

N° ORDRE : 3450

THESE DE DOCTORAT

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE DE BORDEAUX 1

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par **Nicolas DELSUC**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPECIALITE : CHIMIE ORGANIQUE

STRUCTURES TERTIAIRES PROTEOMIMETIQUES

ISSUES D'OLIGOAMIDES AROMATIQUES

Soutenue le 26 Octobre 2007

Après avis de :

M.	D. FUNERIU	(Rapporteur)	Directeur de recherche, Université de Munich
M.	G. GUICHARD	(Rapporteur)	Directeur de recherche, CNRS

Devant la commission d'examen formée de :

M.M.	E. FOUQUET	(Examineur)	Professeur, Université de Bordeaux I
	D. FUNERIU	(Rapporteur)	Directeur de recherche, Université de Munich
	G. GUICHARD	(Rapporteur)	Directeur de recherche, CNRS
	J.-M. LEGER	(Examineur)	Professeur, Université de Bordeaux II
	I. HUC	(Examineur)	Directeur de recherche, CNRS

REMERCIEMENTS

Cette thèse, réalisée au sein de l'Institut Européen de Chimie et Biologie (IECB), est l'aboutissement de trois années de travail de recherche dans le groupe de chimie supramoléculaire biomimétique et bioorganique. Je tiens à remercier les directeurs de l'institut, le Prof. Léon Ghosez et le Dr. Jean-Jacques Toulmé ainsi que le Dr. Erick Dufourc, directeur de l'UMR CBMN, pour m'avoir accueilli dans leur laboratoire.

Je remercie également le Prof. Eric Fouquet pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury, le Dr. Daniel Funeriu et le Dr. Gilles Guichard pour avoir accepté d'évaluer ce travail en tant que rapporteurs et d'honorer de leur présence le jury de ma thèse, ainsi que le Prof. Jean-Michel Léger pour avoir accepté de siéger parmi les membres de mon jury.

Je remercie plus particulièrement le Dr. Ivan Huc, pour ces trois années passées sous son aile. C'est lui qui m'a ouvert les portes de cet institut, de la recherche et maintenant du Japon. Il présente des grandes qualités de « manager », s'adaptant à chacun de ses étudiants, gérant subtilement cette relation directeur de thèse/doctorant, un peu particulière, il faut l'avouer. L'adolescence est maintenant terminée pour moi, les armes sont entre mes mains...J'ai apprécié autant l'homme que le scientifique qui m'a guidé, conseillé et impliqué dans de nombreuses collaborations, toutes très enrichissantes. Merci pour cette confiance.

Un grand merci également à toutes les personnes avec qui j'ai eu le bonheur de travailler : nos cristallographes Jean-Michel Léger, Stéphane Massip et Brice Kauffmann, merci pour votre acharnement, votre disponibilité et de m'avoir beaucoup appris. Mon travail n'aurait vraiment pas eu la même valeur sans vous ; notre RMNiste Axelle Grelard, c'était à chaque fois un vrai plaisir de lui demander conseil et de l'aide, tant du fait de ses compétences que du fait de son caractère jovial et sympathique ; notre Spectromassiste Katell Bathany qui malgré la taille de mes composés ne s'est jamais dégonflée, a toujours essayé avec une extrême gentillesse tout ce qui était possible pour parvenir à me donner des informations ; sans oublier la fine équipe de l'administration qui fait tourner l'institut : Annie, Sandra, Stéphanie, Coralie, Marie-Danielle et Béatrice.

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes avec qui j'ai travaillé dans l'équipe d'Ivan Huc : Frédéric, et nos discussions autour du café du début de journée, Xavier pour nos séances acharnées de squash (fais gaffe à toi maintenant que je suis docteur!), les pauses clopes..., Legiso, Yan, Srinivas, Reddy, Tracey, Benoît, David, et la petite dernière Marine. Cette fois-ci je n'oublie pas Thomas (encore désolé!), même de loin je suivrai les aventures de l'USAP...

Un grand merci aussi aux anciens du groupe : Victor et Christel, merci pour la répétition, vos conseils pour le Japon, et puis à très vite à Kyoto ; Jo, un senior hors pair, achète une coque pour le snow, c'est plus prudent! J'ai toujours la photo de ton bleu...Manu, la danse des canards en Italien, ça déchire !

Je remercie également les anciens du labo, qui plus que des collègues, sont devenus des potes : Arnaud, bien sûr, dit 118, nos discussions pendant les colonnes étaient des moments grandioses ! Même si, là tout de suite tu vas avoir du mal à le reconnaître, les grèves sont importantes ! Carlos, le tonton ski, thonmayo, la Caron je l'ai faite !!!! RDV à Nagano ; Nathalie, une thèse c'est aussi ça, des rencontres magiques avec des personnes hors du commun. Au niveau assiduité pour les mails, on a encore des progrès à faire, mais on va y arriver ! Merci aussi aux français expatriés en Angleterre, que vous reveniez pour ma soutenance m'a beaucoup touché, MSN, je vais ptêtre m'y mettre....Merci Aurélie pour ton soutien, tes blagues salaces....pour l'auscultation, il faut prendre RDV !!!

Un merci particulier à une Ancienne qui, finalement est....restée : Céline. Tous les moments passés avec vous 4 étaient des moments de pur bonheur. Et puis chez vous c'est quand même une cantine de luxe...Un congrès au Japon ça doit bien se trouver ??

Un grand merci aussi à tout ceux qui font du boulot quotidien au labo des moments sympathiques et drôles: les RMNistes : Seb, Frantz, Vanessa, Yann ; les Modélisateurs : Ju (c'est quand tu veux une autre contre soirée dégustation de Whisky), Nada (allez, c'est bientôt la fin !) ; les organiciens partis : Mickaël, (tu vois même si ce n'est pas de la vraie chimie on arrive à soutenir !!!) Anne-Laure ou les organiciens encore là : Aurélie, Elisabeth, Gosia (dite grognasse, mais c'est amical !), Claude, Marissa (t'es arrivée trop tard !!!!), Gaëlle, Delphine (t'es la prochaine...bon courage), Gildas (Le 12, je regrette de ne pas avoir passé plus de temps avec toi !), Mélanie et Céline (c'est difficile de vous dissocier, sinon on a pas un cerveau complet ! Merci de votre générosité et de votre simplicité), Sophie, Tony (le nouveau qui apparemment à beaucoup d'humour....), Jean, Rémi, Stéphane, Marion ; les Geminettes et

Geminots : Sabine (comme tu dois flipper....), Carole (et toi aussi....Ne laisse pas tomber ta voix !!), Rumi (campai !), Roni et Wissam ; les biologistes : Fred, Margo, Stéphane (4-7 power), Maria.

Je n'oublie pas de remercier à nouveau les fidèles pruneaux : Estelle (promis je rentre en cas de mariage, naissance...), Béné, Vincent, Quentin, Ju F., Ju Ch., Ju C. Cette fois-ci je ne serai pas avec vous pour le premier de l'an mais c'est sûr je penserai fort à vous ! Merci pour tous les bons moments passés avec vous, d'avoir rendu mon arrivée en France plus douce.

Je tiens enfin à remercier toute ma famille qui m'a toujours soutenu, encouragé, conseillé. Au-delà de l'allusion rugbystique, « fondamentaux », avait beaucoup de sens pour moi. En particulier je veux remercier mes parents (vous m'avez donné le goût du voyage !), mon frangin (Alors au final, est ce que je suis lambda ???) et ma frangine (4 ans de colloc, ça compte !) et leurs conjoints (merci pour tous ces petits aussi !!), Papy et Mamy (le Japon ce n'est pas si loin), Jean-Claude et Nicole, Marion et Chris.

LISTE DES ABREVIATIONS

AcOH : acide acétique

BocGlyOH : *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl) glycine

CCD : chimie combinatoire dynamique

DCE : 1,2-dichloroéthane

DCM : dichlorométhane

DIAD : diisopropylazadicarboxylate

DIEA : diisopropyléthylamine

DMF : diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

EtOAc : acétate d'éthyle

EtOH : éthanol

HBTU : *o*-(benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tétraméthyluronium hexafluorophosphate

HOBt : 1-hydroxybenzotriazole

HRSM : spectrométrie de masse haute résolution

*i*BuOH : isobutanol

MeOH : méthanol

PyBop[®] : (benzotriazol-1-yloxy) tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate

Quant. : quantitatif

Rdt : rendement

RMN : résonance magnétique nucléaire

SM : spectrométrie de masse

t.a. : température ambiante

THF : tétrahydrofurane

SOMMAIRE

<i>INTRODUCTION</i>	1
----------------------------	---

Chapitre I : Les faisceaux d'hélices protéiques et protéomimétiques : *Etude Bibliographique*

Introduction	5
1. Conception de novo	7
1.1 Principe	7
1.2 Faisceaux à quatre hélices	7
1.2.1 L'heptade	9
1.2.2 La boucle	9
1.3 Les faisceaux à n hélices	10
2. Faisceaux supportés	12
2.1 Les supports linéaires	12
2.2 Les supports cycliques	13
2.3 Utilisation de Métaux	17
2.3.1 Incorporation de ligands	17
2.3.2 Vers des mimes de métalloenzymes naturelles	18
3. Apport des foldamères	21
3.1 Les peptoïdes	21
3.2 Les β -peptides	22
Conclusion	25
Références bibliographiques	26

Chapitre II : Les oligoamides aromatiques dérivés de l'acide 8-amino-2-quinoline carboxylique : *Etat de l'Art et Nouvelles Etudes*

Introduction	31
I. Etat de l'Art	
1. Le repliement hélicoïdal	33
1.1 Les préférences conformationnelles locales	33
1.2 Induction et Stabilisation de la conformation hélicoïdale	34
2. Caractérisation du repliement	36
2.1 Dans le solide	36

2.2 En solution	37
2.2.1 Preuves indirectes par RMN 1D	37
2.2.2 Résolution de la structure par RMN 2D	39
3. Contrôle intramoléculaire du sens d'hélicité	40
4. Transmission ou inversion du sens d'hélicité entre deux segments hélicoïdaux à travers un espaceur	42

II Résultats récents

1. Optimisation de la synthèse	44
1.1 Synthèse du monomère	44
1.2 Synthèse des «oligomères pairs»	45
1.3 Synthèse des autres oligomères	47
2. Cinétique d'inversion du sens d'hélicité	48
Conclusion	54
Partie Expérimentale	55
1. Procédures générales	55
1.1 Saponification	55
1.2 Activation des acides	55
1.3 Réduction des nitro	56
1.4 Les couplages	56
2. Les composés	56
Références bibliographiques	61

Chapitre III : Modulation de la flexibilité de foldamères hélicoïdaux

Introduction	65
1. Conception des oligoamides	67
1.1 Passage des noyaux quinolines aux noyaux pyridines	67
1.2 Modulation de la flexibilité	68
1.3 Modélisation	68
2. Synthèse	70
2.1. Synthèse du monomère pyridine	70
2.2. Les couplages	73
2.2.1 Oligomère pyridine	73
2.2.2. Oligomère mixte	74
3. Analyses structurales	75
3.1 Etude structurale dans le solide	75
3.2 Etude structurale en solution	76
3.2.1 Comparaison avec les oligoquinolines	76
3.2.2 Effets de la température et du solvant sur les oligomères 12 et 16	78

4. Analyse conformationnelle en solution de l'oligomère 16 par RMN	80
4.1 Choix des conditions expérimentales	80
4.2 Attribution des systèmes de spin	81
4.3 Détermination de la séquence	83
4.4 Détermination des conformations en solution	86
5. Induction d'une conformation hélicoïdale canonique	87
5.1 Conception du système	88
5.2 Synthèse	88
5.3 Etude conformationnelle	90
Conclusion	91
Partie expérimentale	92
1. Cristallographie	92
2. Spectroscopie RMN	92
3. Procédure générales	93
4. Modes opératoires	95
Références bibliographiques	101

Chapitre IV : Conception, Synthèse et Etudes de structures tertiaires protéomimétiques

Introduction	105
1. Conception de faisceaux d'hélices	106
1.1 Elaboration des structures	106
1.2 Les « liens »	107
1.3 L'espaceur	107
1.4 Les segments hélicoïdaux	108
1.5 Exemples de structures	108
2. Validation de l'espaceur	109
2.1 Synthèse de l'espaceur	109
2.2 Etude d'un oligomère de référence	110
3. Synthèse des oligomères	112
3.1 Synthèse des plates formes espaceur-lien-espaceur	112
3.2 Couplages	113
4. Analyses structurales	114
4.1 Les faisceaux à deux hélices	114
4.1.1 Observation des espèces présentes en solution	114
4.1.2 Conformation dans le solide	116
4.1.3 Attribution des espèces présentes en solution	118
4.1.4 Influence du solvant	118
4.2 Les Faisceaux à trois hélices	120
5. Structures tertiaires non covalentes	122

Conclusion et perspectives	126
Partie Expérimentale	127
1 Cristallographie	127
2 Procédures générales	128
3 Les composés	129
Références bibliographiques	137

Chapitre V : Formation dynamique de structures tertiaires protéomimétiques

Introduction	141
1. Conception des structures	144
1.1 Méthode	145
1.2 Les structures hélicoïdales	145
1.3 Assemblage par coordination du cuivre I	146
2. Validation des réactions de complexation	146
2.1 Synthèse de monomères-amines	147
2.2 Résultats	148
3. Formation d'auto-assemblages de foldamères	149
3.1 Synthèse des oligomères fonctionnalisés	149
3.2 Résultats et discussion	150
3.2.1 Multiplicité des signaux par RMN 1H	151
3.2.2 Criblage des complexes	152
3.2.3 Avec l'oligomère 7	154
3.2.4 Attribution des espèces en solution	156
Conclusion et perspectives	159
Partie expérimentale	161
1 Cristallographie	161
2 Procédures générales	161
3 Les composés	162
Références bibliographiques	167
CONCLUSION	169

INTRODUCTION

Les protéines, en adoptant des conformations bien définies, sont capables d'effectuer des réactions et des transformations de manière efficace et sélective. La compréhension des mécanismes impliqués dans ces repliements singuliers est un enjeu important qui suscite un intérêt croissant. Il apparaît en effet, que cette compréhension pourrait permettre de mieux appréhender les relations entre la structure et l'activité des protéines. De plus, cela ouvrirait la voie vers la conception et la synthèse de peptides ou protéines ayant une activité similaire voire meilleure que celle des protéines natives.

Dans ce but, une partie de la communauté scientifique a investi, avec succès, des efforts considérables pour rationaliser la synthèse de protéines artificielles, préparées par des méthodes de biologie moléculaire, et adoptant des conformations prédéterminées. Une autre partie de cette communauté s'est davantage intéressée aux foldamères, qui sont des oligomères non naturels issus de la synthèse organique chimique capables d'adopter des conformations originales ou peptidomimétiques. Parvenir à effectuer des peptidomimes ou protéomimes avec des foldamères requiert une grande expérience des systèmes. Toutefois, les foldamères permettent d'entrevoir la possibilité des les utiliser *in vivo* car il est peu probable qu'ils soient reconnus par les protéases, en particulier s'ils font partie de la famille des foldamères abiotiques.

Le Dr. Ivan Huc et ses collaborateurs, faisant partie de la seconde communauté, ont développé avec succès des brins moléculaires non naturels qui adoptent des structures définies sous l'effet d'interactions intramoléculaires et intermoléculaires. En particulier, une des familles des foldamères étudiés sont des oligoamides dérivés de l'acide 8-amino-2-quinoline carboxylique. Le repliement de ces composés en hélice est le fait notamment d'interactions électrostatiques répulsives, et de liaisons hydrogène entre les protons des fonctions amides et les azotes endocycliques des quinolines. La conformation hélicoïdale est de plus stabilisée par des interactions de π - π stacking entre les cycles aromatiques. Par analogie avec les protéines, ces structures hélicoïdales peuvent être considérées comme des structures secondaires peptidomimétiques.

Désormais, un des objectifs du groupe d'Ivan Huc est d'augmenter d'un incrément la complexité des systèmes et donc de parvenir à concevoir, synthétiser et caractériser des structures présentant plusieurs de ces motifs secondaires. C'est principalement dans cette perspective que s'est inscrit mon travail de thèse. Ce manuscrit tentera de montrer de façon synthétique les principaux résultats obtenus au cours de ces trois années. Il s'articulera autour de cinq chapitres :

Le chapitre **I** est une étude bibliographique sur la conception, la synthèse et l'étude de faisceaux d'hélices peptidiques. Dans ce chapitre il sera également discuté de l'utilisation des foldamères dans l'élaboration de structures en faisceaux protéomimétiques.

Le chapitre **II** est un état de l'art des études réalisées par le groupe d'Ivan Huc sur les oligoamides dérivés de l'acide 8-aminoquinoline-2-carboxylique car il s'agit des oligomères que j'ai principalement utilisés. Les nouvelles études auxquelles j'ai participé ainsi que les récentes améliorations des synthèses sont également présentées.

Les chapitres **III** à **V**, quant à eux, décrivent nos efforts pour atteindre les objectifs suivants :

- Moduler la flexibilité des oligomères quinoline par l'incorporation de résidus aliphatiques.
- Synthétiser des structures tertiaires protéomimétiques covalentes et mettre en évidence des interactions hélice-hélice.
- Former de façon dynamique des structures tertiaires protéomimétiques en exploitant la force des liaisons métal-ligand pour obtenir ces auto-assemblages.

Au cours de cette thèse différents aspects de la chimie supramoléculaire ont été abordés. Dans un premier temps, la synthèse de systèmes originaux a été réalisée et dans un second temps, ces systèmes ont été caractérisés et étudiés (par RMN, diffraction des rayons X...). De plus, une partie de ces travaux a donné lieu à des collaborations internationales (Prof. M. Takafuji, Japon, Dr. J. Nitschke, Suisse), ce qui a permis d'étendre les travaux de recherche à des domaines aussi divers qu'intéressants.

Chapitre I

Les faisceaux d'hélices protéiques et protéomimétiques : Etude Bibliographique

Introduction

Les protéines, expression du génome des organismes vivants, sont capables d'assurer un très grand nombre de fonctions vitales. Pourtant, la nature ne dispose, en première approximation, que d'une vingtaine d'acides aminés pour construire les séquences protéiques. Les opérations qu'elles effectuent tant sophistiquées qu'efficaces (reconnaissance moléculaire, catalyse, transport d'ions...) sont le fait d'un repliement en des conformations spécifiques, compactes, stables et dans lesquelles les groupes fonctionnels intervenant dans leur activité sont positionnés précisément.

Une chaîne d'acides aminés peut adopter une structure secondaire comme les hélices α , les feuillets β , les boucles, les tours...(Figure 1 a)). L'association de structures secondaires au sein d'une même chaîne peptidique définit la structure tertiaire d'une protéine (Figure 1 b) et enfin, l'auto assemblage d'au moins deux chaînes repliées en structures tertiaires peut conduire à des structures quaternaires (Figure 1 c).

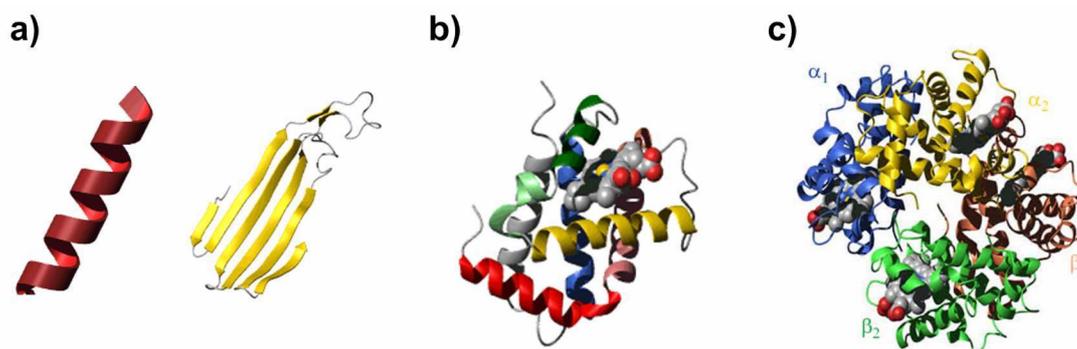


Figure 1. Représentation schématique des différents niveaux de structuration des protéines. **a)** Structure secondaire en Hélice α et feuillets β . **b)** Structure tertiaire de la globine β de l'hémoglobine humaine constituées de huit hélices α . **c)** Structure quaternaire de l'hémoglobine humaine constituée de quatre chaînes peptidiques : deux chaînes α et deux chaînes β ¹.

La structuration des protéines étant responsable de leur activité, la compréhension des mécanismes intervenant dans leur repliement est un challenge qui suscite un vif intérêt. Cependant, les phénomènes mis en jeu dans le repliement des protéines sont complexes et présentent différents aspects. Le premier, est la prédiction d'une structure tertiaire à partir d'une séquence primaire d'acides aminés. L'expansion des bases de données des structures de protéines est un apport considérable pour la prédictibilité. En effet, les études par homologie de séquences de protéines permettent désormais d'anticiper un peu plus facilement les

structures tertiaires. Un second aspect des phénomènes de repliement qu'il est important d'appréhender, est la spécificité conformationnelle. Cette spécificité est traduite par l'adoption d'un état replié tridimensionnel unique (spécificité de la topologie, de l'orientation relative des structures secondaires...). Enfin, il est important de comprendre au niveau atomique les principes thermodynamiques et cinétiques qui régissent la formation coopérative d'une structure native unique. La compréhension de ces phénomènes est indispensable pour l'élaboration de structures tertiaires synthétiques.²

De manière plus générale, le repliement d'une protéine est nécessairement associé à une diminution de son énergie libre (de plusieurs kcal/mol). La transition entre un état désordonné « pelote statistique (random coil) » et un état replié natif est entropiquement défavorable puisque la protéine possède dans son état final moins de degrés de liberté. Afin de compenser cette contribution énergétique de l'entropie, différentes interactions non covalentes stabilisantes sont impliquées (liaisons hydrogène, interactions de charges, effet hydrophobe...).³ Ces interactions doivent, par ailleurs, être spécifiques afin d'obtenir un état replié unique. Leur spécificité conduira alors à augmenter la différence d'énergie libre (Δ) entre l'état natif replié et l'ensemble des états non natifs repliés ou partiellement repliés (Figure 2).

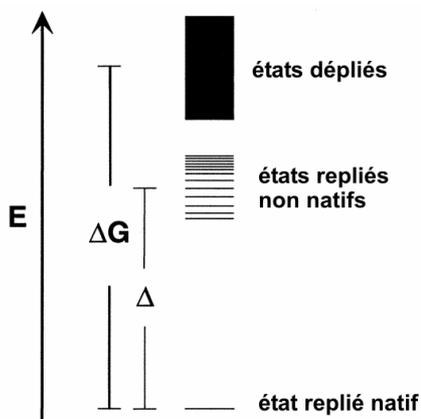


Figure 2. Diagramme hypothétique d'énergie libre d'une protéine. Chaque trait représente un état replié. Δ désigne la différence d'énergie entre l'état natif replié et les états repliés non natifs.²

Malgré la complexité de ces phénomènes de repliement, évoquée précédemment, de nombreux groupes de recherche ont essayé de synthétiser et de caractériser des structures tertiaires artificielles. A travers l'exemple d'une classe de structures, les faisceaux d'hélices, nous tenterons dans cette étude de montrer les différentes approches adoptées pour y parvenir en mettant en avant les avantages mais aussi les difficultés rencontrées pour chacune. Ainsi, nous aborderons en premier lieu, la conception *de novo*, ensuite les faisceaux supportés et enfin les faisceaux protéomimétiques.

1. Conception *de novo*

La synthèse *de novo* de protéines consiste à concevoir et synthétiser une séquence d'acides α aminés non naturelle afin qu'elle adopte une structure repliée tridimensionnelle native prédéterminée.² Par non naturelle, il est entendu que la séquence est constituée de résidus α aminés, cependant, leur enchaînement n'est pas copié sur les enchaînements de protéines naturelles. De même, toutes les protéines naturelles modifiées n'entrent pas dans cette classe de protéines dite *de novo*. La synthèse *de novo* est finalement une conception rationnelle de séquences protéiques qui s'oppose à une synthèse aléatoire.

1.1 Principe

La prise en compte des considérations thermodynamiques précédemment énoncées a ainsi que l'expérience acquise par l'élaboration de structures tertiaires particulières, les faisceaux d'hélices. Ces structures sont toutes élaborées sur le même principe. Elles consistent en l'agrégation d'hélices amphipathiques, reliées entre elles par des liaisons covalentes ou indépendantes. Les hélices amphipathiques sont des hélices α qui présentent, du fait de leur séquence primaire particulière, une face hydrophile et une face hydrophobe. L'effet hydrophobe joue, dans ce phénomène, un rôle prépondérant car il apporte suffisamment d'énergie pour que l'équilibre soit entièrement déplacé vers un état replié. Ainsi, la contribution entropique défavorable est compensée par un nombre de résidus hydrophobes suffisant. Cet apport énergétique a été mesuré au cours de plusieurs travaux, il est évalué à $50 \text{ cal}/\text{\AA}^2$.^{3,4} Les faisceaux d'hélices sont des structures tertiaires très présentes dans la nature, c'est pourquoi les chimistes ont utilisé la conception *de novo* pour parvenir à les imiter. En particulier, les faisceaux à quatre hélices ont suscité une attention plus soutenue.

1.2 Faisceaux à quatre hélices

Un faisceau d'hélices est un état replié natif très organisé. Parvenir à induire un tel état est difficile et requiert une conception très fine des séquences peptidiques. Dans un premier temps, l'obtention d'un état replié natif, passe souvent, par un état globulaire « molten globule ». Plus facilement réalisable, cet état globulaire constitue une étape intermédiaire dans la conception de la séquence. Cependant, les « molten globules » sont des états repliés très mobiles, conformationnellement peu définis et qu'il est difficile de caractériser précisément.⁶

Une autre difficulté rencontrée dans l'élaboration de structures tertiaires est la taille requise des chaînes peptidiques. Désormais, grâce aux progrès réalisés en conception *de novo*, une trentaine de résidus pour une séquence hélice-boucle-hélice suffisent pour obtenir des faisceaux à quatre hélices homodimériques.

Les faisceaux à quatre hélices de DeGrado et coll. sont le plus souvent obtenus par agrégation en dimère d'une séquence hélice-boucle-hélice.^{7,8,9,10,11} Les faisceaux homodimériques peuvent adopter six topologies possibles. Un repliement spécifique nécessite la conception d'une séquence favorisant une seule topologie (Figure 3 A et B). Dans le cas d'un faisceau monomérique à quatre hélices, seules deux topologies sont possibles, cependant cette stratégie (Figure 3 C), implique une chaîne peptidique deux fois plus longue qu'un faisceau homodimérique et donc requiert davantage d'étapes de synthèse.¹²

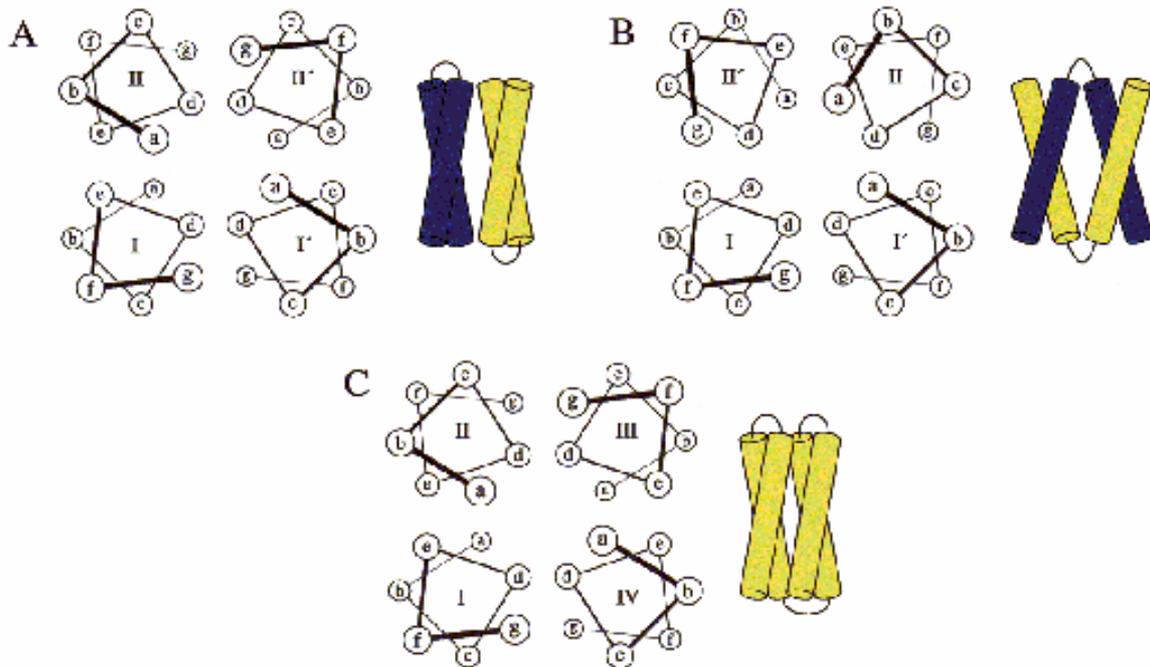


Figure 3. Représentation schématique de faisceaux à quatre hélices. **(A)** Homodimère hélice-boucle-hélice où les dimères sont antiparallèles. Il existe une topologie de ce type où les dimères sont parallèles. **(B)** homodimère hélice-boucle-hélice adoptant un Motif U c'est à dire où les boucles sont croisées. **(C)** Faisceau à quatre hélices monobrin. Pour toutes les topologies représentées, le faisceau lui-même possède une hélicité (coiled coil) droite ou gauche.³

Afin de privilégier une topologie particulière, de nombreux efforts ont été réalisés pour rationaliser la conception des séquences primaires. D'une manière générale, chaque hélice est la répétition des sept mêmes acides aminés constituant une heptade (abcdefg) (Figure 3) et deux hélices sont reliées entre elles par une boucle variable. De cette conception consensuelle se dégagent des lieux (boucle et heptade) où il est possible d'intervenir pour augmenter la spécificité des interactions.

1.2.1 L'heptade

La force motrice du repliement de ces protéines étant l'effet hydrophobe, la nature des résidus du cœur hydrophobe (résidus en position a et d Figure 3) joue un rôle prépondérant. Des résidus possédant des chaînes latérales aliphatiques (leucine, isoleucine, valine) sont utilisés pour induire le repliement en structure tertiaire.^{12,13,14} L'incorporation de résidus aromatiques a permis, en outre, la stabilisation de la conformation repliée par formation de clusters aromatiques.^{8,15} Plus récemment, Marsh et coll. ont substitué des leucines en position a et d par leurs analogues fluorés, montrant ainsi que l'extrême hydrophobie des fluorocarbones pouvait stabiliser les faisceaux.¹⁶

Ces modifications du cœur ont pour but de stabiliser le faisceau en lui-même, sans nécessairement se préoccuper de la spécificité de la topologie. Pour discriminer une conformation, une stratégie, appelée « design négatif », consistant à déstabiliser les topologies indésirées ou les autres états repliés, est adoptée. Elle se traduit par une augmentation de la différence d'énergie libre Δ par l'accroissement de l'énergie libre des états repliés non natifs et, non pas, par la diminution de l'énergie de l'état natif lui-même. Les résidus b, e, g et c sont principalement concernés par cette stratégie afin de créer des liaisons hydrogènes⁷ ou des interactions de charges spécifiques entre hélices.¹⁵

1.2.2 La boucle

Comme il a été dit précédemment, la boucle est un lieu où les modifications sont possibles pour moduler les propriétés de repliement de ces protéines. Nagi et coll. ont démontré, par exemple, que l'augmentation de la longueur de la boucle de la protéine ROP conduit à la diminution de la stabilité thermique et chimique de celle-ci.¹⁷ Plus dramatiquement, Glycos et coll. ont démontré que la mutation d'un seul acide aminé de la boucle native de ROP conduit à un changement complet de la topologie : un passage d'un faisceau antiparallèle gauche à un faisceau droit parallèle et antiparallèle.¹⁸

Bien que les faisceaux les plus étudiés sont ceux présentés ci-dessus, il existe aussi des faisceaux à quatre hélices constitués d'hélices individuelles qui s'auto assemblent. L'excellente caractérisation de ce type de structure a révélé un état replié natif unique et donc un degré de conception exceptionnel.¹⁹

1.3 Les faisceaux à n hélices

De nombreux groupes de recherche se sont aussi intéressés aux faisceaux à n hélices. La conception de ces structures tertiaires suit les mêmes principes que précédemment, à savoir que chaque hélice amphipathique est constituée d'une heptade et les hélices sont reliées entre elles par des boucles. La stratégie *de novo* a permis à DeGrado et coll. ainsi qu'à Dutton et coll. d'élaborer des faisceaux à trois hélices où l'orientation horaire ou antihoraire était complètement anticipée.^{20,21,22} Dans les deux cas le principe de « design négatif » a été utilisé pour que des interactions de charges répulsives interhélices défavorisent la topologie non désirée. Dans ces deux exemples, les heptades ne sont pas constituées de résidus identiques ; les résidus en position e et g diffèrent (Figure 4 a et b). De même, DeGrado et coll. ont aussi utilisés ces positions pour introduire des liaisons hydrogène interhélices stabilisant un faisceau à trois hélices membranaires.²³

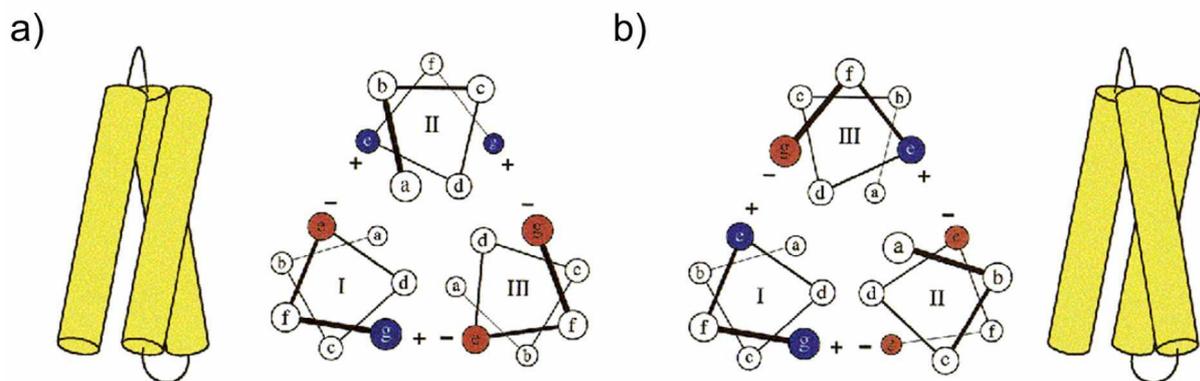


Figure 4. Représentation schématique de faisceaux à trois hélices adoptant un repliement **a)** horaire et **b)** antihoraire. Les résidus chargés négativement (glutamine) sont dans des cercles rouges, les résidus chargés positivement (lysine et arginine) sont dans des cercles bleus.³

Plus récemment, un faisceau à six hélices a été synthétisé par G. T. Dolphin. Il s'agit d'un homodimère d'un faisceau à trois hélices qui présente la particularité de contenir une seule boucle, la troisième hélice étant liée par liaison chimique à la boucle de l'entité hélice-boucle-hélice. Le monomère (faisceau à trois hélices) possède une architecture ramifiée (Figure 5).²⁴

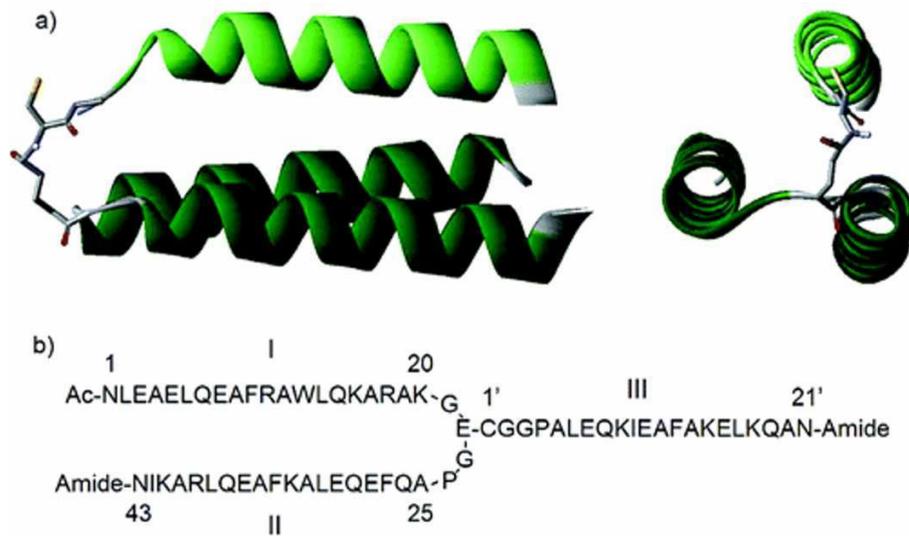


Figure 5. a) Représentation du monomère constituant le faisceau à six hélices. Vue latérale et vue de dessus. b) Séquence peptidique du monomère.²⁴

La conception *de novo* de protéines capables de se replier est l'objet d'une extrême attention depuis ces quinze dernières années. La quantité de structures cristallines^{25,26} ainsi que de structures RMN publiées de protéines obtenues par cette méthodologie témoigne de l'étendue du savoir accumulé ainsi que de la performance des prédictions conformationnelles et topologiques.²⁶ En effet, un niveau de connaissance élevé doit être atteint pour obtenir une structure très bien caractérisée d'un état natif replié. Une récente étude de Lucas et coll. montre qu'il est aussi possible grâce à un programme de dynamique moléculaire de prédire une structure en faisceaux en prenant en compte la coopérativité du repliement en hélice et de l'assemblage de ces hélices.²⁷ De plus, les protéines *de novo*, sont désormais utilisées comme modèles pour étudier les fonctions biologiques de protéines naturelles,^{21,28,29,30,31} pour la reconnaissance de protéines^{32,33} ou pour concevoir des mimes de metalloprotéines.^{34,35}

2. Faisceaux supportés

Il a été vu précédemment que la diminution des degrés de liberté d'une protéine lors de son repliement a un coût entropique qu'il faut nécessairement compenser. Ce coût peut être diminué si, au lieu d'utiliser une chaîne linéaire flexible qui s'agrège, il est conçu un support sur lequel les peptides sont attachés covalamment. Par ce biais, il est introduit une préorganisation qui limite les degrés de liberté de l'état déplié et par la même la perte d'entropie mise en jeu lors du repliement. De plus le nombre de résidus requis est moins important puisque des boucles ne sont plus nécessaires et la synthèse des faisceaux devient plus convergente. La nature du support peut être diverse ; ils peuvent être peptidiques ou non, plus ou moins flexibles, cependant, les hélices sont conçues suivant les principes développés antérieurement.

