gly + CH_2 benzylamide) ; 49.740 (CH_2 Asp.) ; 52.802 (CH Arg.) ; 65.876 (CH_2 benzylester) ; 126.860, 127.173, 128.0484, 128.165, 18.610, 127.873, 127.930, 128.660 (CH aromatiques) ; 136.229 (C benzylester) ; 139.408 (C benzylamide) ; 157.184 (C Arg.) ; 169.113 (CO Gly) ; 170.112 (COO) ; 170.323 (CO Acétyl + CO benzylamide) ; 172.343 (CO Arg.) ; **SM ES $^+$** : 568.3 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; **AE** : $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_7\text{O}_6\text{Cl}$, 1.5 H_2O (MM = 631.13), *calculée* : C : 53.28 ; H : 6.55 ; N : 15.54, *obtenue* : C : 53.55 ; H : 6.28 ; N : 15.77 ; **IR** : (KBr) 3277 cm^{-1} (m, large, OH) ; 2935 cm^{-1} (m, large, CH) ; 1655 cm^{-1} (F, fine, C=O) ; **PF** : 130°C

Composé 43

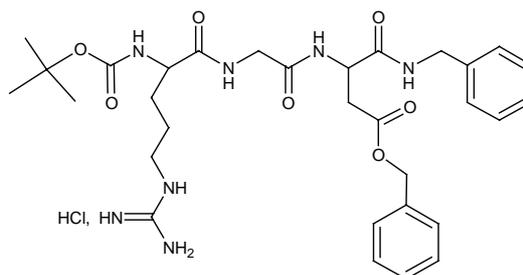
A une solution de 0.250 g (0.396×10^{-3} mol) de composé 42 dans 15 mL de méthanol est ajouté 0.025 mg de catalyseur palladium sur charbon (10 %). L'ensemble est agité sous atmosphère de dihydrogène à température ambiante pendant 24 heures. Le catalyseur est ensuite filtré sur célite[®] et le solvant évaporé pour donner un solide blanc, redissous dans de l'eau. La



solution obtenue est ensuite lyophilisée pour donner 0.214 mg (0.389×10^{-3} mol) d'une poudre blanche (98 %). **RMN ^1H** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.542 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ Arg.) ; 1.717 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ Arg.) ; 1.936 (s, 3H, CH_3) ; 2.59-2.70 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}} = 16.6$ Hz, $J_{\text{AX}} = 5.4$ Hz, $J_{\text{BX}} = 7.7$ Hz, 2H, CH_2 Asp.) ; 3.066 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.68 – 3.79 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}} = 16.6$ Hz, $J_{\text{AX}} = 5.6$ Hz, $J_{\text{BX}} = 5.3$ Hz, 2H, CH_2 Gly.) ; 4.156 (m, 1H, CH Arg.), 4.324 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H, CH_2 benzylamide) ; 4.607 (m, 1H, CH Asp.) ; 6.80 – 7.65 (m, 10 H, H arom. + H guanidinium) ; 7.195 (m, 1H, NH guanidinium) ; 7.249 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, NH Arg. + NH Asp.) ; 7.322 (m, 2H, NH benzylamide. + NH Gly.) ; **RMN ^{13}C** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 22.682 (CH_3) ; 25.249 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 28.880 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 36.513 (CH_2 Asp.) ; 40.495 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 42.318-42.405 (CH_2 Gly + CH_2 benzylamide) ; 49.857 (CH Asp.) ; 52.737 (CH Arg.) ; 126.809, 127.100, 128.369 (CH aromatiques) ; 139.496 (C benzylamide) ; 157.199 (C Arg.) ; 169.032 (CO Gly) ; 170.068 (CO Acétyl) ; 170.731 (CO Asp.) ; 172.175 (COOH) ; 172.409 (CO Arg.) ; **SM ES $^+$** : 478.4 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; 500.3 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$; 516.3 [$\text{M} + \text{K}$] $^+$; **AE** : $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{O}_6\text{Cl}$, 2 H_2O (MM = 550.02), *calculée* : C : 45.85 ; H : 6.59 ; N : 17.94, *obtenue* : C : 45.90, H : 6.08 ; N : 17.73 ; **IR** : (KBr) 3326 cm^{-1} (m, large, OH) ; 1655 cm^{-1} (F, fine, C=O) ; **PF** : 145°C – 150°C.

Composé 44

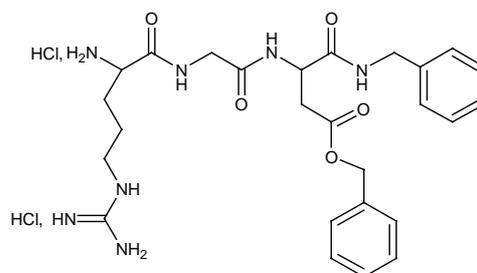
Une solution de 1.385 g (3.680×10^{-3} mol) de composé **41b**, 0.564 g (3.680×10^{-3} mol) d'HOBT (monohydrate), 0.760 g (3.680×10^{-3} mol) de DCC et 1.285 g (3.360×10^{-3} mol) de composé **35** dans 50 mL de DMF est agitée à température ambiante et sous atmosphère d'argon pendant 30 minutes. Puis 0.877 mL (3.680×10^{-3} mol) de tributylamine



