



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>

Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques (ENSIC)

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

Laboratoire de Chimie-Physique Macromoléculaire (LCPM)

FRE 3564

Thèse

Présentée par

Zhou ZHOU

En vue de l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité : Génie des Procédés et des Produits

Synthèse et études structurales de nouveaux [α / aza]-oligomères et cyclooligomères, vers de nouveaux foldamères

Soutenue publiquement le 10 décembre 2014

Membres du jury

Rapporteurs :

Dr. Jean-Alain Fehrentz (DR, IBMM, Université de Montpellier)

Dr. Gilles Guichard (DR, CBMN, Université de Bordeaux)

Examineurs :

Dr. Régis Vanderesse (CR, LCPM, Université de Lorraine)

Pr. Brigitte Jamart (Pr, LCPM, Université de Lorraine)

Membre invité :

Dr. Jacques Bodiguel (MCF, LCPM, Université de Lorraine)

Remerciements

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

Je voudrai tout d'abord remercier le Docteur Régis VANDERESSE de m'avoir accueilli au laboratoire et d'avoir dirigé ma thèse.

Je remercie aussi le Professeur Brigitte JAMART-GREGOIRE et le Docteur Jacques BODJGUEL d'avoir co-dirigé cette thèse, pour leur disponibilité notamment lors de la rédaction de ce manuscrit et surtout pour tout ce qu'ils ont fait pendant le moment où j'étais en Chine.

Je suis sensible à l'honneur que m'ont fait Messieurs le Docteur Gilles GUICHARD, Directeur de Recherche à l'Université de Bordeaux, et le Docteur Jean-Alain FEHRENTZ, Directeur de Recherche à l'Université de Montpellier en acceptant de juger ma thèse.

Je remercie chaleureusement Monsieur le Docteur Claude DJDJERJEAN pour sa collaboration sans qui les études par diffraction des rayons X n'auraient pu être menées à bien. Je remercie également Madame le Docteur Marie-Christine AVERLANT-PETIT, chargée de recherche au CNRS et mon ami Cheng DENG, doctorant dans le groupe, pour les études structurales par simulation numérique.

Je remercie aussi Monsieur Olivier FABRE pour la spectroscopie RMN et Madame Mathilde ACHARD pour la spectrométrie de masse.

Je pense aussi aux personnes qui ont partagé le meilleur moment au laboratoire : Asté ROSE, Papass JTALJEN, Emelyne, Loulou VOYAEUR, Maxime LE BAT, Ralphe LE NOIR, Eugénie et Chang DENG.

Je tiens à remercier particulièrement la famille Remois qui m'a hébergé pendant 5 ans, me donnant une émotion familiale (Maricha).

Enfin, je finis ces remerciements par vous : mes parents, ma femme, mon fils...

Merci à tous

Sommaire

LISTE DES ABREVIATIONS	6
INTRODUCTION GENERALE	9
Chapitre I : Synthèse et études structurales de nouveaux 1:1-[α/aza]-oligomères 2:1-[α/aza]-oligomères	14
I Introduction et bibliographie	15
I.1 Conformation préférentielle des aza-acides aminés et des azapeptides.....	16
I.1.1 Influence conformationnelle de l'introduction d'acide aza-aminés dans un pseudopeptide ainsi que de la nature de la chaîne latérale.....	16
I.1.2 Influence de la position du résidu aza-acide aminé dans la chaîne azapeptidique .	20
I.1.3 Influence de la nature de l'acide aminé précédant le résidu aza-acide aminé sur la structure de l'azapeptide	22
I.1.4 Relation entre la configuration du N_α et la conformation d'azapeptide	23
II Synthèse des 1:1-[α/aza]-oligomères et des 2:1-[α/aza]-oligomères	25
II.1 Introduction	25
II.2 Généralités sur les modes de synthèse des azapeptides.....	25
II.3 Modes de synthèse des dérivés hydrazines.....	26
II.4 Préparation des oligomères azapeptidiques	30
II.4.1 Rappel sur la synthèse de Boc-azaAA-AA-OMe.....	30
II.4.2 Synthèse des 1:1-[α /aza]-oligomères.....	31
II.4.3 Synthèse des 2:1-[α /aza]-oligomères.....	33
II.5 Conclusion.....	37
III Etudes conformationnelles des 1:1-[α/aza]-oligomères et des 2:1-[α/aza]-oligomères.....	38
III.1 Introduction	38
III.2 Aspects conformationnels en série peptidique et pseudopeptidique	38
III.2.1 Description du squelette peptidique.....	38
III.2.2 Feuilletts β et brin β (β -hairpin)	40
III.2.3 Les coudes ou turns	42
III.2.4 Les coudes β conformation en série peptidomimétiques	44
III.2.5 Les hélices	46
III.3 Méthodes d'analyses conformationnelles	48
III.3.1 La diffraction des rayons X	48
III.3.2 La modélisation moléculaire.....	49
III.3.3 La spectroscopie d'absorption infrarouge (IR)	49
III.3.4 La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)	50

III.3.5 Conclusion	53
III.4 Etudes conformationnelles des 1:1-[α /aza]-tétramères	54
III.4.1 Rappel	54
III.4.2 Etudes structurales en solution des 1:1-[α /aza]-tétramères 7	54
III.5 Etudes conformationnelles des 1:1-[α /aza]-hexamères	62
III.5.1 Etudes structurales en solution du 1:1-[α /aza]-hexamère 8	62
III.5.2 Conclusion	68
III.6 Etudes conformationnelles du 2:1-[α /aza]-trimère 9a	68
III.6.1 Rappel	68
III.6.2 Etudes structurales en solution du 2:1-[α /aza]-trimère 9a	69
III.7 Etudes conformationnelles des 2:1-[α /aza]-trimères Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)-OMe 9b	74
III.7.1 Etudes structurales en solution des 2:1-[α /aza]-trimères Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)-OMe 9b	74
III.7.2 Conclusion	79
III.8 Etudes conformationnelles du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral 10a	79
III.8.1 Rappel	79
III.8.2 Etudes structurales en solution du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral 10a	81
III.9 Etudes conformationnelles du 2:1-[α /aza]-hexamère hétérochiral 10b	84
III.9.1 Etudes structurales en solution du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral 10b	84
III.9.2 Conclusion :	86
Chapitre II : Synthèse et études structurales de nouveaux 1:1-[α/aza]-oligomères cycliques et des 2:1-[α/aza]-oligomères cycliques	88
IV Introduction	89
V Bibliographie	91
V.1 Les nanotubes de M. Reza Ghadiri	91
V.2 Les nanotubes de Juan R. Granja	92
V.3 Les nanotubes formés par les groupements urées	95
VI Synthèse des 2:1-[α /aza]-cyclooligomères et 1:1-[α /aza]-cyclooligomères	98
VI.1 Introduction	98
VI.2 Synthèse des 2:1-[α /aza]-cyclooligomères	99
VI.3 Synthèse des 1:1-[α /aza]-cyclooligomères	101
VII Analyses structurales du cyclohexamère 1:1-[α /aza] 16	103
VII.1 Etudes structurales des cyclohexamères 1:1-[α /aza] 16 à l'état solide	103
VII.1.1 Résultats cristallographiques	103
VIII Analyses structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a	104

VIII.1 Etudes structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a à l'état solide	104
VIII.1.1 Résultats cristallographiques	104
VIII.2 Etudes structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a en solution à une faible concentration	108
VIII.2.1 Par la modélisation : le logiciel AMBER	109
VIII.2.2 Influence du DMSO-d ₆	110
VIII.2.3 Par spectroscopie infrarouge	112
VIII.3 Etudes structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a en solution à haute concentration	115
VIII.3.1 Par résonance magnétique nucléaire	115
VIII.3.2 Par spectroscopie infrarouge	117
VIII.4 Conclusion	119
IX Analyses structurales du cyclohexamère hétérochiral 2:1-[α /aza] 13b	119
IX.1 Etudes structurales du cyclohexamère hétérochiral 2:1-[α /aza] 13b en solution à une faible concentration	119
IX.1.1 Influence du DMSO-d ₆	121
IX.1.2 Par spectroscopie infrarouge	123
IX.1.3 Par résonance magnétique nucléaire	125
IX.2 Etudes structurales du cyclohexamère hétérochiral 2:1-[α /aza] 13b en solution à une haute concentration	127
IX.2.1 Par spectroscopie infrarouge	131
IX.3 Analyse conformationnelle du 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral 13b sous forme de gel	133
IX.3.1 Analyse par RMN: influence de la concentration sur le 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral 13b dans le toluène-d ₈	136
IX.3.2 Analyse par IR: influence de la concentration sur le 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral 13b dans le toluène-d ₈	140
IX.3.3 Analyse conformationnelle par IR: influence de la température sur le gélateur cyclohexamère hétérochiral 13b dans le toluène	144
X Analyses structurales du cyclohexamère Phe-azaPhe-Ala-(D)Phe-azaPhe-(D)Ala 13c	147
CONCLUSION GÉNÉRALE	150
EXPERIMENTAL PART	152
BIBLIOGRAPHIE	185

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : résidu acide aminé

AcOEt : acétate d'éthyle

ADN : acide désoxyribonucléique

Ala : résidu alanine

Asn : résidu asparagine

Asp : résidu acide aspartique

ATR : Single Reflexion Attenuated Total Reflectance

AzaAA : résidu acide azaaminé

Boc : *tert*-butyloxycarbonyle

Boc₂O : dicarbonate de di-*tert*-butyle

Bop : hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium

Bzl : benzoyle

CCG : concentration critique du gélotion

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

COSY : COrrrelation SpectroscopY

DCC : dicyclohexylcarbodiimide

DCM : dichlorométhane

DEAD : diéthylazodicarboxylate

DIEA : N,N'-diisopropyléthylamine

DMAP : 4,4-diméthylaminopyridine

DMSO : diméthylsulfoxyde

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

equiv : équivalent

Et : éthyle

Fmoc : 9-fluorénylméthylèneoxycarbonyle

Fmoc-Cl : chloroformiate de 9-fluorénylméthylèneoxycarbonyle

For : formyle

Gly : résidu glycine

HATU : hexafluorophosphate de 2-(1*H*-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium

hGly : résidu hydrazinoglycine
His : résidu histidine
HOBt : *N*-hydroxybenzotriazole
HRMS (ESI) : High Resolution Mass Spectrometry (ElectroSpray Ionization)
iPr : isopropyle
IR : infrarouge
Leu : résidu leucine
Me : méthyle
Met : résidu méthionine
mM : millimolaire
NMM : *N*-méthylmorpholine
NOE : Nuclear Overhauser Effect
NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Ph : phényle
pH : potentiel hydrogène
p-ether : éther de pétrole
Phe : résidu phénylalanine
Pht : phtalimide (français)
Phth : phthalimide (anglais)
Piv : pivaloyle
ppm : partie par million
Pro : résidu proline
Rdt : rendement
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
ROESY : Rotation frame nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
RT : room temperature
RX : rayons X
TA : température ambiante
TBTU : tétrafluoroborate de 2-(1*H*-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tértraméthyluronium
tBu : *tert*-butyle
TFA : acide trifluoroacétique
THF : tétrahydrofurane
TLC : Thin Layer Chromatography

TOCSY : TOtally Correlated SpectroscopY

UV : ultraviolet

Val : résidu valine

Xaa : résidu d'acide aminé α

Z : benzyloxycarbonyl

INTRODUCTION GENERALE

Durant ces dernières années, les études structure/activité des protéines ont progressé rapidement, fournissant une compréhension mécanistique d'une grande variété de processus biologiques. Les activités biologiques de la plupart de protéines sont associées uniquement à leur conformation compacte bien définie. Les structures tridimensionnelles des protéines sont formées de plusieurs unités remarquables comme les coudes, les feuilletés et les hélices qui constituent leur structure secondaire. Les chimistes se sont intéressés récemment à la synthèse d'oligomères d'unités non naturelles dans le but d'obtenir des structures analogues à ces biopolymères. C'est ainsi que la notion de foldamère est apparue. Le terme de foldamère a été introduit par Samuel Gellman en 1998,¹ et caractérise tout oligomère non naturel ou polymère ayant une forte tendance à adopter une conformation compacte bien définie et prévisible en solution.

Parmi les modifications possibles, celles introduites au niveau du squelette peptidique, et plus particulièrement au niveau de la liaison amide sont plutôt prometteuses. En effet, elles permettent de laisser intactes les chaînes latérales, généralement nécessaires à une bonne reconnaissance par le site actif des protéines cibles. On parle alors de pseudopeptides.

Par l'introduction de motifs pseudopeptidiques, il est également possible de modifier la structure secondaire du peptide de façon à ce qu'il adopte une conformation permettant une meilleure affinité et une plus grande spécificité avec le récepteur.

Grand nombre d'oligomères avec différents squelettes ont été évalués en tant que potentiels foldamères depuis le milieu des années 1990. Une majorité des foldamères étudiés à ce jour sont des foldamères homogènes qui contiennent les mêmes sous unités. On peut citer par exemple, les oligomères contenant exclusivement des β -amino acides, synthétisés par l'équipe de Seebach qui présentent une structure hélicoïdale.²

Récemment, quelques groupes de recherche se sont orientés vers les foldamères à squelette hétérogène qui sont construits par plus d'un type de sous-unité.³

Un des avantages des foldamères hétérogènes est la possibilité d'obtenir un grand nombre de combinaisons à partir de différentes sous unités (par exemple, α - β - α - β - α - β , α - α - β - α - α - β , α - β - β - α - β - β , α - α - β - β , etc. dans le cas des α et β acides aminés). Chacun de ces foldamères hétérogènes offre potentiellement la possibilité de diriger

différemment les chaînes latérales dans l'espace, ce qui par conséquent peut conduire à des activités particulières. De nombreuses équipes se sont également intéressées à la synthèse de cyclofoldamères homogènes et hétérogènes plus rigides les oligomères linéaires correspondants et doués des mêmes contacts intramoléculaires.^{4,5} Cela veut dire que les liaisons hydrogène intramoléculaires présentes dans le composé linéaire restent les mêmes dans le cyclofoldamère correspondant. Ces derniers sont néanmoins plus rigides par la présence du cycle.

Les foldamères hétérogènes ont montré de nombreux avantages par rapport à leurs homologues homogènes. Les équipes de Yang⁶ ont travaillé sur les α -aminoxy peptides, qui sont en fait des analogues des β -peptides dans lesquels le carbone β est remplacé par un atome d'oxygène. Ils ont montré que dans ces α -aminoxy-cyclopeptides, le squelette pseudocyclique conserve la conformation en coudes aminoxy consécutifs présente dans son oligomère correspondant. Cette même équipe⁴ s'est ensuite tournée vers la conception d'oligomères mixtes amide/ α -aminoxy. Ils ont démontré que le cyclofoldamère hétérogène adopte une conformation rigide avec une alternance de coudes γ et aminoxy. Des essais de complexation d'anions ont permis de montrer que cette structure présente une sélectivité plus élevée pour l'ion chlorure par rapport à leurs homologues homogènes.⁴

Certains cyclofoldamères peuvent aussi conduire à des empilements supramoléculaires appelés « nanotubes ». Ces nanotubes organiques résultent de l'association supramoléculaire des macrocycles grâce à la formation de liaisons hydrogène intermoléculaires.

En 1993, Ghadiri et ses collaborateurs⁷ ont démontré que des oligomères cycliques comprenant des acides α -aminés naturels, alternant les configurations D et L, adoptaient une conformation telle qu'ils étaient capables de s'auto-assembler et de former des nanotubes via un réseau de feuillet β contigus (Figure 1).

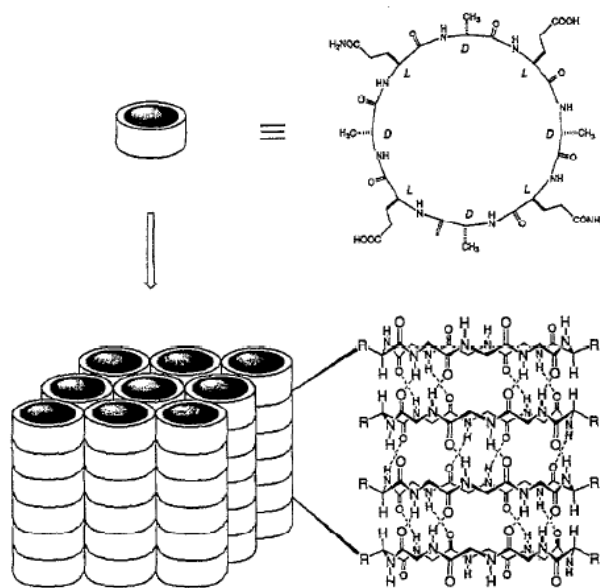


Figure 1: Formation d'un nanotube par auto-assemblage

Dans le but de modifier le caractère physique et chimique (polarité, champ magnétique, réactivité etc.) des nanotubes, les chimistes se sont intéressés à la synthèse des nanotubes à partir des cyclofoldamères hétérogènes par exemple le cyclotétramère mixte 1:1- $[\alpha/\text{urée}]$,⁸ le cyclotétramère mixte α/β -peptides,⁹ et les peptides cycliques mixtes α/γ -peptides.¹⁰

La création de nouveaux foldamères implique plusieurs étapes :

(i) Il faut identifier de nouveaux motifs qui après oligomérisation sont capables de se replier en solution par une auto-structuration. Dans ce but, il est nécessaire de comprendre et prévoir la relation entre la structure d'un monomère répétitif et la structure secondaire à laquelle il peut conduire.

(ii) D'un point de vue application, les foldamères devront porter des fonctions chimiques intéressantes, soit par leur conception, soit par randomisation ou soit par quelques combinaisons de ces deux approches.

(iii) Il faut être capable de synthétiser efficacement un foldamère, ce qui entend la préparation des monomères constitutifs sous forme stéréochimiquement purs et l'optimisation de l'oligomérisation.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux oligomères et cyclooligomères contenant le motif aza-amino acide et aux séquences α/aza et $\alpha/\text{aza}/\alpha$ répétitives.

Dans les azapeptides,¹¹ un ou plusieurs atomes de carbone α est remplacé par un atome d'azote (Figure 2).

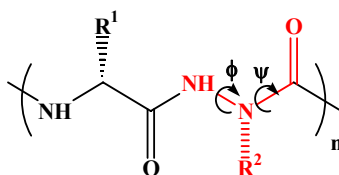


Figure 2: Azapeptide

Nous avons choisi ce motif pseudopeptidique pour plusieurs raisons :

(i) D'après les études réalisées par le LCPM sur les composés pseudopeptidiques bis-azotés (hydrazinopeptides¹²⁻¹⁴ et les *N*-aminopeptides^{15,16}), il a été montré que l'insertion d'un atome d'azote supplémentaire dans le squelette peptidique entraîne une résistance accrue à la biodégradabilité¹⁷ et induit des structurations locales originales au sein de ces pseudopeptides¹⁸ (Figure 2).

(ii) Kang-Bong Lee et ses collaborateurs ont montré que les aza-amino acides ont des conformations privilégiées induites par la double liaison partielle N-N $_{\alpha}$ -CO et la répulsion électronique entre les doublets non liants des atomes d'azote adjacents. Cette conformation préférentielle correspond à un coude β en position $i \rightarrow i+2$.¹⁹⁻²¹ Ce coude β devrait permettre un repliement naturel conduisant d'une part à la formation de foldamères et devrait de plus permettre le rapprochement des extrémités *N*-terminale et *C*-terminale afin de favoriser la cyclisation.

iii) enfin, la chaîne latérale de l'acide aminé naturel est conservée

L'objectif premier de mon travail de thèse a consisté à synthétiser les oligomères mixtes α /aza et α /aza/ α . (Figure 3) et à étudier leur structuration à l'état solide et en solution par spectroscopies RMN, infrarouge, diffraction des rayons X et modélisation moléculaire.

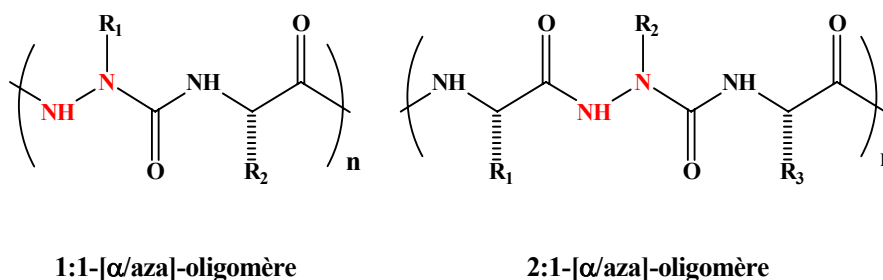


Figure 3: Formule développée des 1:1-[α /aza]-oligomères et des 2:1-[α /aza]-oligomères

Ces oligomères sont notées 1:1-[α /aza]-oligomères et 2:1-[α /aza]-oligomères selon la nomenclature proposée par Gellman. Le premier chiffre se rapporte au nombre de résidus acides α aminés présents dans l'unité répétitive et de même, le deuxième chiffre se rapporte au nombre de résidus acides aza-aminés dans l'unité de base. Le terme oligomère indique le nombre de résidus total présents dans la chaîne (dimère pour une unité de base, tétramère pour deux unités de base, etc).

Le second objectif de mon travail de thèse a consisté à cycliser les oligomères mixtes α /aza et α /aza/ α (Figure 4) afin de déterminer la possibilité de formation de nanotubes en solution et à l'état solide. En effet, ces dernières années, des efforts considérables ont été consacrés à la préparation de matériaux nanotubulaires artificiels. L'une des approches les plus fructueuses pour la formation de ces nanotubes est l'auto-assemblage de cyclopeptides ou de dérivés grâce à la formation de liaisons faibles.

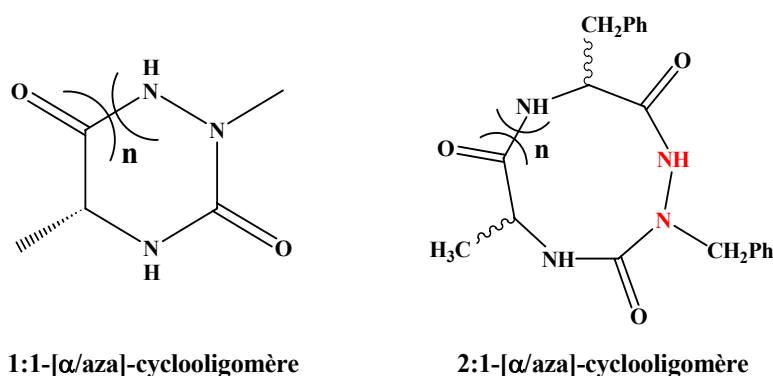


Figure 4: Formule développée des 2:1-[α /aza]-cyclooligomères et des 1:1-[α /aza]-cyclooligomères

Ce manuscrit s'articulera donc en deux parties:

- I. Synthèse et études structurales de nouveaux 1:1-[α /aza]-oligomères et 2:1-[α /aza]-oligomères
- II. Synthèse et études structurales de nouveaux 1:1-[α /aza]-cyclooligomères et 2:1-[α /aza]-cyclooligomères

Chapitre I :
Synthèse et études structurales de nouveaux
1:1-[α /aza]-oligomères 2:1-[α /aza]-oligomères

I Introduction et bibliographie

Les protéines et les peptides exercent un grand nombre de fonctions biologiques qui exigent des repliements compacts et spécifiques de leurs chaînes polypeptidiques. Ces repliements constituent la clé de l'information et des processus biologiques. Cependant, la difficulté pour synthétiser des protéines mais aussi l'instabilité des peptides *in vivo* limitent leur potentiel en tant que candidats médicaments. Pour pallier ce problème, un nouveau domaine de recherche est apparu et s'est largement développé autour de systèmes chimiques, appelés foldamères, possédant un squelette non biologique bien défini.¹

En effet, les chimistes ont créé des oligomères synthétiques qui ont la propriété de s'auto-organiser spontanément et de façon contrôlée pour former des structures secondaires bien définies, analogues à celles des protéines naturelles. La construction de tels oligomères implique la modification d'acides aminés naturels ou la synthèse d'unités monomériques non naturelles. L'effet attendu de l'introduction de contraintes conformationnelles locales dans ces unités monomériques est d'induire et de stabiliser des structures secondaires même dans des chaînes courtes. La création de ces systèmes permet également d'orienter les groupes fonctionnels (chaînes latérales). Ainsi, les chimistes ont conçu des oligomères fonctionnalisés capable de s'auto-structurer en solution ayant des propriétés catalytiques, structurales et biologiques mimant les substrats peptidiques des enzymes ou les ligands peptidiques des récepteurs des protéines.^{22,23}

On sait que dans les protéines il existe un lien fort entre la séquence des acides α -aminés et leur arrangement tridimensionnel, qui conduit donc à l'adoption d'une conformation spécifique et qui permet aux protéines de disposer d'un très grand nombre de fonctions potentielles. De la même manière, l'activité biologique des foldamères est donc fortement liée à l'arrangement tridimensionnel de ses groupes fonctionnels.

Les analogues peptidiques de type aza-acide aminé nous ont semblés intéressants à étudier comme motifs de base dans la conception de nouveaux foldamères car ils sont connus pour induire des conformations spécifiques aux pseudopeptides qui les contiennent.

I.1 Conformation préférentielle des aza-acides aminés et des azapeptides

Les azapeptides se composent de deux parties : une partie « hydrazine » (en bleu) dont la conformation est décrite par l'angle de torsion ϕ et un élément « urée » (en rouge) où l'angle dièdre ψ indique les différentes conformations (Figure 5).

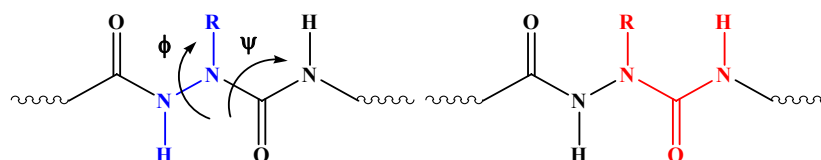


Figure 5: Éléments constituant un azapeptide

L'influence de ces éléments constitutants sur la conformation des azapeptides n'est pas claire. Les doublets non liants de l'azote préfèrent s'orienter perpendiculairement avec l'angle ϕ égal à $\pm 90^\circ$ dans la partie « hydrazine », l'élément « urée » tend à la planéité. D'autre part la présence de l'atome N_α entraîne la perte de chiralité soit par inversion rapide de l'azote entre les deux azotes pyramidaux ou par une structure plane autour de l'atome de N_α , qui est favorisée par des effets de conjugaison.

Pour connaître le rôle d'un aza-acide aminé dans une chaîne peptidique, certains groupes ont étudié les azapeptides sur le plan structural soit par la chimie quantique, soit par la diffraction des rayons X.^{24,25}

I.1.1 Influence conformationnelle de l'introduction d'acides aza-aminés dans un pseudopeptide ainsi que de la nature de la chaîne latérale

Les perturbations conformationnelles engendrées lors de l'introduction d'un résidu aza au sein d'une chaîne peptidique ont été prédites par l'équipe de Lee en utilisant le calcul *ab initio*. Les conformations les plus stables correspondant aux composés modèle For-azaXaa-NH₂ (Xaa=Gly, Ala, Leu) (Figure 6) apparaissent être le repliement β avec des angles dièdres de $\phi = 90^\circ \pm 30^\circ$ pour la liaison N-N α et $\psi = 0^\circ \pm 30^\circ$ ou $180^\circ \pm 30^\circ$ pour la liaison N α -C(O).²¹ Cette préférence angulaire est justifiée à la fois par la répulsion entre les doublets non liants de l'azote et la double liaison partielle de N α -CO.

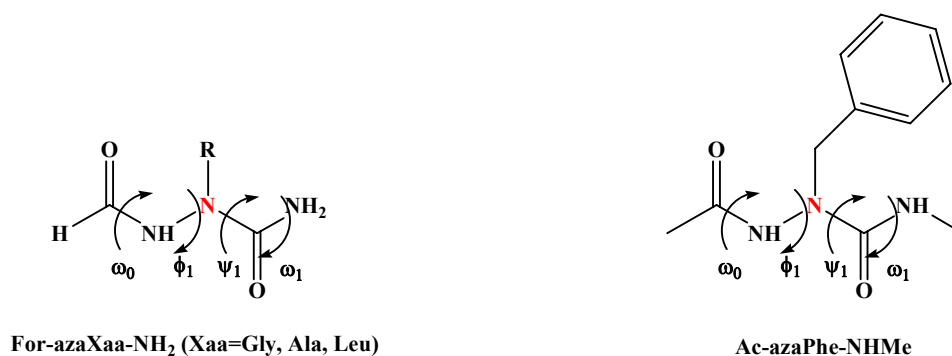


Figure 6: Formule développée des composés For-azaXaa-NH₂ (Xaa=Gly, Ala, Leu) et Ac-azaPhe-NHMe

Ils ont également calculé *ab initio* la structure du composé Ac-azaPhe-NHMe (Figure 6). Les angles dièdres correspondant à la conformation la plus stable sont $\phi = \pm 91^\circ \pm 24^\circ$, $\psi = \pm 18^\circ \pm 10^\circ$ (ou $\pm 169^\circ \pm 8^\circ$).²⁰ Ces angles dièdres sont similaires à ceux calculés pour les composés For-azaXaa-NH₂ (Xaa=Gly, Ala, Leu).

Les valeurs des angles dièdres ϕ et ψ des résidus acides azaaminés dans les composés Ac-azaPhe-NHMe et For-azaXaa-NH₂ (Xaa=Gly, Ala, Leu) suggèrent que l'incorporation du résidu azaXaa dans la position *i*+2 de peptides pourrait stabiliser le coude β .

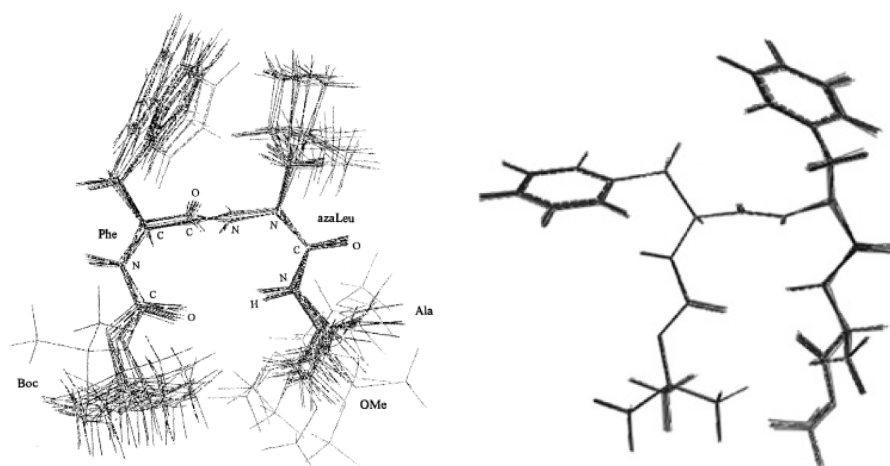
Pour confirmer cette suggestion, ils ont utilisé différentes méthodes tels le calcul *ab initio*, les spectroscopies RMN et IR et la modélisation moléculaire pour analyser le tripeptide Boc-Phe-azaLeu-Ala-OMe et Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe.

Les effets de température en RMN du proton indiquent que le proton NH du résidu Ala est impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire.

En IR, ils ont observé une bande entre 3400 et 3200 cm⁻¹ qui correspond à une vibration d'élongation de liaison N-H lorsque le proton est impliqué dans une liaison hydrogène.

La présence de certaines corrélations NOE indique que la fonction carbonyle engagée dans la liaison hydrogène intramoléculaire est celle du groupement Boc pour former un pseudocycle à dix chaînons.

La modélisation moléculaire sous contraintes NOE montre que les deux tripeptides adoptent un coude β II avec une liaison hydrogène intramoléculaire entre le proton amidique du résidu Ala et le carbonyle du Boc (Figure 7).



Boc-Phe-azaLeu-Ala-OMe

Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe

Figure 7: Superposition des structures de plus basse énergie des tripeptides trouvées par dynamique moléculaire sous contraintes

Dans notre laboratoire, des travaux ont été réalisés par l'équipe de Michel Marraud sur la préparation et l'étude structurale d'azapeptides contenant un, deux ou trois résidus.^{17,26-28} Il a été démontré par diffraction des rayons X, par spectroscopie RMN et par spectroscopie IR que les molécules Z-AzAsn(Me)-Pro-NHiPr, Z-AzAsp(OEt)-Pro-NHiPr, Boc-AzAla-Pro-NHiPr, Piv-Pro-AzAsn(Me)-NHiPr, Piv-Pro-AzAla-NHiPr (AzXaa signifie l'aza-analogue du résidu acide aminé) se structurent sous forme de coude β . Ils ont de plus montré que la structure coude β n'était pas perturbée par l'ajout de groupement accepteur ou donneur de liaisons hydrogène sur la chaîne latérale comme par exemple dans le cas d'azaAsn ou azaAsp. Les molécules se replient en coude β par formation de liaisons hydrogène entre le NH du C-terminal et le CO du N-terminal des résidus $i+3 \rightarrow i$. Selon les résultats de rayon X, les molécules contenant la séquence AzXaa-Pro adoptent un coude β I et l'atome d'azote α acquiert une configuration de type D lorsque le résidu aza est placé en amont d'une L-proline (Figure 8). Le proton $N_{\delta}H$ (AzAsn) est impliqué dans une liaison hydrogène formant un pseudocycle à 5 avec le N_{α} du résidu AzAsn.

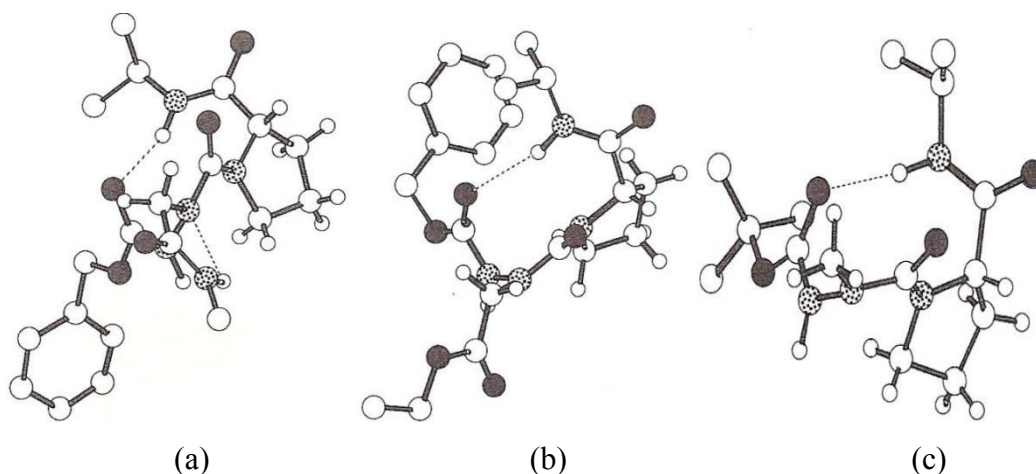


Figure 8: Structures à l'état solide des composés azapeptidiques : (a) Z-AzAsn(Me)-Pro-NHiPr, (b) Z-AzAsp(OEt)-Pro-NHiPr, (c) Boc-AzAla-Pro-NHiPr

Dans le cas de la molécule contenant la séquence Pro-AzAsn, les deux molécules sont sous forme du type coude β II par formation d'une liaison hydrogène entre NH (*i*Pr) et CO (Piv). Contrairement à la molécule Z-AzAsn(Me)-Pro-NHiPr, le NH du résidu AzAsn est impliqué dans un repliement hydrazino qui est caractérisé par une interaction bifide intramoléculaire, dans laquelle le site donneur de proton NH ($i+2$) interagit à la fois avec le groupement carbonyle (*i*) pour former un cycle à huit atomes, et avec la paire électronique de l'azote $N\alpha$ (hybridation sp^3) fermant ainsi un cycle à cinq atomes (Figure 9)

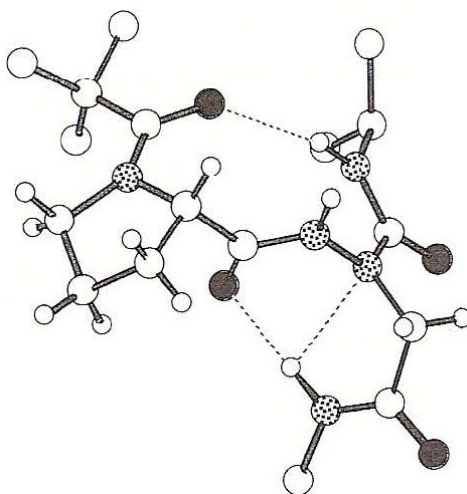


Figure 9: Structure à l'état solide du composé Piv-Pro-AzAsn(Me)-NHiPr

Nous pouvons conclure que la conformation en β turn des pseudopeptides étudiés, non affectée par la nature de la chaîne latérale du résidu aza-acide aminé, semble donc très structurante.

I.1.2 Influence de la position du résidu aza-acide aminé dans la chaîne azapeptidique

Des travaux réalisés dans notre groupe montrent que le changement de l'ordre des résidus peut entraîner la variation de la structure. Ainsi, une structuration en coude β est favorisée par la séquence Ala-AzaPro alors que la séquence AzaPro-Ala donne préférentiellement une structure ouverte.²⁵ Cette différence s'explique par une conformation cis plus favorable pour la liaison amide précédant la séquence AzaPro-Ala.

Une question peut être posée à ce niveau de réflexion : la conformation d'un azapeptide contenant le résidu azaXaa (Xaa=Gly, Ala, Leu) dépend-elle aussi de la position du résidu aza-acide aminé ?

Afin d'étudier le rôle du résidu aza-acide aminé dans la structure peptidique et l'influence de la variation de la longueur de chaîne par addition d'un acide aminé dans l'azapeptide, l'équipe de Lee a utilisé la théorie MO *ab initio* pour calculer l'angle dièdre du conformère le plus stable pour le composé For-Ala-azaAla-NH₂. Les angles dièdres ($\phi_1, \psi_1, \phi_2, \psi_2$) du conformère le plus stable sont (-61°, 131°, 79°, 15°) correspondent aux angles du coude β II. Il y a également une liaison hydrogène entre NH(4) et N(2) avec une distance de 2.39Å. Ce proton est aussi impliqué dans une liaison hydrogène en C₁₀ avec O(1)¹⁹ (Figure 10).

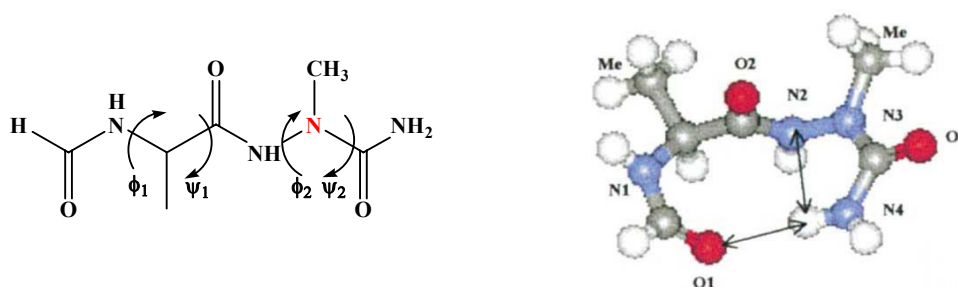


Figure 10: Formule développée du composé For-Ala-azaAla-NH₂ et sa conformation la plus stable au niveau de la théorie HF/6-31G*

Des études RMN et IR réalisées sur le composé Boc-Ala-Phe-azaLeu-Ala-OMe ont montré que ce coude β était encore conservé en solution grâce à la présence d'une liaison hydrogène impliquant le NH du groupe Ala⁴. De plus, certaines corrélations NOE ont été trouvées dans cette molécule. Par exemple une forte corrélation NOE entre C _{α} H (Phe²) et NH (azaLeu³), une faible corrélation NOE entre NH (azaLeu³) et NH (Ala⁴) indiquant que l'azapeptide adopte une conformation en coude β . Les

résultats obtenus sur ces molécules par modélisation moléculaire sous contraintes NOE montrent que le tétrapeptide adopte un coude β II due à une liaison hydrogène intramoléculaire entre le proton du résidu Ala⁴ et le carbonyle du Ala¹ (Figure 11).

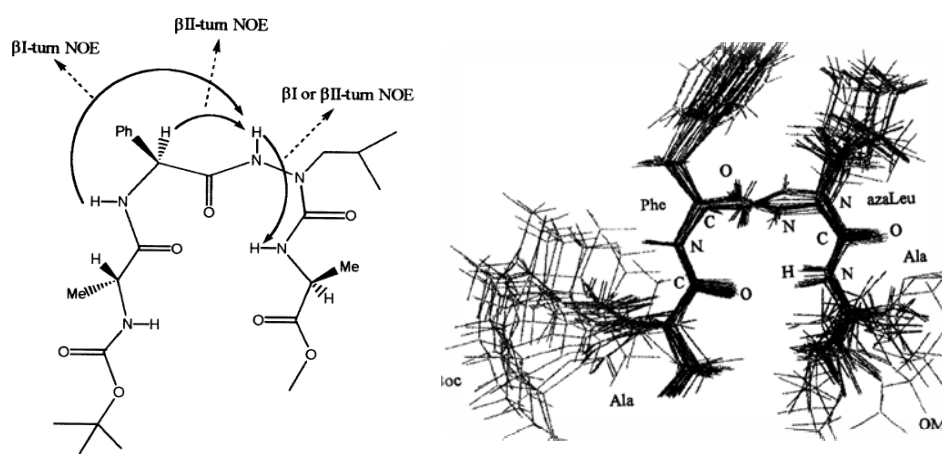


Figure 11: Superposition des structures de plus basse énergie du tétrapeptide trouvées par dynamique moléculaire sous contraintes NOE

Enfin, ils ont démontré que le tripeptide Boc-Phe-azaLeu-Ala-OMe adoptait la même conformation que le tétrapeptide Boc-Ala-Phe-azaLeu-Ala-OMe ce qui a permis de conclure que le changement de longueur de chaîne ou la variation de position de l'aza-amino acide dans la chaîne peptidique n'influence pas la structure de la chaîne principale de l'azapeptide.

L'équipe de Hofmann a également étudié l'influence de la position de l'aza-amino acide sur la structure d'azapeptides.²⁴ Ils ont étudié les composés Ac-AzaXaa-L-Ala-NHMe et Ac-L-Ala-AzaXaa-NHMe avec AzaXaa = AzaGly et AzaAla en deuxième et troisième position. Les calculs par *ab initio* démontrent que la conformation la plus stable pour les deux molécules (AzaGly, AzaAla) est le coude β I quand l'aza-amino acide est en position deux. Pour l'incorporation de l'aza-amino acide dans la troisième position, la conformation la plus stable correspond au coude β II.

Ces résultats ont aussi été confirmés par l'équipe de Michel Marraud de notre laboratoire.¹⁷ Par diffraction des rayons X, ils ont démontré la préférence de coude β I lorsque l'aza-amino acide occupe la seconde position et la préférence de coude β II lorsque l'aza-amino acide occupe la troisième position (Figure 12).

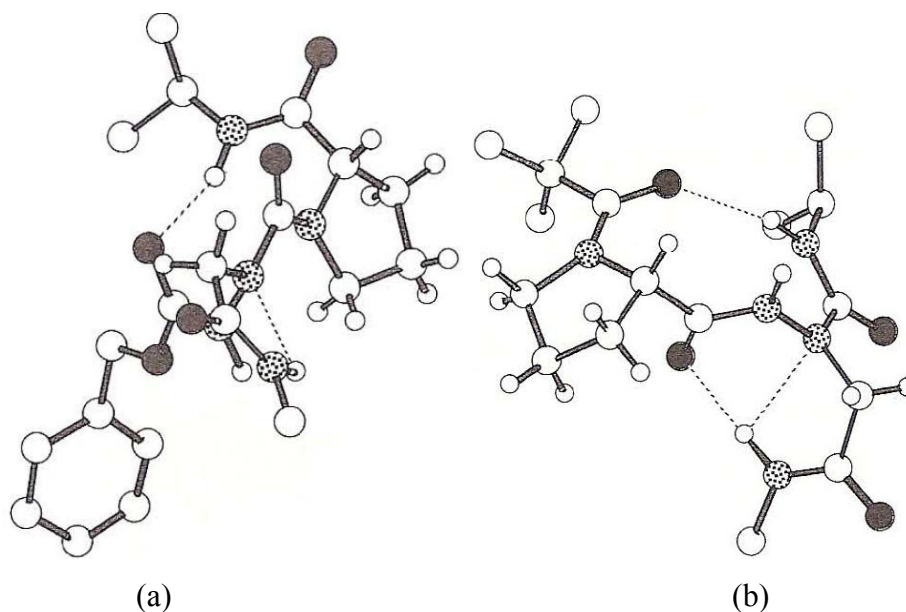


Figure 12: Structures à l'état solide des composés : (a) Z-AzAsn(Me)-Pro-NHiPr, (b) Piv-Pro-AzAsn(Me)-NHiPr

Nous pouvons donc conclure que le changement de la position de l'aza-amino acide peut avoir une influence sur la nature du coude engendré.

I.1.3 Influence de la nature de l'acide aminé précédant le résidu aza-acide aminé sur la structure de l'azapeptide

L'équipe de Lee a synthétisé les tripeptides Boc-Xaa-azaPhe-Ala-OMe [Xaa = Gly (1), Ala (2), Phe (3), Asn (4)] pour étudier l'influence de la nature de l'acide aminé précédant le résidu aza-acide sur le type de coude β en solution.²⁰

Certaines corrélations NOE indiquent que les quatre tripeptides sont tous sous forme de mélange de coude β I et coude β II. La spectroscopie IR et la spectroscopie RMN montrent que le NH Ala³ est impliqué dans une liaison hydrogène.

Les structures des Boc-Xaa-azaPhe-Ala-OMe (Xaa = Gly, Ala, Phe, Asn) obtenues par modélisation moléculaire sous contraintes RMN, montrent que ces tripeptides adoptent une conformation en coude β II (Figure 13).

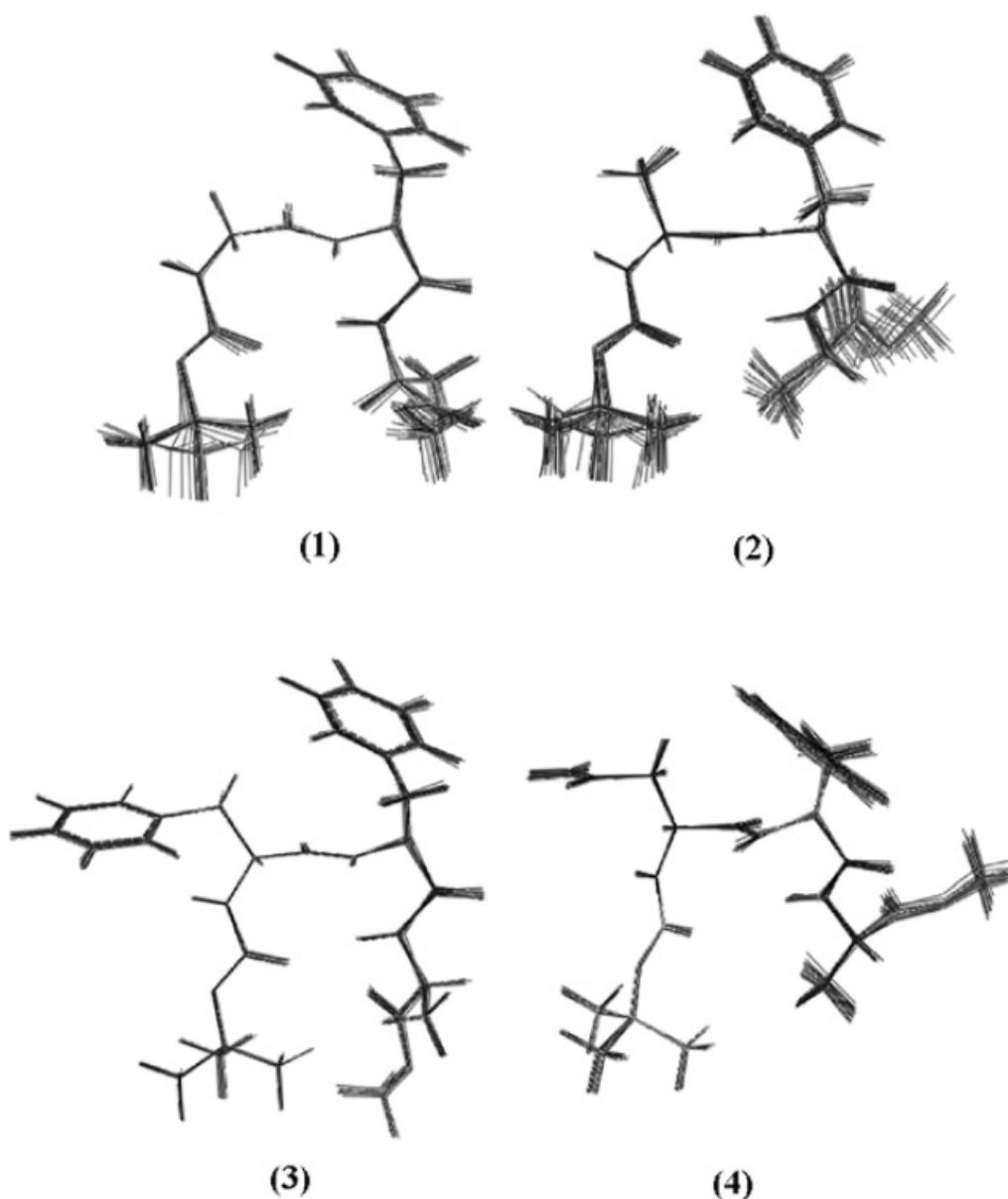


Figure 13: Superposition des structures de plus basse énergie du tripeptide trouvées par dynamique moléculaire sous contraintes NOE

Ce fait suggère que le changement de l'acide aminé précédant le résidu azaPhe n'a que peu d'influence sur le squelette de l'azapeptide.

I.1.4 Relation entre la configuration du N_α et la conformation d'azapeptide

Dans les azapeptides, la délocalisation du doublet non liant de l'atome d'azote α vers le groupement carbonyle peut entraîner une structure plane, l'azote α est en hybridation sp^2 . Cependant, cet atome d'azote présente souvent un caractère pyramidal avec un écart au plan plus faible par rapport au 0,48 Å donné pour un atome d'azote sp^3 .

La configuration absolue de cet azote α dépend de la nature chimique de la séquence. D'après les calculs de chimie quantique réalisés par l'équipe de Hofmann,²⁴ sur Ac-AzaXaa-L-Ala-NHMe et Ac-L-Ala-AzaXaa-NHMe (AzaXaa = AzaGly et AzaAla) l'atome d'azote α est pyramidal. Il adopte une configuration D dans les coudes β I et, par conséquent, la configuration L dans les coudes β I'. Cette configuration est indépendante de la position de l'acide aminé L dans le dipeptide. Par contre dans le coude β II, la configuration de l'atome d'azote α dépend de la position de l'aza-amino acide. Pour l'aza-amino acide en seconde position, l'atome d'azote α possède une configuration D dans le coude β II et une configuration L dans le coude β II'. La situation est inverse pour l'aza-amino acide en troisième position. Ces résultats ont aussi été confirmés par les études de diffraction des rayons X de notre groupe. Ils ont montré que l'atome d'azote α possède une configuration D dans un coude β I (Figure 14) pour la séquence AzXaa-Pro.

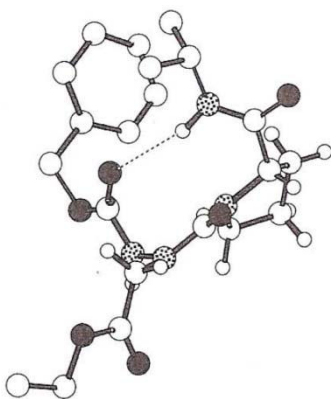


Figure 14: Structures à l'état solide de Z-AzAsp(OEt)-Pro-NHiPr

En solution, même si l'importance de la chiralité dans les azapeptides peut être mise en doute en raison de la possible inversion de l'azote, le fait d'avoir une préférence pourrait être intéressante pour l'orientation des chaînes latérales des aza-acides aminés.

Compte tenu de ces données, il nous a semblé intéressant d'étudier l'influence de la présence de motifs aza acides aminés dans des oligomères en vue de l'obtention de foldamères. Nous avons retenu deux motifs de base, les pseudotripeptides de type α -aza- α et les pseudodiptides α -aza. Nous nous sommes donc intéressés à leur oligomérisation permettant d'obtenir respectivement deux nouvelles familles d'oligomères : les 1:1-[α /aza]mères et les 2:1-[α /aza]mères. Concernant les 1:1-[α /aza]mères qui sont les oligomères mixtes hétérogènes (analogues entre autre

des 1:1[α /NO]mères de Yang⁶), il s'est avéré que leur synthèse est assez problématique en raison d'un manque de réactivité des synthons. Par ailleurs, l'étude structurale de ces composés ne nous a pas permis de définir clairement un type de repliement. Nous nous sommes alors tournés vers l'étude des 2:1-[α /aza]mères dont l'oligomérisation et l'étude structurale se sont montrées beaucoup plus accessibles. Dans cette série, nous avons étudié l'influence de la configuration absolue des carbones asymétriques et la longueur de la chaîne sur la structuration de ces composés.

II Synthèse des 1:1-[α /aza]-oligomères et des 2:1-[α /aza]-oligomères

II.1 Introduction

Nous avons décidé de choisir le groupement benzyle comme chaîne latérale portée par l'azote N $_{\alpha}$ afin d'augmenter la lipophilie des molécules obtenues et de faciliter leur solubilisation dans des solvants organiques. De plus, ce groupement est un groupe protecteur qui peut être éliminé à façon afin de générer un atome d'azote fonctionnalisable (Figure 15).

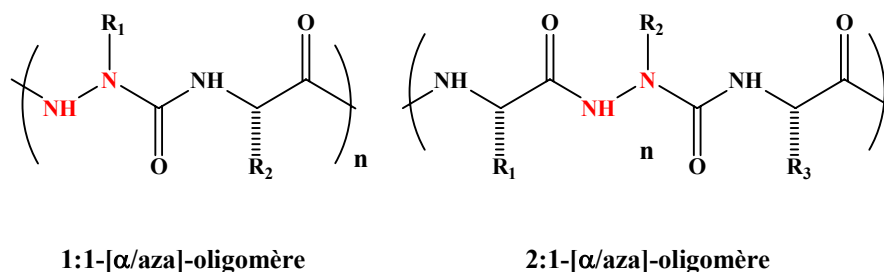
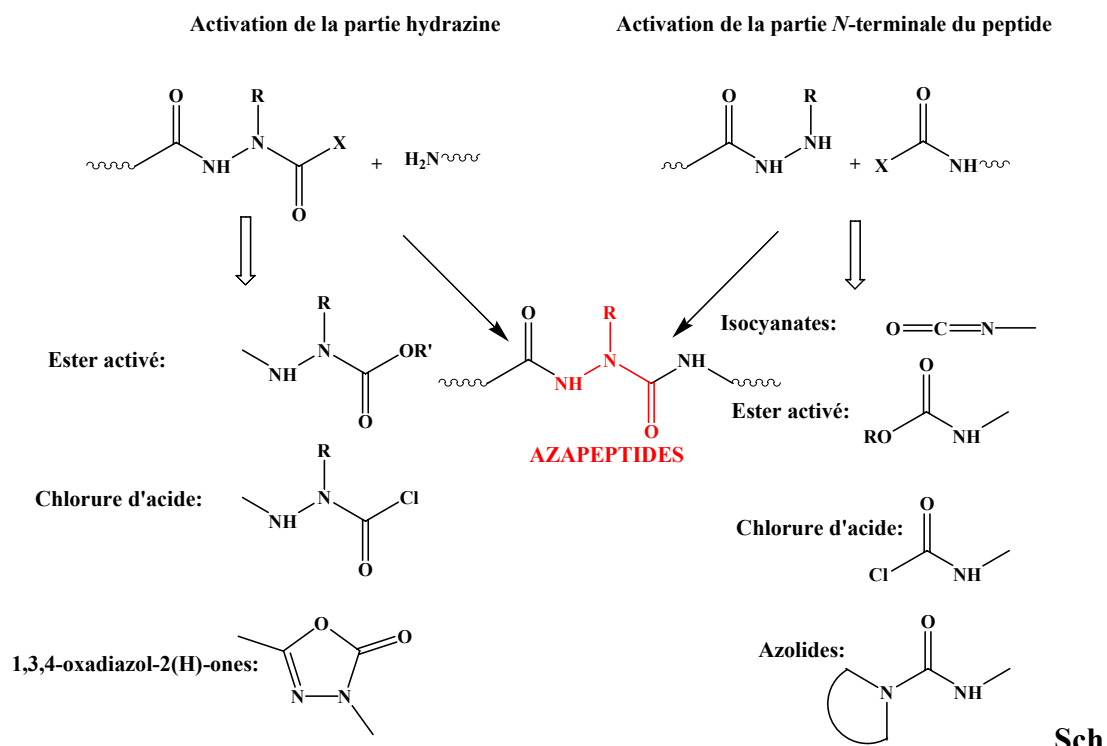


Figure 15: Formule développée des 1:1-[α /aza]-oligomères Boc-(azaPhe-Ala)n-OMe et des 2:1-[α /aza]-oligomères Boc-(Phe(D ou L)-azaPhe-Ala(D ou L))n-OMe

II.2 Généralités sur les modes de synthèse des aza-peptides

En principe, la formation d'un acide aza-aminé est issue de la réaction entre un dérivé hydrazine ou hydrazide et un groupement carbonyle (dérivés d'acides carboxyliques activés par exemple).²⁹ Plus généralement, la synthèse des aza-peptides résulte de la combinaison de la chimie des hydrazines et des peptides (Schéma 1).



éma 1 : Méthodes de synthèse des résidus acides azaaminés et incorporation dans une chaîne peptidique

II.3 Modes de synthèse des dérivés hydrazines

William D. Lubell a synthétisé des azapeptides qu'il introduit ensuite dans des peptides biologiquement actifs.^{22,30} En série Boc, William D. Lubell et ses collaborateurs ont synthétisé quatre sortes hydrazines substitués (Schéma 2). En série Fmoc, la même l'équipe a mis au point la synthèse de plusieurs N-(fluorène-9-ylméthyl)-N'-alkyl-carbazate à partir du 9-H-fluorène-9-ylméthyl-carbazate (Schéma 3). Ils les ont ensuite incorporés dans un dipeptide pour finalement obtenir des composés P-azaAA-AA-OH (avec P= Boc ou Fmoc) qui seront engagés en synthèse peptidique sur phase solide.

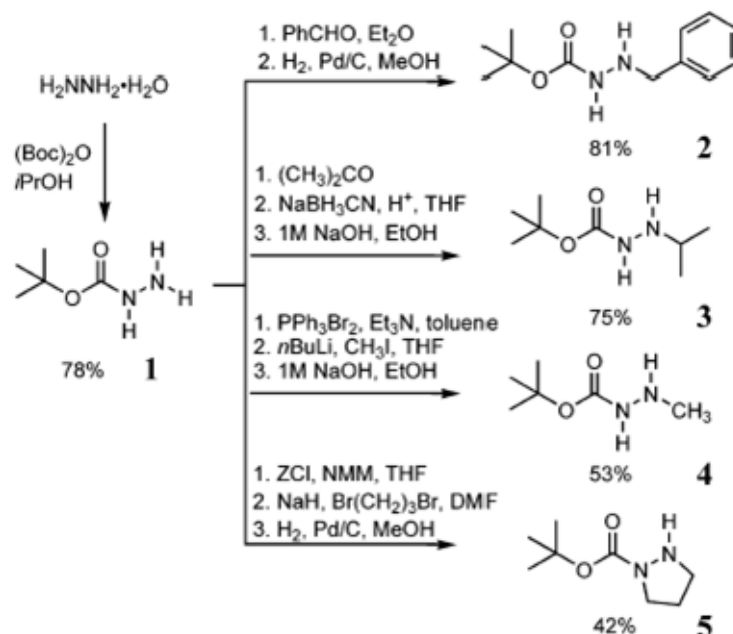


Schéma 2: Synthèse des hydrazines substituées décrite par William D. Lubell et al.³⁰

De cette façon, il est possible d'introduire dans une chaîne peptidique un grand nombre d'acides azaaminés de différente nature. Cependant, dans toutes les synthèses proposées par William D. Lubell, aucune n'est générale. En effet, en stratégie Boc, quatre stratégies de synthèse sont utilisés pour la synthèse de quatre composés différents. Et en série Fmoc, dix produits sont présentés à partir de quatre méthodes (Schéma 3).