2.1 Les supports linéaires

La formation de ponts disulfures entre deux brins hélicoïdaux constitue la plus élémentaire possibilité pour imposer des contraintes conformationnelles. Le pont disulfure peut être créé entre deux brins différents ou au sein même d'une unique chaîne peptidique. Marti et coll. ont montré qu'il était possible d'obtenir des faisceaux constitués de deux hélices différentes, reliées entre elle à proximité de l'extrémité N terminale via les chaînes latérales de deux cystéines (Figure 6 a). Ce faisceau, aussi appelé « zipper » possède une conformation parfaitement définie, prouvée par RMN. Ces faisceaux ont par ailleurs servi de support pour l'étude de l'influence des interactions de charge entre les résidus en position e et g de l'heptade et ce en fonction du pH (Figure 4).³⁶ Un support comprenant un thio ester central a aussi permis la formation d'un faisceau de deux hélices antiparallèles (Figure 6 b). Les substitutions des résidus du cœur hydrophobe ont montré l'importance des résidus hydrophobes en position a et d quant à l'orientation relative des deux hélices.³⁷

D'autres supports linéaires, tels que des peptides ont été utilisés. Ils permettent, après certaines modifications chimiques, le greffage de plusieurs hélices amphipathiques. Par exemple, Keith Rose a mis en évidence la possibilité de former efficacement des faisceaux à neuf hélices par ligation chimique de peptides par leur extrémité N terminale sur un support exhibant des fonctions aldéhydes ($O=CH-CO-Gly_3-[Lys(COCHO)]_7-Gly-OH$), la formation de liaisons oximes étant quantitative.³⁸

Les progrès réalisés en synthèse peptidique, notamment la multiplication de groupes protecteurs orthogonaux, ont permis l'attachement sur support, de peptides par leur fonction N terminale ou C terminale. Des faisceaux d'hélices parallèles ou anti-parallèles ont pu être synthétisés par Mutter et coll. qui ont alors mis en évidence une augmentation de la stabilité thermodynamique de la structure lorsque les hélices sont parallèles.³⁹

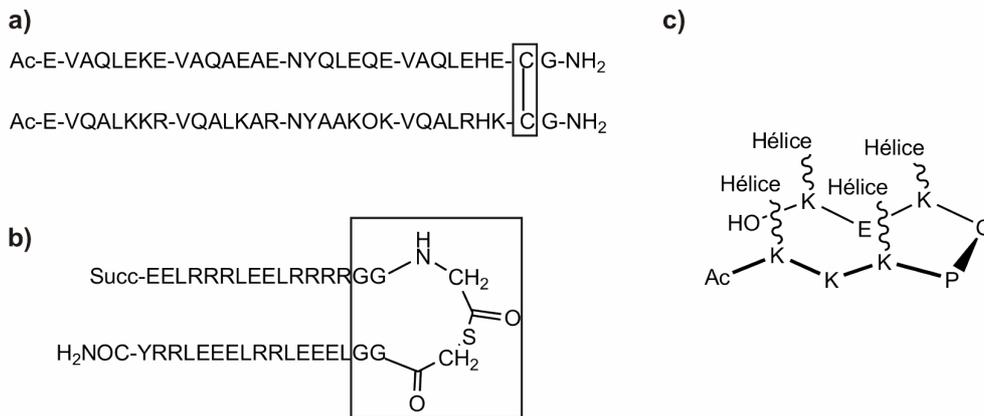


Figure 6. Représentation schématique de faisceaux sur supports linéaires. **a)** Deux hélices parallèles liées par un pont disulfure.³⁶ **b)** Deux hélices antiparallèles liées par un thioester central.³⁷ **c)** Faisceau de quatre hélices sur support peptidique linéaire.⁴⁰

D'une manière générale, les supports peptidiques utilisés sont composés de lysines qui permettent l'attachement des peptides sur leur chaîne latérale. De plus, ils contiennent une diade proline-glycine connue pour son induction de coudes β qui contraint alors le squelette peptidique à adopter une structure secondaire en feuilletts β antiparallèles (Figure 6 c).^{40,41} Du fait de ces critères conformationnels, les chaînes latérales des lysines se retrouvent du même côté et perpendiculaires au plan décrit par le support, ce qui conduit à une préorganisation de la structure en rapprochant et orientant les peptides supportés.

2.2 Les supports cycliques

Afin de davantage restreindre le nombre de degrés de liberté du support, et sur la base des considérations précédentes, des peptides cycliques de première génération ont été utilisés pour induire des structures en faisceaux. Ils sont obtenus par cyclisation de peptides linéaires via la formation de ponts disulfures (Figure 7 a).^{42,43} Des cyclopeptides de seconde génération comprenant deux diades proline-glycine sont ensuite apparus afin de mieux contrôler la conformation du support (Figure 7 b). La flexibilité des chaînes latérales des lysines sur lesquelles sont fixées les hélices a par la suite été diminuée par la substitution de ces lysines

par des *para*-nitrophényl alanines. Peluso et coll. ont en effet démontré la plus grande rigidité de ce support. De plus, les interactions liées à l'empilement des cycles aromatiques à l'état solide favorisent l'obtention de cristaux de ce support. La résolution de la structure cristalline a alors permis de vérifier la configuration *trans* des liaisons amides et la structure secondaire en feuillets β antiparallèles (Figure 7 c).⁴⁴

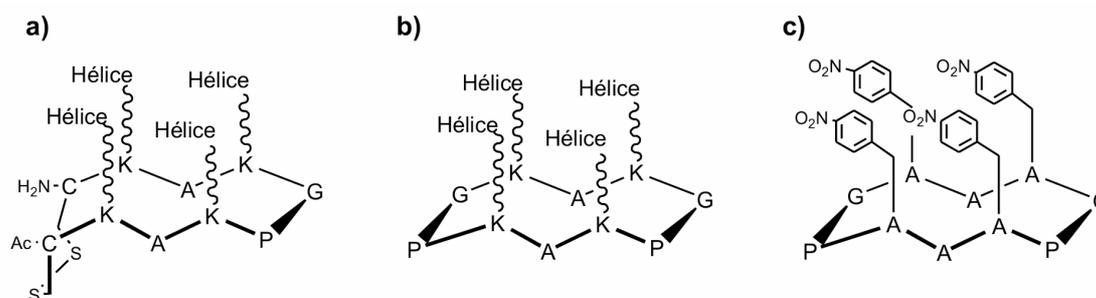


Figure 7. Représentation schématique des supports peptidiques cycliques. **a)** Support de première génération.⁴³ **b)** Support de deuxième génération.⁴¹ **c)** Support où les lysines sont remplacées par des *p*-nitro-phenylalanines.⁴⁴

Cette approche qui consistant à restreindre les conformations du support a fait ses preuves puisqu'il a été démontré par Mutter et coll. que les faisceaux à quatre hélices résultant de l'attachement de peptides sur un support cyclique sont effectivement plus stables que ceux obtenus à partir d'un support linéaire.⁴⁵ De plus, des protéines synthétisées sur ce modèle sont désormais utilisées pour la conception de mimes d'enzymes.^{46,47}

Cette nouvelle approche s'est par conséquent étendue à des supports cycliques non peptidiques afin d'introduire une grande diversité des structures. D'abord, Kaiser et Sasaki ont utilisé une coproporphirine tétrasubstituée comme support afin d'induire le repliement de peptides amphipathiques (Figure 8 a). Ils ont alors obtenu un faisceau stable à quatre hélices, nommé « hélicrome ». Cet hélicrome, conçu pour mimer la fonction hydroxylase du cytochrome P-450 a révélé une activité biologique comparable à celle des hémoglobines naturelles.^{48,49} Des tétraphénylporphyrines ont aussi été utilisées comme support dirigeant la formation de faisceaux à quatre hélices. La substitution en *méta* des groupements phényles par des peptides amphipathiques a permis l'incorporation de ces structures en faisceaux dans des bicouches lipidiques (Figure 8 b).⁵⁰ Ces structures ont alors montré des propriétés de canaux ioniques sélectifs pour les protons, plus importantes que pour un faisceau non supporté.⁵¹ Mihara et coll. ont, quant à eux, étudié l'effet de la substitution en *ortho* ou *para* de ce support par des peptides amphipathiques (Figure 8 b).⁵² Ils ont démontré qu'une

substitution en *para* conduisait à une association intermoléculaire alors qu'une substitution en *ortho* conduisait, comme pour la substitution en *méta*, à une association intramoléculaire.

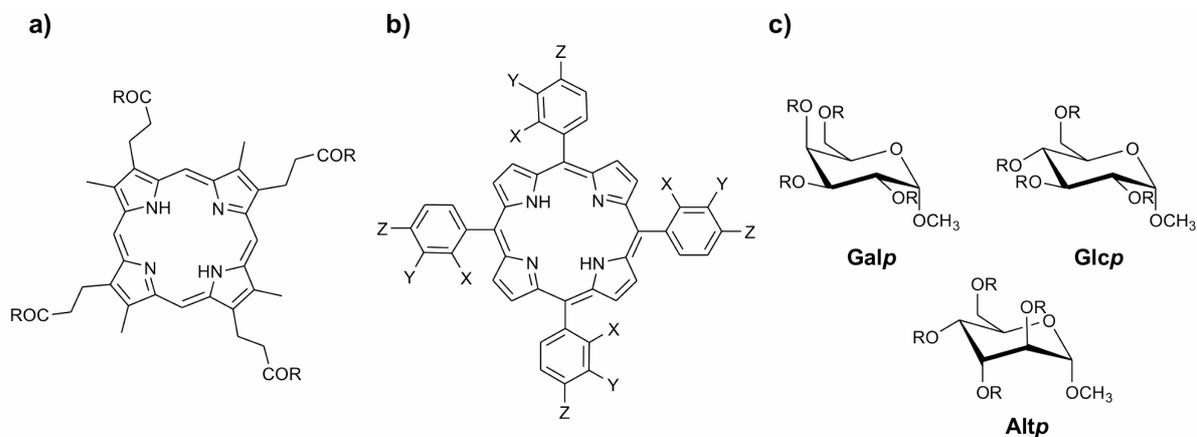


Figure 8. Représentation de supports cycliques non peptidiques. R désigne le peptide amphipathique. **a)** Coproporphirine tétrasubstituée.^{48,49} **b)** Tétraphénylporphirine. Les substitutions en *ortho* sont notées X,⁵² en *méta* Y,^{50,51} en *para* Z.⁵² **c)** Monosaccharides utilisés comme supports : D-galactopyranoside (Galp), D-glucopyranoside (Glc), D-altropyranoside (Altp)

Plus récemment, Jensen et coll. se sont intéressés à l'utilisation des monosaccharides comme support. En effet, ils présentent les avantages d'être polyfonctionnels, rigides et les épimères des sucres sont souvent accessibles. De plus, les fonctions réactives des monosaccharides peuvent désormais être manipulées régiosélectivement du fait des progrès réalisés en chimie des sucres.⁵³ L'utilisation des fonctions alcools primaires ou secondaires permet par ailleurs de contrôler l'orientation et la distance des points d'ancrage des peptides amphipathiques. Des faisceaux à quatre hélices ont été synthétisés en utilisant différents monosaccharides, afin de mieux appréhender l'importance de l'orientation des points d'ancrages des peptides (Figure 8 c). Leur étude par dichroïsme circulaire et RMN a révélé que tous adoptaient une structure tertiaire native. Cependant, une carboxyprotéine assemblée sur un D-altropyranoside montre une proportion plus importante d'hélices α par rapport aux autres alors que ses peptides en O-2 et O-3 sont orientés en trans diaxial.⁵⁴ Ceci semble indiquer que le support a une influence non négligeable sur la structure tertiaire.⁵³

L'influence des supports est cependant sujette à débats dans la littérature. En effet, Fairlie et coll. ont montré que l'orientation des peptides, imposée par les supports, ainsi que la taille et la structure de ces supports n'étaient pas critiques pour l'obtention de faisceaux à quatre hélices.⁵⁵ Ils ont davantage mis en exergue l'importance de la nature et de la longueur

du lien entre peptides et supports en utilisant des supports aromatiques de dimensions différentes (Figure 9 a).

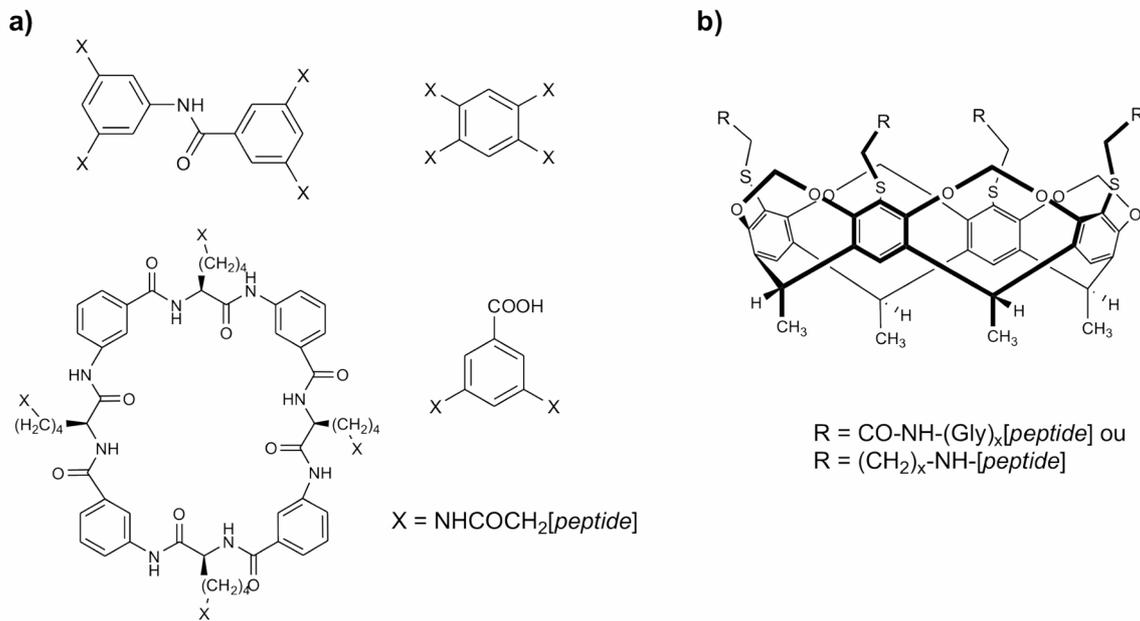


Figure 9. Représentation de supports cycliques aromatiques. **a)** Supports utilisés par Fairlie et coll. pour l'étude de l'influence du support.⁵⁵ **b)** Cavitants utilisés par Sherman et coll. pour l'étude de l'influence du lien entre support et hélices.^{56,57}

Le travail de Sherman et coll. a abondé dans ce sens. Pour cela, ils ont utilisé des cavitants, des macrocydes extrêmement rigides auxquels ils ont greffé des peptides amphipathiques par des liens de différentes tailles et de différentes natures (Figure 9 b). Ils ont alors démontré que des liens constitués de glycines, offrant la possibilité de former de liaisons hydrogènes, permettaient l'obtention de structures natives alors que ceux constitués de méthylène ne le permettaient pas.^{56,57}

Une grande variété de supports a été étudiée pour diriger et faciliter le repliement en faisceaux d'hélices de peptides amphipathiques. Cette stratégie semble très prometteuse pour la conception de protéines *de novo* ayant une activité enzymatique similaire à celle des protéines naturelles. Cependant, malgré les progrès réalisés, le contrôle fin de la structure tertiaire native reste un challenge. En effet, l'effet hydrophobe demeure l'unique force motrice pour l'auto assemblage des peptides en faisceaux. C'est pourquoi, parallèlement à la conception de peptides supportés, se sont développées des structures tertiaires combinant l'effet hydrophobe et la coordination de métaux. Les métaux étant alors aussi considérés comme des supports.

2.3 Utilisation de Métaux

2.3.1 Incorporation de ligands

Une première approche consiste en l'association de modules synthétiques par coordination de métaux. Par conséquent, des ligands sont nécessairement introduits dans chaque sous unité de la structure tertiaire. Les complexes formés doivent être stables et ne pas permettre l'échange de leurs ligands avec d'autres ligands potentiellement présents dans le milieu.²⁶ Cette stratégie présente l'avantage d'exploiter deux forces motrices, à savoir l'effet hydrophobe et les interactions métal-ligand.

A ce propos, Ghadiri et coll. ont démontré que l'addition de pyridine à l'extrémité N-terminale de peptides amphipathiques, en présence de ruthénium (II) induisait la formation de faisceaux à quatre hélices (Figure 10 a).⁵⁸ De même, Ils ont incorporé une bipyridine à l'extrémité N-terminale afin de former un faisceau à trois hélices. Trois peptides, fonctionnalisés par des bipyridines, se placent effectivement dans la sphère de coordination octaédrique d'un métal approprié en formant un complexe stable.⁵⁹ Sasaki et coll. ont pu vérifier ces démonstrations en fonctionnalisant, en position 4, une 2-2' bipyridine avec des peptides amphipathiques. En présence de fer (II) ces peptides s'organisent en un faisceau à trois hélices parallèles (Figure 10 b).⁶⁰

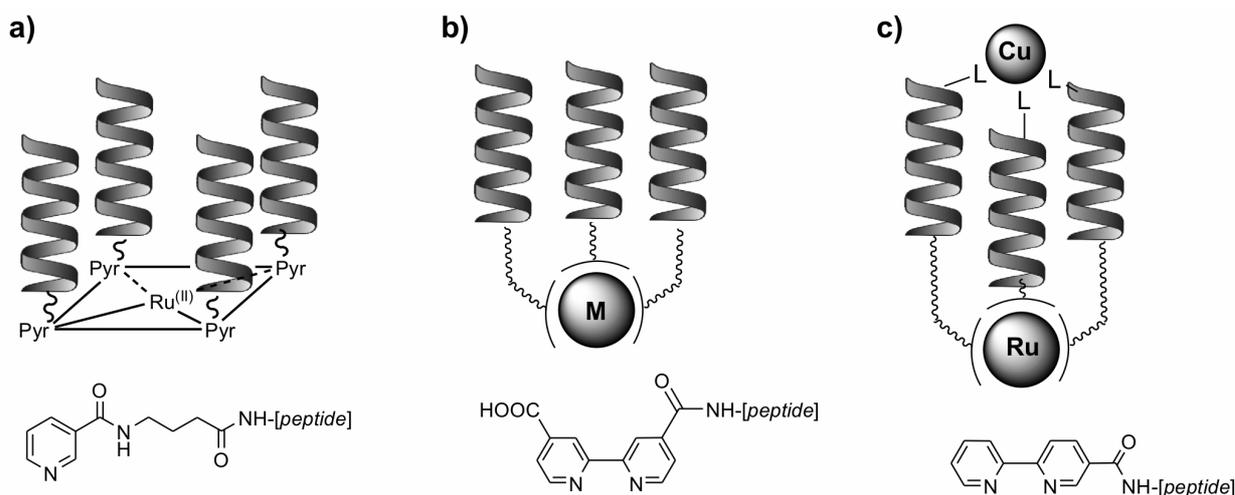


Figure 10. Représentation schématique des faisceaux induits par coordination d'un métal et effet hydrophobe. **a)** Ligand pyridine.⁵⁸ **b)** Ligand bipyridine. M = Fe (II).⁶⁰ **c)** Faisceau possédant un site de coordination de Cu (II). L désigne les chaînes latérales des histidines.⁶¹

L'induction de la structure repliée nécessite une conception de l'heptade différente que dans les cas précédents. La séquence peptidique doit contenir en position a et d des acides aminés dont les chaînes latérales sont connues pour coordiner les métaux (Figure 11). L'histidine, la méthionine ou encore la cystéine sont des acides aminés de choix dans ce but. Tanaka et coll. ont montré que la nature des chaînes latérales coordonnant le métal pouvait permettre de sélectionner le métal central. Par exemple, un faisceau à trois hélices possédant deux histidines dans la troisième heptade lie spécifiquement le nickel II⁶² (peptide IZ-3adH Figure 11) alors que ce même peptide où les histidines sont remplacées par des cystéines lie spécifiquement les ions métalliques mous tels que le mercure II et le cadmium II (peptide IZ-AC Figure 11).⁶³ Hildebrandt et coll. ont quant à eux démontré qu'il était possible de faire varier la géométrie du site de coordination, non pas en fonction des résidus coordinants mais en fonction des résidus présents à proximité de la sphère de coordination.⁶⁴ Des métalloprotéines de type I (géométrie tétraédrique du site de coordination), de type II (géométrie tétragonale du site de coordination) et de type Cu_A (complexe dinucléaire) liant le cuivre ont pu ainsi être mimées.

Des métalloprotéines multimétalliques ont, de la même façon, pu être synthétisées. Ces faisceaux de quatre hélices sont constitués soit de quatre peptides indépendants, ou de deux dimères. Par une analyse rétrostructurale très fine, DeGrado et coll. ont conçu un mime de protéine comprenant deux fer (II)⁶⁵ ou deux fer (III)⁶⁶ ou deux manganèse (II) ou deux cobalt (II).⁶⁷ La particularité de ces faisceaux et que des liaisons hydrogènes ont été utilisées afin de présenter et d'orienter les chaînes latérales ligands de manière optimale. Comme le montre la Figure 12, des résidus acides aspartiques ont été placés à des positions clés pour qu'une liaison hydrogène soit créée entre cet acide et l'histidine coordinante de l'hélice voisine. Un tel niveau de « design » s'est avéré nécessaire puisque ces interactions dites secondaires se sont révélées essentielles pour accroître l'affinité du fer pour ses ligands.

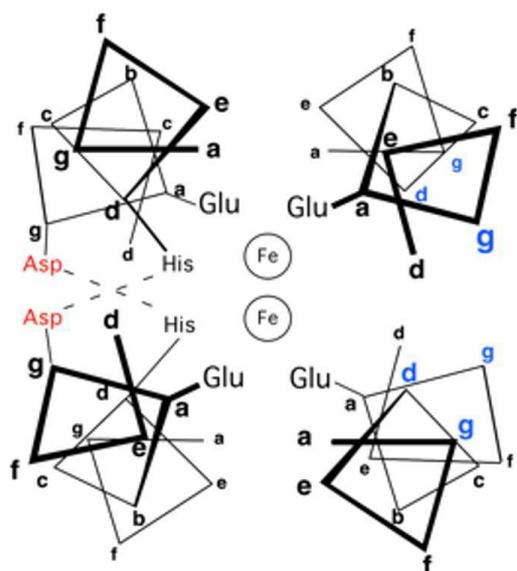


Figure 12. Diagramme de la protéine liant deux Fe (II). Les interactions secondaires entre Asp (rouge) et His sont matérialisées en pointillés. Les résidus qui permettent l'accès au site de coordination sont en bleu.⁶⁶

Des faisceaux à quatre hélices liants quatre cuivres ont été synthétisés par l'ajout de cuivre (I) à une protéine non structurée.⁶⁸ Les quatre cuivres centraux, coordonnés par des cystéines forment un cluster où les interactions métal-métal sont responsables d'une forte luminescence de la protéine à température ambiante.

Dans toutes les structures présentées précédemment, l'effet hydrophobe joue un rôle prépondérant. Cependant, plus récemment, des faisceaux à deux hélices non amphipathiques, caractérisés par diffraction des rayons X, ont été synthétisés par Geiger et coll. Ils ont uniquement utilisé la coordination de calcium II par des γ -carboxyglutamate (Gla) positionnés précisément comme force motrice pour gouverner le repliement de leurs peptides.⁶⁹ Il s'agit ici d'un nouveau pas franchi vers la conception de petits peptides dont le repliement est indépendant de la séquence d'acides aminés à l'exception de quelques positions clés.

3. Apport des foldamères

En dépit des progrès réalisés pour la prédiction et l'élaboration de structures tertiaires natives à partir de peptides, la coopérativité mise en jeu dans le phénomène de repliement en faisceau (repliement en hélice et auto assemblage) est difficile à prendre en compte dans sa globalité. De plus, des séquences d'au moins vingt acides aminés sont toujours nécessaires. Le développement des foldamères constitue une alternative intéressante pour simplifier ce problème. En effet, par définition, les foldamères sont des oligomères, donc de petite taille, non naturels capables d'adopter une grande variété de conformations qu'il est possible d'anticiper *a priori*. Ainsi, il n'y a plus de coopérativité dans le phénomène de repliement. Dans un premier temps les oligomères se replient, puis du fait de leur amphipathicité s'auto assemblent. Parmi les conformations accessibles par les foldamères, les hélices occupent une place prépondérante. C'est pourquoi, naturellement, les chimistes ont utilisé les foldamères pour réaliser des structures tertiaires en faisceaux d'hélices.

Les peptoïdes, les β -peptides et les γ -peptides font partie d'une catégorie de foldamères dits bio inspirés car ils possèdent un squelette similaire à celui des protéines.⁷⁰ Ils ont été largement étudiés ces dernières années et cette accumulation de connaissances sur leurs repliements en fait de bons candidats pour l'élaboration de structures tertiaires. En revanche, les foldamères dits abiotiques (incluant des cycles aromatiques dans le squelette) n'ont pas, pour l'instant, été utilisés pour la formation de faisceau d'hélices malgré les efforts réalisés pour les rendre hydrosolubles⁷¹ ou amphipathiques.⁷²

3.1 Les peptoïdes

Les peptoïdes ou glycines N-substituées ont été étudiés pour leurs propriétés d'auto assemblage par Zuckermann et coll. (Figure 13 a et b). Ils ont d'abord synthétisé une librairie d'oligomères amphipathiques constitués de quinze résidus puis ont démontré que certains de ces oligomères s'associaient en faisceaux de deux, trois ou quatre hélices.⁷³

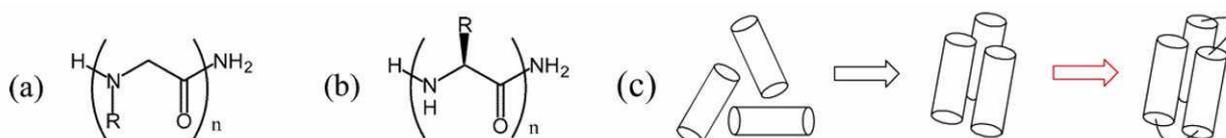


Figure 13. Figure représentant la stratégie adoptée par Zuckermann et coll. (a) Peptoïde ou glycine N-substituée.⁷³ (b) Peptide pour comparaison.⁷⁴ (c) Création de faisceaux par ligation chimique.⁷⁴ Les peptoïdes amphipathiques ont préalablement été sélectionnés.

Par la suite, ils ont lié covalamment plusieurs copies d'un des oligomères sélectionné précédemment pour former des 30mères, des 45mères et des 60mères (Figure 13 c). Ils ont alors mis en évidence la formation de faisceaux d'hélices compacts présentant un cœur hydrophobe. Cependant ils n'ont pas pu prouver qu'il s'agissait d'un état replié natif.⁷⁴

3.2 Les β -peptides

Dans le domaine des β -peptides, de nombreux efforts ont été effectués pour synthétiser des faisceaux d'hélices. Une première stratégie développée par Gellman et coll. consiste à substituer quelques uns des résidus α aminés par des résidus β aminés d'une séquence peptidique ayant une très forte propension à l'auto assemblage en faisceaux.⁷⁵ Ces substitutions en position b et f de l'heptade ont été réalisées avec conservation des chaînes latérales (Figure 14 A, B et C). Alors que la séquence native donne des faisceaux parallèles à deux hélices, la séquence modifiée a conduit à un faisceau à trois hélices parallèles dont la structure a pu être résolue par diffraction des rayons X (Figure 14 D). Malgré ces différences d'auto assemblage, chaque hélice présente des caractéristiques structurales très similaires aux hélices α (pas et rayon). De la même manière, ils sont parvenus à réaliser un autre faisceau où quatre hélices s'auto assemblaient en utilisant une séquence légèrement différente (Figure 14 E).

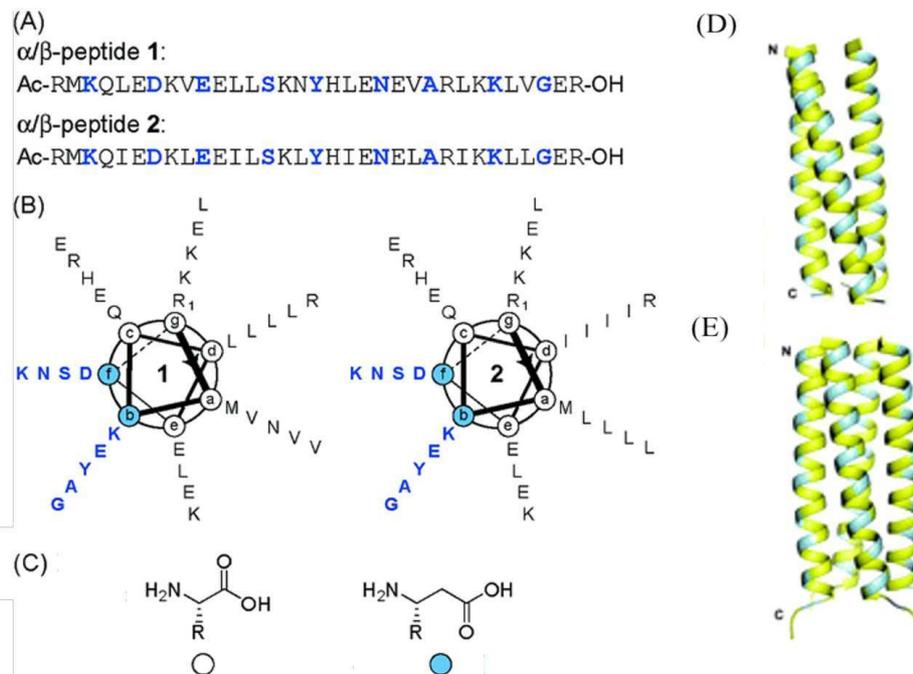


Figure 14. Représentation des oligomères synthétisés par Gellman et coll.⁷⁵ (A) Séquence primaire. (B) Diagramme représentant les peptides. Les lettres bleues sont les positions occupées par les résidus β aminés. (C) Structure d'un acide α aminé par comparaison à un acide β^3 aminé. (D) Représentation schématique de la structure cristalline du peptide 1. (E) Représentation schématique de la structure cristalline du peptide 2.

Une autre stratégie consiste à utiliser uniquement les acides β aminés pour réaliser les faisceaux d'hélices. Gellman et coll. ont d'abord mis en évidence un auto assemblage de β -peptides ayant des chaînes latérales ammonium (partie hydrophile) et des chaînes latérales cyclohexyle (partie hydrophobe) (Figure 15 a). Cependant, les résultats par ultracentrifugation ont démontré que la stoechiométrie du faisceau était dépendante de la nature du tampon utilisé, révélant ainsi une certaine fragilité de la structure.⁷⁶

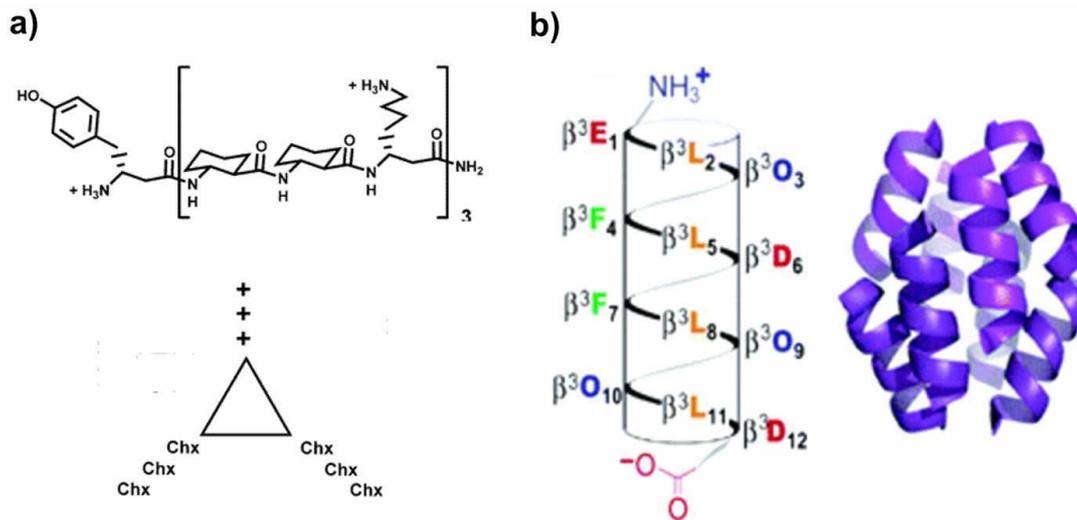


Figure 15. β -peptides. **a)** Oligomère de Gellman et coll. possédant des chaînes latérales ammonium (+) et cyclohexyle (Ch). **b)** A gauche, représentation schématique de l'oligomère hélicoïdal de Schepartz et coll. Les résidus β^3 aminés sont désignés par la lettre correspondant à leurs équivalents α aminés. O signifie ornithine. A droite, structure cristallographique déterminée par diffraction des rayons X. Représentation avec des rubans.

Schepartz et coll. sont, quant à eux, parvenus à réaliser un faisceau de huit hélices très stable⁷⁷ et caractérisé par diffraction des rayons X. Pour cela ils ont utilisé des acides β^3 aminés (chaîne latérale en position β). Ces résidus ont la particularité de former des hélices 3_{14} possédant un sens d'hélicité gauche et trois faces distinctes (Figure 15 b). Grâce aux connaissances acquises au cours de précédentes études,⁷⁸ ils ont pu élaborer un oligomère dont les résidus d'une des faces stabilisent la structure hélicoïdale 3_{14} par formation de ponts salins, les résidus hydrophobes d'une autre face induisent l'oligomérisation et les résidus de la dernière face sont choisis de telle sorte que des interactions de charges complémentaires favorisent uniquement l'homo oligomérisation.⁷⁹

Enfin, une dernière stratégie adoptée par les groupes de DeGrado et Kunwar a permis la synthèse et la caractérisation de structures tertiaires hélicoïdales. Ces structures sont constituées d'une seule chaîne β -peptidique, les domaines hélicoïdaux étant liés par des

espaceurs de différents types. DeGrado et coll. ont relié les deux hélices en créant un pont disulfure entre deux L cystéines (Figure 16 a).⁸⁰ Des interactions longues distances d'empilement des chaînes latérales hydrophobes permettent ensuite la stabilisation du faisceau.

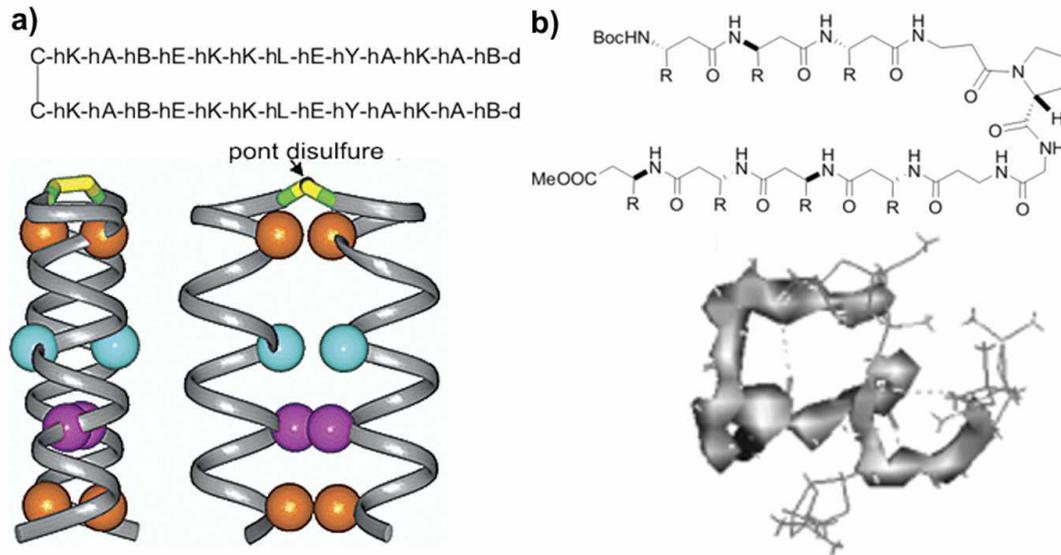


Figure 16. Faisceaux à deux hélices monobrins. **a)** Séquence et représentations du faisceau où les hélices sont reliées par un pont disulfure. Les interactions longues distances entre hélices sont représentées par les sphères colorées. **b)** En haut, séquence de la structure tertiaire à deux hélices reliées par un motif β -hGly-D-Pro-Gly- β -hGly. R désigne la chaîne latérale qui est ici du D-xylose. En bas, structure modélisée montrant l'orientation à 80° des deux hélices.

Un motif β -hGly-D-Pro-Gly- β -hGly, induisant un tour, du fait de sa conformation trans majoritaire a été utilisé par Kunwar et coll. pour construire la structure HTH (Hélice-Tour-Hélice) (Figure 16 b).⁸¹ Les acides β aminés constituant les séquences hélicoïdales, présentent la particularité de posséder des chaînes latérales D-xylose en position β qui induisent une hélice 12/10 (alternance de liaisons hydrogène décrivant des pseudo cycles à 10 ou 12 chaînons). La conformation de l'espaceur a permis l'obtention d'une structure, caractérisée par RMN, où les deux hélices sont presque orthogonales.

Conclusion

Ce chapitre d'introduction avait pour but de faire un point sur les différentes approches permettant l'obtention de structures tertiaires particulières, les faisceaux d'hélices. A travers cet exemple de structure protéique, la synthèse *de novo* a été présentée en mettant en avant ses avantages (conception rationnelle très fine, tailles des protéines ainsi obtenues de plus en plus faibles...) et ses inconvénients (synthèse peu convergente, grande expérience requise pour l'obtention d'une spécificité topologique...). L'évolution vers la synthèse de faisceaux supportés a ensuite permis de pré organiser les systèmes en contraignant les peptides à s'orienter dans une direction particulière tout en rendant la synthèse plus convergente. De plus cette approche a permis d'effectuer des faisceaux où les hélices ne sont pas toutes orientées de la même façon. Enfin, les foldamères, ont quant à eux ouvert la voie vers l'obtention de structures tertiaires protéomimétiques avec un très faible nombre de résidus en simplifiant ainsi la synthèse. Mais avant tout, les foldamères permettent d'envisager la conception de structures tertiaires originales en utilisant des structures secondaires jamais observées dans la nature. Dans ce but, les oligomères abiotiques représentent une alternative intéressante que nous avons décidé d'étudier dans la suite de ce travail.