est ajouté à la suspension. Après 12 heures d'agitation dans les mêmes conditions, le précipité est filtré et lavé trois fois avec 5 mL d'acétate d'éthyle. Le filtrat est ensuite évaporé sous vide poussé et le résidu sous forme de gomme jaunâtre redissous dans 70 mL de CH_2Cl_2 . Le composé souhaité est précipité par ajout de 200 mL de diéthyléther. Après 30 minutes, après d'attente, le solvant une fois retiré, la gomme formée sur les parois, on réitère l'opération une nouvelle fois. Le résidu (gomme sur les parois) est ensuite chromatographié sur colonne de silice en éluant avec un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (19:1, 18:2, 17:3) pour obtenir un produit blanc qui, redissous dans 30 mL d'acétonitrile et 30 mL d'eau puis lyophilisé, pour donner 1.672 g (2.520×10^{-3} mol) d'une poudre blanche (68 %). **RMN ^1H** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.380 (s, 9H, *tBu*) ; 1.493 (m, 3H, CH_2 Arg.) ; 1.660 (m, 1H, CH_2 Arg.) ; 2.637-2.903 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=16.2$ Hz, $J_{\text{AX}}=5.8$ Hz, $J_{\text{BX}}=7.8$ Hz, 2H, CH_2 Asp.) ; 3.068 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$), 3.682 – 3.809 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=16.7$ Hz, $J_{\text{AX}}=5.2$ Hz, $J_{\text{BX}}=5.4$ Hz, 2H, CH_2 Gly.) ; 3.944 (m, 1H, CH Arg.) , 4.272 (d, $J=5.9$ Hz, 2H, CH_2 benzylamide) ; 4.721 (m, 1H, CH Asp.) ; 5.087 ('s', 2H, CH_2 benzylester) ; 7.015 (d, $J=7.4$ Hz, NH Arg.) ; 7.205 – 7.394 (m, 14 H, H arom. + H guanidinium) ; 7.640 (t, 1H, NH guanidinium) ; 8.130 (t, 1H, NH Gly) ; 8.316 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, NH Asp.) ; 8.462 (t, $J=5.7$ Hz, 1H, NH benzylamide) ; **RMN ^{13}C** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 25.262 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 28.374 (CH_3 *tBu*) ; 29.053 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 36.513 (CH_2 Asp) ; 40.474 ($\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 42.363 (CH_2 Gly + CH_2 benzylamide) ; 49.698 (CH Asp.) ; 54.071 (CH Arg) ; 65.861 (CH_2 benzylester) ; 78.449 ($\text{C}_{\text{quat.}}$ *tBu*) ; 126.827, 127.181, 127.441, 127.720, 128.025, 128.135, 128.356, 128.567, 128.912 (CH aromatiques) ; 136.1990 (C benzylester) ; 139.370 (C benzylamide) ; 157.184 (C Arg) ; 169.004, 170.227 , 170.254, 172.557 (CO Gly + COO + CO Boc + CO benzylamide + CO Arg) ; **SMES $^+$** : 629.3 [M] $^+$; **AE**: $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_7\text{O}_7$ Cl (MM = 662.18), calculée : C : 56.22 ; H : 6.70 ; N : 14.81, obtenue : C : 55.95 ; H : 6.77 ; N : 14.63 ; **IR** : (KBr) 3324 cm^{-1} (m, large, OH) ; 2978 cm^{-1} (m, large, CH) ; 1735 cm^{-1} (F, fine, C=O) ; **PF** : 100- 110°C

Composé 45

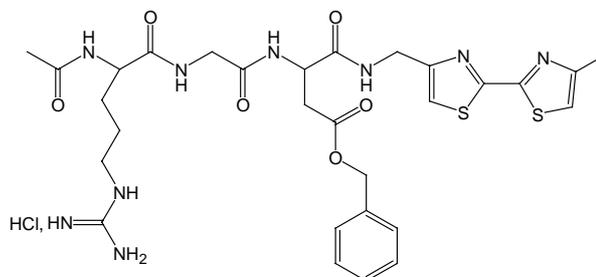
Une quantité de 0,607 g (0.917×10^{-3} mol) de composé **44** est dissoute à température ambiante dans 48 mL de CH_2Cl_2 . Dans le milieu réactionnel, on fait buller HCl gazeux pendant 2 heures et 15 minutes à une température comprise entre 0°C et 5°C. Le milieu est laissé à température pendant 2 heures et 30 minutes. Puis 40 mL de Et_2O sont ajoutés au milieu réactionnel, et le précipité filtré, puis séché pour obtenir 0,545 g (0.913×10^{-3} mol) d'une poudre blanche pâle hygroscopique (99 %), conservée entre 0 et 5°C.



RMN ^1H (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.570 (m, 3H, CH_2 Arg.); 1.762 (m, 1H, CH_2 Arg.); 2.662-2.905 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=16.0$ Hz, $J_{\text{AX}}=6.0$ Hz, $J_{\text{BX}}=7.8$ Hz, 2H, CH_2 Asp.); 3.150 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$), 3.795 – 3.907 (m, 3H, CH_2 Gly.+ CH Arg.), 4.274 (d, $J=5.9$ Hz, 2H, CH_2 benzylamide); 4.734 (m, 1H, CH Asp.); 5.094(s, 2H, CH_2 benzylester); 7.117-7.400 (m, 9H, H arom. + H guanidinium); 7.820 (t, $J=5.6$ Hz, 1H, NH guanidinium); 8.372 ('s large', 3H, NH_3 ammonium), 8.463 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, NH Asp.); 8.561 (t, $J=6.1$ Hz, 1H, NH Gly); 8.920 (t, $J=5.2$ Hz, 1H, NH benzylamide)

Composé 46

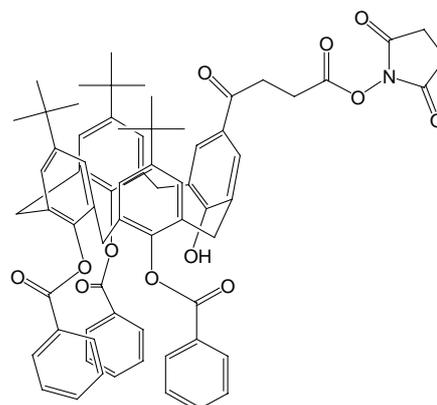
Libération de l'amine : A une suspension de 0,100 mg de composé **37** dans 2 mL de CH_2Cl_2 est ajouté 0,060 mL de triéthylamine. Le produit une fois solubilisé, on ajoute au milieu 2 mL de diéthyléther. Le précipité est alors filtré, séché pour donner 0,070 g d'une poudre blanche. **Couplage** : A une solution de



0,056 g ($0,181 \times 10^{-3}$ mol) de composé **39b** dans 2 mL de DMF, sont ajoutés 0,037 g ($0,181 \times 10^{-3}$ mol) de DCC et 0,028 ($0,181 \times 10^{-3}$ mol) d'HOBT. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, 0,070 g ($0,181 \times 10^{-3}$ mol) de l'amine libérée du composé **37** est ajouté au milieu. Après 16 heures et 30 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, l'insoluble est filtré et le filtrat est évaporé sous vide poussé. Le solide blanc résiduel est trituré avec du diéthyléther, filtré puis séché sous vide. Ce solide est ensuite trituré avec du CH_2Cl_2 . Le filtrat une fois prélevé, on triture à nouveau la gomme ainsi obtenue avec un mélange 1:1 CH_2Cl_2 /diéthyléther. La poudre formée est filtrée, séchée sous vide pour obtenir 0,045 mg d'une poudre blanche (35 %). **RMN ^1H** (DMSO d_6 , 400 MHz, δ ppm) : 1.482 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ Arg.); 1.696 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ Arg.); 1.861 (s, 3H, CH_3 acétyle); 2.425 (s, 3H, CH_3 bithiazole); 2.702-2.914 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=16.6$ Hz, $J_{\text{AX}}=5.2$ Hz, $J_{\text{BX}}=8.2$ Hz, 2H, CH_2 Asp.); 3.088 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.624 – 3.833 (m, ABX, CH_2 Gly.); 4.214 (m, 1H, CH Arg.); 4.399 ('d', 2H, CH_2 bithiazole); 4.693-4.709 (m, 1H, CH Asp.); 5.099 (s, 2H, CH_2 benzylester); 6.8 – 7.2 (« bosse » + s, 9H, H arom. benzylester + H guanidinium); 7.459(s, 1H, H arom. bithiazole), 7.484 (s, 1H, H arom. bithiazole); 7.657 ('s large', 1H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$); 8.106 (d, 1H, NH Arg.); 8.218-8.350 (m, 2H, NH Gly. + NH Asp.); 8.586 ('t', 1H, NH bith); **SM** (ES⁺) : 672.33 : [$\text{M}+\text{H}^+$]; **IR** : (KBr) 1729 cm^{-1} , 1638 cm^{-1} (F, fine, C=O), 1541 (F, fine, NH ammonium).