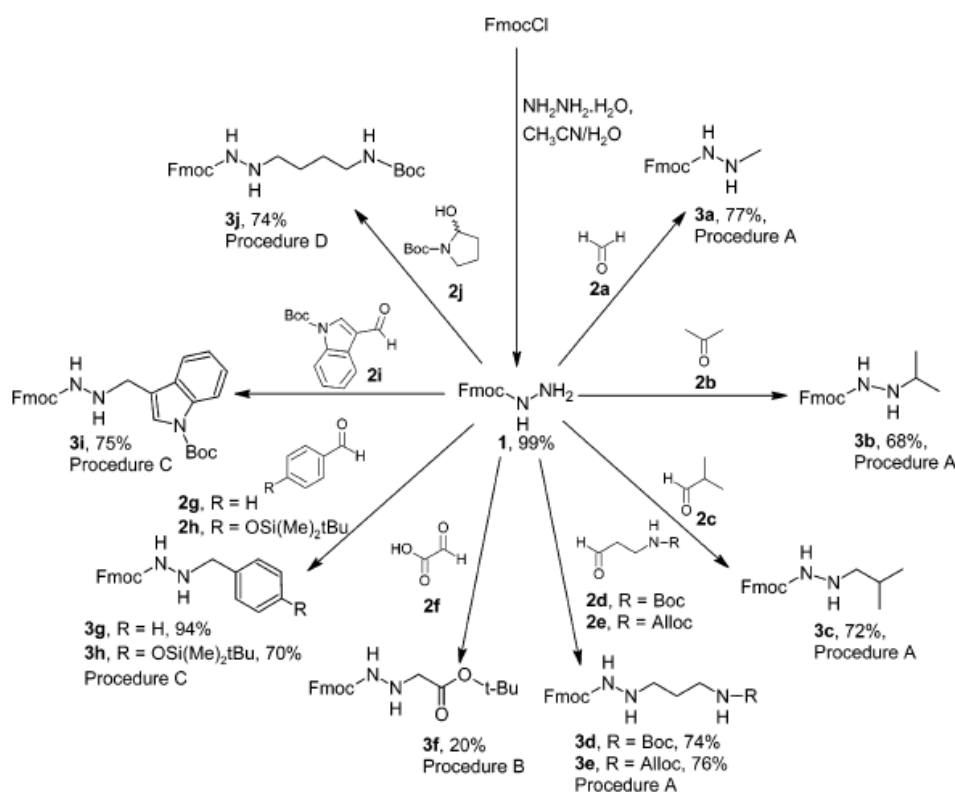


Schéma 3: Synthèse des N-(fluoren-9-ylméthyl)-N'-alkyl-carbazate par William D. Lubell et al.²²

La nature de la chaîne latérale portée sélectivement par l'atome d'azote est limitée par la diversité de ces méthodes de synthèse en raison des difficultés inhérentes à différencier sélectivement les deux atomes d'azote de la fraction d'hydrazine. Cela conduit à l'utilisation massive de groupes protecteurs pour résoudre ce type de problème.³¹ La réaction de couplage peptidique entre l'hydrazine substituée et le peptide ou l'acide aminé activé peut aussi nous poser la question de la régiosélectivité de la réaction d'acylation vis-à-vis des azotes α et β de l'hydrazine substituée.¹¹

Pour pallier ce type de problème, l'équipe de William D. Lubell a récemment décrit une procédure en trois étapes en exploitant l'utilisation d'un fragment semicarbazone pour réaliser l'alkylation sélective et l'incorporation de fragments d'hydrazine dans les peptides (Schéma 4).

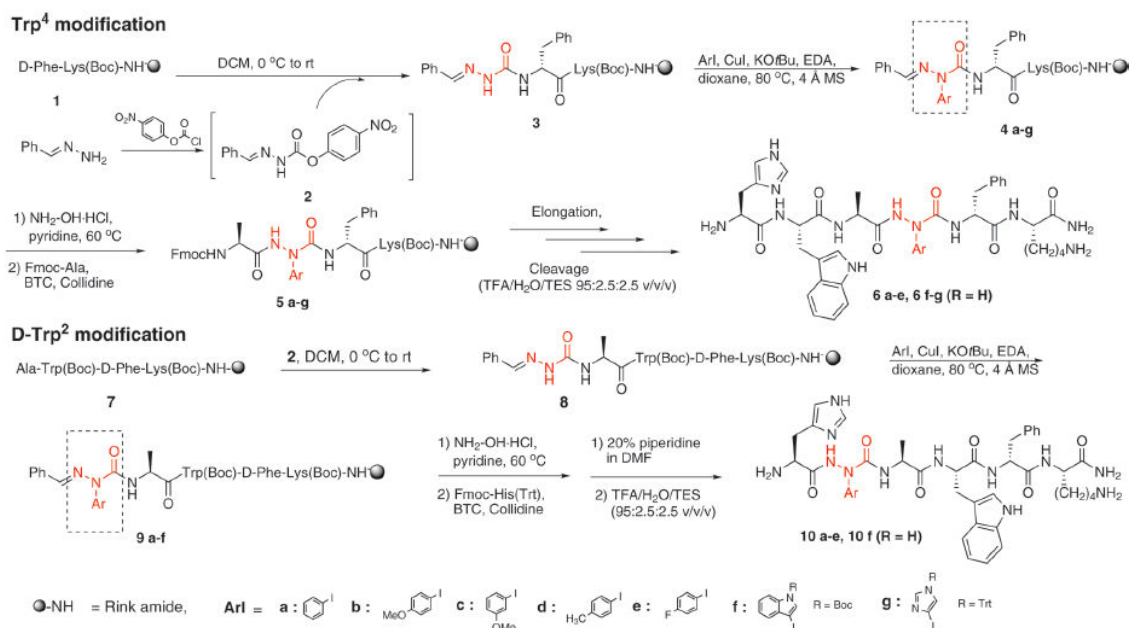


Schéma 4 : Synthèse de [Aza-aryl]glycine] GHRP-6 Analogues

Le rendement de la réaction dépend de la position du résidu modifié. Pour la position D-Trp², le rendement est beaucoup plus faible par rapport la modification en position Trp⁴. Cette grande différence de rendement pourrait être due au repliement du peptide qui empêche la réaction d'arylation. Ils ont aussi testé la réactivité d'un motif semicarbazone en solution (Schéma 5).

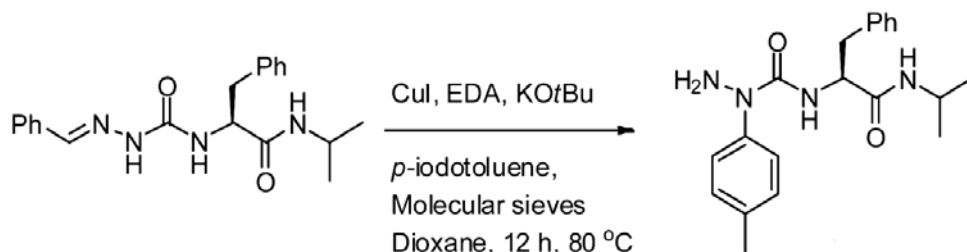


Schéma 5: Réaction de N-Arylation en phase solution³²

En solution, la réaction de N-arylation et la réaction de déprotection hydrazone ont eu lieu simultanément. Le rendement de la réaction est de 20%. Ce faible rendement pourrait être dû à l'élimination du motif hydrazone qui serait initiée par l'éthylène diamine.

Dans notre laboratoire, nous avons découvert de nouveaux partenaires acides pour la réaction de Mitsunobu, les alkyloxycarbonyl-N-aminophtalimides, ce qui a ouvert la voie à un nouveau mode de préparation d'alkylhydrazines.^{33,34} Ces composés peuvent être considérés comme des hydrazines triprotégées qui possèdent un encombrement

stérique limité de par la présence du motif phtalimide cyclique. Le seul hydrogène libre est rendu particulièrement acide ($pK_a \sim 11$) par la présence de trois groupements carbonyles électro-attracteurs. Ainsi, ce type de composé a pu être engagé comme partenaire acide dans les réactions de Mitsunobu.

Le groupement alkyloxycarbonyl-*N*-aminophtalimides peut être facilement alkylé en utilisant la réaction de Mitsunobu. Cette réaction permet l'introduction d'un nombre varié de groupements alkyles par simple changement du partenaire alcool ROH.

De plus, le motif phtalimide est impliqué dans la stabilisation du phosphorane intermédiaire. En effet, la forte délocalisation du doublet de l'atome d'azote du groupement phtalimide conduit à une structure présentant une forme zwitterionique marquée qui stabilise, par phénomènes de résonance, un anion porté par l'atome d'azote en α du motif phtalimide (Schéma 6).

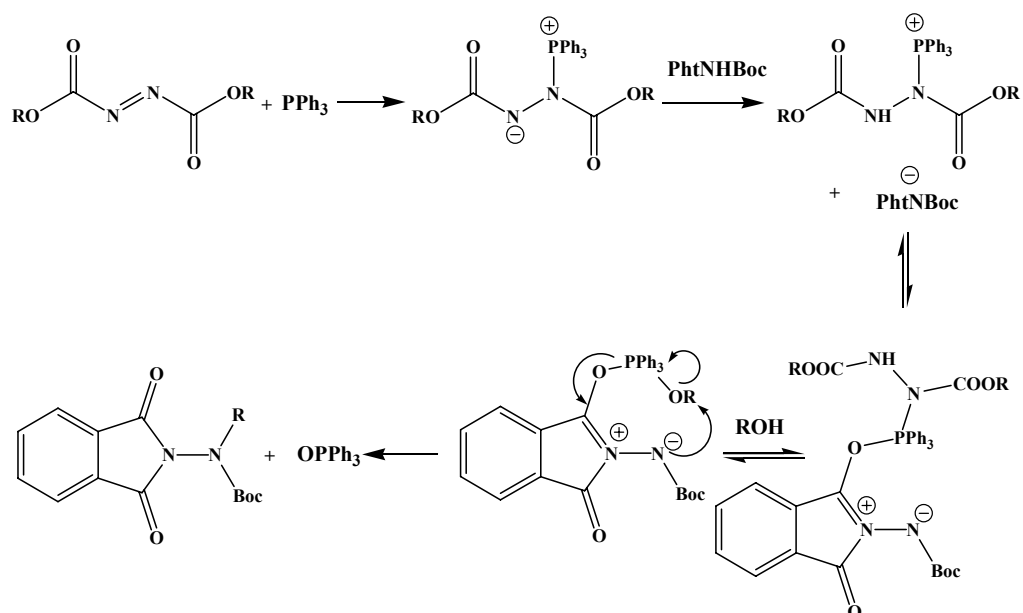


Schéma 6: Mécanisme réactionnel de la réaction de Mitsunobu sur des dérivés phtalimides

II.4 Préparation des oligomères azapeptidiques

II.4.1 Rappel sur la synthèse de Boc-azaAA-AA-OMe

La synthèse de **Boc-azaAA-AA-OMe** en 5 étapes a été mise au point par Cécile Abbas.¹¹ Le processus réactionnel est décrit dans le schéma 3 et fait intervenir successivement une réaction de Mitsunobu,^{33,34} suivie d'une étape de déprotection, de condensation³⁵ et enfin de transprotection.³⁶ (Schéma 7).

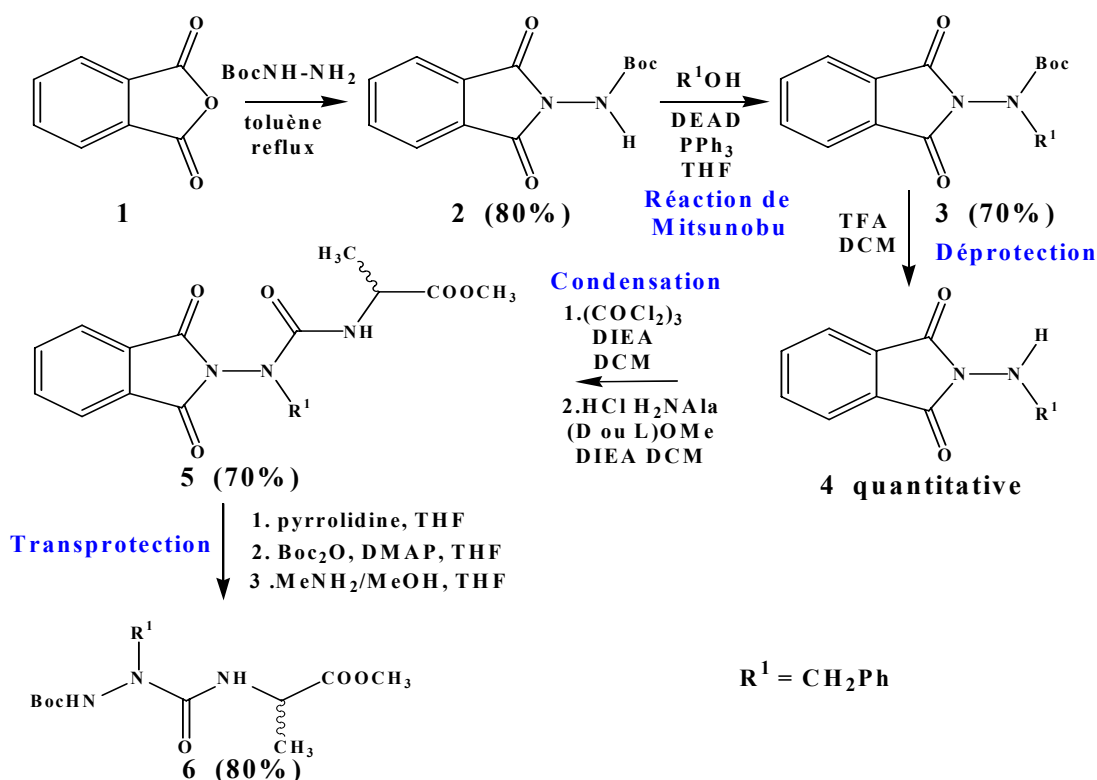


Schéma 7 : Préparation des Boc-azaAA-Ala(D ou L)-OMe 6 azadipeptides

Cette méthode est générale et permet d'introduire divers résidus acides α aminés, à partir de leur ester méthylique correspondant, ainsi qu'un grand nombre de résidus azaaminés, à partir de l'alcool engagé dans la réaction de Mitsunobu. Nous avons repris cette méthode pour synthétiser les dipeptides aza/ α qui seront utilisés comme unités de base dans des réactions de couplages peptidiques dans le but d'obtenir des oligomères mixtes.

II.4.2 Synthèse des 1:1-[α /aza]-oligomères

Nous avons utilisé la nomenclature de Gellman pour nommer nos oligomères mixtes. (Figure 16)

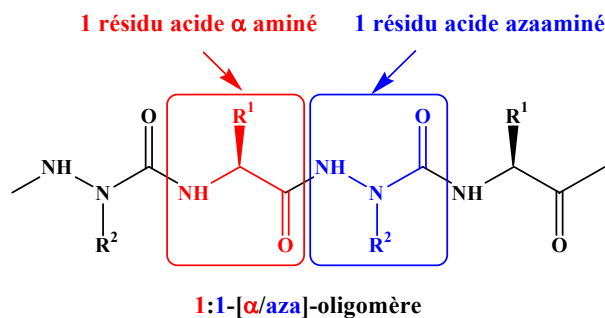


Figure 16: Nomenclature des 1:1-[α /aza]-oligomères

La déprotection des extrémités *N*-terminale ou *C*-terminale du précurseur azadipeptidique permet d'obtenir respectivement les unités *N*-déprotégées **6b** ou *C*-déprotégées **6a** correspondant engagées ensuite dans un couplage peptidique (Schéma 8).³⁷

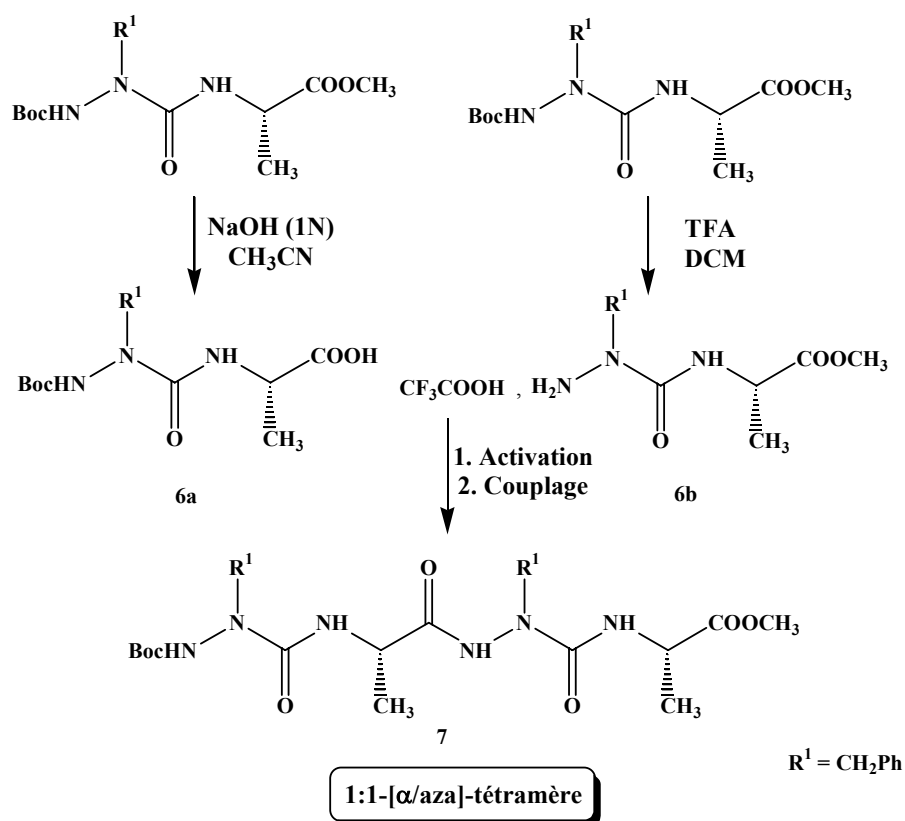


Schéma 8: Stratégie de synthèse des 1:1-[α/aza]-tétramères par couplage peptidique

La réaction de couplage n'est pas facile à réaliser en raison de la faible nucléophilie du dipeptide aza/α qui s'explique par des effets stéréoélectroniques et inductif attracteur exercés par le groupement carbonyle. Ainsi, Cécile Abbas-Quinternet³⁸ n'a pas pu obtenir les tétramères correspondants et ce malgré l'utilisation de différents agents de couplage (EDC/HOBt, DDC/HOBt, TBTU/HOBt, BopCl, HBTU et C₃F₃N₃/pyridine).

Si nous comparons les précurseurs aza/α et les α-hydrazinoesters N_β protégés, nous pouvons remarquer certaines similitudes et penser que leur réactivité en soit proche (Schéma 9).

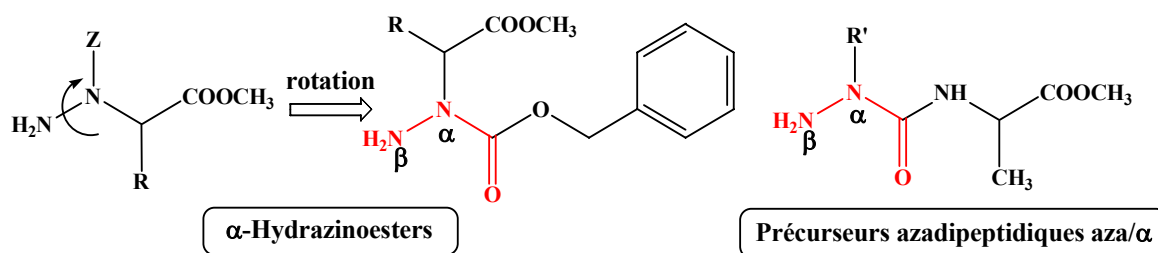


Schéma 9: Comparaison entre les précurseurs aza/α et les α-hydrazinoesters

Au travers de l'étude effectuée sur les hydrazinoesters par Isabelle Bouillon, il apparaît que le rendement des réactions de couplage dépend fortement de la nature de l'agent de couplage utilisé. Compte tenu des travaux préliminaires réalisés par C. Abbas,³⁸ nous avons décidé de tenter cette synthèse en utilisant HATU comme agent de couplage qui accélère les réactions de couplage des acides α-aminés, probablement par catalyse basique intramoléculaire.³⁹

Le composé 1:1-[α/aza]-tétramère **7** Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe a pu être obtenu dans ces conditions avec un rendement acceptable de 64%.

Cette méthode nous a également permis d'obtenir le 1:1-[α/aza]-hexamère **8** Boc-(azaPhe-Ala)₃-OMe avec un rendement de 62% en couplant le dimère en tant que partenaire amine et le tétramère en tant que partenaire acide en tétramère.

II.4.3 Synthèse des 2:1-[α/aza]-oligomères

Selon la nomenclature de Gellman, on les appellera les 2:1-[α/aza]-oligomères (Figure 17).

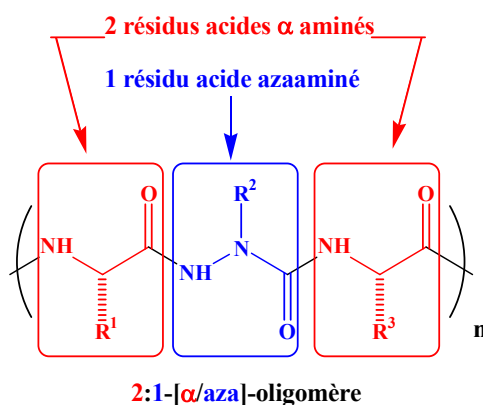


Figure 17: Nomenclature des 2:1-[α/aza]-oligomères

II.4.3.1 Synthèse des 2:1-[α /aza]-trimères

Nous avons réalisé la synthèse de composés en faisant varier la configuration absolue des carbones asymétriques des résidus acides α aminés dans le but d'étudier leur influence sur la structuration de ces composés (Tableau 1). La stratégie de synthèse utilisée consiste en un couplage peptidique entre le précurseur dipeptidique déprotégé à son extrémité *N*-terminale, qui joue le rôle de partenaire amine, et un acide α aminé protégé à son extrémité *N*-terminale par un groupement protecteur Boc, qui joue donc le rôle du partenaire acide (Schéma 10).

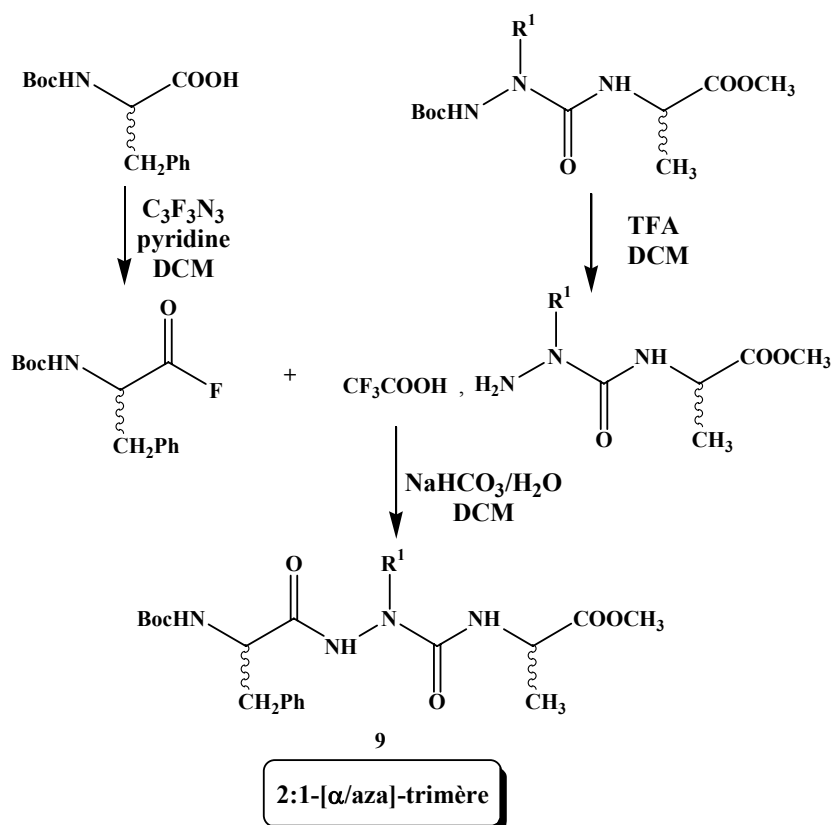


Schéma 10: Synthèse des 2:1-[α /aza]-trimères via la méthode aux fluorures d'acide

Les études entreprises préalablement par Cécile Abbas-Quinternet³⁸ confirment la faible réactivité de l'azote β de nos précurseurs azadipeptidiques. Ainsi des faibles rendements avaient été obtenus en utilisant comme agents de couplage DCC/HOBt ou EDC/HOBt. Toutefois, l'utilisation des fluorures d'acides nous a permis d'obtenir de très bons rendements pour la synthèse des 2:1-[α /aza]-trimères et ce quelle que soit la nature de la configuration absolue des carbones asymétriques (Tableau 1).

R ¹	Configuration absolue AA1	Configuration absolue AA3	Rdt (%) ^a	Produit
CH ₂ Ph	S	S	70%	9a
CH ₂ Ph	R	S	56%	9b
CH ₂ Ph	R	R	60%	9c

^a rendement en produit isolé calculé par rapport au précurseur déprotégé de départ

Tableau 1

II.4.3.2 Synthèse des 2:1-[α/aza]-oligomères

Nous avons réalisé la synthèse des 2:1-[α/aza]-oligomères en considérant les 2:1-[α/aza]-trimères comme synthons de départ. La condensation des deux 2:1-[α/aza]-trimères peut être réalisée par couplage peptidique classique (HBTU ; DIEA) car les extrémités *N*- et *C*- terminales ne sont pas affectées par la modification pseudopeptidique qui est en position 2 (Schéma 11).

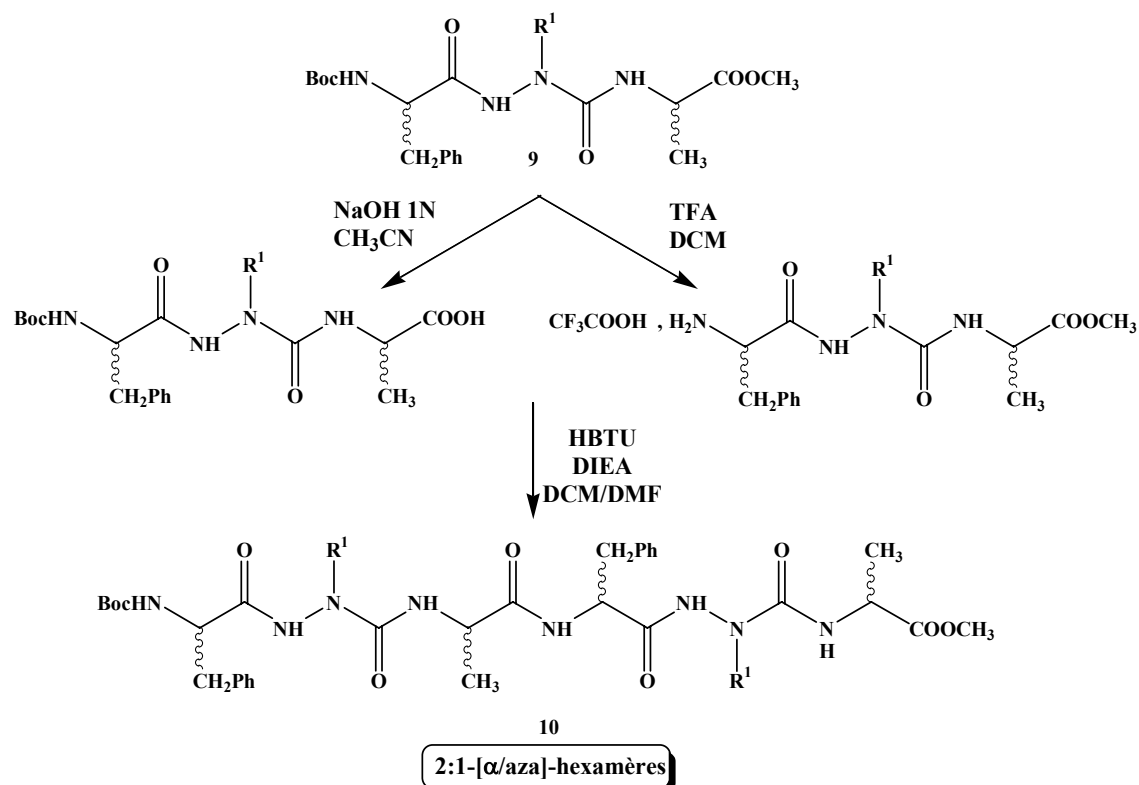


Schéma 11: Synthèse des 2:1-[α/aza]-hexamères

L'étape de couplage permet d'obtenir les 2:1-[α /aza]-hexamères avec d'excellents rendements et ce quelle que soit la configuration absolue des carbones asymétriques (Tableau 2).³⁷

R ¹	Configuration absolue AA1	Configuration absolue AA2	Configuration absolue AA3	Configuration absolue AA4	Rdt (%) ^a	Produit
CH ₂ Ph	S	S	S	S	92	10a
CH ₂ Ph	R	S	R	S	95	10b
CH ₂ Ph	S	S	R	R	93	10c

^a rendement en produit isolé calculé par rapport aux 2 : 1-[α /aza]-trimères **9**

Tableau 2

De la même manière, en utilisant HBTU comme agent de couplage, nous avons obtenu les 2:1-[α /aza]-nonamères (Figure 18) en couplant le trimère en tant que partenaire amine et l'hexamère en tant que partenaire acide et les 2:1-[α /aza]-dodécamères (Figure 19) en couplant le trimère en tant que partenaire amine et le nonamère en tant que partenaire acide avec d'excellents rendements (Tableau 3 et 4).

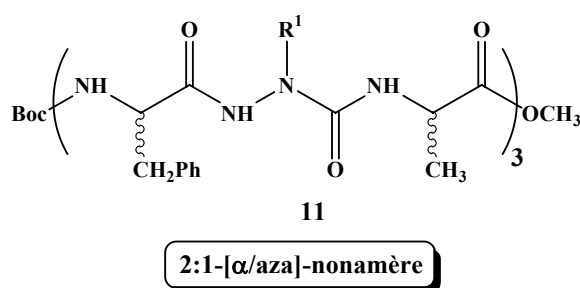


Figure 18: Formule développée du nonamère

R ¹	Configuration absolue AA1 et AA2	Configuration absolue AA3 et AA4	Configuration absolue AA5 et AA6	Rdt (%) ^a	Produit
CH ₂ Ph	S, S	S, S	S, S	91	11a
CH ₂ Ph	R, S	R, S	R, S	92	11b
CH ₂ Ph	S, S	R, R	S, S	93	11c

^a rendement en produit isolé calculé par rapport aux 2 :1-[α/aza]-hexamères **10**

Tableau 3

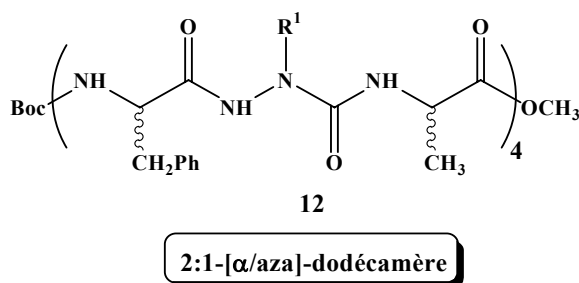


Figure 19: Formule développée du dodécamère

R ¹	Configuration absolue AA1 et AA2	Configuration absolue AA3 et AA4	Configuration absolue AA5 et AA6	Configuration absolue AA7 et AA8	Rdt (%) ^a	Produit
CH ₂ Ph	S, S	S, S	S, S	S, S	92	12a
CH ₂ Ph	R, S	R, S	R, S	R, S	90	12b
CH ₂ Ph	S, S	R, R	S, S	R, R	91	12c

^a rendement en produit isolé calculé par rapport aux 2 :1-[α/aza]-hexamères **10**

Tableau 4

II.5 Conclusion

Nous avons abordé la synthèse des 1:1-[α/aza]-oligomères afin d'obtenir les 1:1-[α/aza]-tétramère et 1:1-[α/aza]-hexamère à partir des précurseurs azadipeptidiques Boc-azaPhe-Ala-OMe **6**. Les rendements sont relativement bas en raison de la faible nucléophilie du dipeptide aza/α.

Nous avons synthétisé des 2:1-[α/aza]-oligomères en faisant varier la configuration de l'atome de carbone asymétrique pour obtenir des oligomères homo et hétérochiraux.

Cette synthèse consiste tout d'abord à préparer les unités de base, les 2:1-[α /aza]-trimères **9** à partir des précurseurs azadipeptidiques Boc-azaPhe-Ala-OMe **6**. Nous avons choisi d'utiliser un groupement benzyle sur l'azote N^α afin d'augmenter la solubilité de ces oligomères. Les 2:1-[α /aza]-trimères sont ensuite engagés dans des réactions d'oligomérisation par couplage peptidiques classiques. On a ainsi obtenu les 2:1-[α /aza]-hexamère **10**, 2:1-[α /aza]-nonamère **11** et 2:1-[α /aza]-dodécamère **12** avec des rendements satisfaisants.

III Etudes conformationnelles des 1:1-[α /aza]-oligomères et des 2:1-[α /aza]-oligomères

III.1 Introduction

L'objet de ce travail de thèse est de vérifier l'existence itérative du coude β dans une chaîne plus longue constituée de plusieurs blocs Boc-Phe(*D ou L*)-azaPhe-Ala(*D ou L*)-OMe et de savoir si la structure est influencée par la configuration absolue des atomes de carbone asymétrique.

Après avoir rappelé les aspects conformationnels en série peptidique et pseudopeptidique, les résultats des analyses conformationnelles des pseudopeptides synthétisés seront décrits.

III.2 Aspects conformationnels en série peptidique et pseudopeptidique

Les propriétés conformationnelles des peptides et pseudopeptides sont le fruit d'un équilibre entre des interactions intramoléculaires à courte et longue distance, et intermoléculaires avec l'environnement. La nature non covalente de ces forces (électrostatiques, par liaisons hydrogène, hydrophobes, ioniques...) conditionnent l'organisation des biomolécules.⁴⁰

De nombreuses études conformationnelles portant sur des peptides et pseudopeptides ont permis de mettre en évidence le rôle clé de certains facteurs de structuration, dont le plus important est la formation de liaisons hydrogène.

III.2.1 Description du squelette peptidique

La disposition dans l'espace des atomes constituant les peptides est décrite, en respectant un certain nombre de conventions, notamment à l'aide de trois angles de

torsion autour des liaisons $\text{NH}-\text{C}_\alpha$, $\text{C}_\alpha-\text{CO}$ et $\text{CO}-\text{NH}$, respectivement notés ψ ϕ ω (Figure 20). Leur signe est positif lorsque l'observateur, situé du côté N_{term} , voit la partie C_{term} tourner dans le sens des aiguilles d'une montre. La valeur nulle correspond à la disposition éclipsée des atomes du squelette peptidique.

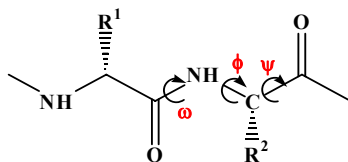


Figure 20: Représentation des angles dièdres du squelette peptidique

La liaison amide, de par son caractère de liaison partiellement double, possède ses six atomes $\text{C}_\alpha1$, O, C, N, H et $\text{C}_\alpha2$ dans un même plan. La valeur de l'angle ω est donc voisine soit de 0° , soit de 180° selon que la liaison peptidique est respectivement *cis* ou *trans*. Seuls les angles Φ et Ψ sont les variables conformationnelles pour la chaîne principale. Cependant, toutes les valeurs d'angles des couples (Φ, Ψ) ne sont pas permises soit en raison de contraintes stériques, soit en raison de la formation de liaisons hydrogène limitant les degrés de liberté de la chaîne peptidique. Le diagramme de Ramachandran représente les zones énergiquement favorables (Figure 21).⁴¹

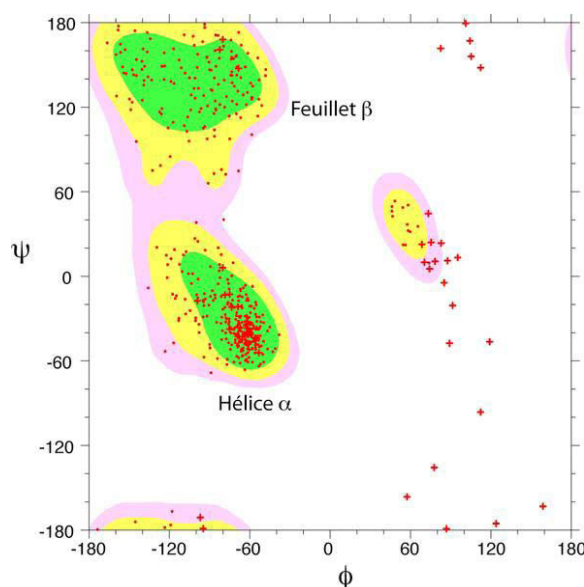


Figure 21: Diagramme de Ramachandran simplifié indiquant les valeurs des angles (ϕ, ψ) permises dans les protéines

Une liaison hydrogène s'établit, au sein d'un peptide, entre un site donneur de proton NH appartenant au résidu i et un site accepteur de proton CO du résidu $i+x$. La force de cette interaction, notée $i \rightarrow i+x$, dépend principalement de la distance $\text{N} \cdots \text{O}$ qui

sépare le site donneur du site accepteur. Cette distance est optimale lorsqu'elle est comprise entre 2,8 et 3,1 Å, et lorsque les trois atomes N-H---O sont colinéaires, c'est-à-dire que l'angle (N-H---O) a une valeur comprise entre -20° et +20°. Cette liaison forme alors un pseudocycle à n atomes, noté C_n, qui caractérise les différents types de structures secondaires (Figure 22).

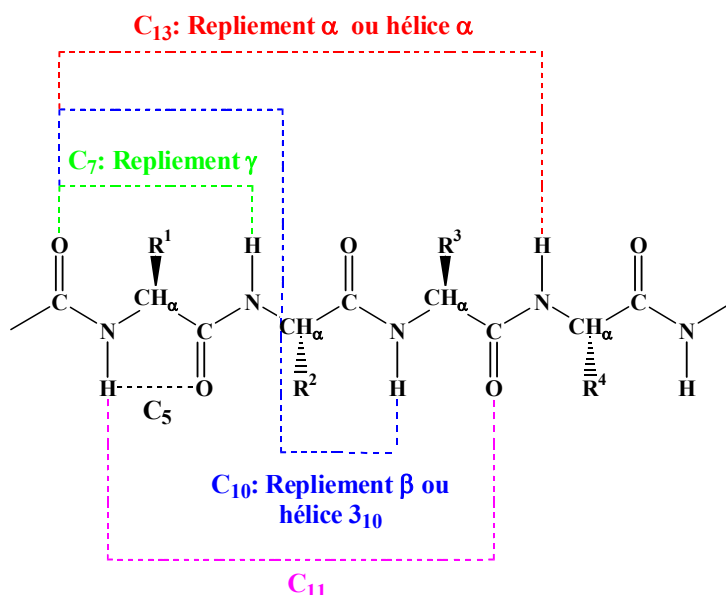


Figure 22: Principales interactions rencontrées dans les peptides

Les méthodes d'analyse structurale comme la diffraction des rayons X, la résonance magnétique nucléaire, la spectroscopie infrarouge et le dichroïsme circulaire ont permis de mettre en évidence différentes interactions intramoléculaires au sein des peptides.

III.2.2 Feuillet β et brin β (β-hairpin)

III.2.2.1 Feuillet β

Les Feuillet β sont constitués de chaînes polypeptidiques reliés par un réseau de liaisons hydrogène et sont largement présents dans les protéines (Figure 23).

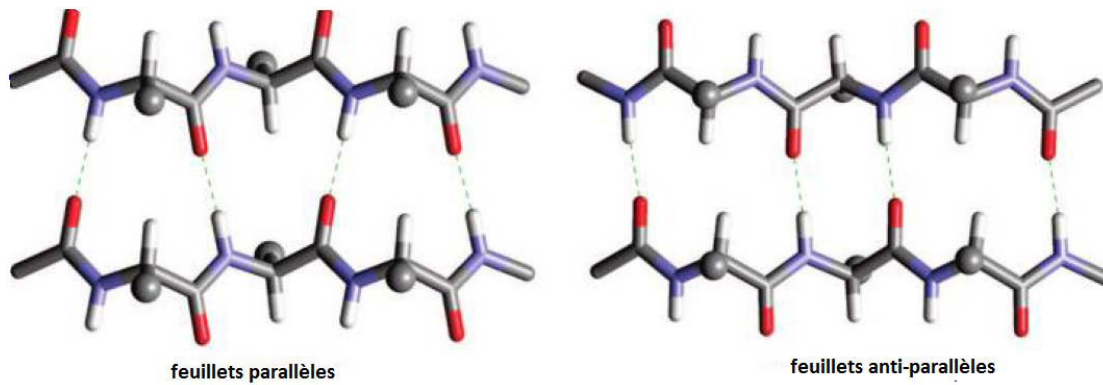


Figure 23: Représentation de feuillets β parallèles et anti-parallèles

- Le feuillet β parallèle pour lequel l'orientation de deux brins successifs est la même présente des valeurs d'angles dièdres égales à $\phi = +139^\circ$ et $\psi = +113^\circ$.
- Le feuillet β anti-parallèle pour lequel l'orientation de deux brins successifs est inversée présente des valeurs d'angles dièdres égales $\phi = -139^\circ$ et $\psi = +135^\circ$.

Les interactions intermoléculaires entre les liaisons hydrogènes aux bords des feuillets β constituent une forme fondamentale de la reconnaissance biomoléculaire (comme un appariement de bases d'ADN) et sont impliqués dans les structures tertiaire et quaternaire de la protéine, les interactions protéine-protéine et l'agrégation des peptides et protéines.

III.2.2.2 Les brins β (β -hairpin)

Le brin β est un exemple particulier de feuillets β modèle dans lesquelles 2 brins antiparallèles sont séparés par un coude de 2 à 6 résidus. Ce coude permet la formation de multiples liaisons hydrogène entre les deux brins (Figure 24).

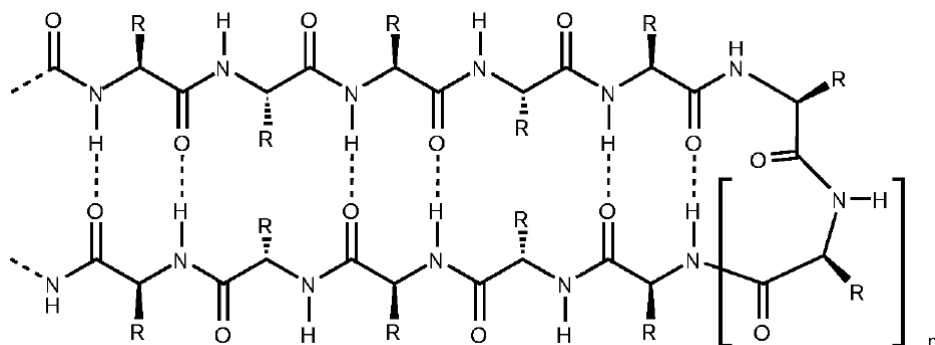


Figure 24 : Représentation de brin β

En 1993, Blanco a montré que des petites chaînes peptidiques de l'ordre de 15 à 20 acides aminés peuvent se plier en conformation brin β en solution aqueuse.⁴²

III.2.3 Les coudes ou turns

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

Le coude joue un rôle important d'un point de vue structure et fonctionnalité. Ils permettent le repliement de la chaîne polypeptidique en une structure tertiaire déterminée ou en structure compacte globulaire. Ils peuvent être situés à la surface des protéines, et par conséquent ils peuvent être impliqués dans les processus de reconnaissance cellulaire et moléculaire.⁴³⁻⁴⁵

III.2.3.1 Les coudes γ

Ces coudes sont caractérisés par la formation d'un pseudocycle à sept atomes, stabilisé par une liaison hydrogène de type $i+2 \rightarrow i$. Il a été mis en évidence lors d'études spectroscopiques de dipeptides en solution²⁶ et de protéines.⁴⁶ Il existe deux types de repliement selon l'orientation pseudo-axiale (repliement γ) ou pseudo-équatoriale (repliement γ inverse) de la chaîne latérale du résidu $i+1$. Il est à noter que la conformation équatoriale est généralement la plus stable (Figure 25).

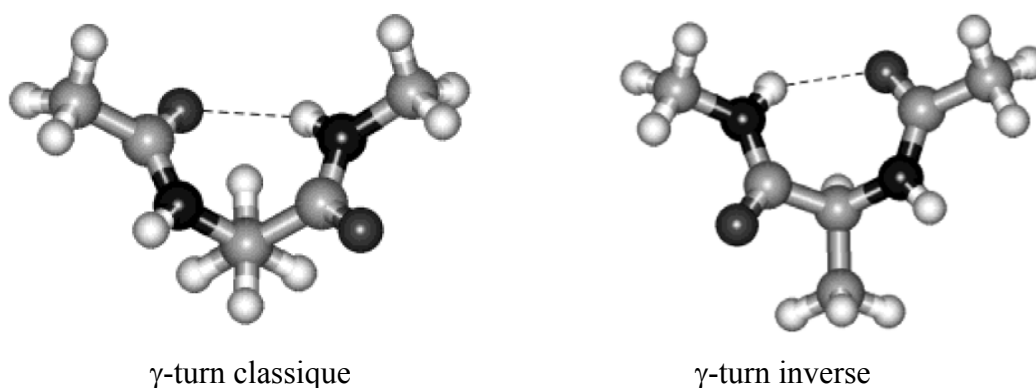


Figure 25: Représentation des γ -turn

III.2.3.2 Les coudes β ou C_{10}

Les coudes β les plus courants sont caractérisés par l'établissement d'une liaison hydrogène $i+3 \rightarrow i$ entre les sites NH du résidu $i+3$ et le CO du résidu i , ce qui correspond à une distance $N \dots O$ comprise entre 2.8 et 3.5 Å (Figure 26).

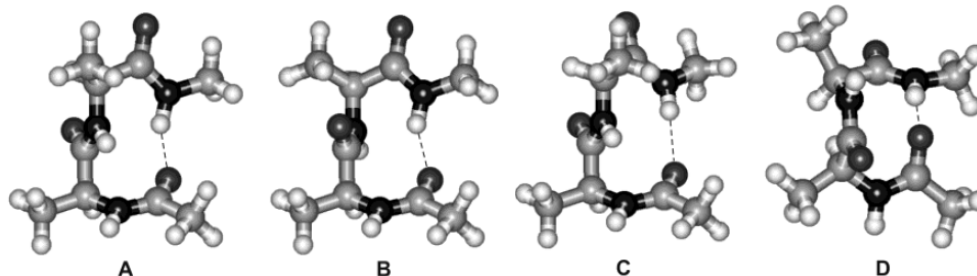


Figure 26: Coudes β de type I (A), de type II (B), type III (C), de type VIa (D)

Les principaux types de repliements β ainsi que la valeur moyenne des angles de torsions dans les résidus $i+1$ et $i+2$ sont regroupés dans le tableau 5.

Type	Résidu $i+1$		Résidu $i+2$	
	Φ	Ψ	Φ	Ψ
β I	-60	-30	-90	0
β I'	60	30	90	0
β II	-60	120	80	0
β II'	60	-120	-80	0
β III	-60	-30	-60	-30
β VI	-60	120	-120	60

Tableau 5: Valeurs moyennes des angles de torsions pour les six principaux modes de repliement β caractérisés par une liaison hydrogène du type $i+3 \rightarrow i$

Le coude β s'est révélé être un élément architectural primordial dans les structures tridimensionnelles des protéines globulaires. Par extension, l'appellation repliement β est aussi utilisée pour toute forme repliée dans les peptides à condition que les C_α des résidus i et $i+3$ ne soient pas distants de plus de 7 Å.⁴⁷

III.2.4 Les coudes β conformation en série peptidomimétiques

En raison de l'importance du coude β dans la reconnaissance par les récepteurs, de nombreux coudes β peptidomimétiques ont été développés et incorporés dans des peptides biologiquement actifs.

III.2.4.1 Les coudes β formés par les diprolines substituées

Dans les diprolines hétérochirales (*L-D*), la 2-méthyl-*D*-proline en position *i*+2 et une (cis ou trans)-3-méthyl-*L*-proline en position *i*+1 induisent une conformation de type β II. Par contre, dans les diprolines homochirales (*D-D*), la cis-3-méthyl-*D*-proline en position *i*+1 semble favoriser une conformation différente par rapport à son analogue non substitué, alors que la trans-3-méthyl-*D*-proline semble stabiliser un coude β VI'.⁴⁸

III.2.4.2 Les coudes β formés par un peptidomimétique comprenant une glycine α,α -disubstitués

L'oligomère constitué d'acides aminés dialkylés (Aib) présente une succession de coudes β III en hélice 3_{10} .⁴⁹ Les peptides comportant les résidus (α Me)Nva ou Nva (L-Norvaline) combinés avec Ala et/ou Aib adoptent une conformation de type coude β (Figure 27) et le résidu (α Me)Nva a été reconnu comme un initiateur efficace d'hélice 3_{10} droite.⁵⁰

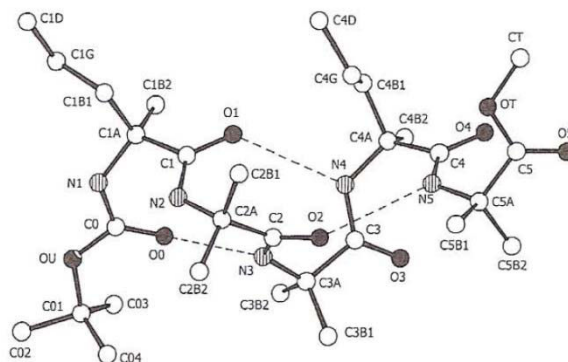


Figure 27: La structure à l'état solide de composé Boc-L-(α Me)Nva-Aib-Aib-L-(α Me)Nva-Aib-OMe.

Les peptides riches en Glycines cyclo- $C^{\alpha,\alpha}$ -disubstituées ($Ac_nC_n = 4, 8, 9, 10, 12$) ont également été étudiés. La préférence conformationnelle de ces modèles contraints est le coude β ou l'hélice 3_{10} (Figure 28).⁵¹⁻⁵⁵

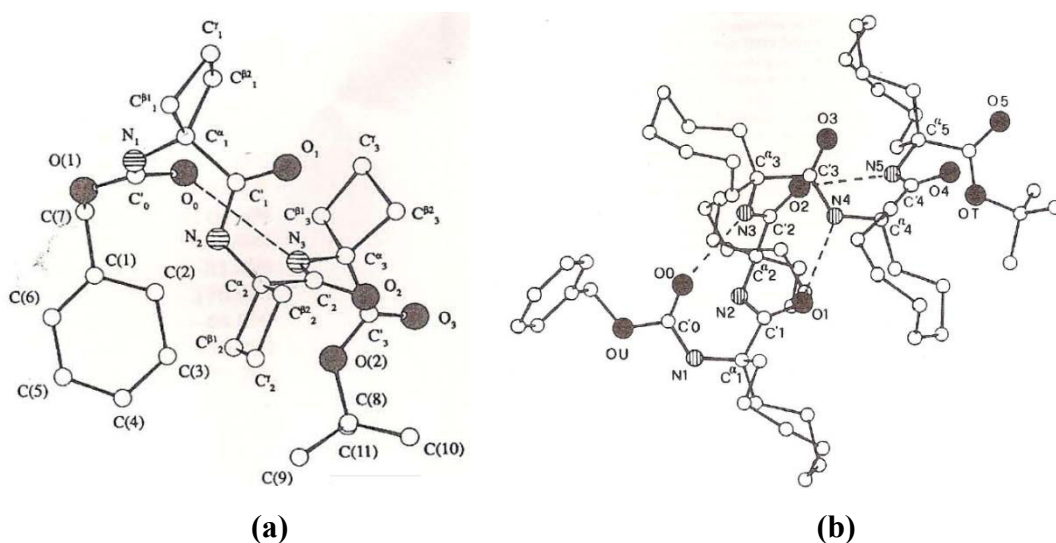


Figure 28: La structure coude β et hélice 3_{10} à l'état solide : (a) Z-(Ac₄c)₃-OtBu, (b) Z-(Ac₉c)₅-OtBu

III.2.4.3 Les coudes β induits par les β ou γ acides aminés.

La formation des coudes β par les β ou γ acides aminés a été également étudiée par l'équipe de Seebach. Selon les résultats obtenus par la diffraction des RX, le tripeptide constitué de β -amino acide cyclohexane- β,β -disubstitué forme un pseudocycle à 10 atomes sous forme de coude β (Figure 29).⁵⁶ Par des études RMN et simulation par modélisation dynamique, ils ont aussi démontré que le β -peptide dérivé (*S,S*)-*N*-acétyl- β^2 hVal- β^3 hPhe-NHCH₃ forme un coude β .⁵⁷

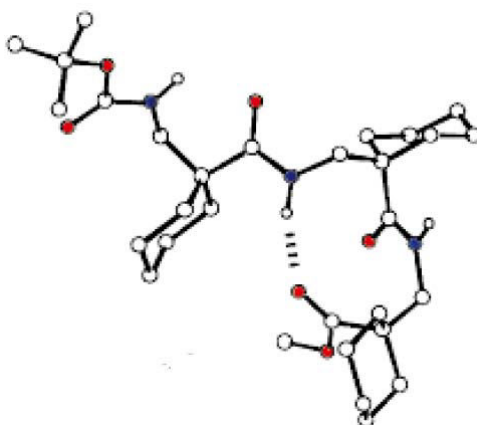


Figure 29: Conformation à l'état solide d'un tripeptide

La formation d'un coude β par les γ acides aminés est dépendante de la configuration absolue des carbones asymétriques. L'équipe de Seebach a démontré que le dipeptide constitué de γ -acides aminés 2,4-disubstitués de configurations absolues inverses est

sous forme de coude β en présentant un pseudocycle à 14 atomes (Figure 30).⁵⁸ Ce résultat obtenu à l'état solide par diffraction des RX est également confirmé par les études RMN dans CD_3OH .

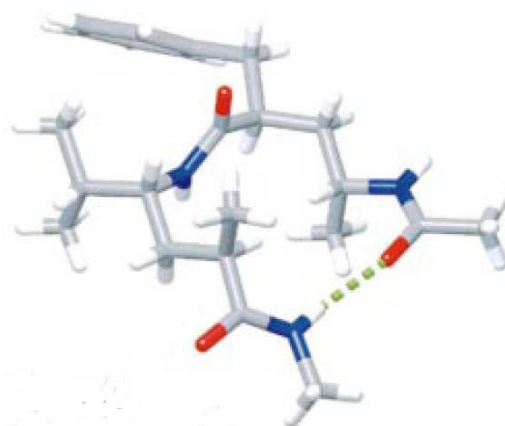


Figure 30: Structure RX d'un dipeptide constitué de γ -acide aminé 2,4-disubstitués

III.2.5 Les hélices

La répétition de pseudocycles ou de coudes conduit à la formation d'hélices. Elles sont notées sous la forme a_b où a correspond aux nombres de résidus par pas d'hélice et b au nombre d'atome dans le pseudocycle formé par la liaison hydrogène. Il existe, au sein des protéines principalement, 3 types d'hélices droites : les hélices 3_{10} , 3.6_{13} ou α et 4.1_{16} ou π (Figure 31).

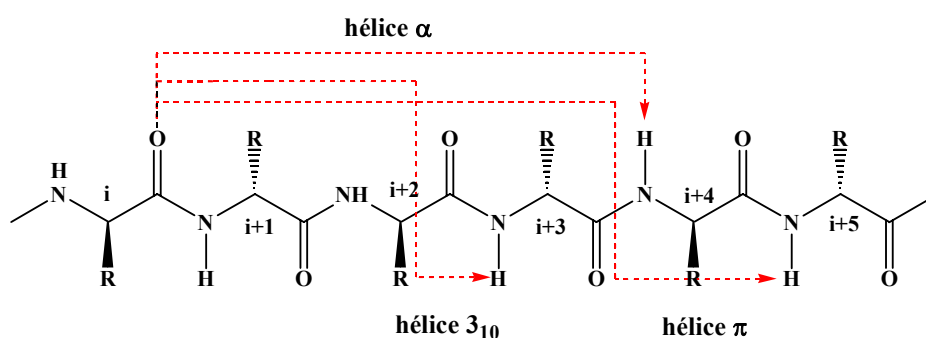


Figure 31: Types de liaisons hydrogène dans les différentes hélices

En série pseudopeptidique, les équipes de Gellman et Seebach se sont intéressées à la formation d'hélices avec pour motifs de bases les β -peptides qui possèdent un carbone supplémentaire (Figure 32).

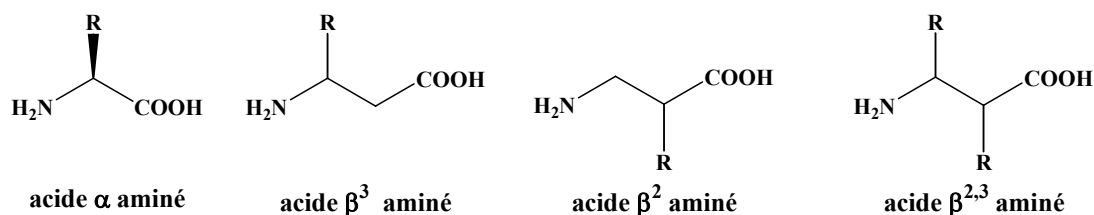


Figure 32: Les acides β aminés

Il existe principalement 6 types d'hélice dans les foldamères β -peptidiques (Figure 33). Une ou plusieurs chaînes latérales peuvent alors être introduites en position deux et/ou trois par rapport au groupe carboxylique. Le squelette β peptidique possède alors une grande flexibilité structurale qui a été beaucoup exploitée par les équipes de Samuel Gellman⁵⁹⁻⁶³ et Dieter Seebach.⁶⁴ Ils y ont identifié six structurations possibles dont la plus favorable est l'hélice 3_{14} , obtenue par un réseau de liaisons hydrogène CO...HN de direction opposée à celle de l'hélice α .

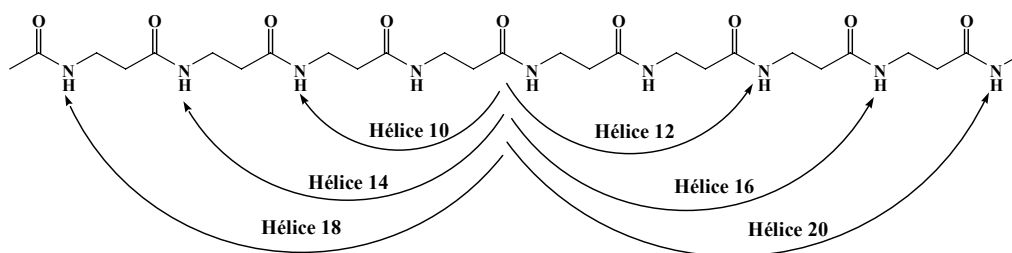


Figure 33: Différents types d'hélices dans des foldamères β -peptidiques

Une conception plus récente pour stabiliser la structure secondaire est d'utiliser une chaîne latérale cyclique. Ils ont réussi à stabiliser une hélice 14 dans l'acide *trans*-2-aminocyclohexane carboxylique (*trans*-ACHC) et une hélice 12 dans l'acide *trans*-2-amino cyclopentanecarboxylique (*trans*-ACPC) (Figure 34).⁶⁵

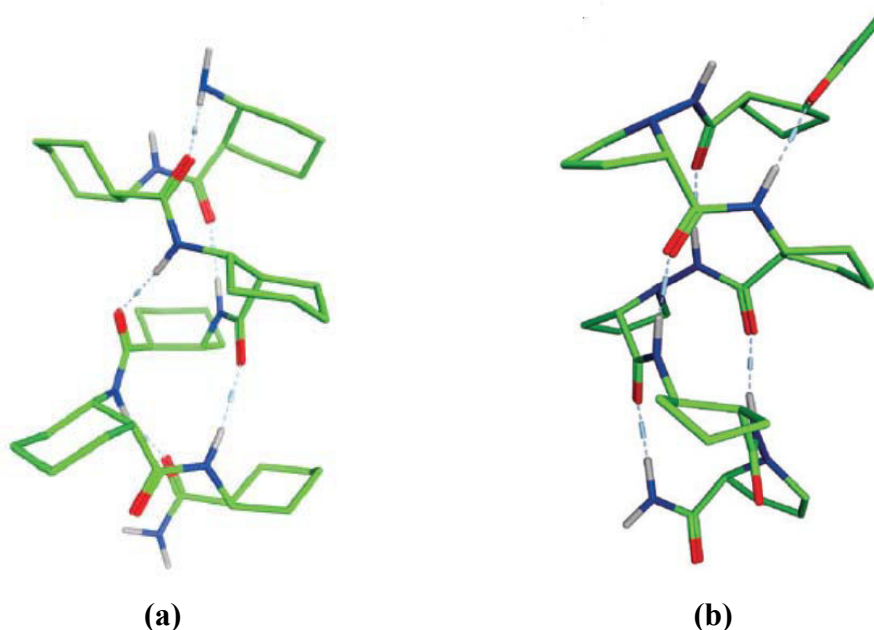


Figure 34 : 14-hélice (a) formée dans le trans-ACHC et 12-hélice (b) formée dans le trans-ACPC

III.3 Méthodes d'analyses conformationnelles

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

III.3.1 La diffraction des rayons X

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

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

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

III.3.2 La modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est un outil qui permet, au moyen de modèles mathématiques, de prévoir la structure et la réactivité des molécules.