Au cours de cette étude bibliographique, plusieurs questions ont été soulevées et l'objectif de ce manuscrit est d'apporter quelques réponses à celles-ci. Quelles structures secondaires originales peuvent être obtenues avec des motifs repliés de foldamères abiotiques, c'est-à-dire bien différents des structures peptidiques, comme par exemple des oligomères aromatiques? Comment est-il possible d'obtenir de manière convergente des structures tertiaires protéomimétiques ou des objets de tailles comparables aux protéines à partir de foldamères abiotiques?

Références bibliographiques

-
- ¹ <http://www.ac-orleans-tours.fr/svt/mol3d/3d/module3/html/3page.htm>
- ² Hill, R. B.; Raleigh, D. P.; Lombardi, A.; DeGrado, W. F. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 745.
- ³ Baltzer, L.; Nilsson, H.; Nilsson, J. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3153.
- ⁴ Fersht, A. *Structure and Mechanism in Protein Science*; W. H. Freeman and company: New York 1999.
- ⁶ Fezoui, Y.; Conolly, P. J.; Osterhout, J. J. *J. Protein. Sci.* **1997**, *6*, 1869.
- ⁷ Hill, R. B.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1138.
- ⁸ Raleigh, D. P.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10079.
- ⁹ Raleigh, D. P.; Betz, S. F.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7558.
- ¹⁰ Hill, R. B.; Hong, J.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 746.
- ¹¹ Hill, R. B.; Bracken, C.; DeGrado, W. F.; Palmer, A.; G. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11610.
- ¹² Schafmeister, C. E.; LaPorte, S. L.; Miercke, L. J. W.; Stroud, R. M. *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 1039.
- ¹³ Jiang, X.; Bishop, E. J.; Farid, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 838.
- ¹⁴ Ho, S.; DeGrado, W. F.; *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6751.
- ¹⁵ Dolphin, G. T.; Brive, L.; Johansson, G.; Baltzer, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11297.
- ¹⁶ Lee, H.-Y.; Lee, K.-H.; Al-Hashimi, H. M.; Marsh, E. N. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 337.
- ¹⁷ Nagi, A.D.; Regan, L.; *Folding Des.* **1997**, *2*, 67.
- ¹⁸ Glykos, N. M.; Cesareni, G.; Kokkinidis, M.; *Structure* **1999**, *7*, 597.
- ¹⁹ Harburyn P. B.; Plecs, J. J.; Tidor, B.; Alber, T.; Kim, P. S. *Science* **1998**, *282*, 1462.
- ²⁰ Johansson, J. S.; Gibney, B. R.; Skalicky, J. J.; Wand, A. J.; Dutton, P. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3881.
- ²¹ Tommos, C.; Skalicky, J. J.; Pilloud, D. L.; Wand, A. J.; Dutton, P.L. *Biochemistry* **1999**, *38*, 9495.
- ²² Walsh, S. T. R.; Cheng, H.; Bryson, J. W.; Roder, H.; DeGrado, W. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 5486.
- ²³ Tatko, C. D.; Nanda, V.; Lear, J. D.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4170.
- ²⁴ Dolphin, G. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7287.
- ²⁵ Ramagopal, U. A.; Ramakumar, S.; Sahal, D.; Chauhan, V. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 870.
- ²⁶ Venkatraman, J.; Shankamma, S. C.; Balaram, P.; *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3131.
- ²⁷ Lucas, A.; Huang, L.; Joshi, A.; Dill, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4272.
- ²⁸ Ghirlanda, G.; Osyczka, A.; Liu, W.; Antolovich, M.; Smith, K. M.; Dutton, P. L.; Wand, A. J.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8141.
- ²⁹ Fezoui, Y.; Hartley, D. M.; Walsh, D. M.; Selkoe, D. J.; Osterhout, J. J.; Teplow, D. B. *Nat. Struct. Biol.* **2000**, *7*, 1095.
- ³⁰ Bogani, F.; McConnell, E.; Joshi, L.; Chang, Y.; Ghirlanda, G.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7142.
- ³¹ Cochran, F. V.; Wu, S. P.; Wang, W.; Nanda, V.; Saven, J. G.; Therien, M. J.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1346.
- ³² Enander, K.; Dolphin, G. T.; Liedberg, B.; Lundström, I.; Baltzer, L. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 2375.

- ³³ Portwich, M.; Keller, S.; Strauss, H. M.; Mahrenholz, C. C.; Kretzschmar, I.; Kramer, A.; Volkmer, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1654.
- ³⁴ Torrado, A.; Walkup, G. K.; Imperiali, B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 609.
- ³⁵ Rojas, N. R.; Kamtekar, S.; Simons, C. T.; Mclean, J. E.; Vogel, K. M.; Spiro, T. G.; Farid, R. S.; Hecht, M. H. *Protein Sci.* **1997**, *6*, 2512.
- ³⁶ Marti, D. N.; Jelesarov, I.; Bosshard, H. R. *Biochemistry* **2000**, *39*, 12804.
- ³⁷ Hadley, E. B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16444.
- ³⁸ Rose, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 30.
- ³⁹ Tuchscherer, G.; Grell, D.; Mathieu, M.; Mutter, M. *J. Pept. Res.* **1999**, *54*, 185.
- ⁴⁰ Schneider, J. P.; Kelly, J. W. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2169.
- ⁴¹ Singh, Y.; Dolphin, G. T.; Razkin, J.; Dumy, P. *ChemBioChem.* **2006**, *7*, 1298.
- ⁴² Grove, A.; Mutter, M.; Rivier, J. E.; Montal, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5919.
- ⁴³ Mutter, M.; Tuchscherer, G. G.; Miller, C.; Altmann, K.-H.; Carey, R. I.; Wyss, D. F.; Labhardt, A. M.; Rivier, J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1463.
- ⁴⁴ Peluso, S.; Ruckle, T.; Lehmann, C.; Mutter, M.; Peggion, C.; Crisma, M. *ChemBioChem.* **2001**, *2*, 432.
- ⁴⁵ Vuilleumier, S.; Mutter, M. *Biopolymers* **1993**, *33*, 4015.
- ⁴⁶ Rau, H. K.; Haehnel, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 468.
- ⁴⁷ Li, W.-W.; Hellwig, P.; Ritter, M.; Haehnel, W. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7236.
- ⁴⁸ Sasaki, T.; Kaiser, E. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 381.
- ⁴⁹ Sasaki, T.; Kaiser, E. T. *Biopolymers* **1990**, *29*, 79.
- ⁵⁰ Akerfeldt, K. S.; Kim, R. M.; Camac, D.; Groves, J. T.; Lear, J. D.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9656.
- ⁵¹ DeGrado, W. F.; Lear, J. D. *Biopolymers* **1990**, *29*, 205.
- ⁵² Mihara, H.; Nishino, N.; Hasegawa, R.; Fujimoto, T. *Chem. Lett.* **1992**, 1805.
- ⁵³ Jensen, K. J.; Brask, J. *Biopolymers* **2005**, *80*, 747.
- ⁵⁴ Brask, J.; Dideriksen, J. M.; Nielsen, J.; Jensen, K. J. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 2247.
- ⁵⁵ Wong, A. K.; Jacobsen, M. P.; Winzor, D. J.; Fairlie, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3836.
- ⁵⁶ Mezo, A. R.; Sherman, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8983.
- ⁵⁷ Seo, E. S.; Scott, W. R. P.; Straus, S. K.; Sherman, J. C. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 3596.
- ⁵⁸ Ghadiri, M. R.; Soares, C.; Choi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4000.
- ⁵⁹ Ghadiri, M. R.; Soares, C.; Choi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 825.
- ⁶⁰ Sasaki, T.; Lieberman, M. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3677.
- ⁶¹ Ghadiri, M. R.; Case, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1993**, *32*, 1594.
- ⁶² Suzuki, K.; Hiroaki, H.; Kohda, D.; Nakamura, H.; Tanaka, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13008.
- ⁶³ Li, X.; Suzuki, K.; Kanaori, K.; Tajima, K.; Kashiwada, A.; Hiroaki, H.; Kohda, D.; Tanaka, T. *Protein Sci.* **2000**, *9*, 1327.
- ⁶⁴ Schnepf, R.; Haehnel, W.; Wieghardt, K.; Hildebrandt, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14389.
- ⁶⁵ Lombardi, A.; Summa, C. M.; Geremia, S.; Randaccio, L.; Pavone, V.; DeGrado, W. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 6298.
- ⁶⁶ Wayde, H.; Stayrook, S. E.; DeGrado, W. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4951.

- ⁶⁷ Geremia, S.; Di Costanzo, L.; Randaccio, L.; Engel, D. E.; Lombardi, A.; Natri, F.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17266.
- ⁶⁸ Kharenko, O. A.; Kennedy, D. C.; Demeler, B.; Maroney, M. J.; Ogawa, M. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7678.
- ⁶⁹ Cnudde, S. E.; Prorok, M.; Dai, Q.; Castellino, F. J. Geiger, J. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1586.
- ⁷⁰ Cheng, R. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *14*, 512.
- ⁷¹ E. R. Gillies, F. Deiss, C. Staedel, J.-M. Schmitter, I. Huc, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4081.
- ⁷² E. R. Gillies, C. Dolain, J.-M. Léger, I. Huc, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7931
- ⁷³ Burkoth, T. S.; Beausoleil, E.; Kaur, S.; Tang, D.; Cohen, F. E.; Zuckermann, R. N. *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 647.
- ⁷⁴ Lee, B.-C.; Zuckermann, R. N.; Dill, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10999.
- ⁷⁵ Horne, W. S.; Price, J. L.; Keck, J. L.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4178.
- ⁷⁶ Raguse, T. L.; Lai, J. R.; LePlae, P. R.; Gellman, S. H. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3963.
- ⁷⁷ Petersson, E. J.; Craig, C. J. ; Daniels, D. S.; Qiu, J. X.; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5344.
- ⁷⁸ Qiu, J. X.; Petersson, E., J.; Matthews, E. E.; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11338.
- ⁷⁹ Daniels, D. S.; Petersson, E. J. ; Qiu, J. X.; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1532.
- ⁸⁰ Cheng, R. P.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11564.
- ⁸¹ Sharma, G. V. M.; Subash, V.; Narsimulu, K.; Ravi Sankar, A.; Kunwar, A. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8207.

Chapitre II

**Les oligoamides aromatiques dérivés de
l'acide 8-amino-2-quinoline
carboxylique : *Etat de l'Art et Nouvelles
Etudes***

Introduction

Les oligomères synthétiques capables de se replier en solution, les foldamères, font l'objet d'une recherche intensive depuis ces quinze dernières années.^{1,2} Ils sont attrayants car ils offrent la possibilité de mimer *les structures* secondaires rencontrées dans les systèmes biologiques. A plus ou moins long terme, il est envisageable qu'ils mimeront aussi *les fonctions* des protéines ou peptides, qui sont intimement liées à leurs structures. De récents travaux vont désormais dans ce sens.^{3,4,5,6,7,8}

L'intérêt des foldamères réside non seulement dans leur capacité à se replier mais aussi dans la prévisibilité de leur repliement. En effet, contrairement aux protéines ou peptides dont les règles de repliement sont complexes, le comportement des foldamères peut être un peu plus aisément anticipé. En particulier, la conception de monomères aromatiques (ayant un nombre de degré de liberté limité) ou de la séquence elle-même permet de prévoir *a priori* quelle sera la conformation de l'oligomère.⁹ Cependant, cette prévisibilité est pour une grande part, le fait d'un long travail passé à étudier ces oligomères synthétiques.

De plus, à la prévisibilité des foldamères, il est souvent associé une capacité à adopter une grande variété de structures qui peuvent être peptidomimétiques ou bien différentes des repliements des biopolymères.

La synthèse des foldamères doit être facile, efficace et convergente. Dans ce contexte, seules quelques réactions chimiques sont envisageables pour la préparation de composés de hauts poids moléculaires. Les réactions de condensation d'une amine sur un acide activé, utilisées par la nature elle-même pour la synthèse des protéines, ont montré toute leur efficacité et sont très largement exploitées dans des stratégies différentes d'une synthèse linéaire.

La fonction des protéines réside souvent dans leur capacité à se structurer dans une conformation bien définie. La flexibilité des structures des protéines contribue à leur activité et à sa régulation mais complique par ailleurs aussi bien les études de la relation entre structure et activité que la conception de structures tertiaires artificielles. Les foldamères, par leur stabilité, représentent dans ce cadre des alternatives intéressantes aux peptides. Par

exemple, pour une structure et une activité donnée, des changements de l'activité pourront être directement liés aux modifications de la séquence et non à la perturbation de la structure.

C'est dans le contexte présenté précédemment que s'inscrit le travail du groupe de Ivan Huc. Les oligomères mis au point sont des oligoamides aromatiques dérivés de l'acide 8-amino-2-quinoline carboxylique. Ces oligomères ont la capacité de se replier en hélice, motif très présent dans les systèmes biologiques. La présentation qui suit s'attachera à montrer, dans une première partie, la remarquable combinaison de prévisibilité et de stabilité de ces oligoamides et comment le repliement hélicoïdal a été caractérisé sans ambiguïté à la fois dans le solide et en solution. Dans une seconde partie, ma contribution à l'amélioration de la synthèse et à une meilleure compréhension des mécanismes d'inversion d'hélicité de ces oligomères sera présentée au travers de récents résultats.

I Etat de l'Art

1. Le repliement hélicoïdal

1.1 Les préférences conformationnelles locales

L'acide 8-amino-2-quinoline carboxylique fait partie de la classe, encore peu étudiée, des acides δ aminés. Sa version protégée (par un ester pour la fonction acide et un nitro pour sa fonction amine) est aisément synthétisée en trois étapes (cf partie II).^{10,11} La troisième étape de la synthèse de ce monomère permet l'insertion d'une chaîne latérale en position 4 qu'il est possible de choisir en fonction des projets développés.

Ce monomère a été conçu dans le but d'obtenir des foldamères hélicoïdaux facilement synthétisables, dont la conformation est prévisible et stable. Pour sa conception I. Huc *et coll.* se sont appuyés sur les principes des restrictions de rotations autour des liaisons aryle-amide. Ces rotations sont limitées du fait de la conjugaison des liaisons. En particulier, seules les conformations *syn* ou *anti* dominent dans lesquelles les groupes aryle et amide sont coplanaires. Pour la liaison NHCO-aryle (Schéma 1 a), l'azote endocyclique induit des répulsions électrostatiques avec l'oxygène de l'amide, ce qui stabilise la conformation *anti* de la liaison amide-aryle au détriment de la conformation *syn*. La conformation *anti* est aussi stabilisée par la présence d'une liaison hydrogène intramoléculaire formant un cycle à cinq chaînons.

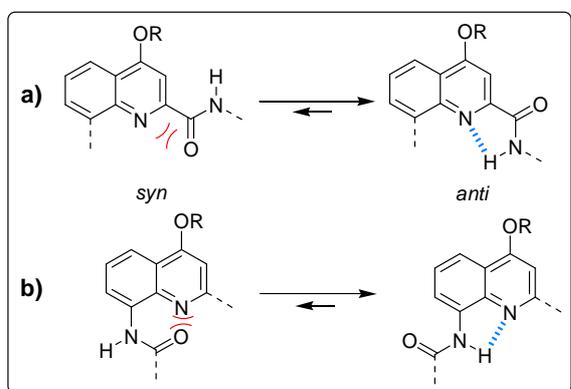


Schéma 1. Représentation de la préférence conformationnelle locale *anti* a) autour de la liaison NHCO-aryle b) autour de la liaison CONH-aryle. Les répulsions électrostatiques sont représentées en rouge et les liaisons hydrogène intramoléculaires en bleu.

De la même manière, la conformation *anti* de la liaison CONH-aryle est favorisée du fait de répulsions électrostatiques, et est, de surcroît, stabilisée par la formation d'une liaison hydrogène (Schéma 1 b). La conformation *anti* du dimère de quinolines a été confirmée par la résolution de sa structure cristalline (Figure 1 a).^{10,11}

1.2 Induction et Stabilisation de la conformation hélicoïdale

L'amine et l'acide sont positionnés en position *pseudo ortho*¹, définissant a priori un angle de 60° sur le noyau quinoline. Cet angle étant inférieur à 180°, une courbure doit résulter au sein des oligomères. L'addition d'un résidu à un dimère plan induit une déviation de la planarité de l'oligomère du fait de contraintes stériques qui empêchent le trimère des rester plan. La conformation hélicoïdale est alors amorcée (Figure 1 b). Cependant, une légère élongation des liaisons hydrogène et une diminution de la courbure peut aussi conduire à la formation d'un macrocycle de ce trimère. Ce macrocycle a été observé au cours d'essais de polymérisation d'un amino acide quinoline¹² (Figure 1 c).

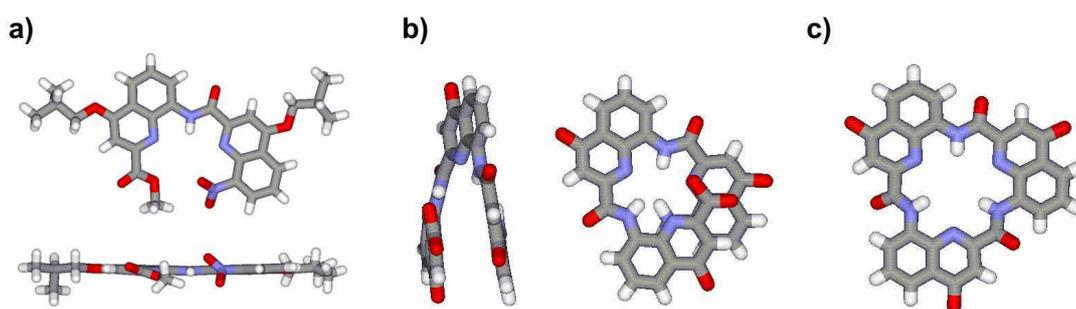


Figure 1. a) Structure cristalline du dimère, vue de dessus (en haut), vue latérale (en bas). b) Modèle du trimère linéaire, vue latérale (à gauche), vue de dessus (à droite). c) Structure cristalline du trimère cyclique, vue de dessus.

La déviation de la planarité est rendue possible grâce à des modifications des angles de torsion des liaisons aryle-amide. La position en *pseudo ortho* des fonctions amine et acide conduit à une courbure importante, c'est-à-dire à un faible nombre de liens aryl-amide par tour, et donc à des torsions significatives des angles dièdres de ces liens.

Lorsque la séquence de l'oligomère est allongée, les cycles aromatiques s'empilent, il apparaît ainsi des interactions π - π stabilisant la conformation hélicoïdale. Ces interactions incluent des termes électrostatiques, de van de Waals et solvophobes dans les solvants protiques.

¹ Il ne s'agit pas de la définition exacte d'une position *ortho* mais d'un abus de langage ; les deux fonctions n'étant pas portées par le même cycle aromatique.

Le monomère quinoline possède intrinsèquement toutes les informations permettant d'anticiper le repliement en hélice d'un oligomère. Les caractéristiques de cette conformation hélicoïdale, comme le diamètre (1,2 nm), le pas (3,4 Å, épaisseur d'un cycle aromatique) et le nombre d'unités par tour (2,5) sont uniquement dues à la position relative des fonctions amine et acide (60°), à la taille de ce monomère (deux cycles aromatiques) et à la présence de liaisons hydrogène à l'intérieur de l'hélice qui augmente légèrement la courbure (Figure 2). On peut donc nommer un tel monomère un « codon » d'hélicité.

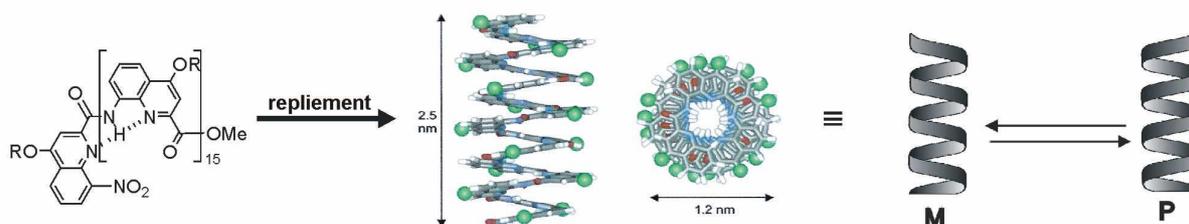


Figure 2. Représentation d'un hexadécamère. Au centre, structure modélisée dans le champ de force MM3. Les chaînes latérales sont représentées par des sphères vertes.

L'apparition du repliement hélicoïdal à partir de résidus non chiraux conduit à l'obtention d'un mélange racémique d'hélices ayant un sens d'hélicité droit (P) ou un sens d'hélicité gauche (M). En solution, ces énantiomères sont en équilibre (Figure 2). La vitesse d'inversion de l'hélice, dépendante de la stabilité de celle-ci, peut être évaluée par la détermination de la température de coalescence par RMN de signaux caractéristiques de la nature chirale de la conformation (motifs diastéréotopiques).^{10,11}

2. Caractérisation du repliement

Comme il a été vu précédemment, la structure du monomère permet de prédire les caractéristiques de la conformation hélicoïdale. Ces données *a priori*, ont pu être vérifiées *a posteriori* par des études dans le solide (diffraction des rayons X de monocristaux) et en solution (RMN).

2.1 Dans le solide

Les oligomères constitués d'unités quinolines présentent l'avantage de cristalliser relativement facilement par diffusion d'un alcane dans les solvants aromatiques ou chlorés, ou par diffusion de méthanol dans les solvants chlorés. Comme l'atteste la Figure 3, cela a permis la résolution de la structure cristalline de quelques uns des oligomères et en particulier d'un octamère. Dans cette structure, chaque proton amide est effectivement engagé dans deux liaisons hydrogène et pointe vers l'intérieur de l'hélice, ce qui empêche la pénétration de molécule de solvant en son coeur. L'hélice possède une structure régulière où les angles de torsion entre la liaison N(1)-C(2) d'une quinoline et C(8)-C(9) de la quinoline suivante varient de $159,2^\circ$ à $169,5^\circ$. Le repliement de ces oligomères est basé sur les liaisons hydrogène et sur un recouvrement aromatique très important sans que l'on puisse quantifier ces deux termes séparément.

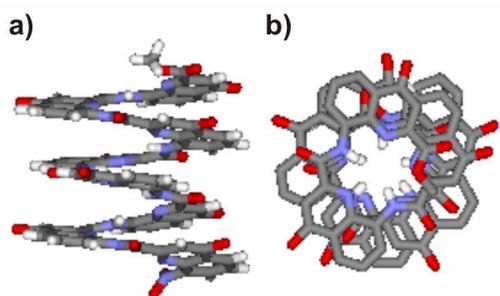


Figure 3. Structure cristalline de l'octamère. **a)** vue latérale. **b)** vue de dessus. Les chaînes latérales et les molécules de solvant ont été omises pour plus de clarté.

De plus, la structure cristalline de l'octamère a permis de vérifier la prédictibilité de la conformation en la superposant à une structure obtenue par une simple minimisation d'énergie dans le champ de force MM3 (Macromodel). La prédiction a révélé une erreur inférieure à 5%.¹¹

2.2 En solution

2.2.1 Preuves indirectes par RMN 1D

Le repliement des oligoquinolines a d'abord été étudié par l'addition d'un réactif de shift chiral. L'éclatement du spectre RMN en deux jeux de signaux d'égales intensités a révélé l'existence d'un mélange racémique de deux énantiomères. Les oligomères possèdent donc en solution une chiralité.

Cette chiralité est aussi observée sans l'ajout de réactif de shift pour le signal des groupes méthylènes de chaînes latérales *isobutoxy* lorsque la longueur de l'oligomère est suffisamment grande. Pour un tétramère (Figure 4 c), les quatre OCH_2 apparaissent sous la forme de trois doublets et un signal large. Ces signaux deviennent quatre doublets en chauffant, s'élargissent en refroidissant, et en dessous de la température de coalescence (-20°C) deviennent quatre doublets de doublets. L'apparition de la diastéréotopie indique l'adoption d'une conformation chirale dont l'inversion est lente au temps de la RMN. Pour des composés de plus grande taille, cet équilibre est plus lent puisque par exemple, aucune coalescence n'est observée pour un octamère même à 120°C dans le DMSO-d_6 malgré le fait que le DMSO est moins favorable au repliement du fait de sa capacité à rompre les liaisons hydrogène intramoléculaires. Il s'agit là d'une preuve de l'extrême stabilité de la conformation.

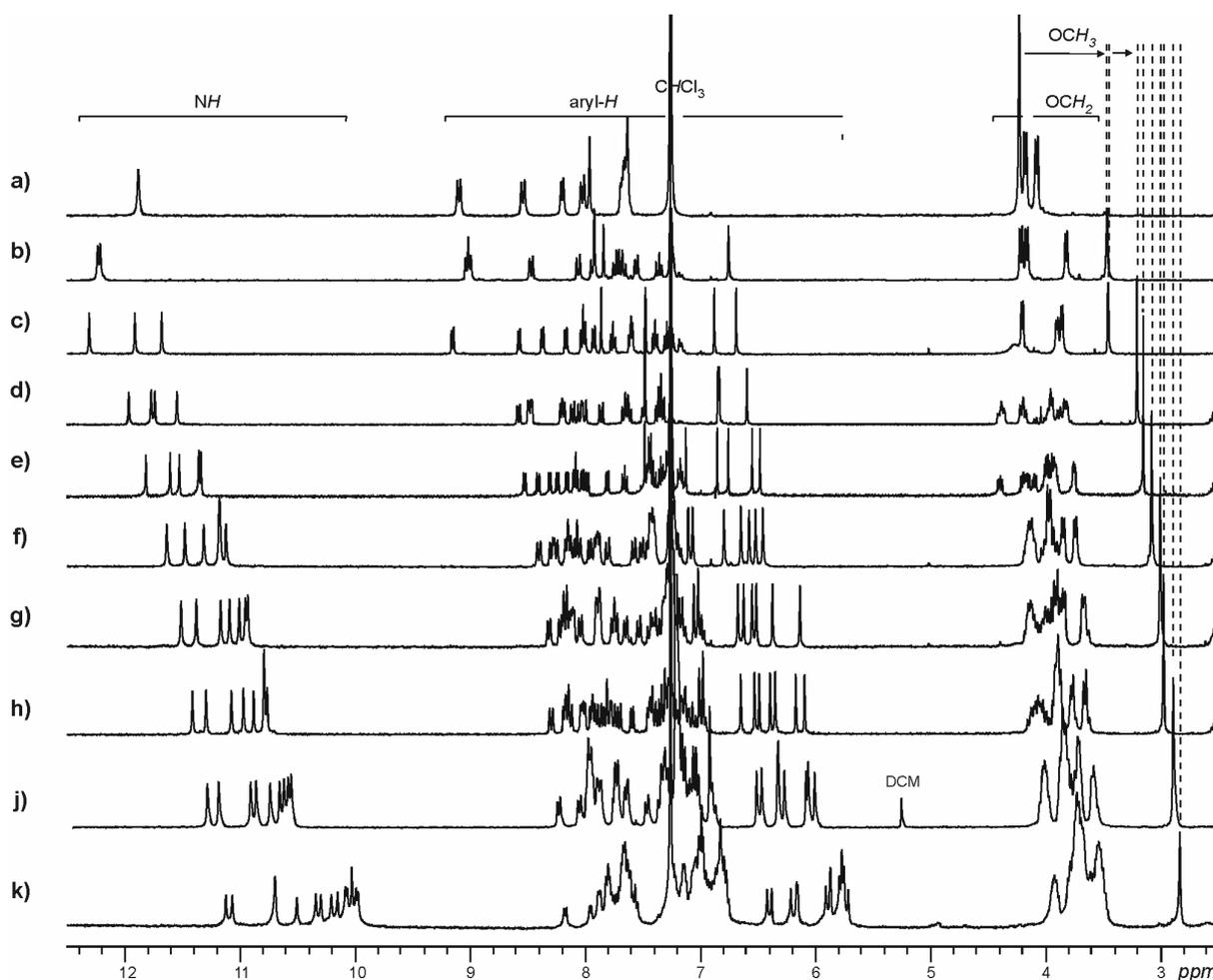


Figure 4. Spectres RMN ^1H 400 MHz d'oligomères quinolines dans CDCl_3 . **a)** dimère **b)** trimère **c)** tétramère **d)** pentamère **e)** hexamère **f)** heptamère **g)** octamère **h)** nonamère **j)** décimère **k)** hexadécimère.

L'analyse des spectres RMN des oligomères montre des signatures particulières qu'il est possible de corréler au repliement hélicoïdal des oligomères en solution (Figure 4)^{10,11} :

- les spectres RMN sont étalés sur une large gamme de déplacements chimiques malgré la répétitivité de la séquence
- les protons amides sont fortement déblindés du fait des liaisons hydrogène intramoléculaires (9,9-12,4 ppm)
- Lorsque l'on augmente la longueur de la séquence, les protons aromatiques, amides et les protons de l'ester de méthyle sont de plus en plus déplacés à champ fort du fait de leur positionnement dans le cône de blindage de l'empilement aromatique (Figure 4). Ceci n'est pas le cas des méthylènes des chaînes latérales qui sont eux à la périphérie de l'hélice.

L'ensemble de ces observations tend à démontrer qu'à partir de trois résidus, il existe un repliement hélicoïdal en solution. Cependant, il s'agit seulement de preuves indirectes, c'est pourquoi des expériences RMN plus approfondies ont été effectuées.

2.2.2 Résolution de la structure par RMN 2D

Les protocoles utilisés pour la résolution de la structure en solution s'inspirent largement de ceux utilisés pour les α , β , γ , δ -peptides.¹³ Ils nécessitent l'attribution des spectres RMN ^1H afin d'identifier les corrélations spatiales observées au cours d'expériences de type NOESY ou ROESY.¹⁴ Cependant, la nature aromatique du squelette de ces oligomères impose l'utilisation de corrélations hétéronucléaires longues-distances (expérience HMBC) pour l'attribution complète du spectre RMN ^1H et pour l'attribution partielle du spectre RMN ^{13}C .¹⁵ Dans un premier temps les systèmes de spin ont été partiellement identifiés par une expérience COSY. Ensuite, une expérience HMBC et l'attribution partielle du spectre ^{13}C , par l'intermédiaire d'expérience HSQC, ont permis l'identification de tous les systèmes de spin. Enfin, l'expérience HMBC permet également de passer d'un noyau i à un noyau $i+1$ par des corrélations $\text{C}_i \rightarrow \text{NH}_i \rightarrow \text{C}=\text{O}_{i+1} \rightarrow \text{H}_{i+1}$. Ces expériences ont permis l'attribution de tout le spectre proton et donc de la séquence primaire. Les corrélations spatiales observées entre les unités i et les unités $i-2$ et $i+3$ au cours des expériences NOESY ont pu être parfaitement identifiées pour les protons aromatiques. De même, des corrélations spatiales entre protons amides des unités i , $i+1$, $i+2$, $i-1$, et $i-2$ ont été identifiées. L'ensemble de ces corrélations suggère une structure hélicoïdale. De plus, l'intégration des effets NOE, convertie en distance a permis de réaliser des études de dynamique moléculaire sous contraintes de distance. Ces études de modélisation moléculaire ont aussi confirmé la structure hélicoïdale.¹⁶

3. Contrôle intramoléculaire du sens d'hélicité

Dans la nature, les hélices possèdent le plus souvent un sens d'hélicité défini lié à la chiralité des résidus les constituant. Par exemple, la stéréochimie L des acides aminés induit des hélices droites (P). Dans le cas des oligomères constitués de quinolines, les deux hélicités P et M sont en équilibre. L'induction de chiralité a donc été entreprise grâce à des interactions intramoléculaires. Cela consiste à introduire de façon covalente, sur le squelette de l'oligomère un groupement chiral qui stabilise l'une des deux espèces (Figure 5). Toutefois, comme l'a montré Green *et coll.*¹⁷, il n'est pas nécessaire d'introduire un groupement chiral sur chaque unité pour maintenir l'information chirale sur tout le brin. Dans l'objectif, d'induire un sens d'hélicité unique (P ou M) aux hélices, des groupements chiraux (R ou S) ont été ajoutés à l'extrémité C terminale des oligomères.¹⁸

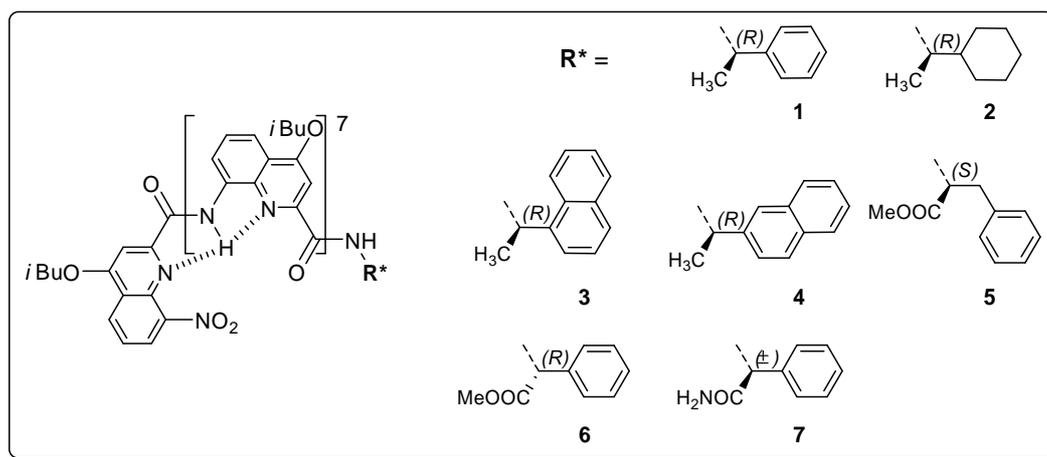


Figure 5. Présentation des oligomères 1-7 chiraux étudiés.

Pour Chaque oligomère, deux paires d'énantiomères sont possibles (R-P/S-M et R-M/S-P) et quatre paires de diastéréoisomères (R-P/R-M, R-P/S-P, R-M/S-M et S-M/S-P). Les mesures d'excès diastéréoisomériques par RMN et par dichroïsme circulaire ont révélé une induction de chiralité largement dépendante de la taille des substituants du groupement chiral (Tableau 1).

Oligomère	Proportions	<i>d.e.</i> (NMR) (%)	<i>d.e.</i> (CD ^a) (%)
1	10 : 1	82	82 (ref)
2	10 : 3	54	78
3	10 : 0,9	83	95
4	10 : 3,3	50	70
5	12 : 10	9	13
6	10 : 5	33	33
7	10 : 5	33	

Tableau 1. Mesure de l'excès diastéréoisomérique (*d.e.*) par RMN et dichroïsme circulaire (CD) des oligomères **1** à **7**. ^aPour la valeur du *d.e.* mesuré par CD, le *d.e.* de l'oligomère **1** mesuré par RMN a servi de référence.

Des études par diffraction des rayons X, couplées à des études RMN, ont permis l'attribution de la chiralité absolue induite et ainsi donner la possibilité de rationaliser davantage l'induction. Si les chiralités R^S et S^S désignent désormais la chiralité du centre stéréogénique dont les quatre substituants sont classés par taille et non plus selon les règles de Cahn-Ingold-Prelog, alors, R^S favorise une hélice gauche et S^S une hélice droite. Le centre stéréogénique adopterait une conformation préférentielle où le groupe le plus volumineux pointe vers l'extérieur de l'hélice, le moins volumineux vers l'intérieur et le dernier se positionne dans le prolongement de celle-ci. Des calculs *ab initio* couplés à du dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD) ont permis de confirmer ces considérations pour un oligomère identique à l'oligomère **1** mais de plus petite taille (un tétramère afin de faciliter les calculs). Les calculs ont, de plus, révélé une très bonne prédiction du conformère le plus stable en prenant soin de comparer tous les conformères possibles.¹⁹

Cependant, quelques distorsions aux règles énoncées précédemment tendent à montrer que les contraintes stériques ne sont pas les uniques effets mis en jeu dans ce phénomène.¹⁸

Beaucoup plus récemment, un groupement chiral de type acide camphanique, attaché à l'extrémité N-terminale a révélé une excellente induction intramoléculaire du sens d'hélicité. Ce travail effectué par Legiso Poniman, doctorant dans le groupe d'Ivan Huc, tend à montrer que seul un énantiomère est présent en solution (critère de pureté défini par RMN) et qu'une chiralité S de celui-ci induit une hélice droite.

4. Transmission ou inversion du sens d'hélicité entre deux segments hélicoïdaux à travers un espaceur

Une des propriétés majeures d'une hélice moléculaire, en particulier en biologie et en science des polymères, est la longueur moyenne pour laquelle elle garde le même sens d'hélicité.²⁰ Ce paramètre est très dépendant des préférences conformationnelles locales du squelette de l'hélice, des interactions intramoléculaires, des interactions avec le solvant mais aussi de la propension à l'hélicité des monomères de la séquence. Déterminer pourquoi et comment l'hélice est interrompue est difficile car souvent, les sites d'inversion ne sont pas à des positions définies. Une méthode simple, développée dans le groupe d'Ivan Huc a permis d'apporter quelques éléments de réponse.²¹ Pour cela un espaceur est introduit entre deux segments hélicoïdaux dont la conformation hélicoïdale est stable (Figure 6). Ainsi, un espaceur ayant une faible propension à l'hélicité aura tendance à être un site fragile où l'inversion d'hélicité peut se produire (obtention d'un mélange entre les espèces PP/MM et PM), *a contrario*, un espaceur ayant une forte propension à l'hélicité aura tendance à stabiliser une même et longue hélice (espèce unique PP/MM) et enfin, un centre d'inversion parfait conduira à une espèce unique PM.