Composé 47

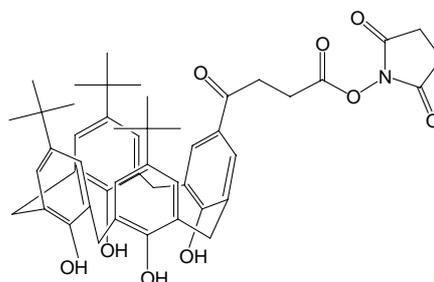
A une solution de 0.262 g (0.261×10^{-3} mol) de calix[4]arène **D** dans 150 mL de dichlorométhane anhydre, est additionné 0.050 g (0.434×10^{-3} mol) de N-hydroxysuccinimide et 0.062 g (0.300×10^{-3} mol) de DCC. Après 15 heures et 30 minutes d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, le dichlorométhane est évaporé sous vide et à température ambiante. Le brut est redissout dans 3 mL de dichlorométhane anhydre, puis placé 1 heure au congélateur. L'insoluble (DCU) est ensuite filtré sur



fritté. Le filtrat est évaporé sous vide et à température ambiante. Le brut est chromatographié sur colonne de silice en éluant avec 100% de dichlorométhane puis un mélange dichlorométhane/diéthyléther 98:2 pour obtenir 0.187 g (0.170×10^{-3} mol) d'un solide blanc (rendement : 65 %). **RMN** ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 0.671 (s, 18H, *tBu*); 0.720 (s, 9 H, *tBu*); 2.805 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinimide); 2.997 (t, $J=6.9$ Hz, 2H, CH_2 succinyle); 3.169 (t, $J=6.9$ Hz, 2H, CH_2 succinyle); 3.547-4.026 ('dd', AB, $J_{\text{AB}}=14.3$ Hz, 4H, Ar- CH_2 -Ar); 3.692-3.916 ('dd', AB, $J_{\text{AB}}=16.3$ Hz, 4H, Ar- CH_2 -Ar); 6.685-6.684 (m, 6H, *H* arom. benzoates); 6.829 (s, 2H, Ar calix.); 6.919-6.934 (m, 3H, *H* arom. benzoates); 7.152-7.192 (m, 4H, Ar calix.); 7.476 ('t', 2H, *H* arom. benzoates); 7.747 (s, 2H, Ar calix.); 7.851-7.871 ('d', 4H, *H* arom. benzoates). **AE** : $\text{C}_{69}\text{H}_{67}\text{NO}_{12}$, H_2O (MM=1120.29), calculée : C : 73.99 ; H : 6.16 ; N : 1.25, obtenue : C : 74.14 ; H : 5.90 ; N : 1.30, **UV** : CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{max}} = 278.0$ nm, $\epsilon = 17957$ $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$, **IR** : 3489 cm^{-1} (m, large, OH) ; 2957 cm^{-1} (m, large, CH) ; 1720 cm^{-1} (F, fine, C=O), **PF** : 243°C

Composé 48

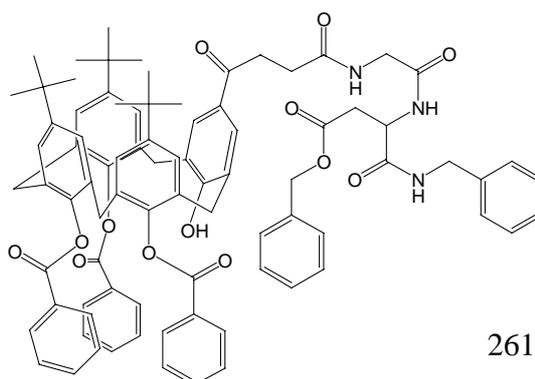
A une solution de 0.800 g (1.155×10^{-3} mol) de composé **15** dans 20 mL de dichlorométhane anhydre, est ajouté 0.212 g (1.848×10^{-3} mol, 1.6 éq.) de N-hydroxysuccinimide et 0.238 g (1.155×10^{-3} mol) de DCC. Après 68 heures d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'argon, 0.024 g de DCC sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 4 heures et 30



minutes d'agitation dans les mêmes conditions, le dichlorométhane est évaporé sous vide (30°C). Le brut est redissous dans 8 mL de dichlorométhane anhydre et placé au congélateur pendant 30 minutes. L'insoluble (DCU) est ensuite filtré sur fritté et rincé une fois au dichlorométhane anhydre. Le filtrat est évaporé sous vide (30°C). Le résidu est ensuite chromatographié sur colonne de silice en éluant avec du dichlorométhane. Les fractions propres sont réunies et évaporées, pour obtenir 0.676 g (0.856×10^{-3} mol) d'un solide jaune pâle, conservé au congélateur (rendement : 74 %). **RMN** ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 1.211 (s, 9 H, *tBu*) ; 1.246 (s, 18 H, *tBu*) ; 2.852 (s large, 4 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinimide) ; 3.031 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinyle) ; 3.289 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ succinyle) ; 3.545-4.282 ('dd', AB, 8H, Ar- CH_2 -Ar) ; 7.057 (s, 2 H, *H* arom.) ; 7.114 ('q', AB, $J_{\text{AB}}=2.4$ Hz, 4 H, *H* arom. latéraux) ; 7.759 (s, 2 H, *H* arom.) ; 10.324 (s large, 4 H, OH phénoliques), **SM ES**⁺ : 812.10 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; **AE** : $\text{C}_{48}\text{H}_{55}\text{NO}_9$, H_2O (MM = 807.979) ; calculée : C : 71.35 ; H : 7.11 ; N : 1.73, obtenue : C : 71.54 ; H : 6.91 ; N : 1.70 ; **UV** : CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{max}} = 280.0$ nm, $\epsilon = 14990$ $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; **IR** : 3448 cm^{-1} (F, large, OH) ; 2958 cm^{-1} (m, large, CH) ; 1742 cm^{-1} (F, fine, C=O)