Il existe différentes méthodes:

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

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

III.3.3 La spectroscopie d'absorption infrarouge (IR)

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

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

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

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

En effet, il est admis que lorsque les vibreurs sont impliqués dans de telles interactions, celles-ci entraînent une diminution de la fréquence des deux vibreurs

concernés et les variations relatives des fréquences reflètent la force des interactions mises en jeu.

De plus, la littérature fait état qu'un vibreur NH amidique lié par liaison hydrogène à une bande d'absorption IR d'Amide A en dessous de 3400 cm^{-1} .⁶⁶

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

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

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

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

III.3.4 La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)

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

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

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

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

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

a. La RMN à 1 dimension (RMN 1D)

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

- Influence de la température: cette méthode est basée sur l'interprétation des effets de la température sur un composé. Dans un solvant accepteur de liaisons hydrogène, une élévation de température provoque la rupture de liaisons hydrogène intermoléculaires sous l'effet de l'agitation thermique. *A contrario*, le déplacement chimique d'un proton NH intramoléculairement lié restera quasi indépendant de la température tant que celle-ci ne sera pas suffisante pour briser ce type d'interaction.⁶⁷
- Influence du solvant: méthode très employée au laboratoire, elle consiste à étudier l'évolution des déplacements chimiques des protons NH en fonction de la composition d'un mélange solvant peu polaire (CDCl_3) et solvant très polaire ($\text{DMSO-}d_6$), dans lequel le composé étudié est gardé à concentration constante. En augmentant la proportion de $\text{DMSO-}d_6$, les signaux des protons NH en interaction avec le solvant se déplacent vers les champs faibles. Inversement, les protons NH liés par liaisons hydrogène intramoléculaires seront peu affectés par le changement de la composition du milieu.⁶⁸ La variation relative du déplacement chimique est d'autant plus faible que l'interaction intramoléculaire est forte.
- Influence de la concentration: la dilution permet d'observer ou non l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires. En effet, en milieu

concentré, la probabilité d'établir des liaisons hydrogène intermoléculaires augmente.

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

Récemment, l'équipe de Le Grel a montré qu'il était possible, par la mesure de la différence de déplacement chimique ($\Delta\delta$) entre deux protons d'un amide terminal, de tirer des informations quant à la présence de liaisons hydrogène.⁶⁹ Cette différence, résultant de l'implication d'un des protons NH de l'amide dans une liaison hydrogène, va conduire à un déblindage du signal de ce dernier.

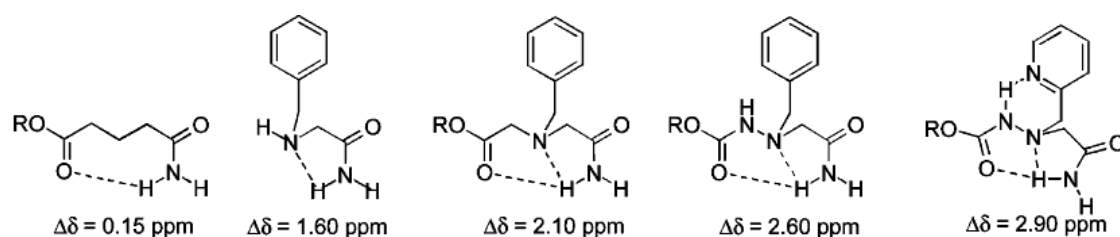


Figure 35 : Valeurs de différentes mesures de $\Delta\delta$ d'amides primaires

Ces travaux ont permis de mieux appréhender la conformation en « hydrazinoturn » des aza- β^3 peptides en démontrant que le $\Delta\delta$ était fonction de la force de la liaison hydrogène et en mettant en évidence le caractère bifide de l'hydrazinoturn (Figure 35).⁶⁹

b. La RMN à 2 dimensions (RMN 2D)

L'attribution univoque des signaux et éventuellement le séquençage ultérieur des pseudopeptides sont établis grâce aux techniques particulières de la RMN à deux dimensions. La séquence COSY (CORrelated SpectroscopY) permet de corréler les signaux provenant de noyaux couplés scalairement et éloignés de deux ou trois liaisons (2J , 3J), dont la valeur de la constante de couplage n'est pas nulle. Elle est utilisée pour identifier ou repérer les systèmes de spins intra-résidus, sans toutefois pouvoir effectuer une attribution univoque lorsque plusieurs résidus identiques sont présents.^{70,71} Cette expérience est souvent associée à une méthode plus sophistiquée,

la séquence TOCSY (TOtally Correlated SpectroscopY), qui permet l'attribution de tous les spins au sein d'un même résidu.

Pour l'établissement de la séquence d'un peptide comportant une dizaine de résidus (ou plus) parfois identiques, on a recours à d'autres méthodes expérimentales, à savoir la séquence ROESY (Rotating frame Overhauser Effect SpectroscopY) ou NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY).⁷² L'effet Overhauser repose sur les couplages dipolaires (interactions dipôle-dipôle) entre noyaux, à travers l'espace. Ces couplages dipolaires ne sont observables que pour les distances interprotoniques inférieures à 5 Å. Cette technique renseigne sur les distances interatomiques de groupements non directement liés de façon covalente. Ainsi la recherche des corrélations $C^{\alpha}H_i / NH_i$ et $C^{\alpha}H_i / NH_{i+1}$ dans une carte NOESY permet le séquençage univoque de l'enchaînement peptidique étudié et donc l'attribution de tous les signaux présents sur le spectre.

L'observation de l'effet NOE entre deux noyaux d'hydrogène représente la source principale de contraintes pour déterminer une structure par RMN. Il fait apparaître des pics de corrélation croisés sur les spectres ROESY/NOESY dont le volume est inversement proportionnel à la distance d entre deux protons et n'est détectable que quand la distance est inférieure à 5 Å. Les volumes des pics NOE sont convertis en contraintes de distance, d'après la relation suivante :

$$d_{ij} \propto NOE^{-1/6}$$

où d_{ij} est la distance entre deux protons i et j , et NOE l'intensité du pic NOE correspondant.

Enfin, la mesure des constantes de couplage 3J permet d'obtenir des informations sur les valeurs d'angles de torsion *via* les relations de Karplus.

III.3.5 Conclusion

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

III.4 Etudes conformationnelles des 1:1-[α /aza]-tétramères

III.4.1 Rappel

Dans sa thèse,³⁸ Cécile Abbas-Quinternet a montré que le dimère Boc-azaAla-Ala-OMe **6** adoptait une conformation en γ turn. La présence d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre le proton NH Ala et le carbonyle du groupement Boc a été vérifiée par les études RMN et confirmée par les études IR.

Ces études nous donnent une base de travail pour l'étude conformationnelle des oligomères de plus grande taille.

L'étude conformationnelle décrite ci-dessous vise à vérifier si la structuration en γ turn était conservée ou pas au sein des oligomères de plus grande taille et/ou si la taille avait une influence sur la structuration.

III.4.2 Etudes structurales en solution des 1:1-[α /aza]-tétramères **7**

III.4.2.1 Influence du DMSO- d_6

L'influence de l'introduction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 sur les déplacements chimiques des protons acides a été étudiée par spectroscopie RMN ^1H . Les variations des déplacements chimiques des protons NH sont reportées dans la Figure 36.

L'attribution des déplacements chimiques des différents protons mentionnés dans cette figure découle de l'analyse ROE. Cette dernière montre :

- Une corrélation entre NHAla et CHAla qui permet de déduire le déplacement chimique du proton NHAla
- Une légère corrélation entre NHazaPhe et Boc qui permet de déduire le déplacement chimique du proton NHazaPhe1 et par conséquent celui de NHazaPhe3

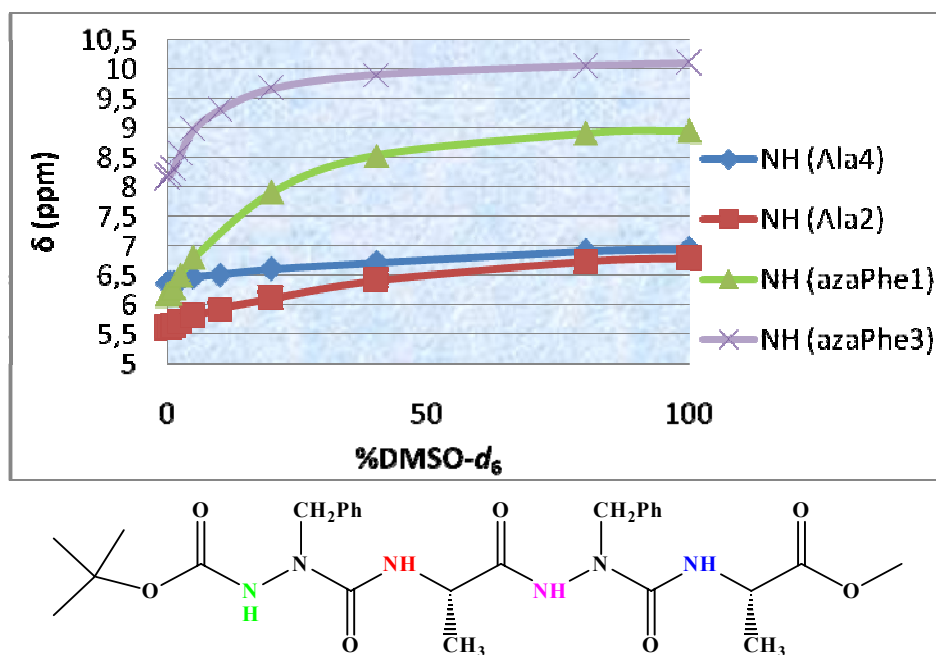


Figure 36: Evolution du déplacement chimique des protons NH du composé Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe 7 en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%)/ $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

Nous remarquons rapidement que le proton du groupement NH du résidu Alanine⁴ (en bleu) ne subit pas l'influence du DMSO- d_6 et que le proton du groupement NH du résidu Alanine² subit légèrement l'influence du DMSO- d_6 . Nous en déduisons que le proton NH (Ala⁴) est lié fortement par liaison hydrogène intramoléculaire et que le proton NH (Ala²) est impliqué dans une liaison hydrogène plus faible. Les deux autres protons amidiques ne sont pas liés par liaisons hydrogène

III.4.2.2 Par spectroscopie infrarouge

Le spectre IR de 1:1-[α /aza]-tétramère Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe 7 a été réalisé à une concentration de $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ suffisamment faible pour s'affranchir de liaisons hydrogène intermoléculaires. Pour confirmer l'existence des liaisons hydrogène intramoléculaires, la zone des vibreurs NH a été étudiée (Figure 37). Le vibreur NH est considéré comme lié en solution lorsque le nombre d'onde est inférieur à 3400 cm^{-1} et libre lorsque le nombre d'onde est supérieur à 3400 cm^{-1} .

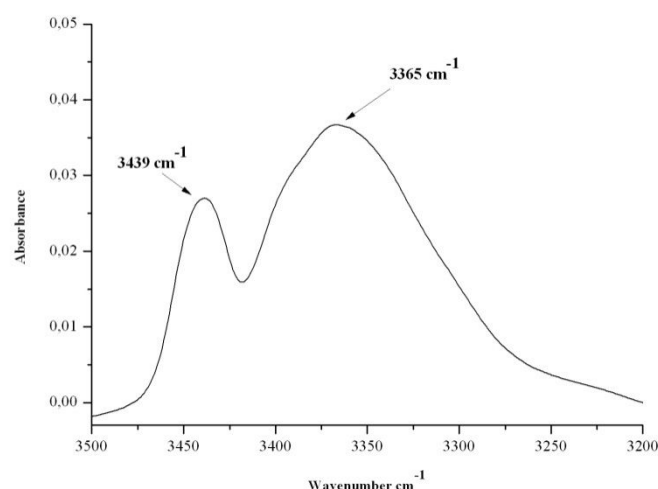
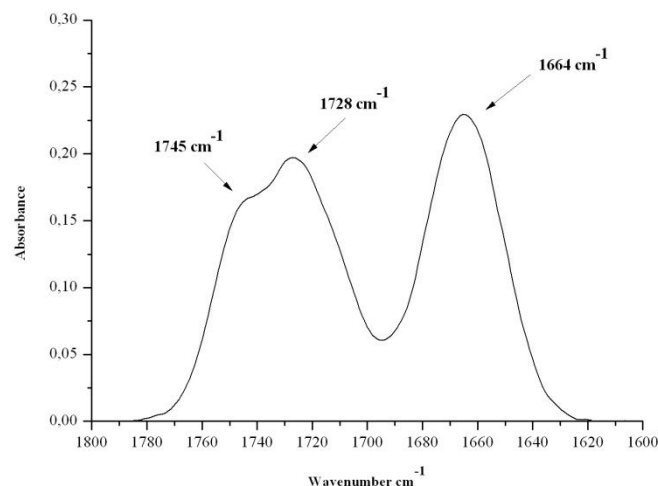


Figure 37: Spectre infrarouge du composé Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe 7 dans la zone des élongations de liaison des groupements NH ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹/CHCl₃)

On observe une bande au dessous de 3400 cm⁻¹, ce qui signifie la présence de liaisons hydrogène. Ce résultat est cohérent avec les résultats obtenus par l'étude de l'effet du solvant démontrant que le NH (Ala²) et le NH (Ala⁴) sont impliqués dans une liaison hydrogène. La figure 38 représente le spectre IR au niveau du domaine d'élongation des liaisons C=O.



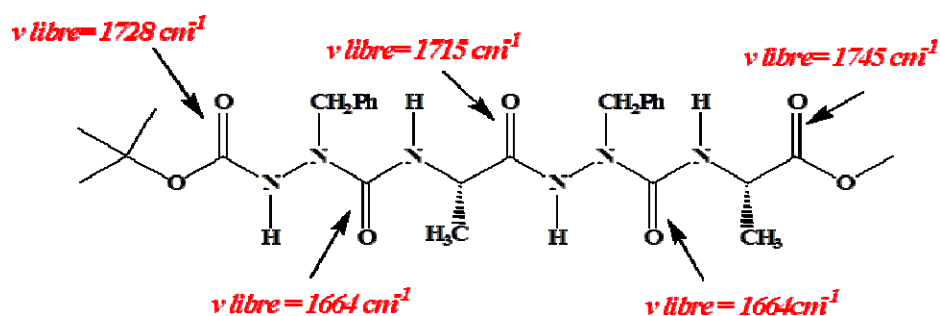


Figure 38 : Spectre infrarouge du composé Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe 7 dans la zone des vibreurs C=O ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹/CHCl₃)

Nous retrouvons sur ce spectre la bande caractéristique du carbonyle de l'ester méthylique à 1745 cm⁻¹ et la bande caractéristique du carbonyle du groupement Boc libre située vers 1727 cm⁻¹ que nous avons mises en évidence pour le dimère Boc-azaPhe-Ala-OMe 6.

Pour attribuer la bande à 1664 cm⁻¹, on compare les spectres IR des composés 6 et 7 (Figure 39).

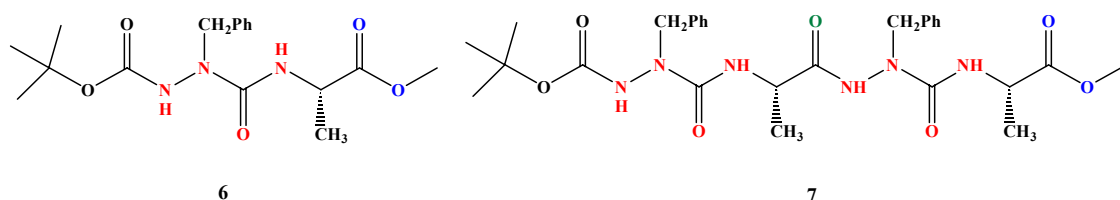
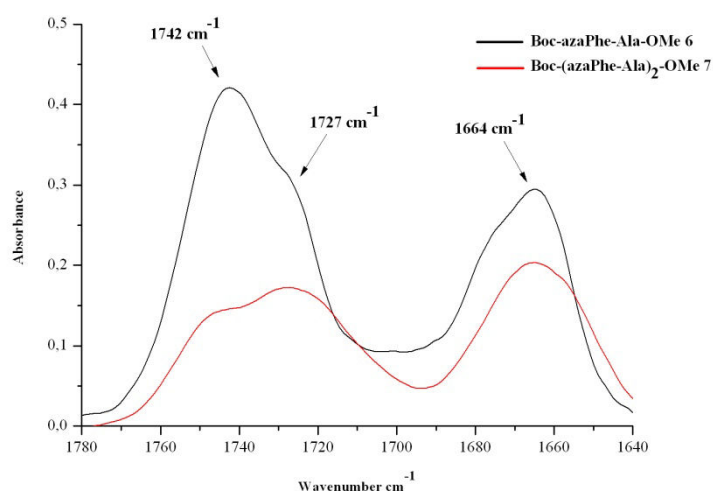


Figure 39 : Spectre infrarouge des composés 6 et 7 dans la zone des vibreurs C=O ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹/CHCl₃)

On observe que l'intensité de la bande du carbonyle de l'ester à 1742 cm⁻¹ est diminuée par rapport à celle à 1664 cm⁻¹ dans le composé 7. Compte tenu qu'il y a

deux fois plus de groupements $\text{-NH-N(CH}_2\text{Ph)-CO-NH}$ dans **7** que dans **6**, on peut en déduire que la bande caractéristique de CO (azaPhe) libre est celle située à 1664 cm^{-1} . L'étude du composé 2:1-[α /aza]-trimère (homo **9a** et hétéro **9b**) chiral (voir paragraphe III.6) nous a permis de localiser la bande du CO (Phe) voisin du résidu azaPhe à 1723 cm^{-1} . Nous pouvons supposer que le CO (Ala) voisin du résidu azaPhe dans le composé **7** doit être aux alentours de cette longueur d'onde. Pour confirmer cette supposition, nous avons décidé de comparer le spectre du dimère Boc-azaPhe-Ala-OMe **6** avec celui du tétramère Boc-(azaPhe-Ala) $_2$ -OMe **7** dans le DMSO- d_6 reconnu pour casser les liaisons hydrogène (Figures 40 et 41).

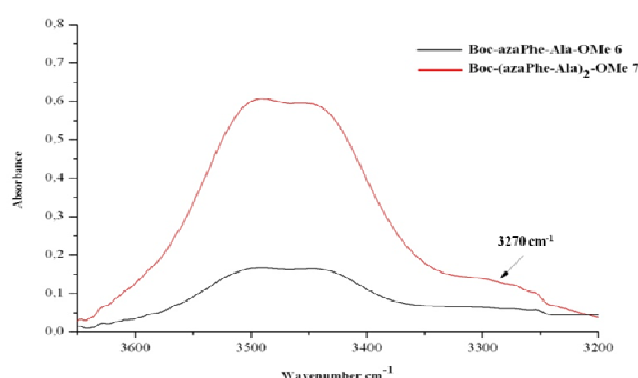


Figure 40: Spectres infrarouges de 6 et 7 dans la zone des élongations de liaison des groupements NH ($5 \cdot 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ /DMSO)

Nous avons observé une petite bande à 3270 cm^{-1} pour les composés **6** et **7**. Cette bande est due soit à l'effet de solvation du DMSO- d_6 ou soit à la conformation minoritaire montrant les protons NH encore liés. Nous pouvons déduire que dans le dimère **6** et le tétramère **7**, les groupements carbonyles sont majoritairement sous forme libre (Figure 41).

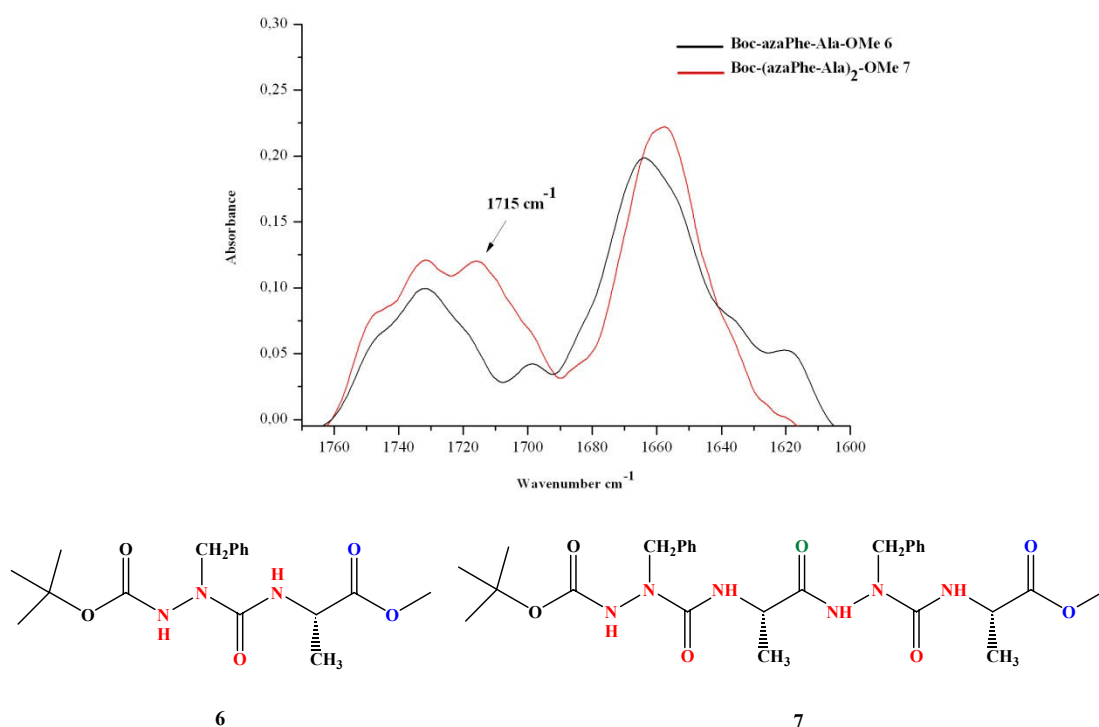


Figure 41: Spectres infrarouges de 6 et 7 dans la zone des vibrateurs C=O ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$ /DMSO)

Dans la zone des vibrateurs CO, on observe une nouvelle bande présente à 1715 cm^{-1} dans le tétramère **7**.

Le carbonyle CO Ala² (en vert) dans le tétramère **7** est un nouveau groupement qui n'existe pas dans le dimère **6**. Nous en déduisons donc que la bande à 1715 cm^{-1} correspond au CO libre du résidu Ala².

III.4.2.3 Par résonance magnétique nucléaire 2D en ROESY

L'équipe de Lee a démontré que le tétrapeptide Boc-Ala-Phe-azaLeu-Ala-OMe adopte une conformation en coude β II avec une liaison hydrogène intramoléculaire entre le proton du résidu Alaⁱ⁺³ et le carbonyle du résidu Alaⁱ.¹⁹ La nature du résidu en position i n'intervient donc pas dans la formation de la conformation en coude β . Nous pouvons donc supposer que dans notre cas la nature du résidu acide azaaminé en position i n'influence pas non plus la formation de la conformation en coude β par implication du proton du résidu Ala⁴ et du carbonyle du motif azaPhe¹.

Les mesures NOE peuvent être utilisées pour différencier les types de coude β comme démontré par Dyson (Figure 42).^{73,74}

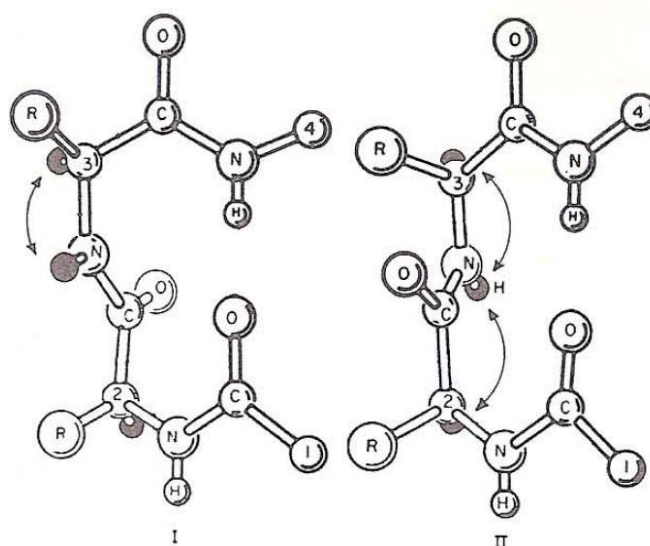


Figure 42 : Représentation des deux types de coude β : (I) coude β I, (II) coude β II

Des distances interproton de plus de 3 Å ne sont généralement pas observables dans les petites molécules par NOESY et ROESY. La différence entre le coude β I et le coude β II est une torsion d'environ 150° autour de la liaison C^α_{i+1}-C' (Figure 42). Par conséquent, dans la conformation du coude β II, seul le proton NH du résidu i+2 est situé à moins de 3 Å à la fois des protons CH_α des résidus i+1 et i+2. Dans cette conformation, les distances interprotons correspondantes sont de 2,1 et 2,3 Å, respectivement, tandis que dans un coude β I ces distances sont de 3,5 et 2,9 Å. Pour cette raison, seul le type β II peut être identifié directement à l'aide du spectre ROE. Afin d'identifier le type de coude β de notre 1:1-[α /aza]-tétramère **7**, nous avons analysé les couplages dipolaires présents par des expériences ROESY en RMN 2D (Figure 43).

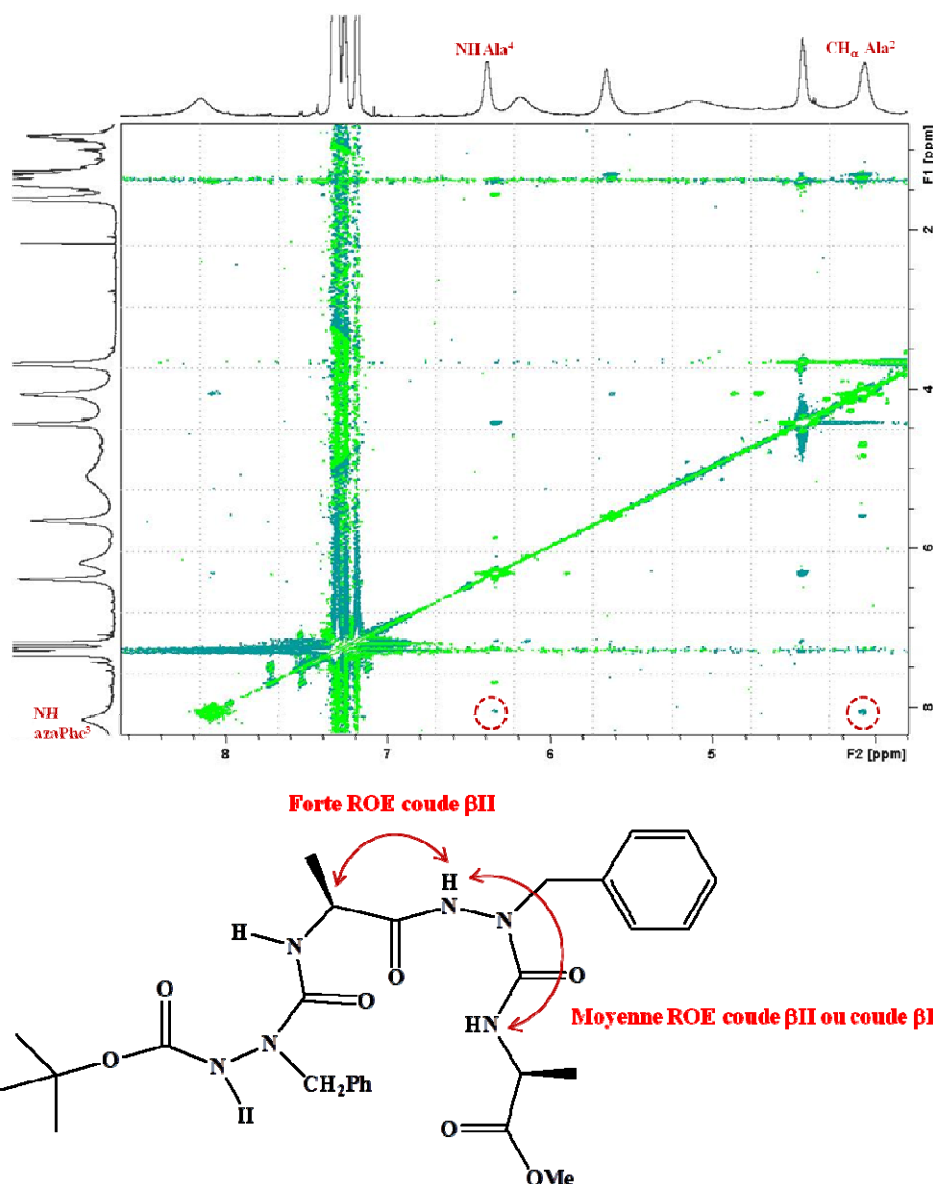


Figure 43: Carte 2D ROESY du 1:1-[α /aza]-tétramère Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe **7** ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹/CDCl₃)

La présence de corrélations ROE entre CH α (Ala²) et NH (azaPhe³), NH (azaPhe³) et NH (Ala⁴) indique que le composé Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe **7** adopte une conformation coude β II entre NH Ala⁴ et CO azaPhe¹.

Dans la littérature, le minimum d'énergie correspondant à la conformation la plus stable du composé Ac-azaPhe-NHMe a été calculé par l'équipe de Lee. Ils ont démontré que la présence d'un γ -turn entre NHMe et C=O carbonyle donne une structure plus stable calculée par le modèle de solvation dans l'eau ou CHCl₃.²⁰ Nous supposons donc, dans notre cas, que le proton NH Ala² serait lié avec le carbonyle du groupement Boc pour former un pseudocycle en C₇.

Nous avons aussi démontré que dans notre dimère Boc-azaPhe-Ala-OMe, le proton NH Ala est lié avec le carbonyle du groupement Boc.

Afin de confirmer notre supposition, nous avons donc étudié l'influence de l'introduction du DMSO- d_6 dans le milieu dissolvant par RMN pour le 1:1-[aza]-tétramère H-(azaPhe-Ala) $_2$ -OMe déprotégé à son extrémité *N*-terminale. Cette étude montre que un seul proton NH de résidu alanine⁴ est lié par liaison hydrogène intramoléculaire. La conformation que l'on pourrait envisager, suite à l'étude RMN du 1:1-[α /aza]-tétramère **7**, serait la présence successive d'un γ -turn suivi d'un β II turn. (Figure 44).

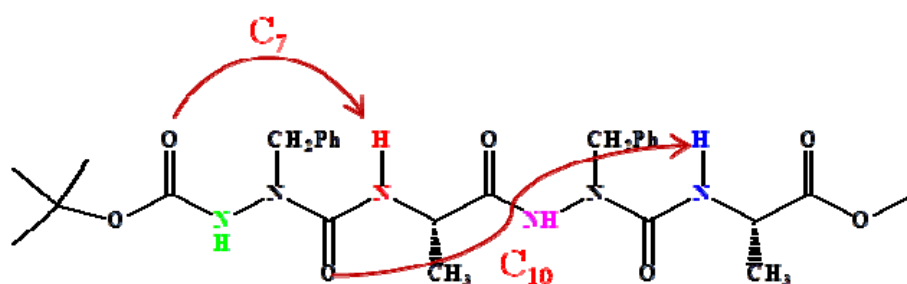


Figure 44: Liaisons hydrogène intramoléculaires pouvant s'établir au sein du 1:1-[α /aza]-tétramère **7**

III.5 Etudes conformationnelles des 1:1-[α /aza]-hexamères

III.5.1 Etudes structurales en solution du 1:1-[α /aza]-hexamère **8**

III.5.1.1 Effet de la variation de température et influence du DMSO- d_6

Le spectre du 1:1-[α /aza]-hexamère **8** a été réalisé à une concentration de 10^{-2} mol.L⁻¹ en baissant la température jusqu'à 258 K (Figure 45). La résolution du spectre est meilleure à basse température. A 258 K, on observe clairement qu'il existe plusieurs conformères. La dispersion des signaux RMN ¹H des groupes méthylène des résidus phénylalanine ne nous a pas permis d'effectuer une modélisation moléculaire sous contraintes RMN.

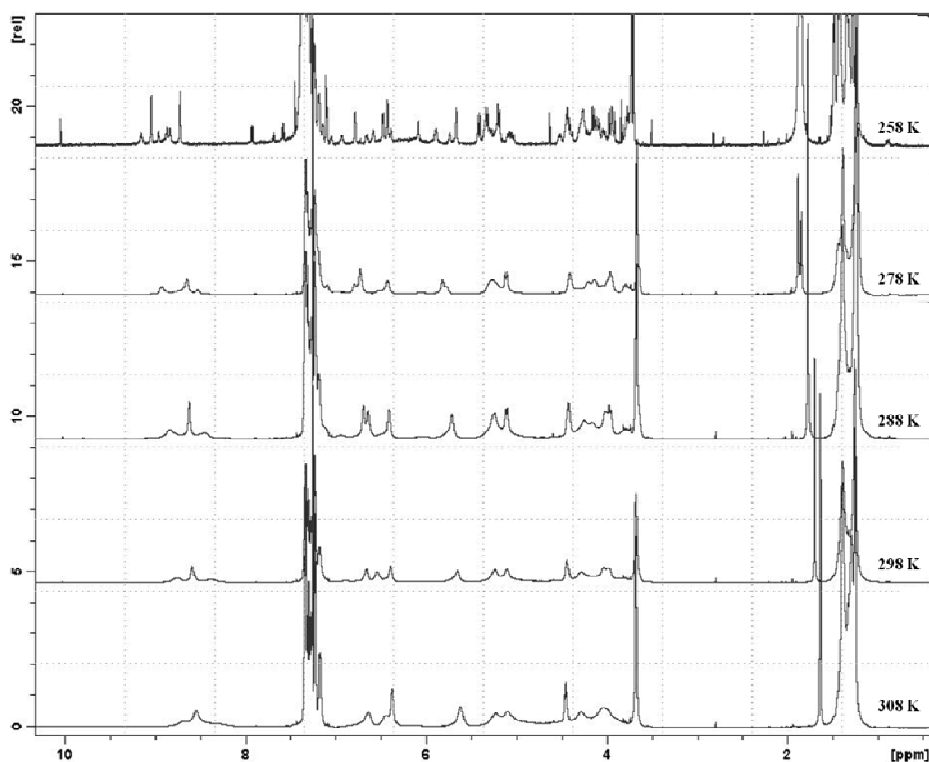


Figure 45: RMN 1H (600 MHz) du composé **8 entre 258 K et 308 K (10^{-2} mol.L $^{-1}$ $^1\text{CDCl}_3$)**

La présence de liaisons hydrogène dans le 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -hexamère **8** dans le CDCl_3 a été évaluée par des expériences de spectroscopie d'IR-TF, des expériences RMN par titration par le DMSO (Figure 46) et en mesurant les coefficients de température des protons NH sur une gamme de température allant de 278 à 308 K (Tableau 6).

	NH (azaPhe ¹)	NH (Ala ²)	NH (azaPhe ³)	NH (Ala ⁴)	NH (azaPhe ⁵)	NH (Ala ⁶)
$\Delta\delta/\Delta T^a$	-11	-6.4	-3.4	-3.1	-8	-1.6

a. ppb/K

Tableau 6: Coefficients de température pour le composé **8 dans CDCl_3**

Le petit coefficient de température des protons NH (azaPhe³) et NH (Ala⁴, Ala⁶) dans le CDCl_3 associé aux faibles variations de déplacements chimiques observées suite à l'ajout de DMSO- d_6 (0.46 pour NH (azaPhe³), 0.18 et 0.62 ppm respectivement pour NH (Ala⁴) et NH (Ala⁶) suggère que ces protons sont liés par liaison hydrogène.⁶⁷

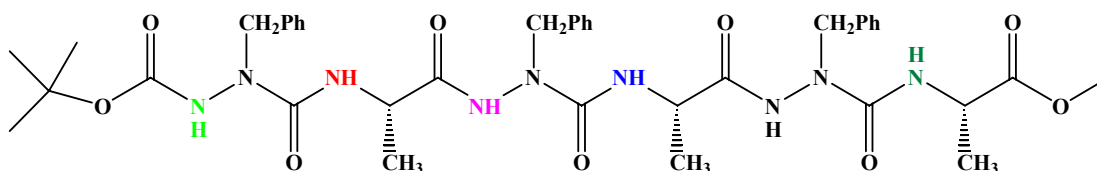
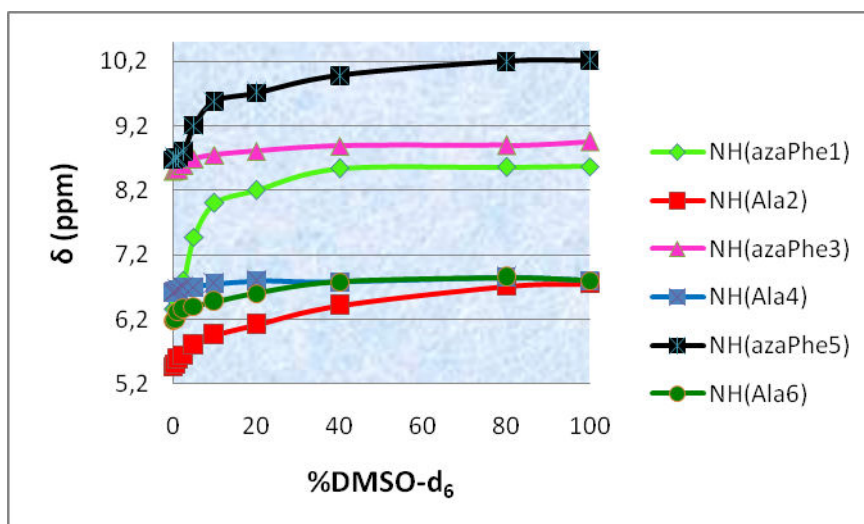


Figure 46: Influence du DMSO-d₆ sur les déplacements chimiques des protons NH de **8**

III.5.1.2 Par spectroscopie infrarouge

Pour obtenir des informations complémentaires sur le réseau de liaisons hydrogène, des études de spectroscopie IR-TF ont été entreprises. Le spectre de l'hexamère **8** a été comparé à celui du tétramère **7** dans la zone des elongations de liaison des groupements NH (Figure 47).

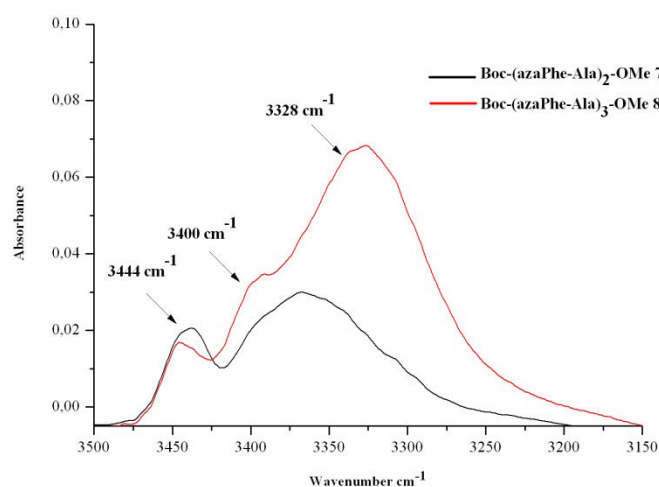


Figure 47: Spectre infrarouge de **7 et **8** dans la zone des elongations de liaison des groupements NH (10⁻² mol.L⁻¹/CDCl₃)**

La seule observation exploitable issue de la comparaison des deux spectres est que les bandes correspondant aux NH liés dans le 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -hexamère se situent à une position de plus faibles fréquences que celles du composé 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -tétramère. Cette observation va dans le sens d'une stabilisation des liaisons hydrogène due à l'élongation de la chaîne.

Concernant les vibreurs CO, la comparaison des spectres entre le tétramère **7** et l'hexamère **8** (Figure 48), indique la présence d'une nouvelle bande vers 1700 cm^{-1} .

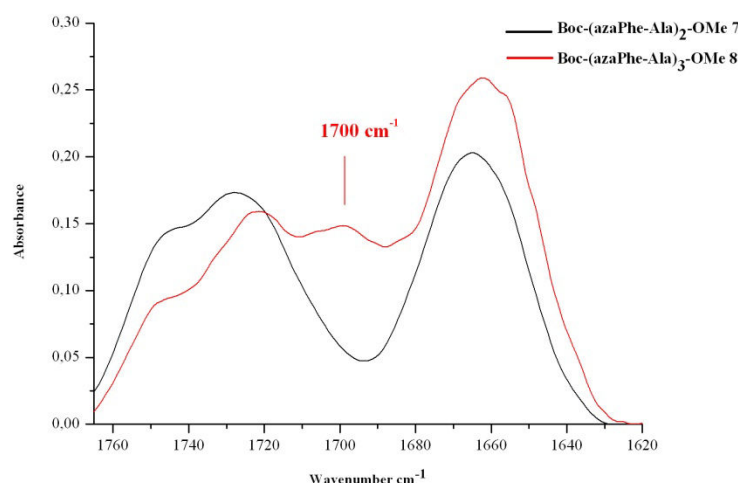


Figure 48: Spectres infrarouges de 7 et 8 dans la zone des vibreurs C=O (10^{-2} mol.L $^{-1}$ /CDCl $_3$)

D'après l'analyse faite sur le tétramère **7** nous pouvons attribuer les bandes situées à 1728 cm^{-1} et à 1715 cm^{-1} respectivement au carbonyle du groupement Boc et au CO libre du résidu Alanine. Le nouvel épaulement observé autour de 1700 cm^{-1} dans le spectre de l'hexamère **8** ne peut correspond qu'à une élongation de CO (Ala) ou/et CO (Boc) lié par liaison hydrogène. Cette bande disparaît bien lorsque le spectre est réalisé dans le DMSO- d_6 (Figure 49) ce qui confirme notre hypothèse.

La zone des vibreurs CO a été étudiée dans le DMSO- d_6 (Figure 49).

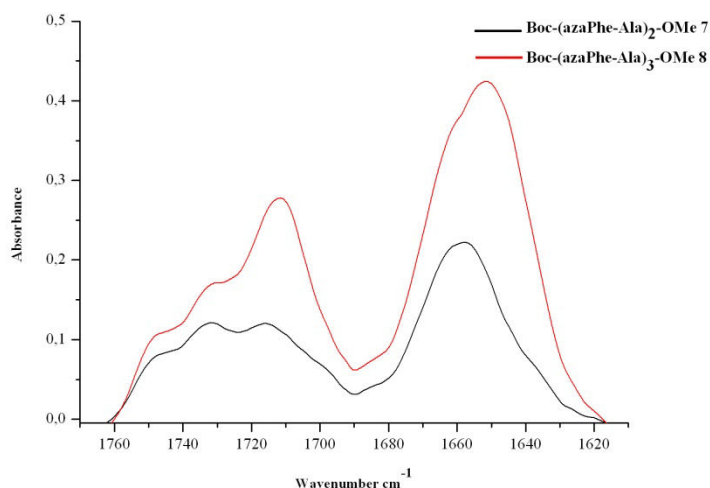


Figure 49 : Spectres infrarouge de 7 et 8 dans la zone des vibreurs C=O dans le DMSO-d₆

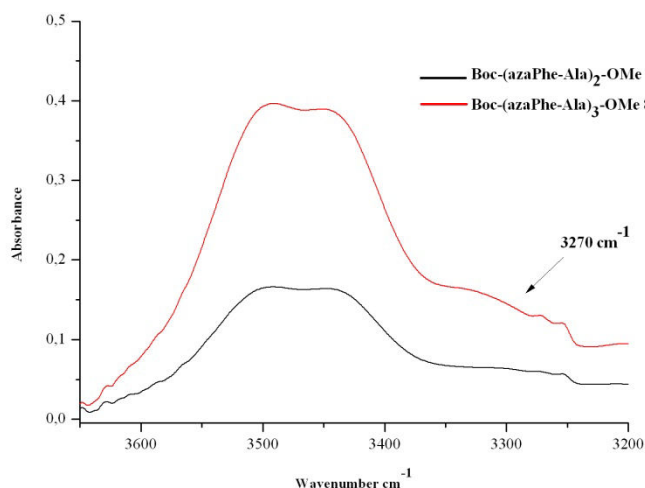


Figure 50 : Spectres infrarouges de 7 et 8 dans la zone des vibreurs NH dans le DMSO-d₆

D'après les spectres des composés **7** et **8** (DMSO-d₆) dans la zone des élongations de liaison des groupements NH, nous pouvons déduire que tous les groupements NH sont sous forme libre ou légèrement lié dans le DMSO (Figure 50).

III.5.1.3 Par résonance magnétique nucléaire 2D en ROESY

Afin d'identifier le type de coude β de notre 1:1-[α /aza]-hexamère **8**, nous avons analysé les couplages dipolaires présents par des expériences ROESY en RMN 2D (Figure 51).

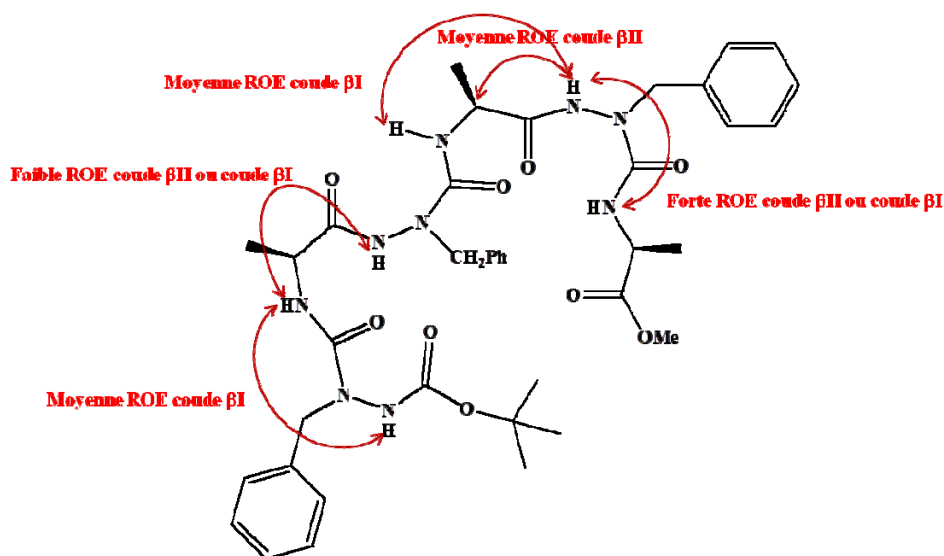
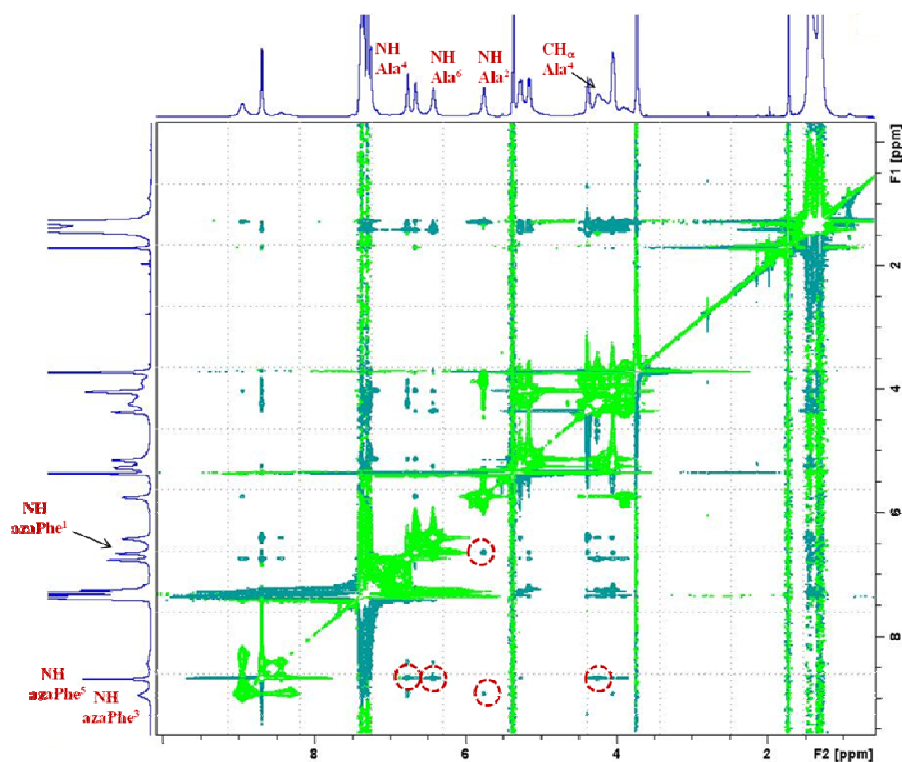


Figure 51: Carte 2D ROESY du 1:1-[α /aza]-hexamère Boc-(azaPhe-Ala)₃-OMe 8 (10^{-3} mol.L⁻¹/CDCl₃)

Dans le premier coude β , nous avons observé que l'interaction dipolaire entre NH (azaPhe¹) et NH (Ala²) est caractéristique d'un coude β I. Comme il n'existe pas de proton α sur le résidu acide azaaminé, nous ne pouvons pas identifier sa conformation en coude β II. Par contre dans le deuxième coude β , les interactions dipolaire

caractéristiques de coude β I et coude β II sont présentes. Concernant ce deuxième coude, il existe donc un équilibre entre coude β I et coude β II.

III.5.2 Conclusion

Lors de cette première partie consacrées aux études structurales, les études RMN et IR nous ont confirmé que des liaisons hydrogène intramoléculaires s'établissaient régulièrement au sein du 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -tétramère **7** sous la forme d'alternance de γ turn et coude β . Les études suivantes ont démontré que cette structuration était maintenue dans l'oligomère 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -hexamère **8**.

Vu qu'il existe plusieurs conformères en solution, il est difficile de déterminer la structure de cette série de foldamères par modélisation moléculaire sous contrainte RMN. De plus, dans l'impossibilité d'obtenir de monocristaux de ces composés, nous n'avons pas pu nous appuyer sur la conformation à l'état solide. Parallèlement à cette étude, nous avons envisagé une autre famille de foldamères, les $\alpha/\text{aza}/\alpha$ notés 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ oligomères. Cette étude avait été initiée par Cécile Abbas-Quinternet.³⁸

III.6 Etudes conformationnelles du 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -trimère **9a**

III.6.1 Rappel

Dans sa thèse,³⁸ Cécile Abbas-Quinternet a montré par diffraction des rayons X que le 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe adoptait une conformation de type coude β II (Figure 52).

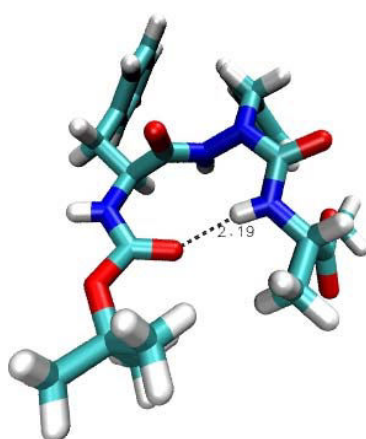


Figure 52 : Structure moléculaire dans le cristal du 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9a**

Elle observe que les distances interatomiques courtes entre sites polaires (distance N....O = 3.048 Å et distance NH....O = 2.19 Å) autorisent une liaison hydrogène intramoléculaire entre la fonction carbonyle CO du groupement Boc et le proton du groupement NH du résidu Alanine. Par ailleurs, l'atome d'azote α du résidu acide azaaminé conserve son caractère légèrement pyramidal avec un écart par rapport au plan, défini par les trois atomes qui lui sont liés, de 0.24(2) Å si bien qu'il adopte une configuration D.

III.6.2 Etudes structurales en solution du 2:1-[α /aza]-trimère 9a

III.6.2.1 Par spectroscopie infrarouge

Pour confirmer la conformation de type coude β en solution, nous avons commencé par l'analyse en spectroscopie infrarouge.³⁸

Les spectres IR des différents trimères ont été réalisés à une concentration de $5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ suffisamment faible pour s'affranchir des liaisons hydrogène intermoléculaires.

On observe une bande à 3370 cm⁻¹ correspondant à la vibration d'élongation de la liaison NH lié. A partir des études par effet du solvant, nous pouvons déduire que la bande à 3370 cm⁻¹ correspond au proton du résidu Alanine. (Figure 53).

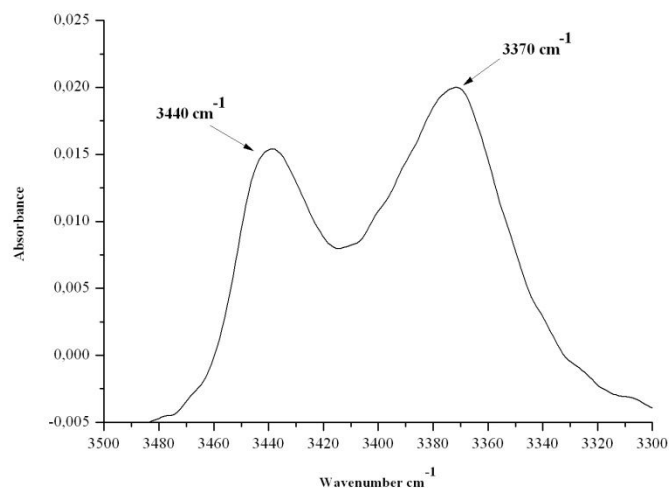


Figure 53 : Spectre infrarouge de 9a dans la zone des élongations de liaison des groupements NH ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹/CDCl₃)

Le traitement après acquisition de déconvolution des bandes dans la zone de vibration des C=O dans le programme OPUS de Bruker a été réalisé d'après la méthode de Levenberg-Maquard⁷⁵ (Figure 54).

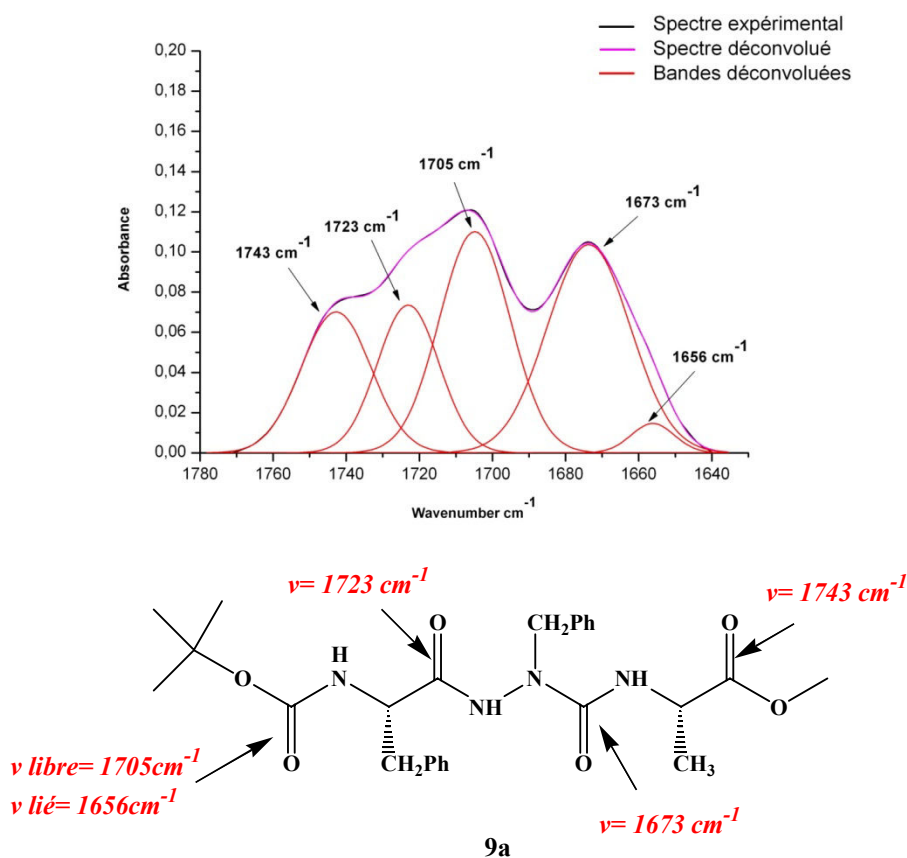


Figure 54 : Déconvolution de la zone des vibrateurs C=O du composé 9a ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹/CDCl₃)

Une bande caractéristique du carbonyle de l'ester méthylique est visible à 1743 cm⁻¹. D'après les attributions effectuées par Michel MARRAUD de notre groupe, le carbonyle du groupement Boc libre est situé entre 1720-1700 cm⁻¹.²⁶ Pour déterminer le nombre d'onde correspond au groupement Boc, nous avons synthétisé l'analogue N-acétylé du composé **9a**.

Les spectres IR du composé **9a** et de son dérivé acétylé sont présentés dans la figure 55.

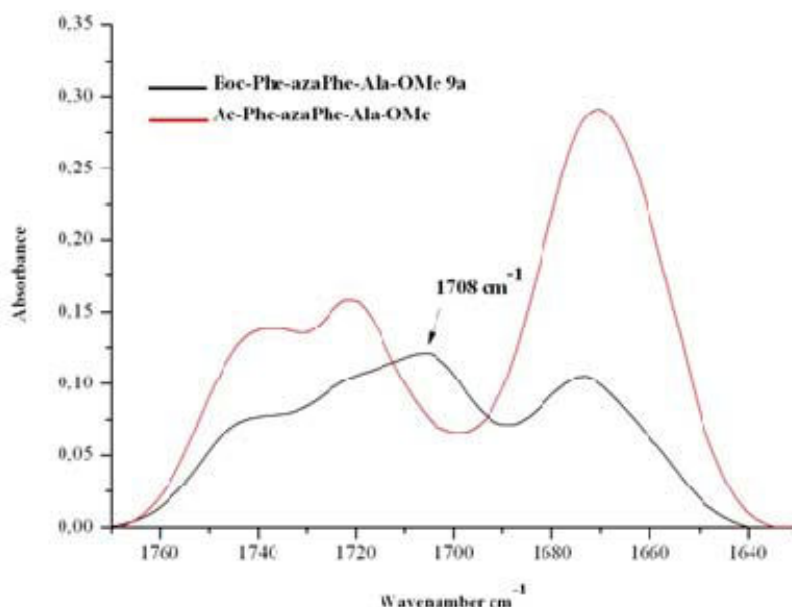


Figure 55: Spectres infrarouges de 9a et de son dérivé acétylé dans la zone des élongations de liaison des groupements CO ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹/CDCl₃)

Nous observons que la bande à 1708 cm^{-1} correspondant au groupement Boc a disparu dans le spectre du composé Ac-Phe-azaPhe-Ala-OMe. Nous pouvons postuler que la bande déconvoluée à 1705 cm^{-1} du spectre de déconvolution du composé **9a** correspond au C=O du groupement Boc. La bande à 1673 cm^{-1} correspondant au CO (azaPhe) est déterminée par le 1:1-[α /aza]-tétramère **7** décrit précédemment. Comme nous savons que le nombre d'onde de CO lié est diminué par rapport à celui de CO libre, nous déduisons que la bande caractéristique du carbonyle lié du groupement Boc est située à 1656 cm^{-1} .

Compte tenu qu'il n'existe que cinq bandes CO et que les bandes CO (Boc libre), CO (Boc lié), CO (Ester), CO (azaPhe) ont déjà été attribuées, nous pouvons déduire que la bande à 1723 cm^{-1} correspond au C=O (Phe).

III.6.2.2 Par résonance magnétique nucléaire

A 308 K, le spectre ROESY du trimère **9a** a été réalisée à une concentration de $3 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ suffisamment faible pour éviter la liaison hydrogène intermoléculaire (Figure 56).