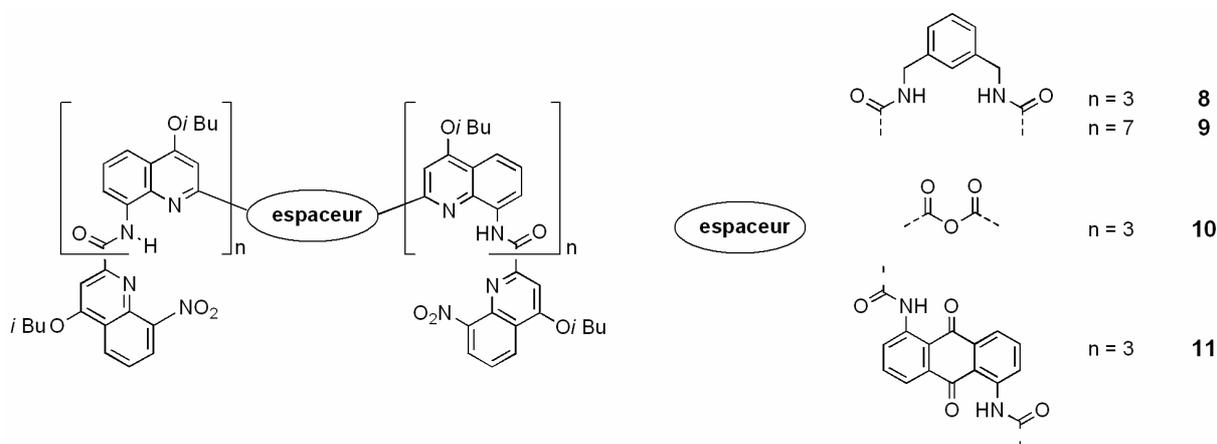


Figure 6. Représentation des différents oligomères 8-11 utilisés pour l'étude.

La stratégie proposée présente l'avantage de pouvoir localiser le site de déstabilisation (espaceur) mais aussi de pouvoir différencier et caractériser, en solution et dans le solide, les espèces obtenues. Il a été anticipé que l'espaceur méta-xylylène pourrait avoir une faible propension à l'hélicité. En effet, il possède deux carbones sp^3 qui interrompent la conjugaison, introduisant une certaine flexibilité. De plus, l'absence d'azote endocyclique prévient la formation de liaison hydrogène. Les résultats obtenus pour les oligomères 8 et 9 sont en accord avec ces prédictions puisque les spectres RMN dans $CDCl_3$ montrent la

présence de deux espèces (mélange 1/1) en équilibre. Cet équilibre est déplacé vers un ratio 9/1 dans le toluène- d_8 , vraisemblablement du fait d'une stabilisation de l'espèce PP/MM par augmentation de l'empilement aromatique. Les deux hélices, connectées à cet espaceur communiquent donc, dans le toluène, alors qu'elles sont totalement indépendantes dans le chloroforme (Figure 7 a et b).

Pour l'oligomère **10**, une des deux espèces PP/MM (transmission) ou PM (inversion) est largement majoritaire (98%) en solution. Les données cristallographiques prouvent qu'il s'agit de l'espèce PP/MM, par conséquent l'anhydride s'insère complètement dans le motif hélicoïdal (Figure 7 c). Contre toute attente, cet espaceur a donc une forte propension à l'hélicité.²³ Il peut, par cette caractéristique, constituer un moyen efficace de doubler la longueur de l'hélice en une seule étape à partir de l'acide carboxylique.

Quant à l'oligomère **11**, il a été synthétisé dans le but de créer un centre d'inversion en se basant sur le principe d'exclusion stérique mutuelle. L'espaceur 1,5-diamino-anthraquinone, inséré entre deux segments hélicoïdaux, leur impose de se positionner de part et d'autre de son plan afin qu'ils ne s'interpénètrent pas. La nature centrosymétrique de cet espaceur conduit alors à un centre d'inversion. Ceci a pu être vérifié en solution et dans le solide par diffraction des rayons X (Figure 7 d). Les données obtenues par RMN ont révélé la présence d'une espèce unique, ce qui confirme que l'espaceur 1,5-diamino-anthraquinone est un centre d'inversion parfait.²²

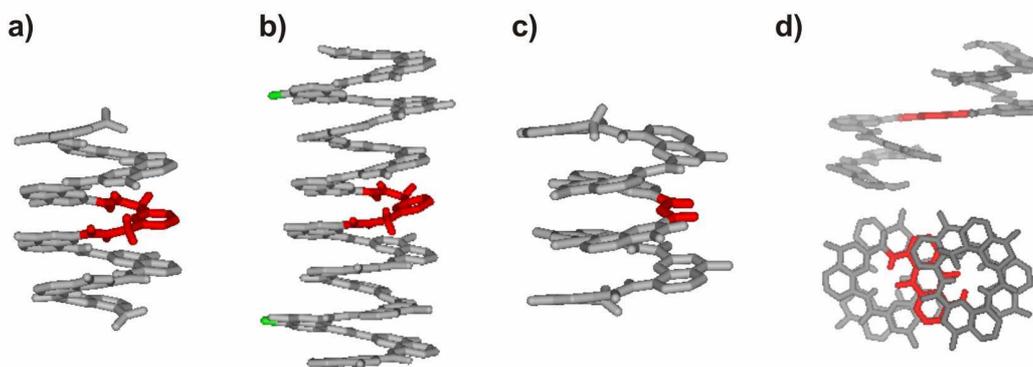


Figure 7. Structures cristallines des différents oligomères. **a)** oligomère **8**. **b)** oligomère **9**, comprenant deux atomes de chlore représentés en vert. **c)** oligomère **10**. **d)** oligomère **11**. Les espaceurs sont représentés en rouge. Les chaînes latérales ainsi que les molécules de solvant ont été omises pour plus de clarté.

La stratégie adoptée au cours de cette étude a permis de caractériser la propension à l'hélicité de certains monomères. Désormais, la conception de monomères capables de s'insérer complètement dans une hélice est plus aisée. Cette étude a également montré qu'il est possible de contrôler l'orientation relative d'hélices uniquement grâce à des considérations stériques et de symétrie.

II Résultats récents

1. Optimisation de la synthèse

Les études présentées dans la suite de ce manuscrit ont nécessité l'utilisation de quantités importantes d'oligomères de grandes tailles (tétramères, octamères...). La synthèse décrite dans des travaux antérieurs^{10,11} a, par conséquent, dû faire l'objet d'améliorations. Ces optimisations ont porté tant au niveau des échelles sur lesquelles les réactions étaient effectuées que sur les rendements de celles-ci. Ainsi, l'un des enjeux de ma thèse a été l'amélioration de la synthèse des oligomères.

1.1 Synthèse du monomère

Le monomère 8-amino-2-quinoline carboxylique est synthétisé en trois étapes sous sa forme protégée aux extrémités N et C-terminales (Schéma 2). La fonction amine peut être obtenue par réduction d'un groupement nitro et la fonction acide est protégée sous forme d'un ester de méthyle. La chaîne latérale isobutoxy est introduite au cours de la troisième étape par une réaction de Mitsunobu.

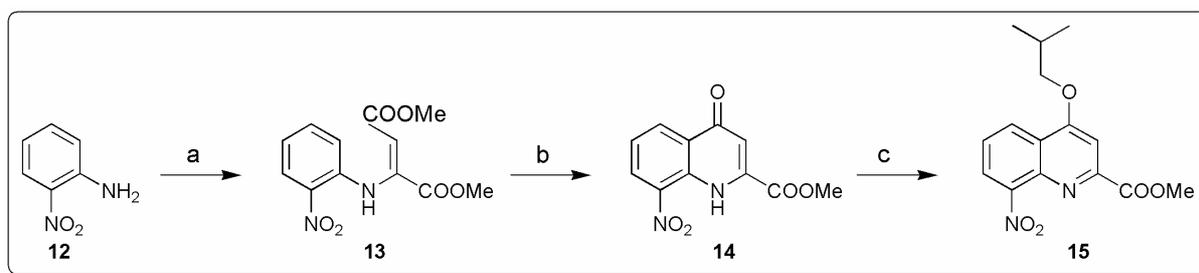


Schéma 2. Synthèse du monomère. **a** MeOOC-C≡C-COOMe, MeOH, reflux, 16h, 92%. **b** PPA, 120°C, 3h, 78%. **c** PPh₃, *i*BuOH, DIAD, THF, t.a., 12h, 85%.

Le monomère est le produit de départ des oligomères. Il doit être synthétisé sur des échelles importantes. La cyclisation du produit **13** a nécessité des optimisations (agitation mécanique au lieu d'agitation magnétique, conditions de neutralisation de l'acide poly phosphorique, temps de réaction) afin d'obtenir plusieurs grammes (réaction réalisée sur 40g) avec des rendements allant de 60 à 80%. Enfin, la réaction de Mitsunobu, bien que très efficace, conduit à l'obtention de nombreux produits secondaires (oxyde de

triphénylphosphine, adduit du DIAD...) qu'il est difficile de séparer par colonne sur gel de silice. Ainsi, des conditions de cristallisation ont été mises au point afin d'obtenir sélectivement le monomère pur.

Finalement, le monomère « nitro-ester » est obtenu avec un rendement global de 61% sans aucune étape de purification par colonne sur gel de silice.

1.2 Synthèse des « oligomères pairs »

Des oligomères de différentes tailles ont été synthétisés relativement facilement en utilisant une stratégie convergente qui consiste à doubler la longueur de l'oligomère à chaque cycle de couplage. Un dimère résulte du couplage de deux monomères, un tétramère de deux dimères et ainsi de suite. Chaque cycle de croissance des oligomères nécessite la réduction du nitro d'une part et la saponification de l'ester de méthyle d'autre part. Les problèmes de synthèse principalement rencontrés sont le fait d'un encombrement stérique croissant des fonctions réactives et de la faible nucléophilie des amines aromatiques. L'utilisation d'agents de couplage classiques n'étant pas possible, une stratégie passant par des chlorures d'acide a donc été adoptée (Schéma 3).

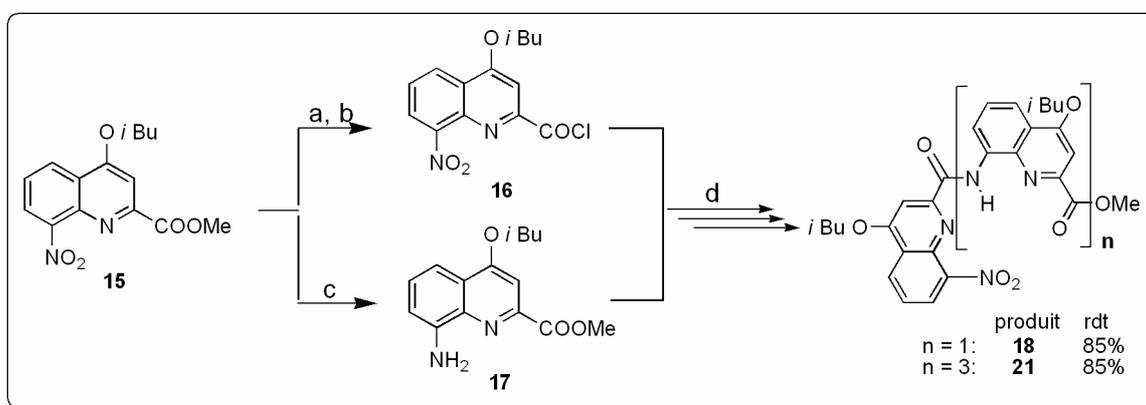


Schéma 3. Synthèse du tétramère quinoline. **a** KOH, THF/MeOH, t.a., 16h, quant. **b** SOCl₂, reflux, 10min, quant. **c** HCOONH₄, Pd/C, EtOAc, MeOH, H₂O, reflux., 3h, quant. **d** DIEA, DCM, t.a., 16h.

Cependant, certaines étapes de la synthèse se sont aussi révélées problématiques:

- Les étapes de réduction des nitro ont nécessité l'adoption d'une nouvelle stratégie du fait de la présence d'hydroxylamine, produit intermédiaire dans la formation de l'amine. En effet, la présence de ce composé, notamment dans la synthèse du tétramère a conduit à la formation d'un tétramère hydroxylé en position 7 sur le troisième résidu (Figure 8). Pour l'éviter, un protocole permettant la production d'hydrogène in situ a été adopté (Schéma 3 étape c).

- La présence de SO_2Cl_2 , produit de dismutation du chlorure de thionyle, utilisé dans l'étape d'activation des acides a provoqué la chloration en position 5 du cycle aromatique (Figure 8). Cette réaction secondaire a été observée, en particulier, pendant l'activation du dimère et du tétramère. Il a donc été décidé de n'utiliser le SOCl_2 que pour l'activation du monomère et, à la limite, du dimère. Pour des oligomères de taille supérieure à deux résidus, l'acide est activé en présence d'une chloroènamine, le réactif de Ghosez.²³ La formation du chlorure d'acide s'effectue, par ce biais, dans des conditions douces et de manière quantitative.

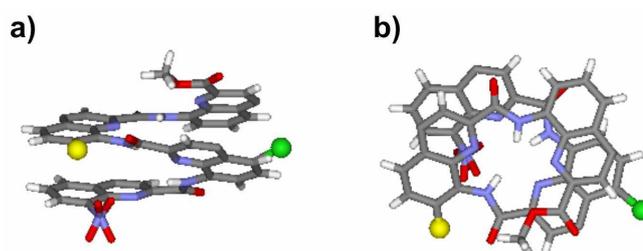


Figure 8. Structure cristalline d'un tétramère possédant un chlore en position 5 du 2^{ème} résidu (sphère verte) et un groupement hydroxy en position 7 du 3^{ème} résidu (sphère jaune). **a)** Vue latérale. **b)** Vue de dessus. Les chaînes latérales et les molécules de solvant ont été omises pour plus de clarté.

- Pour finir, la saponification du tétramère s'est révélée être une étape délicate. Le clivage de l'amide central a été observé plusieurs fois. De nouvelles conditions, décrites dans le Schéma 4, ont été mises au point pour résoudre ce problème. Elles ont été aussi utilisées pour tous les oligomères plus longs que les tétramères.

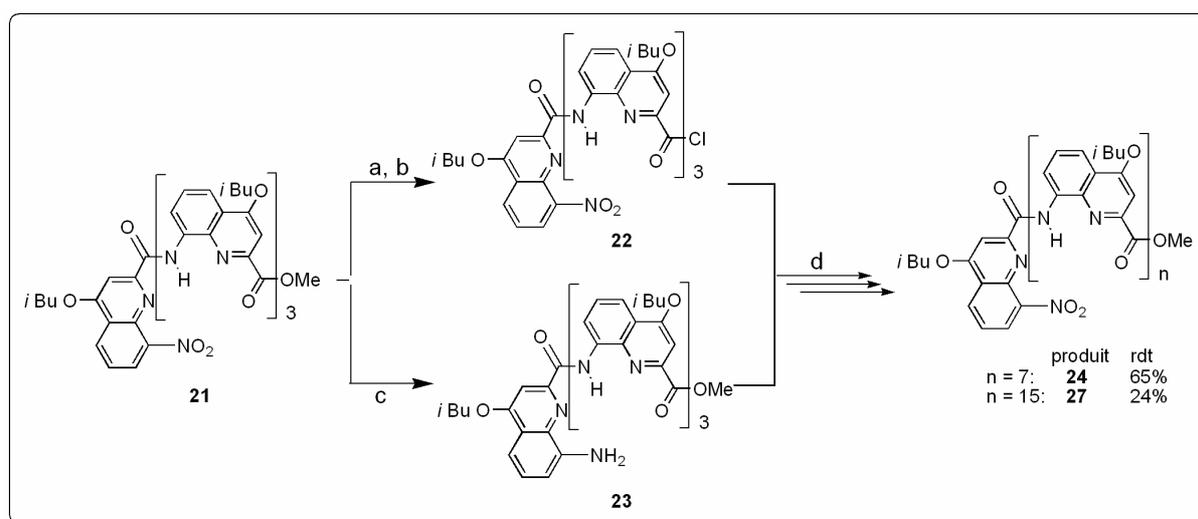
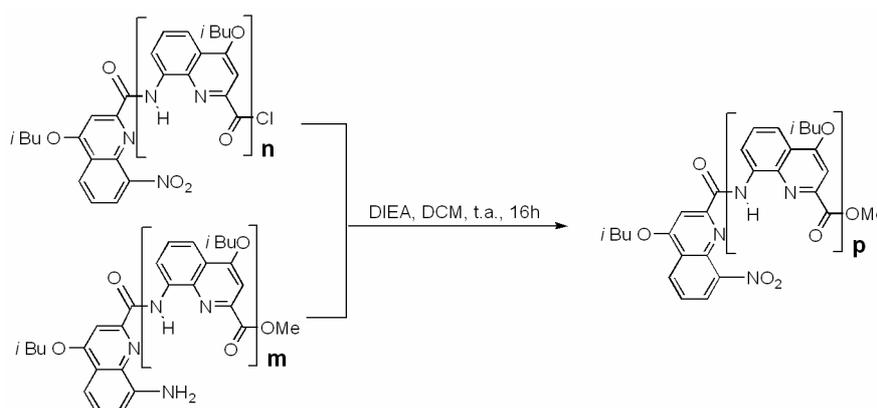


Schéma 4. Synthèse de l'hexadécamère. **a** NaOH, THF/MeOH, 40°C, t.a., 16h, 90%. **b** Chloroènamine, DCM, t.a., 16h, quant. **c** HCOONH_4 , Pd/C, EtOAc, MeOH, H_2O , reflux., 16h, quant. **d** DIEA, DCM, t.a., 16h.

Les efforts réalisés pour optimiser la synthèse ont permis de faire du tétramère un intermédiaire clé, qui a alors pu être considéré comme un synthon de départ. Sa synthèse en onze étapes dont neuf consécutives s'effectue avec un rendement global de 25% et ne nécessite aucune purification par colonne sur gel de silice. Il a par ailleurs pu être obtenu jusqu'à 5g de ce composé en une seule étape.

1.3 Synthèse des autres oligomères

Dans le cadre de l'étude cinétique présentée dans la partie suivante, des oligomères de tailles différentes de ceux préparés précédemment ont été nécessaires. Ainsi, le trimère, le pentamère, l'heptamère, le nonamère et le décimère ont été synthétisés selon les stratégies décrites dans le Tableau 2.



Oligomères	Chlorure d'acide n =	Amine m =	Rendement
28 p = 2	1	0	82%
29 p = 4	1	3	72%
30 p = 6	3	2	66%
31 p = 8	3	4	60%
32 p = 9	1	7	64%

Tableau 2. Récapitulation des stratégies de synthèse adoptées et des rendements des réactions.

D'une manière générale, les fonctions réactives des oligomères de grandes tailles sont peu accessibles du fait du repliement hélicoïdal, c'est pourquoi, les rendements des réactions de couplage diminuent. Cependant, les réactions sont plus efficaces quand une amine de taille importante est couplée avec un chlorure d'acide peu encombré.

2. Cinétique d'inversion du sens d'hélicité

Comme il a été dit précédemment, la conformation hélicoïdale, caractérisée dans le solide et en solution, se présente avec deux chiralités P ou M en équilibre.^{10,11} Les proportions de ces deux espèces en équilibre ne sont ni sensibles au solvant ni sensibles à la température. En revanche, la température et le nombre d'unités de la séquence ont une importance considérable sur la vitesse d'inversion des hélices. Par exemple, la température de coalescence des signaux RMN diastéréotopiques du tétramère est de -20°C alors que celle de l'octamère est au-delà de 120°C, y compris dans les solvants polaires qui sont connus pour être dénaturants.

Récemment, des études ont été menées en collaboration avec le groupe du Prof. M. Takafuji (université de Kumamoto, Japon) afin de mieux appréhender le mécanisme d'inversion du sens d'hélicité de ces oligomères. Pour cela les deux espèces P et M d'oligomères de différentes tailles (pentamère, hexamère, heptamère, octamère, nonamère, décimère et hexadécimère) ont été séparés par HPLC chirale à 0°C (Figure 9 a).

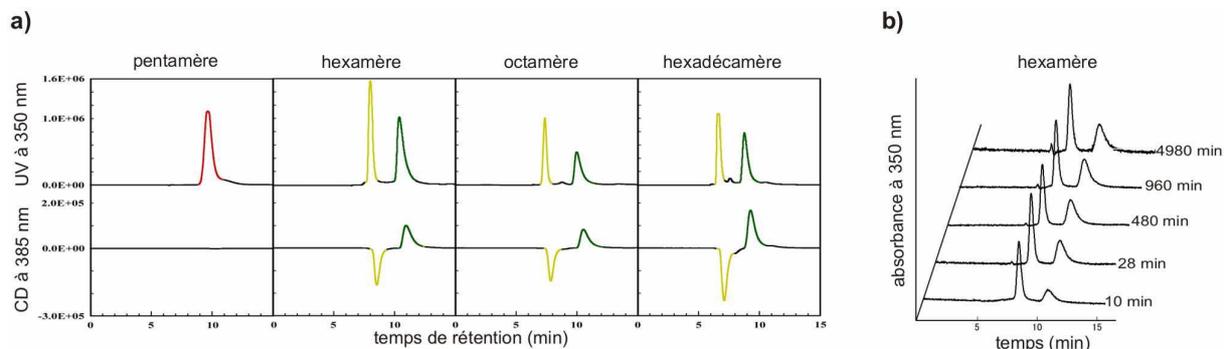


Figure 9. Séparation des espèces P et M de différents oligomères par HPLC sur colonne CHIRALPACK-IA, phase mobile : n-hexane/chloroforme 75/25, débit : 0,5 mL/min. **a)** chromatogrammes obtenus à 0°C par détection UV ou CD. **b)** Injection de l'hexamère énantiomériquement pur juste après séparation et suivi de la racémisation à 10°C par détection UV.

L'équilibre d'inversion des hélices est relativement rapide pour le pentamère puisque même à 0°C, il n'a pas été obtenu une bonne séparation. En revanche pour les autres oligomères, il a été possible de réinjecter l'une des deux espèces et d'observer la cinétique de racémisation de celle-ci à différentes températures (Figure 9 b). Ces expériences ont été effectuées pour trois températures 0°C, 10°C, 30°C, pour trois longueurs de brins : hexamère, octamère, et hexadécimère. Il apparaît nettement que la vitesse d'inversion du sens d'hélicité est très dépendante de la température ainsi que de la longueur de l'oligomère (Figure 10).

Pour donner un exemple extrême, à 0°C, après un mois d'expérience, seule une faible proportion des hélices de l'héxadécamère (Figure 10 c) a racémisé (environ 4%). La différence de comportement entre l'hexamère et l'octamère, qui ne diffèrent que par deux unités est également spectaculaire (Figure 9).

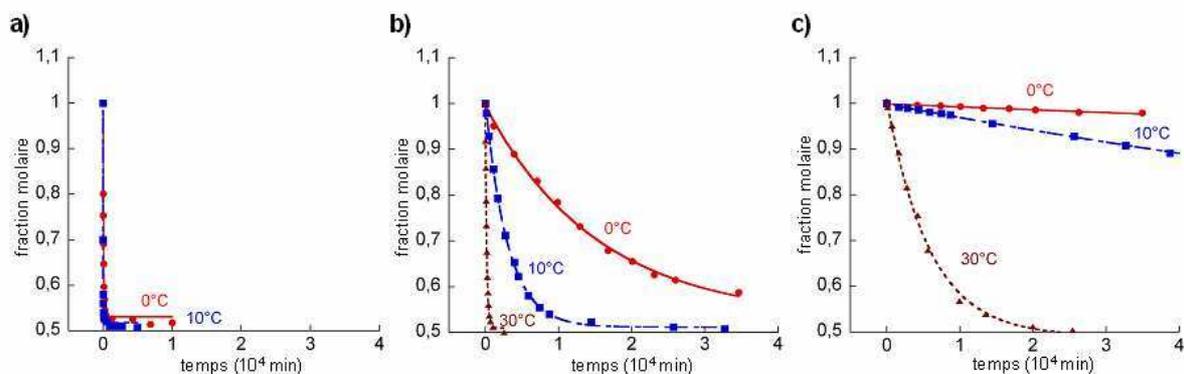


Figure 10. Influence de la température sur la cinétique de racémisation. a) Hexamère. b) Octamère. c) Héxadécamère. Conditions HPLC : n-hexane/chloroforme 75/25, débit : 0,5 mL/min.

La cinétique de racémisation est d'ordre 1 puisqu'elle décrit un équilibre entre deux espèces P et M. On obtient alors une loi de vitesse de la forme :

$$\frac{[M]_e}{[P]_0} \ln \frac{[M]_e}{[M]_e - [P]_t} = k_1 t \quad \text{où } [M]_e = \text{concentration de M à l'équilibre}$$

$[M]_t$ = concentration de M au temps t

$[P]_0$ = concentration de P initiale

k_1 = constante de vitesse

P et M sont des énantiomères d'où $[M]_e = \frac{1}{2}[P]_0$, $[M]_t = [P]_0 - [P]_t$ et $k_1 = k_{-1} = k_{\text{rac}}$. Il est alors possible d'en déduire la relation suivante :

$$\frac{[P]_t}{[P]_0} = \frac{1}{2} \exp(-2k_{\text{rac}}.t) + \frac{1}{2} \quad \text{avec } t_{1/2} = -\ln \frac{0,5}{2k_{\text{rac}}}$$

Les extrapolations exponentielles des courbes de la Figure 10 permettent de calculer les paramètres k_{rac} et $t_{1/2}$ pour chaque oligomère et ce, à toutes les températures (Tableau 3). De ces paramètres, l'énergie libre de Gibbs, ^{24,25} ΔG^\ddagger , peut être déduite, par la relation :

$$\Delta G^\ddagger = -RT \ln \left[\frac{k_{\text{rac}}.h}{k_b.T} \right] \quad \text{où R est la constante des gaz parfaits}$$

T la température

h la constante de Planck

k_b la constante de Boltzmann

Cette énergie peut être aussi calculée en fonction de la longueur de l'oligomère (n désignant le nombre de résidus) pour chaque oligomère (Tableau 3).

Oligomère	Température (°C)	k_{rac} (s ⁻¹)	$t_{1/2}$ (h)	ΔG^\ddagger KJ/mol	$\Delta G^\ddagger/n$ KJ/mol
Hexamère n = 6	0	$1,15 \cdot 10^{-4}$	0,8	87,2	14,54
	10	$4,01 \cdot 10^{-4}$	0,2	87,6	14,60
	30				
Octamère n = 8	0	$4,87 \cdot 10^{-7}$	197,8	99,7	12,46
	10	$2,56 \cdot 10^{-6}$	37,6	99,5	12,43
	30	$4,54 \cdot 10^{-5}$	2,1	99,4	12,43
Hexadécamère n = 16	0	$1,16 \cdot 10^{-8}$	8282,0	108,1	6,76
	10	$5,15 \cdot 10^{-8}$	1870,0	108,7	6,79
	30	$1,46 \cdot 10^{-6}$	65,9	108,1	6,76

Tableau 3. Paramètres cinétiques de différents oligomères. La vitesse de racémisation trop rapide de l'hexamère à 30°C n'a pas permis le calcul des paramètres cinétiques.

Comme il était attendu, les constantes de vitesse (k_{rac}) diminuent fortement avec le nombre de résidu (de $1,15 \cdot 10^{-4}$ pour l'hexamère à $1,16 \cdot 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ pour l'hexadécamère) et le temps de demi-vie augmente beaucoup. La cinétique est donc nettement ralentie par l'augmentation de la taille des oligomères. De plus, pour un oligomère donné, lorsque la température passe de 0°C à 30°C, les constantes de vitesse augmentent d'un facteur 100. Ceci confirme ce qui a été observé précédemment (partie I), à savoir que l'équilibre d'inversion du sens d'hélicité est très dépendant de la température.

Malgré la présence de cet équilibre, il n'a pas été possible d'observer par RMN d'altération du repliement, même à haute température. Ceci suggère qu'il n'existe pas d'états dépliés d'énergie suffisamment basse pour qu'ils soient peuplés. Il est plus probable que le passage d'un sens d'hélicité à l'autre se fasse par des états transitoires, un modèle d'espace conformationnel à deux puits peut être alors envisagé (Figure 11).

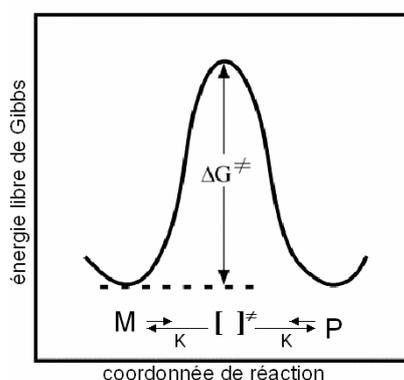


Figure 11. Diagramme d'énergie à deux puits représentant le passage d'un sens d'hélicité à l'autre.

En ce qui concerne l'énergie libre de Gibbs, celle-ci est indépendante de la température mais croît en fonction du nombre de résidu. Ceci indique un mécanisme de racémisation dans lequel un hexadécamère a davantage de liaisons faibles à rompre (ou d'angles dièdres à tordre) qu'un octamère par exemple pour passer d'une hélice P à une hélice M.

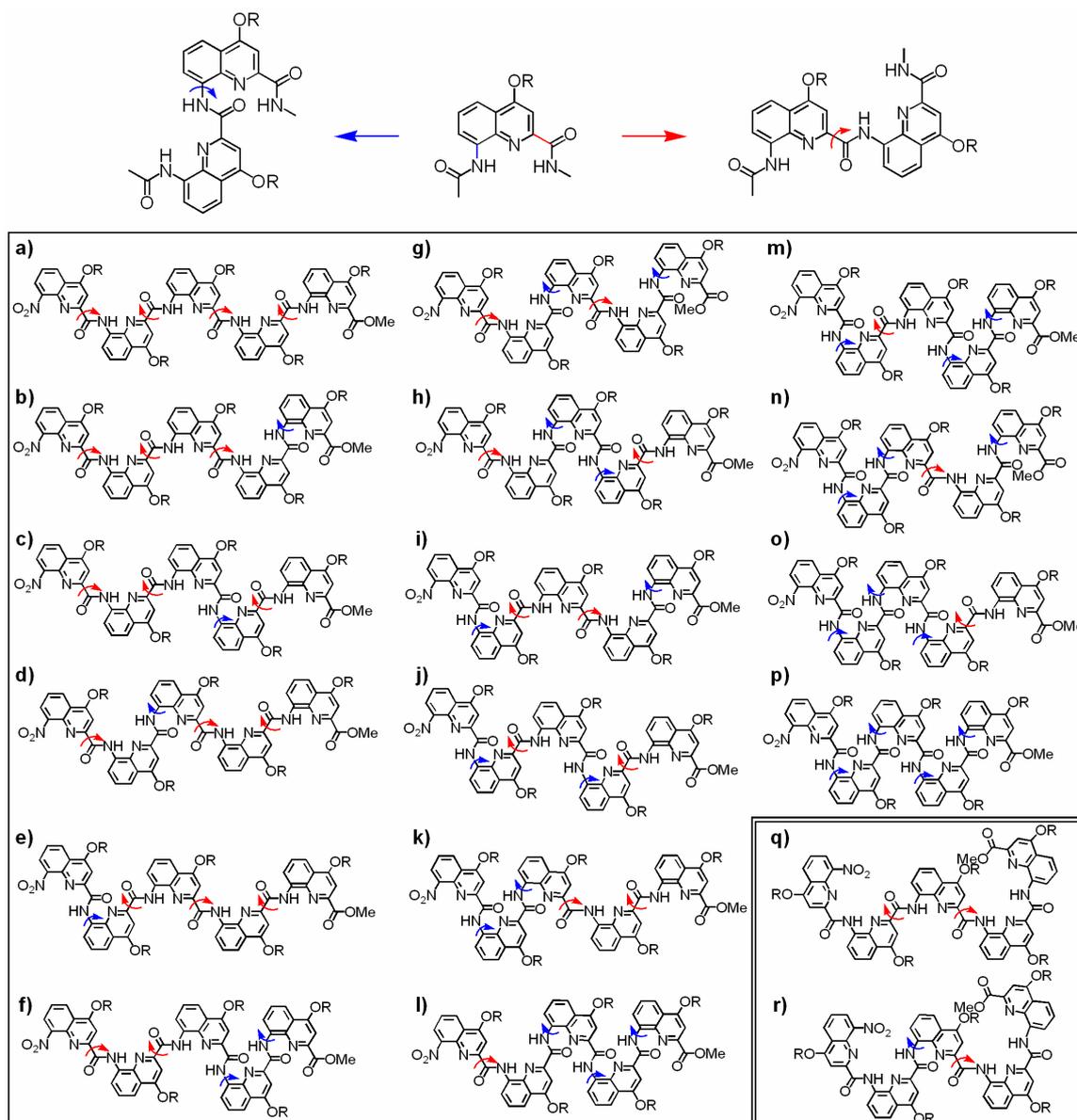


Figure 12. Illustration des rotations à 180° des angles dièdres qu'il faut effectuer pour obtenir des états dépliés plans linéaires **a-p**. Illustration du minimum de rotation qu'il faut effectuer pour obtenir un état déplié plan non linéaire **q, r**. Exemple pour un pentamère. L'amide est toujours maintenu en configuration *trans*. R désigne la chaîne latérale.

Les valeurs de l'énergie libre de Gibbs sont considérables. Si on les transcrit en une énergie libre associée à un équilibre hypothétique entre une hélice repliée et un intermédiaire de repliement imaginaire proche de l'état de transition, on obtient une constante d'équilibre K

= $\exp(-\Delta G/RT)$. A 303K, on obtient alors une constante d'équilibre de l'ordre de 3.10^{-19} pour l'hexadécamère et 7.10^{-18} pour l'octamère révélant ainsi un équilibre complètement déplacé vers l'état replié.

Comme le montre la Figure 12, pour un oligomère de n résidus, n-1 angles dièdres doivent subir une rotation de 180° pour obtenir un oligomère linéaire (Figure 12 a à p). Chacune de ces rotations a un coût énergétique élevé car il apparaît des répulsions électrostatiques entre les oxygènes des carbonyles et les azotes endocycliques, de plus, des liaisons hydrogène doivent être rompues. Toutefois, même si il existe un minimum de plus basse énergie pour une rotation autour de la liaison 2 ($\Delta G_{\text{rotation}} = 43,6$ kJ/mol pour la liaison 2 contre $\Delta G_{\text{rotation}} = 54,5$ kJ/mol pour la liaison 1) (Figure 13), la barrière énergétique à franchir pour tourner autour de cette liaison est beaucoup trop importante. Ainsi, il sera un peu plus facile d'effectuer une rotation autour de la liaison 1 (en rouge, Figure 13). Dans l'hypothèse où l'oligomère transiterait par un état totalement déplié linéaire, cet état posséderait une énergie considérable, qui serait la somme des énergies de rotation (soit pour un pentamère, au minimum 218 kJ/mol). Par conséquent, ces calculs rudimentaires indiquent qu'il est peu probable que l'inversion d'hélicité passe par un état déplié linéaire.

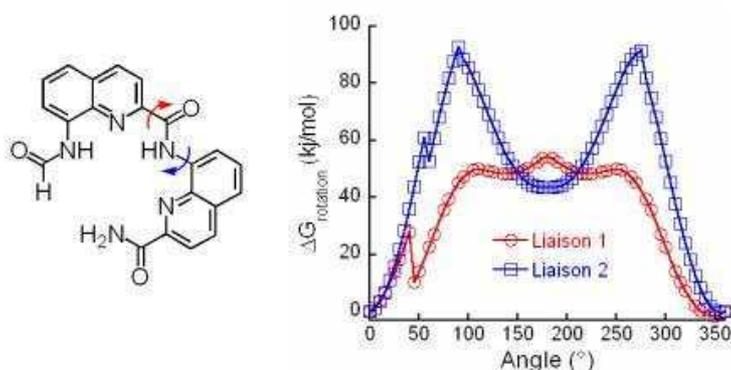


Figure 13. Profils énergétiques représentant l'énergie nécessaire pour effectuer une rotation autour de la liaison aryl-C=O (rouge) et de liaison NH-aryl (bleu). Ces énergies ont été calculées par Julien Lefeuvre (doctorant dans l'équipe de M. Laguerre, directeur de recherche à l'IECB) en utilisant le champ de force MMFFs dans MacroModel. Chaque dimère a été minimisé en utilisant l'algorithme TNCG. Les premiers épaulements observés sur les courbes entre 45° et 55° sont jusqu'à présent inexplicables.

Formellement, pour un oligomère de n résidus, n-1 rotations ne sont pas indispensables pour obtenir un état déplié plan mais non linéaire (Figure 12 q et r). En effet, seule une rotation par tour est requise (1 rotation pour 2,5 résidus). Pour un pentamère, par exemple, deux rotations seront nécessaires, le pentamère déplié aura donc une énergie d'environ 109 kJ/mol. Dans ce cas de figure, les énergies d'inversion du sens d'hélicité

restent très élevées et devraient croître linéairement en fonction du nombre de résidus ($\Delta G^\ddagger/n$ constant).

Or, pour un nombre de résidus croissant, la valeur de $\Delta G^\ddagger/n$ diminue (Tableau 3). Ceci suggère que l'énergie de Gibbs n'est pas la somme des énergies de rotation des angles dièdres nécessaires au dépliement de toute la longueur de l'oligomère. Par conséquent, il pourrait plutôt s'agir d'un mécanisme coopératif où l'inversion d'hélicité se propage à travers l'hélice. Un tel mécanisme est proposé dans la Figure 14.

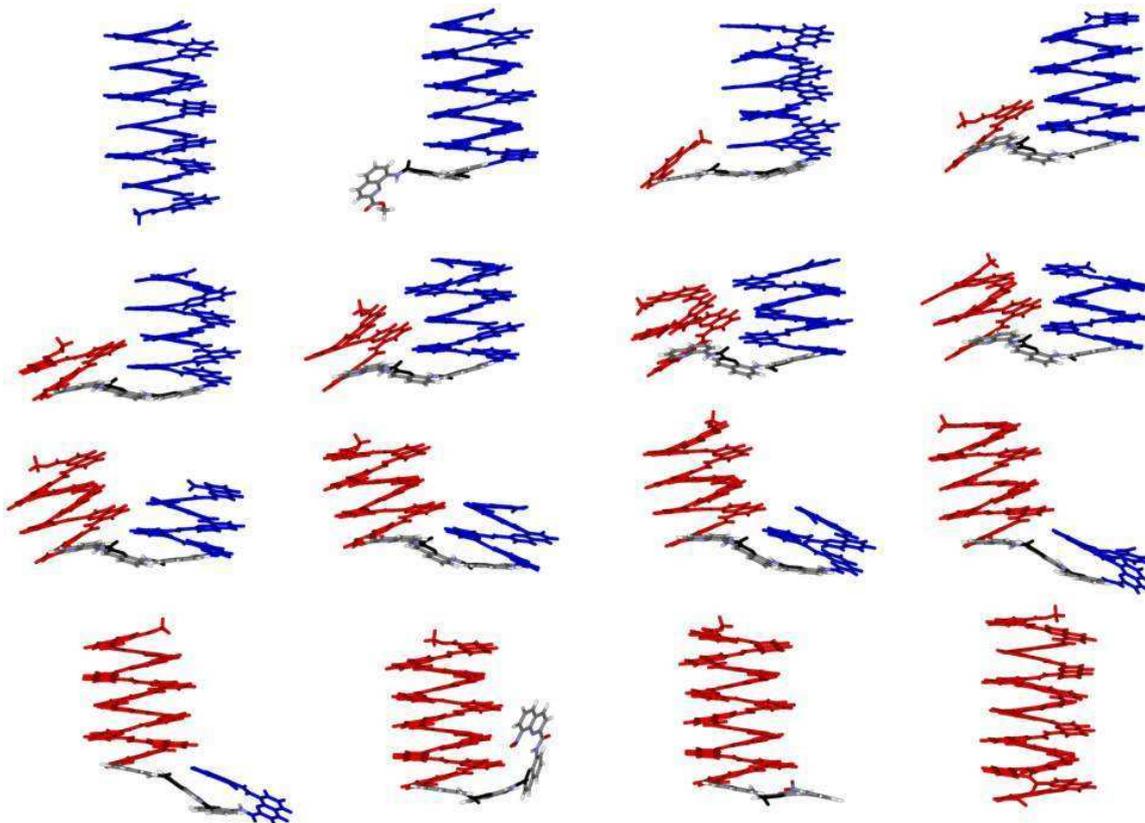


Figure 14. Structures minimisées (champ de force MM3 dans MacroModel, en utilisant la simulation GB/SA du chloroforme) par I. Huc d'intermédiaires entre une hélice droite (en bleu) et une hélice gauche (en rouge) de l'hexadécamère de quinoline dans lesquels seuls deux angles dièdres sont loin de leur minimum d'énergie (deux liaisons aryl-CO entre unités consécutives).