Composé 49

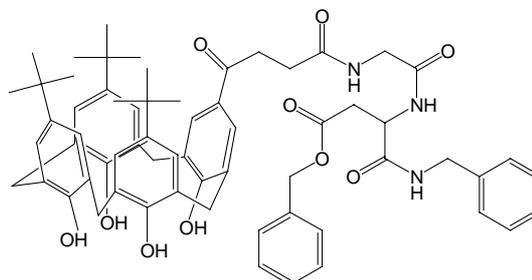
A une suspension de 0.034 g (0.084×10^{-3} mol) de chlorhydrate de glycyl-aspartyl(ω -benzylester)-benzylamide dans 3 mL de dichlorométhane anhydre, est ajouté 0.023 mL de triéthylamine. La solubilisation du peptide une fois obtenue après 10 minutes, une solution de 0.093 g (0.084×10^{-3} mol)



de composé **47** dans 2 mL de dichlorométhane anhydre est ajoutée goutte à goutte. Après 6 heures et 20 minutes d'agitation à 22°C et sous atmosphère d'argon, le dichlorométhane est évaporé sous vide à température ambiante. Le résidu est redissout dans 10 mL de dichlorométhane. Cette solution est lavée une fois avec 10 mL d'eau, séchée sur sulfate de sodium puis filtrée. Le dichlorométhane est ensuite évaporé sous vide à température ambiante. Le brut est ensuite chromatographié sur colonne de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / diéthyléther 98:2 puis avec un mélange dichlorométhane/ méthanol 98:2. Les fractions propres sont réunies puis évaporées sous vide à température ambiante pour obtenir 0.100 g (0.074×10^{-3} mol) d'un verre, séché 2 heures sous vide puis conservé au réfrigérateur (rendement : 88 %). **RMN ^1H** (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 0.776 (s, 9H, *tBu*) ; 0.790 (s, 9H, *tBu*) ; 0.809 (s, 9H, *tBu*) ; 2.464-2.496 (m, 2H, CH_2 succ.) ; 2.718-2.985 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=16.8$ Hz, $J_{\text{AX}}=5.7$ Hz ; $J_{\text{BX}}=5.9$ Hz, 2H, CH_2 asp.) ; 3.071 ('t', 2H, CH_2 succ.) ; 3.478-4.041 (massif, 8H + 2H, Ar- CH_2 -Ar et CH_2 gly.) ; 4.288-4.413 ('qd', AB X, $J_{\text{AB}} = 15.0$ Hz, $J_{\text{AX}}=6.8$ Hz ; $J_{\text{BX}}=7.2$ Hz 2H, CH_2 benzyl amide) ; 4.819-4.870 (m, 1H, CH asp.) ; 4.963-5.141 ('dd', AB, $J_{\text{AB}} = 12.1$ Hz, 2H, CH_2 benzyl ester) ; 6.689 (m, 2H + 1H, H. benzoates + NH gly.) ; 6.783-6.896 (m, 6H, H. benzoates) ; 7.040 ('t', 2H, H Ar.) ; 7.161-7.347 (m, 5H + 5H + 4H + 1H, H. benzylamide + H benzylester, H Ar + NH benzylamide) ; 7.543-7.679 (m, 2H + 2H + 1H, H Ar + H. benzoates+ NH asp.) ; 7.885-7.940 ('dd', 3H, H. benzoates) ; **SM ES $^+$** : 1378.8 [M+Na] $^+$; 1396.7 [M+K] $^+$, **AE** : $\text{C}_{85}\text{H}_{85}\text{O}_{13}\text{N}_3$, H_2O (MM = 1374.634), calculée : C : 74.26 ; H : 6.38 ; N : 3.06, obtenue : C : 74.28 ; H : 6.30 ; N : 3.12 ; **UV** : CH_2Cl_2 , $\lambda_{\text{max}} = 280.0$ nm, $\epsilon = 18301$ mol $^{-1}$.L.cm $^{-1}$; **IR** : 3485 cm $^{-1}$ (m, large, C=NH) ; 3357 cm $^{-1}$ (m, large, OH) ; 2955 cm $^{-1}$ (m, large, CH) ; 1728 cm $^{-1}$ (F, fine, C=O) ; **PF** : 148°C

Composé **50**

A une suspension de 0.026 g (0.063×10^{-3} mol) de glycyl-aspartyl(ω -benzylester)-benzylamide dans 2 mL de dichlorométhane anhydre, est ajouté 0.020 mL de triéthylamine. La solubilisation du peptide une fois obtenue, une solution de 0.050 g (0.063×10^{-3} mol) de composé **48** dans du dichlorométhane est ajoutée

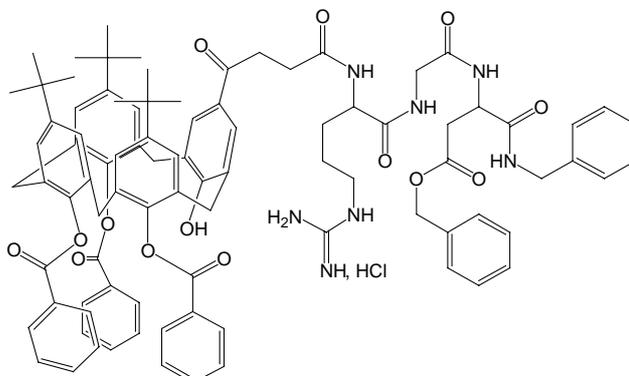


au goutte à goutte. Après 3 heures et 50 minutes d'agitation à 22°C et sous atmosphère d'argon, 15 mL de dichlorométhane sont ajoutés au milieu réactionnel. Cette solution est ensuite lavée 3 fois avec 20 mL d'eau et 1 mL de solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, puis séchée sur sulfate de sodium et filtrée. Après évaporation sous vide et à température ambiante du dichlorométhane, le résidu est chromatographié sur colonne de silice en éluant avec du dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane/méthanol 98 :2. Les fractions propres sont évaporées sous vide et à température ambiante pour obtenir 0.048 g (0.046×10^{-3} mol) d'un solide jaunâtre (rendement : 73 %). **RMN ^1H** (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm) : 1.087 (s, 9H, *tBu*) ; 1.237 (s, 18H, *tBu*) ; 2.450 ('t', 2H, CH_2 succ.) ; 3.077-3.123 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=16.8$ Hz, $J_{\text{AX}}=6.4$ Hz, $J_{\text{BX}}=5.9$ Hz, 2H, CH_2 asp.) ; 3.166 (t, $J=5.5$ Hz, 2H, CH_2 succ.) ; 3.549-4.266 (m, AB, 8H, Ar- CH_2 -Ar) ; 3.745-3.985 ('qd', ABX, $J_{\text{AB}}=16.9$ Hz, $J_{\text{AX}}=5.7$ Hz, $J_{\text{BX}}=5.8$ Hz, 2H, CH_2 gly.) ; 4.319 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H, CH_2 benzylamide) ; 4.932-4.985 (m large, 1H, CH asp.) ; 5.313 (s, 2H, CH_2 benzyl ester) ; 6.358 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, NH gly.) ; 7.008-7.154 (m, 4H, H Ar.) ; 7.097-7.154 (m, 10H + 4H, H arom. benzyl + H Ar.) ; 7.294-7.320 (m, 4H + 1H, H Ar. + NH benzylamide) ; 7.517 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, NH asp.) ; 10.286 (s large, 4H, OH) ; **SM ES $^+$** : 1066.29 [M + Na] $^+$, 1045.42 [M + H] $^+$; **AE** : $\text{C}_{64}\text{H}_{73}\text{O}_{10}\text{N}_3$, $2\text{H}_2\text{O}$ (MM = 1080.325), calculée : C : 71.15 ; H : 7.18 ; N : 3.89, obtenue :