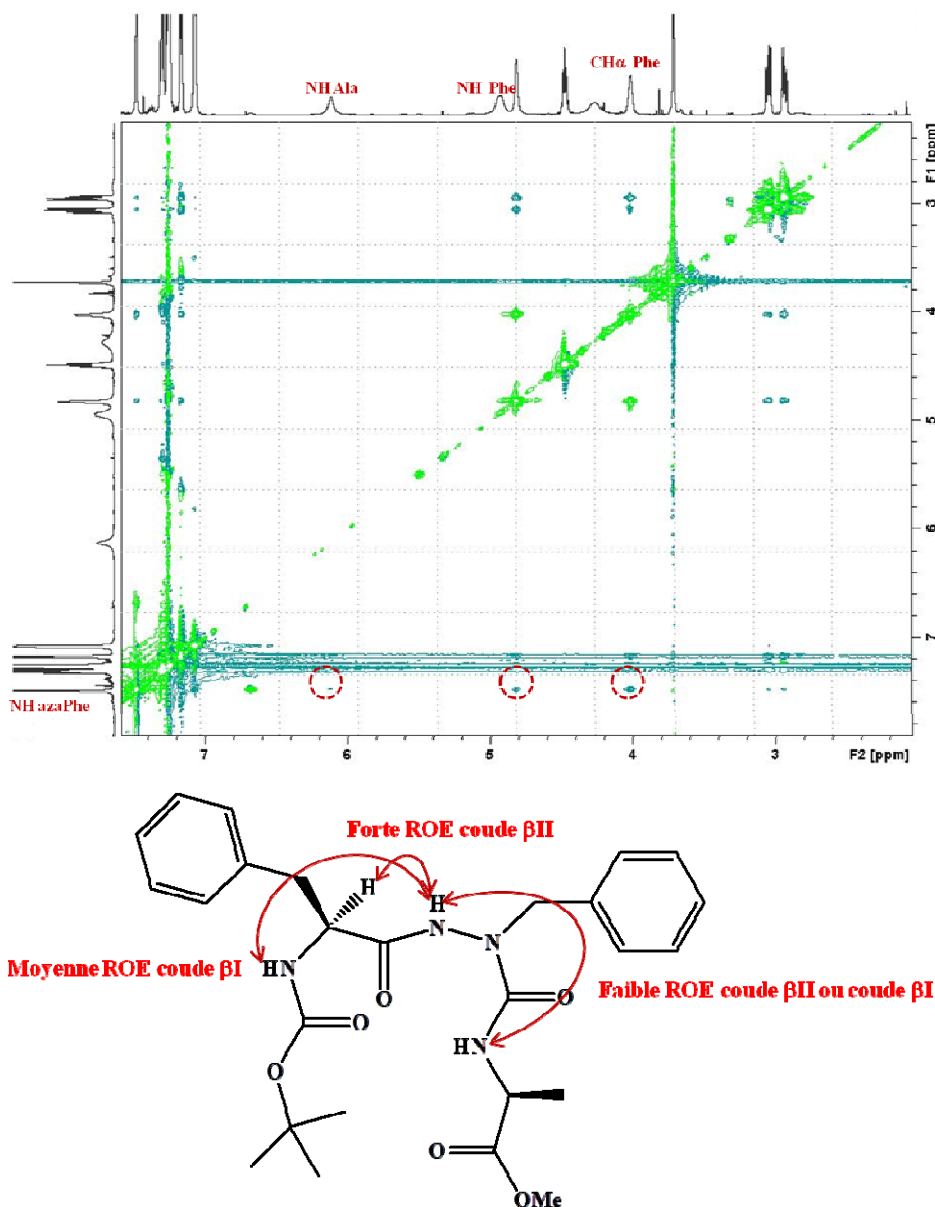


Figure 56 : Carte 2D ROESY du 2:1-[α /aza]-trimère Boc-(Phe-azaPhe-Ala)-OMe **9a ($3 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$ /CDCl $_3$)**

Nous observons que les corrélations ROE sont légèrement différentes de celles trouvées par l'équipe de Lee.²⁰ Une forte corrélation entre le CH $_{\alpha}$ (Phe 1) et le NH (azaPhe 2), et une faible corrélation entre le NH (azaPhe 2) et le NH (Ala 3) semblent indiquer que le trimère **9a** adopte un coude de type II. Cependant, la présence d'une moyenne corrélation entre NH (Phe $_1$) et NH (azaPhe $_2$) suggérerait que le trimère **9a** adopte partiellement un coude de type I à 308 K.

III.6.2.3 Par modélisation moléculaire sous contraintes RMN

Pour vérifier les résultats obtenus par l'équipe de Lee²⁰ (formation en coude β II), nous avons fait des études RMN basées sur les spectre ROESY à 308 K et à une concentration de $3 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ dans CDCl₃. Pour le composé **9a**, des contraintes de distances dérivées des ROE ont été utilisées comme distances maximales de liaison pour des calculs structuraux.

Le calcul des structures a été effectué dans le logiciel AMBER10. Les 23 structures de plus basse énergie du composé **9a** dans le CDCl₃ sont rapportées dans la Figure 57.

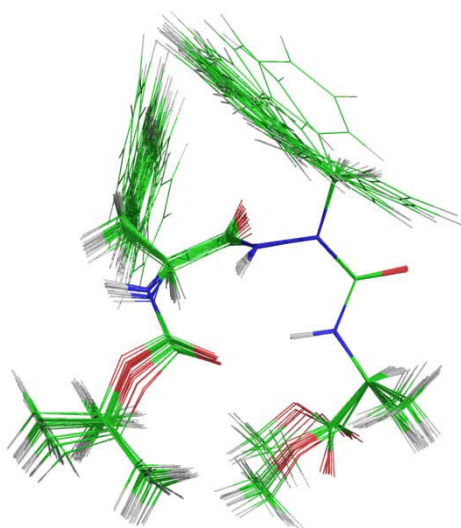


Figure 57: Structure du trimère 9a obtenue par dynamique moléculaire sous contrainte RMN par AMBER 10

Les écarts quadratiques moyens : RMSD (Root-Mean-Square Deviation) calculés sont satisfaisants (RMSD autour de 0,08).

Nous avons observé une liaison hydrogène intramoléculaire entre la fonction carbonyle CO du groupement Boc et le proton du groupement NH du résidu Alanine, refermant ainsi un pseudocycle à 10 atomes de type $i+3 \rightarrow i$ tel un coude β .

Le calcul des angles de torsions nous permet de déterminer le type de repliements (Tableau 7).

	Résidu i+1		Résidu i+2	
	Φ	Ψ	Φ	Ψ
β_I	-60	-30	-90	0
9a	-64.87	-4.57	-93.89	-8.18

Tableau 7: Angles de torsions du 2:1-[α /aza]-trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9a**

D'après les angles de torsion aux positions i+1 et i+2, nous avons déterminé par modélisation que le trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9a** est sous la seule forme β_I . Ce résultat est différent de celui trouvé par l'équipe de Lee²⁰ qui a trouvé cette molécule sous forme du type coude β_{II} . Vu qu'il existe un équilibre entre les coudes β_I et β_{II} et que les conditions de manipulation RMN, surtout la température d'analyse sont différentes, la structure obtenue est parfaitement logique.

III.7 Etudes conformationnelles des 2:1-[α /aza]-trimères Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)-OMe **9b**

III.7.1 Etudes structurales en solution des 2:1-[α /aza]-trimères Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)-OMe **9b**

III.7.1.1 Influence du DMSO- d_6

Par RMN du proton, nous avons étudié la sensibilité du déplacement chimique des protons des groupements NH du trimère **9b** en fonction de la composition du solvant (CDCl₃/DMSO- d_6) (Figure 58).

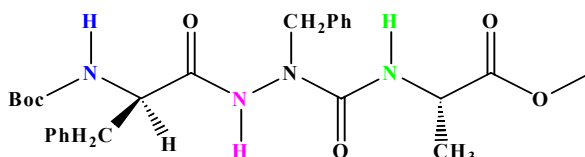
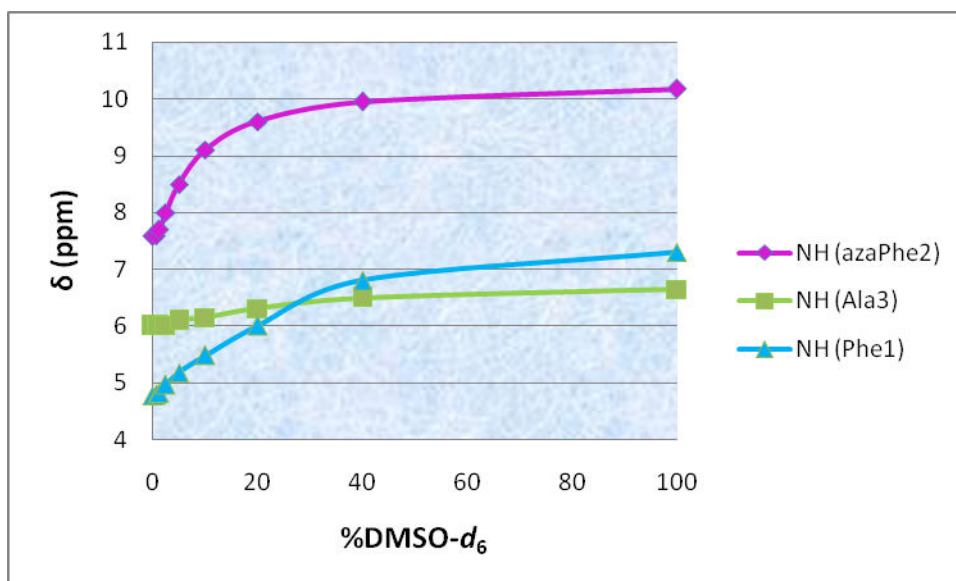


Figure 58 : Evolution du déplacement chimique des protons NH **9b en fonction d'une quantité croissante de DMSO-d₆ (0-100%) / $2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹**

Ces résultats indiquent que le proton NH (Ala) de la molécule **9b** est lié par liaison hydrogène intramoléculaire car il est peu sensible à l'ajout de DMSO-d₆.

III.7.1.2 Par spectroscopie infrarouge

Dans les mêmes conditions que pour le composé **9a** ($c = 5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹), nous avons étudié le trimère Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)-OMe **9b** par spectroscopie infrarouge (Figure 59).

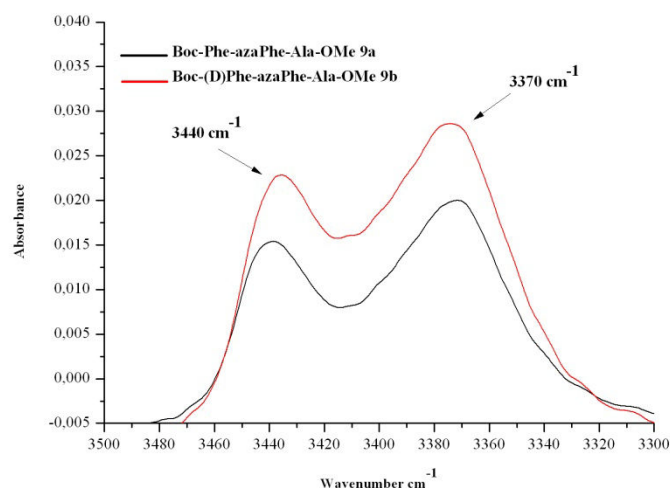


Figure 59: Spectre infrarouge de 9a et 9b dans la zone des élongations de liaison des groupements NH ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ /CDCl₃)

Les deux spectres sont identiques. Nous n'avons pas remarqué de variation de la structure par changement de configuration absolue à la position i+1 sur le spectre IR dans la zone des élongations de liaison des groupements NH.

Le spectre du composé **9b** a été comparé avec celui de **9a** dans la zone de vibration des CO (Figure 60).

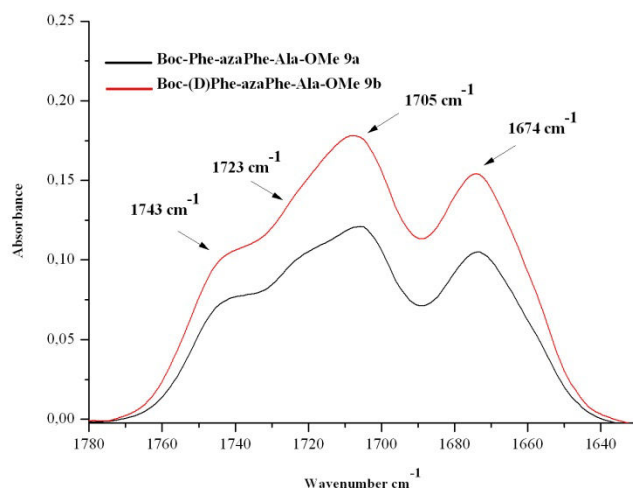


Figure 60 : Déconvolution de la zone des vibrateurs C=O du composés 9a et 9b ($5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ /CDCl₃)

Les bandes carbonyles sont identiques à celle du trimère **9a**. Nous supposons que le composé **9b** présente aussi une conformation de type coude β . Le changement de la configuration sur l'acide aminé influence peu la conformation du 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -trimère selon les interprétations des spectres IR.

III.7.1.3 Par résonance magnétique nucléaire

Le spectre ROE de trimère **9b** a aussi été réalisé à une concentration de $3 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹, mais on a augmenté légèrement la température jusqu'à 308 K pour avoir une meilleure résolution du spectre (Figure 61).

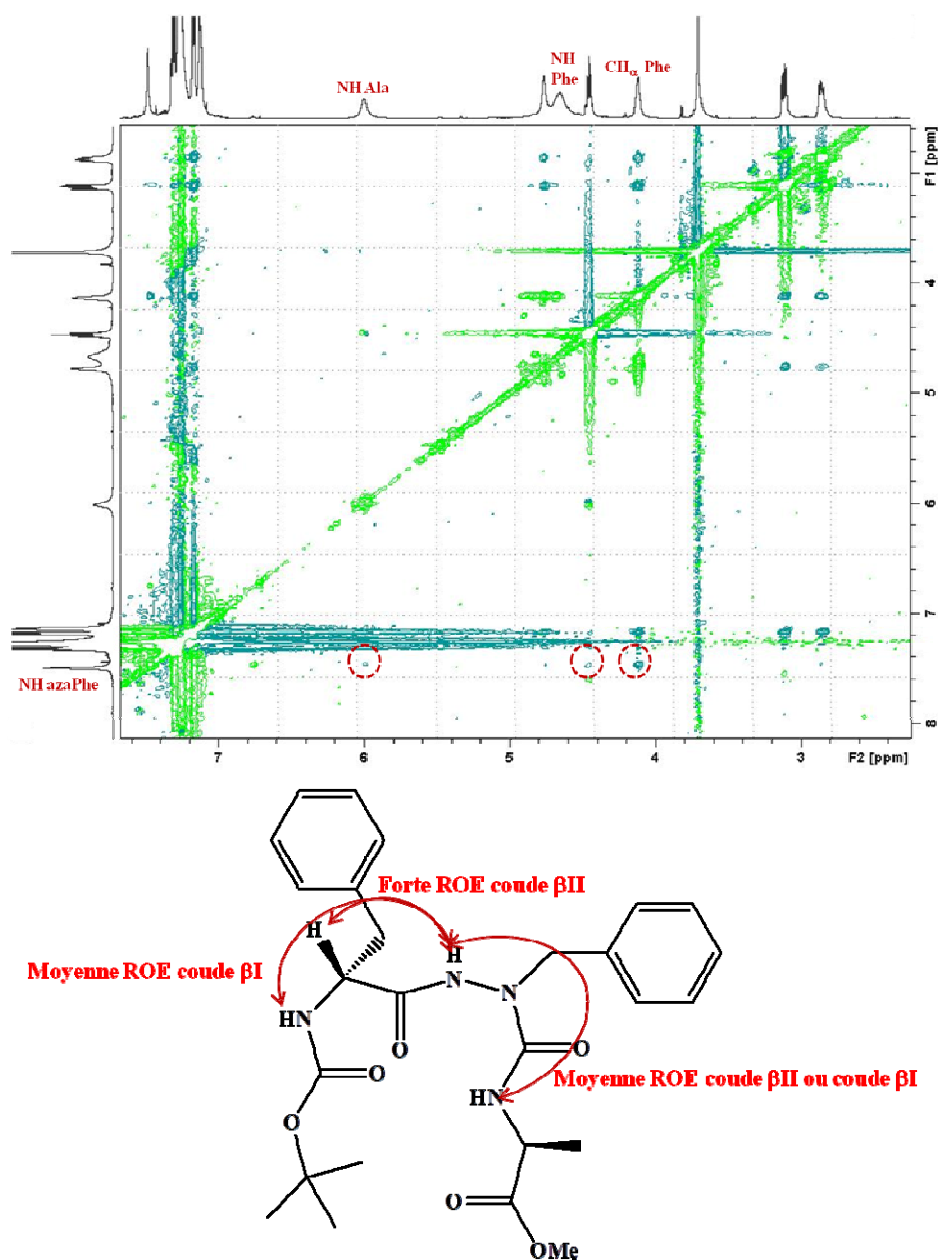


Figure 61: Carte 2D ROESY du 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -trimère Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)-OMe **9b** ($3 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ /CDCl₃)

Le spectre ROE de trimère **9b** est similaire à celui de **9a** mais avec des intensités des corrélations légèrement différentes, comme par exemple celle entre le NH (azaPhe²) et le NH (Ala³). L'équilibre entre la conformation coude β I et coude β II existe aussi dans le trimère hétérochiral. Selon les intensités des corrélations, la conformation dominante va être déterminée par modélisation moléculaire sous contraintes RMN.

III.7.1.4 Par modélisation moléculaire sous contraintes RMN

Pour recueillir des informations supplémentaires sur la conformation des composés **9b** en solution, nous avons fait des études de modélisation basées sur les données du spectre ROESY. Des contraintes de distances dérivées des ROE ont été utilisées comme distances maximales de liaison pour des calculs structuraux.

La structure du pseudotripeptide **9b** a été modélisée par dynamique moléculaire en prenant en compte les corrélations ROE (Figure 62).

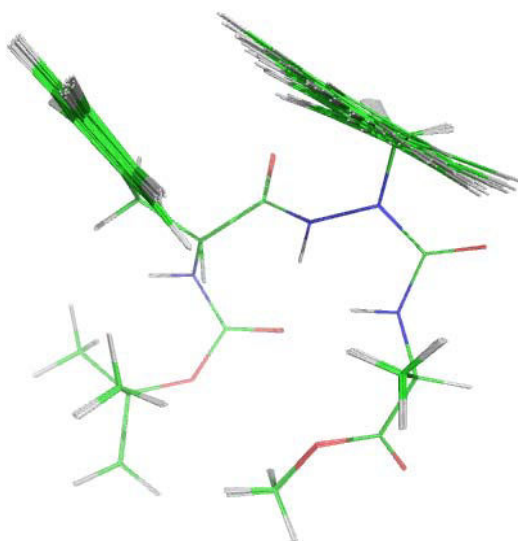


Figure 62 : Structure du trimère 9b obtenue par dynamique moléculaire sous contrainte RMN par AMBER 10

Les écarts quadratiques moyens : RMSD (Root-Mean-Square Deviation) calculés sont autour de 0.01. Le trimère Boc-Phe(D)-azaPhe-Ala-OMe **9b** est sous forme de coude β II' d'après le calcul des angles de torsions (Tableau 8) par formation d'une liaison hydrogène entre NH (Ala) et CO (Boc).

	Résidu i+1		Résidu i+2	
	Φ	Ψ	Φ	Ψ
$\beta_{II'}$	60	-120	-80	0
9b	77.59	-113.42	-116.01	11.25

Tableau 8: Angles de torsions du 2:1-[α /aza]-trimère Boc-Phe(D)-azaPhe-Ala-OMe **9b**

Les principaux types de repliements β sont définis par la valeur moyenne des angles de torsions dans les résidus i+1 et i+2. Les différentes possibilités de stéréochimie et de conformation, pour les tétrapeptides, sont les suivantes : LLLL (type coude I ou III), LDDL (type coude I'), LLDL (type coude II) et LDLL (type coude II'). Le type coude I et I' et le type coude II et II' dépendent de l'angle dièdre ϕ du résidu à la position milieu.

Dans notre cas, nous faisons varier la configuration absolue du résidu i+1 en considérant le groupement Boc comme le premier résidu pour le trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9**, nous avons aussi observé un changement de type coude II en type coude II'.

III.7.2 Conclusion

Nous avons démontré que les trimères **9** présentent une structuration similaire en coude bêta et ce quelle que soit la configuration absolue du carbone asymétrique du résidu i. Seul le type de coude β dépend de la configuration absolue des carbones asymétriques des résidus acides α aminés engagés dans la position i+1. Pour le tripeptide Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9a**, il existe un équilibre entre le type coude I et le type coude II. Si on change la configuration absolue du carbone asymétrique du résidu phénylalanine, la conformation de cette molécule va devenir sa conformation inverse (type coude I vers I' ou type coude II vers II')

III.8 Etudes conformationnelles du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral **10a**

III.8.1 Rappel

Dans sa thèse,³⁸ Cécile Abbas-Quinternet a montré, par diffraction des rayons X, la formation de deux coudes au sein du 2:1-[α /aza]-hexamère **10a** (Figure 63).

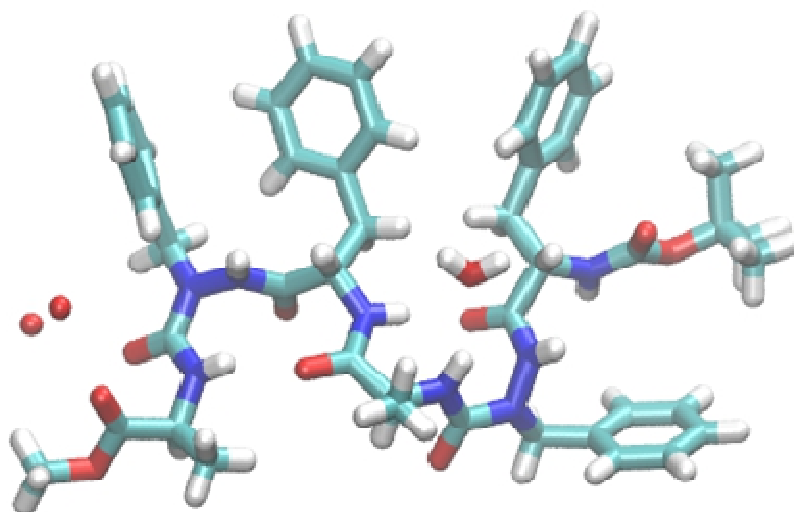


Figure 63 : Structure moléculaire dans le cristal du 2:1-[α /aza]-hexamère Boc-(Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe **10a**

Selon le calcul des angles de torsions, il est possible de déterminer les types de repliements qui prennent place dans l'hexamère **10a** (Tableau 9).

	Résidu i+1		Résidu i+2			Résidu i+3		Résidu i+4	
	ϕ	ψ	ϕ	ψ		ϕ	ψ	ϕ	ψ
β_I	-60	30	-90	0	β_{II}	-60	120	80	0
10a	-70.14	-26.19	-108.98	-10.38		-58.20	125.03	80.85	10.46

Tableau 9 : Angles de torsions du 2 :1-[α /aza]-hexamère Boc-(Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe **10a**

La molécule présente deux coudes, le premier, du côté *N*-terminal est proche d'un coude de type β_I , et le deuxième, du côté *C*-terminal est le même que celui observé dans la structure cristalline du 2:1-[α /aza]-trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9a**, un pseudocycle à 10 atomes de type $i+3 \rightarrow i$ tel un coude β_{II} . Il est à noter que des molécules d'eau ont co-cristallisé avec l'hexamère **10a** dont l'une est impliquée dans une liaison hydrogène avec le NH du résidu Ala³.

III.8.2 Etudes structurales en solution du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral **10a**

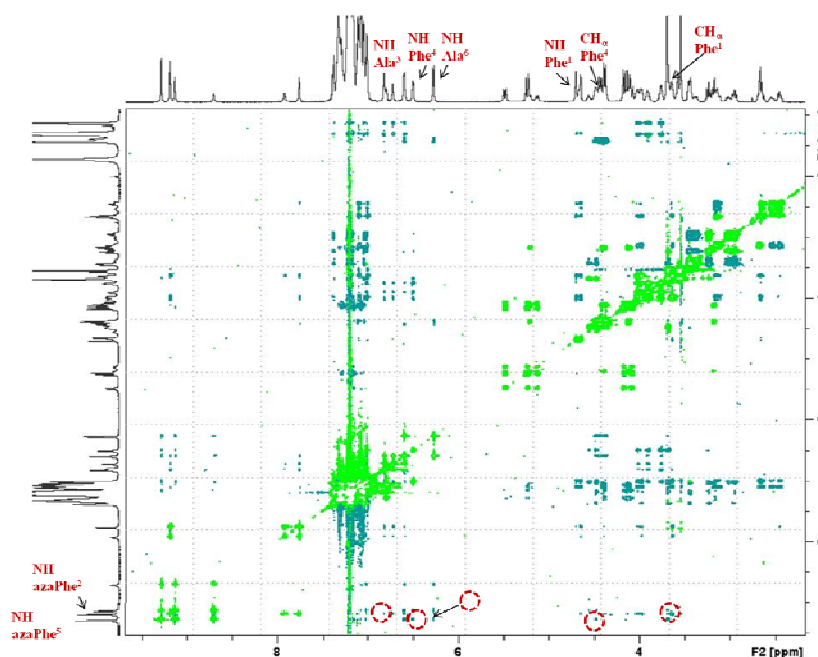
III.8.2.1 Influence du DMSO- d_6

L'hexamère Boc-(Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe **10a** a été étudié dans des mélanges CD₃CN/DMSO- d_6 à une concentration molaire de 10^{-2} mol.L⁻¹ par Cécile Abbas-Quinternet.³⁸ Elle a observé que seuls les protons des groupements NH des résidus alanine sont liés par liaisons hydrogène intramoléculaires car leurs déplacements chimiques ne varient pas avec l'ajout de DMSO- d_6 dans le milieu. Ainsi, nous pouvions envisager que le trimère **9a** et l'hexamère **10a** présentent une structuration similaire impliquant les NH des résidus Ala dans un réseau de liaisons hydrogène formant un coude β II. Afin d'étayer cette hypothèse nous avons réalisé d'autres études complémentaires.

III.8.2.2 Par résonance magnétique nucléaire 2D

Le spectre ROESY a été réalisé sur l'hexamère Boc-(Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe **10a** à une concentration $c = 2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ dans CDCl₃ et à 253 K. La résolution du spectre est meilleure en abaissant la température. Nous avons donc choisi la température 253 K pour faire nos analyses en 2D (Figure 64).

Nous avons observé que trois conformères coexistent en solution. De façon à déterminer le conformère majoritaire et la nature du type de coude β , nous avons approfondi nos études par RMN en relevant les corrélations ROE intéressantes par spectroscopie RMN à deux dimensions.



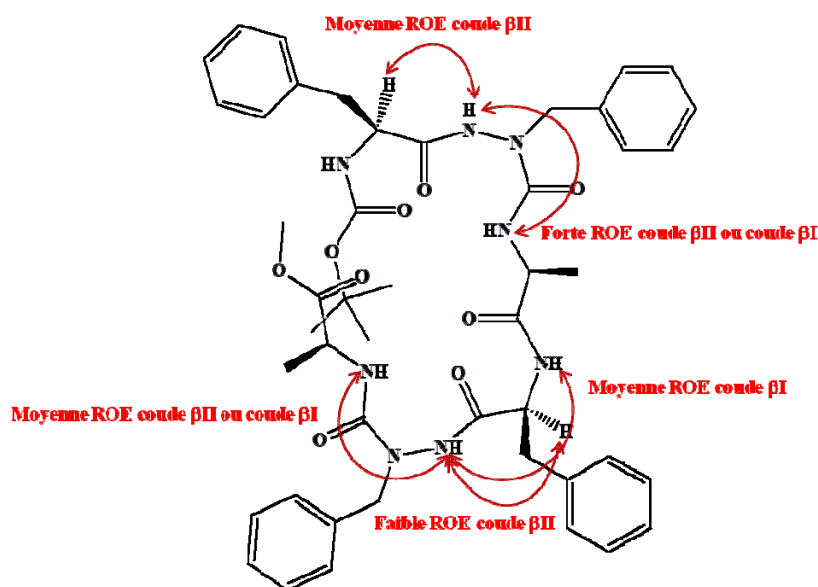


Figure 64 : Carte 2D ROESY du 2:1-[α /aza]-hexamère Boc-(Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe **10a ($2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ / CDCl₃ à 253 K)**

Nous avons observé des interactions dipolaires caractéristiques du coude β II pour la première séquence de coude β et des corrélations ROE caractéristique à la fois du coude β I et du coude β II pour la deuxième séquence. Les deux types de coudes β au sein de la deuxième séquence sont en équilibre comme cela a été observé dans le trimère **9a**.

III.8.2.3 Par modélisation moléculaire sous contraintes RMN

Les données ROESY ont servi de contraintes pour modéliser la conformation de **10a** en solution. La structure du conformère majoritaire a été déterminée par dynamique moléculaire en prenant en compte les corrélations ROE.

Le résultat de dynamique moléculaire sous contrainte RMN montre, du côté *N*-terminal, que le proton NH Ala³ est engagé dans une liaison hydrogène intramoléculaire avec le groupement carbonyle du groupement Boc fermant un pseudocycle en C₁₀ (Figure 65).³⁸ Ce résultat est en accord avec le coude β observé en solution et à l'état solide dans le trimère **9a**.

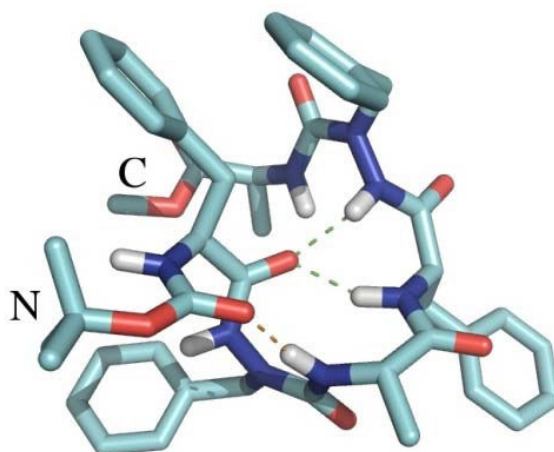


Figure 65: Conformation principale du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral **10a obtenue par dynamique moléculaire sous contrainte RMN par AMBER 10**

Du côté *C*-terminal, l'hexamère **10a** apparaît plus mobile et existe sous plusieurs conformations. La principale est stabilisée par une liaison hydrogène formée entre le proton NH (Phe⁴) et le C=O (Phe¹) renfermant un pseudocycle en C₁₀ ou par une liaison hydrogène établie entre le proton NH (azaPhe⁵) et le C=O (Phe¹) fermant un pseudocycle en C₁₃ (Figure 66).

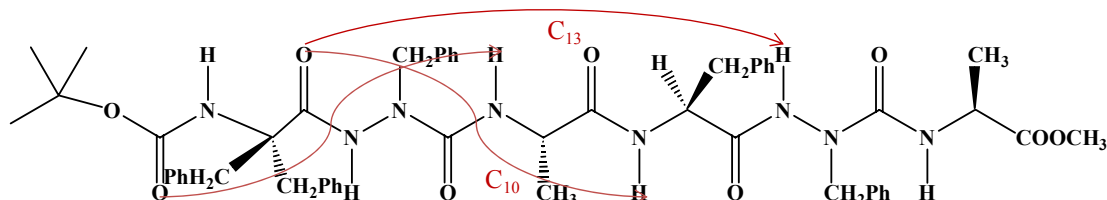


Figure 66 : Liaisons hydrogène intramoléculaires s'établissent au sein du 2:1-[α /aza]-hexamères homochiral **10a**

Ces deux liaisons hydrogènes intramoléculaires n'ont cependant pas été détectées lors des études RMN dans les mélanges de solvants (CDCl₃/DMSO-*d*₆).

La grande différence observée entre les études par RMN et la diffraction des RX repose sur la position de l'extrémité *C*-terminale. L'oligomère **10a** adopte, à l'état solide, une conformation plus étendue alors qu'en solution les extrémités *N*- et *C*-terminales sont proches l'une de l'autre. Cette différence peut-être expliquée par la présence de trois molécules d'eau qui co-cristallisent avec l'hexamère **10a**.

III.9 Etudes conformationnelles du 2:1-[α /aza]-hexamère hétérochiral **10b**

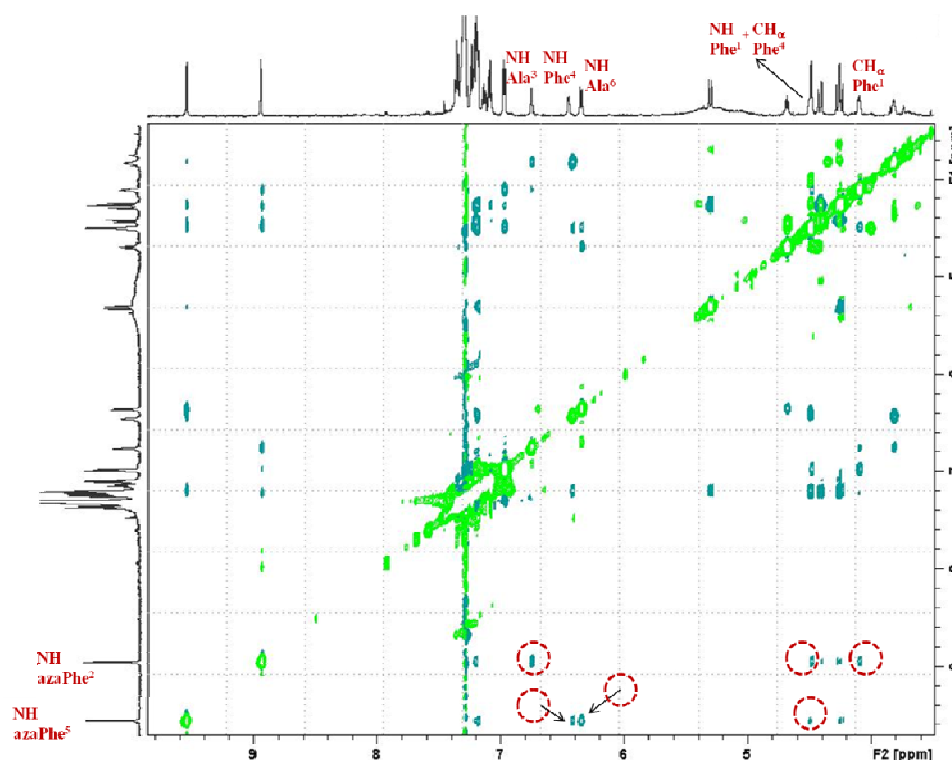
III.9.1 Etudes structurales en solution du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral **10b**

III.9.1.1 Influence du DMSO- d_6

L'hexamère Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe **10b** a été étudié dans des mélanges CDCl₃/DMSO- d_6 à une concentration molaire de 10^{-2} mol.L⁻¹. Les protons des groupements NH des résidus alanine sont liés par liaisons hydrogène intramoléculaires car ils sont peu sensibles à l'ajout de DMSO- d_6 . Selon les résultats obtenus par la comparaison entre le trimère homochiral **7a** et le trimère hétérochiral **7b**, nous savons que le changement de configuration du résidu $i+1$ va conduire à une inversion de la conformation coude β . Donc nous pouvons imaginer qu'une structuration de coude β II' régulière prend place au sein de nos hexamères hétérochiraux puisque dans le trimère hétérochiral correspondant le proton du groupement NH de l'alanine est lié intramoléculairement pour former un coude β II'.

III.9.1.2 Par résonance magnétique nucléaire 2D

Afin de déterminer le type de coude β au sein de notre hexamère hétérochiral, comme cela a été observé par les études RMN 2D dans l'hexamère homochiral, nous avons analysé de la même manière les couplages dipolaires présents par des expériences ROESY en RMN 2D (Figure 67).



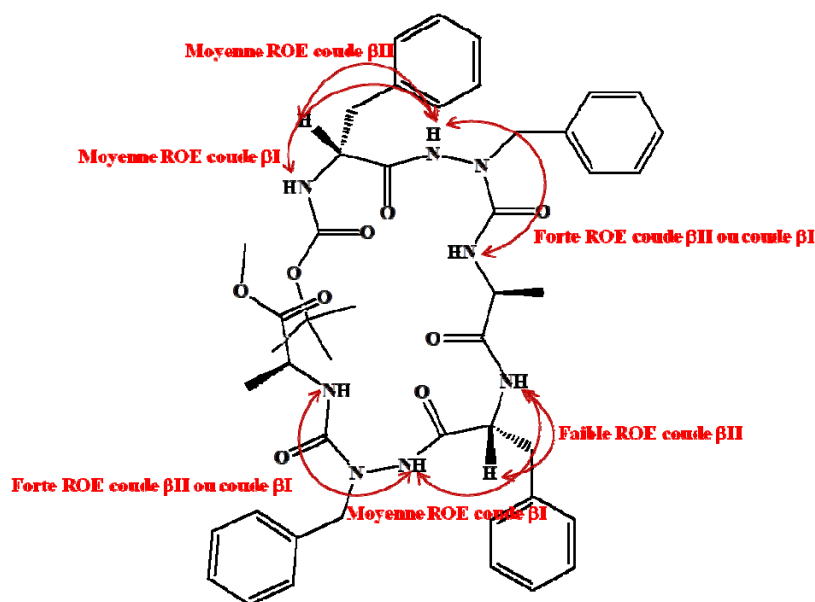


Figure 67: Carte 2D ROESY du 2:1-[α/aza]-hexamère Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe **10b** ($2 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}/\text{CDCl}_3$ à 253 K)

Nous observons les mêmes interactions dipolaires caractéristiques des coude β I et β II comme dans la deuxième séquence de coude β de l'hexamère homochiral **10a** sauf que les intensités sont légèrement différentes. Cela signifie qu'il existe également un équilibre entre coude β I et coude β II dans cette molécule. Comme le changement de configuration du résidu $i+1$ va conduire à une inversion de la conformation du coude β , l'hexamère hétérochiral **10b** présente donc un équilibre entre coude β I' et coude β II'.

III.9.1.3 Par modélisation moléculaire sous contraintes RMN

La structure de l'hexamère hétérochiral **10b** a été modélisée par dynamique moléculaire en prenant en compte les corrélations ROE.

Tout comme l'oligomère **10a**, l'hexamère **10b** présente un coude β du côté *N*-terminal stabilisé par une liaison hydrogène établie entre le C=O du groupement Boc et le proton amidique du résidu Ala³ (Figure 68).

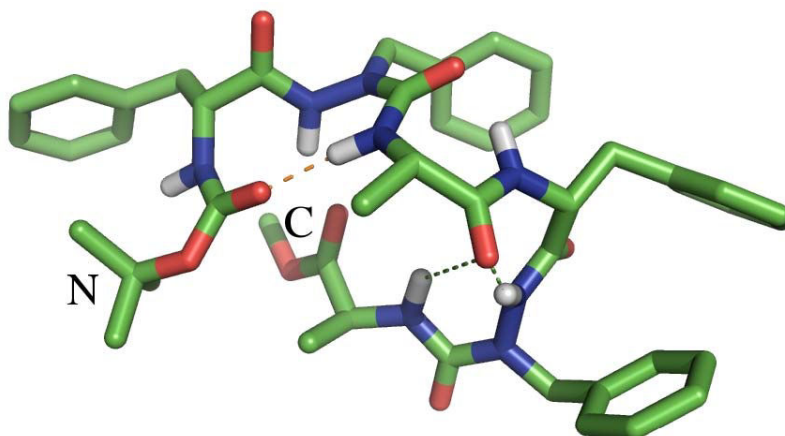


Figure 68: Conformation principale du 2:1-[α /aza]-hexamère hétérochiral 10b obtenue par dynamique moléculaire sous contrainte RMN par AMBER 10

La conformation principale est le siège d'un coude, dans la partie *C*-terminale, stabilisé par une liaison hydrogène entre le C=O (Ala³) et le proton NH du résidu azaPhe⁵ ou du résidu Ala⁶ renfermant respectivement un pseudocycle en C₇ ou C₁₀ (Figure 69).

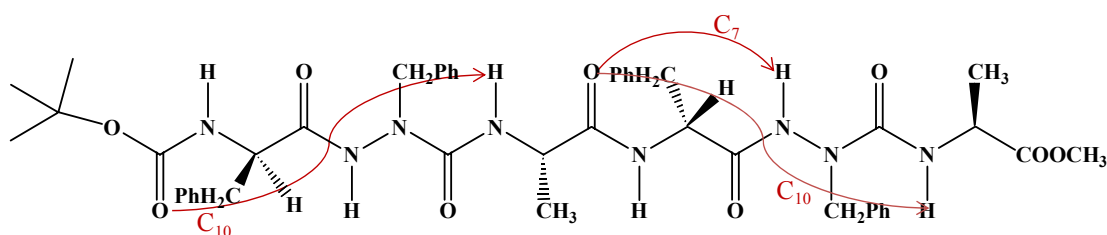


Figure 69: Liaisons hydrogène intramoléculaires s'établissant au sein du 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral 10b

Il est à noter que la liaison hydrogène intramoléculaire impliquant le proton du NH (azaPhe⁵) n'a pas été mise en évidence lors de l'étude en mélange de solvants (CDCl₃/DMSO-*d*₆).

III.9.2 Conclusion :

Lors de ces premières études structurales, les analyses RMN, IR, RX et modélisation moléculaire nous ont affirmés que des liaisons hydrogène intramoléculaires s'établissaient au sein des trimères **9a** et **9b** sous la forme d'un coude β . Les études suivantes ont démontré que cette structuration était maintenue régulièrement, du côté *N*-terminal, dans les 2:1-[α /aza]-hexamères en solution, que l'on soit en série hétéro-**10b** ou homochirale **10a**.

Des liaisons hydrogène intramoléculaires, observées par modélisation, ne sont pas détectées lors de l'étude en mélange de solvants. La température peut en être la cause. Il est impossible d'utiliser le DMSO- d_6 à 253 K en raison de la solidification de celui-ci à cette température.

La présence des deux coudes en solution, rapprochant les extrémités *N*- et *C*-terminales, donne une structure très favorable pour la réaction de cyclisation des oligomères.

Chapitre II :
Synthèse et études structurales de nouveaux
1:1-[α /aza]-oligomères cycliques et des
2:1-[α /aza]-oligomères cycliques

IV Introduction

Durant ces dernières années, des efforts considérables ont été consacrés à la préparation de matériaux nanotubulaires en raison de leurs nombreuses applications possibles surtout dans le domaine biologique. La structure creuse tubulaire permet de conduire des informations chimiques sous la forme de canaux ioniques transmembranaires⁷⁶ et de fournir des chambres de réaction fermées tel que démontré par exemple pour le repliement par les protéines chaperonnes^{77,78} et la dégradation des protéines par certaines enzymes.^{79,80}

Des grands progrès ont été faits au cours des dernières décennies dans le domaine des nanostructures formées par des liaisons covalentes mais une attention toute particulière a été portée sur l'obtention de nanotubes formés par des liaisons non covalentes en raison de leur avantages significatifs, les plus remarquables étant une efficacité élevée de leur préparation, la simplicité et le contrôle des synthèses des unités de base ainsi que de leur auto-organisation.⁷

Plusieurs approches sont possibles pour la préparation de ces nanotubes qui conduisent finalement à une grande variété de structures différentes (Figure 70) :

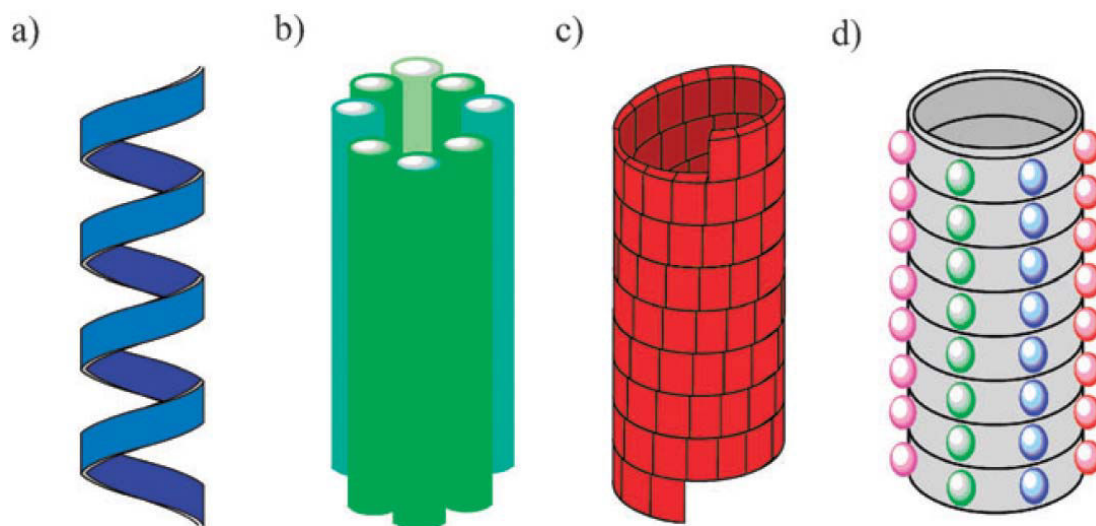


Figure 70 : Quatre arrangements spatiaux possibles pour les molécules à structure tubulaire : a) hélice, b) faisceau de tiges, c) assemblage en hélice de briques moléculaires d) empilement de macrocycles

Les nanotubes formés par l'empilement de macrocycles sont particulièrement intéressants car il est facile de contrôler précisément le diamètre des nanotubes qui est déterminé uniquement par la taille des cycles.

Les cyclopeptides ont souvent été choisis comme unité de base pour la formation de nanotubes en raison de leur simplicité de synthèse.^{5,81} D'autres structures plus complexes impliquant l'utilisation de motifs pseudopeptidiques ont ensuite été envisagées. En 1972 Hassall et ses collègues⁸² prédisaient que les tétrapeptides cycliques composés d'une alternance de α - et β - acides aminés s'empilaient par le biais de liaisons hydrogène pour former des structures cylindriques creuses. En 1974, P. De Santis et al démontrent, que des peptides comprenant un même nombre d'acides α -aminés, alternant entre les configurations D et L, devaient favorablement former des cyclopeptides (avec toutes les chaînes latérales orientées vers l'extérieur du cycle).⁸³ Les premières tentatives expérimentales n'ont pas abouties en raison de la mauvaise solubilité des peptides.⁸⁴ En 1989, les études de diffraction des rayons X réalisées par Lorenzi sur les hexapeptides cyclo-[-(L-Phe-D-Phe)₃-] et cyclo-[-(L-Val-D-Val)₃-] n'ont révélé aucune association entre les cycles, chaque peptide étant faiblement lié par liaisons hydrogène à diverses molécules de solvant cocrystallisées.⁸⁵ Cependant, en 1993, Ghadiri et ses collègues ont démontré que ces mêmes cyclopeptides pouvaient s'associer en nanotubes dans des conditions de pH contrôlées (Figure 71).⁷

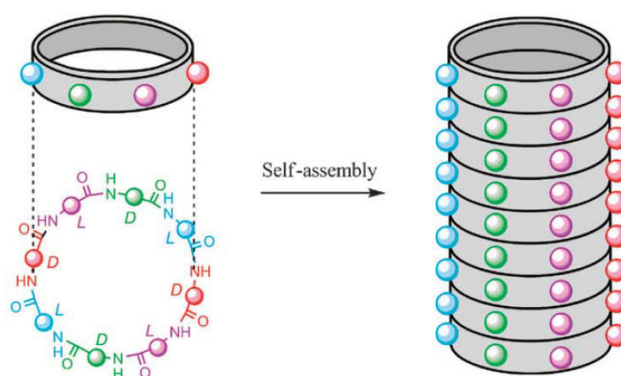


Figure 71 : Nanotube formé par l'assemblage de D, L peptides cycliques

L'analyse structurale montre que la formation de nanotubes dépend de deux facteurs conformationnels importants. Ainsi, les cycles unitaires doivent adopter une conformation plane orientant toutes les chaînes latérales vers l'extérieur du cycle et les groupements amides de la chaîne principale doivent quant à eux être orientés perpendiculairement au plan du cycle.

Ce type de nanotube présente deux avantages essentiels: d'une part, le diamètre est facilement contrôlable et dépend du nombre de résidus acides aminés impliqué dans chaque cycle et, d'autre part, les propriétés de la surface extérieure du nanotube

peuvent facilement être modifiées en faisant varier la nature des chaînes latérales des acides aminés constitutifs. De nombreux nanotubes de ce type ont trouvé des applications dans des domaines tels que les biosenseurs,⁸⁶ la pharmacologie,^{87,88} les canaux ioniques⁸⁹⁻⁹¹ et les biomatériaux.⁹²

V Bibliographie

V.1 Les nanotubes de M. Reza Ghadiri

En 1993, le premier nanotube peptidique bien caractérisé a été préparé par association de l'octapeptide cyclique $[(L\text{-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala})_2]^{-7}$ qui a été choisi pour conférer une bonne solubilité dans une solution aqueuse basique. L'acidification contrôlée produit des agrégats microcristallins qui ont été caractérisés par microscopie électronique, diffraction d'électrons, spectroscopie IR et modélisation. Ces analyses établissent de façon convaincante la structure en nanotubes dans laquelle les unités cycliques en feuillets β antiparallèles sont empilées par liaisons hydrogène pour former des tubes creux d'un diamètre intérieur de 7,5Å et une distance entre les sous-unités cycliques de 4,73Å (Figure 72).

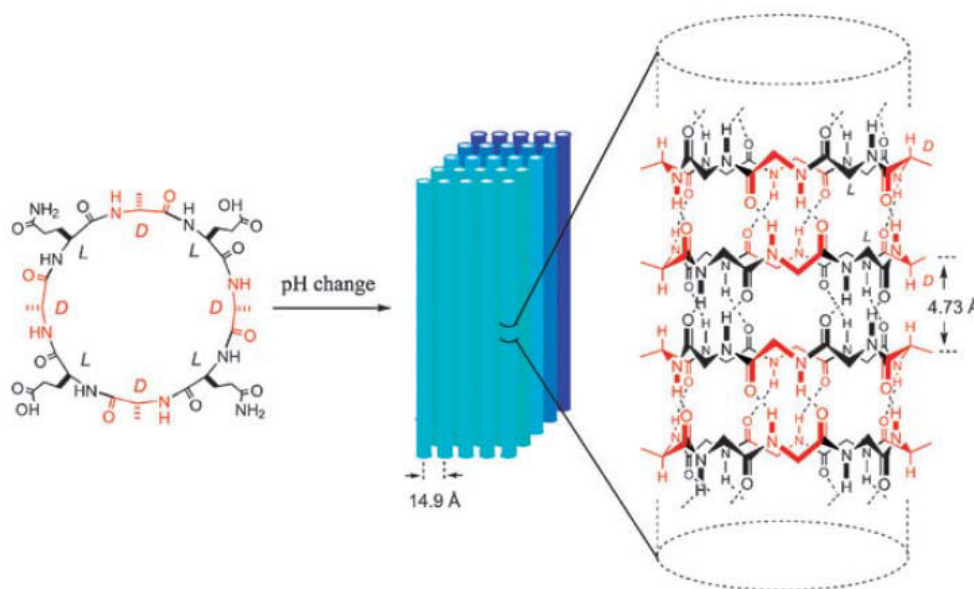


Figure 72 : La variation du pH pour la préparation d'agrégats microcristallins de nanotubes composés du cyclo- $[(L\text{-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala})_2]$

Dans le but d'améliorer la caractérisation des nanotubes, l'équipe de Ghadiri a également préparé en phase solide des nanotubes composés de plusieurs D,

L- α -octapeptides cycliques non chargés et a étudié les interactions hydrophobes intertubulaires sur la formation du cristal.⁹³ Ils ont aussi démontré qu'un cycle plus grand $[-(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala)_3-]$ peut former un nanotube d'un diamètre de 13 Å.⁹⁴

Afin d'obtenir une meilleure compréhension sur des interactions d'empilement, des motifs dimère ont été obtenus par empilement de deux cycles comportant des acides aminés D-N-alkylés (cyclo-[(L-Phe-D-MeN-Ala)₄-]) (Figure 73).

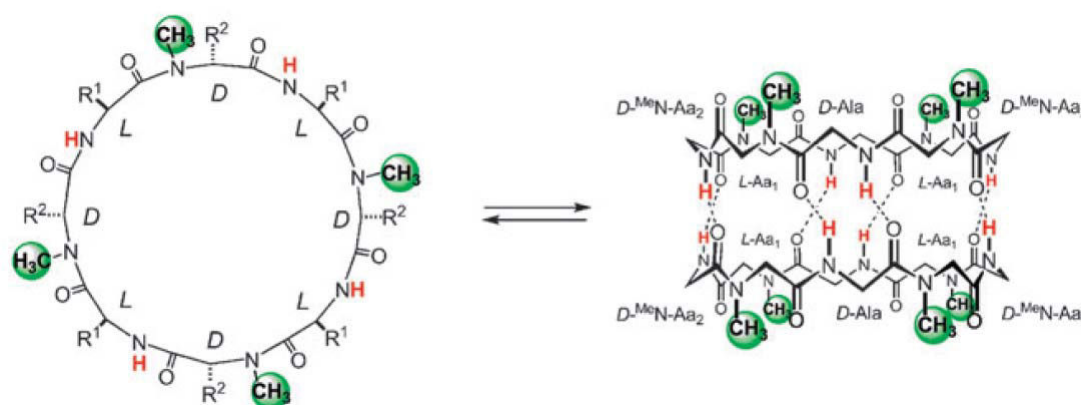


Figure 73 : Représentation schématique du feuillet β antiparallèle d'un dimère composé de sous-unités D, L- α -octapeptidiques

Les études sur les dimères ont démontré que l'octapeptide cyclique forme une structure très stable avec une constante d'association (K_a) égale à 2540 M^{-1} pour le cyclo-[(L-Phe-D-MeN-Ala)₄]. Par contre, les D,L- α -déca- et dodécapeptides cycliques ne se dimérisent pas en raison de la difficulté à adopter une conformation plane.⁹⁵ Les structures dimère ont également fourni le premier modèle expérimental pour évaluer la stabilité relative des structures β parallèle et β antiparallèle. Ils ont démontré que l'orientation antiparallèle est plus favorable que la parallèle en comparant les énantiomères des peptides cycliques (cyclo-[(L-Phe-D-MeN-Ala)₄] et cyclo-[(D-Phe-L-MeN-Ala)₄]).⁹⁶

V.2 Les nanotubes de Juan R. Granja

L'équipe de Granja a étudié un nouveau type de nanotube formé par les cycles peptidique contenant des résidus γ -acides aminés.⁹⁷⁻⁹⁹ Ces structures reposent sur des hybrides d' α -amino-acides et de γ -amino-acides cycliques dans lesquels les cycloalcanes confèrent une planéité à la molécule permettant l'empilement. Les

cycloalcanes de ces α,γ -peptides cycliques induisent également une région hydrophobe par la présence d'un des méthylènes cycloalcane vers l'intérieur du cycle peptidique. Les groupements carbonyles ne sont perpendiculaires au plan que lorsque l'acide (1*R*,3*S*)-3-aminocycloalkane carboxylique (γ -Aca-OH) est en alternance avec un- α -amino acide D (D- α -Aa). Cette alternance signifie que le pseudopeptide cyclique possède les NH et CO des γ -Aca sur une même face (la face γ) et les groupements amide des D- α -Aa sur l'autre face (la face α). En raison de cet arrangement, les macrocycles s'empilent par alternance de liaisons hydrogène établies entre faces α puis entre faces γ et dans chaque cas par la formation d'un réseau de liaisons hydrogène sous forme de feuillets β antiparallèles (Figure 74).

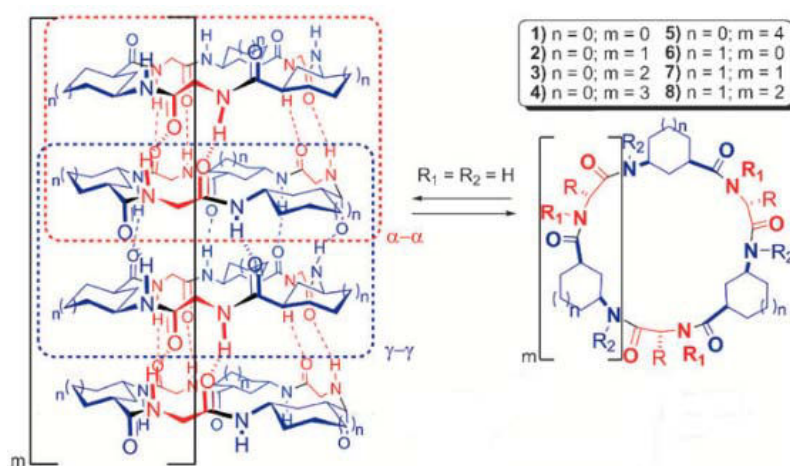


Figure 74 : Conception de nanotube composé de cyclo-[(D- α -Aa-(1*R*, 3*S*)- γ -Aca)_x]

Afin d'établir et d'évaluer la faisabilité et les propriétés thermodynamiques de ces nanotubes, deux types de dimères ont été préparés en bloquant par *N*-méthylation soit les NH de la face α soit ceux de la face γ . Deux types de dimères ont été obtenus : le dimère α - α et le dimère γ - γ (Figure 75). Les auteurs ont démontré que la constante d'association entre les faces α est plus élevée que celle entre les faces γ . Les dimères tétra-,¹⁰⁰ hexa-,⁹⁸ octa-,⁹⁹ déca⁹⁹ et dodécapeptides⁹⁹ cycliques ont des diamètres variant de 4 à 17 Å.

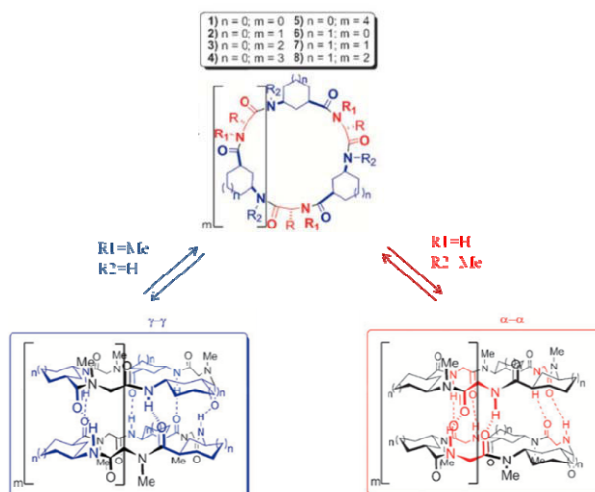


Figure 75 : Représentation schématique du feuillet β antiparallèle d'un dimère composé de sous-unités α, γ -peptides cycliques sur la face γ et la face α

Granja et ses collaborateurs ont constaté qu'en mélangeant les hexapeptides à base d'acide amino cyclohexane carboxylique (Ach) et les hexapeptides à base d'acide amino cyclopentane carboxylique (Acp), l'hétérodimère est principalement formé (Figure 76). Il est environ 30 fois plus stable que l'homodimère correspondant.⁹⁸ La sélectivité d'hétérodimérisation est principalement due aux interactions entre les chaînes principales et non pas à des interactions entre les chaînes latérales.

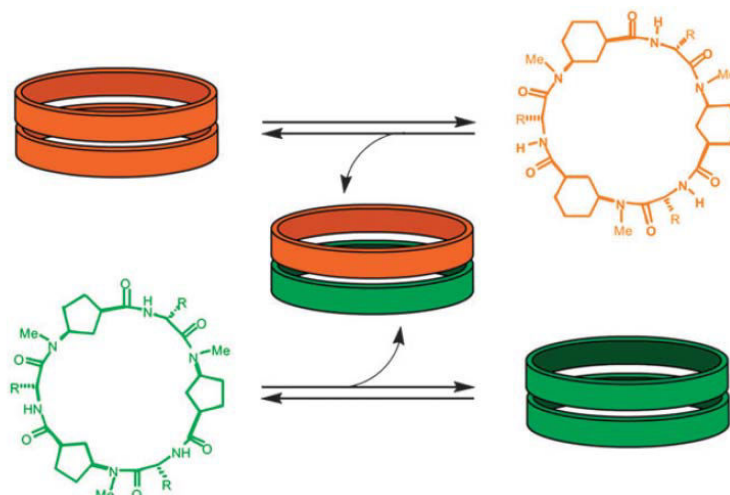


Figure 76 : Systèmes supramoléculaires hétérodimériques

Par ailleurs, ils ont démontré que la structure caractéristique d'une nouvelle classe de peptides cycliques (3α , γ -peptide cyclique) qui, en fonction de leur modèle de *N*-méthylation et le milieu, peuvent rester soit sous forme d'anneaux pour être

dimérisables à travers des liaisons hydrogène sous forme de feuillets β antiparallèles, soit sous forme de doubles coudes inversés qui, dans le cas de doubles coude γ , s'associent dans des solvants non polaires pour former des structures supramoléculaires hélicoïdales¹⁰¹ (Figure 77).