Comme le montre la Figure 14, lorsque le brin est déplié au niveau de deux liens aryl-C=O, trois unités, c'est-à-dire plus d'un tour d'hélice, se trouvent dans un arrangement linéaire (en gris), au bout duquel l'hélice droite peut se dérouler tandis qu'à l'autre bout, l'hélice gauche s'enroule. Les énergies relatives des 16 structures sont 0, 72, 89, 92, 95, 95, 96, 94, 96, 95, 98, 97, 102, 110, 68, et 0 kJ.mol⁻¹. Les valeurs absolues de ces énergies, en particulier le fait qu'elles paraissent être du même ordre que les énergies de Gibbs mesurées, ne sauraient faire l'objet d'une analyse fine vu qu'elles résultent d'un calcul très rudimentaire.

Elles illustrent que le coût énergétique des quelques modifications de l'hélice est très élevé. D'un point de vue qualitatif, les données semblent tout de même montrer que les différents intermédiaires ont des énergies comparables. Cette étude mécanistique qui n'a été entreprise que récemment est toujours en cours.

Conclusion

Les travaux présentés dans ce chapitre montrent que les oligoamides aromatiques et en particulier ceux dérivés de l'acide 8-amino-2-quinolinecarboxylique présentent un réel intérêt pour divers champs d'applications. La prévisibilité, la stabilité et l'efficacité de la synthèse de structures repliées de ce type en font de bons candidats pour l'accroissement de la complexité des études, notamment dans le domaine des foldamères protéomimétiques. Il est désormais envisageable d'utiliser ces oligomères comme des briques élémentaires pour l'élaboration de structures tertiaires ou quaternaires. Le glissement du domaine peptidomimétique au domaine protéomimétique représenterait une avancée considérable, et apporterait sans doute des éléments de réponse pour une meilleure appréhension des mécanismes de repliement en structure tertiaire ou quaternaire des protéines.

De plus, la possibilité de fonctionnaliser ces oligomères par des résidus hydrosolubilisants, comme en témoignent les travaux de E. Gillies post-doctorante dans le groupe,^{7,8} afin de mimer des peptides naturels, ouvre la voie vers la reproduction ou l'amélioration de l'activité biologique de peptides naturels.

Enfin, l'utilisation conjointe du monomère quinoline présenté précédemment et d'autres monomères aromatiques (de taille et de positions relatives des fonctions amines et acides différentes) permet l'élaboration de capsules moléculaires qui, à long terme, pourraient être utiles pour la vectorisation.²⁶

Partie Expérimentale

1. Procédures générales

1.1 Saponification

Avec KOH

Le nitro-ester (1éq.) est dissout dans un mélange THF/MeOH (2/1 v:v). KOH (3éq.) est ajouté et le mélange est agité pendant 16 heures à température ambiante. La solution est neutralisée avec un excès d'acide acétique (jusqu'à l'obtention d'une solution limpide) puis les solvants sont évaporés. Le solide est repris dans le DCM, de l'eau est ajoutée puis la phase aqueuse est extraite 3 fois avec du DCM. Les phases organiques sont rassemblées, séchées avec Na₂SO₄, filtrées puis évaporées. Le produit obtenu quantitativement est caractérisé par RMN ¹H puis utilisé sans autre purification.

Avec NaOH

Dans un monocol muni d'un réfrigérant, le nitro-ester (1éq.) est placé sous atmosphère d'azote. Le THF distillé est ajouté ainsi que du MeOH (mélange 9/1 v:v). Le mélange est chauffé à 40°C. La soude (2,5éq.) est ajoutée. La solution est agitée à 40°C pendant 12heures. La réaction est suivie par CCM (éluant : DCM/MeOH 99/1 v:v). Si la réaction n'est pas finie, de la soude est à nouveau ajoutée (2,5éq.) et la réaction est agitée pendant 1heure. Quand tout le produit de départ a réagi, après le retour à t.a., un excès d'acide acétique (jusqu'à l'obtention d'une solution limpide) est ajouté puis les solvants sont évaporés. Le solide est repris dans le DCM, de l'eau est ajoutée puis la phase aqueuse est extraite 3 fois avec du DCM. Les phases organiques sont rassemblées, séchées avec Na₂SO₄, filtrées puis évaporées. Le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (EtOAc/toluène 5/95 à 10/90).

1.2 Activation des acides

Avec SOCl₂

L'acide (1éq.) est introduit dans un monocol muni d'un réfrigérant puis placé sous atmosphère d'azote. Le SOCl₂ (83éq.) est ajouté puis le ballon est plongé dans un bain préchauffé à 90°C. Après apparition de l'ébullition le mélange est agité pendant 10minutes. Après retour à t.a. il est ajouté 80mL de toluène anhydre. Le SOCl₂ et le toluène sont évaporés. Après une nuit à la rampe à vide, le produit est utilisé sans purification.

Avec la chloroénamine

L'acide (1éq.) est dissout dans du DCM anhydre sous atmosphère inerte. La chloroénamine (3éq.) est ajoutée et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 16h. Le DCM est évaporé et le chlorure d'acide est séché sous vide pendant 5 heures. Le chlorure d'acide est utilisé sans purification.

1.3 Réduction des nitro

Le nitro ester (1éq.) est dissout dans l'acétate d'éthyle. Il est ajouté du méthanol, le palladium sur charbon (10% massique) ainsi que 20 équivalents de HCOONH₄ dissous dans un minimum d'eau. Le milieu réactionnel est porté à reflux de l'acétate d'éthyle et agité pendant 16h. Le milieu réactionnel est filtré sur celite, évaporé puis repris dans le DCM. La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. L'amine obtenue est utilisée sans purification.

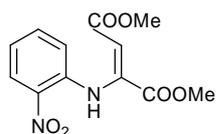
1.4 Les couplages

L'amine (1éq.) est dissoute dans du DCM anhydre sous atmosphère inerte. La DIEA anhydre (5,5éq.) est ajoutée. Dans un autre ballon, le chlorure d'acide (1éq.) est également dissout sous atmosphère inerte dans du DCM anhydre. Le chlorure d'acide est alors canulé dans la solution d'amine à 0°C. Le mélange réactionnel est agité à 0°C pendant 30min puis à température ambiante pendant 16 heures. La phase organique est lavée avec H₂O, puis avec une solution saturée de NaHCO₃, puis à nouveau avec H₂O et enfin avec une solution de HCl 1M. La phase organique est séchée avec Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le résidu est purifié par recristallisation ou par chromatographie sur gel de silice (toluène/acétate d'éthyle de 98/2 à 90/10 v:v).

2. Les composés

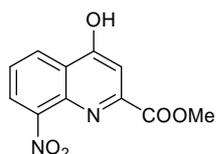
Certains des composés présentés ont déjà fait l'objet de publications.^{10,11} Par conséquent, leur caractérisation ne sera pas donnée, seuls les modes opératoires seront explicités quand ceux-ci ont été améliorés.

2-[(2nitrophenyl)amino]-2-butène dicarboxylate de méthyle **13** :



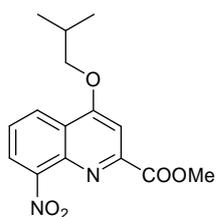
La 2-nitroaniline (36g, 260,6mmol, 1éq.) est introduite dans un monocol muni d'un réfrigérant. Le MeOH (360mL) est ajouté puis, lentement, l'acétylène de dicarboxylate de méthyle (36mL, 287mmol, 1,1éq.). La réaction est portée à reflux et agitée pendant 16h. Après retour à t.a., le ballon est placé dans un bain de glace afin de faire précipiter le maximum de produit. Le solide est récupéré par filtration, lavé avec du MeOH froid puis séché à la rampe à vide. Il est obtenu 59,5g du composé **13** soit un rendement de 92%

4-hydroxy-8-nitroquinoline-2-carboxylate de méthyle **14** :



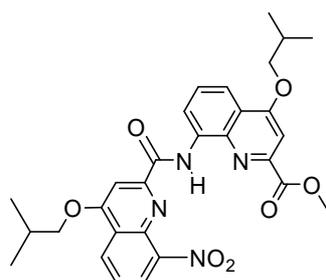
L'acide polyphosphorique (256g) est introduit dans un monocol. Le composé **13** (40g, 142,7mmol, 1éq.) est ajouté puis le mélange est agité mécaniquement (avec une ancre) à 120°C pendant 3h. Lorsque le mélange est à peu près à 50°C, le contenu du ballon est versé lentement dans un seau placé à 0°C contenant 2L d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le mélange est agité manuellement et du bicarbonate de sodium est ajouté jusqu'à l'obtention d'une solution neutre. Le solide est récupéré par filtration. Le solide est repris dans du MeOH. Le mélange est agité pendant 1h puis placé à -18°C pendant une heure. Le solide est à nouveau récupéré par filtration puis séché sous vide. Il est obtenu 27,5g soit un rendement de 78%.

4-isobutoxy-8-nitroquinoline-2-carboxylate de méthyle **15** :



Le composé **14** (15g, 60,5mmol, 1éq) ainsi que PPh₃ (16,7g, 63,5mmol, 1,05éq.) sont introduits dans un monocol. Le ballon est placé sous atmosphère inerte. Le THF distillé (150mL) ainsi que l'isobutanol distillé (6,2mL, 66,6mmol, 1,1éq.) sont ajoutés (le mélange n'est pas homogène). Le ballon est placé dans un bain de glace puis le DIAD (12,5mL, 63,5mmol, 1,05éq.) est ajouté lentement. Le mélange est agité pendant 30min à 0°C puis 16h à t.a. Le THF est évaporé et un mélange MeOH/CHCl₃ 3/1 v:v est ajouté. Les solvants sont chauffés pour bien dissoudre la totalité du solide. Le ballon est ensuite laissé sur la pailleuse, ouvert, afin que le CHCl₃ s'évapore. Les cristaux obtenus sont récupérés par filtration. La cristallisation est effectuée une deuxième fois. Il est obtenu 15,6g du composé **15** soit un rendement de 85%.

Dimère **18** (monomère acide + monomère amine) :



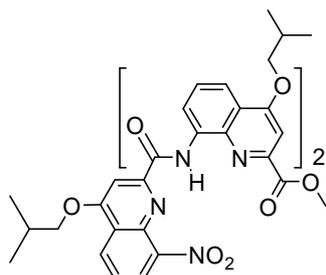
Saponification du monomère : l'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec KOH. Monomère nitro-ester **15** (4g, 13mmol, 1éq.), THF/MeOH (100mL/50mL), KOH (2,21g, 39mmol, 3éq.). Extraction DCM/H₂O (50mL/50mL) 3 fois. Il est obtenu quantitativement 3,81g d'un solide jaune.

Activation du monomère acide : le monomère chlorure d'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec SOCl₂. Monomère acide (3,81g, 13mmol, 1éq.), SOCl₂ (80mL, 1,08mol, 83éq.), toluène anhydre (80mL). Il est obtenu 4,06g d'un solide jaune soit un rendement de 100%.

Monomère amine : le monomère amine est obtenu selon la procédure générale de réduction des nitro. **15** (4g, 13mmol, 1éq.), EtOAc (200mL), MeOH (25mL), H₂O (25mL), Pd/C (400mg), HCOONH₄ (15,6g, 260mmol, 20éq.). L'amine, solide jaune, est obtenue quantitativement (3,6g).

Couplage : le dimère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (3,60g, 13mmol, 1éq.), DCM distillé (92mL), DIEA (12,5mL, 71,5mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (4,05g, 13mmol, 1éq.), DCM distillé (61mL). Lavage : H₂O (50mL), solution de NaHCO₃ saturée (50mL), solution de HCl 1M (50mL). Recristallisation dans un minimum de mélange MeOH/CHCl₃ 3/1 (opération réalisée deux fois). Il est alors obtenu 6,1g de dimère soit un rendement de 85%.

Trimère **28** (dimère acide + monomère amine) :



Saponification du dimère : l'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec KOH. Dimère nitro-ester **18** (1,6g, 3mmol, 1éq.), THF/MeOH (80mL/40mL), KOH (498mg, 9mmol, 3éq.). Extraction DCM/H₂O (100mL/100mL) 3 fois. Il est obtenu quantitativement 1,57g d'un solide jaune.

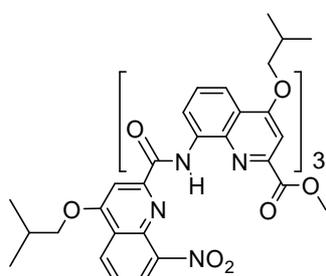
Activation du dimère acide : le dimère chlorure d'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec SOCl₂. Dimère acide (1,57g, 3mmol, 1éq.), SOCl₂ (18mL, 249mmol, 83éq.), toluène anhydre (18mL). Il est obtenu 1,65g d'un solide jaune soit un rendement de 100%.

Monomère amine : déjà décrit précédemment pour la synthèse de **18**.

Couplage : le trimère est synthétisé selon la procédure générale des couplages.

L'amine (900mg, 3mmol, 1éq.), DCM distillé (22mL), DIEA (2,8mL, 16,5mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (1,65g, 3mmol, 1éq.), DCM distillé (48mL). Lavage : H₂O (50mL), solution de NaHCO₃ saturée (50mL), solution de HCl 1M (50mL). Recristallisation dans un minimum de mélange MeOH/CHCl₃ 3/1 (deux fois). Il est alors obtenu 2,46g de trimère soit un rendement de 82%.

Tétramère **21** (dimère acide + dimère amine) :



Saponification du dimère : déjà décrit pour la synthèse de **28**.

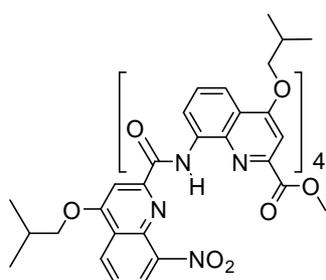
Activation du dimère acide : déjà décrit pour la synthèse de **28**.

Dimère amine : le dimère amine est obtenu selon la procédure générale de réduction des nitro. **18** (3g, 5,5mmol, 1éq.), EtOAc (400mL), MeOH (11mL), H₂O (11mL), Pd/C (300mg), HCOONH₄ (6,6g, 110mmol, 20éq.). L'amine, solide jaune, est obtenue quantitativement (2,9g).

Couplage : le tétramère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (2,90g, 5,5mmol, 1éq.), DCM distillé (60mL), DIEA (5,27mL, 30,5mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (3,05g, 5,5mmol, 1éq.), DCM distillé (90mL). Lavage : H₂O (50mL), solution de NaHCO₃ saturée (50mL),

solution de HCl 1M (50mL). Recristallisation dans un minimum de mélange MeOH/CHCl₃ 3/1 (opération réalisée deux fois). Il est alors obtenu 3,04g de tétramère soit un rendement de 85%.

Pentamère **29** (monomère acide + tétramère amine) :



Saponification du monomère : déjà décrit pour la synthèse de **18**.

Activation du monomère acide : déjà décrit pour la synthèse de **18**.

Tétramère amine : le tétramère amine est obtenu selon la procédure générale de réduction des nitro. **21** (210mg, 0,2mmol, 1éq.), EtOAc (15mL), MeOH (1mL), H₂O (1mL), Pd/C (20mg), HCOONH₄ (240mg, 4mmol, 20éq.). L'amine, solide jaune, est obtenue quantitativement (200mg).

Couplage : le pentamère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (200g, 0,2mmol, 1éq.), DCM distillé (3mL), DIEA (190μL, 1,1mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (62g, 0,2mmol, 1éq.), DCM distillé (2mL). Lavage : H₂O (5mL), solution de NaHCO₃ saturée (5mL), solution de

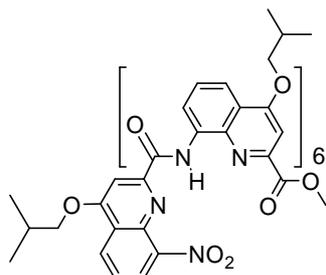
HCl 1M (5mL). Purification par colonne sur gel de silice (éluant : toluène/EtOAc, 98/2 à 90/10 v:v). Il est obtenu 182mg de pentamère, soit un rendement de 72%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 11,96 (1H, s), 11,77 (1H, s), 11,74 (1H, s), 11,55 (1H, s), 8,58 (1H, dd, J=8,4Hz, J=2,0Hz), 8,48 (2H, dd, J=7,8Hz, J=1,5Hz), 8,20 (2H, m), 8,12-8,00 (3H, m), 7,86 (1H, d, J=7,5Hz), 7,68-7,60 (2H, m), 7,48 (3H, s), 7,39-7,31 (3H, m), 6,84 (1H, s), 6,83 (1H, s), 6,60 (1H, s), 4,39 (2H, m), 4,20 (2H, m), 3,98-3,81 (6H, m), 2,57-2,25 (5H, m), 1,32-1,14 (30H, m).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 163,7 ; 163,2 ; 163,0 ; 162,9 ; 162,8 ; 162,1 ; 161,9 ; 161,1 ; 160,7 ; 160,4 ; 153,4 ; 150,4 ; 149,1 ; 149,0 ; 145,1 ; 145,0 ; 138,9 ; 138,8 ; 138,3 ; 138,2 ; 137,9 ; 134,2 ; 133,9 ; 133,6 ; 127,7 ; 127,4 ; 127,1 ; 126,6 ; 126,4 ; 125,6 ; 124,0 ; 123,8 ; 122,3 ; 121,9 ; 121,7 ; 121,6 ; 117,0 ; 116,8 ; 116,5 ; 116,3 ; 116,2 ; 116,1 ; 115,2 ; 100,2 ; 99,6 ; 97,9 ; 97,0 ; 75,6 ; 75,3 ; 75,2 ; 75,1 ; 74,8 ; 51,8 ; 28,2 ; 28,1 ; 28,0 ; 19,3 ; 19,2 ; 19,1.

SM (ESI⁺) : m/z = 1273,5 [M+H]⁺, 1295,5 [M+Na]⁺.

Heptamère 30 (tétramère acide + trimère amine) :



Saponification du tétramère : L'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec NaOH. Tétramère nitro-ester **21** (124mg, 0,12mmol, 1éq.), THF/MeOH (2,25mL/0,25mL), NaOH (12mg, 0,3mmol, 2,5éq.). Extraction DCM/H₂O (5mL/5mL) 3 fois. Il est obtenu 112mg d'un solide jaune soit un rendement de 90%.

Activation du tétramère acide : le tétramère chlorure d'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec la chloroènamine. Tétramère acide (112mg, 0,11mmol, 1éq.), chloroènamine (45µL, 0,33mmol, 3éq.), DCM anhydre (1,9mL). Il est obtenu 112mg d'un solide jaune soit un rendement de 100%.

Trimère amine : le trimère amine est obtenu selon la procédure générale de réduction des nitro. **28** (114mg, 0,11mmol, 1éq.), EtOAc (17mL), MeOH (1mL), H₂O (1mL), (132mg, 2,2mmol, 20éq.), Pd/C (12mg). L'amine, solide jaune, est obtenue quantitativement (99mg).

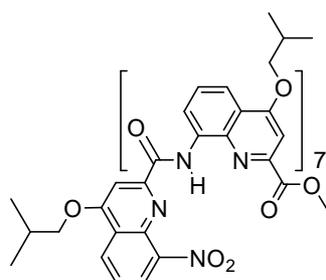
Couplage : l'heptamère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (99mg, 0,11mmol, 1éq.), DCM distillé (3mL), DIEA (103µL, 0,55mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (112g, 0,11mmol, 1éq.), DCM distillé (2mL). Lavage : H₂O (5mL), solution de NaHCO₃ saturée (5mL), solution de HCl 1M (5mL). Purification par colonne sur gel de silice (éluant : toluène/EtOAc, 98/2 à 90/10 v:v). Il est obtenu 182mg d'heptamère, soit un rendement de 66%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 11,64 (1H, s); 11,48 (1H, s); 11,31 (1H, s); 11,18 (2H, s); 11,12 (1H, s); 8,40 (1H, d, J=8,1Hz); 8,29 (1H, d, J=7,6Hz); 8,26 (1H, d, J=7,6Hz); 8,15 (2H, m); 8,07 (2H, m); 7,96 (1H, d, J=8,3Hz); 7,91 (1H, d, J=7,9Hz); 7,89 (1H, d, J=7,9Hz); 7,80 (1H, d, J=8,3Hz); 7,58 (1H, d, J=7,6Hz); 7,51 (1H, d, J=7,4Hz); 7,47-7,40 (6H, m); 7,2 (2H, m); 7,11 (1H, s); 7,07 (1H, s); 6,65 (1H, s); 6,58 (1H, s); 6,52 (1H, s); 6,80 (1H, s); 6,46 (1H, s); 4,19-4,10 (4H, m); 4,04-3,84 (8H, m); 3,74 (2H, d, J=6,2Hz); 3,08 (3H, s); 2,55-2,23 (7H, m); 1,37-1,15 (42H, m).

RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 163,6; 162,8; 162,7; 162,5; 161,9; 161,2; 160,8; 160,5; 160,1; 160,0; 159,2; 152,9; 149,8; 149,1; 149,0; 148,8; 148,7; 145,1; 144,7; 138,7; 138,3; 138,0; 137,7; 137,5; 134,2; 133,5; 133,4; 132,7; 127,9; 127,4; 126,9; 126,6; 126,3; 125,9; 125,7; 125,5; 123,8; 123,6; 122,5; 122,3; 121,6; 121,5; 121,4; 117,1; 116,7; 116,6; 116,4; 116,2; 116,1; 116,0; 115,8; 100,0; 99,8; 99,4; 98,8; 98,3; 97,6; 97,5; 75,5; 75,3; 75,2; 74,9; 74,7; 51,9; 28,1; 28,0; 19,5; 19,4; 19,3; 19,2; 19,1.

SM (maldi) : m/z = 1757,55 [M+H]⁺, 1779,51 [M+Na]⁺, 1795,54 [M+K]⁺.

Octamère 24 (tétramère acide + tétramère amine) :



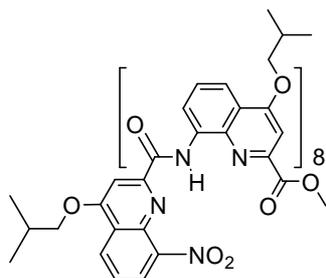
Saponification du tétramère : déjà décrit pour la synthèse de **30**.

Activation du tétramère acide : déjà décrit pour la synthèse de **30**.

Tétramère amine : déjà décrit pour la synthèse de **29**.

Couplage : l'octamère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (295mg, 0,29mmol, 1éq.), DCM distillé (8mL), DIEA (300µL, 1,6mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (300mg, 0,29mmol, 1éq.), DCM distillé (5mL). Lavage : H₂O (5mL), solution de NaHCO₃ saturée (5mL), solution de HCl 1M (5mL). Purification par colonne sur gel de silice (éluant : toluène/EtOAc, 98/2 à 90/10 v:v). Il est obtenu 377mg d'octamère, soit un rendement de 65%.

Nonamère 31 (tétramère acide + pentamère amine) :



Saponification du tétramère : déjà décrit pour la synthèse de **30**.

Activation du tétramère acide : déjà décrit pour la synthèse de **30**.

Pentamère amine : Le pentamère amine est obtenu selon la procédure générale de réduction des nitro. **29** (102mg, 0,08mmol, 1éq.), EtOAc (6mL), MeOH (0,5mL), H₂O (0,5mL), Pd/C (10mg), HCOONH₄ (96mg, 1,6mmol, 20éq.). L'amine, solide jaune, est obtenue quantitativement (98mg).

Couplage : le nonamère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (98mg, 0,08mmol, 1éq.), DCM distillé (2mL), DIEA (75µL, 0,43mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (82mg, 0,08mmol, 1éq.), DCM distillé (1,8mL). Lavage : H₂O (5mL), solution de NaHCO₃ saturée (5mL), solution de HCl 1M (5mL).

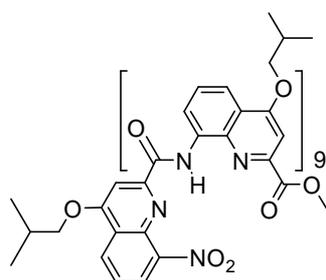
Purification par colonne sur gel de silice (éluant : toluène/EtOAc, 98/2 à 90/10 v:v). Il est obtenu 106mg de nonamère, soit un rendement de 60%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 11,41 (1H, s); 11,29 (1H, s); 11,08 (1H, s); 11,00 (1H, s); 10,88 (1H, s); 10,79 (2H, s); 10,77 (1H, s); 8,29 (1H, d, J=8,1Hz); 8,19-8,12 (3H, m); 8,04-8,00 (2H, m); 7,96-7,69 (6H, m); 7,59 (1H, d, J=7,6Hz); 7,46-6,95 (20H, m); 6,65 (1H, s); 6,53 (1H, s); 6,49 (1H, s); 6,40 (1H, s); 6,35 (1H, s); 6,17 (1H, s); 6,10 (1H, s); 4,16-3,62 (18H, m); 2,98 (3H, s); 2,58-2,14 (9H, m); 1,38-1,09 (54H, m).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 163,6; 162,6; 162,5; 162,4; 162,3; 162,2; 161,8; 160,9; 160,6; 160,4; 159,9; 159,6; 159,2; 159,0; 152,9; 149,8; 148,9; 148,7; 148,5; 148,4; 148,1; 144,9; 144,5; 138,5; 137,9; 137,8; 137,5; 137,2; 134,0; 133,4; 133,1; 132,8; 132,6; 132,3; 127,8; 127,3; 126,7; 126,1; 125,8; 125,6; 125,5; 125,3; 123,6; 123,4; 122,4; 122,2; 122,1; 121,8; 121,4; 121,3; 121,2; 117,1; 116,9; 116,7; 116,6; 116,4; 116,1; 116,0; 115,9; 115,7; 115,6; 115,4; 99,9; 99,7; 99,4; 98,8; 98,6; 98,4; 97,8; 97,4; 97,3; 75,4; 75,2; 75,0; 74,9; 74,8; 74,6; 51,8; 28,1; 28,0; 27,9; 19,5; 19,4; 19,3; 19,2; 19,1.

SM (maldi) : m/z = 2241,6 [M+H]⁺, 2279,6 [M+K]⁺.

Décamère **32** (dimère acide + octamère amine) :



Saponification du dimère : déjà décrit pour la synthèse de **28**.

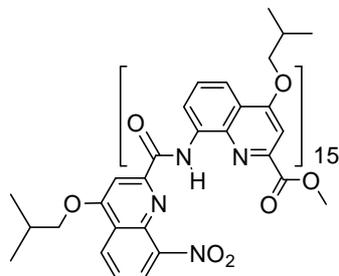
Activation du dimère acide : déjà décrit pour la synthèse de **28**

Octamère amine : L'octamère amine est obtenu selon la procédure générale de réduction des nitro. **24** (476mg, 0,24mmol, 1éq.), EtOAc (25mL), MeOH (2mL) H₂O (2mL), HCOONH₄ (300mg, 4,8mmol, 20éq.), Pd/C (50mg). L'amine, solide jaune, est obtenue quantitativement (98mg).

Couplage : le décimère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (100mg, 0,05mmol, 1éq.), DCM distillé (1,7mL), DIEA (48μL, 0,28mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (33mg, 0,05mmol, 1éq), DCM distillé (0,8mL). Lavage : H₂O (5mL), solution de NaHCO₃ saturée (5mL),

solution de HCl 1M (5mL). Purification par colonne sur gel de silice (éluant : toluène/EtOAc, 98/2 à 90/10 v:v) puis recristallisation. Il est obtenu 80mg de décimère, soit un rendement de 64%.

Hexadécamère **27** (octamère amine + octamère acide) :



Saponification de l'octamère : l'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec NaOH. Octamère nitro-ester **24** (67mg, 0,03mmol, 1éq.), THF/MeOH (565μL/65μL), NaOH (3mg, 0,08mmol, 2,5éq.). Extraction DCM/H₂O (5mL/5mL) 3 fois. Il est obtenu 59mg d'un solide jaune soit un rendement de 90%.

Activation de l'octamère acide : l'octamère chlorure d'acide est obtenu selon la procédure générale décrite avec la chloroénamine. Octamère acide (59mg, 0,03mmol, 1éq.), chloroénamine (12μL, 0,09mol, 3éq.), DCM anhydre (519μL). Il est obtenu 60mg d'un solide jaune soit un rendement de 100%.

Octamère amine : déjà décrit pour la synthèse de **32**.

Couplage : l'hexadécamère est synthétisé selon la procédure générale des couplages. L'amine (59mg, 0,03mmol, 1éq.), DCM distillé (1mL), DIEA (29μL, 0,14mmol, 5,5éq.). Le chlorure d'acide (60mg, 0,03mmol, 1éq), DCM distillé (0,8mL). Lavage : H₂O (5mL), solution de NaHCO₃ saturée (5mL), solution de HCl 1M (5mL). Purification par colonne sur gel de silice (éluant : toluène/EtOAc, 98/2 à 90/10 v:v). Il est obtenu 20mg d'hexadécamère, soit un rendement de 24%.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 11,12 (1H, s); 11,06 (1H, s); 10,69 (2H, s); 10,50 (1H, s); 10,34 (1H, s); 10,30 (1H, s); 10,21 (1H, s); 10,15 (1H, s); 10,09 (1H, s); 10,07 (1H, s); 10,03 (2H, s); 9,99 (1H, s); 9,97 (1H, s); 8,17 (1H, d, J=7,6Hz); 7,97 (1H, d, J=7,1Hz); 7,89-7,55 (15H, m); 7,23-6,75 (31H, m); 6,42 (1H, s); 6,38 (1H, s); 6,21 (1H, s); 6,17 (1H, s); 6,15 (1H, s); 5,91 (1H, s); 5,87 (2H, s); 5,79 (2H, s); 5,77 (3H, s); 5,75 (2H, s); 5,71 (1H, s); 3,92-3,4 (32H, m); 2,83 (3H, s); 2,28-2,07 (16H, m); 1,25-1,01 (96H, m).

RMN ¹³C : Pas assez de produit.

SM (maldi) : m/z = 3936,5 [M+H]⁺, 3958,5 [M+Na]⁺.

Références bibliographiques

- ¹ Hill, D.J.; Mio, M.J.; Prince, R.B.; Hughes, T.S.; Moore, J.S. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893.
- ² Huc, I. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 17.
- ³ Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; DeGrado, W. F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219.
- ⁴ D. Seebach, A. K. Beck, D. J. Bierbaum, *Chem. Biodiversity.* **2004**, *1*, 1111.
- ⁵ Porter, E. A.; Wang, X.; Lee, H.-S.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *Nature.* **2000**, *404*, 565.
- ⁶ « Versatile oligo(*N*-substitued) glycines : the many roles of peptoids in drug discovery »: Patch, J. A.; Kirshenbaum, K.; Seuryneck, S. L.; Zuckermann, R. N.; Barron, A. E. in *Pseudo-Peptides in Drug Discovery* (Ed.: P.E. Nielsen), Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, p.1.
- ⁷ Gillies, E. R.; Dolain, C.; Léger, J.-M.; Huc, I. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7931.
- ⁸ Gillies, E. R.; Deiss, F.; Staedel, C.; Schmitter, J.-M.; Huc, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4081.
- ⁹ Schmitt, M. A.; Hyuk Choi, S.; Guzei, I. A.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13130.
- ¹⁰ Jiang, H.; Léger, J.-M.; Huc, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3448.
- ¹¹ Jiang, H.; Léger, J.-M.; Dolain, C.; Guionneau, P.; Huc, I. *Tetrahedron.* **2003**, *59*, 8365.
- ¹² Jiang, H.; Léger, J.-M.; Guionneau, P.; Huc, I. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2985.
- ¹³ Schmuck, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2448.
- ¹⁴ Semetey, V.; Rognan, D.; Hemmerlin, C.; Graff, R.; Briand, J.-P.; Marraud, M.; Guichard, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1893.
- ¹⁵ Mammi, S.; Rainaldi, M.; Bellanda, M.; Schievano, E.; Peggion, E.; Broxterman, Q. B.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11735.
- ¹⁶ Dolain, C.; Grélard, A.; Laguerre, M.; Jiang, H.; Maurizot, V.; Huc, I. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6135.
- ¹⁷ Green, M. M.; Rediy, M. P.; Johnson, R. J.; Darling, G.; O'Leary, D. J.; Willson, G. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6452.
- ¹⁸ Dolain, C.; Jiang, H.; Léger, J.-M.; Guionneau, P.; Huc, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12943.
- ¹⁹ Buffeteau, T.; Ducasse, L.; Poniman, L., Delsuc, N., Huc, I. *Chem. Com.* **2006**, 2714.
- ²⁰ Yashima, E.; Maeda, K.; Nishimura, T. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 42.
- ²¹ Dolain, C.; Léger, J.-M.; Delsuc, N.; Gornitzka, H.; Huc, I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 16146.
- ²² Maurizot, V.; Dolain, C.; Leydet, Y.; Léger, J.-M.; Guionneau, P.; Huc, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10049.
- ²³ Ghosez, L.; George-Koch, I.; Patiny, L.; Houtekie, M.; Bovy, P.; Nshimyumukiza, P.; Pan, T. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 9207.
- ²⁴ Krupcik, J.; Oswald, P.; Májek, P.; Sandra, P.; Armstrong, D. W. *J. Chromatogr. A.* **2003**, *1000*, 779.
- ²⁵ Danel, C.; Foulon, C.; Goosens, J.-F.; Bonte, J.-P.; Vaccher, C. *Tetrahedron: Asymmetry.* **2006**, *17*, 2317.
- ²⁶ Garric, J.; Léger, J.-M.; Huc, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1954.

Chapitre III

Modulation de la flexibilité de foldamères hélicoïdaux

Une partie du travail présenté dans ce chapitre a donné lieu à une publication.
Delsuc, N.; Godde, F.; Kauffmann, B.; Léger, J.-M.; Huc, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 11348.

Introduction

L'étude des principes sous-jacents au repliement des protéines est déterminante pour la compréhension des phénomènes naturels vitaux. En effet, le repliement incorrect de protéines peut entraîner de graves pathologies qui pourraient être perçues et traitées différemment si la connaissance des relations entre la structure et l'activité de celles-ci était complète.¹

Les protéines sont capables d'adopter, du fait d'interactions intramoléculaires des structures secondaires telles que les feuilletts β ou les hélices α . Ces dernières jouent, en particulier, un rôle crucial dans de nombreux phénomènes biologiques. C'est pourquoi, l'étude de peptides naturels ou artificiels capables de se replier en hélice suscite un intérêt qui ne cesse d'augmenter.

Beaucoup d'études menées se sont intéressées à la conception de structures hélicoïdales constituées soit d'acides aminés naturels soit d'acides aminés artificiels. Parmi les analogues d'acides aminés, certains sont des énantiomères D² des acides aminés naturels, d'autres sont des acides aminés naturels modifiés ou alors des isomères de position : acides $\beta^{3,4,5,6,7,8}$, $\gamma^{9,10,11}$, $\delta^{12,13,14}$ -aminés (Figure 1).

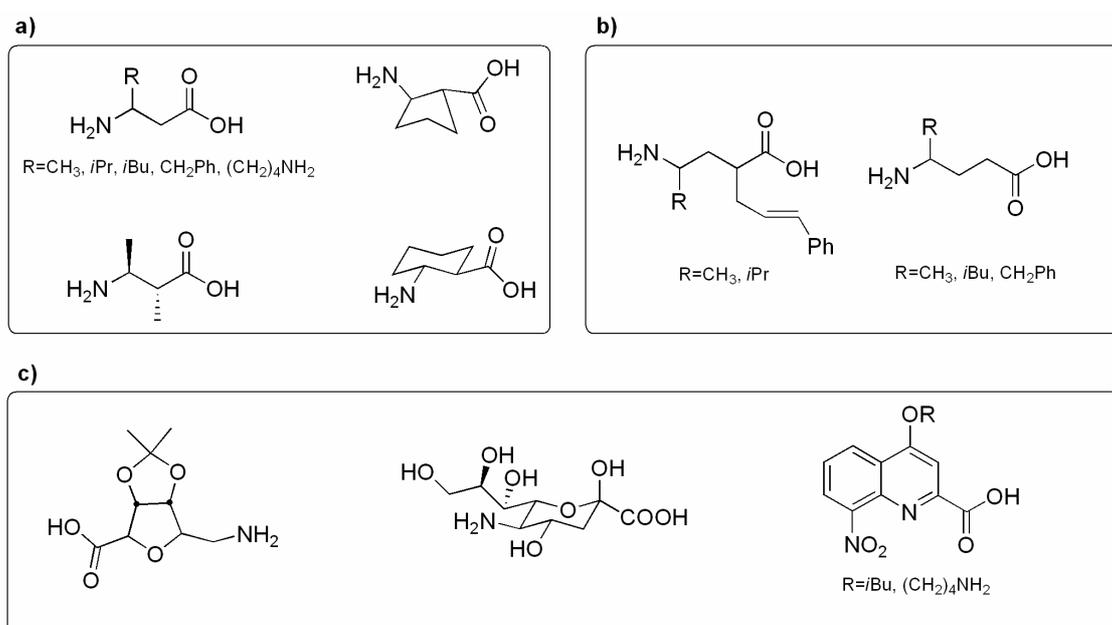


Figure 1. Exemples d'analogues d'acides aminés **a)** acides β -aminés. **b)** acides γ -aminés. **c)** acides δ -aminés

Ces analogues conduisant à la formation d'hélices biomimétiques sont des outils très intéressants pour tenter d'améliorer l'activité biologique des modèles naturels.¹⁵ Par exemple, lorsque les conformations hélicoïdales sont très stables, des relations structure/activité précises peuvent être établies. En effet, un changement d'activité consécutif à l'échange d'un acide aminé par un autre pourra être directement interprété comme un résultat de la modification des interactions de ce résidu avec le récepteur ou la cible mis en jeu et non pas comme à un changement global de la structure, comme cela est possible avec les α -peptides.