C : 71.40 ; H : 6.86 ; N : 3.93 ; UV : CH₂Cl₂, λ_{max} = 280.0 nm, ε = 18039 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; IR : 3231cm⁻¹ (m, large, OH) ; 2958 cm⁻¹ (F, fine, CH) ; 1664 cm⁻¹ (F, fine, C=O) ; PF : 149°C

Composé 51

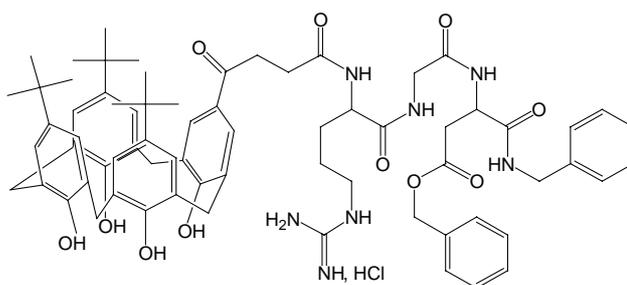
A une solution de 0.047 g (0.078×10⁻³ mol) de composé 45 dans 2 mL de DMF et 0.020 mL de triéthylamine est ajoutée goutte à goutte une solution de 0.086 g (0.078×10⁻³ mol) de composé 47 dans 3 mL de dichlorométhane anhydre. Après 2 heures et 50 minutes d'agitation à 22°C et sous atmosphère d'argon, le dichlorométhane est évaporé sous vide à température ambiante et le DMF évaporé



sous vide poussé à 30°C. Le résidu est ensuite trituré dans 5 mL de diéthyléther. Le précipité blanc est ensuite filtré sur fritté, rincé une fois au diéthyléther, puis redissous dans 20 mL de dichlorométhane, 20 mL d'eau et 7 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium. Après 3 extractions avec 20 mL de dichlorométhane, les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de sodium et filtrées. Après évaporation sous vide et à température ambiante du dichlorométhane, le résidu est trituré dans 30 mL d'eau. Le précipité blanc est filtré sur fritté, puis séché 2 heures sous vide poussé et placé au dessiccateur pour obtenir 0.075 g (0.048×10⁻³ mol) d'une poudre blanche, conservée au réfrigérateur (rendement : 62 %). **RMN** ¹H (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 0.692 (s, 9 H, *tBu*) ; 0.759 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.559 (m, 3H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 1.724 (m, 1H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 2.387 (m, 2 H, CH₂ succ.) ; 2.692-2.892 (m, 4H, CH₂ succ. CH₂ asp.) ; 3.100 (m, 2H, CH₂-NH asp.) 3.478-4.041 (massif, 8 H + 2 H, Ar-CH₂-Ar et CH₂ gly.) ; 4.261-4.275 (m, 2H + 1H, CH₂ benzamide + CH arg.) ; 4.712-4.725 (m, 1 H, CH asp.) ; 5.072 (s, 2H, CH₂ benzylester) ; 6.544 (s, 2H, H arom. benzylester) ; 6.544 (s, 2H, H arom. benzoates) ; 6.780 (s, 2H, H arom. benzoates) ; 6.901-7.026 (m, 5H, H guanidinium) ; 7.216-7.341 (m, 6H + 5H + 5H, H Ar, H arom. benzoates, H benzyle) ; 7.491 ('t', 2H, H. benzoates) ; 7.604-7.734 (m, 2H + 4H + 5H, H Ar, H arom. benzoates, H benzyle) ; 8.206 (d, J=7.3 Hz, 1H, NH arg.) ; 8.308 (m, 1H + 1H, NH asp.+ NH gly.) ; 8.435 ('s large', 1H, NH benzylamide) ; **SM ES**⁺ : 1512.9 [M-Cl]⁺, 1547.8 [M-H]⁺ ; **AE** : C₉₁H₉₈N₇O₁₄Cl, 2H₂O (MM = 1585.297) ; calculée : C : 68.95 ; H : 6.48 ; N : 6.18, obtenue : C : 68.84 ; H : 6.30 ; N : 6.02, **IR** : 3357 cm⁻¹ (m, large, OH) ; 2956 cm⁻¹ (m, large, CH) ; 1727 cm⁻¹ (F, fine, C=O) ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 280.0 nm, ε = 17432 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **PF** : 200°C

Composé 52a

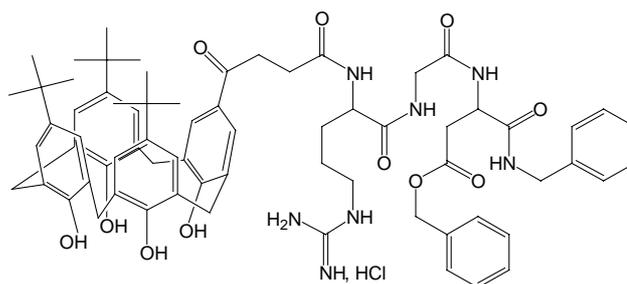
A une solution de 0.041 g (0.068×10⁻³ mol) de composé 45 dans 2 mL de DMF, est ajouté 0.020 mL de triéthylamine. Après quelques minutes d'agitation, une solution de 0.054 g (0.068×10⁻³ mol) de composé 48 dans 2 mL de dichlorométhane anhydre est ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel. Après 3 heures d'agitation à 21°C et sous atmosphère d'argon, le dichlorométhane