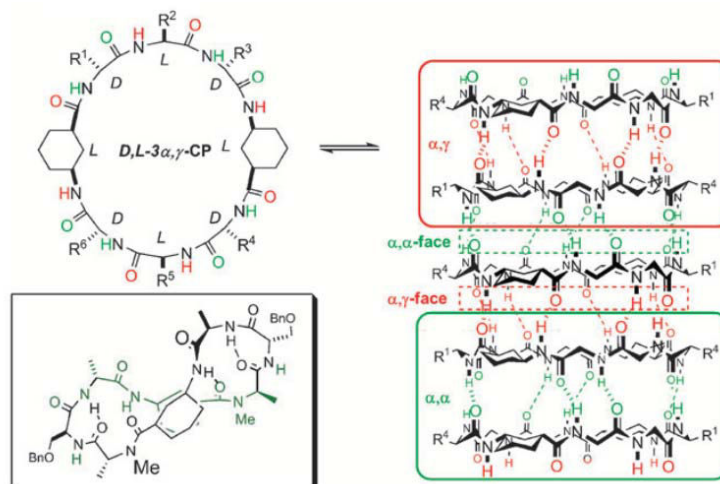


Figure 77 : Représentation schématique des nanotubes peptidiques et des doubles coudes inversés composés de sous-unités $3\alpha, \gamma$ -peptide cyclique

V.3 Les nanotubes formés par les groupements urées

L'équipe de Gilles Guichard a réalisé la synthèse de macrocycles à partir de leurs oligo-urées linéaires. Ils ont obtenu tout d'abord un cycle oligo-urée à 20 atomes portant des chaînes latérales protéinogéniques.¹⁰² Dans la structure cristalline, ce cycle forme un nanotube grâce à l'établissement de liaisons hydrogène entre deux NH de chaque groupement urée et un atome d'oxygène de macrocycle de l'urée voisine (Figure 78).

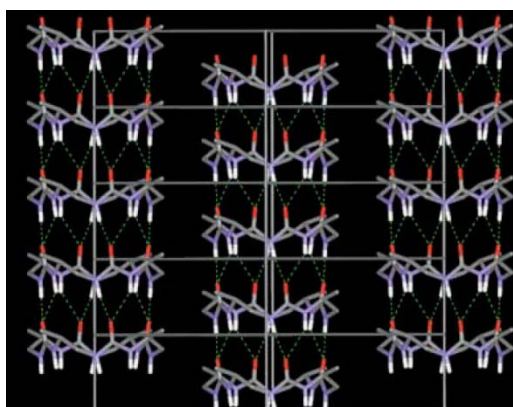


Figure 78 : Structure nanotubulaire à l'état solide formé par les empilements des cyclooligourées

Ils ont également utilisé la méthode de blocage par *N*-méthylation dans le but d'étudier la thermodynamique de la formation de leurs nanotubes.⁸ Ils ont obtenu, à partir des dipeptides linéaires correspondants, des dimères mixtes urée/amide cycliques avec le squelette partiellement *N*-méthylé. Ces dimères sont formés par quatre liaisons hydrogène entre les groupes carbonyle de l'urée et les NH amide. Contrairement aux résultats des équipes de Ghadiri et Granja, la *N*-méthylation n'empêche pas l'association des dimères en nanotubes. Celle-ci a lieu *via* des liaisons hydrogène faisant intervenir des molécules d'eau ou par des interactions de van der Waals (Figure 79).

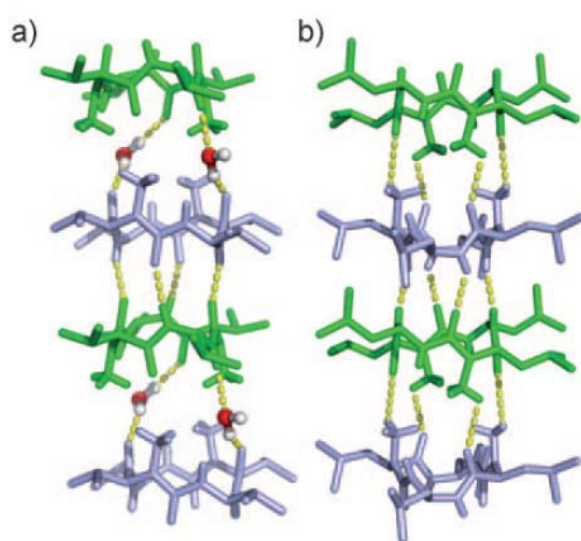


Figure 79 : La formation de colonne par empilement axial de dimères liés par les liaisons hydrogène via des molécules d'eau ou par des interactions de type van der Waals

L'équipe de Shimizu a synthétisé le macrocycle de bis-urée et montré qu'il peut former une colonne nanotubulaire (Figure 80) par des liaisons hydrogène à trois centres entre les NH des groupements de l'urée et le groupement carbonyle de l'urée dans la molécule adjacente.¹⁰³

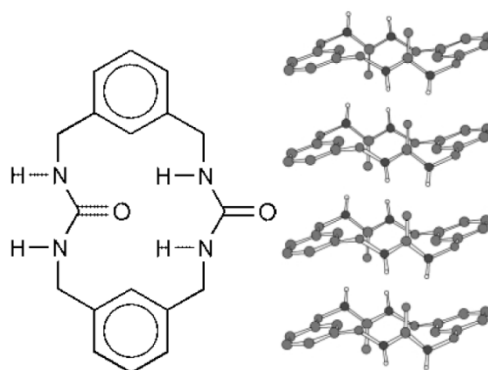


Figure 80 : Les structures par diffraction des Rayon-X du macrocycle bis-urée

Le groupement phényle incorporé dans le macrocycle permet non seulement de rigidifier le cycle¹⁰³ mais aussi de stabiliser la structure nonotubulaire par des interactions π - π stacking avec une distance de 3.568 Å.

D'autres pseudoamino acides ou d'autres combinaisons ont été également testés pour obtenir des nanotubes comme les β -peptides cycliques,^{91,104,105} les peptides cycliques mixtes α/β ⁹ et les δ -peptides cycliques vinylogues.¹⁰⁶

Si l'on se réfère à la structure cristalline du 2:1-[α /aza]-trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9a** (Figure 81) décrite dans le chapitre précédent, on remarque que le NH (azaPhe) est perpendiculaire au plan de la chaîne principale et les groupements phényle sont orientés vers l'extérieur du squelette. Ces deux arrangements sont les conditions essentielles pour l'empilement des cycles.

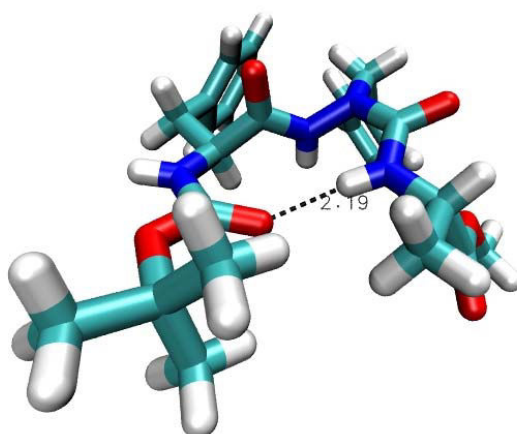


Figure 81 : Structure moléculaire dans le cristal du 2:1-[α /aza]-trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **9a**

Nous avons envisagé de cycliser nos 2:1-[α /aza]-oligomères et 1:1-[α /aza]-oligomères afin de voir si la présence d'un azote supplémentaire induirait également une conformation compatible avec une structuration en nanotubes. Nous pouvions espérer que la présence de ce type de motifs permettrait d'augmenter la rigidité du cycle. En effet, la délocalisation du doublet non liant de l'atome d'azote va ralentir la rotation de la liaison. De plus, la répulsion électronique entre les doublets non liants des atomes d'azote du résidu aza restreint le mouvement autour des angles dièdres Ψ et Φ .²⁹ Cette contrainte conformationnelle devrait nous permettre de pouvoir envisager des nanotubes de diamètre intérieur plus grand difficilement accessible à partir de cyclopeptides. De plus, la présence de motifs de type aza pourrait permettre d'augmenter le caractère hydrophile de la cavité du nanotube, critère important si l'on envisage des applications dans le domaine du transport transmembranaire.^{86,89} (Figure 82).

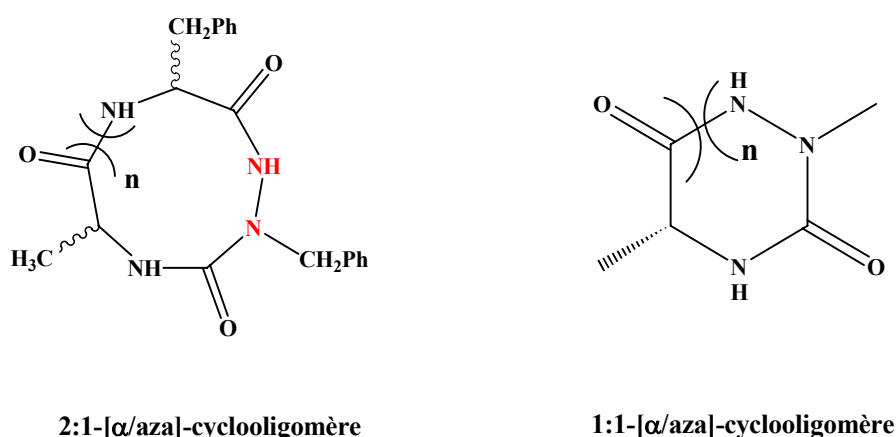


Figure 82 : Formule développée des cyclooligomères

Nous avons choisi d'utiliser des résidus de type phénylalanine connus pour favoriser la croissance des cristaux,¹⁰⁷ augmenter la solubilité dans des solvants non polaires et stabiliser les conformations en feuillet β .⁹⁵

VI Synthèse des 2:1-[α /aza]-cyclooligomères et 1:1-[α /aza]-cyclooligomères

VI.1 Introduction

Parmi les méthodes de cyclisation décrites dans la littérature^{7,81,108} (haute dilution, synthèse à l'état solide et haute concentration) nous avons choisi d'utiliser celle

réalisée en haute dilution. Cette méthode permet d'éviter la formation d'oligomères linéaires plus longs par réactions intermoléculaires et facilite la purification.

Selon Ghadiri, les peptides cycliques composés d'une alternance de résidus acides α aminés de configuration D et L adoptent une conformation plane dans laquelle toutes les fonctions amides du squelette sont approximativement perpendiculaires au plan de la structure annulaire ce qui contribue à minimiser la formation des liaisons hydrogène intramoléculaires entre les chaînes latérales et la chaîne principale.

Dans notre cas, la conformation de l'azapeptide peut changer par rapport au peptide normal en raison de l'insertion d'atomes d'azote supplémentaires dans la chaîne principale. Nous avons synthétisé plusieurs cycles azapeptidiques de différentes tailles et de différentes configurations absolues au niveau des carbones asymétriques afin d'étudier l'influence de ces paramètres sur l'auto-assemblage de nos cycles.

VI.2 Synthèse des 2:1-[α /aza]-cyclooligomères

Les extrémités *N*- et *C*-terminales des oligomères linéaires sont déprotégés. Dans un premier temps, l'ester méthylique de l'extrémité *C*-terminale est déprotégée dans un mélange NaOH 1N et d'acétonitrile. Le groupement Boc est supprimé à l'aide d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane. L'oligomère linéaire entièrement déprotégé en solution dans le dichlorométhane est alors ajouté au goutte à goutte très lent dans une solution de HBTU et de DIEA dans un mélange dichlorométhane/DMF de façon à obtenir une concentration finale d'environ $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (Schéma 12).

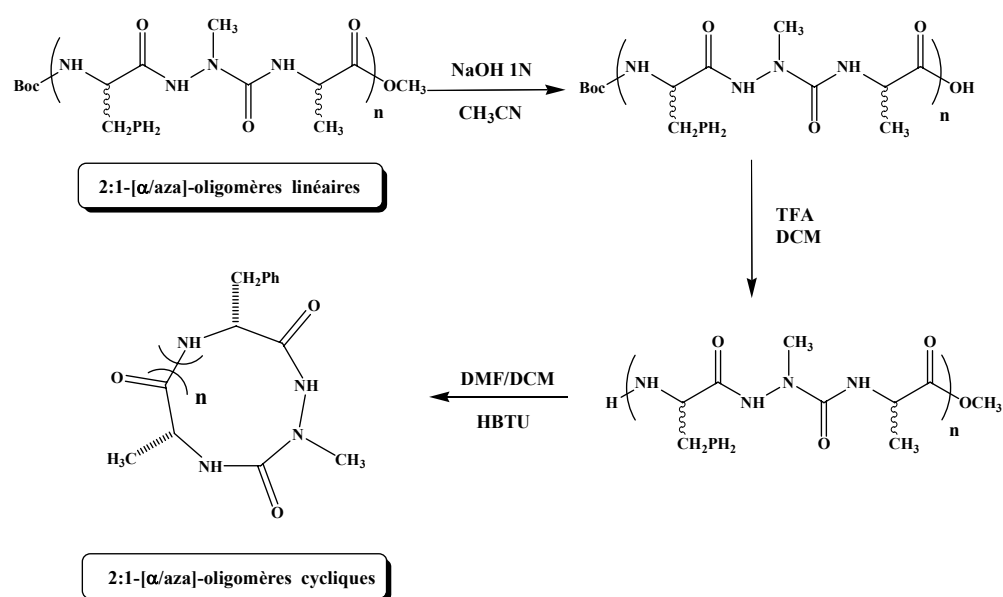


Schéma 12: Synthèse des 2:1-[α /aza]-oligomères cycliques

Ce protocole nous a permis d'isoler trois 2:1-[α /aza]-hexamères cycliques diastéréoisomères. Les rendements de synthèse sont donnés dans le Tableau 10.

n	Configuration absolue de CH_{α} de Phe¹	Configuration absolue de CH_{α} de Ala¹	Configuration absolue de CH_{α} de Phe²	Configuration absolue de CH_{α} de Ala²	Rdt (%)^a	Produit
2	S	S	S	S	31%	13a
2	R	S	R	S	32%	13b
2	R	R	S	S	35%	13c

^a rendement en produit isolé calculé par rapport à l'hexamère linéaire déprotégé de départ.

Tableau 10 : Les rendements de synthèse des 2:1-[α /aza]-hexamères cycliques

On remarque que les rendements sont indépendants de la configuration absolue des carbones asymétriques. Ces rendements modérés sont sans doute dus à la présence de DMF (nécessaire à la dissolution du HBTU), qui déstabilise les liaisons hydrogène intramoléculaire et défavorise la structuration nécessaire à la cyclisation.

Avec la même méthode de cyclisation, nous avons synthétisé successivement les 2:1-[α /aza]-nonamères **14** (Tableau 11) et les 2:1-[α /aza]-dodécamères cycliques **15** (Tableau 12).

N	Configuration absolue des CH_{α} de Phe	Configuration absolue des CH_{α} de Ala	Rdt (%)^a	Produit
3	S	S	36%	14a
3	R	S	35%	14b

^a rendement en produit isolé calculé par rapport au nonamère linéaire déprotégé de départ

Tableau 11 : Les rendements de synthèse des 2:1-[α /aza]-nonamères cycliques

n	Configuration absolue de CH_α de Phe¹ et Ala¹	Configuration absolue de CH_α de Phe² et Ala²	Configuration absolue de CH_α de Phe³ et Ala³	Configuration absolue de CH_α de Phe⁴ et Ala⁴	Rdt (%)^a	Produit
4	S, S	S, S	S, S	S, S	32%	15a
4	R, S	R, S	R, S	R, S	33%	15b
4	S, S	R, R	S, S	R, R	36%	15c

^a rendement en produit isolé calculé par rapport au dodécamère linéaire déprotégé de départ

Tableau 12: Les rendements de synthèse des 2:1-[α/aza]-dodécamères cycliques

On remarque encore une fois que ces rendements sont de l'ordre de 30% et ce quelles que soient la longueur de la chaîne de l'oligomère de départ et la configuration absolue des centres asymétriques.

VI.3 Synthèse des 1:1-[α/aza]-cyclooligomères

Pour réaliser la synthèse des 1:1-[α/aza]-cyclooligomères, la formation du cycle implique cette fois le couplage entre l'azote primaire d'un motif aza et l'acide carboxylique côté C-terminal.

Les conditions de synthèse sont identiques à celles utilisées pour obtenir les 2:1-[α/aza]-cyclooligomères. Nous avons cependant remplacé le HBTU par du HATU pour tenter de favoriser la réaction de couplage comme cela avait été montré en série linéaire. (Schéma 13).

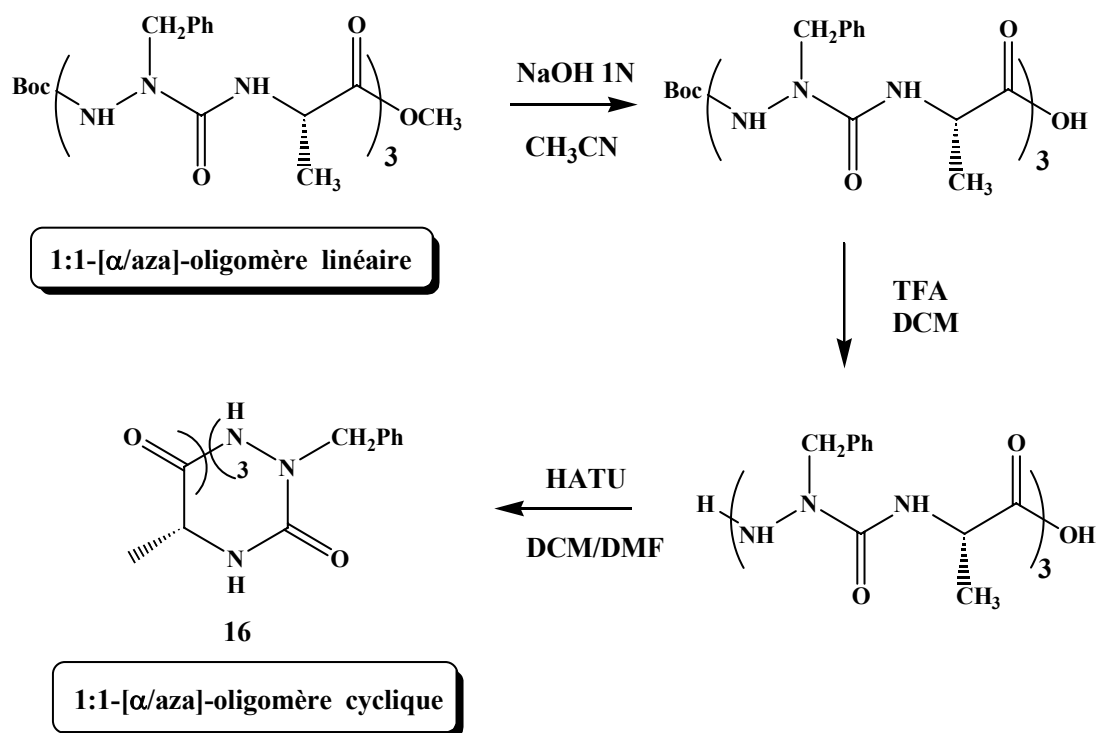


Schéma 13: Synthèse du 1:1-[α/aza]-hexamère cyclique 16

La cyclisation du 1:1-[α/aza]-tétramère a échoué. Nous pensons que la longueur du squelette pseudopeptidique est trop faible pour que le tétramère linéaire déprotégé puisse se replier suffisamment et que ses extrémités puissent réagir ensemble.

Nous avons cependant réussi la synthèse de l'hexamère cyclique correspondant **16** qui présente une configuration absolue S pour chaque résidu alanine impliqué.

Comme cela était prévisible, le rendement (15%) est beaucoup plus faible que celui obtenu lors de la cyclisation du 2:1-[α/aza]-hexamère correspondant **13**. Ce résultat peut être dû à la faible nucléophilie de l'azote. Nous ne pouvons cependant pas exclure une gêne stérique liée à la présence du motif azaPhe.

En raison du faible rendement de synthèse et de la difficulté d'interprétation des données spectroscopiques en solution (voir chapitre suivant) du 1:1-[α/aza]-hexamère cyclique, nous n'avons pas étendu cette étude à d'autres cycles homologues supérieurs.

VII Analyses structurales du cyclohexamère 1:1-[α /aza] **16**

VII.1 Etudes structurales des cyclohexamères 1:1-[α /aza] **16** à l'état solide

VII.1.1 Résultats cristallographiques

Des monocristaux de très bonne qualité du 1:1-[α /aza]-hexamère cyclique **16** ont été obtenus par évaporation lente dans un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle. La structure cristalline par diffraction des rayons X a été résolue par l'équipe de Claude Didierjean dans le groupe de Biocristallographie au laboratoire CRM² de l'Université de Lorraine (Figure 83).

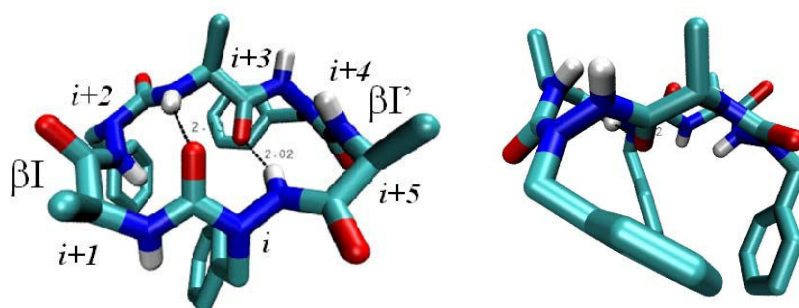


Figure 83 : Structure moléculaire dans le cristal du 1:1-[α /aza]-hexamère cyclique **16**

Les NH sont orientés vers le centre de la molécule ; deux d'entre eux (1 NH (azaPheⁱ) et 1 NH (Alaⁱ⁺³)) permettent de former deux pseudocycles à 10 atomes (β turn) avec 1 C=O (Alaⁱ⁺³) et 1 C=O (azaPheⁱ) respectivement. Le calcul des angles de torsion nous permet de déterminer quel type de coude β prend place dans ce composé. Les valeurs des angles de torsions de **16** sont proches de celles d'un repliement β I pour l'un, et de celles d'un repliement β I' pour l'autre (Tableau 13).

	Résidu i+1		Résidu i+2			Résidu i+3		Résidu i+3	
	ϕ	ψ	ϕ	ψ		ϕ	ψ	ϕ	ψ
β I	-60	-30	-90	0	β I'	60	30	90	0
	-71.68	-16.19	-97.16	4.51		64.72	22.53	109.16	-18.46

Tableau 13 : Valeurs des angles de torsions pour le cyclohexamère 1:1-[α /aza]

La présence de ces deux β turns stabilise la molécule dans une conformation qui dispose les motifs benzyle de manière perpendiculaire au plan du cycle. Nous pouvons remarquer que dans la molécule, aucun groupement carbonyle n'est

perpendiculaire au plan du cycle. Deux pointent vers le centre du cycle et 4 vers l'extérieur. Ces repliements empêchent un empilement en nanotube.

Ce résultat peu encourageant ainsi que les difficultés d'analyse de ce composé en solution liées à la présence de plusieurs conformères, nous ont amené à abandonner cette série et à nous consacrer à l'étude conformationnelle de la série 2:1-[α /aza]-cyclamères.

VIII Analyses structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a

VIII.1 Etudes structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a à l'état solide

VIII.1.1 Résultats cristallographiques

Des cristaux du cyclohexamère homochiral **13a** ont été obtenus par évaporation lente dans un mélange hexane/acétone. La structure obtenue par diffraction des rayons X est totalement différente de celle obtenue pour le 1:1-[α /aza]-hexamère cyclique **16**.

Comme nous l'avions pressenti, à l'état cristallin, les molécules s'auto-assemblent en formant un réseau de liaisons hydrogène intermoléculaires donnant lieu à la formation d'un nanotube (Figure 84).

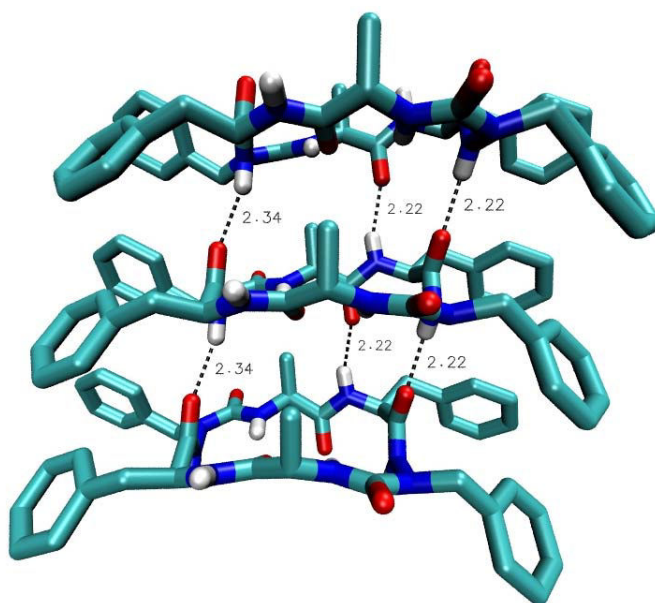


Figure 84 : Vue de profil d'un nanotube formé par l'auto-assemblage du cyclohexamère homochiral 13a

La vue de profil de la structure cristalline du nanotube montre que celui-ci est non seulement stabilisé par des liaisons hydrogène intermoléculaires mais aussi par des interactions de type π - π stacking.

Les macrocycles sont reliés par trois liaisons hydrogène intermoléculaires formées entre deux C=O (Phe) et deux NH (azaPhe), respectivement de 2.22 Å et 2.34 Å et entre un C=O (Alaⁱ⁺³) et un NH (Pheⁱ⁺⁴) de 2.22 Å.

La présence des groupements benzyliques donnent lieu à des interactions de type π - π stacking. Les interactions aromatique-aromatique les plus fréquentes sont dites excentrées parallèles (Figure 85a) et en T (Figure 85b).¹⁰⁹

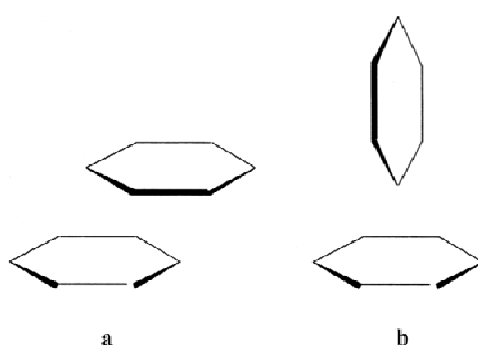


Figure 85 : Représentation des deux types de l'interaction π - π -stacking a) parallèles, b) en T

Au regard de la figure 86, les groupements phényle ont tendance à former des agrégats d'ordre supérieur (interactions aromatique-aromatique excentrées parallèles et en T).

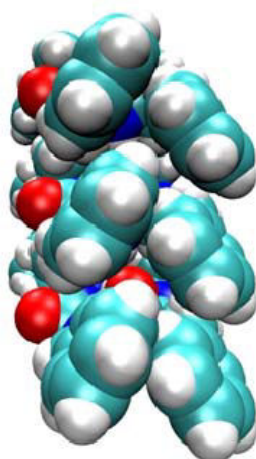


Figure 86 : Représentation de la conformation de nanotube par rayon de van der Waals du composé 13a

Tous les groupements benzyle occupent les positions équatoriales et pointent vers l'extérieur du macrocycle, permettant des interactions intramoléculaires (en T) et intermoléculaires (excentrées parallèles). Les groupements benzyle du résidu acide azaaminé sont empilés de façon parallèle avec les mêmes groupements benzyles des macrocycles voisins de 5.24 Å et sont aussi en contact de manière intermoléculaire et intramoléculaire avec les groupements aromatiques du résidu Phénylalanine en forme de T. Ces interactions π - π -stacking permettent d'augmenter la stabilité du nanotube. Mais on a aussi un inconvénient au niveau de la stabilité des nanotubes. Les groupements méthyle sont parallèles aux liaisons hydrogène intermoléculaires et vont diminuer la stabilité des nanotubes à cause de l'encombrement stérique engendré.

Les cyclohexamères homochiraux **13a** s'empilent en feuillets β parallèles, c'est-à-dire que les groupements NH (azaPhe $i+2$ et $i+5$ perpendiculaires au plan du cycle) pointent dans un même sens alors que les C=O (Phe $i+1$ et $i+4$ également perpendiculaires au plan) pointent dans l'autre sens. Cette forme d'empilement observé notamment pour les β^3 -cyclopeptides devrait favoriser la formation d'un moment macrodipolaire.¹⁰⁴ Par ailleurs, nous pouvons noter la présence d'une liaison hydrogène intramoléculaire dans le cycle (Figure 87). Cette liaison hydrogène intramoléculaire entre le C=O (Ala^{*i*}) et NH (Ala^{*i+3*}) pourrait contribuer à une diminution de la polarité du nanotube.

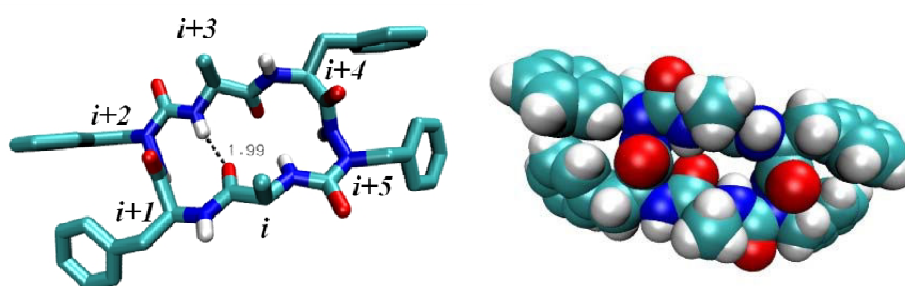


Figure 87 : Conformation du squelette principal du cyclo[(-Phe-azaPhe-Ala)₂-] 13a (à gauche) et sa représentation par rayon de Van der Waals (à droite)

Les distances interatomiques courtes entre les sites polaires (distance N...O = 2,84 Å et distance NH...O = 1,99 Å) autorisent une liaison hydrogène intramoléculaire entre la fonction carbonyle CO du résidu Alanine et le proton du groupement NH du résidu Alanine, refermant ainsi un pseudocycle à 10 atomes de type $i+3 \rightarrow i$.

Concernant la partie contenant les résidus $i+4$ et $i+5$, on peut considérer qu'elle présente également une conformation de type coude β même si celle-ci n'est pas stabilisée par une liaison hydrogène (le C=O Ala^{*i+3*} étant impliqué dans une liaison intermoléculaire). La distance entre les C $_{\alpha}$ des résidus i et $i+3$ du pseudocycle inférieure à 7 Å est en accord avec ce coude β .¹¹⁰

Le calcul des angles de torsion nous permet de déterminer la nature des repliements (Tableau 14).

	Résidue i+1		Résidue i+2			Résidue i+4		Résidue i+5	
	ϕ	ψ	ϕ	ψ		ϕ	ψ	ϕ	ψ
β II	-60	120	80	0	β II	-60	120	80	0
13a	-51.47	125.72	78.35	-6.44		-100.9	103.01	81.25	12.2

Tableau 14 : Angles de torsion du cyclo[(-Phe-azaPhe-Ala)₂-] 13a

La molécule présente deux coudes, tous deux proches d'un coude de type II et identiques à celui observé dans la structure cristalline du 2:1-[α /aza]-trimère Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe **7a**.

Pour visualiser la cavité au sein du nanotube, nous avons représenté le macrocycle à l'état solide en tenant compte du rayon de Van der Waals des atomes (Figure 87).

Cette vue du dessus montre que cette cavité interne est obstruée et ne laisse pas d'espace disponible pour le passage d'espèces comme l'eau ou de petits ions.

Les données cristallographiques indiquent que les macrocycles ne sont pas symétriques. L'atome d'azote α du résidu $i+2$ présente un caractère légèrement pyramidal avec un écart par rapport au plan, défini par les trois atomes qui lui sont liés, de 0.206 Å et adopte une configuration D comme celui de trimère Boc-Phe-azaPhe-AlaOMe **7a**. L'atome d'azote α du résidu $i+5$ présente également un caractère légèrement pyramidal (inverse à celui du résidu $i+2$) et adopte une configuration L avec un écart au plan de 0.232 Å. Cette inversion de chiralité peut être due à la transformation d'une liaison hydrogène intramoléculaire en une liaison hydrogène intermoléculaire. Les études RMN en solution ont été menées pour étayer cette supposition (paragraphe suivant).

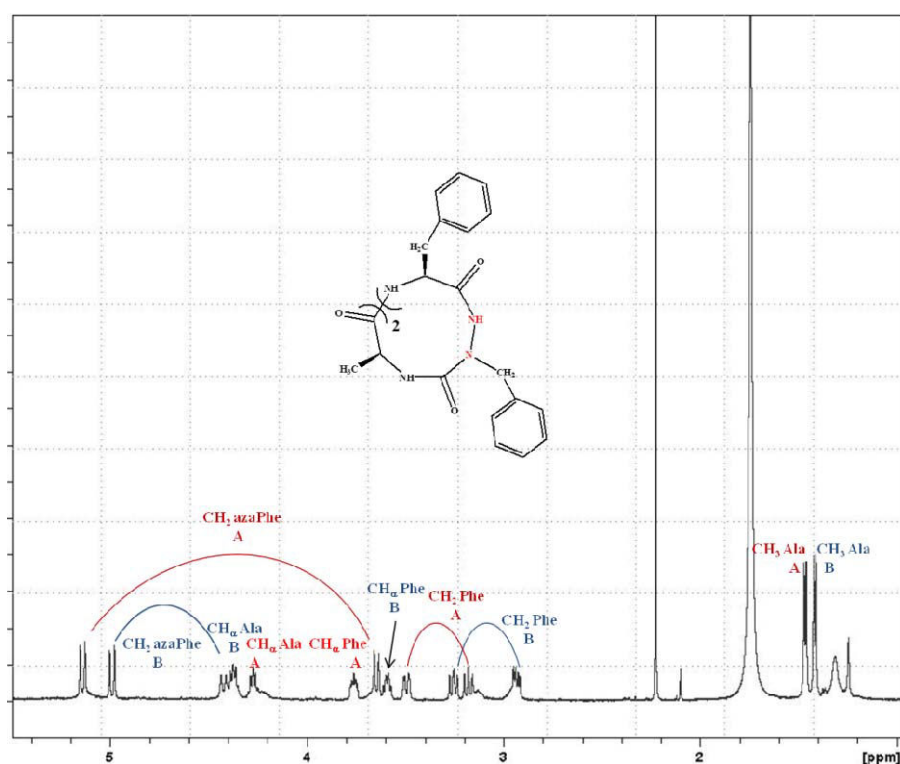
Nous avons montré que notre cyclohexamère homochiral **13a** était capable de s'auto-assembler à l'état solide, permettant ainsi la formation de véritables nanotubes.

Nous avons voulu savoir ce qu'il en était en solution : quelle est la conformation de ce composé à des concentrations plus faibles et est-il toujours capable de former des nanotubes ?

VIII.2 Etudes structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a en solution à une faible concentration

Des études RMN et infrarouge ont été menées afin d'attribuer la conformation du composé **13a** en solution et de voir si la structure nanotubulaire persistait à l'état solution.

De façon très classique nous avons tout d'abord effectué un spectre RMN ^1H de **13a** dans CDCl_3 ($0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans CDCl_3) à température ambiante. La très mauvaise résolution du spectre ne nous a pas permis d'attribuer les différents signaux. Une analyse à plus basse température (253 K) a permis d'améliorer la résolution et d'obtenir un spectre exploitable. Une résolution acceptable a été obtenue sur un spectre réalisé à 253 K (Figure 88).



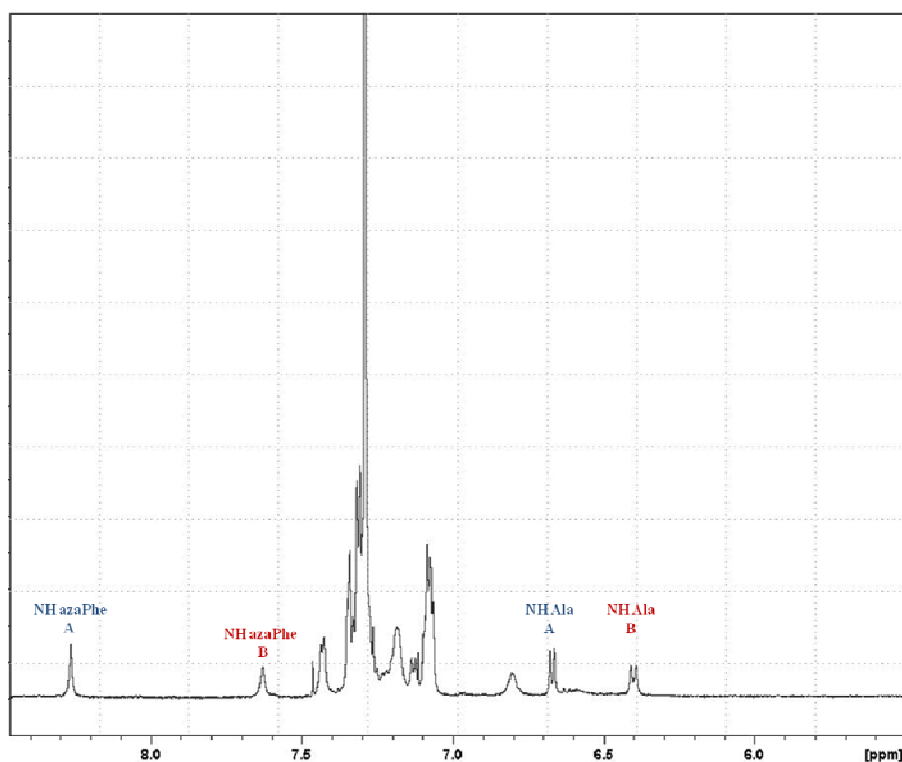


Figure 88 : Spectre RMN ^1H du cyclohexamère homochiral **13a ($0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1} / \text{CDCl}_3$) à 253 K**

A 253 K et à une concentration de $0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, nous observons un dédoublement de certains pics, signe de la présence de deux conformères (A et B). Pour les deux conformères, les CH_2 du benzyle donnent un système qui s'apparente à un système AX (protons complètement différents). Ceci signifie donc que l'environnement chimique de ces protons est complètement différent. Le cyclohexamère homochiral **13a** garde une grande symétrie en solution (symétrie C_2) comme en témoigne les signaux des six résidus du macrocycle identiques deux à deux.

Les protons NH (Phe) sont superposés aux protons aromatiques et cela nous empêche de déterminer le type de coude β à partir de la carte ROE. Cela nous empêche également d'observer l'évolution de proton NH (Phe) en fonction de la concentration de l'échantillon.

VIII.2.1 Par la modélisation : le logiciel AMBER

Nous vérifions d'abord la stabilisation des liaisons hydrogène intramoléculaire à une condition de dilution c'est-à-dire qu'on néglige les interactions intermoléculaires. Baptiste Legrand de notre laboratoire a repris les données de la structure cristalline d'une unité monomérique présentée dans la figure 87, puis l'a minimisé sous vide en

utilisant le logiciel AMBER 10. La structure correspondant au minimum d'énergie du monomère est présentée dans la Figure 89.

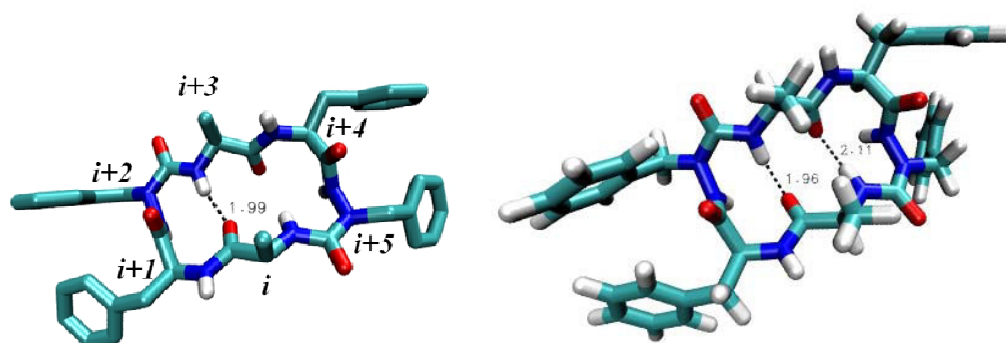


Figure 89 : Minimisation du monomère 13a dans le vide par AMBER (droite) à partir des données RX (gauche)

Lorsqu'on isole du nanotube une unité monomérique et que l'on recherche sa conformation la plus stable, on observe la formation d'une nouvelle liaison hydrogène intramoléculaire entre le C=O du résidu Alanine et le proton du groupement NH du résidu Alanine d'en face. Cette observation nous confirme que dans des conditions diluées, les deux NH du résidu Alanine sont impliqués dans des liaisons hydrogène, respectivement de 2.11 Å et 1.96 Å, en refermant ainsi deux pseudocycles à 10 atomes de type coude βII. Ce résultat de modélisation va être confirmé par les études en solution en utilisant l'effet de l'ajout de DMSO en RMN et la spectroscopie infrarouge.

VIII.2.2 Influence du DMSO- d_6

L'influence de l'ajout de DMSO- d_6 a été étudiée sur le cyclohexamère homochiral **13a** (Figure 90). Nous avons réalisé l'étude dans des mélanges $CDCl_3$ /DMSO- d_6 et avons regardé notamment l'évolution des déplacements chimiques des protons NH en fonction de la proportion de DMSO. Nous avons choisi d'effectuer ce travail pour une concentration finale de $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, suffisamment diluée pour empêcher l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires.

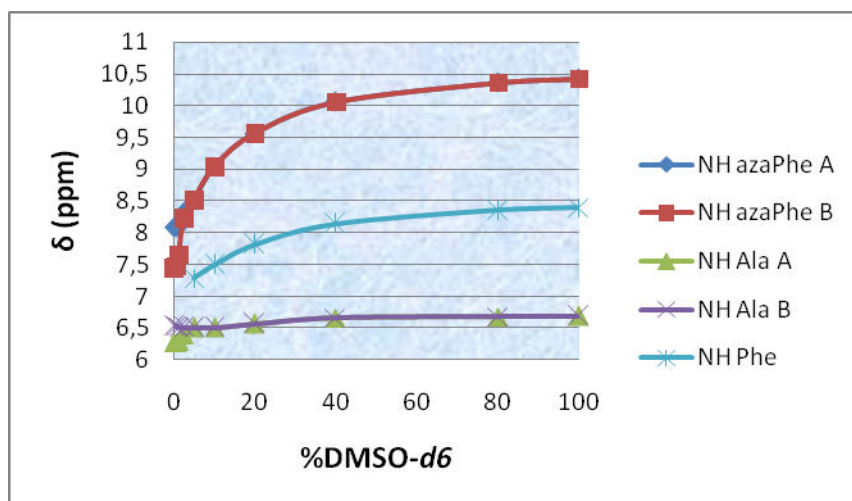
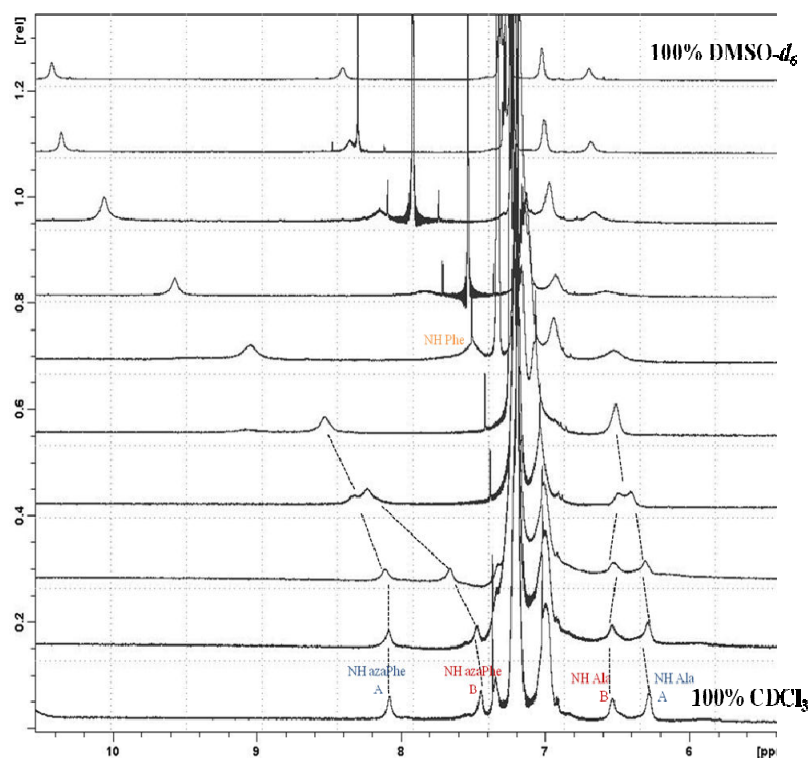


Figure 90 : Evolution des déplacements chimiques des protons NH 13a en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%) / $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

Nous remarquons que le déplacement chimique des protons NH Ala n'est pas sensible à l'ajout de DMSO dans le milieu et ce pour les deux conformères A et B. Nous déduisons que les protons NH Ala sont tous impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires. Ce résultat est cohérent avec le résultat de modélisation moléculaire et semble démontrer que la conformation adoptée par **13a** à l'état dilué est stabilisée par l'établissement de deux liaisons hydrogène intramoléculaires impliquant les deux protons NH Ala.

Tous les autres protons sont sensibles à l'ajoute de DMSO- d_6 . Ils ne sont donc pas impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Nous observons aussi la coalescence des signaux correspondants aux deux conformères A et B, aux environs de 5% DMSO- d_6 dans $CDCl_3$.

Ce type de coalescence a déjà été observé par Luis et al¹¹¹ en suivant les déplacements des protons benzyliques de la molécule présentée dans la figure 91, en fonction du pourcentage de méthanol dans $CDCl_3$. Ce phénomène de coalescence s'explique par la rupture de liaisons hydrogène intramoléculaires qui permet d'augmenter la vitesse de rotation du fragment aromatique *p*-diphénylène.

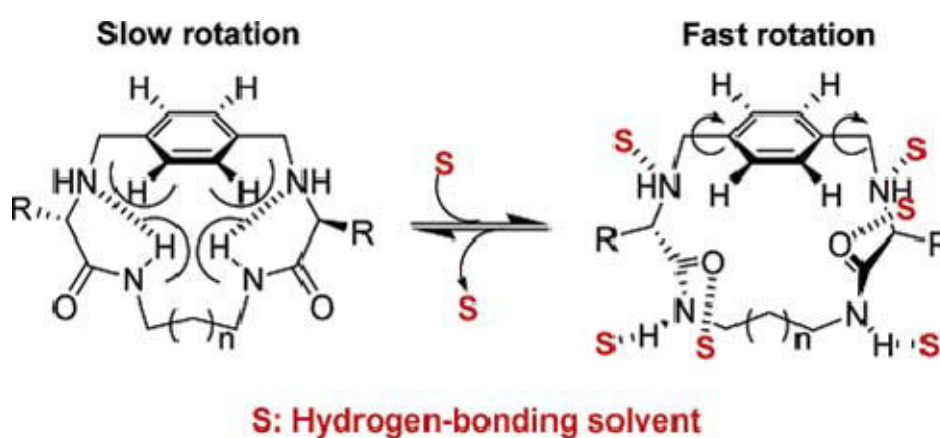


Figure 91 : L'effet de solvants polaires sur la stabilité conformationnelle des macrocycles peptidomimétiques

Dans notre cas, on suppose que l'ajout de DMSO- d_6 induit la rupture des deux liaisons hydrogène intramoléculaires entre NH (Ala) et C=O (Ala). La vitesse d'équilibre entre les conformères A et B devient alors plus rapide.

VIII.2.3 Par spectroscopie infrarouge

Le spectre IR a été réalisé sur le cyclohexamère homochiral **13a** dans $CDCl_3$ à une concentration $c = 0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ suffisamment faible pour s'affranchir des liaisons hydrogène intermoléculaires. La figure 92 représente la zone d'élongation des NH.

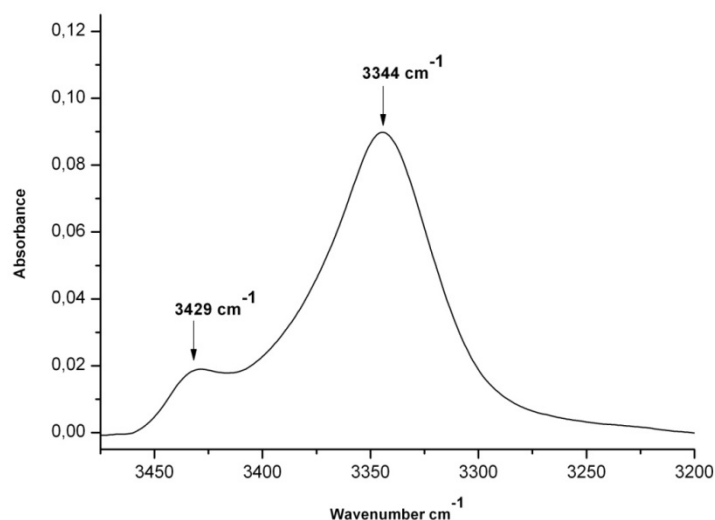


Figure 92 : Spectre infrarouge du cyclohexamère homochiral 13a dans la zone des élongations des liaisons des groupements NH ($\text{CDCl}_3/0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)

Le spectre de la figure 92 montre une bande vers 3429 cm^{-1} dans la zone d'élongation des NH libres (NH Phe, NH azaPhe). Il est aussi possible de distinguer une bande vers 3344 cm^{-1} , qui correspondrait donc aux vibreurs NH liés (NH Ala impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires). Ce résultat est cohérent avec les études sur l'influence du DMSO-d_6 sur les déplacements chimiques des protons NH. Effectivement, le signal à 3344 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation des liaisons NH des résidus Alanine lorsque les protons sont liés par liaison hydrogène.

Dans le domaine d'élongation de la liaison C=O (Figure 93), il est possible de distinguer clairement quatre bandes d'absorption correspondant aux quatre types de vibreurs C=O . Leur attribution a été possible grâce aux données recueillies lors de l'analyse du composé linéaire correspondant **8a**. Ainsi, on peut attribuer respectivement les bandes au C=O (Phe libre $\nu_{(\text{C=O})} = 1717 \text{ cm}^{-1}$), au C=O (Ala libre $\nu_{(\text{C=O})} = 1698 \text{ cm}^{-1}$), au C=O (azaPhe libre $\nu_{(\text{C=O})} = 1673 \text{ cm}^{-1}$) et au C=O (Ala lié $\nu_{(\text{C=O})} = 1652 \text{ cm}^{-1}$).

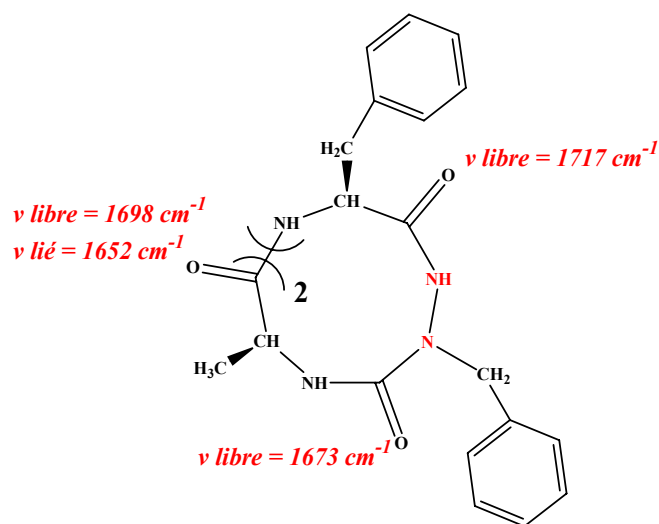
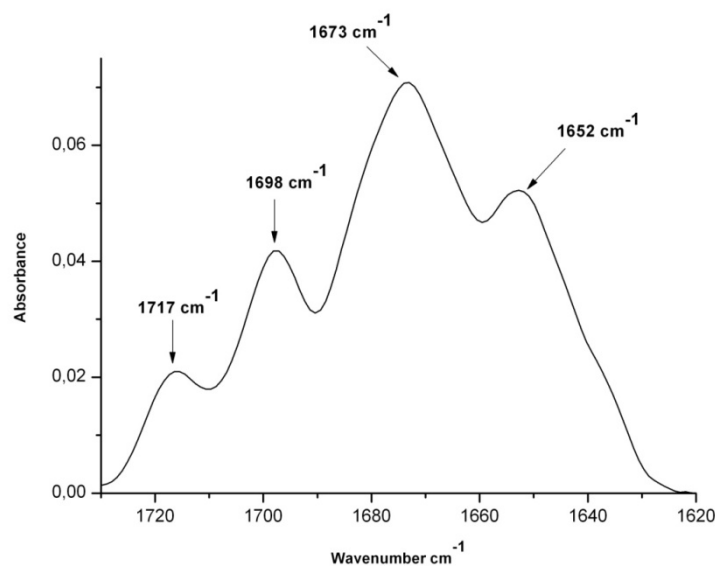


Figure 93 : Spectre infrarouge du cyclohexamère homochiral 13a dans la zone des vibrateurs C=O ($\text{CDCl}_3/0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)

D'après les études en RMN, nous avons observé l'existence de deux conformères A et B à faible concentration. La durée du temps d'analyse («time scale») est plus rapide en spectroscopie infrarouge qu'en RMN. De ce fait, un spectre infrarouge peut contenir des informations concernant les contributions spectrales issues d'une association d'au moins deux conformères.¹¹¹ Nous pouvons alors nous attendre à la présence de huit bandes distinctes. Nous supposons donc que les longueurs d'ondes des vibrateurs C=O pour les deux conformères sont très proches. Nous avons tenté sans succès d'attribuer les quatre bandes C=O correspondant à chaque conformère en utilisant le spectre de dérivé seconde. A contrario, pour détecter la conformation en

coude β dans un petit peptide, les analyses se focalisent dans la zone de 1800-1600 cm^{-1} qui correspond à l'élongation de la liaison C=O. Des preuves expérimentales indiquent que non seulement la zone 1690-1660 cm^{-1} mais aussi la région 1645-1635 cm^{-1} sont caractéristiques de la conformation en coude β .¹¹²

Selon les résultats de diffraction des RX, la conformation en coude β est stabilisée par une liaison hydrogène intramoléculaire entre NH (Ala) et C=O amidique du second résidu Ala. Donc nous devons observer des bandes en IR dans la zone 1690-1660 cm^{-1} et 1645-1635 cm^{-1} .

D'après la dérivée seconde du spectre (Figure 94), nous n'avons observé qu'une seule bande à 1635 cm^{-1} correspondant au C=O lié. Donc nous pouvons en déduire qu'au moins un des deux conformères est sous forme de coude β , la région 1645-1635 cm^{-1} étant caractéristique de la conformation en coude β .

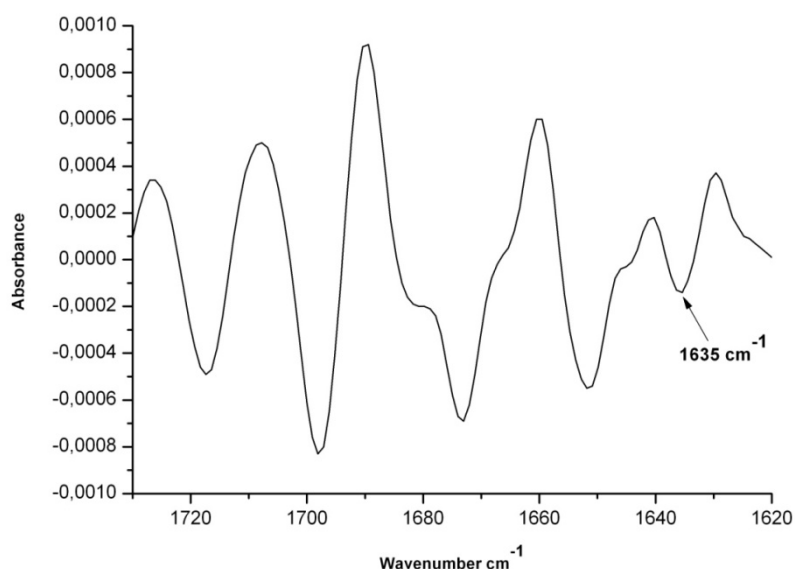


Figure 94: Dérivée seconde du spectre infrarouge du cyclohexamère homochiral 13a dans la zone des vibrateurs C=O ($\text{CDCl}_3/0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)

VIII.3 Etudes structurales du cyclohexamère homochiral 2:1-[α /aza] 13a en solution à haute concentration

VIII.3.1 Par résonance magnétique nucléaire

D'un point de vue général, l'analyse RMN à différentes concentrations permet de mettre en évidence l'établissement éventuel de liaisons hydrogène intermoléculaires à haute concentration. Ainsi, un proton NH impliqué dans une liaison hydrogène intermoléculaire sera très sensible aux variations de la concentration et verra son déplacement chimique tendre vers les champs faibles par augmentation de celle-ci. Au

contraire, si celui-ci est impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire, ceci se traduira par un déplacement chimique quasi constant.

Nous avons donc décidé d'étudier par RMN ^1H l'influence de la concentration sur notre cyclohexamère homochiral **13a**, en faisant varier celle-ci de $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Il n'était cependant pas possible d'aller au-delà de $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, en raison de la faible solubilité de ce cyclohexamère homochiral dans CDCl_3 .

Les manipulations en RMN s'effectuent à 278 K car la résolution du spectre à 253 K est mauvaise pour les échantillons à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (Figure 95).

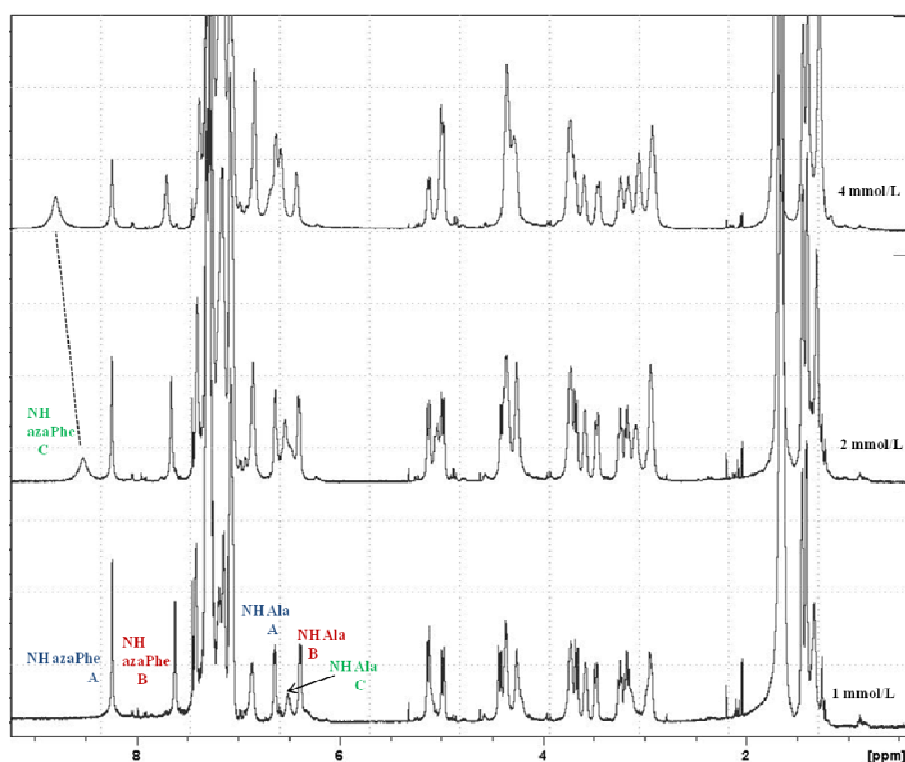


Figure 95: Spectres RMN ^1H du cyclohexamère homochiral **13a à différentes concentrations ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) dans CDCl_3 à 278 K**

A $c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, nous observons l'apparition d'un signal NH (Ala en vert) d'un troisième conformère C. Son apparition est due à l'augmentation de la concentration de l'échantillon. A cette même concentration, le proton NH (azaPhe) n'est pas visible. Par contre, à $c = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, le proton NH (azaPhe en vert) est visible. Il ne présente qu'un seul jeu de signal qui indique que le conformère C présente une grande symétrie en solution (symétrie C_2) ce qui illustre que les six résidus du macrocycle sont dans un environnement identique deux à deux.