En revanche, le fait que la structure hélicoïdale soit extrêmement stable ne constitue pas une condition *sine qua non* à une bonne activité, et peut parfois, être un handicap. Par exemple, Keller et coll. ont démontré par RMN qu'en intervertissant deux acides aminés de l'une des deux chaînes de l'insuline, sa structure était moins bien définie dans l'eau mais gardait sa capacité à former une structure tertiaire identique (mais plus flexible) à celle de l'insuline naturelle à proximité de son récepteur. L'insuline mutante a alors une activité biologique 50% supérieure à l'insuline native.¹⁶ Une autre étude frappante est celle réalisée par Oren et Shai². Ils ont mis en évidence la relation entre la flexibilité de la structure hélicoïdale et l'activité antibactérienne d'un peptide amphipathique. Pour cela ils ont introduit 33% d'énantiomères D dans une séquence d'acides α aminés formant une hélice amphiphile. Malgré la déstabilisation de la structure, provoquée par cette incorporation, le peptide artificiel peut toujours adopter une structure hélicoïdale amphipathique et son activité antibiotique est très supérieure sur les bactéries Gram-négatif (Tableau 1).

Peptides	Concentration Minimale Inhibitrice (μ M)				
	Bactéries Gram-négatives			Bactéries Gram-positives	
	E. coli	A. calcoaceticus	P. aeruginosa	B. Subtilis	B. megaterium
linéaire-K ₄ L ₇ W	150	12,5	100	2	2
linéaire-[D]- L ^{3,4,8,10} -K ₄ L ₇ W	5	2	9	1,5	1

Tableau 1. Evaluation de l'activité des peptides synthétisés.

linéaire-K₄L₇W : CH₃-S-CKLLLKWLLKLLKC-S-CH₃
 linéaire-[D]-L^{3,4,8,10}-K₄L₇W : CH₃-S-CKLLLKWLLKLLKC-S-CH₃. Les acides aminés surlignés sont les énantiomères D.

Les travaux présentés précédemment nous ont conduit à concevoir des oligoamides constitués d'acides δ -aminés dont la flexibilité pourrait être modulée. L'objet des travaux décrits dans ce chapitre est la conception et la synthèse d'un nouveau monomère qui pourrait permettre d'introduire cette flexibilité, et l'étude conformationnelle d'oligomères dans lesquels il est incorporé.

1. Conception des oligoamides

1.1 Passage des noyaux quinolines aux noyaux pyridines

Comme il a été vu au chapitre II, les oligomères dérivés de l'acide 8-amino-2-quinoline carboxylique adoptent en solution et dans le solide une conformation hélicoïdale prévisible, très stable et bien caractérisée. Bien que leur synthèse soit relativement efficace, l'encombrement des fonctions aromatiques au sein d'oligomères repliés ainsi que la faible nucléophilie de l'amine aromatique limitent la taille des séquences cibles. Ce facteur ainsi que l'intérêt d'introduire davantage de flexibilité dans les oligomères nous ont conduit à la conception d'un nouveau monomère.

Une solution proposée par le Dr. I. Huc pour moduler la flexibilité de ces oligoamides aromatiques et pallier aux difficultés rencontrées au cours de leur synthèse est l'utilisation de noyaux pyridines. Ces motifs possèderaient une fonction acide carboxylique en position 2, une chaîne latérale modifiable en position 4 et une fonction amino-méthyle en position 6 (Figure 2).

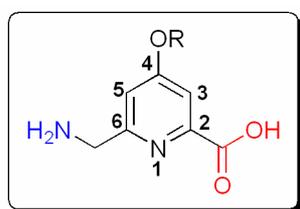


Figure 2. Représentation de l'acide δ -aminé constitué d'un noyau pyridine.

Ces nouveaux motifs devraient conduire à une diminution de la préférence conformationnelle locale (liée à la perte de la conjugaison de la chaîne en position 6) et à la diminution des interactions d'empilement des orbitales p (π -stacking). Ils présentent en outre un certain nombre d'avantages (Figure 3) :

- l'absence du second cycle permet l'introduction d'un degré de liberté en plus. Ce qui a pour conséquence d'augmenter la flexibilité du motif
- la perte de la conjugaison entraîne une amélioration de la réactivité puisque l'amine devient aliphatique
- le nombre d'atomes entre l'amine et l'acide est conservé ainsi il est possible de préserver la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires avec l'azote endocyclique.

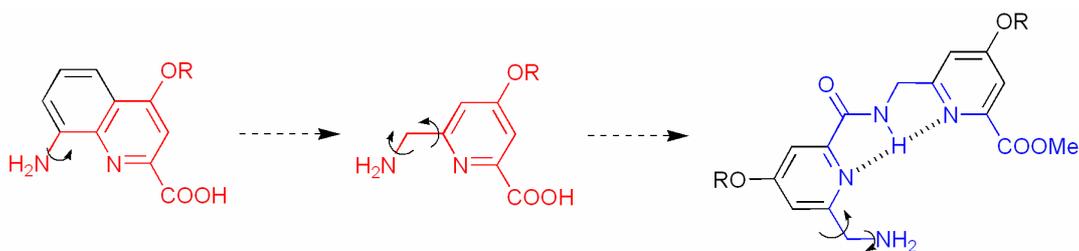


Figure 3. Illustration de la démarche effectuée pour pallier aux difficultés de synthèse rencontrées avec les monomères quinolines et concevoir un monomère plus flexible et réactif. Les flèches représentent les degrés de liberté. Le squelette conservé est représenté en bleu.

1.2 Modulation de la flexibilité

Les caractéristiques de ce monomère offrent à terme (hors du cadre de cette thèse) la possibilité de mettre en évidence des phénomènes intéressants tels que l'influence de la structure sur l'activité biologique d'un mime peptidique. En effet, l'introduction de ce motif au sein d'une séquence pseudo peptidique hélicoïdale dont l'activité biologique est connue, permettra de relier directement les modifications de l'activité biologique à la stabilité de la structure.

La synthèse d'un oligomère mixte, constitué alternativement d'unités quinolines et d'unités pyridines est donc intéressante pour observer les modifications de la stabilité de la structure hélicoïdale.

1.3 Modélisation

Ce motif acide δ -aminé possédant une fonction amino-méthyle en position 6 et une fonction acide carboxylique en position 2 d'un noyau pyridinique n'ayant jamais été exploité pour la formation d'hélices, il était important de savoir ce que prévoient les calculs de modélisation moléculaire quant à la structure secondaire d'oligomères constitué de cet acide aminé. La Figure 4a montre la structure minimisée dans le champ de forces MM3 d'un hexadécamère composé de monomères pyridines. D'après ces calculs, il est possible d'envisager qu'un oligomère constitué uniquement de noyaux pyridiniques adopte une structure hélicoïdale. La position des hydrogènes des CH_2 « benzyliques » suggère cependant que ces CH_2 écartent les cycles aromatiques. Ainsi, le π -stacking serait moins important, ce qui pourrait déstabiliser la structure par rapport aux hélices constituées de quinolines.

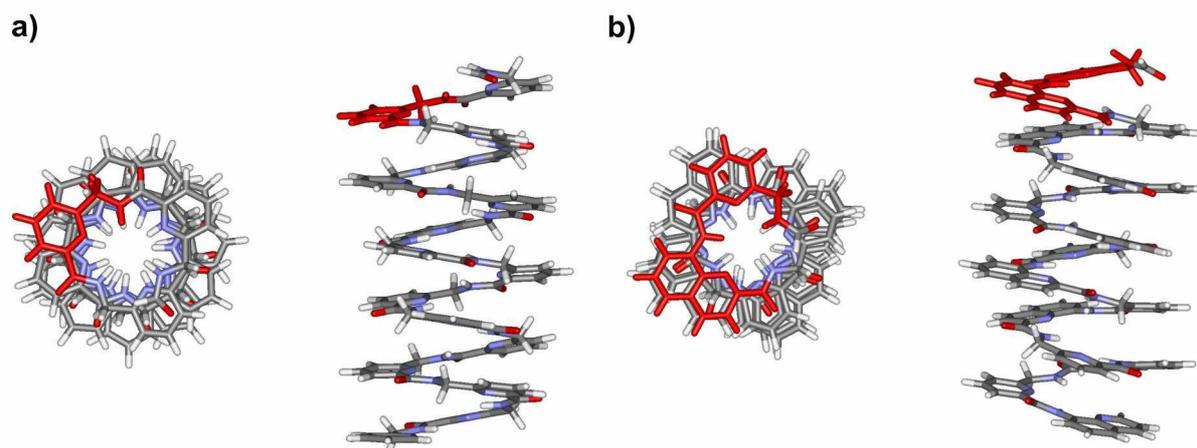


Figure 4. Structures minimisées dans le champ de forces MM3. **a)** Hélice constituée uniquement de monomères dérivés de la pyridine. A gauche, vue de dessus, à droite vue latérale. Un monomère est coloré en rouge. **b)** Hélice constituée alternativement d'unités pyridine et quinoline. A gauche, vue de dessus, à droite vue latérale. Un dimère pyridine-quinoline est représenté en rouge. Les chaînes latérales ne sont pas représentées pour plus de clarté.

D'autres simulations de modélisation ont été réalisées pour observer la structure la plus stable adoptée par un oligomère constitué d'une alternance d'unités pyridine et quinoline (Figure 4 b). Les résultats révèlent toujours une structure hélicoïdale dont on peut s'attendre à ce qu'elle soit plus stable que la précédente, mais par ailleurs, moins stable que celle adoptée par un oligomère quinoline. Les résultats encourageants obtenus par cette étude de modélisation moléculaire effectuée par I. Huc nous ont conduit à effectuer la synthèse du monomère pyridine ainsi que des deux oligomères présentés en Figure 4.

2. Synthèse

2.1. Synthèse du monomère pyridine

Le motif choisi possède deux fonctions essentielles : une fonction amine et une fonction acide. Au cours de la synthèse, ces deux fonctions sont protégées par des groupes protecteurs orthogonaux afin de les rendre à nouveau réactives à notre convenance. La voie synthétique du motif constitutif de l'oligomère a pour intermédiaire clé l'alcool **4**. Il s'agit d'une molécule dissymétrique, qui a donc respectivement en position 2 et 6 une fonction acide carboxylique et une fonction hydroxy-méthyle. L'alcool intermédiaire est issu de l'acide chélidamique (commercial) qui a subi différentes modifications (Schéma 1).

Afin de synthétiser cet intermédiaire clé **4**, trois réactions sont nécessaires : une estérification, une substitution nucléophile avec l'iodure d'isobutyle et enfin une mono-réduction du diester¹⁷ (Schéma 1).

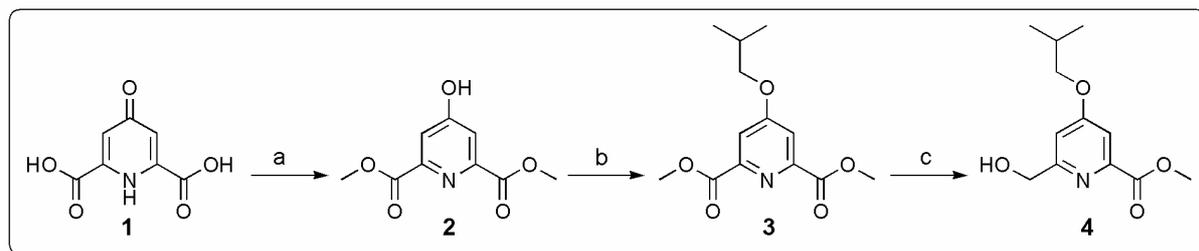
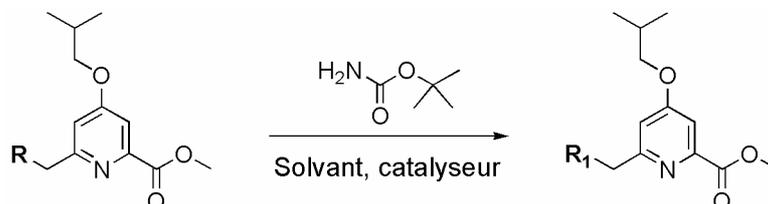


Schéma 1. Synthèse de l'intermédiaire clé. **a** HCl 12N, MeOH/diméthoxypropane, 60°C, 12h, 70%. **b** K₂CO₃, DMF, 120°C, 1,5h puis *i*BuI, 70°C, 3h, 77%. **c** NaBH₄, MeOH/DCM, t.a., 2h, 77%.

L'optimisation de la mono-réduction du diester conduit à l'utilisation de 2 équivalents de NaBH₄. Le fait qu'un excès de NaBH₄ ne conduise pas à une réduction totale est certainement dû à la plus grande réactivité du diester **3** par rapport à la fonction ester de **4**. L'absence de produit de départ en fin de réduction et le rendement non quantitatif révèlent tout de même la présence probable de dialcool qui n'a pas pu être isolé.

Différentes stratégies ont été envisagées pour la conversion de l'alcool en amine protégée. La première, plus directe, effectuée selon le protocole développé par Valenta et coll., est une substitution nucléophile avec le carbamate de *tertio*-butyle catalysée en milieu acide pour donner **8** (voir Schéma 2) en une étape.¹⁸ En dépit de la similarité de notre alcool à ceux utilisés par ces auteurs, les tests effectués sur notre molécule se sont révélés peu

fructueux, probablement du fait de la faible nucléophilie du carbamate et du caractère peu nucléofuge de l'hydroxyle. Le produit **8** a été observé uniquement dans un cas et en très faibles quantités (Tableau 2).



R=	Carbamate	Catalyseur	Solvant	Température	Résultats
OH	1,2éq.	PTSA 0,1éq.	AcOH	t.a.	R ₁ =CH ₃ COO (pur)
OH	1,2éq.	PTSA 0,3éq.	THF	t.a.	Produit de départ
OH	1,2éq.	PTSA 0,1éq.	THF	t.a.	Produit de départ
OH	1,2éq.		AcOH	t.a.	R ₁ = CH ₃ COO (maj) R ₁ =NHCOO <i>t</i> -Bu (traces)
OH	1,5éq.	PTSA 0,6éq.	THF	40°C	Produit de départ
Cl	1,5éq.	DIEA 1éq.	THF	40°C	Produit de départ
Cl	1,5éq.	DIEA 3éq.	THF	70°C	Produit de départ

Tableau 2. Récapitulatif des essais effectués avec le carbamate de *tertio*-butyle. Les milieux réactionnels sont agités pendant 16 heures.

La seconde stratégie, bien que nécessitant davantage d'étapes s'est révélée plus adéquate. Celle-ci implique une activation du carbone « benzylique » par la formation d'un chlorure¹⁹ **5** (Schéma 2), meilleur groupe partant, puis la substitution du chlore par un azoture. La difficulté de purification de l'azoture par chromatographie sur colonne, du fait de la similitude de polarité du chlorure et de l'azoture, a conduit à l'utilisation d'un éther couronne 5-C-15. La réaction est alors quantitative et ne nécessite plus de purification. La substitution du chlorure **5** par l'azoture est suivie d'une simple hydrogénation de l'azoture **6** pour former l'amine puis d'une étape de protection de la fonction amine avec un Boc par formation d'un carbamate de *tertio*-butyle (Schéma 2).

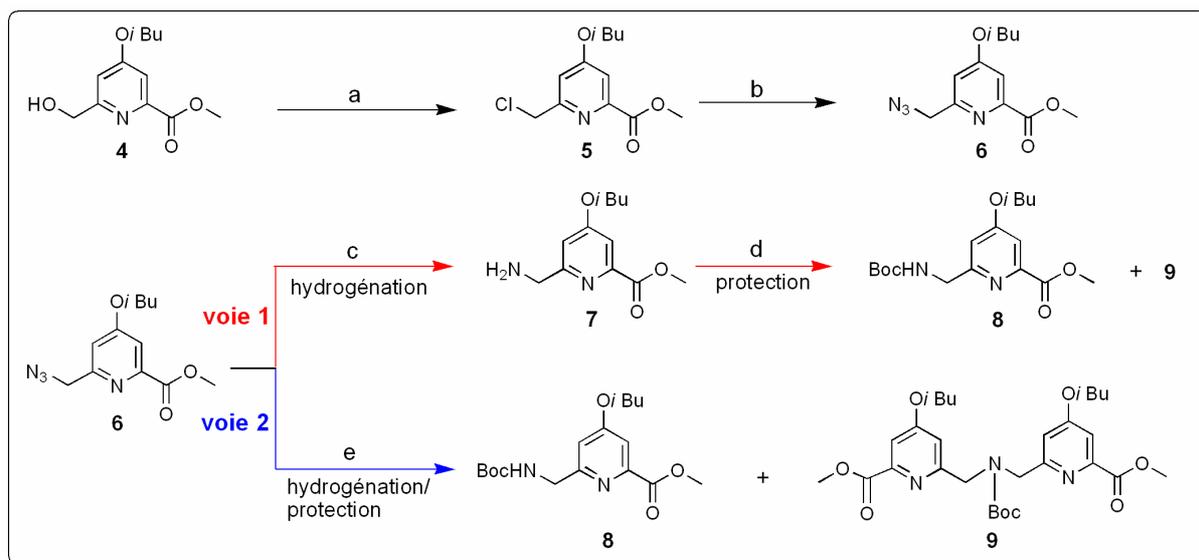


Schéma 2. Voies de synthèse envisagées pour la formation de l'amine protégée **8**. **a** SOCl₂, toluène, t.a., 3h, 100%. **b** NaN₃, 15-C-5, DMF, t.a., 3h, 98%. **c** H₂, Pd/C, DMF, t.a., 12h. **d** (Boc)₂O, DMAP, DMF, t.a., 12h, 42%. **e** Pd/C, (Boc)₂O, DMAP, DMF, t.a., 12h, 12%.

Lorsque hydrogénation et protection sont effectuées successivement (**voie 1**), la présence du produit **9** (rendement 6%) a soulevé des interrogations. Il a d'abord été suggéré qu'au cours de l'étape d'hydrogénation, l'amine **7** formée *in situ* pouvait réagir (substitution nucléophile) sur des quantités résiduelles de chlorure **5**. Cependant, les données de RMN-¹H du composé **6** n'ont pas révélé la présence de **5**. La seconde hypothèse émise était l'attaque de l'amine formée pendant l'hydrogénation sur l'azoture **6** pas encore réduit. Cette dernière hypothèse est celle qui a été retenue. Afin de limiter cette réaction parasite, la réaction d'hydrogénation de l'azoture **6** et de protection de l'amine **7** ont été effectuées dans le même ballon (**voie 2**) pour capter l'amine au fur et à mesure de sa formation. Cette stratégie n'a rien révélé de concluant puisque le composé **9** a de nouveau été isolé.

Pour éviter cette réaction parasite, la réaction de Staudinger a été utilisée pour la réduction de l'azoture.²⁰ Celle-ci, se déroulant en deux étapes et passant par un intermédiaire cyclotriazaphosphite, ne permet pas l'attaque nucléophile de l'amine formée sur l'azoture. La formation de **9** n'a donc pas été observée (Schéma 3).

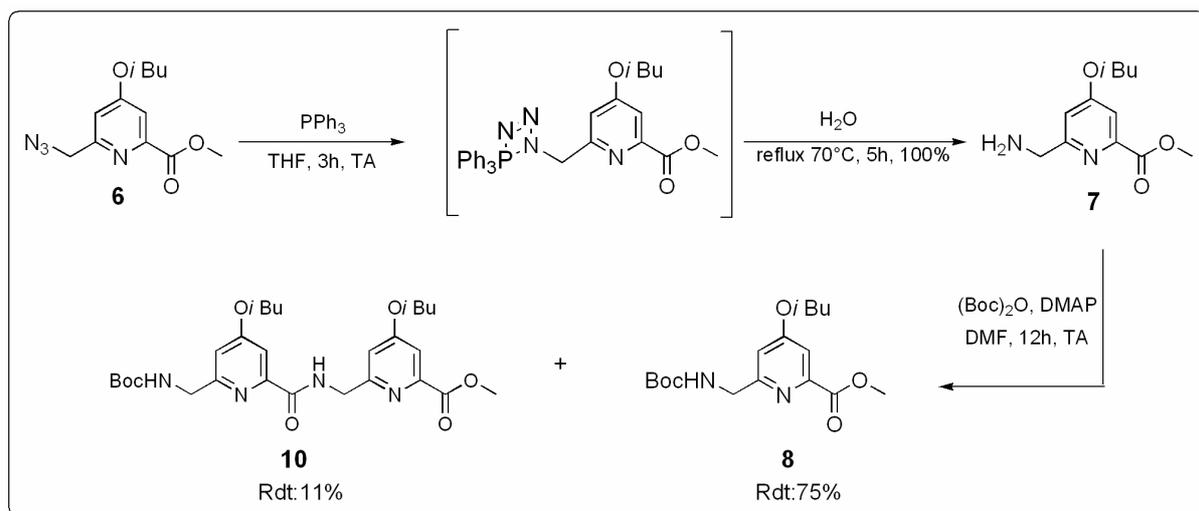


Schéma 3. Voie de synthèse utilisant la réaction de Staudinger pour la réduction des azotures en amines.

Après l'étape de protection de l'amine par un groupement Boc, un autre produit secondaire a été formé. Ce produit est en fait le dimère **10** issu de l'attaque nucléophile de l'amine sur le carbonyl d'une autre unité monomérique. La présence de ce produit dans des proportions non négligeables (11% de **10**, 75% de **8**) se révèle être intéressante car il s'agit du dimère que l'on désirera synthétiser par la suite.

Le rendement global de la synthèse du monomère à partir de l'acide chélidamique, en dépit du nombre important d'étapes en ligne (7 étapes au total) est de 40%, il s'agit d'un rendement correct en vue de son utilisation pour l'élaboration d'oligomères de taille importante.

2.2. Les couplages

Les couplages sont réalisés à partir d'une unité amine et d'une unité acide exploitant ainsi la dualité amino-acide des motifs utilisés. Les agents de couplage HBTU^{21,22} (en présence de HOBT^{23,24}) ainsi que PyBop sont utilisés en présence d'une base non nucléophile.

2.2.1 Oligomère pyridine

La croissance d'un oligomère constitué seulement de noyaux pyridine s'effectue par une méthode relativement convergente qui consiste à coupler deux monomères entre eux, puis deux dimères et enfin deux tétramères puisque nous nous limiterons à la synthèse de l'octamère (oligomère **12**). Avant chaque étape de couplage, une partie du produit obtenu doit être placée en présence d'acide trifluoroacétique afin de déprotéger la fonction amine et l'autre partie doit être saponifiée (Schéma 4).

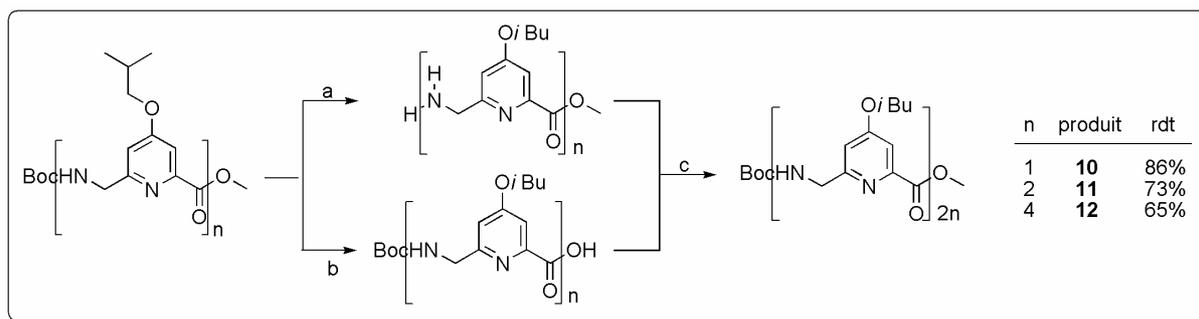


Schéma 4. Représentation de la méthode de couplage utilisée. **a** TFA, DCM, t.a., 6h. **b** LiOH, THF, H₂O, t.a., 16h. **c** HBTU, HOBt, DIEA, DMF, t.a., 16h.

2.2.2. Oligomère mixte

Afin de réaliser l'oligomère constitué alternativement d'unités pyridines et d'unités quinolines, il est nécessaire de préparer un dimère pyridine/quinoline. Deux dimères « P-Q » ou « Q-P » sont envisageables, cependant, pour des raisons de réactivité des amines au cours de la croissance de l'oligomère, il est plus judicieux d'utiliser l'amine aromatique une seule fois, au cours du premier couplage (Schéma 5 1). Ainsi pour la suite des couplages l'amine aliphatique de l'unité pyridinique, davantage réactive, sera celle mise en jeu (Schéma 5 2).

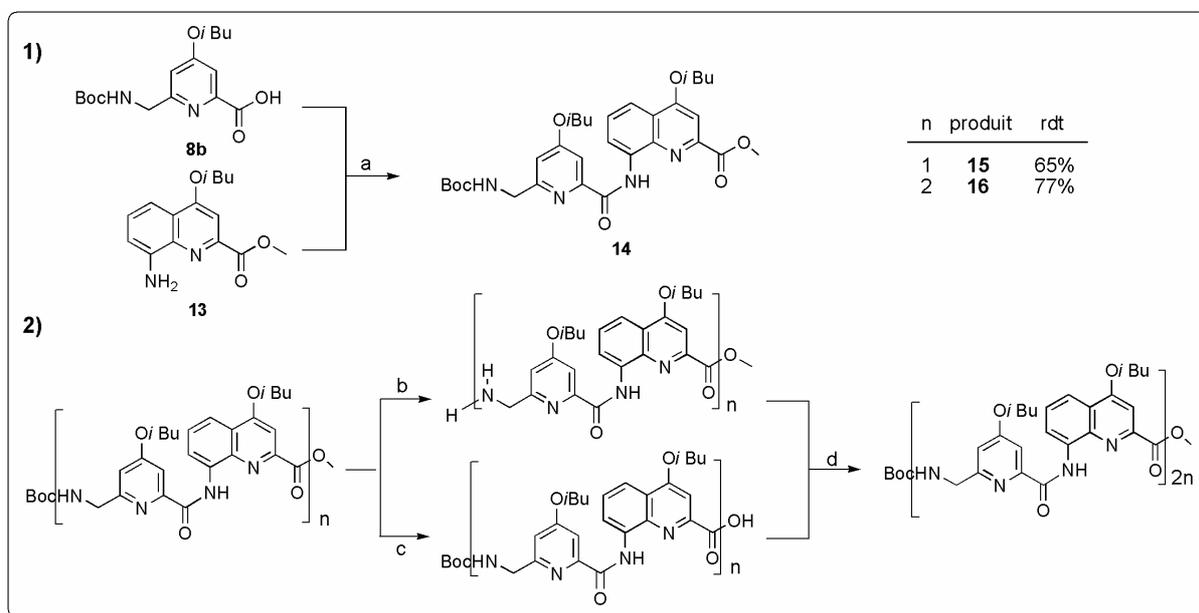


Schéma 5. Synthèse de l'oligomère alternée **1**) Synthèse du dimère Pyridine/quinoline : **a** PyBop, DIEA, DCM, t.a., 3h, 80%.^{14,25} **2**) Croissance de l'oligomère : **b** TFA, DCM, t.a., 6h. **c** KOH, THF, MeOH, t.a., 16h. **d** HBTU, HOBt, DIEA, DMF, t.a., 16h.

La croissance de l'oligomère s'effectue selon la même méthode convergente que précédemment. Après la synthèse du dimère Pyridine/Quinoline, une partie de celui-ci est mis

en présence d'acide trifluoroacétique, l'autre partie est saponifiée et enfin, le dimère acide et le dimère amine sont couplés. Ces étapes ont été répétées une fois encore pour obtenir l'oligomère à 8 unités (4 pyridines et 4 quinolines) : l'oligomère **16**.

Une fois les oligomères synthétisés avec de bons rendements, des études sur leur repliement ont été menées afin de valider le concept de modulation de flexibilité par introduction de noyaux pyridiniques.

3. Analyses structurales

3.1 Etude structurale dans le solide

Afin d'observer un éventuel repliement hélicoïdal de nombreux essais de cristallisation ont été effectués pour les deux oligomères. Aucun cristal de l'oligomère **12** (8 noyaux pyridines) n'a pu être obtenu. En revanche, des cristaux de l'oligomère **16** (4 noyaux pyridines, 4 noyaux quinolines) ont été obtenus par diffusion liquide/liquide de méthanol dans un mélange DMSO/chloroforme. Malgré l'extrême fragilité des cristaux, des mesures de diffraction des rayons X ont pu être effectuées, ainsi, la structure de l'oligomère **16** a été résolue par Brice Kauffmann, Ingénieur de recherche au laboratoire (Figure 5).

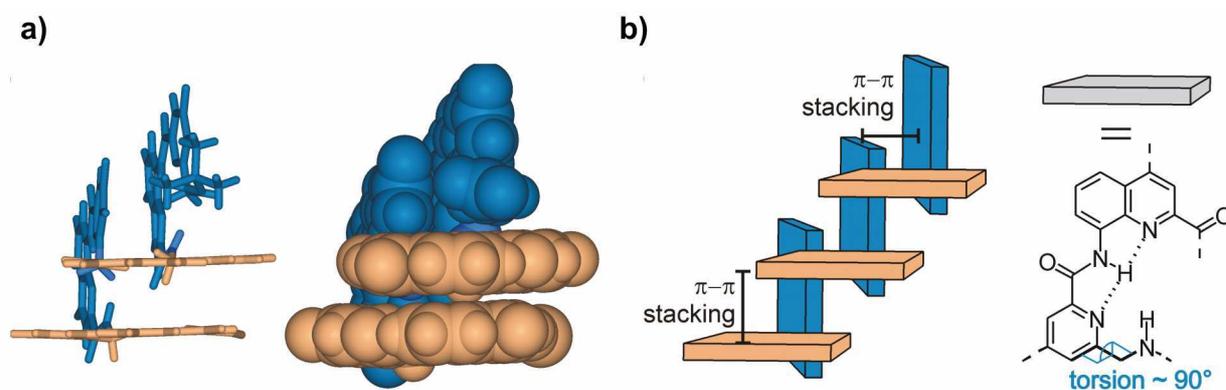


Figure 5. a) Représentation en sticks et CPK de la structure cristalline de l'oligomère **16**. Les chaînes isobutoxy ainsi que les molécules de solvant ont été omises pour plus de clarté. b) Représentation schématique d'une hélice droite non canonique. Chaque parallélépipède représente un dimère pyridine/quinoline.

La conformation de l'oligomère **16** révèle un repliement original et différent de celui obtenu classiquement avec des oligomères constitués uniquement de quinolines. Cet arrangement particulier permet un recouvrement important des surfaces aromatiques entre chaque dimère pyridine/quinoline en position i et $i+2$, ce qui conduit à de fortes interactions

de π - π stacking. La structure résultant de ce repliement est hélicoïdale puisque son squelette décrit une courbe gauche dont la tangente fait un angle constant (en valeur absolue) avec l'axe de propagation.

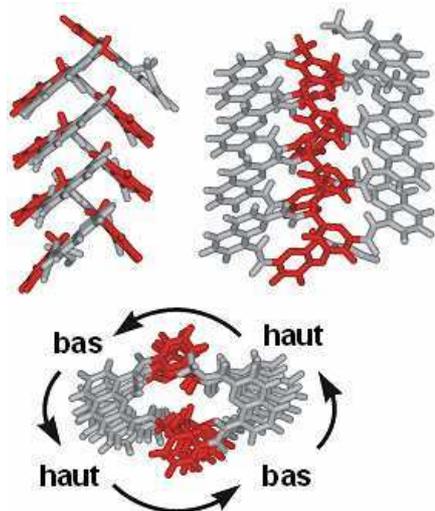


Figure 6. Vues latérales et vue de haut de la conformation hélicoïdale non canonique minimisée (MacroModel v8.6 ; champ de forces MM3) d'un hexadécamère constitué alternativement d'unités pyridines et quinolines. Les motifs amino-méthyl pyridines sont représentés en rouge. Les chaînes latérales ont été omises pour plus de clarté.

Cependant, il ne s'agit pas d'une hélice canonique puisque les angles que décrivent ses liaisons ne sont pas constants par rapport à l'axe de l'hélice. Ces angles, dus à la présence du méthylène de la fonction aminométhyle changent de signe quatre fois par tour. Des minimisations d'énergie par modélisation moléculaire, réalisées par I. Huc ont révélé que cette structure était aussi un minimum d'énergie et que ce motif pouvait se propager à travers des séquences plus longues (Figure 6).

3.2 Etude structurale en solution

Afin de déterminer le repliement des oligomères en solution, nous avons dans un premier temps réalisé une étude par RMN-¹H dans le chloroforme. Fort des connaissances acquises pour les oligomères constitués de quinolines (dont la structure en solution a été résolue et s'est avérée conforme à celle observée dans le cristal), il est désormais possible de comparer les résultats obtenus en solution pour nos oligomères à ceux des oligomères quinoline.

3.2.1 Comparaison avec les oligoquinolines

Les études RMN effectuées sur les oligomères constitués de noyaux quinolines, décrites au chapitre II ont révélé que le repliement amène des modifications importantes au niveau des déplacements chimiques des protons aromatiques, des protons des fonctions amides, des protons des CH₂ des chaînes isobutoxy et des protons de l'ester de méthyle.

Ceux-ci dépendent à la fois de la position de chaque unité dans la séquence, et de la longueur de la séquence. L'ensemble de ces modifications constitue des preuves indirectes du repliement.¹⁴

En ce qui concerne l'oligomère constitué de noyaux pyridines, les spectres RMN-¹H obtenus pour le tétramère et l'octamère ne révèlent pas de modifications semblables à celles des quinolines qui pourraient nous laisser penser que l'oligomère se replie en hélice (Figure 7 a et b). En effet, les signaux des unités consécutives apparaissent dans la même gamme de déplacements chimiques, aucun signe d'empilement aromatique n'apparaît car aucun blindage (déplacement des signaux à champ fort) n'est observé. De plus, les protons des CH₂ des chaînes isobutoxy ne sont pas diastéréotopiques, il n'y a donc pas eu introduction de chiralité liée à la formation d'hélice (Figure 7), ou bien celle-ci est en équilibre rapide.

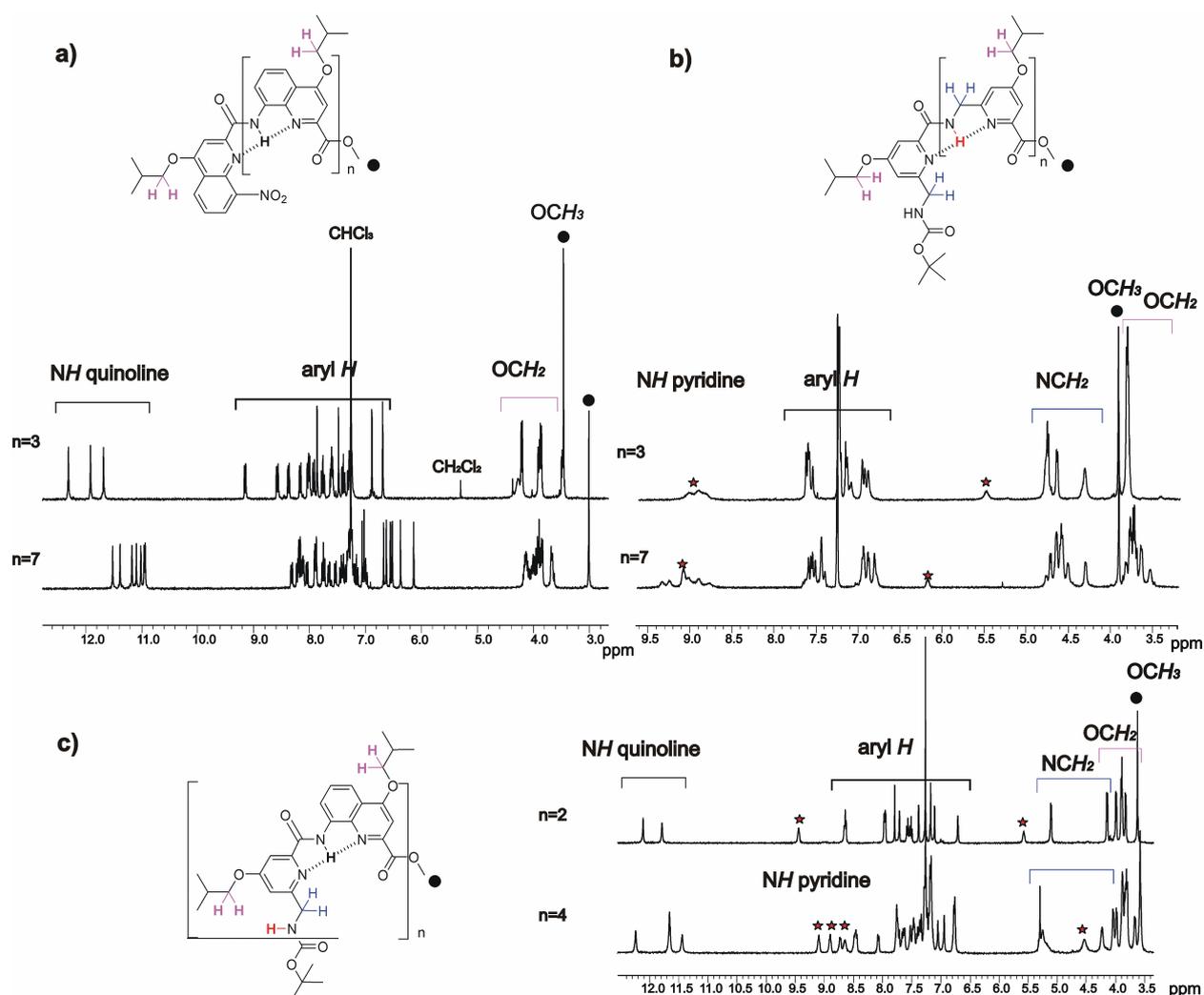


Figure 7. Partie des spectres RMN ¹H réalisés à 400 MHz dans CDCl₃ pour : a) Le tétramère et l'octamère quinoline. b) Le tétramère et l'octamère pyridine **11** et **12**. c) Le tétramère et l'octamère pyridine/quinoline alternés **15** et **16**. Les astérisques rouges désignent les protons amides issus des unités pyridines.