est évaporé sous vide à 25°C et le DMF évaporé sous vide poussé à 30°C. Le résidu est ensuite trituré dans 30 mL de diéthyléther. Le précipité jaune-vert est ensuite filtré sur fritté, rincé trois fois avec du diéthyléther, puis redissout dans 20 mL de dichlorométhane. Cette solution est lavée une première fois avec 12 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium et 20 mL d'eau. La phase organique est ensuite lavée 3 fois avec 20 mL d'eau, puis séchée sur sulfate de sodium et filtrée. Après évaporation sous vide et à température ambiante du dichlorométhane, le résidu est trituré dans 30 mL de diéthyléther. Le précipité obtenu est ensuite filtré, rincé trois fois au diéthyléther, séché sous vide à 30 °C pendant 5 heures pour obtenir 0.040 g (0.032×10^{-3} mol) d'une poudre jaunâtre, conservé entre 0°C et 5°C (47 %). **RMN ¹H** (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 1.107 (s, 9 H, *tBu*) ; 1.149 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.503 (m, 3H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 1.690 (m, 1H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 2.400-2.500 (m, 2 H, CH₂ succ.) ; 2.661-2.902 ('qd', ABX, J_{AB}=16.1 Hz, J_{AX}=5.7 Hz, J_{BX}=7.8 Hz, 2H, CH₂ asp.) ; 3.002-3.065 (m, 2H + 2H, CH₂ succ. + CH₂-NH arg.) ; 3.664-3.813 ('qd', ABX, J_{AB}=16.2 Hz, J_{AX}=5.7 Hz, J_{BX}=5.9 Hz, 2H, CH₂ gly.) ; 4.0 – 4.5 (« bosse », 8H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.265-4.279 (m, 2H + 1H, CH₂ benzamide + CH arg.) ; 4.711-4.727 (q, 1 H, CH asp.) ; 5.083 (s, 2H, CH₂ benzyl ester) ; 6.966 (m, 10H + 6H + 4H, H arom.benzyl + H Ar. + H guanidinium) ; 7.350 ('s large', 1H, NH guan.) ; 7.629 (s, 2H, H Ar.) ; 8.140 (d, J=7.4 Hz, 1H, NH arg.) ; 8.213 ('t', 1H NH gly.) ; 8.261 (d, J = 8.1 Hz, 1H, NH asp.) ; 8.391 (t, J= 5.9 Hz, 1H, NH benzamide) ; 11.0-12.0 (s large, 4H, OH)

Composé **52b**

A une solution de 0.121 g (0.200×10^{-3} mol) de composé **45** dans 1 mL de DMF, est ajouté 0.030 mL de triéthylamine. Après 5 minutes d'agitation, 0.054 g (0.200×10^{-3} mol) de composé **48** dans 6 mL de dichlorométhane anhydre est ajouté au milieu réactionnel en effectuant un rinçage avec 1,5 mL de DMF. Après 21

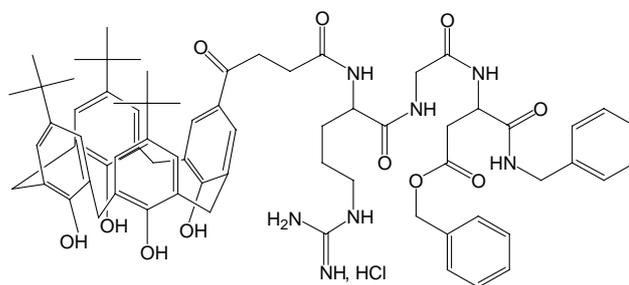


heures d'agitation à 21°C et sous atmosphère d'argon, un volume de 0.030 mL de triéthylamine et de 2.5 mL de dichlorométhane est ajouté au milieu réactionnel. Après 2 heures d'agitation dans les mêmes conditions, le dichlorométhane est évaporé sous vide à 30°C et le DMF évaporé sous vide poussé à 30°C. Le résidu est ensuite trituré deux fois dans 50 mL de diéthyléther. Le précipité jaune pâle est ensuite filtré, rincé deux fois au diéthyléther, puis redissout dans 60 mL de dichlorométhane. Cette solution est lavée deux fois avec un mélange de 40 mL d'eau et 70 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium, puis séchée sur sulfate de magnésium et filtrée. Après évaporation sous vide et à température ambiante du dichlorométhane, le résidu est trituré dans 50 mL de diéthyléther. Le précipité obtenu est ensuite filtré, rincé deux fois au diéthyléther, séché sous vide pendant 2 heures pour obtenir 0.187 mg (0.151×10^{-3} mol) d'une poudre jaunâtre, conservée entre 0°C et 5°C (76 %). **RMN ¹H** (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 1.097 (s, 9 H, *tBu*) ; 1.143 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.500 (m, 3H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 1.695 (m, 1H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 2.400-2.500 (m, 2 H, CH₂ succ.) ; 2.666-2.904 ('qd', ABX, J_{AB}=16.1 Hz, J_{AX}=5.7 Hz, J_{BX}=8.1 Hz, 2H, CH₂ asp.) ; 2.983-3.169 (m, 2H + 2H, CH₂ succ. + CH₂-NH arg.) ; 3.647-3.827 ('qd', ABX, J_{AB} = 16.5 Hz, J_{AX}=5.5Hz, J_{BX}=6.0 Hz, 2H, CH₂ gly.) ; 4.054 ('d', 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.218-4.278 (m, 2H + 1H, CH₂ benzamide + CH arg.) ; 4.420 ('d', 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.691-4.726 (q, 1 H, CH asp.) ; 5.079 (s, 2H, CH₂ benzyl ester) ; 6.880-7.367 (m, 10H + 6H + 4H, H arom.benzyl + H Ar. + H guanidinium) ; 7.490 ('t', 1H, NH guan.) ; 7.568 (s, 2H, H Ar.) ; 8.150 (d, J = 7.4 Hz,

1H, *NH* arg.) ; 8.231 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H *NH* gly.); 8.266 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, *NH* asp.) ; 8.392 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, *NH* benzylamide).

Composé 52c

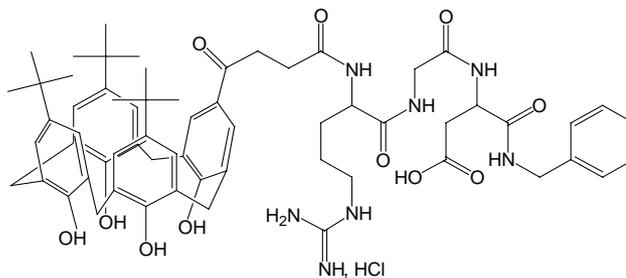
A une solution de 0.121 g (0.200×10^{-3} mol) de composé 45 dans 6 mL de DMF, est ajouté 0.060 mL de triéthylamine. Après 3 minutes d'agitation, une solution de 0.158 g (0.200×10^{-3} mol) de composé 48 dans 6 mL de dichlorométhane anhydre est ajoutée