De $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, nous observons que les protons (azaPhe en vert) du troisième conformère C se déplace vers les champs faibles, ce qui signifie que ces protons sont impliqués dans une liaison hydrogène intermoléculaire. Le signal des protons NH (Ala en vert) du conformère C se situe entre les protons NH (Ala) des conformères A et B.

Nous remarquons que les signaux correspondant aux NH des conformères A et B ne bougent pas. Cependant les intensités des deux conformères A et B diminuent avec l'augmentation de la concentration des échantillons. A l'inverse, on constate une augmentation de l'intensité du signal du conformère C (à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, 30% A, 35%B et 35%C ; à $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, 31% A, 28% B, 41% C). On peut supposer qu'à plus forte concentration, l'équilibre se déplace vers la formation d'un composé supramoléculaire qui est théoriquement plus stable par la formation des interactions intermoléculaires.

En raison de la lenteur d'échange entre les cyclohexamères monomériques et les conformations supramoléculaires, nous pouvons observer à la fois les signaux correspondants aux monomères et celui correspondant au composé nanotubulaire.

Nous n'arrivons cependant pas à attribuer tous les signaux correspondant au conformère C, car ils sont très proches de ceux des conformères A et B.

VIII.3.2 Par spectroscopie infrarouge

Nous avons poursuivi nos investigations par une analyse IR. Nous avons fait varier la concentration de $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans CHCl_3 et observé l'allure des spectres IR obtenus (Figure 96).

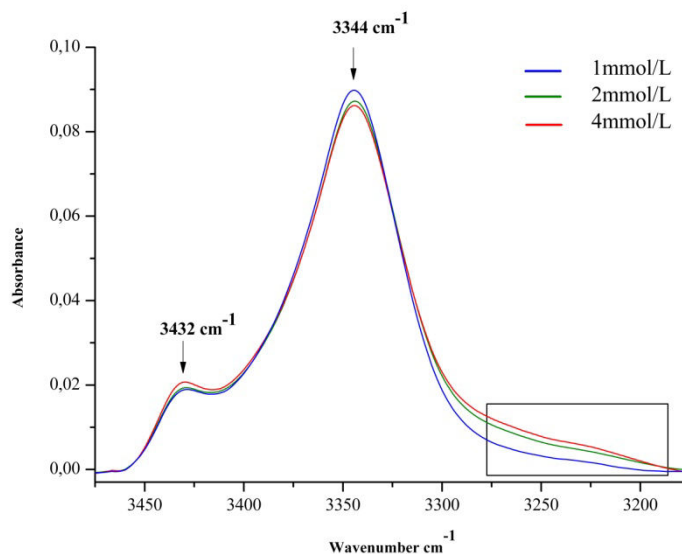


Figure 96: Spectre infrarouge du cyclohexamère homochiral 13a dans la zone des élongations de liaison des groupements NH à différentes concentrations ($1 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹, $2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹, $4 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹) dans CHCl₃

Nous avons montré que le signal à 3344 cm^{-1} correspondait au NH (Ala) lié par liaison hydrogène intramoléculaire. Les autres protons NH (Phe et azaPhe) sont à l'état libre à une faible concentration comme déterminé par les études en effet de solvant. Donc la bande à 3432 cm^{-1} dans la zone des NH libres correspond aux protons NH (Phe et azaPhe).

Nous avons observé en RMN que les protons NH (azaPhe) se déblindèrent par augmentation de la concentration des échantillons. Nous nous attendions logiquement à observer la diminution de l'intensité de la bande à 3432 cm^{-1} ainsi qu'une augmentation de l'intensité de la bande dans la zone des NH liés. Cependant, l'intensité de la bande à 3432 cm^{-1} augmente avec la concentration des échantillons. A l'inverse, l'intensité de la bande à 3344 cm^{-1} diminue avec la concentration. Ces observations sont complètement différentes de celles attendues. Les explications que nous pouvons formuler à ce stade de l'étude et compte tenu des observations faites sont les suivantes. Nous pouvons imaginer que certaines liaisons hydrogène intramoléculaires se rompent pour donner des liaisons hydrogène intermoléculaires favorables à l'obtention de nanotubes et qu'il existe un équilibre entre ces deux types de liaisons.

En dessous de 3275 cm^{-1} , on voit apparaître des épaulements dont les intensités augmentent avec la concentration. Il semblerait que ces bandes correspondent à des liaisons hydrogène intermoléculaires. Les études en IR confirment la présence de l'auto-assemblage du cyclohexamère homochiral à une haute concentration et montrent que certaines liaisons hydrogène se rompent avec l'augmentation de la concentration.

VIII.4 Conclusion

Les études conformationnelles du cyclohexamère homochiral ont mis en évidence la formation de nanotubes à l'état solide. Cette conformation a ensuite été confirmée dans CDCl_3 par des études RMN et IR.

Nous avons aussi déterminé la structure du cyclohexamère homochiral à son état monomérique par des études de modélisation, RMN et IR : au moins un des deux conformères est sous forme de double coude β .

Nous pensons que les liaisons hydrogène peuvent exister sous plusieurs états au sein du cyclohexamère : à faible concentration, la principale conformation est stabilisée par deux liaisons hydrogène intramoléculaires confirmées par modélisation moléculaire, RMN et IR. A haute concentration, certaines de ces liaisons hydrogène intramoléculaires se brisent en faveur de liaisons intermoléculaires.

IX Analyses structurales du cyclohexamère hétérochiral 2:1-[α /aza] 13b

IX.1 Etudes structurales du cyclohexamère hétérochiral 2:1-[α /aza] 13b en solution à une faible concentration

Nous avons choisi d'effectuer cette étude à une concentration de $0.5 \cdot 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ dans le CDCl_3 , suffisamment diluée pour empêcher l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires. Le spectre qui figure 97 ci-dessous a été réalisé à 278 K.

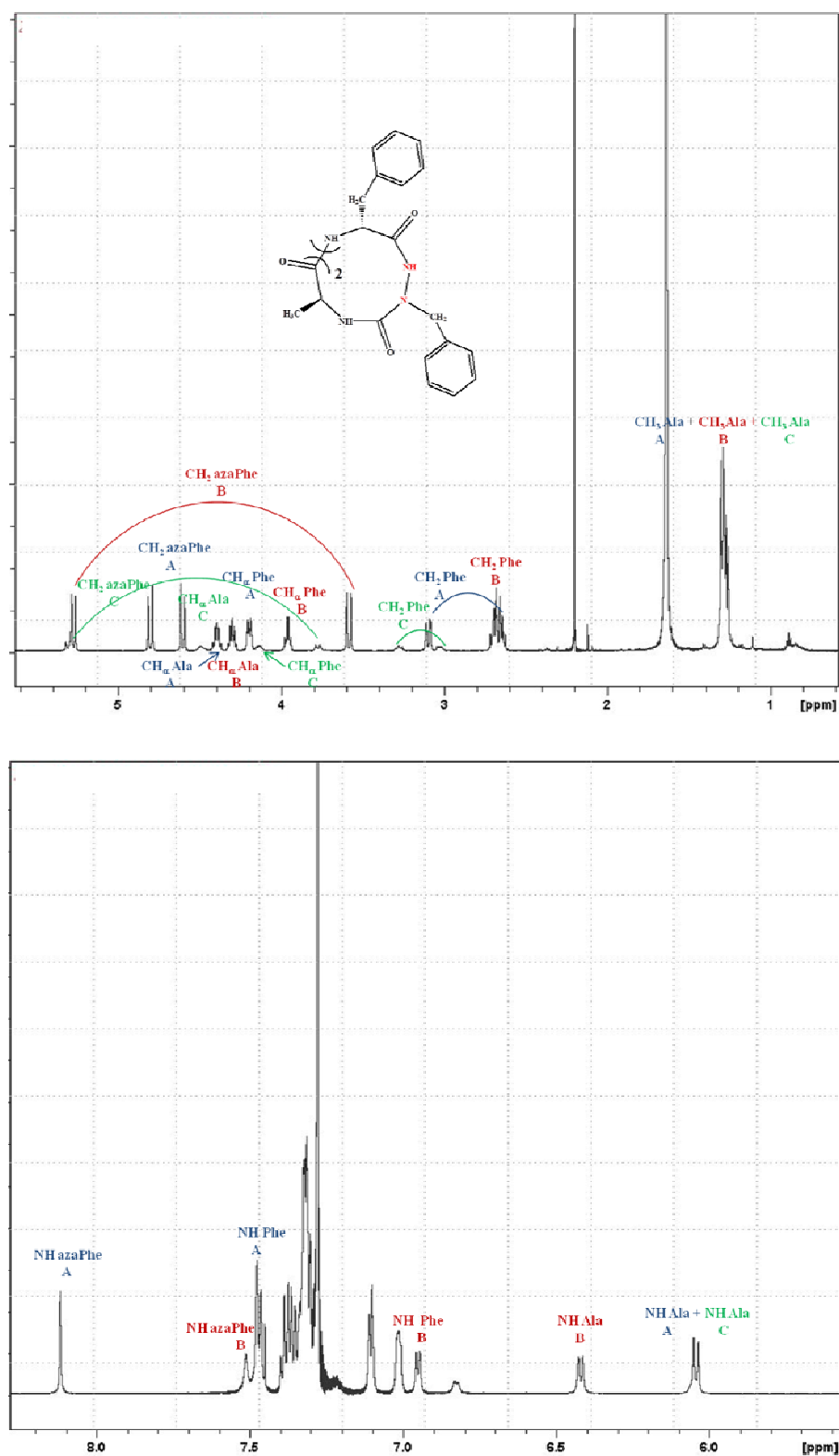


Figure 97 : Spectre RMN 1H du cyclohexamère hétérochiral 13b (CDCl₃/0.5*10⁻³ mol.L⁻¹)

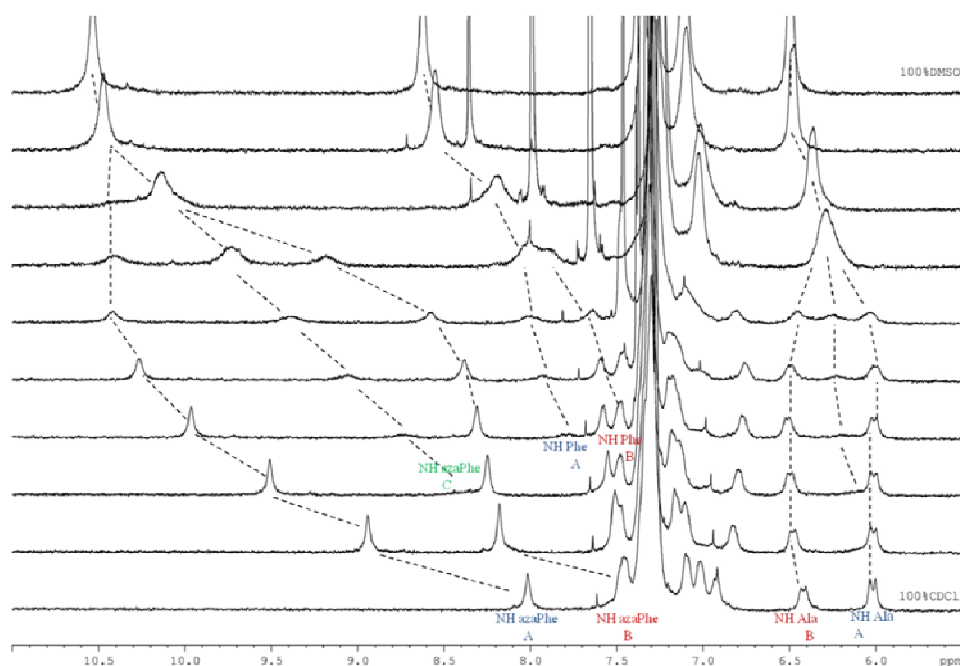
A une concentration de $c = 0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, nous observons trois conformères A, B et C respectivement dans des proportions 45/44/11%. Pour les trois conformères, nous

observons un seul signal par type de protons. Ceci dénote une très grande symétrie de la molécule en solution (symétrie C_2). Les six résidus du macrocycle sont donc dans un environnement identique deux à deux (Figure 97).

On remarque également que les protons méthyléniques des groupements benzyles sont non-équivalents puisqu'ils donnent un système AB et AX. Ceci signifie donc que l'environnement chimique de ces protons est complètement différent.

IX.1.1 Influence du DMSO- d_6

Par RMN du proton, nous avons étudié la sensibilité du déplacement chimique des protons des groupements NH du cyclohexamère hétérochiral **13b** en fonction de la composition du milieu dissolvant ($CDCl_3$ /DMSO- d_6). L'expérience a été réalisée sur un échantillon de concentration $c = 0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Les données de cette étude apparaissent sur la figure 98.



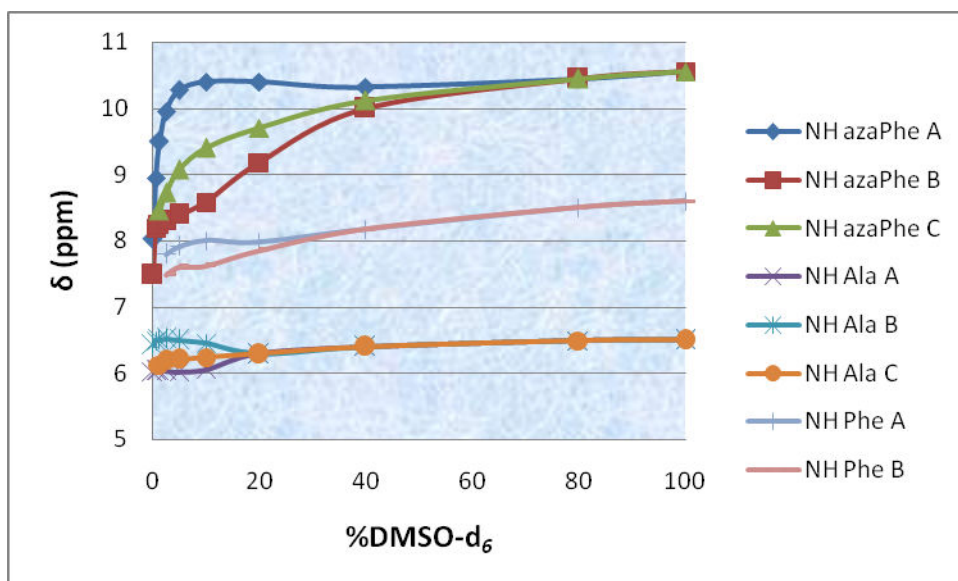


Figure 98: Evolution du déplacement chimique des protons NH du composé **13b en fonction d'une quantité croissante de DMSO- d_6 (0-100%) / $0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$**

Les déplacements chimiques des protons NH Ala sont insensibles à l'ajout de DMSO- d_6 et ce quel que soit le conformère considéré. Ces protons sont donc tous impliqués dans une liaison hydrogène intramoléculaire.

Le signal, correspondant au proton NH Phe du conformère C, est superposé avec ceux des protons aromatiques lors de l'ajout de DMSO- d_6 : il est donc difficile de suivre son déplacement chimique. Néanmoins, la différence de déplacement chimique entre le CDCl_3 et le DMSO- d_6 est supérieure à 1 ppm ce qui laisse supposer que le proton NH Phe du conformère C n'est pas impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire.

Nous pouvons déduire que tous les protons NH Phe et NH azaPhe des trois conformères ne sont pas liés par liaisons hydrogène intramoléculaires car leurs déplacements chimiques varient tous avec l'ajout de DMSO- d_6 .

Nous observons aussi la coalescence des signaux correspondant aux trois conformères A, B et C aux environ de 80% DMSO- d_6 dans CDCl_3 . Là encore, la coalescence des signaux peut s'expliquer par la rupture des liaisons hydrogène intramoléculaires qui permettent de stabiliser la molécule. Si l'on compare **13a** et **13b**, on note que le phénomène de coalescence est observé dès 5% de DMSO- d_6 pour **13a** et 80% de DMSO- d_6 pour **13b**. Nous pouvons supposer que les conformères A, B et C du cyclohexamère **13b** sont plus stables que ceux du composé **13a**.

IX.1.2 Par spectroscopie infrarouge

Le spectre du cyclohexamère hétérochiral **13b** a été réalisé à une concentration de $0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans CDCl_3 suffisamment faible pour s'affranchir de liaisons hydrogène intermoléculaires (Figure 99).

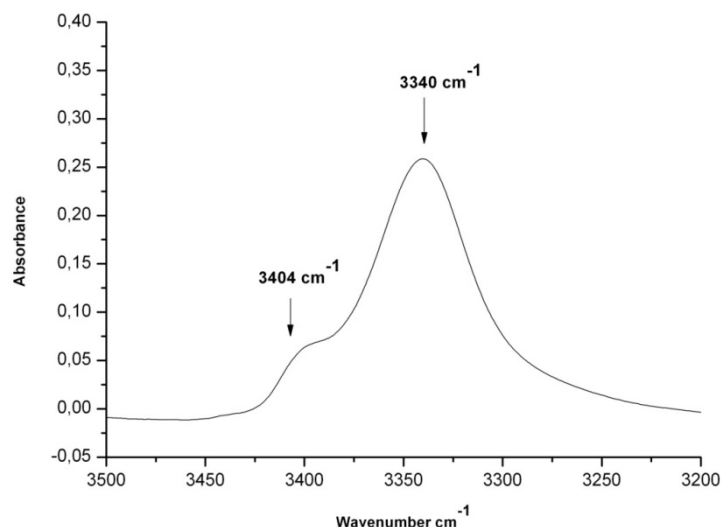


Figure 99: Spectre infrarouge du cyclohexamère hétérochiral **13b dans la zone des élongations de liaison des groupements NH ($\text{CDCl}_3/0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)**

Dans le domaine d'élongation de la liaison N-H, le cyclohexamère hétérochiral **13b** présente une bande au delà des 3400 cm^{-1} c'est-à-dire dans la zone des vibreurs NH libres. Nous observons une bande vers 3340 cm^{-1} qui devrait correspondre à un vibreur NH lié. D'après les effets de solvant en RMN, nous pouvons en déduire que ce signal correspond au NH du résidu Alanine. Le signal à 3404 cm^{-1} , quant à lui, correspond à la vibration d'élongation des NH (Phe et azaPhe) libres.

Le spectre de la figure 100 nous présente le domaine d'élongation de la liaison C=O pour le cyclohexamère hétérochiral **13b**.

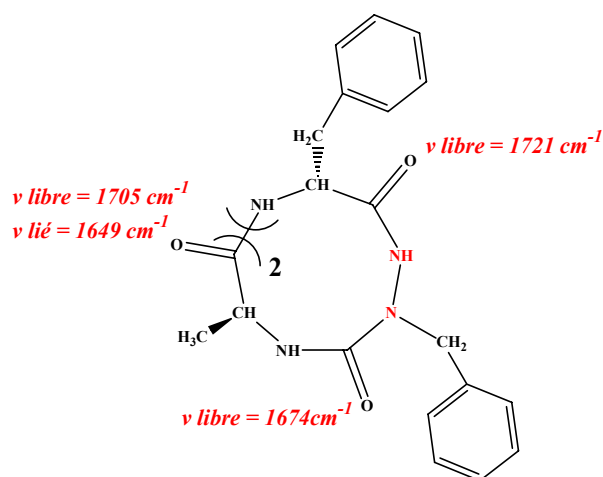
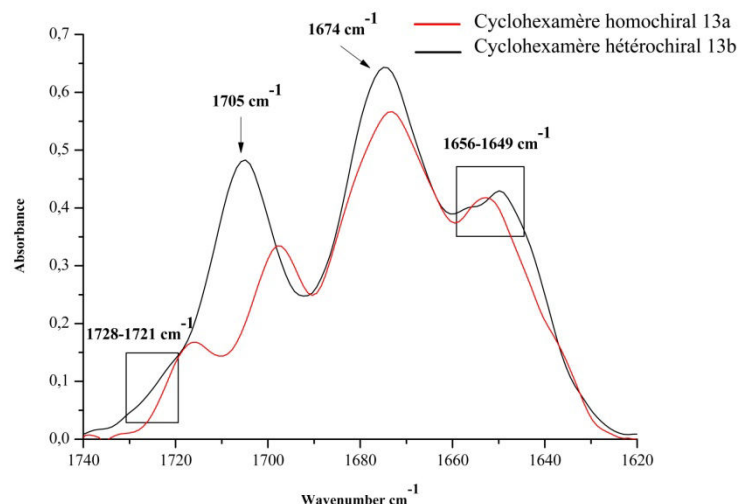


Figure 100 : Spectres infrarouge des cyclohexamères homochiral 13a et hétérochiral 13b dans la zone des vibrateurs C=O (CDCl_3)

D'après les études en RMN, nous avons observé l'existence de trois conformères A, B et C. La durée de temps d'analyse (« time scale ») en spectroscopie infrarouge étant plus rapide que celui utilisé en RMN, nous devrions observer 12 signaux correspondant aux vibrateurs C=O des trois conformères. Le spectre IR est moins complexe et nous pouvons supposer que les vibrateurs C=O de chaque résidu pour les trois conformères sont similaires. Le comportement du cyclohexamère hétérochiral est similaire à celui du cyclohexamère homochiral : la position des bandes observées est quasiment identique (avec un décalage au maximum de 7 cm^{-1} pour les CO).

A température ambiante, quatre bandes de vibration dans le domaine d'élongation des CO sont observées dans le spectre direct (vers 1649, 1674, 1705 et 1721 cm^{-1}) (Figure 100).

Elles sont attribuées respectivement à C=O (Ala) dans leur état lié par liaison hydrogène intramoléculaire, à C=O (azaPhe), à C=O (Ala) dans leur état libre et à C=O (Phe).

Il est très difficile d'attribuer tous les bandes de C=O correspondant à chaque conformères. Par contre, on observe une bande à 1642 cm^{-1} sur la dérivée seconde du spectre (Figure 101) qui correspond à un CO carbonyle lié sous forme de coude β .

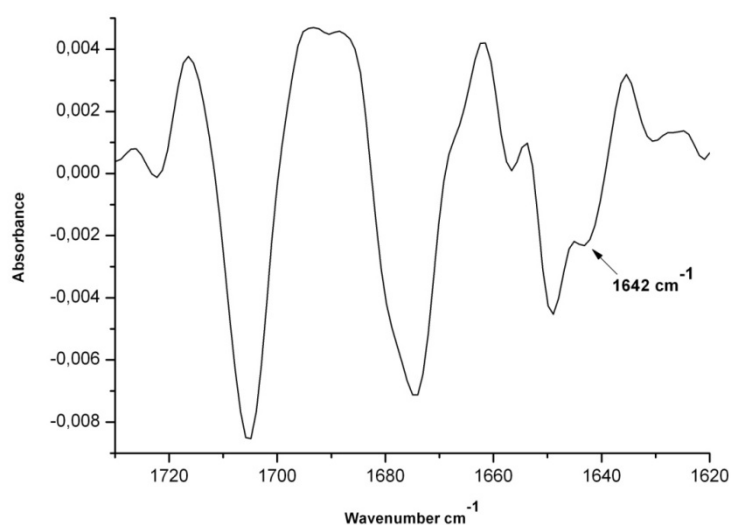


Figure 101: Dérivée seconde du spectre infrarouge du cyclohexamère hétérochiral 13b dans la zone des vibrateurs C=O ($\text{CDCl}_3/0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)

Nous pouvons supposer qu'il y a au moins un des conformères sous la forme de coude β .

IX.1.3 Par résonance magnétique nucléaire

Afin d'identifier le type de coude β au sein de notre cyclo 2:1-[α /aza]-hexamère hétérochiral **13b**, nous avons analysé les couplages dipolaires présents par des expériences ROESY en RMN 2D (Figure 102).

Le spectre de **13b** a été réalisé à une concentration de $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et à une température de 278 K à laquelle la résolution est optimale.

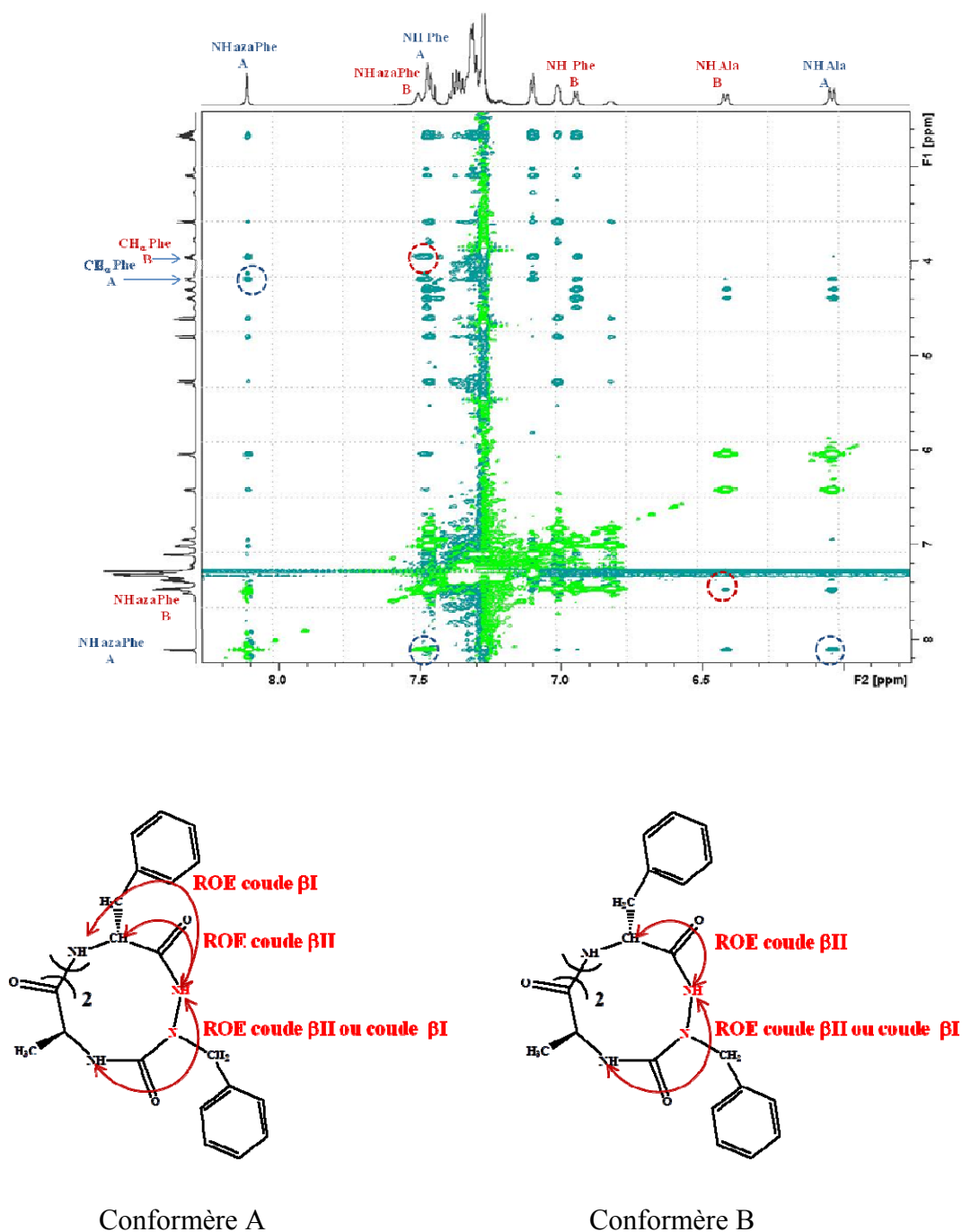


Figure 102: Carte 2D ROESY du cyclohexamère hétérochiral 13b en solution dans CDCl_3 / $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$
 Le conformère C est minoritaire et les protons NH de ce conformère sont superposés aux protons aromatiques. Il est donc difficile de déterminer la structure de ce conformère.

Pour les conformères A et B, nous supposons qu'ils sont sous forme de double coude β . Certaines corrélations ROE nous permettent d'identifier le type de coude β . Une forte corrélation entre CH_α (Phe) et NH (azaPhe) et une moyenne corrélation entre

NH (azaPhe) et NH (Ala) indiquent que le conformère B adopte une conformation de type coude β II (Figure 102). Par ailleurs, d'après l'étude structurale réalisée en série acyclique, nous savons que la configuration absolue R des résidus phénylalanine permet de changer la conformation coude β II en coude β II'. Nous supposons donc que le cyclohexamère hétérochiral **13bB** présente un double coude β II' (Figure 103).

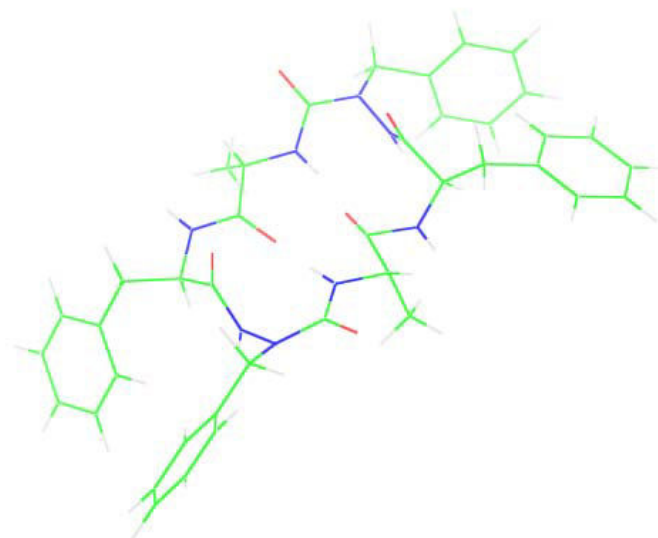


Figure 103 : Représentation du double coude β II' dans le composé 13bB

La présence d'une faible corrélation entre NH (Phe) et NH (azaPhe) suggère que le conformère A adopte partiellement une conformation de type coude β I' avec les NH non perpendiculaires au plan et donc défavorise l'empilement.

IX.2 Etudes structurales du cyclohexamère hétérochiral 2:1-[α /aza] 13b en solution à une haute concentration

IX.2.1. Par résonance magnétique nucléaire

Nous avons d'abord décidé d'étudier l'influence de la concentration sur notre cyclohexamère hétérochiral **13b** en RMN ^1H dans CDCl_3 en faisant varier celle-ci de $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $10 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Il n'était cependant pas possible d'aller au-delà de $10 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, en raison de la faible solubilité de ce cyclohexamère dans CDCl_3 (Figure 104).

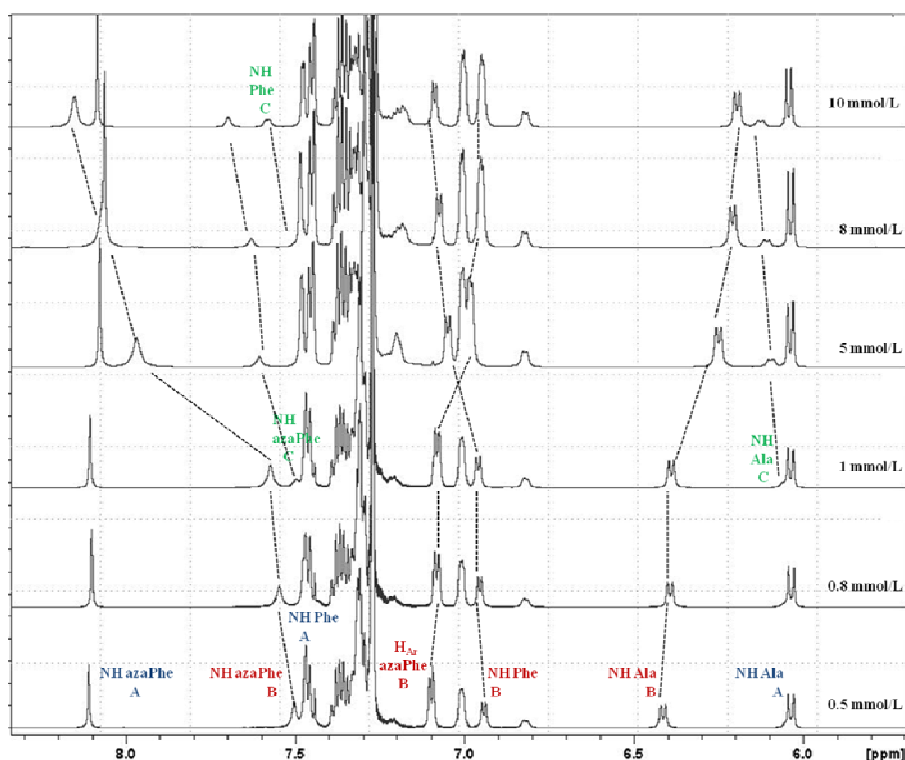


Figure 104: Spectres RMN 1H du cyclohexamère hétérochiral **13b à différentes concentrations (de $c = 0,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $c = 10 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) dans CDCl_3**

Pour le conformère C, très minoritaire, tous les protons NH du cyclohexamère **13b** subissent un déblindage. Cependant les signaux RMN ne sont pas bien résolus. De plus, les corrélations en RMN 2D (Figure 104) ne permettent pas de déterminer le type de conformation.

Pour le conformère A, nous n'observons aucun changement significatif au niveau du déplacement chimique des protons NH Ala et AzaPhe par variation de la concentration. Ces protons sont donc très peu sensibles à la variation de concentration. Par ailleurs, on peut supposer que ce conformère adopte une conformation de type βI avec des NH non perpendiculaires au plan et ne peut donc s'associer en nanotube.

Pour le conformère B, comme le montre la figure 104, les signaux des protons NH (Phe et azaPhe) du cyclohexamère hétérochiral **13b** subissent un déblindage (de 6.94 à 7.08 ppm pour NH Phe et 7.5 à 8.15 ppm pour NH azaPhe). Nous pouvons remarquer que les protons NH Ala, liés par liaisons hydrogène, subissent un faible blindage (de 6.41 à 6.19 ppm). Cela peut être la conséquence de la rupture des liaisons

hydrogène intramoléculaire au profit de la formation de liaison hydrogène intermoléculaire. Le blindage des protons aromatiques des azaPhe (de 7.09 à 6.94 ppm) témoignent d'interactions de type π - π stacking.¹¹³

Nous avons vu pour **13a** que l'augmentation de la concentration provoque une évolution des proportions des différents conformères vers une structure supramoléculaire plus stable. Dans le cas du cyclohexamère hétérochiral **13b**, les proportions de chaque conformère ne varient pas avec la concentration. L'intensité des signaux restant constante, nous supposons que le conformère A n'évolue pas et reste à l'état libre. Les conformères A et C sont très stables et il est difficile de dépasser la barrière d'énergie vers la formation des molécules associées. Cela est cohérent avec les résultats qu'on a obtenus lors des études par effet de solvant.

Nous avons postulé dans le paragraphe précédent que le conformère **13bB** est sous forme de double coude β II'. A priori, cette configuration est en faveur d'une organisation en nanotubes. Comme dans le cas du cyclohexamère homochiral **13a**, les protons NH (azaPhe) de **13bB** sont perpendiculaires au plan du cycle et forment une liaison hydrogène avec les C=O (Phe) d'un autre macrocycle, conduisant à un nanotube. Concernant les NH Phe, les résultats obtenus par variation de concentration ne permettent pas de déterminer la nature des liaisons hydrogène qu'ils engendrent. Aussi, nous avons réalisé des expériences ROESY dans le CDCl₃ à $5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ afin de mettre en évidence des interactions intermoléculaires à longue distance (Figure 105).

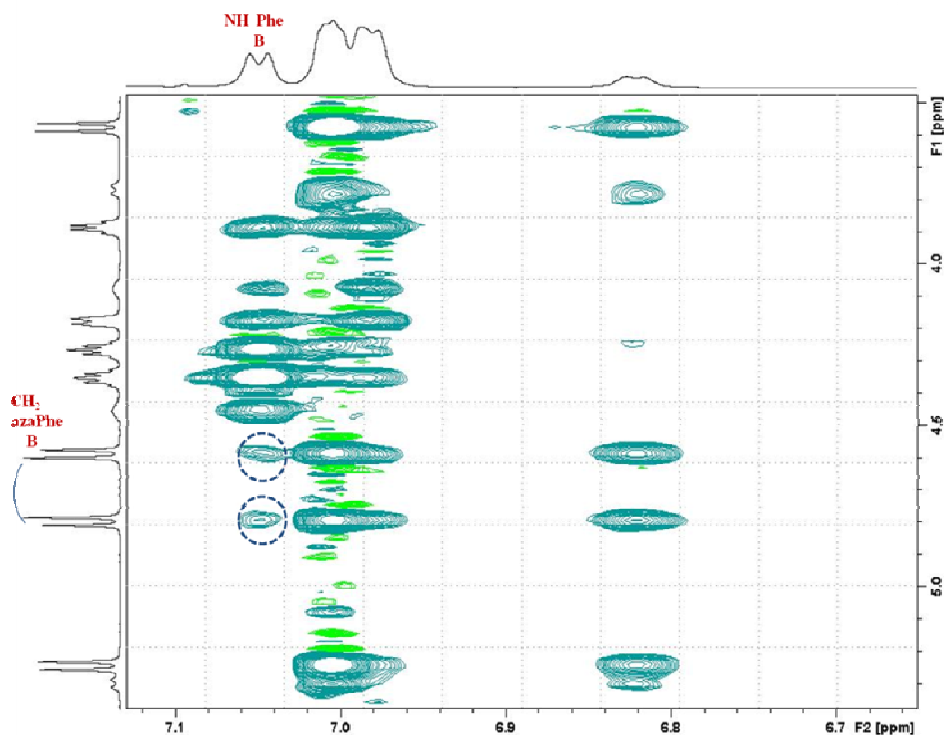


Figure 105: Carte 2D ROESY du cyclohexamère hétérochiral **13b en solution dans CDCl_3 / $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$**

Des effets ROE entre les protons NH (Phe) et les protons CH_2 des résidus azaPhe ont pu être observés pour ce conformère **13bB**. Nous pouvons exclure une corrélation intramoléculaire en raison de la distance trop importante entre atomes dans le cas d'un coude $\beta\text{II}'$. Toujours pour des raisons de distance, il ne peut pas s'agir d'une corrélation entre deux cycles d'un même nanotube. Les corrélations ROE caractéristiques des coudes $\beta\text{II}'$ ne varient pas à haute concentration, ce qui signifie que cette conformation n'est pas perturbée dans la construction supramoléculaire.

Notre hypothèse est que le cyclohexamère **13bB** s'associe selon deux processus différents :

- par liaisons hydrogène entre les protons NH (azaPhe) d'un cyclohexamère et les $\text{C}=\text{O}$ (Phe) d'un autre cyclohexamère pour former les nanotubes (conformation en feuillet β parallèle)
- par liaisons hydrogène entre protons NH (Phe) d'un nanotube et les $\text{C}=\text{O}$ (azaPhe) d'un autre nanotube (conformation en feuillet β anti-parallèle).

Une représentation de ce type d'organisation est donnée dans la figure 106.

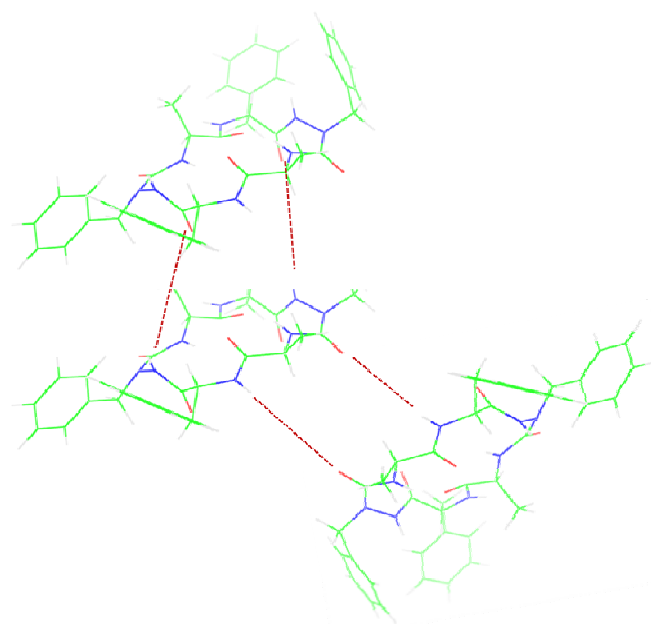
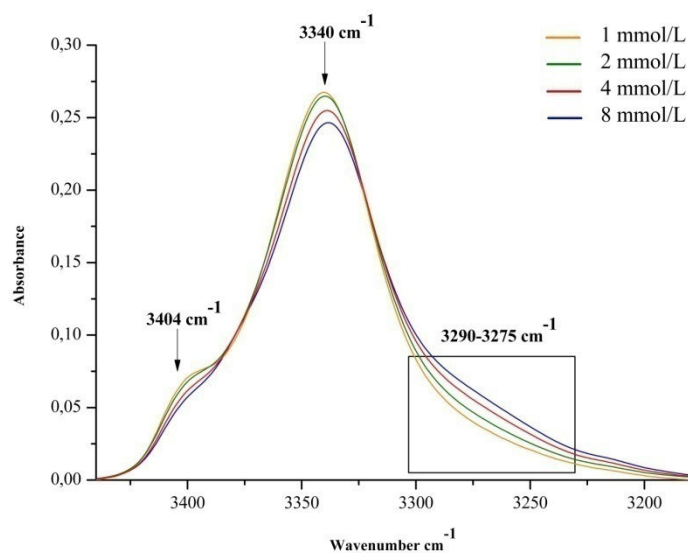


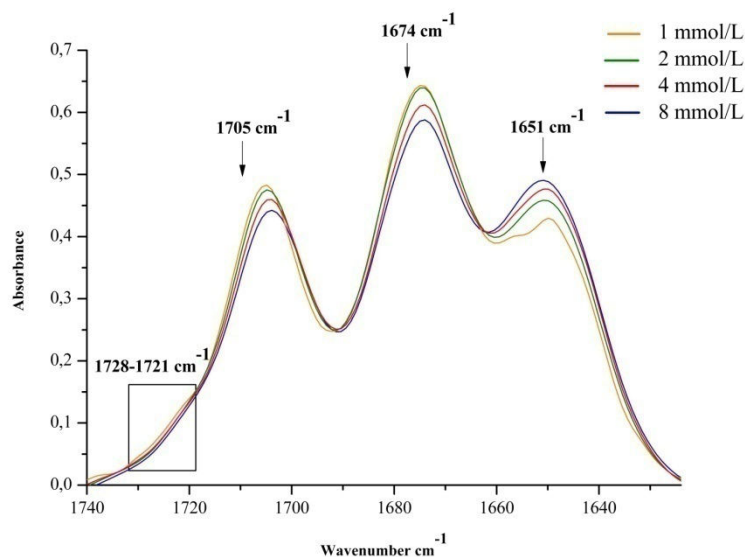
Figure 106 : Mode des empilements par liaisons hydrogène envisageables pour le cyclohexamère hétérochiral 13b

IX.2.1 Par spectroscopie infrarouge

Nous avons poursuivi nos investigations par une étude IR. Nous avons fait varier la concentration de $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans CHCl_3 et observé l'allure des spectres IR obtenus (Figure 107).



(a)



(b)

Figure 107: Spectres IR du 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral 13b à différentes concentrations ($1 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$, $2 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$, $4 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$ et $8 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$) dans CHCl $_3$

Dans le domaine d'élongation (a) de la liaison NH, nous observons une bande d'absorption à 3404 cm^{-1} qui correspond aux protons NH (Phe et azaPhe) libres et qui diminue avec l'augmentation de la concentration. Cette observation confirme les études en RMN en fonction de la concentration où nous constatons un déblindage des protons NH Phe et azaPhe.

La bande à 3340 cm^{-1} correspond aux NH Ala liés par liaison hydrogène intramoléculaire et qui diminue également. Il est difficile de savoir si cette diminution est due à la rupture des liaisons hydrogène intramoléculaires vers l'état libre et/ou la formations de liaisons intermoléculaires. Par contre, nous observons une augmentation de la bande vers 3275 cm^{-1} qui correspond à des liaisons hydrogène intermoléculaires. De la même manière, nous retrouvons le même comportement sur le spectre (b) correspondant au domaine d'élongation de la liaison C=O quand nous augmentons la concentration. Les groupements carbonyles impliqués dans des liaisons hydrogène intermoléculaires se situent à 1651 cm^{-1} et sont superposés avec les C=O du résidu Alanine liés de façon intramoléculaire.

Les signaux des C=O (azaPhe), C=O (Ala) et C=O (Phe) respectivement à 1674, 1705 et vers 1721 cm^{-1} diminuent avec l'augmentation de la concentration des échantillons.

Ces études IR en fonction de la concentration permettent de confirmer l'association des molécules et de montrer que tous les groupements carbonyle sont impliqués dans l'association des molécules.

Compte tenu de l'auto-association des monomères en réseau tridimensionnel, il était intéressant de voir si le composé **13b** pouvait avoir des propriétés organogélatrices.¹¹⁴

IX.3 Analyse conformationnelle du 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral **13b sous forme de gel**

Le cyclohexamère hétérochiral **13b** a aussi la capacité de former des gels dans le toluène, le cyclohexane et le diisopropyle éther. Nous nous sommes proposés d'étudier des gels obtenus à partir de cyclohexamères **13b** dans différents solvants afin de savoir si ils avaient le même type d'organisation.

Le chauffage du composé **13b** dans le toluène, le cyclohexane ou le diisopropyle éther conduit, après refroidissement, à un gel. Le 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral **13b**, dont la masse molaire est inférieure à 2000 g.mol⁻¹, peut alors être qualifié d'Organo Gélateur de Faible Poids Moléculaire (OGFPM).¹¹³ Ces gels sont généralement dus à des assemblages supramoléculaires maintenus par des liaisons faibles de type liaisons hydrogène, π - π -stacking etc., capables de piéger un solvant par un réseau à trois dimensions. Ces gels sont des gels physiques thermoréversibles.

Dans la plupart des cas reportés dans la littérature, les signaux RMN des gélateurs disparaissent à l'état gel alors qu'ils sont présents à l'état liquide.¹¹⁵ Cela s'explique par le fait qu'en considérant les fibres de ces gels comme un cristal de gélateurs, la mobilité des molécules dans ce cristal serait donc limitée et les molécules de solvants exclues. Cette disparition des signaux en RMN est un critère de reconnaissance des gels dits «secs».

Lorsqu'au contraire, il est possible d'observer des signaux bien résolus en RMN, ceci suggère que les molécules gélatrices gardent une bonne mobilité dans les fibres, celles-ci se laissant incorporer par des molécules de solvants. On parlera alors de gel «mouillé».

Ce phénomène implique donc que le gélateur emprisonne le solvant, en le piégeant dans un réseau de liaisons non covalentes constitué des molécules gélatrices. La formation du gel est donc le témoin de l'existence d'une organisation intermoléculaire en solution (donc au sein du gel). Avant de déterminer la construction

supramoléculaire proprement dite, nous avons d'abord étudié la structure correspondant au cyclohexamère hétérochiral monomérique à une faible concentration ($0.1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) dans le toluène. Comme dans le CDCl_3 (Figure 97), nous observons deux conformères A et B (Figure 108).

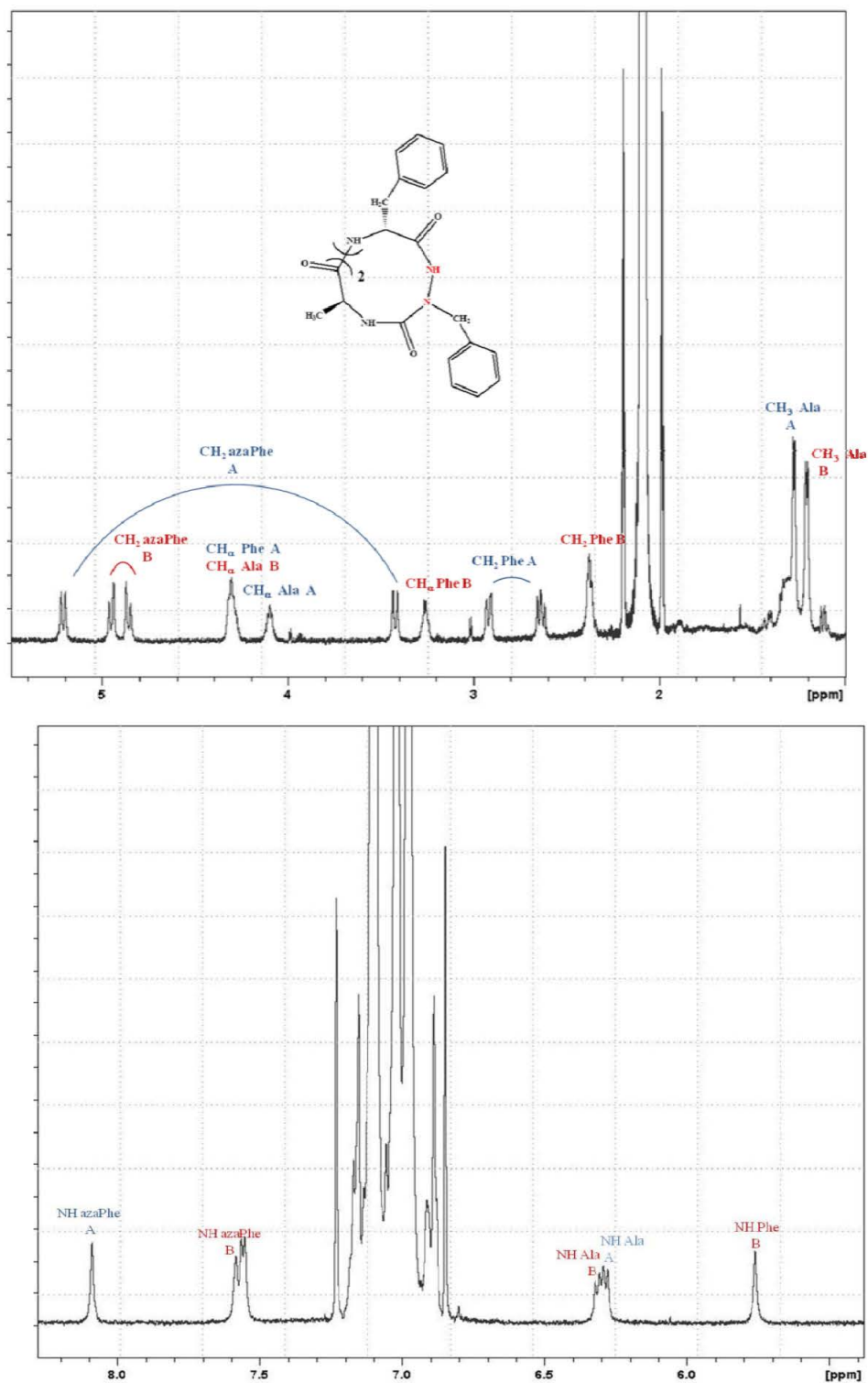


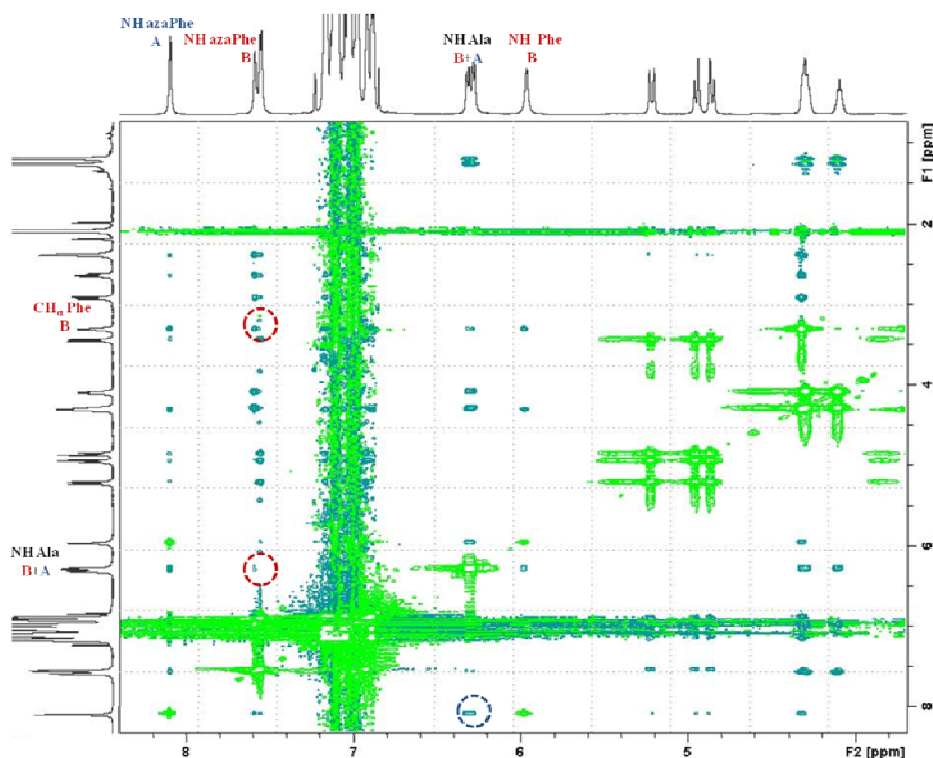
Figure 108 : Spectres RMN ^1H du cyclohexamère hétérochiral 13b (toluène- d_8 / $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)

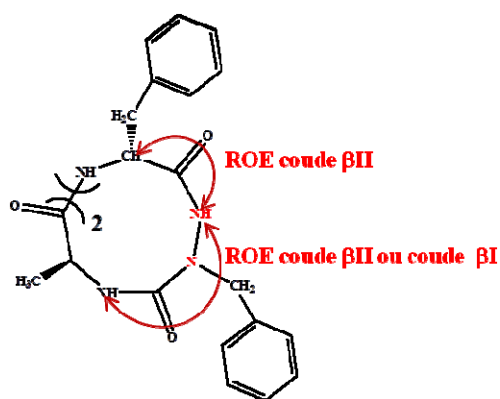
La figure 101 montre qu'à $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans le toluène- d_8 , les signaux correspondant au gélateur **13b** sont bien résolus. La comparaison des déplacements chimiques des protons dans CDCl_3 et le toluène- d_8 montre que seuls les protons NH (Ala) sont situés dans la zone de NH liés autour de 6.2 ppm aussi bien dans CDCl_3 que dans le toluène- d_8 .

On remarque également que les protons méthyléniques des groupements benzyles sont non-équivalents. Nous supposons que la conformation en double coude β n'est pas perturbée dans le toluène- d_8 pour les conformères A et B.

Afin de vérifier s'il adopte le même type de coude β dans le toluène- d_8 que celui obtenu dans CDCl_3 , nous avons analysé les couplages dipolaires présents par des expériences ROESY en RMN 2D (Figure 109).

Le cyclohexamère hétérochiral **13b** a été analysé dans le toluène- d_8 à une concentration de $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (évitant les contacts intermoléculaires) et à 293 K.





Conformère B

Figure 109: Carte 2D ROESY du cyclohexamère hétérochiral 13b en solution dans toluène- d_8 / $1 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$

Le signal du proton NH (Phe) du conformère A étant sous le signal du toluène, nous ne pouvons pas observer tous les couplages dipolaires associés à ce proton. Par contre, on peut observer une corrélation entre les protons NH AlaA et NH azPheA impliquant un coude β . Toutefois, nous ne pouvons pas déterminer le type de coude β comme nous l'avions fait dans le $CDCl_3$.

Par contre, les protons NH (azaPhe), NH (Ala) et CH_α (Phe) du conformère B sont bien séparés les uns des autres. Une forte corrélation entre CH_α (Phe) et NH (azaPhe) ainsi qu'une moyenne corrélation entre NH (azaPhe) et NH (Ala) indique que le conformère B adopte un coude de type βII . Nous verrons dans le paragraphe suivant que ce conformère est sensible à la concentration des échantillons comme c'était le cas dans $CDCl_3$.

IX.3.1 Analyse par RMN: influence de la concentration sur le 2:1- $[\alpha/aza]$ -cyclohexamère hétérochiral 13b dans le toluène- d_8

Lorsqu'un gel est observé à partir d'une concentration connue d'organogélateur dans un solvant donné, la CCG est déterminée comme étant la concentration minimale de gélateur permettant la gélification du solvant. Dans notre cas, le 2:1- $[\alpha/aza]$ -cyclohexamère hétérochiral **13ba** a une CCG de 3 mg.ml $^{-1}$ (ou $4.1 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$).

Nous avons ensuite décidé d'étudier l'influence de la concentration sur notre 2:1- $[\alpha/aza]$ -cyclohexamère hétérochiral **13b** en RMN 1H , en faisant varier celle-ci de

$10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ à $6 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Quand on augmente la concentration de gélateur jusqu'à l'état gel à $4 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (Figure 110), les signaux correspondants au gélateur **13b** sont toujours visibles mais moins bien résolus. Ce résultat suggère que les molécules gélatrices gardent une bonne mobilité dans les fibres et il semble cohérent avec la notion de «gel mouillé».¹¹⁵⁻¹¹⁷

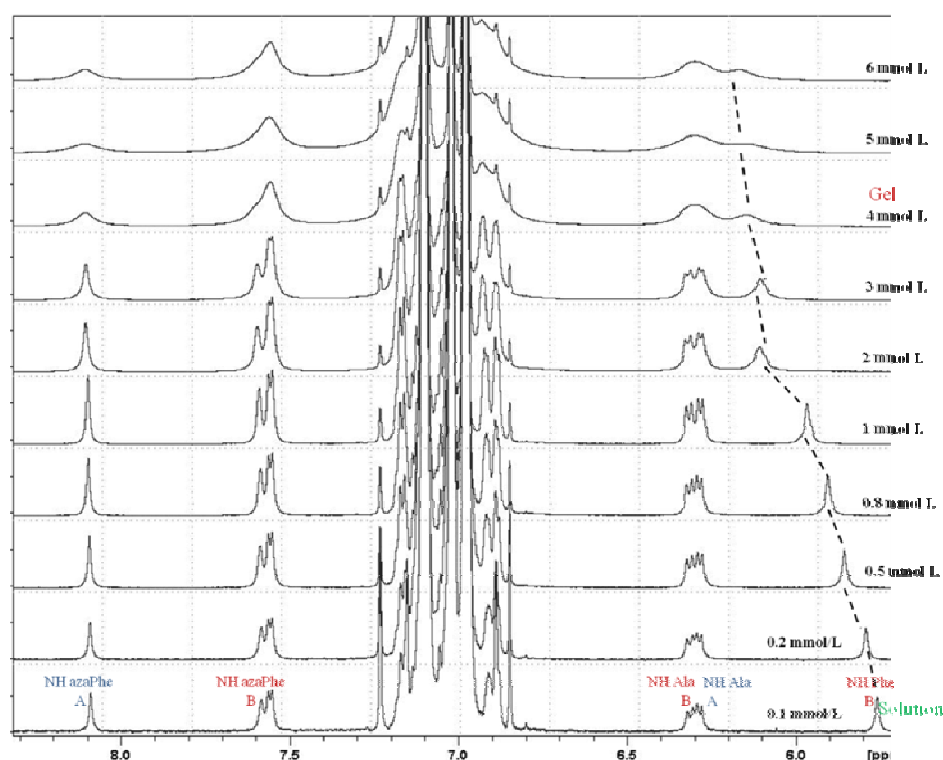


Figure 110 : Spectres RMN 1H du cyclohexamère hétérochiral **13b à différentes concentrations (de $c = 0.1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $c = 6 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) dans le toluène- d_8 .**

D'après les études en fonction de la concentration dans le toluène- d_8 , on n'a observé qu'un signal du proton NH(Phe) du conformère B subit un déblindage (de 5.76 à 6.15 ppm) et un élargissement quand la concentration passe de $3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $4 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (état gel). Ces observations indiquent de façon directe que les signaux observés en RMN à l'état gel correspondent à des molécules associées par liaisons hydrogène.¹¹⁸⁻¹²¹ Le NH(Phe) du conformère A étant sous le signal du toluène, il n'est pas possible de savoir s'il est déblindé et donc s'il participe à formation d'un organogel.

Nous savons que les gels de molécules de faible masse moléculaire sont généralement dus à des assemblages supramoléculaires, capables de piéger un solvant par un réseau à trois dimensions formé par des liaisons faibles de type liaisons hydrogène, π - π

stacking etc. Nous n'observons pas d'évolution du signal du NH (azaPhe) en principe responsable (au moins dans le CDCl_3) de l'empilement en nanotube. Par contre, en passant de la solution à l'état gel, nous observons le shift du NH(Phe) qui serait responsable d'une association latérale. Si l'on considère qu'un réseau tridimensionnel est nécessaire pour former un gel, nous pouvons supposer qu'il existe deux possibilités :

- L'empilement unidimensionnel en nanotube existe déjà à une faible concentration ($0.1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$)
- Des interactions de π - π stacking, qui ne sont pas visibles en RMN, interviennent dans la construction de réseau tridimensionnel.