Dans la série pyridine/quinoline alternée, les spectres RMN révèlent une situation intermédiaire (Figure 7) :

- Les protons amides issus des amines des unités quinolines sont déblindés (11-12,5ppm) comme attendu lorsque apparaissent des liaisons hydrogène.
- Les protons amides issus des amines des unités pyridines ne sont pas aussi déblindés (8,5-9,5ppm) parce qu'il sont issus d'amines aliphaïques. Cependant ils sont davantage blindés lorsque l'on augmente la longueur de la chaîne (Figure 7 c : passage du tétramère à l'octamère). Cette dernière observation laisse penser que ces protons sont en contact étroit avec les noyaux aromatiques du fait d'un repliement.
- Les protons aromatiques, malgré la répétitivité de la séquence se trouvent sur une gamme de déplacement chimique relativement importante (de 6,6ppm à 8,6ppm).
- Du dimère au tétramère, le déplacement chimique de l'ester de méthyle passe de 4,11ppm à 3,62ppm. Les protons de l'ester semblent donc, également, se retrouver dans le cône de blindage d'un cycle aromatique.
- Il n'apparaît pas de diastéréotopie des protons des CH₂ (rose) des chaînes isobutoxy car ils apparaissent sous forme de doublets.

Ces études comparatives réalisées dans le chloroforme deutérié permettent de conclure que l'oligomère constitué de pyridine ne se replie pas dans ce solvant. En revanche, dans la série alternée, des preuves qualitatives suggèrent fortement une forme de repliement (étalement des signaux, blindage de certains des protons) mais l'absence de diastéréotopie indique l'existence d'un échange rapide. Afin de mettre en évidence cette forme de repliement, d'autres analyses RMN ont été effectuées.

3.2.2 Effets de la température et du solvant sur les oligomères 12 et 16

Les spectres RMN de l'octamère **12** effectués dans des solvants polaires (THF-d₄/H₂O) et apolaires (toluène-d₈/cyclohexane 1/1) n'ont pas mis en évidence de phénomènes particuliers (repliement, hybridation...). Les analyses à basses températures réalisées dans le toluène deutérié ont par ailleurs révélé à -60°C des agrégations non spécifiques et/ou des équilibres lents entre de nombreux conformères (Figure 8 a). Les signaux sont plus nombreux et beaucoup plus larges.

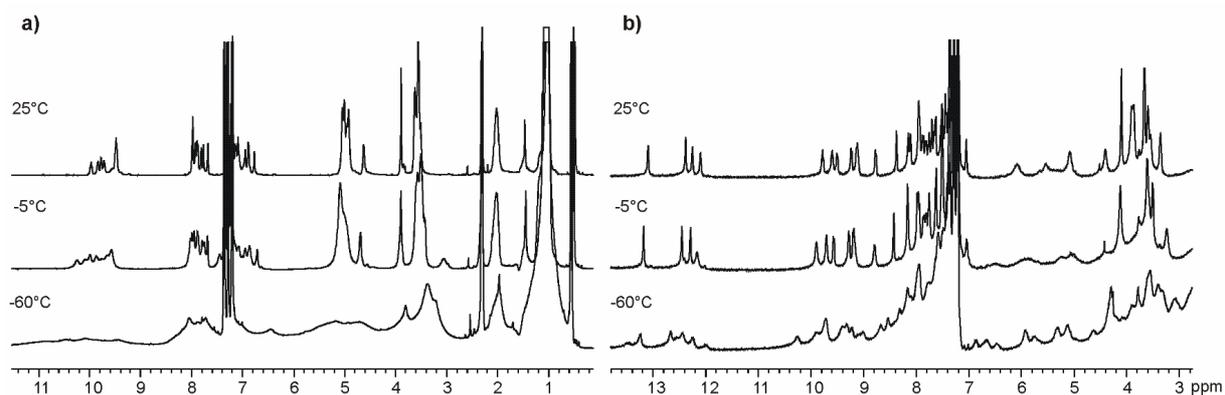


Figure 8. Partie des spectres RMN réalisés à 400 MHz dans le toluène- d_8 . **a)** Oligomère **12**. **b)** Oligomère **16**.

Le repliement en hélice de l'octamère **16** constitué alternativement d'unités pyridines et quinolines introduirait une chiralité même si il n'existe pas de centre asymétrique.²⁶ Ainsi deux hélices de cette nature et de sens opposé P (hélice droite) et M (hélice gauche), énantiomères, peuvent se trouver en équilibre en solution. Dans le cas où cet octamère se replierait en hélice, l'équilibre entre les différents énantiomères P et M pourrait être ralenti à basses températures. A 0°C, il n'est pas observé de diastéréotopie des protons méthylènes des chaînes latérales. A -60°C, les signaux sont très larges et plus nombreux. Il s'agit donc d'un phénomène complexe, difficilement identifiable, qui affecte la symétrie (Figure 8 b).

Ces études réalisées à basse température n'ont pas mis en évidence la présence de chiralité. Trois hypothèses peuvent être alors envisagées :

- La structure hélicoïdale est absente
- La diastéréotopie (écart de déplacement chimique) induite dans les structures concernées est trop faible pour être observée
- L'équilibre d'inversion hélice droite-hélice gauche est trop rapide, même à -60°C.

Cette dernière hypothèse est envisageable car la présence des unités pyridines affecte certainement beaucoup la stabilité de l'hélice et accélère la vitesse d'inversion du sens d'hélicité par rapport à un octamère constitué uniquement d'unités quinolines.

Afin d'éventuellement valider une de ces hypothèses, il est nécessaire d'approfondir l'investigation quant à la conformation de l'oligomère **16** en solution.

4. Analyse conformationnelle en solution de l'oligomère 16 par RMN

Compte tenu de l'ambiguïté des résultats obtenus précédemment, il était intéressant d'essayer de déterminer des corrélations éventuelles entre la structure secondaire de l'oligomère **16** dans le solide et en solution. Le travail qui suit s'est largement inspiré de la démarche utilisée par C. Dolain et coll. En effet, C. Dolain est parvenue à déterminer la structure secondaire de différents oligomères par des études RMN approfondies similaires à celles réalisées pour les protéines.^{26,27} De même manière, Slutsky et coll. sont eux aussi parvenus à mettre en évidence le repliement en solution d'oligomères constitués de monomères aromatiques, les Homo-*o*-phénylène ethynylène.²⁸

4.1 Choix des conditions expérimentales

Afin de faciliter le travail préliminaire d'attribution des signaux, nécessaire à la détermination de la structure en solution, le choix du solvant ainsi que celui de la température d'acquisition doivent être faits judicieusement. L'oligomère doit être bien soluble, les signaux doivent être fins et l'étalement des déplacements chimiques des signaux des amides, des aromatiques et des méthylènes de l'aminométhyle doit être le plus important possible. Différentes expériences ont été menées dans ce but, et le choix s'est porté sur le toluène- d_8 à 75°C (Figure 9).

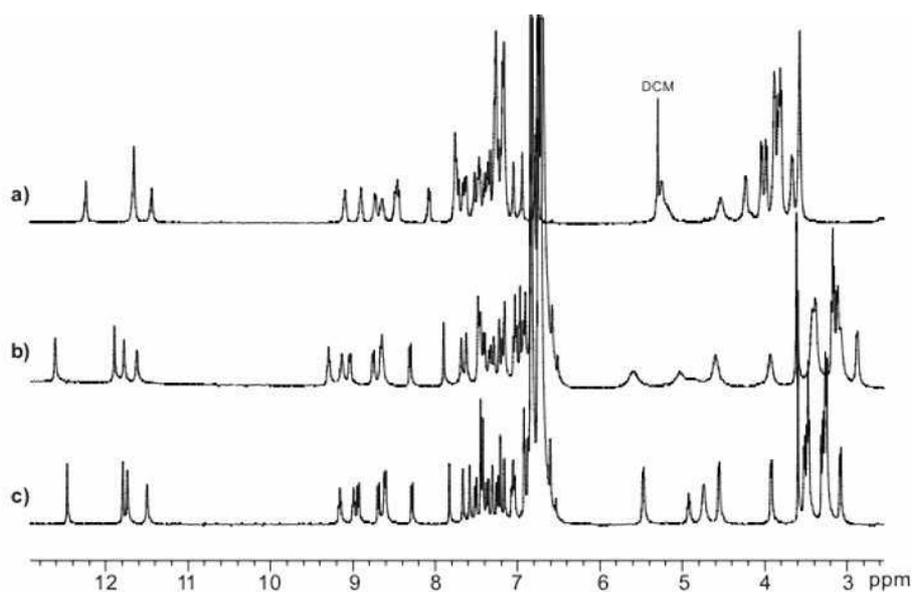


Figure 9. Parties des spectres RMN ^1H de l'oligomère **16**. **a)** dans CDCl_3 à 25°C. **b)** dans le toluène- d_8 à 25°C. **c)** dans le toluène- d_8 à 75°C

Les expériences RMN ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC et ROESY ont permis de remonter à la structure primaire de l'oligomère **16** en attribuant les déplacements chimiques de chaque proton et de chaque carbone du squelette de la séquence. Ensuite, les effets NOE entre protons éloignés dans la séquence permettent d'envisager différentes conformations secondaires.

4.2 Attribution des systèmes de spin

L'octamère **16** étant constitué de deux noyaux différents, deux types de systèmes de spin distincts seront observés. Chaque noyau quinoline possède quatre protons en position 3, 5, 6 et 7 et chaque noyau pyridine deux protons en position 3 et 5 (Figure 10).

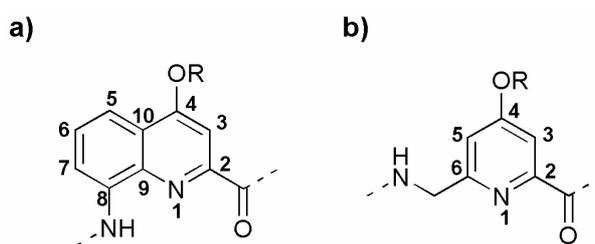


Figure 10. Nomenclature des noyaux a) quinoline b) pyridine.

Les corrélations $^1\text{H}/^1\text{H}$ obtenues par l'expérience COSY ne permettent de déterminer que partiellement les systèmes de spin des quinolines puisque des corrélations fortes sont observées pour les protons 5, 6 et 7 (Figure 11 a), en revanche aucune corrélation n'est observé entre les protons H3 et H5. Les protons 5 et 7 apparaissant tous deux sous forme de doublets, seule l'attribution des carbones du squelette de la séquence permettra de les identifier sans ambiguïté. En revanche, il est possible grâce à l'expérience COSY d'identifier les protons H3 et H5 appartenant à un même noyau pyridine (Figure 11 a). Les expériences COSY permettent aussi de relier les NH (larges triplets) des pyridines au méthylène voisin (Figure 11 b).

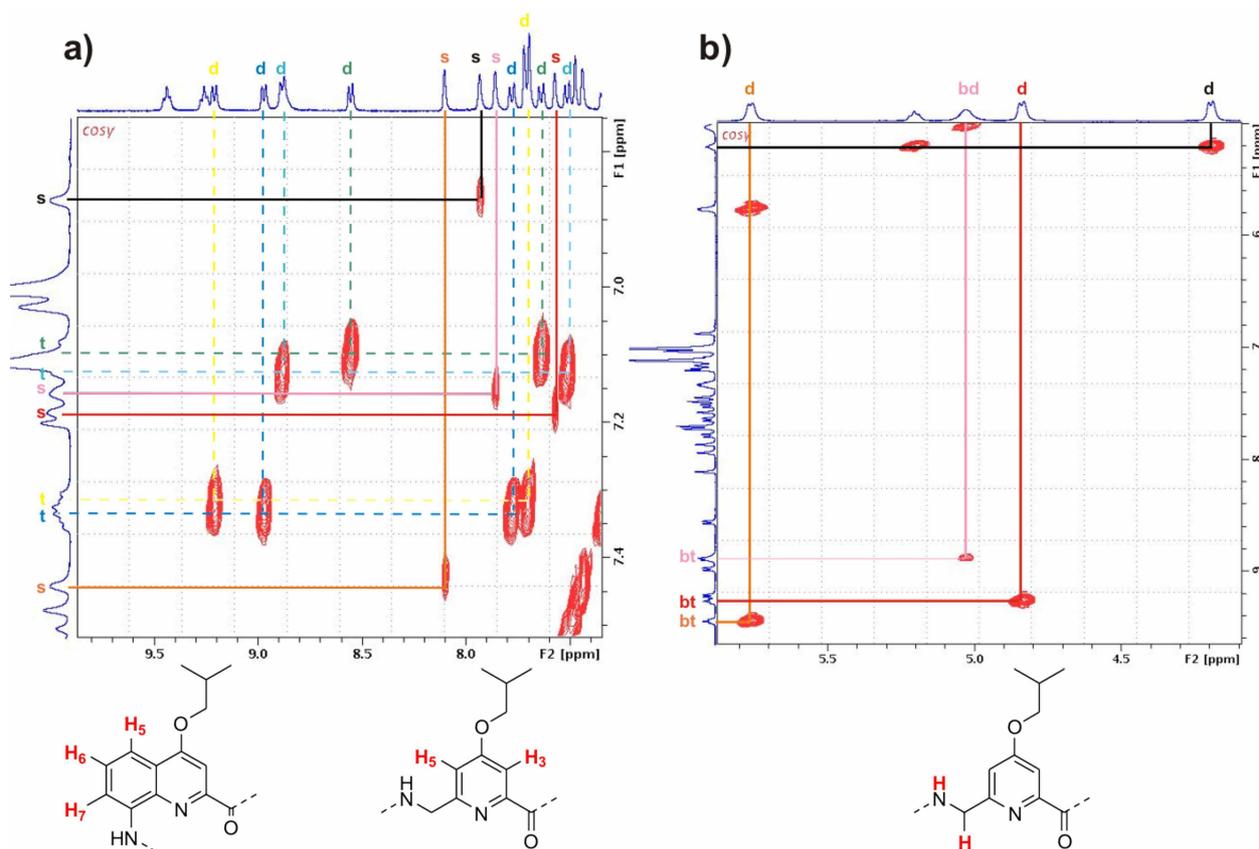


Figure 11. Spectre COSY 400 MHz dans le toluène- d_8 de l'oligomère **16** et détail de l'attribution partielle des systèmes de spin. **a)** Corrélations entre H5, H6, H7 du noyau quinoline et corrélations H3, H5 du noyau pyridine **b)** Corrélations entre méthylène et NH des pyridines.¹

L'expérience HMBC permet l'attribution de tous les systèmes de spin des quinolines. Des corrélations $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ correspondant au maximum à des ^3J permettent de relier le proton H3 avec le proton H5 ou H6 de deux manières différentes : soit par le carbone C4 qui corrèle avec les protons H3 et H5 (Figure 12) soit par le carbone C10 qui corrèle avec les protons H3 et H6 (Figure 12).

¹ Pour chaque système de spin, un code couleur sera adopté qui sera conservé jusqu'à l'attribution complète de la séquence.

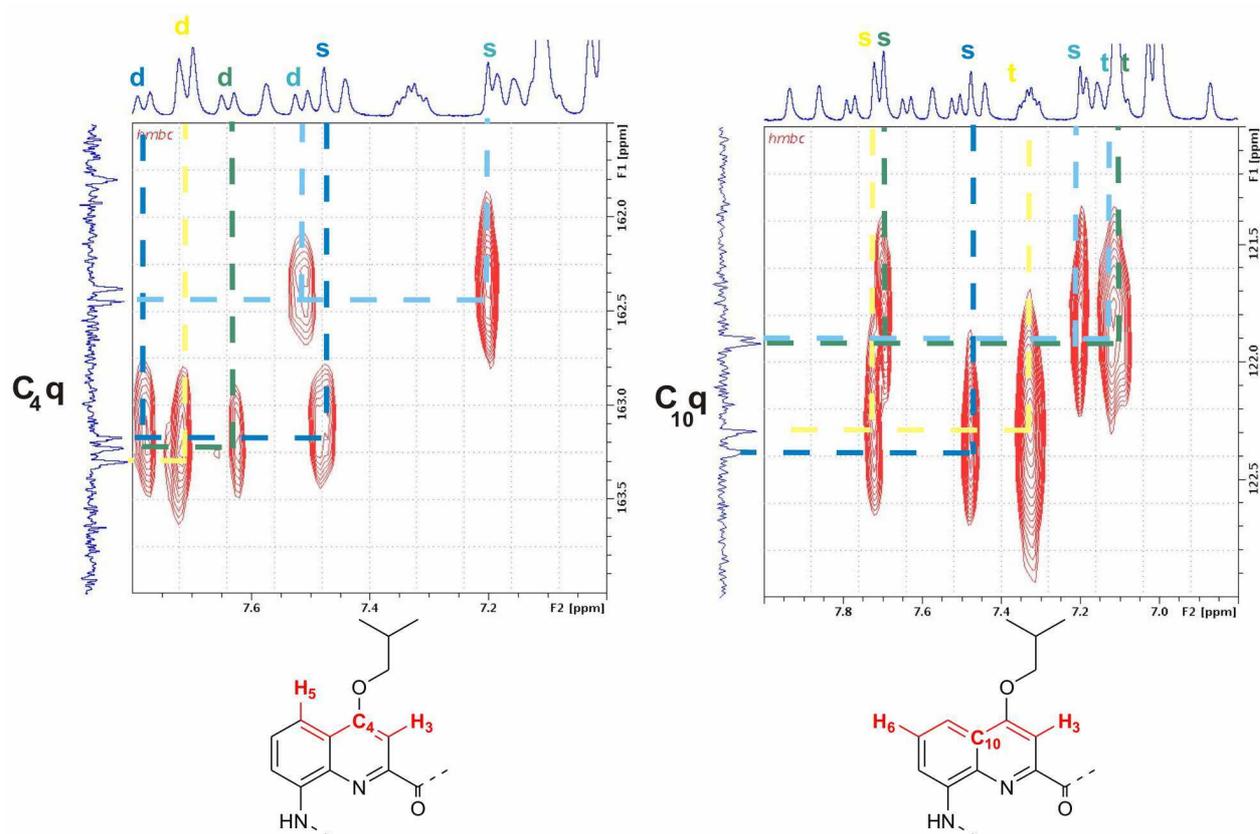


Figure 12. Spectre HMBC 400MHz dans le toluène- d_8 de l'octamère **16** à 75°C. Détail de l'attribution de tous les systèmes de spins des noyaux quinolines. Corrélations observées entre le carbone C4 et les protons H3 et H5 et corrélations entre le carbone C10 et les protons H3 et H6².

4.3 Détermination de la séquence

L'expérience HMBC permet de passer d'un noyau pyridine *i* à un noyau quinoline *i*+1 grâce à trois types de corrélation : la première entre le H3 de la pyridine et le C=O, la seconde entre le C=O et le NH de la quinoline et enfin la troisième entre le proton NH et le carbone C7 (déterminé par HMQC via le proton H7) (Figure 13).

² C_{4q} désigne le carbone en position 4 d'une quinoline, C_{10q} désigne le carbone en position 10 d'une quinoline.

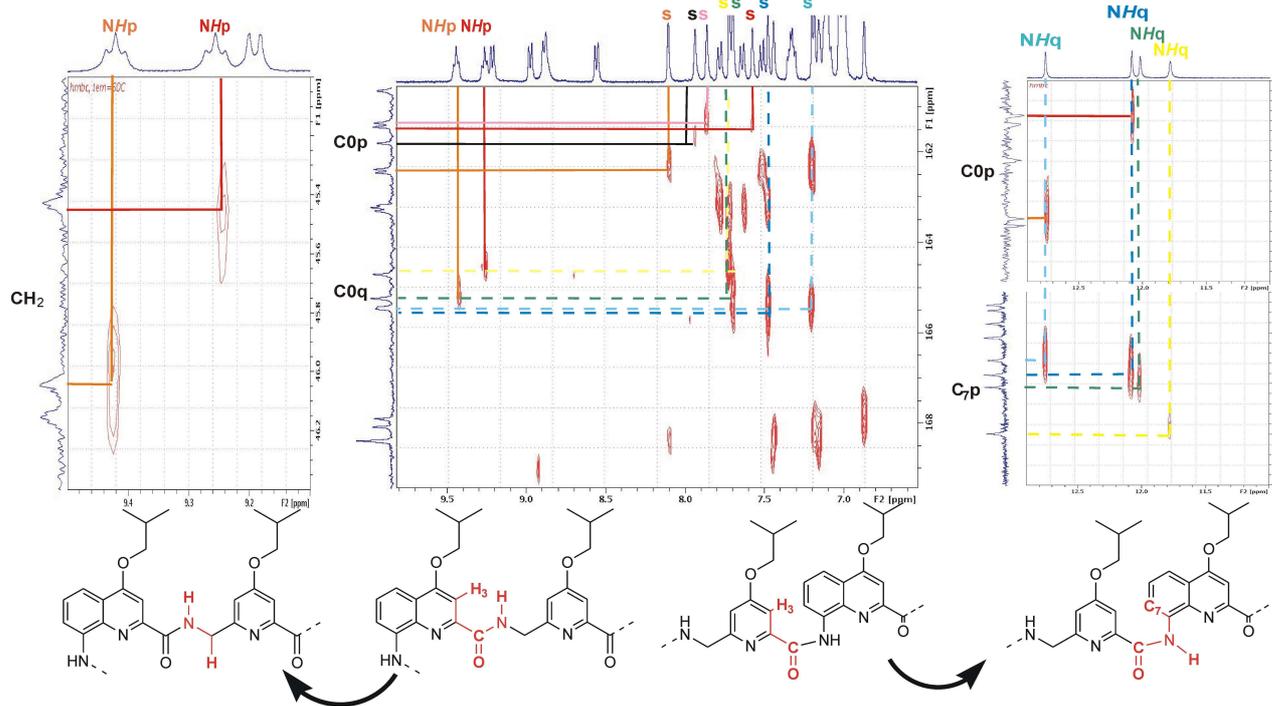


Figure 13. Spectre HMBC 400MHz dans le toluène- d_8 de l'octamère **16** à 75°C. Détail des méthodes permettant de passer d'un noyau pyridine i à un noyau quinoline $i + 1$ et d'un noyau quinoline i à un noyau pyridine $i + 1$.³

De même, l'HMBC permet de passer d'un noyau quinoline i à noyau pyridine $i+1$ par 3 types de corrélations : l'une entre le H3 de la quinoline et son C=O, une autre entre le C=O et le NH de la pyridine, et pour finir entre le NH et le CH₂ (Figure 13).

Le principal problème rencontré dans la détermination de la séquence a été de pouvoir connecter, pour les pyridines, les CH₂ de la fonction aminométhyle au cycle aromatique la portant. Pour cela il a fallu faire appel à des expériences NOESY afin d'observer les effets NOE entre les CH₂ et les H5. Ces corrélations ont été observées pour trois des quatre noyaux (Figure 14 a).

³ C0_p désigne le carbonyle d'une pyridine, C0_q désigne le carbonyle d'une quinoline.

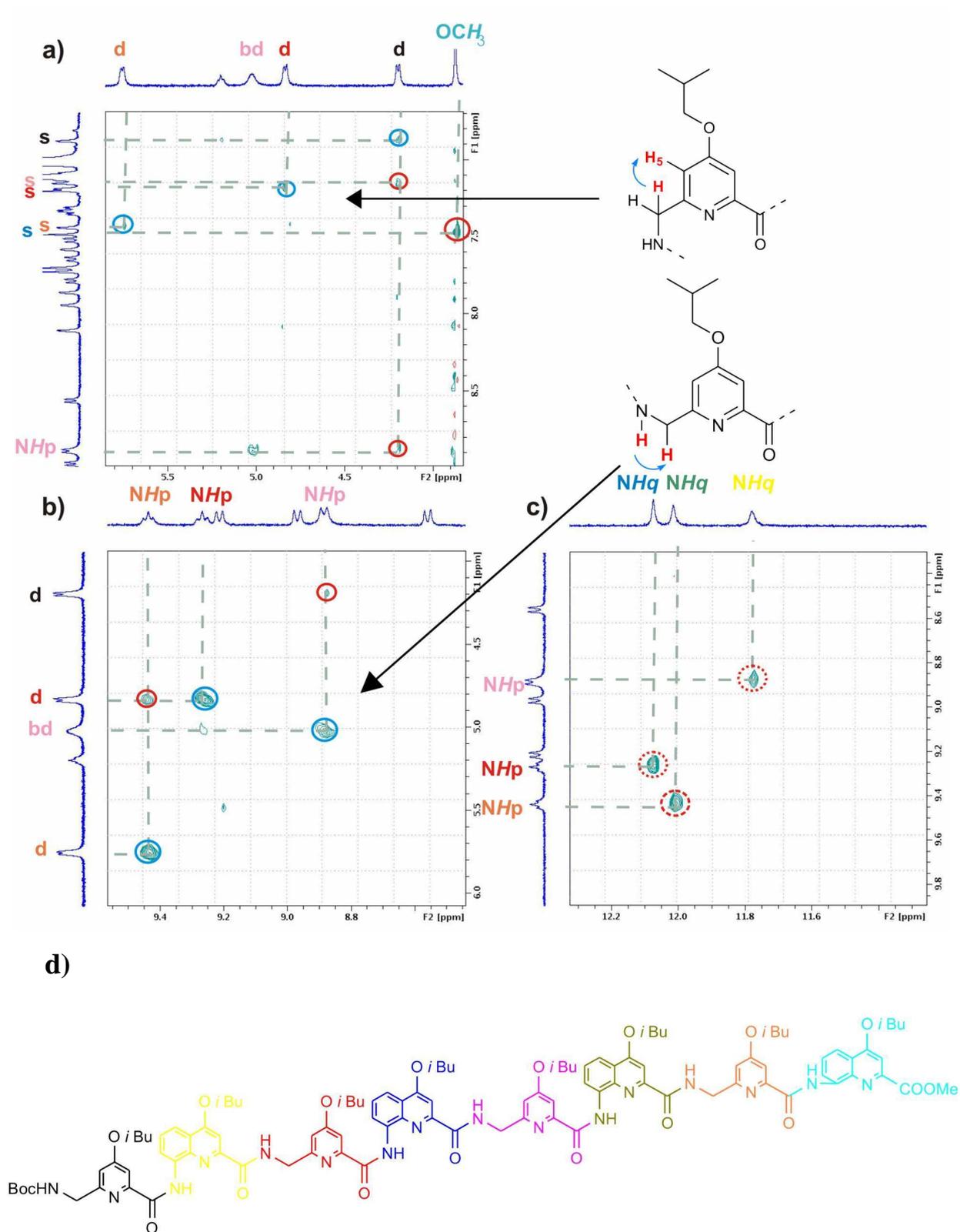
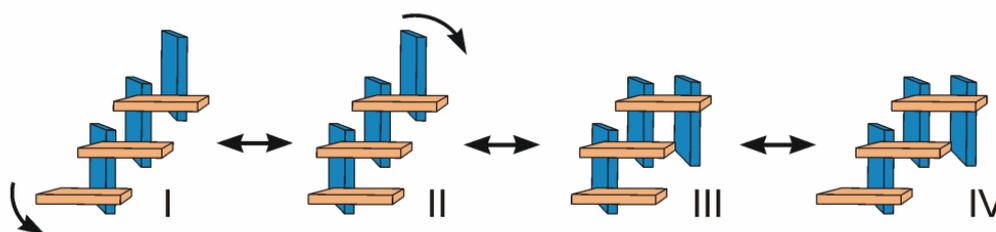


Figure 14. Parties du spectre NOESY 400 MHz de l'oligomère **16** à 75°C dans le toluène- d_8 montrant les corrélations entre: **a)** CH_2 et H_5 des noyaux pyridines. **b)** NH et CH_2 des pyridines. **c)** NHq et NHp . Les cercles bleus désignent les corrélations NOE utilisées pour la reconstitution de la séquence. Les cercles rouges en traits pleins désignent les corrélations en accord uniquement avec une conformation en hélice non canonique, les cercles rouges en pointillés désignent les corrélations compatibles avec l'hélice canonique uniquement et les cercles rouges en traits discontinus désignent les corrélations compatibles avec les deux types d'hélices. **d)** Séquence finale.

L'attribution complète de la séquence a pu s'effectuer en partant de l'extrémité C-terminale. Le CH₃ de l'ester étant facilement identifiable, l'expérience HMBC a montré des corrélations entre les protons de l'ester et leur C=O, puis entre le C=O et le H3 du dernier résidu.

4.4 Détermination des conformations en solution

L'attribution de l'ensemble des protons permet l'identification de toutes les corrélations spatiales observées au cours des expériences NOESY (Figure 14 a, b et c). Ainsi, il sera désormais possible de vérifier en solution l'existence d'une structure repliée identique à celle observée dans le solide. Compte tenu de la flexibilité de la structure, il est aussi envisageable que les dimères situés aux extrémités subissent une rotation de 180°. En plus de la conformation qui a cristallisé, trois autres conformations pourront par conséquent se trouver en équilibre (Figure 15). De même, la présence en solution d'une conformation en hélice canonique pourra être validée ou non.



Corrélations NOE observées	Distance atomique dans les conformations repliées (Å)			
	Hélice canonique	Hélices non canoniques		
		I	II (structure cristalline)	III et IV
NH-3/NH-4	3,1	5,6	5,6	5,6
NH-6/NH-7	2,9	3,0	3,0	3,0
NH-2/NH-5	4,3	6,6	6,6	7,3
H3-4/OCH ₃	7,8	5,9	9,5	9,5
CH ₂ -1/H5-5	8,2	3,1	3,1	6,0
CH ₂ -1/NH-5	6,1	3,9	3,9	5,1
CH ₂ -3/NH-7	6,5	3,9	3,9	3,9

Figure 15. Représentation schématique des différents conformères envisageables de l'oligomère **16** et mesures des distances interatomiques.

Les distances correspondant aux corrélations observées ont été mesurées pour l'hélice canonique et les quatre formes d'hélice non canonique sur la base de la structure modélisée et de la structure cristalline (Figure 15). Deux corrélations semblent être compatibles uniquement avec l'hélice canonique, quatre seraient compatibles uniquement avec les

différentes conformations de l'hélice non canonique, enfin, une serait compatible avec les deux types d'hélices. Ces corrélations ont été répertoriées dans la Figure 16.

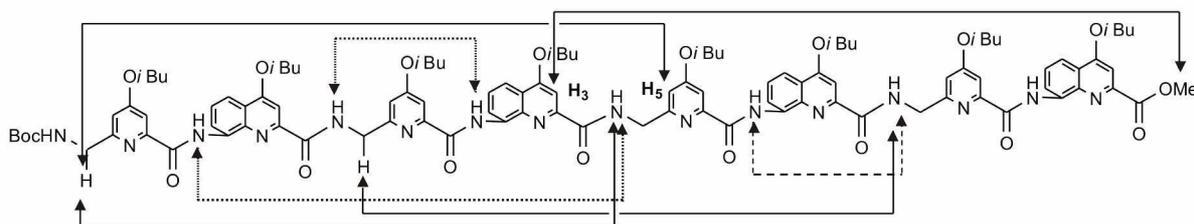


Figure 16. Structure de l'oligomère **16** représentant les corrélations NOE identifiées par l'expérience NOESY. Les lignes pleines indiquent les corrélations compatibles uniquement avec la conformation non canonique. Les lignes en pointillés indiquent les corrélations compatibles seulement avec l'hélice canonique. Les lignes discontinues représentent les corrélations compatibles avec les deux types d'hélices.

Les expériences RMN ont permis de mettre en évidence la coexistence de ces deux types de repliement en solution pour l'oligomère **16**. Il n'est toutefois pas possible d'exclure la présence d'autres types de repliements.

5. Induction d'une conformation hélicoïdale canonique

L'induction d'un repliement hélicoïdal, est un enjeu important, notamment, pour les oligomères constitués d'acides α -aminés²⁹. En effet, Kemp et coll. dès la fin des années 80 ont souhaité contraindre une séquence peptidique non structurée à adopter une structure secondaire définie.^{30,31} Pour cela, le peptide est greffé sur un promoteur dont les carbonyles, orientés précisément, miment le pas d'une hélice α et amorce ainsi la conformation hélicoïdale (Figure 17). Le groupe de Mutter et coll. a aussi contribué au développement de promoteurs d'hélicité.³²

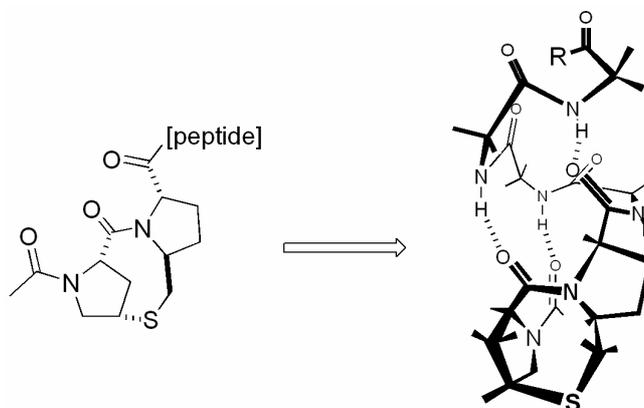


Figure 17. Promoteur ((2S,5S,8S,11S)-1-acétyl-1,4-diaza-3-céto-5-carboxy-10-thiatriacyclo[2.8.1.0]tridecane) d'hélice α de Kemp et coll.³⁰

L'induction de la structuration d'une séquence ayant une faible propension au repliement hélicoïdal est une stratégie qui s'est largement développée notamment pour les polymères³³ ou dans le cadre d'études d'interactions peptides-ADN, l'ADN double brin étant un promoteur efficace d'hélicité de peptides particuliers.³⁴

Dans cette partie, nous proposons une méthode originale pour imposer à un foldamère une conformation hélicoïdale canonique. Elle consiste en l'addition d'une amorce hélicoïdale à l'extrémité d'une séquence dont la conformation n'est pas une hélice canonique. Cette stratégie sera utilisée ici pour induire un repliement en hélice canonique à l'oligomère **16**. Cette étude permettra d'appréhender indirectement la stabilité de la conformation non canonique (caractérisée précédemment) si celle-ci demeure présente.

5.1 Conception du système

Dans cette stratégie, l'amorce joue un rôle important et doit posséder des caractéristiques particulières. En effet, celle-ci doit être hélicoïdale et de petite taille au regard de la séquence dont on souhaite forcer le repliement afin de ne pas trop perturber le système. Notre choix s'est porté sur un tétramère quinoline, puisque celui-ci est le plus petit oligomère hélicoïdal (1,5 tour) à notre disposition. De plus, la structure d'un tétramère quinoline est très stable et bien définie.

5.2 Synthèse

La grande réactivité de l'amine aliphatique a été prouvée dans les synthèses précédentes puisque l'utilisation d'agents de couplage courants a permis l'obtention des produits de condensation avec de bons rendements. Ainsi, pour exploiter à nouveau l'avantage de cette réactivité, l'oligomère envisagé est le produit de la condensation de l'amine aliphatique de l'oligomère **16** (préalablement déprotégée) sur l'acide d'un tétramère quinoline. Cette réaction s'effectue de nouveau dans des conditions classiques de synthèse peptidique en présence de HBTU.

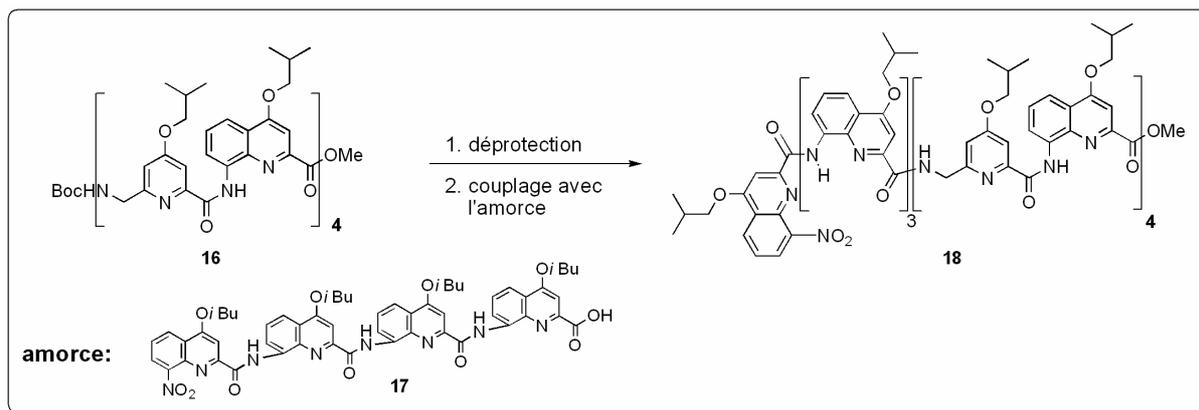


Schéma 6. Synthèse de l'oligomère **18**. **1** TFA, DCM, t.a., 3h, quant. **2**. HBTU, HOBt, DIEA, DMF, t.a., 16h, 71%.

L'oligomère **18** ainsi synthétisé est en fait constitué de deux blocs, un comprenant quatre noyaux quinolines (amorce) et un autre comprenant une alternance de noyaux pyridines et de noyaux quinolines.

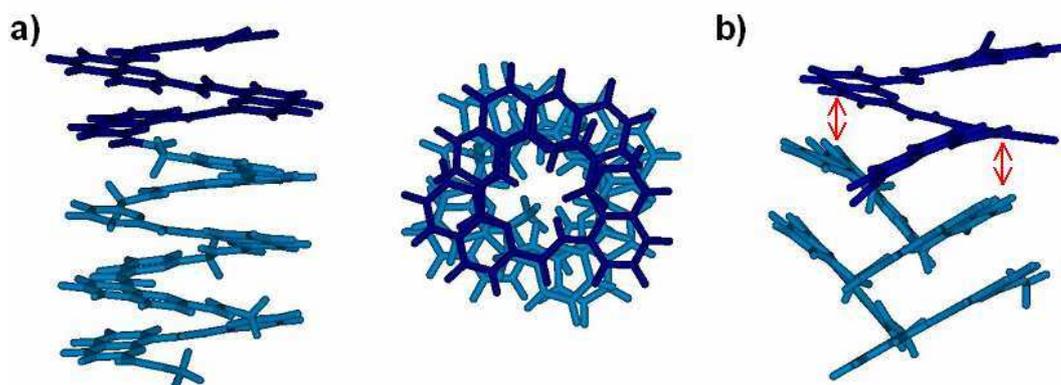


Figure 18. Représentation des conformations potentiellement observables pour l'oligomère **18**. **a)** Induction d'une conformation hélicoïdale canonique. **b)** Les deux segments sont indépendants : l'amorce possède une structure hélicoïdale canonique et l'oligomère **16** une structure hélicoïdale non canonique. L'amorce est représentée en bleu foncé et l'oligomère **16** en bleu clair. Les flèches rouges désignent les lieux où le recouvrement aromatique semble être faible.