goutte à goutte au milieu réactionnel. Après 22 heures d'agitation à 26°C et sous atmosphère d'argon, le dichlorométhane est évaporé sous vide à 25°C et le DMF évaporé sous vide poussé à 30°C. Le résidu est ensuite trituré dans 30 mL de diéthyléther. Le précipité vert est ensuite filtré sur fritté, rincé avec 4 mL de diéthyléther, puis redissous dans 60 mL de dichlorométhane. Cette solution est lavée 2 fois avec 100 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de sodium et filtrée. Après évaporation sous vide et à température ambiante du dichlorométhane, le résidu est chromatographié sur colonne de silice en éluant avec du dichlorométhane puis avec des mélanges successifs dichlorométhane/méthanol (98:2, 95:5, 90:10 et 80:20). Les fractions propres sont réunies, évaporées sous vide et à température ambiante, et le solide obtenu est trituré dans 50 mL de diéthyléther. Le précipité est filtré sur fritté, rincé au diéthyléther et séché sous vide poussé pendant 7 heures pour obtenir 0.187 g (0.151×10^{-3} mol) d'un solide jaunâtre, conservé entre 0°C et 5°C (rendement : 76%). **RMN** ¹H (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 1.156 (s, 9 H, *tBu*) ; 1.122 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.498 (m, 3H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 1.686 (m, 1H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 2.400-2.500 (m, 2 H, CH₂ succ.) ; 2.657-2.899 ('qd', ABX, *J*_{AB}=15.9 Hz, *J*_{AX}=5.8 Hz, *J*_{BX}=8.1 Hz, 2H, CH₂ asp.) ; 3.002-3.065 (m, 2H + 2H, CH₂ succ. + CH₂-NH arg.) ; 3.647-3.830 ('qd', ABX, *J*_{AB}=15.4 Hz, *J*_{AX}=5.1 Hz, *J*_{BX}=5.8 Hz, 2H, CH₂ gly.) ; 4.0 – 4.5 (« bosse », 8H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.202-4.365 (m, 2H + 1H, CH₂ benzylamide + CH arg.) ; 4.641-4.709 ('q', 1 H, CH asp.) ; 5.090 (s, 2H, CH₂ benzyl ester) ; 6.605 (m, 10H + 6H + 4H, *H* arom.benzyl + *H* Ar. + *H* guanidinium) ; 7.497 ('t', 1H, NH guan.) ; 7.728 (s, 2H, *H* Ar.) ; 8.175 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, NH arg.) ; 8.220 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H NH gly.) ; 8.280 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH asp.) ; 8.417 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, NH benzylamide) ; **SM ES**⁺ : 1200.30 [M-Cl⁻+H⁺], 1222.30 [M+Na⁺] ; **AE** : C₇₀H₈₆O₁₁N₇, 2H₂O (MM=1272.973), calculée : C : 66.05 ; H : 7.13 ; N : 7.70, obtenue : C : 65.85 ; H : 7.03 ; N : 7.61 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max} = 282.0 nm, ε = 16353 mol⁻¹.L.cm⁻¹ ; **IR** : 3267 cm⁻¹ (m, large, OH) ; 2959 cm⁻¹ (m, fine, CH) ; 1656 cm⁻¹ (F, fine, C=O) ; **PF**: 210°C

Composé 53b

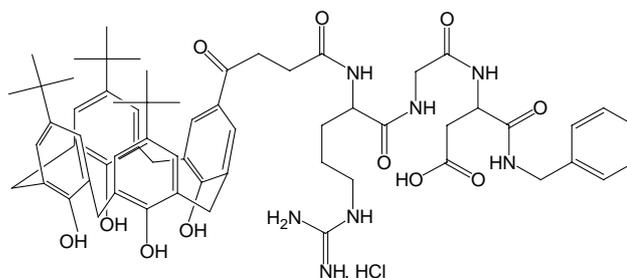
A une solution de 0.10 g (0.081×10^{-3} mol) de composé 52b dans 20 mL de méthanol, on ajoute 0.009 g (0.008×10^{-3} mol) de catalyseur palladium sur charbon (10 %). La solution est dégazée pendant 5 minutes par du dihydrogène. Le milieu réactionnel est placé ensuite sous atmosphère de dihydrogène à température ambiante et



sous agitation pendant 16 heures. Le catalyseur est ensuite filtré sur célite[®], puis rincé au méthanol. Le filtrat évaporé sous vide à 30°C. Le résidu est ensuite séché sous vide à température ambiante puis trituré avec 30 mL de diéthyléther anhydre. Le précipité est ensuite filtré sur fritté, rincé 2 fois avec du diéthyléther anhydre et enfin séché sous vide poussé pendant 3 heures. On obtient 0.077 g (0.067×10^{-3} mol) d'un solide blanc, conservé au réfrigérateur (83 %). **RMN ¹H** (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 1.096 (s, 9 H, *tBu*) ; 1.146 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.495 (m, 3H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 1.700 (m, 1H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 2.418-2.510 (m, 2 H, CH₂ succ.) ; 2.237-4.486 (,dd', AB, J_{AB}=12.7Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar) ; 2.598-2.675 (m, 2H, CH₂ asp.); 2.984-3.072 (m, 2H + 2H, CH₂ succ. + CH₂-NH arg.); 3.136-4.446 (,dd', AB, J_{AB}=12.2 Hz, 4H, Ar-CH₂-Ar); 3.716 (m, 2H, CH₂ gly.);); 4.215-4.286 (m, 2H + 1H, CH₂ benzylamide + CH arg.) ; 4.591 (q, 1 H, CH asp.) ; 6.600-7.700 (m, 5H + 6H + 5H, *H* arom.benzyl + *H* Ar. + *H* guanidinium) ; 7.563 (s, 2H, *H* Ar.) ; 8.00-8.400 (m, 4H, NH asp. + NH gly. + NH benzylamide + NH arg.).

Composé **53c**

A une solution de 0.120 g (0.097×10^{-3} mol) de composé **52c** dans 24 mL de méthanol, on ajoute 0.011 g (0.010×10^{-3} mol) de catalyseur palladium sur charbon (10%). La solution est dégazée pendant 5 minutes par du dihydrogène. Le milieu réactionnel est placé ensuite sous



atmosphère de dihydrogène à 25°C et sous agitation pendant 24 heures. Le catalyseur est ensuite filtré sur célite[®], puis rincé au méthanol. Le filtrat évaporé sous vide à 30°C. Le résidu est ensuite séché sous vide à température ambiante puis trituré avec 36 mL de diéthyléther anhydre. Le précipité est ensuite filtré sur fritté, rincé 2 fois avec du diéthyléther anhydre et enfin séché sous vide poussé pendant 7 heures. On obtient 0.103 g (0.090×10^{-3} mol) d'un solide blanc, conservé au réfrigérateur (93 %). **RMN ¹H** (DMSO d₆, 400 MHz, δ ppm) : 1.119 (s, 9 H, *tBu*) ; 1.158 (s, 18 H, *tBu*) ; 1.501 (m, 3H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 1.685 (m, 1H, CH-CH₂-CH₂-CH₂-NH) ; 2.400-2.500 (m, 2 H, CH₂ succ.) ; 2.545-2.752 (m, 2H, CH₂ asp.) ; 3.026-3.138 (m, 2H + 2H, CH₂ succ. + CH₂-NH arg.) ; 3.691-3.809 ('qd', ABX, J_{AB}=16.8 Hz, J_{AX}=5.5 Hz, J_{BX}=6.0 Hz, 2H, CH₂ gly.) ; 3.4 – 4.5 (« bosse », 8H, Ar-CH₂-Ar) ; 4.210-4.284 (m, 2H + 1H, CH₂ benzylamide + CH arg.) ; 4.616-4.630 (q, 1 H, CH asp.) ; 6.600-7.500 (m + « bosse », 5H + 6H + 4H, *H* arom.benzyl + *H* Ar. + *H* guanidinium) ; 7.533 ('t', 1H, NH guan.) ; 7.706 (s, 2H, *H* Ar.) ; 8.153-8.238 (m, 3H, NH arg. + NH gly. + NH asp.) ; 8.331 (t, J=6.0 Hz, 1H, NH benzylamide) ; **SM ES⁺** : 1110.06 [M+H⁺]⁺, 1131.980 [M+Na⁺]⁺ ; **AE** : C₆₃H₈₀N₇O₁₁Cl, 2H₂O (MM=1182,82) **Calculée** : C : 63.97; H : 7,16; N : 8.29 **Obtenue** : C : 63.92 ; H : 6.94 ; N : 8.15 ; **UV** : CH₂Cl₂, λ_{max}= 280.0 nm, ε = 15266 mol⁻¹.L.cm⁻¹; **IR** : 3275 cm⁻¹ (m, large, OH) ; 2959 cm⁻¹ (m, fine, CH) ; 1666 cm⁻¹ (F, fine, C=O).