L'empilement unidimensionnel à $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ est maintenu par des liaisons faibles, ce qui en fait d'excellent candidat pour des analyses structurales en température. La thermo réversibilité du gel nous donne la possibilité d'en étudier l'évolution ainsi que certaines de ses propriétés (notamment sa température de transition sol/gel: T_g) en fonction de la température.¹¹³ En effet, les signaux que l'on observe à l'état gel traduisent en fait un équilibre entre la molécule gélatrice et le système supramoléculaire. Nous avons donc décidé de soumettre le gel à différentes études IR et RMN ^1H en variant la température et la concentration de l'échantillon afin de savoir comment se forme le réseau à trois dimensions à partir du 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral **13b**.

Des spectres du cyclohexamère hétérochiral **13b** ont été enregistrés dans le toluène- d_8 à différentes températures comprises entre 25 °C (état gel) et 60 °C (état solution) pour analyser l'évolution des signaux des protons quand on passe du gel à la solution (Figure 111).

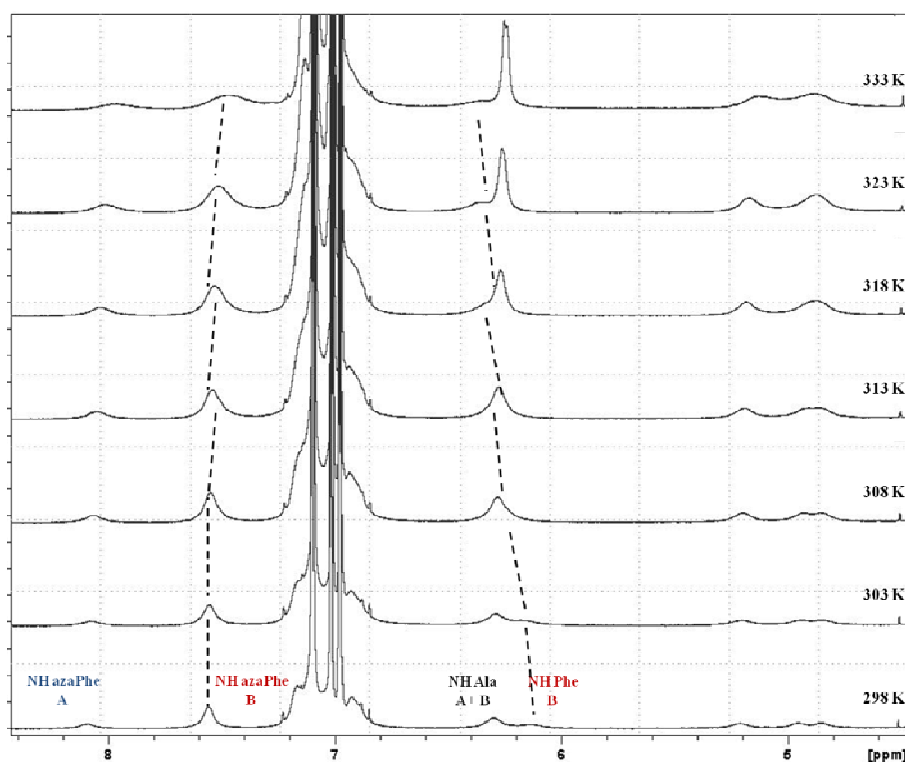


Figure 111 : Spectres RMN 1H du gélateur **13b en température de 25 °C à 60 °C dans le toluène- $d_8/4 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$**

A mesure que la température augmente, on observe une amélioration progressive de la résolution spectrale et un affinement significatif des signaux juste après 50°C qui traduisent un comportement «liquide» des molécules gélatrices.

De plus, on observe un léger blindage des protons NH azaPhe pendant la montée en température des gels. Ce phénomène a déjà été observé dans la littérature et décrit par Allix au laboratoire.¹¹³ Il semblerait donc que ce blindage soit le fait d'un désassemblage de l'édifice supramoléculaire en petits agrégats dans lesquels les protons seraient plus blindés. Dans notre cas, ceci pourrait donc correspondre à un certain réarrangement de nos molécules. Par contre, les protons NH (Phe) subissent un léger déblindage pendant la montée en température des gels. Nous les interprétons comme la solvation des NH par le toluène- d_8 (détaillé dans le paragraphe suivant). Les protons NH (Ala) sont insensibles à la variation de température, cela confirme que ces protons sont impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaire.

Les études RMN ^1H en température réalisées sur le gélateur cyclohexamère **13b** nous ont permis de confirmer notre hypothèse : un empilement unidimensionnel existe déjà à une faible concentration ($0.1 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$), par des cyclohexamères sous forme de

double coude β II, selon des liaisons hydrogène intermoléculaires NH (azaPhe) perpendiculaires au plan du cycle.

Pour vérifier que les protons NH (Phe) s'associent latéralement, nous avons fait une analyse par RMN 2D ROE à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

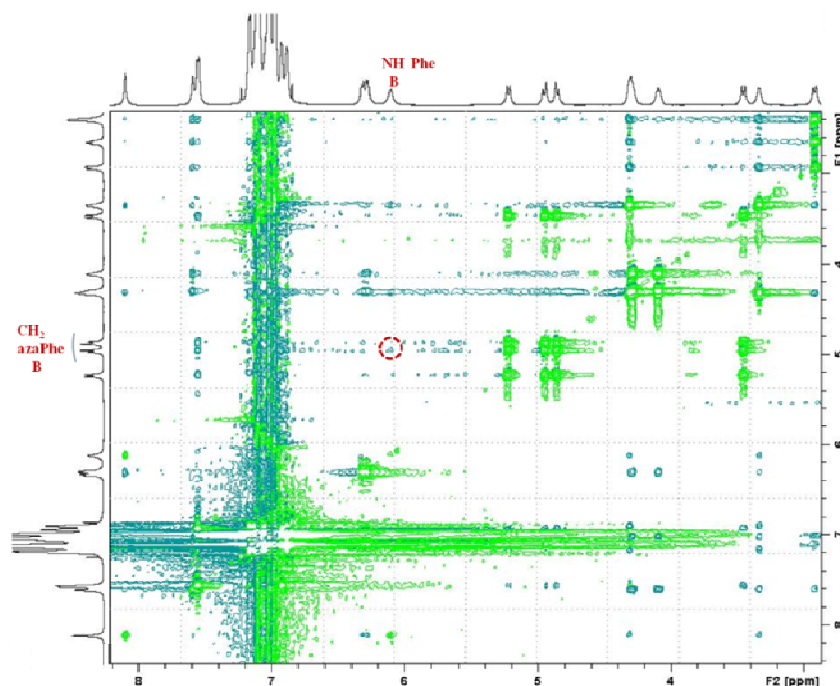


Figure 112 : Carte 2D ROESY du cyclohexamère hétérochiral 13b en solution dans le toluène- d_8 / $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

Les interactions intermoléculaires entre les protons NH (Phe) et les protons CH_2 (azaPhe) des résidus acides aza-aminés (Figure 112) confirment l'association latérale des cyclohexamères hétérochiraux.

IX.3.2 Analyse par IR: influence de la concentration sur le 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral 13b dans le toluène- d_8

Nous avons donc réalisé des analyses IR dans le toluène- d_8 (Figure 113) en faisant varier la concentration de $0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ afin de conforter nos analyses RMN ^1H .

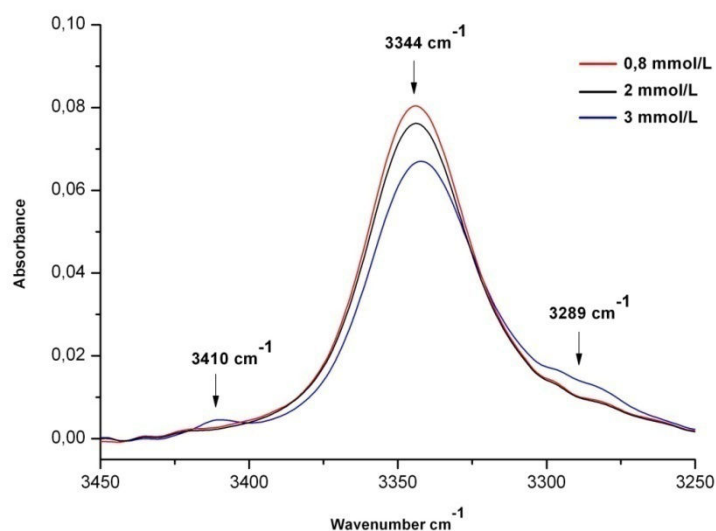


Figure 113 : Spectres IR du 2:1-[α /aza]-cyclohexamère hétérochiral 13b à différentes concentrations ($0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) dans la zone des élongations de liaison des groupements NH (toluène- d_8)

De $0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, l'échantillon est à l'état liquide, nous avons alors observé dans un premier temps la présence d'une bande d'absorption unique dans le domaine d'élongation de la liaison NH ($\nu_{\text{N-H}} = 3344 \text{ cm}^{-1}$) (Figure 113). En effet, cette bande se situe dans la zone des NH liés et normalement indique la présence de liaisons hydrogène au sein de nos macrocycles. Cependant, d'après les études en RMN, nous savons que le proton NH (Phe) du conformère B subit un déblindage en augmentant la concentration des échantillons. On peut en déduire qu'au moins un des protons n'est pas impliqué dans des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Donc on peut supposer que l'absence de bandes d'absorption dans la zone d'élongation de la liaison NH libre est due à des interactions NH- π entre les molécules gélatrices et les molécules de toluène- d_8 .^{122,123}

Nous observons que l'intensité de la bande à 3344 cm^{-1} diminue légèrement en intensité en augmentant la concentration des échantillons de $0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Par contre, cette diminution n'est pas compensée et nous n'observons aucune autre modification pour cette partie du spectre.

A $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, nous savons que l'échantillon donne une solution visqueuse formée par un mélange d'un peu de gel et majoritairement de solution liquide. Dans le spectre

à $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, nous observons l'apparition de nouvelles bandes dans la zone des élongations de liaison des groupements NH mais aussi dans la zone des vibreurs C=O.

Dans le domaine d'élongation de la liaison NH, nous observons deux nouvelles bandes d'absorption : l'une dans la zone des NH libres à 3410 cm^{-1} et l'autre dans la zone des NH liés à 3289 cm^{-1} . Comme expliqué plus tôt, les analyses en RMN nous permettent d'observer des signaux qui correspondent aux molécules gélatrices en solution piégées dans les fibres gélatrices. Cependant, par spectroscopie infrarouge, nous pouvons observer des signaux correspondant aux molécules gélatrices en solution ainsi que des signaux correspondant aux molécules gélatrices impliquées dans la formation des fibres. Donc nous pouvons imaginer que les nouvelles bandes d'absorption correspondent aux molécules gélatrices impliquées dans le réseau gel.

Nous nous sommes intéressés à différencier les nouvelles bandes correspondant au gel et en solution afin de mieux comprendre l'édifice supramoléculaire.

Comme dans les interprétations précédentes, nous avons dit que les fibres gélatrices sont formées par des empilements bidimensionnels des cyclohexamères hétérochiraux, tous les protons NH sont impliqués dans des liaisons hydrogène soit intermoléculaires ou intramoléculaires comme l'indique l'absence des bandes dans la zone de NH libres ($\nu_{(N-H)} > 3400 \text{ cm}^{-1}$). Par contre à $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ nous avons observé une bande à 3410 cm^{-1} . Nous supposons que cette bande correspond aux molécules gélatrices à l'état libre.

Les attributions des bandes dans le domaine d'élongation des C=O ont été déterminées dans le chloroforme à une faible dilution. En comparant les spectres dans le CDCl_3 et le toluène- d_8 , nous remarquons que toutes les bandes sont situées quasiment à la même position sauf la bande à 1674 cm^{-1} qui se déplace de 7 cm^{-1} vers les longueurs d'onde plus élevées dans le toluène- d_8 (Figure 114).

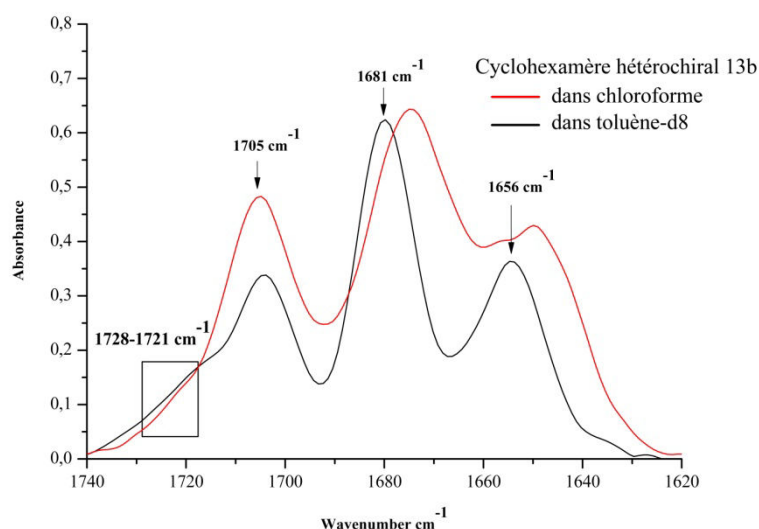


Figure 114 : Spectre infrarouge du cyclohexamère hétérochiral 13b dans la zone des vibrateurs C=O (CDCl₃ et Toluène-*d*₈)

Nous supposons que la conformation du cyclohexamère hétérochiral dans le chloroforme est légèrement différente de celle obtenue dans le toluène-*d*₈.

Le spectre correspondant au domaine d'élongation de la liaison C=O en fonction de concentration a été aussi étudié (Figure 115).

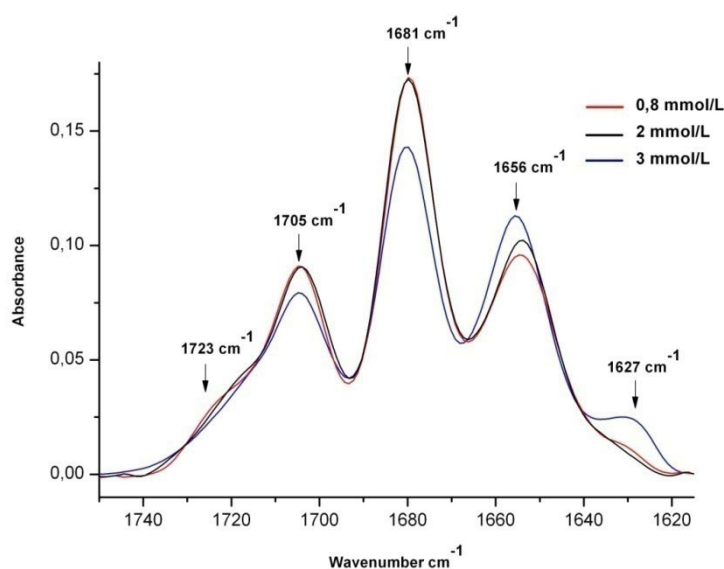


Figure 115 : Spectres IR du 2:1-[α/aza]-cyclohexamère hétérochiral 13b à différentes concentrations ($0.8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) dans la zone des vibrateurs C=O (Toluène-*d*₈)

Nous observons que l'intensité de la bande à 1656 cm^{-1} augmente légèrement avec la concentration de l'échantillon de 0.8 à $2 \cdot 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$. Ceci signifie que les groupements carbonyles sont liés par des liaisons hydrogène intermoléculaires. Ils sont superposés aux C=O (Ala) liés par liaison hydrogène intramoléculaire. Nous n'avons malheureusement pas pu observer la diminution d'intensité du C=O libre correspondant et donc déterminer avec quels groupements carbonyle les NH (Phe) sont liés.

A $3 \cdot 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$, nous avons observé l'apparition d'une bande avec un nombre d'onde plus bas à 1627 cm^{-1} . Normalement à l'état de gel, les fibres gélatrices donnent une association énergétiquement plus stable par rapport aux associations à l'état liquide, ce qui entraîne un déplacement vers des nombres d'onde plus bas. Donc nous pouvons déduire que la bande à 1627 cm^{-1} correspond aux groupements carbonyles liés par des liaisons hydrogène intermoléculaire à l'état de gel.

La thermo réversibilité du gel nous a donné la possibilité d'en étudier l'évolution ainsi que certaines de ses propriétés (notamment sa température de transition sol/gel: T_g) en fonction de la température. L'examen de l'évolution de ces signaux en fonction de la température devrait sans doute nous renseigner sur l'organisation supramoléculaire de nos gélateurs.

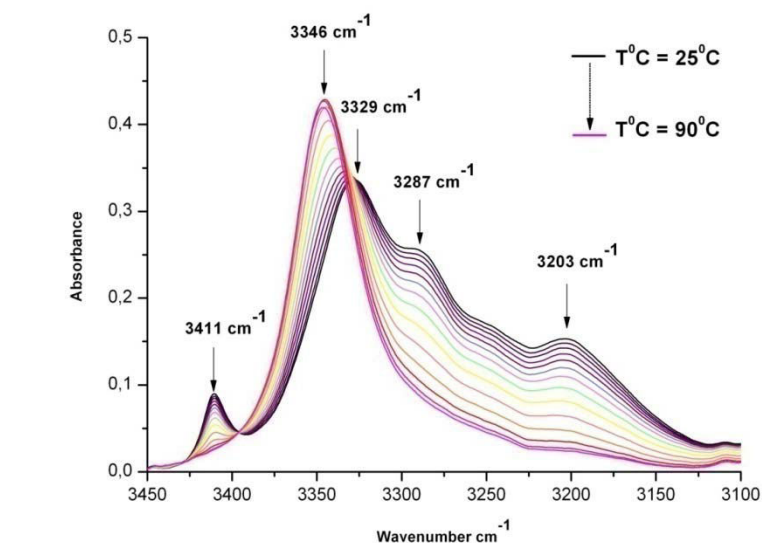
C'est donc ce que nous nous sommes proposés d'étudier par les analyses qui suivent.

IX.3.3 Analyse conformationnelle par IR: influence de la température sur le gélateur cyclohexamère hétérochiral 13b dans le toluène

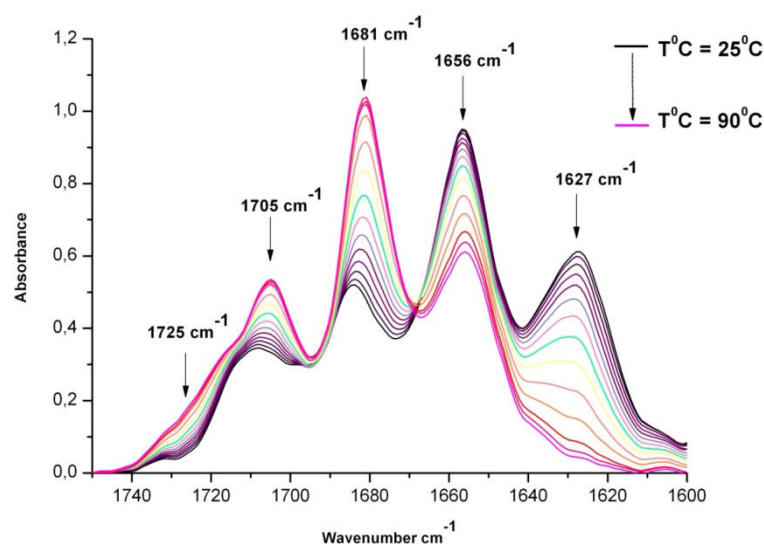
Comme expliqué plus tôt, les gels sont des assemblages supramoléculaires thermoréversibles car maintenus par des liaisons faibles en dessous d'une température appelée T_g , température au-delà de laquelle les liaisons se rompent pour donner une solution.

Nous avons décidé de travailler dans le toluène pour des raisons pratiques afin de pouvoir ensuite comparer les résultats avec la RMN.

Pour cela, nous avons utilisé le même appareillage que dans le cas des spectres IR de routine avec une cellule adaptée à la montée en température (de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour notre étude). (Figure 116).



(a)



(b)

Figure 116 : Spectres IR du gélateur 13b en température (25-90°C) dans le toluène- d_8 à $c = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

En chauffant les gels de 25 °C à 90 °C, la bande NH libre à 3411 cm^{-1} disparaît (Figure 116a). Les bandes des CO liés à l'état liquide (1656 cm^{-1}) et à l'état de gel (1627 cm^{-1}) s'effondrent progressivement en faveur des bandes libres à 1681, 1705 et 1725 cm^{-1} (Figure 116b). Ce comportement est cohérent avec la rupture du réseau de liaisons hydrogène intermoléculaires responsable du phénomène de gélification. Toutes ces observations suggèrent une fois de plus que les groupes NH et C=O sont impliqués dans des liaisons hydrogène intermoléculaires stabilisant le gel. Il est important de noter qu'au passage de la T_g à 45 °C (obtenue par la méthode de pile),

des liaisons hydrogène sont encore présentes. La bande à 1656 cm^{-1} subsiste, même à 90 °C . Cette bande serait donc due au C=O Ala impliqué dans une liaison hydrogène intramoléculaire.

Afin de déterminer la T_g à $5 \cdot 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ du gélateur, nous avons décidé d'étudier l'évolution de l'intensité du vibreur NH libre à 3411 cm^{-1} (Figure 117) et du vibreur C=O lié à 1627 cm^{-1} (Figure 118).

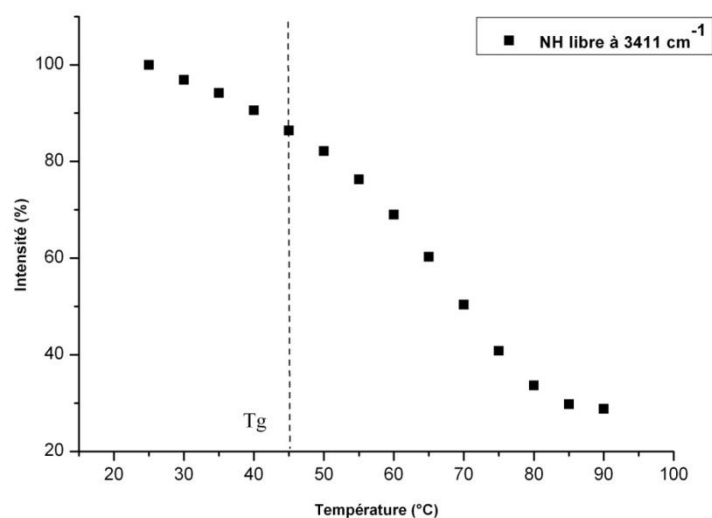


Figure 117 : Evolution de l'intensité, en fonction de la température, des vibreurs NH à 3411 cm^{-1} ($5 \cdot 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ dans le toluène- d_8)

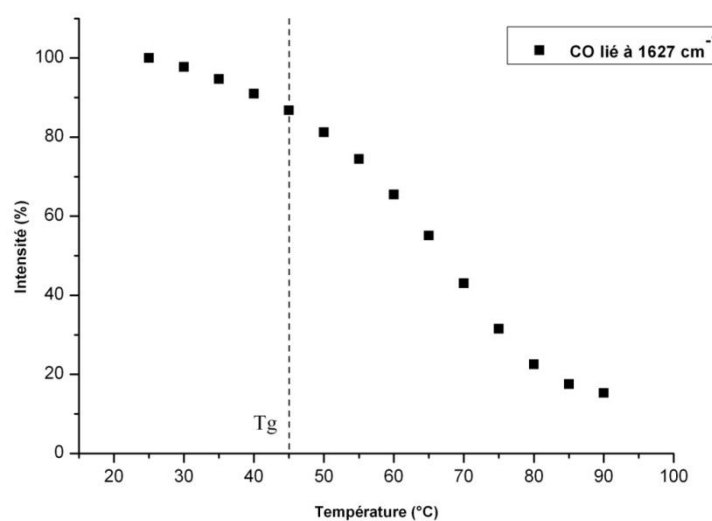


Figure 118 : Evolution de l'intensité, en fonction de la température, des vibreurs CO à 1627 cm^{-1} ($5 \cdot 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ dans le toluène- d_8)

Les figures 111 et 112 représentent respectivement l'évolution de l'intensité des vibreurs NH et C=O caractéristiques du gel, les deux vibreurs suivant la même évolution. Nous avons déterminé la Tg aux environs de 45 °C.

X Analyses structurales du cyclohexamère Phe-azaPhe-Ala-(D)Phe-azaPhe-(D)Ala **13c**

Nous avons démontré que les cyclohexamères homochiral **13a** et hétérochiral **13b** sont capables de former des nanotubes en solution. La configuration absolue des résidus phénylalanine permet de contrôler le type de coude β (β II pour L et β II' pour D). En synthétisant le cyclohexamère **13c**, nous envisageons de créer un coude β de type II à côté de la séquence Phe-azaPhe-Ala et un coude β de type II' à côté de la séquence (D)Phe-azaPhe-(D)Ala. Le cyclohexamère **13c** devrait s'empiler en feuillets β anti-parallèles énergétiquement plus stable.

Malheureusement ces produits n'étant solubles que dans le DMSO et le DMF, nous ne pouvons pas vérifier leur association dans un solvant apolaire.

Le spectre du cyclohexamère **13c** a été enregistré dans le DMSO-*d*₆. Il présente une structure asymétrique comme montré dans la Figure 119.

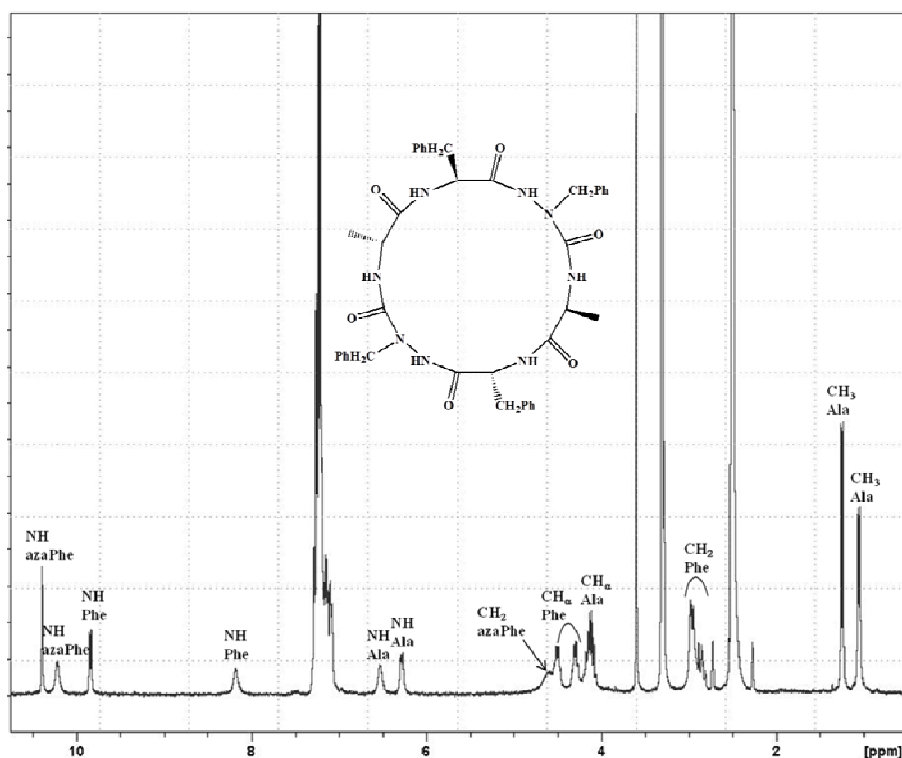


Figure 119 : Spectre RMN 1H du cyclohexamère 13c (DMSO-*d*₆/1*10⁻²mol.L⁻¹)

Etant donné que la molécule n'est pas soluble dans un solvant apolaire, nous ne pouvons pas utiliser la méthode d'effet du solvant pour déterminer des liaisons hydrogène intramoléculaire. Nous supposons que les deux NH Ala sont engagés dans des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Les corrélations ROE nous permettent d'identifier le type de coude β. Une forte corrélation entre CH_α (Phe) et NH (azaPhe) et une moyenne corrélation entre NH (azaPhe) et NH (Ala) indiquent que le cyclohexamère **13c** adopte un coude de type II pour les deux séquences (Figure 120).

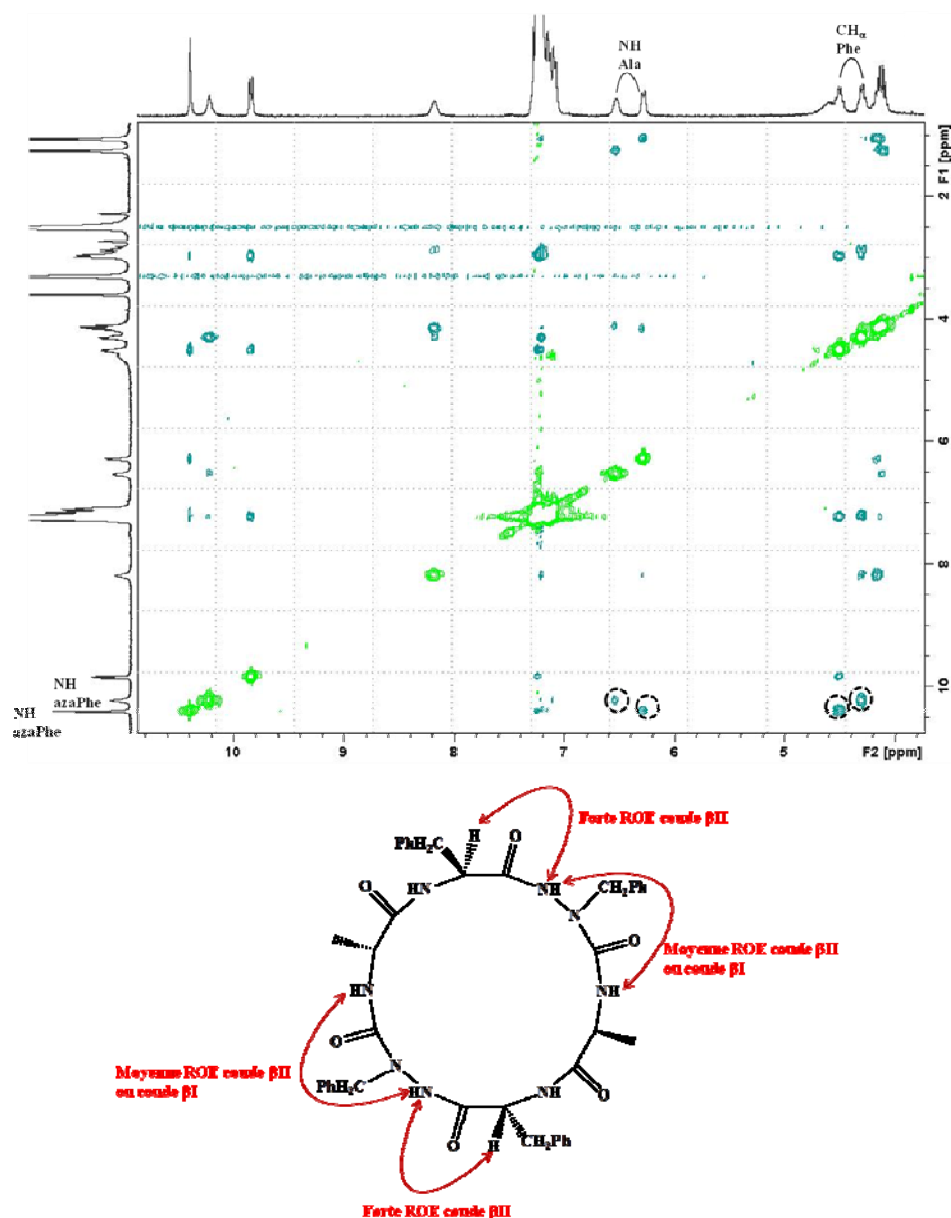


Figure 120 : Carte 2D ROESY du cyclohexamère hétérochiral **13c** en solution dans le (DMSO- d_6 /1*10⁻² mol.L⁻¹)

A partir des expériences réalisées sur les cyclohexamères homochiral et hétérochiral, nous savons que le coude type II est une des conditions pour la formation de nanotube. Si les chaînes latérales n'empêchent pas les empilements des cycles, nous pouvons imaginer que cyclohexamère **13c** va aussi donner une structure nanotubulaire mais plus stable.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit est consacré à la synthèse et à l'étude structurale des 1:1-[α /aza] et 2:1-[α /aza]-oligomères linéaires et cycliques.

Dans un premier temps, nous avons synthétisé des composés azadipeptidiques orthogonalement protégés de type Boc-azaAA-AA-OMe. L'étape clé de cette synthèse consiste en la condensation d'un chlorure d'acide, formé à partir de la fonction amine d'un dérivé *N*-alkylamino phthalimide obtenu par réaction de Mitsunobu, sur un acide α aminé. Nous avons ensuite procédé à la synthèse des 2:1-[α /aza]-trimères à partir des composés azadipeptidiques.

Ces dimères et trimères ont ensuite été engagés dans des réactions d'oligomérisation par couplage peptidique. Les rendements d'oligomérisation en série 1:1-[α /aza] restent moyens, dû à la faible réactivité de leur extrémité *N*-terminale.

Nous avons également abordé la synthèse des 1:1-[α /aza]-cyclooligomères et 2:1-[α /aza]-cyclooligomères à partir des oligomères linéaires correspondants. Nous avons montré que le rendement de la cyclisation des oligomères linéaires est indépendant de la variation de la configuration absolue des résidus acides aminés et de la longueur de la chaîne.

Les études conformationnelles sur les oligomères linéaires 1:1-[α /aza] et 2:1-[α /aza] ainsi que sur les oligomères cycliques 1:1-[α /aza] et 2:1-[α /aza] ont été abordées. Ces études ont montré que l'introduction d'un résidu acide azaaminé engendre des changements conformationnels importants. Pour les 1:1-[α /aza]-oligomères, la présence alternée d'acides α -aminés naturels et d'acide aza-aminés induit une auto-structuration des oligomères en coude β et γ -turn alternés. Pour les 2:1-[α /aza]-oligomères, la structure des 2:1-[α /aza]-trimères homochiraux S a révélé la formation d'un coude β II en solution et à l'état solide. Le changement de la configuration du premier résidu permet d'inverser sa conformation par la formation d'un coude β II'. Concernant les 2:1-[α /aza]-hexamères, le changement de configurations des résidus d'acides α -aminés influence leur stabilité : le 2:1-[α /aza]-hexamère hétérochiral est plus stable que le 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral. Ils présentent une structure montrant une succession de coudes β .

Finalement, nous avons réalisé une étude conformationnelle des composés oligomères cycliques 1:1-[α /aza] et 2:1-[α /aza].

Les études conformationnelles du cyclo 1:1-[α /aza]-hexamère ont mis en évidence la conformation en double coude β avec un côté sous forme de coude β I et l'autre côté sous forme de coude β I' à l'état solide. Les études en solution n'ont pas été possibles car il existe plusieurs conformères. La formation de nanotube est empêchée par l'orientation des chaînes latérales et par les NH (azaPhe) qui ne sont pas perpendiculaires au plan du cycle.

Cependant, le cyclo 2:1-[α /aza]-hexamère homochiral permet la formation de nanotubes à l'état solide. Cette association nanotubulaire a ensuite pu être confirmée dans le CDCl_3 par des études RMN et IR.

Dans le toluène et dans le chloroforme, les molécules gélatrices (cyclohexamère hétérochiral) s'empilent unidimensionnellement par l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogène sous forme de nanotube. Ces empilements s'associent grâce à des liaisons hydrogène intercolonnaires entre les protons NH (Phe) et CO (azaPhe).

Il serait alors intéressant de poursuivre les études conformationnelles des cyclo 2:1-[α /aza]-mères à l'état solide et en solution afin de vérifier l'éventuelle formation de nanotube par l'assemblage de cyclohexamères hétérochiraux ainsi que des cyclooligomères de plus grande taille (nonamère ou décamère).

EXPERIMENTAL PART

General methods

Unless otherwise stated, all chemicals were purchased as the highest purity commercially available and were used without further purification.

Dry CH_2Cl_2 was obtained by distillation over diphosphorus pentoxide P_2O_5 , MeOH were purchased in anhydrous form and others reagent grade solvents were used as received.. Dichloromethane was distilled from phosphorous pentoxide under argon atmosphere

Reactions were monitored by thin-layer chromatography (TLC) using aluminium-backed silica gel plates (Macherey–Nagel ALUGRAM[®] SIL G/UV₂₅₄). TLC spots were viewed under ultraviolet light or/and by heating the plate after treatment with a staining solution of phosphomolybdic acid or ninhydrin

Columns chromatographies were carried out on Geduran 60 H Silica Gel silica gel (0.04-0.063 μm). All yields were calculated from pure isolated products.

^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker Advance 600 spectrometer in deuterated chloroform (CDCl_3), deuterated dimethylsulfoxide (DMSO-d_6) or deuterated toluene (toluene- d_8). Chemical shift (δ) are reported in parts per million (ppm) and are referenced to the residual signals for deuterated DMSO or to the signal of tetramethylsilane (TMS) as internal standard.

Multiplicities are reported as follow: s = singlet, d = doublet, q = quartet, sept = septuplet, m = multiplet, br = broad, Ar. = aromatic and coupling constants (J) are given in Hertz (Hz).

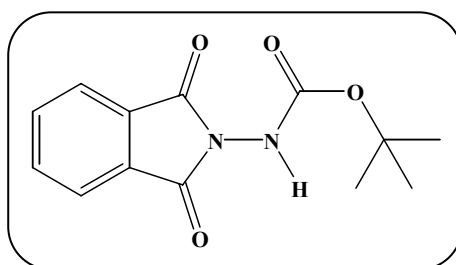
Infrared spectra (IR) were recorded on a Brucker Tensor 27 over 256 scans.

Electron spray ionization mass spectra (ESI-MS) were recorded on a Brucker MicroTof-Q HR spectrometer in the “Service commun de Spectrométrie de Masse”, Faculté des Sciences et Techniques, Vandoeuvre-lès-Nancy, France. HRMS spectra were obtained in ESI method.

All melting points (mp) are measured on Kofler hot-stage apparatus and on a Melting Point device M-560 and were uncorrected.

***N*-tert-butyloxycarbonylaminophthalimide 2**

Phthalic anhydride (1 equiv) and tertbutylcarbazate (1 equiv) were dissolved in Toluene in a monocol with a Dean-Stark. The suspension is refluxed for 3 h. The mixture was cooled and the *N*-tert-butyloxycarbonylaminophthalimide precipitated. The solid was filtered off and recrystallized with EtOAc



$C_{13}H_{14}N_2O_4$

Theoretical Mass: 262 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for $C_{13}H_{15}N_2O_4$

$[M+H]^+$ m/z 263.1032, found 263.1034

Aspect: White Solid

Melting Point: 216 °C

IR (KBr): 3395 cm⁻¹ (NH); 1706 cm⁻¹, 1740 cm⁻¹, 1783 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 80%

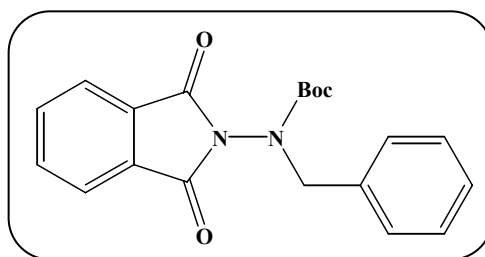
¹H NMR: δ 1.50 (2 s, 9H, C(CH₃)₃), 7.76-7.82 (m, 2H, H arom Phth), 7.83-7.89 (m, 2H, H arom Phth), 9.60 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR: δ 28.4 (C(CH₃)₃), 83.4 (C(CH₃)₃), 124.3 (CH arom Phth), 130.3 (C arom Phth), 135.1 (CH arom Phth), 153.8 (N-COO^tBu), 165.9 (O=C-Phth).

***N*-alkyl-*N*-*tert*-butyloxycarbonylaminophthalimide 3**

To a solution of *N*-*tert*-butyloxycarbonylaminophthalimide **2** (1 equiv), PPh₃ (1.5 equiv) and alcohol (3 equiv) in dry THF and under N₂ was added in one portion DEAD (1.5 equiv) under stirring at 0-5°C. The resulting solution was stirred overnight (monitored by TLC until completion) and concentrated under vacuum. The residue was triturated in EtOAc, placed in refrigerator and most of the triphenylphosphine oxide removed by filtration. The filtrate was evaporated and the residue was purified by column chromatography on silica gel.

***N*-benzyl-*N*-*tert*-butyloxycarbonylaminophthalimide 3:**



Purification: eluent CH₂Cl₂

Formula: C₂₀H₂₀N₂O₄

Theoretical Mass: 352 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₂₀H₂₀N₂NaO₄ [M+Na]⁺ m/z 375.1315, found 375.1314

Aspect: White Solid

Melting Point: 108 °C

IR (NaCl): 1737 cm⁻¹, 1796 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 70%

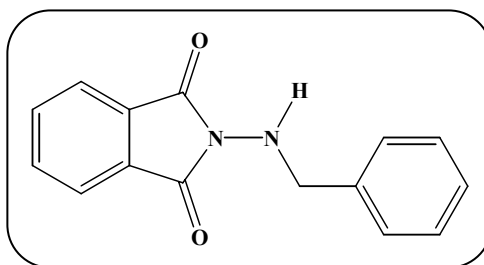
¹H NMR: δ 1.36 and 1.51 (2 s, 9H, C(CH₃)₃), 4.84 and 4.88 (2 s, 2H, NCH₂), 7.26-7.4 (2 m, 5H, H arom Ph), 7.73-7.83 (m, 4H, H arom Phth).

¹³C NMR: δ 28.5 and 28.8 (C(CH₃)₃), 53.3 and 55.2 (NCH₂), 83.1 and 83.9 (C(CH₃)₃), 124.3 (CH arom Phth), 128.5 (CH arom Ph), 128.9 (CH arom Ph), 129.1 (CH arom Ph), 129.6 (CH arom Ph), 130.3 (C arom), 130.5 (C arom), 135.1 (CH arom Phth), 154.1 (N-COOtBu), 165.6 (O=C-Phth).

***N*-alkylaminophthalimide 4**

To a solution of *N*-alkyl-*N*-*tert*-butyloxycarbonylaminophthalimide **3** (1 equiv) in CH₂Cl₂ was added trifluoroacetic acid (10 equiv, 8% in CH₂Cl₂) at 0°C. The mixture was stirred overnight (monitored by TLC). The solution was concentrated under vacuum. The residue was dissolved in CH₂Cl₂, neutralized with a saturated solution of NaHCO₃ (pH=7) and extracted three times with CH₂Cl₂. The combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated under vacuum giving a yellow solid which was immediately used without further purification.

***N*-benzylaminophthalimide 4:**



Formula: C₁₅H₁₂N₂O₂

Theoretical Mass: 252 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₁₅H₁₃N₂O₂ [M+H]⁺ m/z 253.0972, found 253.0963

Aspect: Yellow Solid

Melting Point: 109 °C

IR (NaCl): 3290 cm⁻¹ (NH); 1774 cm⁻¹, 1719 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: quantitative

¹H NMR: δ 4.22 (s, 2H, NCH₂), 4.79 (br, 1H, NH), 7.26-7.46 (m, 5H, H arom Ph), 7.70-7.84 (m, 4H, H arom Phth).

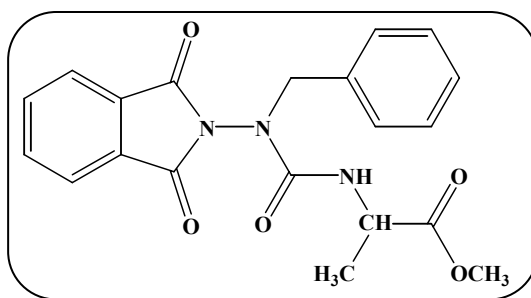
¹³C NMR: δ 55.9 (NCH₂), 124.0 (CH arom Phth), 128.7 (CH arom Ph), 129.2 (CH arom Ph), 129.9 (CH arom Ph), 130.9 (C arom Phth), 134.9 (CH arom Phth), 136.7 (C arom Ph), 167.1 (O=C-Phth).

Pht-azaAA-Ala-OMe 5

Triphosgene (0.37 equiv) was dissolved in dry CH₂Cl₂ under N₂. A mixture of *N*-alkyl-aminophthalimide **4** (1 equiv) and DIEA (2.2 equiv) in dry CH₂Cl₂ was slowly dropwise added to the stirred solution of triphosgene. After a further 10 min stirring, a solution of alanine methyl ester hydrochloride (1 equiv) and DIEA (1.5 equiv) in dry CH₂Cl₂ was added in one portion. The reaction mixture was stirred overnight at RT, evaporated to dryness, diluted with CH₂Cl₂, washed with aqueous HCl 1N, aqueous NaHCO₃ 1N and brine, dried over MgSO₄ and evaporated.

Caution: Phosgene is released. So, a trap of water is installed at the exit of the apparatus. Finally, it gives CO₂ and HCl.

Pht-azaPhe-Ala-OMe 5:



Purification: Trituration with Et₂O

Formula: C₂₀H₁₉N₃O₅

Theoretical Mass: 381 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₂₁H₂₃N₃NaO₆ [M+Na+MeOH]⁺ m/z 436.1479,
found 436.1457

Aspect: White Solid

Melting Point: 160 °C

IR (ATR): 3353 cm⁻¹ (NH); 1647 cm⁻¹, 1677 cm⁻¹, 1736 cm⁻¹, 1751 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 70%

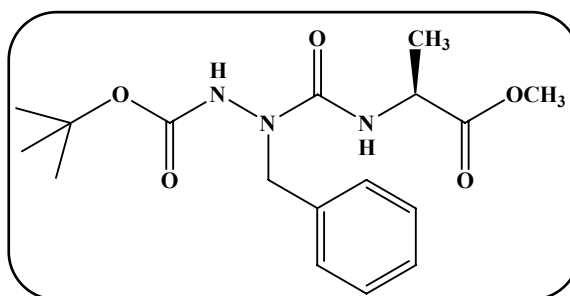
¹H NMR: δ 1.36 and 1.39 (d, 3H, CH₃), 3.73 (s, 3H, COOCH₃), 4.54 (m, 1H, CH), 4.89 (s, 2H, CH₂), 5.35 (d, 1H, NH), 7.25 (m, 5H, H arom Ph), 7.74-7.77 (m, 2H, H arom Phth), 7.81-7.83 (m, 2H, H arom Phth).

¹³C NMR: δ 19.5 (CH₃), 50.1 (CH), 53.5 (NCH₂), 53.1 (COOCH₃), 124.6 (CH arom Phth), 128.8 (CH arom Ph), 129.1 (CH arom Ph), 129.6 (C arom Phth), 135.3 (C arom Ph), 135.5 (CH arom Phth), 156.2 (O=C-NH), 165.9 (O=C-Phth), 174.4 (COOCH₃).

Precursor Boc-azaAA-Ala-OMe 6

To a solution of Phth-azaAA-Ala-OCH₃ **5** (1 equiv) in THF was added pyrrolidine (3 equiv) at RT. The mixture was stirred at RT until completion (overnight, monitored by TLC). The solvent and the excess of amine were removed under vacuum. The yellow solid obtained was dissolved in THF. Then Boc₂O (1.5 equiv) and a catalytic amount of DMAP (0.2 equiv) were added. The mixture was stirred at RT until completion (overnight, monitored by TLC). The solvent was removed under vacuum, the residue was dissolved in THF and a freshly prepared solution of methylamine (1.5 equiv, 2M in MeOH) was added at RT. After a night (monitored by TLC), the solvent and the excess of amine were removed under vacuum and the residue was purified by column chromatography on silica gel.

Boc-azaPhe-Ala-OMe **6a**:



Purification: eluent EtOAc/p-ether 50/50

Formula: C₁₇H₂₅N₃O₅

Theoretical Mass: 351 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₁₇H₂₆N₃O₅ [M+H]⁺ m/z 352.1867, found 352.1878

Aspect: White Solid

Melting Point: 90-91°C

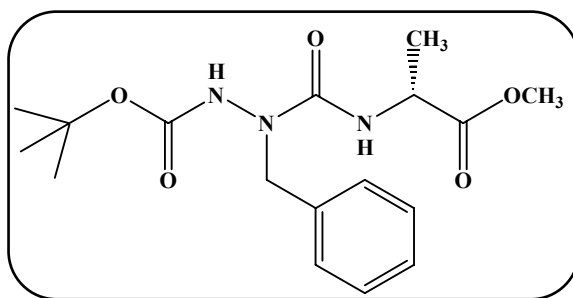
IR (ATR): 3207 cm⁻¹, 3415 cm⁻¹ (NH); 1647 cm⁻¹, 1723 cm⁻¹, 1732 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 80%

¹H NMR: δ 1.41-1.50 (m, 12H, CH₃ and C(CH₃)₃), 3.75 (s, 3H, COOCH₃), 4.49-4.59 (m, 1H, CH), 4.85 (br s, 2H, NCH₂), 5.91 and 5.94 (d, 1H, NH), 6.00 (br s, 1H, NHBoc), 7.25-7.35 (m, 5H, H arom Ph).

¹³C NMR: δ 19.7 (CH₃), 28.5 (C(CH₃)₃), 49.9 (CH), 51.3 (NCH₂), 53.0 (COOCH₃), 83.1 (C(CH₃)₃), 128.5 (CH arom Ph), 129.6 (CH arom Ph), 136.8 (C arom Ph), 154.9 (COOtBu), 157.6 (O=C-NH), 174.8 (COOCH₃).

Boc-azaPhe-(D)Ala-OMe 6b:



Purification: eluent EtOAc/p-ether 50/50

Formula: C₁₇H₂₅N₃O₅

Theoretical Mass: 351 g.mol⁻¹

Aspect: White Solid

Melting Point: 78-79 °C

IR (ATR): 3210 cm⁻¹, 3413 cm⁻¹ (NH); 1648 cm⁻¹, 1722 cm⁻¹, 1735 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 81%

¹H NMR: δ 1.42-1.55 (m, 12H, CH₃ and C(CH₃)₃), 3.76 (s, 3H, COOCH₃), 4.50-4.60(m, 1H, CH), 4.85 (br s, 2H, NCH₂), 5.91 and 5.94 (d, 1H, NH), 5.94 (br s, 1H, NHBoc), 7.26-7.36 (m, 5H, H arom Ph).

¹³C NMR: δ 19.7 (CH₃), 28.7 (C(CH₃)₃), 49.8 (CH), 51.2 (NCH₂), 53.0 (COOCH₃), 83.1 (C(CH₃)₃), 128.5 (CH arom Ph), 129.4 (CH arom Ph), 136.7 (C arom Ph), 154.9 (COOtBu), 157.6 (O=C-NH), 174.8 (COOCH₃).

1:1-[α/aza]-oligomer

Boc deprotection:

To a stirred solution of Boc protected compound (1 equiv) in CH₂Cl₂, trifluoroacetic acid (10 equiv) was added at 0°C. The resulting solution was stirred until completion monitored by TLC (4h to 12h) and concentrated under vacuum. The trifluoroacetic acid was coevaporated with toluene (3 times), Et₂O (twice) and CH₂Cl₂. The residue was used in coupling reaction without further purification.

Methyl ester deprotection:

To a stirred solution of methyl ester protected compound (1 equiv) in CH₃CN, an aqueous solution of NaOH 1N (2 equiv) was added at 0°C. The resulting solution was stirred until completion monitored by TLC (4h to 12h) and aqueous HCl 2N was added under vigorously stirring (pH=2). Then CH₂Cl₂ was added and aqueous layer

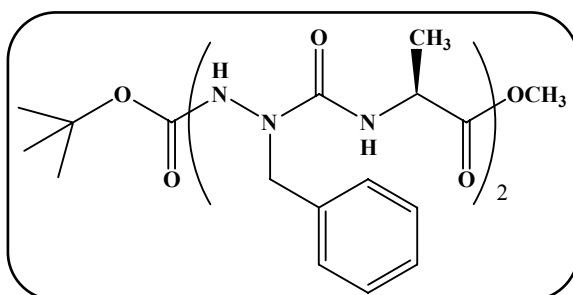
was extracted twice with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated. The residue was used in coupling reaction without further purification.

NB: Sometimes a little amount of MeOH is necessary to dissolve the starting compound or/and to minimize the emulsion during the extraction.

Coupling reaction:

To a stirred solution of the CF₃COOH, amine partner (1 equiv) in CH₂Cl₂ were successively added at RT NMM (3 equiv), acid partner (1 equiv) and HATU (1 equiv). After a night to 24 h, the mixture was diluted with aqueous HCl 1N under vigorously stirring (pH=2). The organic layer was washed with water, aqueous NaHCO₃ 0.5N, brine, dried over MgSO₄ and evaporated.

Boc-(azaPhe-Ala)₂-OMe 7



Purification: eluent EtOAc/p-ether 70/30

Formula: C₂₈H₃₈N₆O₇

Theoretical Mass: 570 g.mol⁻¹

Aspect: White Solid

Melting Point: 160-161°C

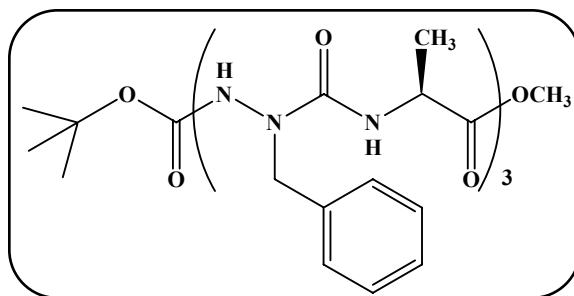
IR (ATR): 3212 cm⁻¹ 3326 cm⁻¹ (NH); 1743 cm⁻¹, 1682 cm⁻¹, 1641 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 64%

^1H NMR: δ 1.32-1.40 (m, 6H, CH₃) 1.40 (s, 9H C(CH₃)₃), 3.68 (s, 3H, COOCH₃), 4.06 (s, 1H, CH), 4.44 (t, 1H, CH), 5.10 (s, 2H, NCH₂), 5.65 (br s, 1H, NHBoc), 6.18 and 6.38 (br s, 1H, NH), 7.18-7.34 (m, 10H, H arom Ph). 8.17 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR: δ 17.4 (CH₃), 18.4 (CH₃) 28.7(C(CH₃)₃), 50.2 (CH), 51.5 and 51.8 (NCH₂), 52.9 (COOCH₃), 83.1 (C(CH₃)₃), 128.2 (CH arom Ph), 128.8 (CH arom Ph), 129.2 (C arom Ph), 129.5 (CH arom Ph), 129.6 (CH arom Ph), 136.5 (C arom Ph), 137.5 (C arom Ph), 154.9 (COOtBu), 157.8 (O=C-NH), 158.7 (O=C-NH), 172.3 (O=C-NH), 174.9 (COOCH₃).

Boc-(azaPhe-Ala)₃-OMe 8



Purification: eluent EtOAc/p-ether 80/20

Formula: C₃₉H₅₁N₉O₉

Theoretical Mass: 789 g.mol⁻¹

Aspect: White Solid

Melting Point: 187-188 °C

IR (ATR): 3326 cm⁻¹ 3212 cm⁻¹ (NH); 1749 cm⁻¹, 1737 cm⁻¹, 1701 cm⁻¹, 1689 cm⁻¹, 1678 cm⁻¹, 1663 cm⁻¹, 1655 cm⁻¹, 1637 cm⁻¹, 1626 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 62%

^1H NMR: δ 1.24–1.41 (m, 12H, CH₃ and C(CH₃)₃), 3.70 (s, 3H, COOCH₃), 3.99-4.48 (m, 3H, 3*CH), 5.11-5.69 (m, 6H, 3*NCH₂), 6.33 and 6.41 and 6.66 (3, 3H, 3*NH), 7.18-7.37 (m, 5H, H arom Ph), 8.41 and 8.59 and 8.75 (3, 3H, 3*NH).

¹³C NMR: δ 17.5 and 18.6 (CH₃), 28.6 (C(CH₃)₃), 50.2 (CH), 51.7 and 52.6 (NCH₂), 52.7 (COOCH₃), 127.7 (CH arom Ph), 128.3 (CH arom Ph), 128.98 (C arom Ph), 129.2 (C arom Ph), 129.5 (C arom Ph), 129.6 (C arom Ph), 137.1 (C arom Ph), 137.7 (C arom Ph), 154.9 (COOtBu), 158.0 (O=C-NH), 159.1 (O=C-NH), 159.4 (O=C-NH), 170.0 172.8 (COOCH₃).

2:1-[α /aza]-trimer 9

Boc deprotection:

To a stirred solution of Boc protected compound (1 equiv) in CH₂Cl₂, trifluoroacetic acid (10 equiv) was added at 0°C. The resulting solution was stirred until completion monitored by TLC (4h to 12h) and concentrated under vacuum. The trifluoroacetic acid was coevaporated with toluene (3 times), Et₂O (twice) and CH₂Cl₂. The residue was used in coupling reaction without further purification.

Acid fluoride preparation:

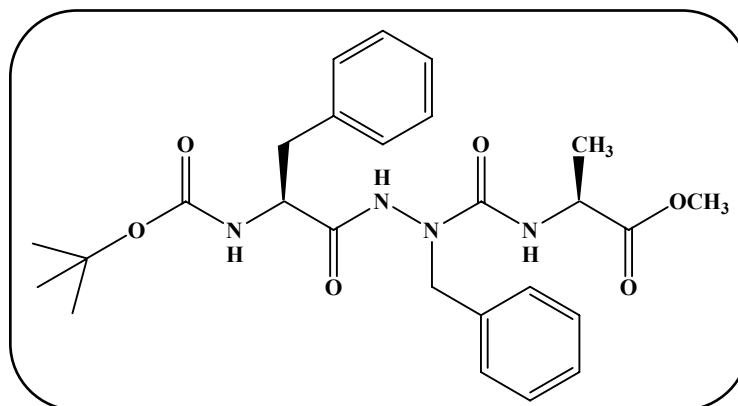
To a stirred solution of Boc-Phe-OH (1.5 equiv) in dry CH₂Cl₂ and pyridine (1.5 equiv) kept under a N₂ atmosphere was slowly dropwise added cyanuric fluoride (3 equiv) at -20°C. The solution was stirred at -10°C during 1 or 2 hours and a precipitate or emulsion formed and gradually increased amount. Crushed ice was added along with an additional CH₂Cl₂. The organic layer was separated and the aqueous layer extracted with cold CH₂Cl₂. The combined organics layers were washed with ice-cold water and dried over MgSO₄, and the solvent was removed with a rotary evaporator at room temperature.

Coupling reaction:

Boc-Phe-F (1.5 equiv) in CH₂Cl₂ was added dropwise to a stirred solution of CF₃COOH, H-azaAA-Ala-OMe (1 equiv) in an heterogeneous medium of CH₂Cl₂ and NaHCO₃ (2 equiv) in H₂O (pH=7). The mixture was stirred at RT overnight. After

washing of the CH₂Cl₂ solution twice with HCl 1N, NaHCO₃ 1N and saturated NaCl, it was dried over MgSO₄ and the solvent was removed under vacuum.

Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe 9a:



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: EtOAc/p-ether 50/50

Formula: C₂₆H₃₄N₄O₆

Theoretical Mass: 498 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₂₆H₃₄N₄NaO₆ [M+Na]⁺ m/z 521.2371, found 521.2344

Aspect: White Solid

Melting Point: 149-150 °C

IR (ATR): 3220 cm⁻¹, 3344 cm⁻¹ (NH); 1651 cm⁻¹, 1666 cm⁻¹, 1698 cm⁻¹, 1714 cm⁻¹,

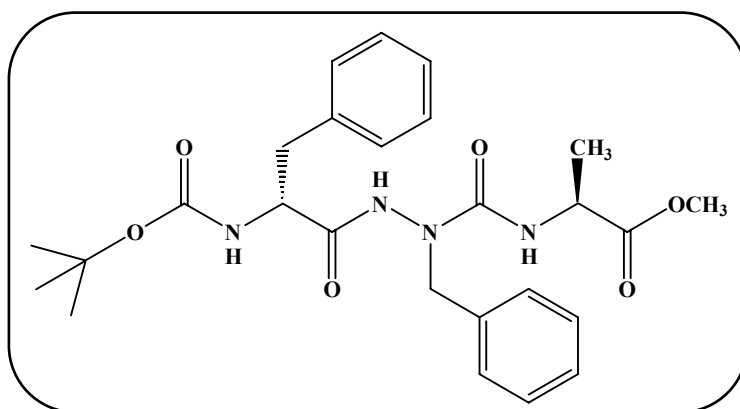
1728 cm⁻¹ (C=O)

Rendement: 70%

¹H NMR: δ 1.37-1.45 (m, 12H, CH₃ and C(CH₃)₃), 2.88-2.95 (m, 2H, CH₂), 3.01-3.08 (m, 2H, CH₂), 3.71 (s, 3H, COOCH₃), 4.02 (m, 1H, CH), 4.28 (br s, 1H, NHBoc), 4.45-4.50 (m, 1H, CH), 4.88-4.95 (br m, 2H, NCH₂), 6.18 (br s, 1H, NH), 7.06-7.30 (m, 10H, H arom Ph), 7.68 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR: δ 18.7 (CH_3), 28.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 37.9 (CH_2), 50.1 (CH), 52.0 (NCH_2), 52.9 (COOCH_3), 56.0 (CH), 81.6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 128.1 (CH arom Ph), 128.3 (CH arom Ph), 129.2 (CH arom Ph), 129.4 (CH arom Ph), 129.7 (CH arom Ph), 129.9 (CH arom Ph), 136.5 (C arom Ph), 137.1 (C arom Ph), 156.5 (COOtBu), 157.6 ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 171.1 ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 174.9 (COOCH_3).