Publications

“Heptakis-6-(5-methylene-ureido-5'-methyl-2,2'-bithiazolyl)-cyclomaltoheptaose as a new fluorescent polydentate ligand”,

M. Wagner, **P. Engrand**, J.B. Regnouf-de-Vains, A. Marsura,
Tetrahedron Letters, **2001**, 42, 5207-5209.

“A bifunctional calixarene designed for immobilisation on a natural polymer and for metal complexation”,

P. Engrand and J.B. Regnouf-de-Vains,
Tetrahedron Letters, **2002**, 43, 8863-8866.

“Design an photophysical properties of new RGD targeted tetraphenylchlorins and porphyrins”,

M. Boisbrun, R. Vanderesse, **P. Engrand**, A. Olié, S. Hupont, J.B. Regnouf-de-Vains, C. Frochot,
Tetrahedron, **2008**, 64, 3494-3504.

Communications par posters

- 1) « Incorporation of an anchoring group on a calixarene platform », **P. Engrand**, J.-B. Regnouf de Vains, Journée scientifique de l'école doctorale SESAMES, 18 septembre 2001, Université de Metz.
- 2) « Activation of a calixarene platform and grafting on a natural polymer », **P. Engrand**, J.-B. Regnouf de Vains, Journées Pharma-Recherche, mars 2002, Faculté de Pharmacie, Nancy.
- 3) « Activation of a calixarene platform and grafting on a natural polymer », **P. Engrand**, J.-B. Regnouf de Vains, 4ème Journées Franco-Belges de Chimie Organique, 3-4 mai 2002, Metz.
- 4) « Synthèse convergente de peptides d'adhésion de type RGD », M. Boisbrun, **P. Engrand**, S. Toulleron, J.-B. Regnouf de Vains, SFC Grand-Est III Reims, 15-16 janvier 2003, Faculté de Médecine et Pharmacie, Reims.
- 5) « Synthèse of RGD dérivatives via a convergent strategy », M. Boisbrun, **P. Engrand**, A. Salsmann, N. Kieffer, J.-B. Regnouf de Vains, CA03/25, SFC Eurochem Nancy-2005, 28 août – 1^{er} septembre 2005, Faculté des Sciences, Nancy.

Résumé

L'objectif de ce travail porte sur la valorisation du calix[4]arène en tant que complexant de métaux de transition, immobilisé sur un matériau, et en tant que vecteur de principe actifs, aptes à interagir avec des récepteurs cellulaires. En premier lieu, le travail porte sur la monofonctionnalisation sélective d'un calix[4]arène, aussi bien sur sa partie haute que sur sa partie basse. Les fonctions nitro, amine, aldéhyde, et alcène ont été incorporées sur la partie basse du calix[4]arène, *via* un bras espaceur. De la même façon, un bras acide a été également incorporé, sur la partie haute du calix[4]arène. Ces calix[4]arènes monofonctionnalisés se déclinent en trois séries de composés, dépendant du degré et de la nature des substituants des trois OH résiduels des parties phénoliques du calix[4]arène : tétrol, triméthoxy et trisbipyridyle. Le second objectif est la réalisation du greffage d'un calix[4]arène, préalablement pourvu d'une fonction amine, sur un polymère naturel de type cellulose ou dextran. Nous avons mis au point un mode opératoire reproductible qui a permis d'obtenir un calix[4]arène, complexant de l'ion Cu(I), immobilisé sur cellulose en poudre ou sur dextran (polymère obtenu hydrosoluble). Une évaluation du taux de greffage par analyse RMN et dosage UV-Vis en présence de Cu⁺ est également décrite pour les dextrans. Le troisième objectif porte sur l'incorporation sur la partie haute du calix[4]arène d'un tripeptide d'adhésion RGD, en tant qu'antenne de reconnaissance cellulaire, préparé par une synthèse convergente en solution, mise au point dans le cadre de ce travail. Une chimiothèque de tripeptides RGD, fonctionnalisés par des groupements modulables sur les parties C- et N-terminales, a été obtenue avec des rendements parfois plus élevés que ceux obtenus par synthèse linéaire en solution. Ces peptides ont fait l'objet d'une évaluation biologique (adhésion cellulaire). Nous avons ainsi préparé des calix[4]arènes, de conformation conique, antennisés par le dipeptide GD et le tripeptide RGD, destinés à élaborer des modèles de vecteurs supramoléculaire de principes actifs.

Abstract

The aim of this present work is dedicated to the valorization of calix[4]arene as a transition-metal complexing agent, grafted on a polymeric material, and as a drug carrier, displaying a cell recognition peptidic sequence. We describe selective monofunctionalization of a calix[4]arene, at the upper rim or at the lower rim. Nitro, amino, aldehyde and alcene functions were incorporated on the calix[4]arene lower rim, *via* a spacer. In the same way, an acid arm was also incorporated on the calix[4]arene upper rim. We made those monofunctionalized calix[4]arenes available into three series, depending on the number and the nature of substituent on the three residual OH groups of the calix[4]arene carried function : tetrol, trimethoxy and trisbipyridyl. The second goal is dedicated to the grafting of an amino-functionalized calix[4]arene, on a natural polymer, such as cellulose or dextran. We have developed a method allowing to access to a new polymeric complexing agent. We also describe the grafting-ratio, calculated by NMR, UV-Vis and titration with Cu⁺. The third goal is dedicated to the grafting of the cell-recognizing RGD sequence, prepared in solution by a gram-scale convergent synthesis. A RGD analogue library, functionalized by variable groups on the C- and N- terminations, were obtained with interestingly yields. Those peptides were involved into a biological evaluation (cellular adhesion). Thus, cone-conformed calix[4]arene incorporating the GD or RGD peptide sequence were elaborated as preliminary models for the access to new drug-carrier molecular devices.