Boc-(D)Phe-azaPhe-Ala-OMe 9b:



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: EtOAc/p-ether 50/50

Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6$

Theoretical Mass: 498 g.mol^{-1}

HRMS (ESI) calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{NaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 521.2371, found 521.2389

Aspect: White Solid

Melting Point: 72-73 $^{\circ}\text{C}$

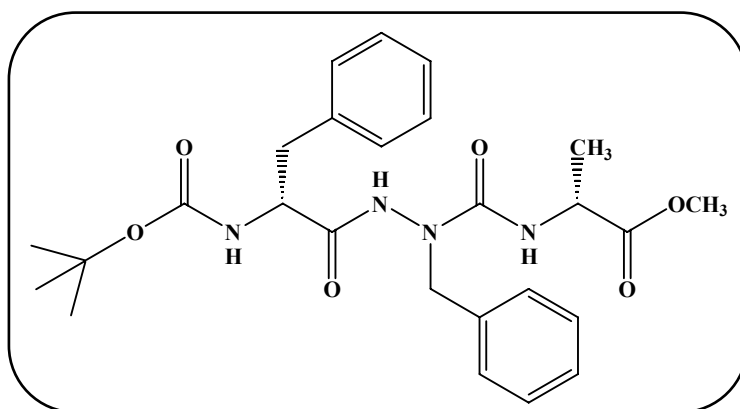
IR (CDCl_3): 3439 cm^{-1} , 3372 cm^{-1} (NH), 1741 cm^{-1} , 1721 cm^{-1} , 1705 cm^{-1} , 1674 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$).

Rendement: 56%

^1H NMR: δ 1.38-1.41 (m, 12H, CH_3 and $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.82-3.15 (m, 2H, CH_2), 3.71 (s, 3H, COOCH_3), 4.12 (m, 1H, CH), 4.46 (m, 1H, CH), 4.67 (s, 2H, NCH_2), 4.78 (br d, 1H, NHBoc), 6.0 (br s, 1H, NH), 7.12-7.32 (m, 10H, H arom Ph), 7.55 (br s, 1H, NH).

^{13}C NMR: δ 18.5 (CH_3), 28.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 37.9 (CH_2), 49.3 (CH), 50.0 (NCH_2), 52.8 (COOCH_3), 56.2 (CH), 81.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 127.5 (CH arom Ph), 128.1 (CH arom Ph), 128.3 (CH arom Ph), 129.2 (CH arom Ph), 129.5 (CH arom Ph), 129.7 (CH arom Ph), 129.8 (CH arom Ph), 136.3 (C arom Ph), 137.1 (C arom Ph), 156.7 (COOtBu), 157.5 ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 171.1 ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 174.7 (COOCH_3).

Boc-(D)Phe-azaPhe-(D)Ala-OMe 9c:



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: EtOAc/p-ether 50/50

Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6$

Theoretical Mass: 498 g.mol^{-1}

Aspect: White Solid

Melting Point: $160\text{-}161^\circ\text{C}$

IR (ATR): 3220 cm^{-1} , 3344 cm^{-1} (NH); 1651 cm^{-1} , 1666 cm^{-1} , 1698 cm^{-1} , 1714 cm^{-1} , 1728 cm^{-1} (C=O)

Rendement: 60%

^1H NMR: δ 1.4-1.59 (m, 12H, CH_3 and $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.86-3.11 (m, 2H, CH_2), 3.71 (s, 3H, COOCH_3), 4.12 (m, 1H, CH), 4.46 (m, 1H, CH), 4.67 (s, 2H, NCH_2), 4.79 (br s, 1H, NHBoc), 6.0 (br s, 1H, NH), 7.14-7.34 (m, 10H, H arom Ph), 7.55 (br s, 1H, NH).

¹³C NMR: δ 18.1 (CH₃), 28.0 (C(CH₃)₃), 37.2 (CH₂), 49.3 (CH), 51.1 (NCH₂), 52.0 (COOCH₃), 55.6 (CH), 81.6 (C(CH₃)₃), 127.5 (CH arom Ph), 128.3 (CH arom Ph), 128.7 (CH arom Ph), 128.9 (CH arom Ph), 129.1 (CH arom Ph), 129.9 (CH arom Ph), 136.5 (C arom Ph), 137.1 (C arom Ph), 156.5 (COOtBu), 157.6 (O=C-NH), 171.1 (O=C-NH), 174.9 (COOCH₃).

2:1[α /aza]-oligomer

After successively deprotection, all the 2:1[α /aza]-hexamer, 2:1[α /aza]-nonamer and 2:1[α /aza]-dodecamer were obtained by classical peptidic coupling.

Boc deprotection:

To a stirred solution of Boc protected compound (1 equiv) in CH₂Cl₂, trifluoroacetic acid (10 equiv) was added at 0°C. The resulting solution was stirred until completion monitored by TLC (4h to 12h) and concentrated under vacuum. The trifluoroacetic acid was coevaporated with toluene (3 times), Et₂O (twice) and CH₂Cl₂. The residue was used in coupling reaction without further purification.

Methyl ester deprotection:

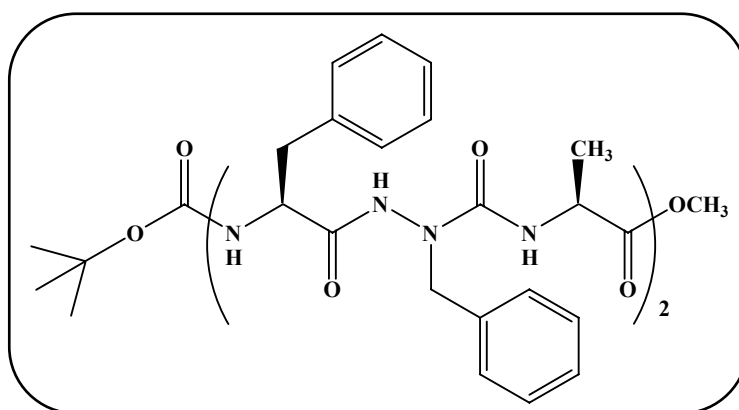
To a stirred solution of methyl ester protected compound (1 equiv) in CH₃CN, an aqueous solution of NaOH 1N (2 equiv) was added at 0°C. The resulting solution was stirred until completion monitored by TLC (4h to 12h) and aqueous HCl 2N was added under vigorously stirring (pH=2). Then CH₂Cl₂ was added and aqueous layer was extracted twice with CH₂Cl₂. Combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated. The residue was used in coupling reaction without further purification.

NB: Sometimes a little amount of MeOH is necessary to dissolve the starting compound or/and to minimize the emulsion during the extraction.

Coupling reaction:

To a stirred solution of the CF₃COOH, amine partner (1 equiv) in CH₂Cl₂ were successively added at RT DIEA (2.2 equiv), acid partner (1.1 equiv) and HBTU (1.2 equiv). After a night to 24 h, the mixture was diluted with aqueous HCl 1N under vigorously stirring (pH=2). The organic layer was washed with water, aqueous NaHCO₃ 0.5N, brine, dried over MgSO₄ and evaporated.

Boc-(Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe 10a:



Purification: Trituration with Et₂O then p-ether

Formula: C₄₆H₅₆N₈O₉

Theoretical Mass: 864 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₄₆H₅₆N₈NaO₉ [M+Na]⁺ m/z 887.4062, found 887.4062

Aspect: White solid

Melting Point: 132-133 °C

IR (CDCl₃): 3438 cm⁻¹, 3401 cm⁻¹, 3351 cm⁻¹, 3259 cm⁻¹ (NH), 1741 cm⁻¹, 1700 cm⁻¹, 1665 cm⁻¹ (C=O).

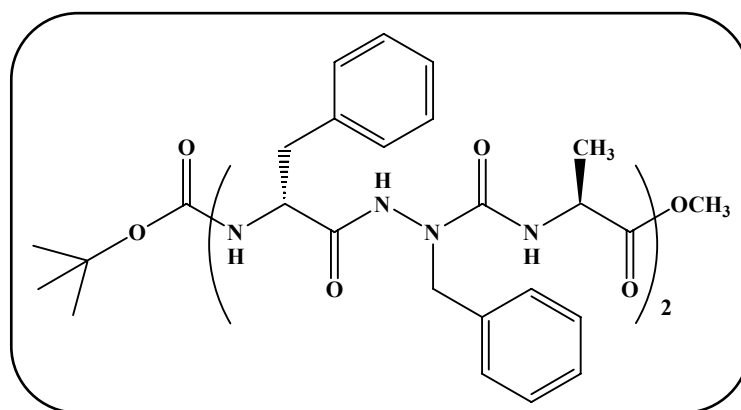
Rendement: 92%

¹H NMR (CD₃CN): δ 1.10 and 1.19 (d, 3H, CH₃), 1.27-1.36 (m, 12H, CH₃ and C(CH₃)₃), 2.79 (m, 1H, CH₂), 2.94-3.02 (m, 2H, CH₂), 3.17-3.18 (m, 1H, CH₂), 3.60

(s, 3H, COOCH₃), 3.92-3.94 (m, 1H, CH), 4.02 (m, 1H, CH), 4.20-4.25 (m, 2H, 2*CH), 4.64 (br m, 2H, NCH₂), 5.61 (br s, 1H, NH), 6.37 (br s, 1H, NH), 6.52 (br s, 1H, NH), 7.17-7.28 (m, 21H, H arom Ph and NH), 8.99 (br s, 2H, 2*NH).

¹³C NMR (CD₃CN): δ 17.3 (CH₃), 18.2 (CH₃), 28.6 (C(CH₃)₃), 37.2 (CH₂), 37.4 (CH₂), 50.5 (CH), 52.3 (NCH₂), 52.6 (CH and COOCH₃), 53.3 (NCH₂), 81.3 (C(CH₃)₃), 127.8 and 128.1 and 128.2 and 128.4 and 129.2 and 129.3 and 129.5 and 129.7 and 129.8 and 130.3 and 130.4 (CH arom Ph), 137.6 and 138.0 and 138.5 and 139.9 (C arom Ph), 158.3 (O=C-NH), 159.7 (O=C-NH), 171.4 (O=C-NH), 175.3 (COOCH₃).

Boc-((D)Phe-azaPhe-Ala)₂-OMe 10b:



Purification: Trituration with cyclohexane

Formula: C₄₆H₅₆N₈O₉

Theoretical Mass: 864 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₄₆H₅₆N₈NaO₉ [M+Na]⁺ m/z 887.4062, found 887.4062

Aspect: White solid

Melting Point: 172-173 °C

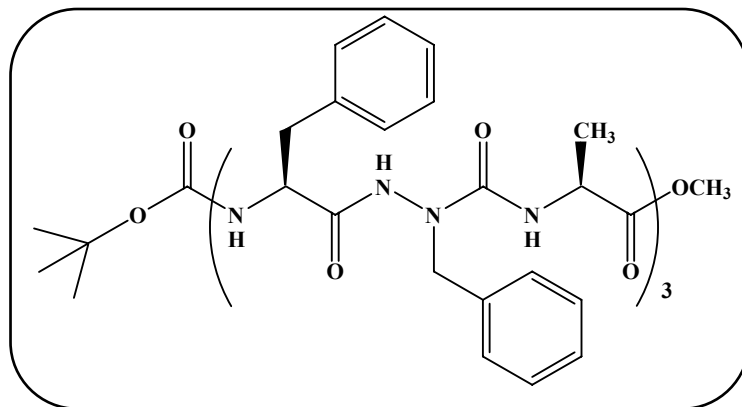
IR (CDCl₃): 3423 cm⁻¹, 3351 cm⁻¹, 3240 cm⁻¹ (NH), 1741 cm⁻¹, 1704 cm⁻¹, 1665 cm⁻¹, 1635 cm⁻¹ (C=O).

Rendement: 95%

¹H NMR (278 K): δ 1.30 (d, 3H, CH₃), 1.34 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.39 (d, 3H, CH₃), 2.58 (m, 1H, CH₂), 2.86 (m, 1H, CH₂), 2.99 (m, 1H, CH₂), 3.25 (m, 1H, CH₂), 3.31 (s, 3H, COOCH₃), 3.81 (m, 1H, CH), 4.10 (m, 1H, CH), 4.26 (m, H, NCH₂), 4.33 (d, H, NCH₂), 4.40 (d, H, NCH₂), 4.48 (br s, 1H, NH and s, 1H, CH), 4.66 (m, 1H, CH), 5.26 (d, 1H, NCH₂), 6.30 (br d, 1H, NH), 6.41 (br s, 1H, NH), 6.62 (br s, 1H, NH), 6.97-7.34 (m, 20H, H arom Ph), 8.88 (br s, H, NH), 9.48 (br s, H, NH).

¹³C NMR : δ 16.5 (CH₃), 18.9 (CH₃), 29.0 (C(CH₃)₃), 36.2 (CH₂), 37.1 (CH₂), 48.2 (CH), 51.2 (NCH₂), 51.5 (CH and COOCH₃), 55.3 (CH), 55.8 (CH), 82.0 (C(CH₃)₃), 127.9 and 128.1 and 128.8 and 129.0 and 129.5 and 129.6 (CH arom Ph), 136.4 and 137.7 (C arom Ph), 156.9 (O=C-NH), 157.6 (O=C-NH), 170.6 (O=C-NH), 176.4 (COOCH₃).

Boc-(Phe-azaPhe-Ala)₃-OMe 11a:



Purification: Trituration with cyclohexane

Formula: $C_{66}H_{78}N_{12}O_{12}$

Theoretical Mass: 1220 g.mol^{-1}

HRMS (ESI) calculated for $C_{66}H_{78}N_{12}NaO_{12}$ $[M+Na]^+$ m/z 1253.5754, found 1253.5716

Aspect: White solid

Melting Point: 173-174 °C

IR (ATR): 3250 cm^{-1} (NH), 1743 cm^{-1} , 1724 cm^{-1} , 1695 cm^{-1} , 1676 cm^{-1} , 1665 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} (C=O).

Rendement: 91%

^1H NMR (CDCl_3): δ 1.22 (m, 6H, CH_3), 1.35 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.39 (d, 3H, CH_3), 2.76-3.26 (m, 6H, 3^*CH_2), 3.63 (s, 3H, COOCH_3), 3.84-3.95 (m, 3H, 3^*CH), 4.08-4.90 (m, 6H, 3^*NCH_2) 4.21-4.28 (m, 3H, 3^*CH), 5.63 (br s, 1H, NH), 6.36 (br d, 1H, NH), 6.59 (br s, 1H, NH), 6.51 (br s, 1H, NH), 7.13-7.30 (m, 30H, H arom Ph), 9.07 (br s, H, NH), 9.42 (br s, H, NH).

^{13}C NMR : δ 17.0 (CH_3), 18.1 (CH_3), 28.6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 37.3 (CH_2), 37.5 (CH_2), 50.5 (CH), 52.2 (NCH_2), 52.6 (CH and COOCH_3), 53.0 (NCH_2), 53.5 (NCH_2), 82.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 127.7 and 128.0 and 128.4 and 128.6 and 129.3 and 129.4 and 129.5 and 129.6 and 129.7 and 130.2 and 130.4 (CH arom Ph), 137.4 and 137.9 and 138.4 and 138.9 (C arom Ph), 158.2 ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 159.9($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 171.5 ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 175.1 (COOCH_3).

1:1-[α /aza]--cyclooligomers

After successively methyl ester deprotection and boc deprotection, all the 1:1-[α /aza]-cyclooligomers were obtained by high dilution peptide coupling.

Methyl ester déprotection

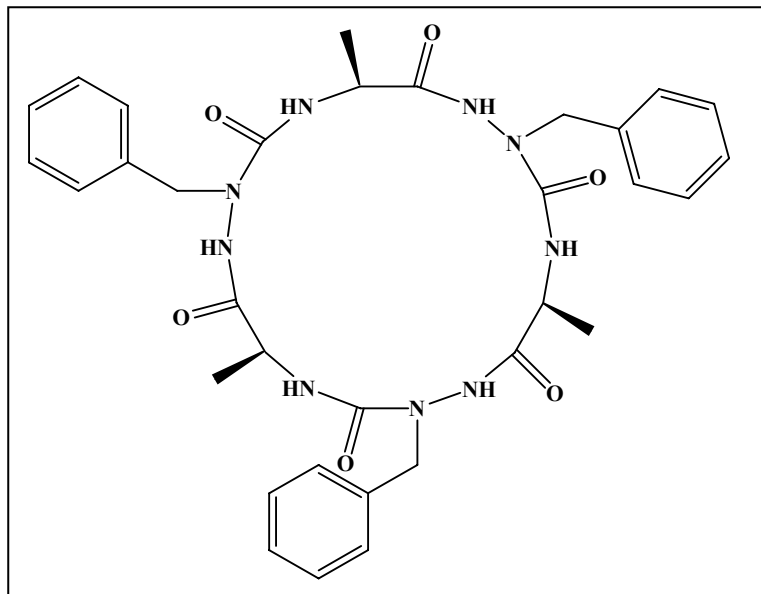
To a solution of methyl ester protected (1.0 equiv.) in MeOH was added at 0°C a solution of NaOH 1N (2.0 equiv.). The mixture was vigorously stirred for 3-6 h at room temperature until completion (monitored by TLC). After evaporation of MeOH, the aqueous layer was washed twice with cyclohexane. The aqueous phase was cooled to 0°C and acidified with HCl 1N until pH = 1 and extracted with EtOAc. The residue was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo* to give the corresponding carboxylic acid, and was used without any further purification.

Boc deprotection and cyclization procedure

To a stirred solution of a Boc protected compound (1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ was added a portion of trifluoroacetic acid (TFA) which represents 2/3 of the quantity of CH₂Cl₂ added. The mixture was stirred overnight without any control by TLC. The solution was concentrated under vacuum and the excess of TFA was co-evaporated with MeOH and Et₂O until obtaining the corresponding trifluoroacetate salt compound as a white foam in quantitative yield.

The crude residue was dissolved in CH₂Cl₂ and NMM was added (3 equiv.). The solution was added dropwise into a solution of HATU (equiv.) in CH₂Cl₂ (the concentration is almost 1mM in the mixture). This slow addition ran during the day (7h) and then the reaction was stirred at room temperature under nitrogen for 24h. The volume was reduced to around 100mL and was washed successively twice by HCl (1N), NaHCO₃ sat, H₂O and brine and finally dried over MgSO₄ and evaporated to give a colored solid. The resulting crude material was purified and characterized as reported below.

cyclo-(azaPhe-Ala)₃ 16



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: CH₂Cl₂/MeOH 98/2

Formula: C₃₃H₃₉N₉O₆

Theoretical Mass: 657 g.mol⁻¹

Aspect: White solid

Melting point: 220-221°C

IR (CDCl₃): 3410 cm⁻¹, 3341 cm⁻¹, 3266 cm⁻¹ (NH), 1698 cm⁻¹, 1664 cm⁻¹ (C=O).

Rendement: 15%

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.28 (d, 6H, 2*CH₃), 4.07 (d, 2H, 2*NCH₂), 4.46 (s, 2H, 2*CH) 4.98 (d, 2H, 2*NCH₂), 6.55 (br d, 2H, 2*NH), 7.26 (d, 10H, H arom Ph), 9.01 (br s, 2H, 2*NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 17.5 (CH₃), 48.2 (CH), 49.5 (NCH₂), 127.5 and 128.4 and 129 and 137.1 (CH arom Ph), 155.6 (O=C-NH), 170.1(O=C-NH).

2:1-[α /aza]--cyclooligomers

After successively methyl ester deprotection and Boc deprotection, all the 2:1-[α /aza]-cyclooligomers were obtained by high dilution peptide coupling.

Methyl ester déprotection

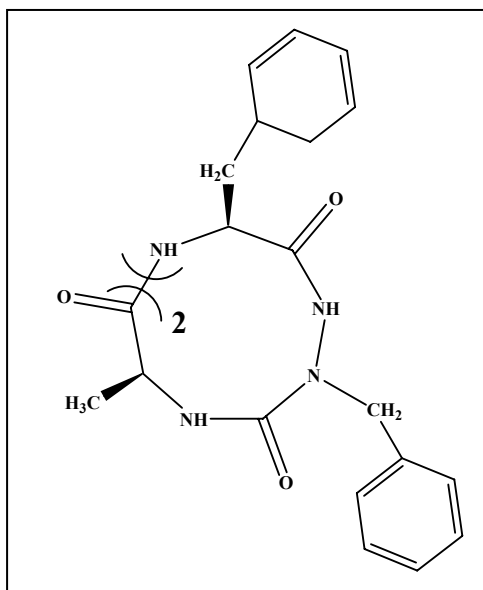
To a solution of methyl ester protected (1.0 equiv.) in MeOH was added at 0°C a solution of NaOH 1N (2.0 equiv.). The mixture was vigorously stirred for 3-6 h at room temperature until completion (monitored by TLC). After evaporation of MeOH, the aqueous layer was washed twice with cyclohexane. The aqueous phase was cooled to 0°C and acidified with HCl 1N until pH = 1 and extracted with EtOAc. The residue was dried over MgSO₄, filtered and evaporated *in vacuo* to give the corresponding carboxylic acid, and was used without any further purification.

Boc deprotection and cyclization procedure

To a stirred solution of a Boc protected compound (1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ was added a portion of trifluoroacetic acid (TFA) which represents 2/3 of the quantity of CH₂Cl₂ added. The mixture was stirred overnight without any control by TLC. The solution was concentrated under vacuum and the excess of TFA was co-evaporated with MeOH and Et₂O until obtaining the corresponding trifluoroacetate salt compound as a white foam in quantitative yield.

The crude residue was dissolved in CH₂Cl₂ and DIPEA was added (5 equiv.). The solution was added dropwise into a solution of HBTU (2 equiv.) in CH₂Cl₂ (the concentration is almost 1mM in the mixture). This slow addition ran during the day (7h) and then the reaction was stirred at room temperature under nitrogen for 48h. The volume was reduced to around 100mL and was washed successively twice by HCl (1N), NaHCO₃ sat, H₂O and brine and finally dried over MgSO₄ and evaporated to give a colored solid. The resulting crude material was purified and characterized as reported below.

cyclo-(Phe-azaPhe-Ala)₂ 13a



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: CH₂Cl₂/MeOH 96/4

Formula: C₄₀H₄₄N₈O₆

Theoretical Mass: 732g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₄₀H₄₄N₈O₆Na [M+Na]⁺ m/z 755.3276, found 755.3286

Aspect: White solid

Melting point: 210-211°C

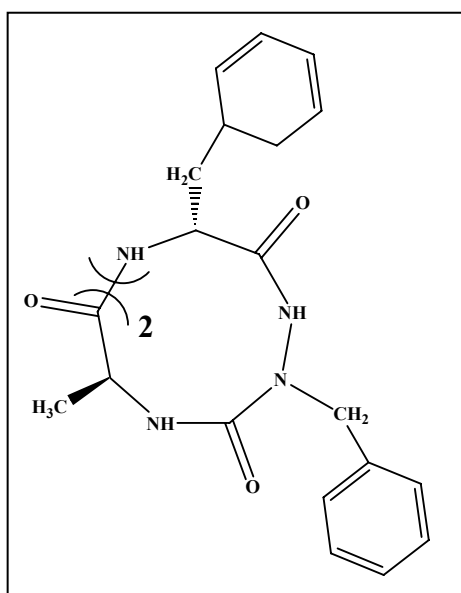
IR (CDCl₃): 3428 cm⁻¹ 3343 cm⁻¹ (NH), 1716 cm⁻¹, 1697 cm⁻¹, 1673 cm⁻¹, 1653 cm⁻¹ (C=O).

Rendement: 31%

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.17 (d, 6H, 2*CH₃), 2.90-2.96 (m, 4H, 2*CH₂), 3.46 (d, 2H, 2*NCH₂), 4.09-4.14 (m, 2H, 2*CH), 4.30 (s, 2H, 2*CH), 4.92 (d, 2H, 2*NCH₂), 6.62 (br s, 2H, 2*NH), 6.97-7.27 (m, 20H, H arom Ph), 8.33 (br s, 2H, 2*NH), 10.33 (br s, 2H, 2*NH).

^{13}C NMR (DMSO-*d*6): δ 19.8 (CH₃), 35.6 (CH₂) 48.7 (CH), 51.4 (NCH₂), 53.3 (CH) 126.5 and 126.8 and 127.7 and 127.9 and 128.0 and 128.2 and 129.0 and 129.2 (CH arom Ph), 136.8 and 138.1 (C arom Ph), 156.4 (O=C-NH), 170.1(O=C-NH), 171.7 (O=C-NH).

cyclo-((D)Phe-azaPhe-Ala)₂ 13b:



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: CH₂Cl₂/MeOH 98/2

Formula: C₄₀H₄₄N₈O₆

Theoretical Mass: 732 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₄₀H₄₄N₈O₆Na [M+Na]⁺ m/z 755.3276, found 755.3301

Aspect: White solid

Melting point: 219-220 °C

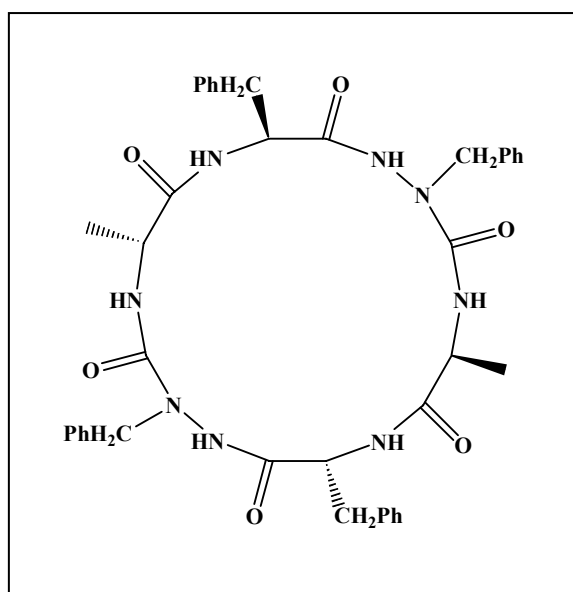
IR (CDCl₃): 3401 cm⁻¹ 3340 cm⁻¹ (NH), 1721 cm⁻¹, 1705 cm⁻¹, 1674 cm⁻¹, 1653 cm⁻¹ (C=O).

Rendement: 32%

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.12 (d, 6H, 2*CH₃), 2.72-2.87 (m, 4H, 2*CH₂), 3.64 (d, 2H, 2*NCH₂), 4.20-4.28 (m, 4H, 4*CH) 4.89 (d, 2H, 2*NCH₂), 6.37 (br d, 2H, 2*NH), 6.70-7.23 (m, 20H, H arom Ph), 8.49 (br s, 2H, 2*NH), 10.41 (br s, 2H, 2*NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 20.05 (CH₃), 36.1 (CH₂) 49.2 (CH), 51.2 (NCH₂), 53.2 (CH) 126.5 and 126.8 and 127.9 and 128.1 and 129.0 (CH arom Ph), 136.6 and 137.7 (C arom Ph), 156.1 (O=C-NH), 170.4(O=C-NH), 172.0 (O=C-NH).

cyclo-((D)Phe-azaPhe-(D)Ala-Phe-azaPhe-Ala) 13c:



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: p-ether /AcOEt 10/90

Formula: C₄₀H₄₄N₈O₆

Theoretical Mass: 732 g.mol⁻¹

Aspect: White solid

Melting point: 175-176 °C

IR (ATR): 3267 cm^{-1} (NH), 1733 cm^{-1} , 1701 cm^{-1} , 1675 cm^{-1} , 1649 cm^{-1} (C=O).

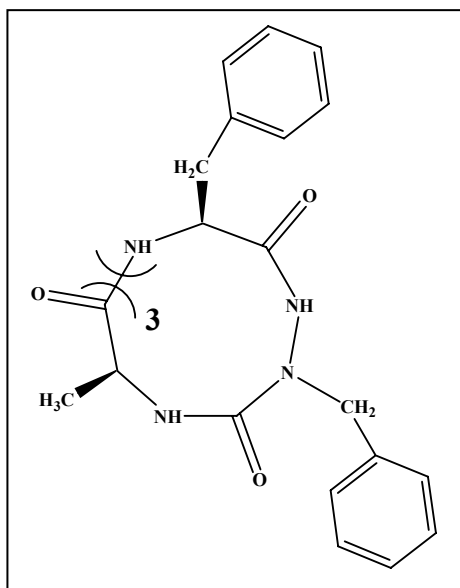
Rendement: 35%

¹H NMR (DMSO-*d*6): δ 1.05 (d, 3H, CH₃), 1.24 (d, 3H, CH₃), 2.81-2.98 (m, 4H, 2*CH₂), 4.06-4.17 (m, 2H, 2*CH), 4.32 (m, H, CH), 4.49 (m, H, CH _{α}), 4.53 (d, 4H, 2*NCH₂), 6.28 (br d, H, NH), 6.52 (br s, H, NH) 7.07-7.28 (m, 20H, H arom Ph), 8.17 (br s, H, NH), 9.84 (br d, H, NH), 10.22 (br s, H, NH), 10.39 (br s, H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*6): δ 18.2 (CH₃), 19.1 (CH₃), 36.7 and 37.4 (CH₂) 49.9 and 50.3 (CH), 52.0 (NCH₂), 54.3 and 54.5 (CH) 127.4 and 127.6 and 127.8 and 128.1 and

128.9 and 129.0 and 129.1 and 129.2 and 129.3 and 130.0 and 130.1 (CH arom Ph),
137.6 and 138.3 and 138.6 (C arom Ph), 157.5 (O=C-NH), 157.6 (O=C-NH),
170.1(O=C-NH), 171.3 (O=C-NH), 174.61 (O=C-NH).

cyclo-(Phe-azaPhe-Ala)₃ 14a



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: EtOAc/p-ether 70/30

Formula: $C_{60}H_{66}N_{12}O_9$

Theoretical Mass: 1098 g.mol^{-1}

HRMS (ESI) calculated for $C_{60}H_{66}N_{12}NaO_9$ $[M+Na]^+$ m/z 1121.4968, found 1121.4943

Aspect: White solid

Melting point: 187-188 °C

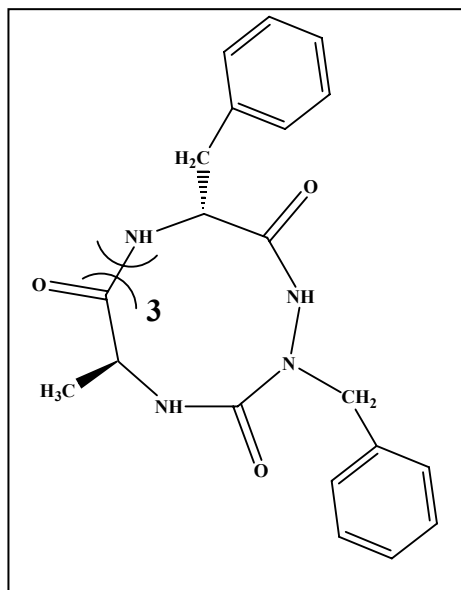
IR (ATR): 3251 cm^{-1} (NH), 1693 cm^{-1} , 1648 cm^{-1} (C=O).

Rendement: 36%

^1H NMR (DMSO-*d*6): δ 1.19 (s, 9H, 3*CH₃), 2.90 (s, 6H, 3*CH₂), 3.80, 4.88 (s, 6H, 3*NCH₂), 4.02 (s, 3*H, CH), 4.21 (s, 3*H, CH), 6.18 (br s, H, NH), 7.00-7.21 (m, 30H, H arom Ph), 8.56 (br s, H, NH), 9.83 (br d, H, NH).

^{13}C NMR (DMSO-*d*6): δ 18.1 (CH₃), 36.5 (CH₂), 48.8 (NCH₂), 50.7 and 53.4 (CH) 126.4 and 126.9 and 127.9 and 128.2 and 129.1 (CH arom Ph) 137.4 (C arom Ph), 156.4(O=C-NH), 173.8 (O=C-NH).

cyclo-((D)Phe-azaPhe-Ala)₃ 14b



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: EtOAc/CH₂Cl₂ 40/60

Formula: C₆₀H₆₆N₁₂O₉

Theoretical Mass: 1098 g.mol⁻¹

HRMS (ESI) calculated for C₆₀H₆₆N₁₂NaO₉ [M+Na]⁺ m/z 1121.4968, found 1121.4964

Aspect: White solid

Melting point: 151-152 °C

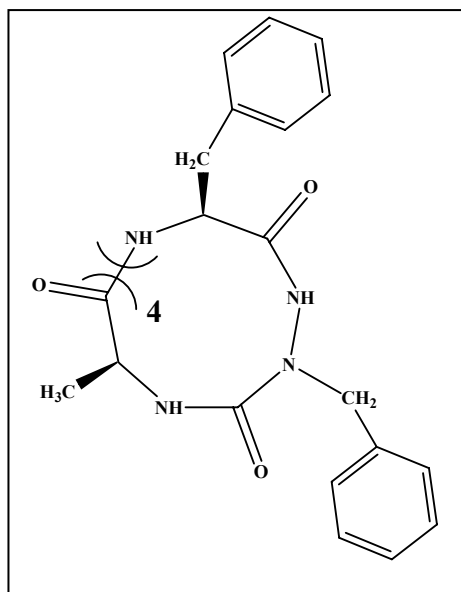
IR (ATR): 3349 cm⁻¹ 3252 cm⁻¹ (NH), 1696 cm⁻¹, 1677 cm⁻¹, 1650 cm⁻¹ (C=O).

Rendement: 35%

¹H NMR (DMSO-*d*6): δ 1.23-1.33 (m, 9H, 3*CH₃), 2.89-3.30 (m, 6H, 3*CH₂), 3.65-5.51 (m, 12H, 6*CH, 3*NCH₂), 6.25 (br s, 3H, 3*NH), 7.05-7.73 (m, 30H, H arom Ph), 8.98-11.66 (br s, 6H, 6*NH).

^{13}C NMR (DMSO-*d*6): δ 18.20 (CH_3), 37.10 (CH_2), 48.8 (NCH_2), 50.6 and 53.2 (CH) 126.4 and 126.9 and 128.1 and 128.7 and 129.1 (CH arom Ph) 137.5 and 138.2 (C arom Ph), 156.4($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$), 173.8 ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$).

cyclo-(Phe-azaPhe-Ala)₄ 15a



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 97/3

Formula: $\text{C}_{80}\text{H}_{88}\text{N}_{16}\text{O}_{12}$

Theoretical Mass: $1464 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Aspect: White solid

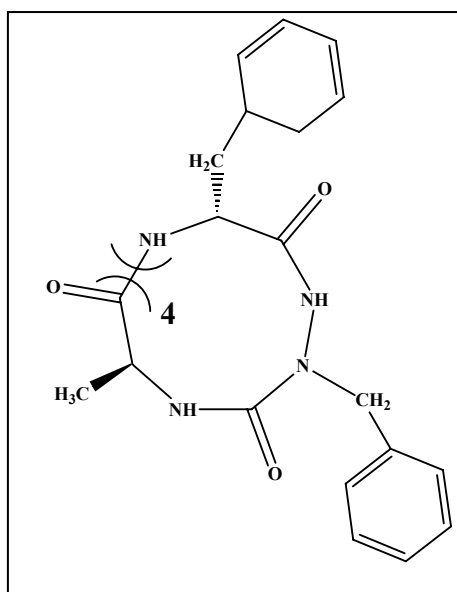
Melting point: $232\text{-}233^\circ\text{C}$

IR (ATR): 3350 cm^{-1} 3253 cm^{-1} (NH), 1701 cm^{-1} , 1675 cm^{-1} , 1648 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$).

^1H NMR (DMSO-*d*6): δ 1.12 (d, 12H, 4* CH_3), 2.92 (s, 8H, 4* CH_2), 4.37 (s, 4H, 2* NCH_2), 4.15 (s, 8H, 4* CH), 4.80 (s, 4H, 2* NCH_2), 6.50 (br s, 4H, 4* NH), 7.01-7.19 (m, 40H, H arom Ph), 8.06 (br s, 4H, 4* NH), 10.13 (br s, 4H, 4* NH).

^{13}C NMR (DMSO-*d*6): δ 18.2 (CH₃), 36.6 (CH₂), 49.7 (CH), 52.0 (NCH₂), 54.5 (CH), 126.5 and 126.8 and 127.9 and 128.1 and 129.1 (CH arom Ph), 136.7 and 137.5 (C arom Ph), 156.8 (O=C-NH), 170.2 (O=C-NH).

cyclo-((D)Phe-azaPhe-Ala)₄ 15b



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: CH₂Cl₂/MeOH 96/4

Formula: C₈₀H₈₈N₁₆O₁₂

Theoretical Mass: 1464 g.mol⁻¹

Aspect: White solid

Melting point: 181-182 °C

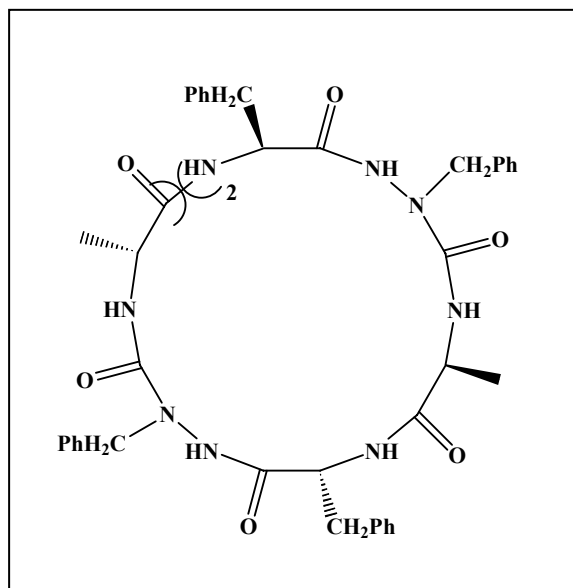
IR (ATR): 3352 cm⁻¹ 3253 cm⁻¹ (NH), 1700 cm⁻¹, 1675 cm⁻¹, 1647 cm⁻¹ (C=O).

Rendement: 33%

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.05 (d, 3H, CH₃), 1.24 (d, 3H, CH₃), 2.81-2.98 (m, 4H, 2*CH₂), 4.06-4.17 (m, 2H, 2*CH), 4.32 (m, H, CH), 4.49 (m, H, CH_α), 4.53 (d, 4H, 2*NCH₂), 6.28 (br d, H, NH), 6.52 (br s, H, NH) 7.07-7.28 (m, 20H, H arom Ph), 8.17 (br s, H, NH), 9.84 (br d, H, NH), 10.22 (br s, H, NH), 10.39 (br s, H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 18.21 (CH₃), 19.17 (CH₃), 36.76 and 37.48 (CH₂) 49.9 and 50.3 (CH), 52.0 (NCH₂), 54.3 and 54.5 (CH) 127.4 and 127.6 and 127.8 and 128.1 and 128.9 and 129.0 and 129.1 and 129.2 and 129.3 and 130.0 and 130.1 and 137.6 and 138.3 and 138.6 (CH arom Ph), 157.5 (O=C-NH), 157.6 (O=C-NH), 170.1(O=C-NH), 171.3 (O=C-NH), 174.61 (O=C-NH).

cyclo-((D)Phe-azaPhe-(D)Ala-Phe-azaPhe-Ala)₂ 15c



Purification: Column chromatography on silica gel;

Eluent: CH₂Cl₂/MeOH 97/3

Formula: C₈₀H₈₈N₁₆O₁₂

Theoretical Mass: 1464 g.mol⁻¹

Aspect: White solid

Melting point: 211-212 °C

IR (ATR): 3253 cm⁻¹ (NH), 1714 cm⁻¹, 1696 cm⁻¹, 1680 cm⁻¹, 1671 cm⁻¹, 1658 cm⁻¹, 1638 cm⁻¹, 1627 cm⁻¹ (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.05 (d, 3H, CH₃), 1.24 (d, 3H, CH₃), 2.81-2.98 (m, 4H, 2*CH₂), 4.06-4.17 (m, 2H, 2*CH), 4.32 (m, H, CH), 4.49 (m, H, CH _{α}), 4.53 (d, 4H, 2*NCH₂), 6.28 (br d, H, NH), 6.52 (br s, H, NH) 7.07-7.28 (m, 20H, H arom Ph), 8.17 (br s, H, NH), 9.84 (br d, H, NH), 10.22 (br s, H, NH), 10.39 (br s, H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 18.21 (CH₃), 19.17 (CH₃), 36.76 and 37.48 (CH₂) 49.9 and 50.3 (CH), 52.0 (NCH₂), 54.3 and 54.5 (CH) 127.4 and 127.6 and 127.8 and 128.1 and 128.9 and 129.0 and 129.1 and 129.2 and 129.3 and 130.0 and 130.1 and 137.6 and 138.3 and 138.6 (CH arom Ph), 157.5 (O=C-NH), 157.6 (O=C-NH), 170.1(O=C-NH), 171.3 (O=C-NH), 174.61 (O=C-NH).

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173.
- (2) Seebach, D.; Overhand, M.; Kühnle, F. N. M.; Martinoni, B.; Oberer, L.; Hommel, U.; Widmer, H. *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 913.
- (3) Horne, W. S.; Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1399.
- (4) Li, X.; Wu, Y.-D.; Yang, D. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1428.
- (5) Le Grel, P.; Salaün, A.; Potel, M.; Le Grel, B.; Lassagne, F. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5638.
- (6) Li, X.; Yang, D. *Chem. Commun.* **2006**, 3367.
- (7) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Khazanovich, N. *Nature* **1993**, *366*, 324.
- (8) Fischer, L.; Decossas, M.; Briand, J.-P.; Didierjean, C.; Guichard, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1625.
- (9) Karle, I. L.; Handa, B. K.; Hassall, C. H. *Acta Crystallogr. B* **1975**, *31*, 555.
- (10) Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023.
- (11) Abbas, C.; Pickaert, G.; Didierjean, C.; Jamart Gregoire, B.; Vanderesse, R. *Tetrahedron Lett.* **50**.
- (12) Bouillon, I.; Brosse, N.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 3569.
- (13) Bouillon, I.; Vanderesse, R.; Brosse, N.; Fabre, O.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9635.
- (14) Bouillon, I.; Brosse, N.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 2223.
- (15) Felten, A.-S.; Dautrey, S.; Bodiguel, J.; Vanderesse, R.; Didierjean, C.; Arrault, A.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 10741.
- (16) Felten, A.-S.; Vanderesse, R.; Brosse, N.; Didierjean, C.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 156.
- (17) André, F.; Boussard, G.; Bayeul, D.; Didierjean, C.; Aubry, A.; Marraud, M. *J. Pept. Res.* **1997**, *49*, 556.
- (18) Lecoq, A. *N-amino et hydrazino peptides. Aspects chimiques et structuraux*; Vandoeuvre-les-Nancy, INPL, 1991.
- (19) Lee, H.-J.; Choi, K.-H.; Ahn, I.-A.; Ro, S.; Jang, H. .; Choi, Y.-S.; Lee, K.-B. *J. Mol. Struct.* **2001**, *569*, 43.
- (20) Lee, H.-J.; Park, H.-M.; Lee, K.-B. *Biophys. Chem.* **2007**, *125*, 117.
- (21) Lee, H.-J.; Lee, K.-B.; Ahn, I.-A.; Ro, S.; Choi, K.-H.; Choi, Y.-S. *J. Pept. Res.* **2000**, *56*, 35.
- (22) Boeglin, D.; Lubell, W. D. *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 864.
- (23) Proulx, C.; Picard, É.; Boeglin, D.; Pohankova, P.; Chemtob, S.; Ong, H.; Lubell, W. D. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6502.
- (24) Thormann, M.; Hofmann, H.-J. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **1999**, *469*, 63.
- (25) Didierjean, C.; Duca, V. D.; Benedetti, E.; Aubry, A.; Zouikri, M.; Marraud, M.; Boussard, G. *J. Pept. Res.* **2009**, *50*, 451.
- (26) André, F.; Vicherat, A.; Boussard, G.; Aubry, A.; Marraud, M. *J. Pept. Res.* **1997**, *50*, 372.
- (27) André, F.; Marraud, M.; Boussard, G.; Didierjean, C.; Aubry, A. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 183.
- (28) F André, M. M. *J. Pept. Sci. Off. Publ. Eur. Pept. Soc.* **1997**, *3*, 429.
- (29) Zega, A.; Urleb, U. *Acta Chim Slov* **2002**, *49*, 649.

- (30) Melendez, R. E.; Lubell, W. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6759.
- (31) Ragnarsson, U. *Chem. Soc. Rev.* **2001**, *30*, 205.
- (32) Proulx, C.; Lubell, W. D. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4552.
- (33) Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Bodiguel, J.; Jamart-Grégoire, B. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2869.
- (34) Brosse, N.; Pinto, M.-F.; Jamart-Grégoire, B. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4370.
- (35) Majer, P.; Randad, R. S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1937.
- (36) Brosse, N.; Jamart-Grégoire, B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 249.
- (37) Zhou, Z.; Cheng, D.; Abbas, C.; Didierjean, C.; Averlant-Petit, M.; Bodiguel, J.; Vanderesse, R.; Jamart-Grégoire, B. *Eur. J. Org. Chem.*, sous presse, DOI: 10.1002/ejoc.201402628R3.
- (38) Abbas-Quinternet, C. Thèse : *Synthèse et études structurales de nouveaux 2:1-[α /aza]-oligomères, vers de nouveaux foldamères*; **2009**, INPL-Nancy.
- (39) Albericio, F.; Carpino, L. A. In *Methods in Enzymology*; Gregg B. Fields, Ed.; Solid-Phase Peptide Synthesis; Academic Press, 1997; Vol. Volume 289, pp. 104–126.
- (40) Pain, R. H. *Biochem. Educ.* **1980**, *8*, 124.
- (41) Ramachandran, G. N.; Ramakrishnan, C.; Sasisekharan, V. *J. Mol. Biol.* **1963**, *7*, 95.
- (42) Lee, J.; Shin, S. *Biophys. J.* **2001**, *81*, 2507.
- (43) Smith, J. A.; Pease, L. G.; Kopple, K. D. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1980**, *8*, 315.
- (44) Rose, G. D.; Gierasch, L. M.; Smith, J. A. *Adv. Protein Chem.* **1985**, *37*, 1.
- (45) Kuntz, I. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 4009.
- (46) Milner-White, E.; Ross, B. M.; Ismail, R.; Belhadj-Mostefa, K.; Poet, R. *J. Mol. Biol.* **1988**, *204*, 777.
- (47) G NEMETHY, H. S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *95*, 320.
- (48) Baures, P. W.; Ojala, W. H.; Gleason, W. B.; Johnson, R. L. *J. Pept. Res.* **1997**, *50*, 1.
- (49) Kennedy, D. F.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Chapman, D. *Biochemistry (Mosc.)* **1991**, *30*, 6541.
- (50) Moretto, A.; Peggion, C.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Piazza, C.; Kaptein, B.; Broxterman, Q. b.; Ruiz, I.; Diaz-de-Villegas, M. d.; Galvez, J. a.; Cativiela, C. *J. Pept. Res.* **2000**, *56*, 283.
- (51) Saviano, M.; Iacovino, R.; Menchise, V.; Benedetti, E.; Bonora, G. M.; Gatos, M.; Graci, L.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C. *Biopolymers* **2000**, *53*, 200.
- (52) Gatos, M.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Bonora, G. M.; Benedetti, Z.; Di Blasio, B.; Iacovino, R.; Santini, A.; Saviano, M.; Kamphuis, J. *J. Pept. Sci.* **1997**, *3*, 110.
- (53) Moretto, V.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Bonora, G. M.; Toniolo, C.; Benedetti, E.; Santini, A.; Saviano, M.; Di Blasio, B.; Pedone, C. *J. Pept. Sci.* **1996**, *2*, 14.
- (54) Gatos, M.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Valle, G.; Toniolo, C.; Bonora, G. M.; Saviano, M.; Iacovino, R.; Menchise, V.; Galdiero, S.; Pedone, C.; Benedetti, E. *J. Pept. Sci.* **1997**, *3*, 367.
- (55) Moretto, A.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Saviano, M.; Benedetti, E.; Iacovino, R.; Vitale, R. m. *J. Pept. Res.* **2001**, *57*, 307.
- (56) Seebach, D.; Abele, S.; Sifferlen, T.; Hänggi, M.; Gruner, S.; Seiler, P. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 2218.

- (57) Peter, C.; Rueping, M.; Wörner, H. J.; Jaun, B.; Seebach, D.; van Gunsteren, W. F. *Chem. – Eur. J.* **2003**, *9*, 5838.
- (58) Brenner, M.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 2155.
- (59) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13071.
- (60) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Klein, D. A.; Powell, D. R.; Huang, X.; Barchi, J. J.; Gellman, S. H. *Nature* **1997**, *387*, 381.
- (61) Krauthäuser, S.; Christianson, L. A.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11719.
- (62) Appella, D. H.; Barchi, Joseph J.; Durell, S. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2309.
- (63) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6206.
- (64) Seebach, D.; Kimmerlin, T.; Šebesta, R.; Campo, M. A.; Beck, A. K. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7455.
- (65) Martinek, T. A.; Fülöp, F. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 687.
- (66) Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C.; Broxterman, Q. B.; Kaptein, B.; Corbier, C.; Saviano, M.; Palladino, P.; Benedetti, E. *Macromolecules* **2003**, *36*, 8164.
- (67) Iqbal, M.; Balaram, P. *Biopolymers* **1982**, *21*, 1427.
- (68) André, F.; Vicherat, A.; Boussard, G.; Aubry, A.; Marraud, M. *J. Pept. Res.* **1997**, *50*, 372.
- (69) Salaün, A.; Favre, A.; Le Grel, B.; Potel, M.; Le Grel, P. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 150.
- (68) Bax, A.; Freeman, R.; Morris, G. J. *Magn. Reson.* 1969 1981, *42*, 164.
- (70) Bax, A.; Freeman, R. *J. Magn. Reson.* 1969 **1981**, *44*, 542.
- (71) Bothner-By, A. A.; Stephens, R. L.; Lee, J.; Warren, C. D.; Jeanloz, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 811.
- (72) Dyson, H. J.; Rance, M.; Houghten, R. A.; Lerner, R. A.; Wright, P. E. *J. Mol. Biol.* **1988**, *201*, 161.
- (73) Dyson, H. J.; Rance, M.; Houghten, R. A.; Lerner, R. A.; Wright, P. E. *J. Mol. Biol.* **1988**, *201*, 201.
- (74) Wartewig, S. *IR and Raman Spectroscopy : Fundamental Processing*; John Wiley & Sons, 2006.
- (76) Eisenberg, B. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 117.
- (77) Sigler, P. B.; Xu, Z.; Rye, H. S.; Burston, S. G.; Fenton, W. A.; Horwich, A. L. *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 581.
- (78) Horwich, A. L.; Weber-Ban, E. U.; Finley, D. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 11033.
- (79) Zwickl, P.; Voges, D.; Baumeister, W. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **1999**, *354*, 1501.
- (80) Voges, D.; Zwickl, P.; Baumeister, W. *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 1015.
- (81) Salaün, A.; Mocquet, C.; Perochon, R.; Lecorgne, A.; Le Grel, B.; Potel, M.; Le Grel, P. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8579.
- (82) Hassall, C. H. *Chem Biol Pept Proc Am Pept Symp 3rd* **1972**, 153.
- (83) De Santis, P.; Morosetti, S.; Rizzo, R. *Macromolecules* **1974**, *7*, 52.
- (84) Tomasic, L.; Lorenzi, G. P. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1012.
- (85) Pavone, V.; Benedetti, E.; Di Blasio, B.; Lombardi, A.; Pedone, C.; Tomasich, L.; Lorenzi, G. P. *Biopolymers* **1989**, *28*, 215.
- (86) Motesharei, K.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11306.

- (87) Fernandez-Lopez, S.; Kim, H.-S.; Choi, E. C.; Delgado, M.; Granja, J. R.; Khasanov, A.; Kraehenbuehl, K.; Long, G.; Weinberger, D. A.; Wilcoxon, K. M.; Ghadiri, M. R. *Nature* **2001**, *412*, 452.
- (88) Walsh; Wright. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391.
- (89) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10785.
- (90) Sánchez-Quesada, J.; Sun Kim, H.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2571.
- (91) Clark, T. D.; Buehler, L. K.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 651.
- (92) Couet, J.; Samuel, J. D. J. S.; Kopyshev, A.; Santer, S.; Biesalski, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3297.
- (93) Hartgerink, J. D.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 43.
- (94) Khazanovich, N.; Granja, J. R.; McRee, D. E.; Milligan, R. A.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6011.
- (95) Clark, T. D.; Buriak, J. M.; Kobayashi, K.; Isler, M. P.; McRee, D. E.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8949.
- (96) Rosenthal-Aizman, K.; Svensson, G.; Undén, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3372.
- (97) Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844.
- (98) Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710.
- (99) Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem Commun* **2007**, 3267.
- (100) Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org Lett* **2005**, *7*, 4681.
- (101) Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. – Eur. J.* **2008**, *14*, 2100.
- (102) Semetey, V.; Didierjean, C.; Briand, J.-P.; Aubry, A.; Guichard, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1895.
- (103) Shimizu, L. S.; Smith, M. D.; Hughes, A. D.; Shimizu, K. D. *Chem. Commun.* **2001**, 1592.
- (104) Seebach, D.; Matthews, J. L.; Meden, A.; Wessels, T.; Baerlocher, C.; McCusker, L. B. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 173.
- (105) Gademann, K.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 957.
- (106) Gauthier, D.; Baillargeon, P.; Drouin, M.; Dory, Y. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4635.
- (107) Bong, D. T.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2221.
- (108) Semetey, V.; Didierjean, C.; Briand, J.-P.; Aubry, A.; Guichard, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1895.
- (109) McGaughey, G. B.; Gagné, M.; Rappé, A. K. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 15458.
- (110) Némethy, G.; Scheraga, H. A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *95*, 320.
- (111) Alfonso, I.; Burguete, M. I.; Luis, S. V. *J Org Chem* **2006**, *71*, 2242.
- (112) Vass, E.; Kurz, M.; Konat, R. K.; Hollósi, M. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **1998**, *54*, 773.
- (113) Allix, F.; Curcio, P.; Pham, Q. N.; Pickaert, G.; Jamart-Grégoire, B. *Langmuir* **2010**, *26*, 16818.
- (114) Smith, J. M.; Katsoulis, D. E. *J. Mater. Chem.* **1995**, *5*, 1899.
- (115) Wang, R.; Geiger, C.; Chen, L.; Swanson, B.; Whitten, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2399.
- (116) Sureshan, K. M.; Yamaguchi, K.; Sei, Y.; Watanabe, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 4703.
- (117) Terech, P.; Rossat, C.; Volino, F. *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, *227*, 363.

- (118) Schoonbeek, F. S.; van Esch, J. H.; Hulst, R.; Kellogg, R. M.; Feringa, B. L. *Chem. – Eur. J.* **2000**, *6*, 2633.
- (119) Makarević, J.; Jokić, M.; Raza, Z.; Štefanić, Z.; Kojić-Prodić, B.; Žinić, M. *Chem. – Eur. J.* **2003**, *9*, 5567.
- (120) Sureshan, K. M.; Yamaguchi, K.; Sei, Y.; Watanabe, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 4703.
- (121) Makarević, J.; Jokić, M.; Raza, Z.; Štefanić, Z.; Kojić-Prodić, B.; Žinić, M. *Chem. - Eur. J.* **2003**, *9*, 5567.
- (122) Nikolić, A.; Petrović, S.; Antonović, D.; Gobor, L. *J. Mol. Struct.* **1997**, *408–409*, 355.
- (123) Nikolić, A. D.; Kobilarov, N. L.; Brzić, A. N. *J. Mol. Struct.* **1983**, *99*, 179.

Synthèse et études structurales de nouveaux $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomères et cyclooligomères, vers de nouveaux foldamères

Ce travail décrit la synthèse et l'étude structurale d'oligomères mixtes et de leurs analogues cycliques alternant des résidus acides α aminés et des résidus acides azaaminés.

Le premier chapitre concerne la synthèse en solution des 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomères et des 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomères obtenus respectivement par oligomérisation par couplage peptidique de l'azadipeptide Boc-azaPhe-Ala-OMe et de l'azatripeptide Boc-Phe-azaPhe-Ala-OMe correctement déprotégés. Pour la première famille en série L, les rendements en dimérisation et en trimérisation sont moyens en raison de la faible nucléophilie du partenaire amine azadipeptidique. Quant aux 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomères de taille variable, ils ont été isolés avec de très bons rendements quelle que soit la nature L et/ou D des résidus acides α aminés de l'azatripeptide. Ce chapitre présente également l'étude conformationnelle de ces oligomères par spectroscopies RMN et IR, par modélisation moléculaire ainsi que dans certains cas par diffraction des RX. L'analyse des 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomères a révélé une auto-structuration majoritaire en solution alternant un coude β et un coude γ stabilisés par des liaisons hydrogène intramoléculaires. L'examen des 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomères a permis de mettre en évidence, en série homochirale (L), une conformation majoritaire caractérisée par la formation de coudes β stabilisés par un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires. Des repliements, induits par la formation de coudes β et de coudes γ s'imposent en série hétérochirale (DLDL...).

Le second chapitre est consacré à la synthèse en solution et à l'étude conformationnelle des analogues cycliques des oligomères présentés dans le premier chapitre. Les 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -cyclooligomères sont surtout discutés, leur synthèse par couplage peptidique intramoléculaire étant plus efficace que celle des 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -cyclooligomères. La formation de nanotubes due à l'empilement des 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -cyclohexamères homochiraux (L) a été mise en évidence à l'état solide par établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires puis suggérée en solution. Le pouvoir gélifiant de certains solvants organiques de l'analogue hétérochiral (DLDL) présage également de son auto-structuration en nanotubes discutée uniquement en solution faute de structure à l'état solide.

Mots clés : azapeptides, cyclooligomères, liaison hydrogène, foldamère, nanotubes, organogel

Synthesis and structural studies of new $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomers and cyclooligomers, towards new foldamers

This work describes the synthesis and structural analysis of mixed oligomers and their cyclic analogues containing an alternation of α -acid residues and α -azaamino acids moieties.

The first chapter deals with the "in solution" synthesis of 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomers and 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomers respectively, obtained by oligomerization of the properly deprotected azadipeptide Boc-Ala-azaPhe-OMe azadipeptide and Boc-Phe-Ala-OMe-azaPhe tripeptide. For the first family series with L aminoacids, yields dimerization and trimerization are moderate due to the low nucleophilicity of the amine azadipeptidic partner. Concerning the 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomers of variable sizes, they were isolated with very good yields whatever the nature L and / or D of the α -aminoacid residues of the azatripeptide. This chapter also presents the conformational study of these oligomers by NMR and IR spectroscopy, molecular modeling and in some cases by X-ray diffraction. Analysis of the 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomers reveals mainly a self-assembly in solution with alternation of β - and γ -turns stabilized by intramolecular hydrogen bonds. Examination of the 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -oligomers in homochiral series (L) evidenced a main conformation with repetitive β turns. Regarding the heterochiral series (DLDL...), it is an alternation of β - and γ -turns which is observed.

The second chapter is devoted to the solution synthesis in solution and conformational study of cyclic analogues oligomers presented in the first chapter. 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -cyclooligomers are mostly discussed because their synthesis by intramolecular peptide coupling is more effective than the 1:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -cyclooligomers. The formation of nanotubes due to the stacking of the homochiral (L) 2:1- $[\alpha/\text{aza}]$ -cyclohexamers has been shown in the solid state and suggested in solution. Furthermore, in heterochiral series, the gelling properties of some organic solvents suggest a self-assembly in solution.

Keywords : azapeptides, cyclooligomers, hydrogen bond, foldamer, nanotubes, organogel