Du fait de cette structure dibloc, l'oligomère **18** peut se comporter de deux manières différentes : l'amorce impose au second bloc sa conformation (Figure 18 a), ou alors, les deux blocs sont indépendants, chacun adopte une conformation (Figure 18 b). Dans le cas où les deux blocs sont indépendants, il semble que les cycles aromatiques soient davantage écartés (flèches rouges, Figure 18 b), ce qui pourrait conduire à une diminution des interactions stabilisantes de π - π stacking. Dans les deux situations, les signatures spectrales par RMN ^1H seront très différentes, c'est pourquoi une étude structurale a été réalisée.

5.3 Etude conformationnelle

Dans un premier temps une étude conformationnelle a été réalisée en solution par RMN ^1H . L'étude comparative des spectres RMN de l'oligomère **16** et de l'oligomère **18** montre un blindage de tous les protons après l'addition de l'amorce. En effet, l'ensemble du spectre RMN de l'oligomère semble s'être décalé à champ fort (à l'exception des protons des chaînes latérales), y compris les protons qui se situent loin de l'amorce hélicoïdale. Ce déplacement des protons suggère qu'ils sont positionnés dans le cône de blindage des cycles aromatiques et donc en contact étroit avec ceux-ci.

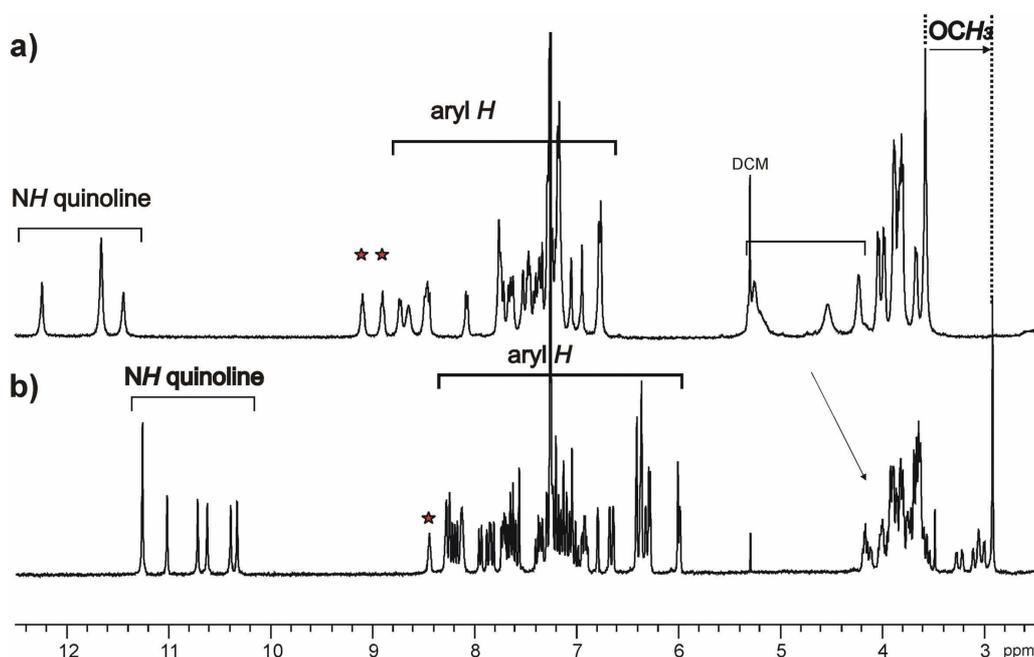


Figure 19. Partie des spectres RMN ^1H des oligomères à 400 MHz dans CDCl_3 . **a)** oligomère **16**. **b)** oligomère **18**. Les astérisques rouges désignent les NH issus des amines des pyridines

En particulier, le déplacement chimique de l'ester de méthyle passe de 3,57ppm (Figure 19 a) à 2,93ppm (Figure 19 b) alors qu'il se situe à l'autre extrémité de l'oligomère, donc très loin de l'amorce hélicoïdale. De plus, les CH_2 des fonctions aminométhyles sont aussi fortement blindés et apparaissent, comme les protons des CH_2 des chaînes latérales sous forme de doublet de doublets. Ceci est caractéristique d'un mélange racémique d'énantiomères et donc de l'apparition de chiralité.

Ces observations, bien qu'elles ne constituent que des preuves indirectes, suggèrent un repliement en hélice canonique en solution. Dans le but de corroborer ces observations, l'oligomère **18** a été cristallisé afin de connaître sa conformation à l'état solide. A ce jour, les données issues des mesures de diffraction des rayons X n'ont pas permis de résoudre sa structure.

Conclusion

La synthèse du monomère pyridine **8** et son incorporation au sein de séquences oligomériques satisfont au « cahier des charges » de notre projet tant au niveau de la synthèse qu'au niveau des concepts que l'on a souhaité mettre en évidence.

En effet, la synthèse du monomère pyridine se fait en relativement peu d'étapes (7 étapes) mais surtout avec un rendement correct (40%). La réactivité de l'amine a permis l'utilisation d'agents de couplage classiquement utilisés en synthèse peptidique. Cela fait de ce monomère un bon candidat pour son utilisation en synthèse sur support.

De plus, la présence de la fonction aminométhyle a effectivement permis d'introduire de la flexibilité dans nos oligomères aromatiques et a conduit à la mise en évidence d'une structure secondaire originale. La possibilité de moduler la flexibilité de la structure secondaire présente un intérêt non négligeable, puisqu'il sera maintenant possible de concevoir des mimes peptidiques de stabilités différentes, en fonction du rapport unités quinolines/unités pyridines.

Enfin, une structure hélicoïdale canonique semble être imposée à l'oligomère **16** par l'addition d'un tétramère de quinoline qui sert de promoteur d'hélicité.

Les résultats exposés ici rejoignent un ensemble de données de la littérature suggérant que les oligomères hybrides aliphatiques-aromatiques adoptent des conformations non conventionnelles,^{35,36,37,38,39,40,41} à la différence de foldamères tout aliphatique ou tout aromatique. Bien que les parties aliphatiques soient réduites à de simples liens méthylènes pour les oligomères **12** et **16**, leurs effets sont considérables sur le repliement. Du fait de l'originalité des conformations qu'ils permettent d'introduire, il est probable que les hybrides aliphatiques-aromatiques seront l'objet d'une recherche intensive dans les années à venir.

Partie expérimentale

1. Cristallographie

Les données ont été collectées sur un diffractomètre Rigaku Rapid équipé d'une anode tournante microfocussée MM007 et des optiques Osmic Varimax® générant une radiation monochromatique Cu-K α (1,54178 Å). La collecte des données, l'affinement de la maille et l'intégration des intensités diffractées ont été effectués avec le logiciel CrystalClear®. La position des atomes (non hydrogène) a été déterminée par le programme SHELXD. La position des atomes d'hydrogène a été déduite des coordonnées des autres atomes et a été confirmée par l'examen des cartes de densités électroniques « Fourier différence ». Les coordonnées des atomes d'hydrogène en positions théoriques sont calculées et introduites dans l'affinement pour calculer les facteurs de structure.

Données cristallographiques	Oligomère 16
Formule brute	C _{113,5} H ₁₂₁ N ₁₆ O ₃₄
Dimensions (mm)	0,3 × 0,3 × 0,5
Aspect	Prismes incolores
Mailles	Triclinique
Groupe spatial	P-1
Z	2
a (Å)	16,1046 (10)
b (Å)	20,9270 (13)
c (Å)	22,4266 (12)
α (deg)	116,022 (4)
β (deg)	99,677 (4)
γ (deg)	99,965 (4)
Température(K)	183 (2)
Volume (Å ³)	6430,3 (7)
FW (g.mol ⁻¹)	2253,26
ρ (g.cm ⁻³)	1,164
Radiation	Cu-K α
λ (Å)	1,5418
θ mesurés	6,52 ≤ θ ≤ 71,95
Refl. Mesurées	89008
Refl. uniques	22080
GOF	1,091
R ₁ (I > 2 σ (I))	0,0946
wR ₂ (all data)	0,3243

2. Spectroscopie RMN

Les spectres ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Avance 400 NB US NMR en utilisant une sonde QNP 5 mm directe ¹H/X avec possibilité de gradients. La température

est maintenue à 348K pour la détermination de la structure. Les expériences RMN ^1H , ^{13}C , correlated spectroscopy (DQF-COSY), heteronuclear multiple quantum coherence (HMQC), heteronuclear multiple bond correlation (HMBC), et nuclear Overhauser spectroscopy (NOESY), ont été utilisées pour attribuer la séquence de l'oligomère **16**. Le traitement des données est réalisé avec le logiciel TOP SPIN 2.0.

DQF-COSY. Acquisition: 2048 (t_2) \times 256 (t_1) points; temps de relaxation (d_1) de 2s; fenêtre spectrale de 6000Hz dans les deux dimensions, mode QF sur t_1 et 24 scans par incrément. Le traitement est réalisé après une multiplication sine-bell dans les deux dimensions et une transformée de Fourier en mode $1k \times 1k$ real data points.

HMQC. Acquisition: 2048 (t_2) \times 512 (t_1) points en mode QF sur t_1 ; temps de relaxation de 1.5s et 20 scans par incrément; fenêtre spectrale de 5600Hz pour la dimension proton et 25000Hz pour la dimension carbone. Le traitement des données est réalisé après une multiplication qsine dans les deux dimensions ($ssb = 2$), et une transformée de Fourier en mode $2k \times 1k$ real data points.

HMBC. Acquisition 2048 (t_2) \times 512 (t_1) points en mode QF sur t_1 ; temps de relaxation de 1.5s et 32 scans par incrément ; fenêtre spectrale de 5600Hz pour la dimension proton et de 25000Hz pour la dimension carbone. Le traitement est réalisé après une multiplication qsine dans les deux dimensions ($ssb = 2$), et une transformée de Fourier en mode $2k \times 1k$ real data points.

NOESY. Acquisition: 2048 (t_2) \times 512 (t_1) points en mode States-TPPI; temps de relaxation de 2s et 24 scans par incrément; fenêtre spectrale de 5600Hz dans les deux dimensions et temps de mélange de 300 ms. Le traitement est réalisé après une multiplication qsine dans les deux dimensions ($ssb = 2$), et une transformée de Fourier en mode $1k \times 1k$ real data points.

3. Procédure générales

Sauf spécifications, les produits utilisés sont commerciaux et introduits sans purification préalable. Le THF est distillé sur Na/benzophenone, le MeOH sur Mg/I₂, le CH₂Cl₂, la diisopropyléthylamine et le DMF sur CaH₂ avant utilisation. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm et sont calibrés sur le pic résiduel du solvant : CDCl₃ (δ 7.26, 77.0), DMSO-d₆ (δ 2.50, 39.4), ou CD₃OD (δ 3.31, 49.1). Les constantes de couplage sont données en Hz. Les chromatographies sur gel de silice ont été réalisées avec de la silice Merck Kieselgel Si 60. Les spectres de masse d'impact électronique et de maldi (matrix

assisted laser desorption ionization time of flight, matrice acide α -cyanohydroxycinnamique) ont été obtenus en mode positif.

Série Pyridine :

Saponification des esters

L'ester (1éq.) ainsi que l'hydroxyde de lithium (1,5éq.) sont dissous dans un mélange THF/eau (1/1 v:v). Le milieu réactionnel est agité pendant 16 heures à température ambiante. Le THF est évaporé puis l'acide acétique glacial est ajouté (2éq.). Le mélange réactionnel est extrait avec un mélange eau/DCM. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis filtrée. Le DCM est évaporé à l'évaporateur rotatif.

Déprotection des amines

Le composé possédant une fonction amine protégée par un Boc (1éq.) est dissout dans du DCM. L'acide trifluoroacétique (12éq.) est ajouté goutte à goutte, le mélange est agité pendant 6 heures. Le DCM est évaporé et l'acide trifluoroacétique azéotropé avec du toluène.

Couplages

L'acide (1éq.) ainsi que HBTU (1,5éq.) et HOBt (1éq.) sont introduits dans un ballon et dissous dans du DMF distillé sous atmosphère d'azote. La DIEA distillée (5éq.) est introduite et le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes à température ambiante. L'amine (1éq.) dissoute dans du DMF distillé, est introduite et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 16 heures. Il est ajouté 20mL de toluène. La phase organique est lavée avec 1×15mL d'une solution d'acide citrique à 5% massique et 2×15mL d'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, filtrée puis le toluène est évaporé.

Série alternée

Saponification des esters

L'ester (1éq.) ainsi que l'hydroxyde de potassium (3éq.) sont dissous dans un mélange THF/MeOH (3/1 v:v). Le milieu réactionnel est agité pendant 16 heures à température ambiante. Le THF et le méthanol sont évaporés puis l'acide acétique glacial est ajouté (3éq.) ainsi que 2mL d'eau. Le mélange réactionnel est filtré et le solide est récupéré.

Déprotection des amines

Le composé possédant une fonction amine protégée par un Boc (1éq.) est dissout dans du DCM. L'acide trifluoroacétique (8éq.) est ajouté goutte à goutte, le mélange est agité pendant 6 heures. Le DCM est évaporé et l'acide trifluoroacétique azéotropé avec du toluène.

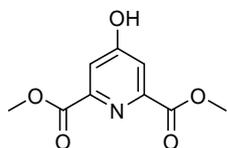
Couplages

L'acide (1éq.) ainsi que HBTU (1,5éq.) et HOBt (1éq.) sont introduits dans un ballon puis placés sous atmosphère d'azote. Le DMF distillé et la DIEA distillée (5éq.) sont introduits et le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes à température ambiante. L'amine (1éq.) dissoute dans du DMF distillé, est introduite et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 16 heures. Il est ajouté 20mL de toluène. La phase organique est lavée avec 1×15mL d'une solution d'acide citrique à 5% massique et 2×15mL d'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, filtrée puis le toluène est évaporé. Le mélange est repris dans le méthanol, placé une nuit à 4°C puis filtré.

4. Modes Opératoires

Certains des composés présentés ont déjà fait l'objet de publications. Par conséquent, leur caractérisation ne sera pas donnée, seuls les modes opératoires et les spectres RMN-¹H seront explicités quand ceux-ci ont été améliorés.

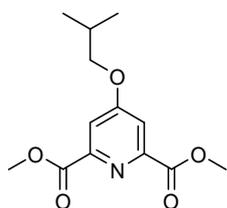
Diméthyl 4-hydroxy-2,6-pyridine dicarboxylate (**2**)



Dans un ballon, l'acide chélidamique **1** (6,05g, 33,1mmol, 1éq.), 50mL de diméthoxypropane, 100mL de méthanol et 4mL d'acide chlorhydrique 12N sont introduits. Le mélange est chauffé à reflux pendant 36 heures puis une solution saturée de bicarbonate de sodium est additionnée. Enfin, le milieu réactionnel est lavé avec 500mL d'eau, extrait avec 2 fois 50mL d'éther, concentré puis acidifié jusqu'à pH=4. Il est placé une nuit à 4°C, filtré et le précipité est lavé à l'eau glacée. Le solide obtenu est séché et il est alors obtenu de 4,9g de diester **2** soit un rendement de 70%.

RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 7,03 (2H, s) ; 3,79 (6H, s)

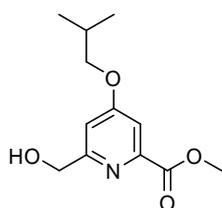
Diméthyl 4-isobutoxy-2,6-pyridine dicarboxylate (**3**)



Dans un ballon muni d'un réfrigérant, le diester **2** (1,03g, 4,9mmol, 1éq.) est dissout, sous atmosphère d'azote dans 15mL de DMF distillé. Le milieu réactionnel est porté à 120°C, le carbonate de potassium (2,03g, 14,7mmol, 3éq.) est ajouté et le milieu réactionnel est agité à 120°C pendant 1,5 heure. La température est abaissée à 70°C, l'iodure d'isobutyle (1,7mL, 14,7mmol, 3éq.) est additionné et le mélange réactionnel est agité à 70°C pendant 3 heures. Après retour à température ambiante, il est ajouté 50mL de toluène puis 50mL d'eau. La phase aqueuse est extraite avec 2×50mL de toluène. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄, filtrées puis concentrées. Il est obtenu 1,01g de **3** soit un rendement de 77%.

RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 7,80 (2H, s), 4,01 (6H, s), 3,90 (2H, d, J=6,4Hz), 2,16 (1H, m, J=6,8Hz et J=6,4Hz), 0,93 (6H, d, J=6,8Hz).

Méthyl 6-(hydroxyméthyl)-4-isobutoxy-2-pyridine carboxylate (**4**)



Dans un ballon, le produit **3** (3,73g, 14mmol, 1éq.) est dissout dans 38mL de DCM distillé et 75mL de méthanol. NaBH₄ (1,06g, 28mmol, 2éq.) est ajouté dans le milieu réactionnel placé à 0°C. La réaction est agitée à 0°C pendant 30 minutes puis à température ambiante pendant 2 heures. Le milieu réactionnel est neutralisé avec HCl 1N, extrait, lavé avec un mélange eau/DCM, séché sur MgSO₄, filtré, évaporé à sec puis purifié par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 98/2 v:v). Il est obtenu 2,57g du solide **4** soit un rendement de 77%.

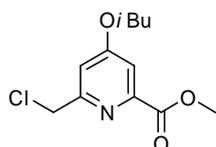
RMN¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 7,55 (1H, d, J=2,0Hz), 7,02 (1H, d, J=2,0Hz), 4,79 (2H, s), 3,98 (3H, s), 3,83 (2H, d, J=6,8Hz), 2,12 (1H, m, J=6,8Hz et J=6,4Hz), 1,03 (6H, d, J=6,4Hz).

RMN¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 166,7 ; 165,6 ; 162,3 ; 148,3 ; 110,9 ; 109,5 ; 74,6 ; 64,7 ; 52,8 ; 27,9 ; 19,0.

MS (EI) : m/z = 240 (12, [M+H]⁺), 239 (30, [M]⁺), 238 (45), 224 (3), 209 (4), 182 (33), 181 (100), 168 (13), 150 (19).

IR (NaCl), ν (cm⁻¹): 3388, 3034, 2961, 2921, 2872, 1729, 1601, 1444, 1335, 1267, 1243, 1122, 1044, 892, 867, 791, 738.

Méthyl 6-(chlorométhyl)-4-isobutoxy-2-pyridine carboxylate (**5**)

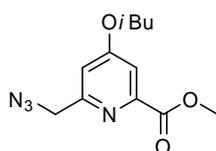


L'alcool **4** (1g, 4,2mmol, 1éq.) est introduit dans un ballon et dissout dans du toluène anhydre (15mL). SOCl₂ (1,4mL, 18,9mmol, 4,5éq.) est additionné lentement à l'aide d'une seringue. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures sous atmosphère d'azote. Le toluène et le chlorure de thionyle sont évaporés. Cette réaction est quantitative. Obtention de 1,06g d'une huile légèrement jaune **5**.

RMN¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 7,63 (1H, d, J=2,0Hz), 7,28 (1H, d, J=2,0Hz), 4,85 (2H, s), 4,02 (3H, s), 3,90 (2H, d, J=6,8Hz), 2,15 (1H, m, J=6,8Hz et J=6,8Hz), 1,06 (6H, d, J=6,8Hz).

MS (EI) : m/z = 261 (2, [M(Cl³⁷)+2H]⁺), 260 (15, [M(Cl³⁷)+H]⁺), 258 (42, [M(Cl³⁵)+H]⁺), 229 (6), 227 (17), 201 (49), 199 (100), 186 (4), 184 (9), 145 (40), 143 (78)

Méthyl 6-(azidométhyl)-4-isobutoxy-2-pyridine carboxylate (**6**)

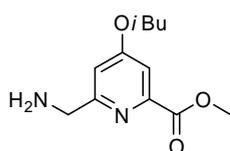


Le dérivé chloré **5** (1,06g, 4,11mmol, 1éq.) est dissout dans du DMF (15mL). L'azoture de sodium (321mg, 4,93mmol, 1,2éq.) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité pendant 3 heures à température ambiante sous atmosphère d'azote. Le DMF est évaporé puis 10mL de DCM sont ajoutés pour faire précipiter les sels. Le mélange obtenu est filtré puis le DCM est évaporé. Rendement 98%, il est alors obtenu 1,08g d'une huile rouille.

RMN¹H (400MHz, DMSO-d₆) : δ = 7,50 (1H, d, J=2,4Hz), 7,27 (1H, d, J=2,4Hz), 4,54 (2H, s), 3,93 (2H, d, J=6,8Hz), 3,87 (3H, s), 2,05 (1H, m, J=6,8Hz et J=6,4Hz), 0,99 (6H, d, J=6,4Hz).

MS (EI) : m/z = 265 (24, [M+2H]⁺), 264 (1, [M+H]⁺), 234 (18), 222 (3), 208 (13), 206 (100).

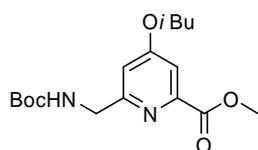
Méthyl 6-(aminométhyl)-4-isobutoxy-2-pyridine carboxylate (**7**)



Le composé **6** (2,26g, 8,58mmol, 1éq.) ainsi que PPh₃ (2,25g, 8,58mmol, 1éq.) sont introduits dans un ballon puis placés à la rampe à vide. Le mélange réactionnel est placé sous atmosphère d'azote, 30mL de THF sont ajoutés et le mélange est agité pendant 3 heures. 2,80mL d'eau sont ajoutés, le mélange réactionnel est placé à reflux pendant 1,5 heure. 60mL de toluène sont ajoutés puis les solvants sont évaporés jusqu'à obtention de 30mL de mélange.

RMN¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 7,71 (1H, d, J=1,6Hz), 7,48 (1H, d, J=1,6Hz), 4,60 (2H, s), 3,99 (3H, s), 3,97 (2H, d, J=7,2Hz), 2,05 (1H, m, J=7,2Hz et J=6,8Hz), 1,03 (6H, d, J=6,8Hz).

Méthyl 6-{[(tert-butoxycarbonyl)amino]méthyl}-4-isobutoxy-2-pyridine dicarboxylate (**8**)



L'anhydride de di-tert-butyl-dicarboxylate (12,87mmol, 2,8g, 1,5éq.) ainsi que la DMAP (1,64mmol, 200mg, 0,2éq.) sont ajoutés au mélange précédemment obtenu. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante sous atmosphère d'azote pendant 16 heures, extrait et lavé avec un mélange eau/DCM, séché sur MgSO₄ puis filtré. Le DCM est évaporé et le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther/cyclohexane/DCM 60/30/10 v:v:v). Il est obtenu 2,18g de **8** soit un rendement de 75%.

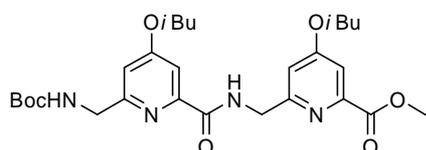
RMN-¹H (400MHz, CDCl₃): δ = 7,54 (1H, d, J=2,0Hz), 6,98 (1H, d, J=2,0Hz), 4,45 (2H, d, J=6Hz), 3,98 (3H, s), 3,82 (2H, d, J=6,8Hz), 2,11 (1H, m, J=6,8Hz et J=6,8Hz), 1,46 (9H, s), 1,03 (6H, d, J=6,8Hz).

RMN-¹³C (100MHz, CDCl₃): δ = 166,7 ; 165,7 ; 160,1 ; 155,9 ; 148,9 ; 111,0 ; 110,9 ; 79,6 ; 74,7 ; 52,9 ; 46,0 ; 28,3 ; 28,0 ; 19,0.

MS (EI): m/z = 339 (8, [M+H]⁺), 338 (6, [M]⁺), 283 (44), 265 (12), 238 (31), 122 (17).

IR (KBr): ν (cm⁻¹): 3390, 3105, 2967, 2873, 1716, 1688, 1598, 1471, 1436, 1419, 1367, 1332, 1286, 1269, 1252, 1171, 1110, 1045, 894, 865, 791, 765.

Dimère (**10**)



Saponification: **8** (927mg, 2,74mmol 1éq.), LiOH (115mg, 4,11mmol, 1,5éq.), THF (10mL), eau (10mL). L'acide **8a** est obtenu avec un rendement de 100%.

Déprotection de l'amine: **8** (510mg, 1,51mmol, 1éq.), TFA (931μL, 12,08mmol, 12éq.), DCM (5mL). L'amine **8b** est obtenue avec un rendement de 100%.

Couplage: **8a** (490mg, 1,51mmol, 1éq.), **8b** (360mg, 1,51mmol, 1éq.), DIEA (1,31mL, 7,55mmol, 5éq.), HBTU (860mg, 2,27mmol, 1,5éq.), HOBt (204mg, 1,51mmol, 1éq.), DMF (40mL). Après purification par chromatographie flash sur gel de silice (éther/cyclohexane/DCM: 60/30/10 v:v:v). Il est obtenu 707mg d'un solide jaune **10** soit un rendement de 86%.

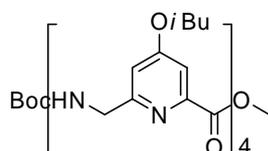
RMN-¹H (400MHz, CDCl₃): δ = 8,90 (1H, bs), 7,63 (1H, d, J=2,0Hz), 7,57 (1H, d, J=2,0Hz), 7,06 (1H, d, J=2,0Hz), 6,90 (1H, d, J=2,0Hz), 4,79 (2H, d, J=6Hz), 4,39 (2H, d, J=5,2Hz), 4,01 (3H, s), 3,83 (4H, m, J=6,8Hz et J=7,6Hz), 2,11 (2H, m, J=6,8Hz, J=7,6Hz et J=6,4Hz), 1,45 (9H, s), 1,02 (12H, d, J=6,4Hz).

RMN-¹³C (100MHz, CDCl₃): δ = 167,2 ; 166,0 ; 164,7 ; 159,8 ; 158,7 ; 156,3 ; 151,2 ; 149,2 ; 112,1 ; 111,3 ; 111,0 ; 107,1 ; 75,0 ; 75,0 ; 55,9 ; 53,3 ; 45,2 ; 28,7 ; 28,3 ; 19,5.

MS (EI): m/z = 545 (1, [M+H]⁺), 544 (2, [M]⁺), 510 (5), 444 (6), 427 (8), 237 (30), 224 (17), 180 (28).

IR (KBr): ν (cm⁻¹): 3385, 3307, 3109, 3068, 2953, 2874, 1716, 1685, 1602, 1576, 1527, 1473, 1445, 1356, 1335, 1270, 1248, 1207, 1173, 1140, 1115, 1041, 895, 866, 790, 767.

Tétramère (**11**)



Saponification: **10** (310mg, 0,57mmol, 1éq.), LiOH (36mg, 0,86mmol, 1,5éq.), THF (3mL), eau (3mL). L'acide **10a** est obtenu avec un rendement de 100%.

Déprotection de l'amine: **10** (301mg, 0,55mmol, 1éq.), TFA (510μL, 4,4mmol, 12éq.), DCM (5mL). L'amine **10b** est obtenue avec un rendement de 100%.

Couplage: **10a** (292mg, 0,55mmol, 1éq.), **10b** (253mg, 0,55mmol, 1éq.), DIEA (476μL, 2,75mmol, 5éq.), HBTU (325mg, 0,86mmol, 1,5éq.), HOBt (77mg, 0,57mmol, 1éq.), DMF (15mL). Après purification par chromatographie flash (acétate d'éthyle/toluène 40/60 v:v) Il est obtenu 402mg de **11** soit un rendement de 73%.

CCM: Rf(**11**)=0,44 (MeOH/Et₃N/DCM :4/1/95 v:v:v)

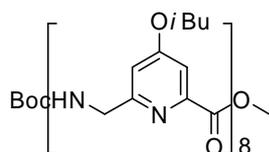
RMN-¹H (400MHz, CDCl₃): δ = 9,03 (1H, bs), 8,94 (1H, bs), 8,86 (1H, bs), 7,80 (1H, d, J=6,8Hz), 7,69 (1H, d, J=7,6Hz), 7,58 (2H, s), 7,52 (1H, s), 7,06 (1H, s), 6,96 (1H, s), 6,88 (1H, d, J=15,2Hz), 5,58 (1H, s), 4,75 (4H, s), 4,61 (2H, d, J=4,8Hz), 4,28 (2H, d, J=4,0Hz), 3,87 (3H, s), 3,78 (8H, d, J=5,6Hz), 2,07 (4H, m, J=5,6Hz et J=5,6Hz), 1,37 (9H, s), 0,99 (24H, d, J=5,6Hz).

RMN-¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 166,9 ; 166,9 ; 166,5 ; 165,2 ; 164,3 ; 164,2 ; 159,2 ; 158,3 ; 157,6 ; 157,5 ; 150,4 ; 150,3 ; 148,3 ; 128,5 ; 127,7 ; 124,8 ; 111,5 ; 111,4 ; 111,2 ; 110,6 ; 110,5 ; 110,2 ; 110,1 ; 74,5 ; 74,3 ; 52,4 ; 45,1 ; 44,3 ; 44,1 ; 44,0 ; 27,8 ; 27,5 ; 18,6.

MS (maldi) : m/z = 957,35 [M+H]⁺, 974,34 [M+Na]⁺.

IR (NaCl) ν (cm⁻¹) : 3351, 3094, 3053, 2962, 2916, 2875, 1718, 1668, 1600, 1568, 1520, 1445, 1361, 1328, 1251, 1174, 1141, 1041, 877, 844, 790, 736.

Octamère (12)



Saponification : **11** (100mg, 0,10mmol, 1éq.), LiOH (20mg, 0,48mmol, 4,5éq.), THF (1mL), eau (1mL). L'acide **11a** est obtenu avec un rendement de 100%.

Déprotection de l'amine : **11** (100mg, 0,10mmol, 1éq.), TFA (130μL, 1,6mmol, 16éq.), DCM (1mL). L'amine **11b** est obtenue avec un rendement de 100%.

Couplage : **11a** (99mg, 0,10mmol, 1éq.), **11b** (90mg, 0,10mmol, 1éq.), DIEA (91μL, 0,5mmol, 5éq.), HBTU (60mg, 0,15mmol, 1,5éq.), HOBt (14mg, 0,10mmol, 1éq.), DMF (3mL). Après purification par chromatographie flash (acétate d'éthyle/toluène 40/60 v:v) Il est obtenu 121mg de l'oligomère **12** soit un rendement de 65%.

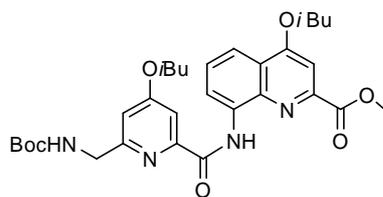
RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 9,34 (1H,bs), 9,26 (1H, bs), 9,09 (2H, bs), 9,04 (1H, bs), 8,91 (1H, bs), 8,79 (1H, bs), 7,60 (1H, d, J=2Hz), 7,57 (1H, d, J=2Hz), 7,56 (1H, d, J=2,4Hz), 7,52 (1H, d, J=1,6Hz), 7,45 (3H, bs), 7,41 (1H, s), 6,96 (1H, s), 6,95 (2H, d, J=2Hz), 6,94 (1H, s), 6,90 (1H, s), 6,88 (1H, s), 6,82 (1H, s), 6,79 (1H, s), 6,19 (1H, bs), 4,78 (2H, d, J=4Hz), 4,72 (2H, d, J=5,6Hz), 4,65 (4H, d, J=2Hz), 4,60 (4H, m), 4,52 (2H, d, J=3,2Hz), 4,31 (2H, d, J=3,6Hz), 3,91 (3H, s), 3,83 (2H, d, J=4,8Hz), 3,79-3,70 (10H, m), 3,64 (2H, d, J=5,2Hz), 3,54 (2H, d, J=4,8Hz), 2,05 (8H, m), 1,18 (9H, s), 1,03-0,94 (42H, m), 0,87 (6H, d, J=6Hz).

RMN-¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 167,3 ; 167,1 (2C) ; 167,1 (3C) ; 167,0 ; 166,7 ; 165,6 ; 165,0 ; 164,7 (3C) ; 164,4 ; 164,2 ; 164,1 ; 159,7 ; 158,5 ; 158,3 ; 158,2 ; 157,7 (2C) ; 157,0 ; 156,8 ; 156,0 ; 151,1 ; 151,1 ; 150,9 ; 150,9 ; 150,9 ; 150,8 ; 150,4 ; 148,7 ; 111,7 ; 111,4 ; 111,4 (2C) ; 111,2 ; 111,1 ; 110,9 ; 110,9 ; 110,6 ; 107,5 ; 107,3 ; 107,2 ; 107,1 ; 107,0 ; 106,9 ; 106,8 ; 79,1 ; 74,8 ; 74,7 (2C) ; 74,6 (5C) ; 52,8 ; 45,6 ; 45,0 (2C) ; 44,8 ; 44,6 (2C) ; 44,0 ; 43,9 ; 28,1 (3C) ; 28 (3C) ; 27,9 (3C) ; 27,8 (2C) ; 19,0 (3C) ; 19,0 (12C) ; 18,9.

MS (maldi) : m/z = 1803,94 [M+Na]⁺.

IR (NaCl) ν (cm⁻¹) : 3339, 3077, 3044, 2962, 2916, 2875, 1704, 1671, 1601, 1568, 1527, 1444, 1357, 1327, 1263, 1163, 1138, 1039, 871, 790, 737.

Dimère Pyridine/Quinoline (14)



L'acide **8a** (486mg, 1,50mmol, 1éq.) ainsi que PyBop (781mg, 1,50mmol, 1éq.) sont introduits dans un ballon puis dissous dans 15mL de DCM distillé sous atmosphère d'azote. La DIEA distillée (520μL, 3mmol, 2éq.) puis l'amine **13** dissoute dans 1mL de DCM distillé sont ajoutées. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 heures à température ambiante. La phase organique est lavée avec 2×15mL d'une solution de bicarbonate de sodium saturée, 1×15mL d'une solution d'acide citrique à 5% massique,

1×15mL d'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis filtrée. Le DCM est évaporé à l'évaporateur rotatif. Le mélange obtenu est repris dans 5mL de méthanol, placé à 4°C pendant une nuit, puis est filtré. Il est obtenu 696mg d'un solide jaune soit un rendement de 80%.

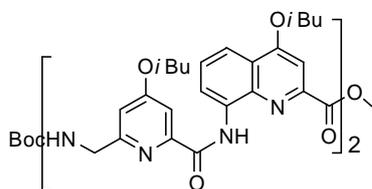
RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) : δ 12,61 (1H, s), 8,96 (1H, d, J=7,2Hz), 7,96 (1H, d, J=8,4Hz), 7,73 (1H, d, J=2,0Hz), 7,65 (1H, t, J=8,0Hz et J=8,0Hz), 7,60 (1H, s), 6,98 (1H, d, J=2,0Hz), 6,09 (1H, s), 4,58 (2H, d, J=5,6Hz), 4,11 (3H, s), 4,07 (2H, d, J=6,8Hz), 3,89 (2H, d, J=6,4Hz), 2,31 (1H, m, J=6,4Hz et J=6,4Hz), 2,14 (1H, m, J=6,8Hz et J=6,8Hz), 1,37 (9H, s), 1,16 (6H, d, J=6,4Hz), 1,05 (6H, d, J=6,8Hz)

RMN-¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 167,8 ; 166,1 ; 163,3 ; 162,6 ; 159,0 ; 156,7 ; 151,7 ; 147,2 ; 139,7 ; 135,2 ; 128,7 ; 122,5 ; 117,6 ; 116,1 ; 111,2 ; 107,3 ; 101,5 ; 79,7 ; 75,4 ; 70,9 ; 53,4 ; 45,9 ; 28,6 (3C) ; 28,5 ; 28,3 ; 19,5 (2C) ; 19,4 (2C).

MS (maldi) : m/z = 581,16 [M+H]⁺, 603,15 [M+Na]⁺, 619,11 [M+K]⁺.

IR (KBr) ν (cm^{-1}): 3340, 3300, 3081, 2963, 2932, 2874, 1721, 1682, 1602, 1574, 1531, 1470, 1441, 1421, 1384, 1360, 1333, 1265, 1177, 1110, 1043, 994, 966, 913, 867, 818, 761, 723.

Tétramère (15)



Saponification : **14** (109mg, 0,19mmol, 1éq.), KOH (32mg, 0,57mmol, 3éq.), THF (3mL), MeOH (1mL). L'acide **14a** est obtenu avec un rendement de 100%.

Déprotection de l'amine : **14** (100mg, 0,17mmol, 1éq.), TFA (104 μ L, 1,36mmol, 8éq.), DCM (1,5mL). L'amine **14b** est obtenue avec un rendement de 100%.

Couplage : **14a** (96mg, 0,19mmol, 1éq.), **14b** (82mg, 0,17mmol, 1éq.), DIEA (147 μ L, 0,85mmol, 5éq.), HBTU (97mg, 0,26mmol, 1,5éq.), HOBt (23mg, 0,17mmol, 1éq.), DMF (4,5mL). Il est obtenu 104mg d'un solide jaune **15** soit un rendement de 65%.

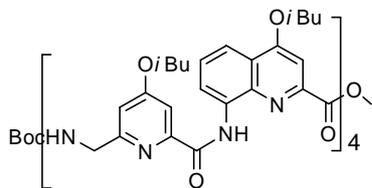
RMN-¹H (400MHz, CDCl_3) : δ 12,14 (1H, s), 11,79 (1H, s), 9,52 (1H, s), 8,65 (2H, s), 7,96 (2H, d, $J=8,4\text{Hz}$), 7,79 (1H, s), 7,71 (1H, s), 7,57 (1H, t, $J=7,6\text{Hz}$ et $J=7,6\text{Hz}$), 7,52 (1H, t, $J=7,6\text{Hz}$ et $J=7,6\text{Hz}$), 7,42 (1H, s), 7,21 (1H, s), 7,12 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 6,75 (1H, s), 5,64 (1H, s), 5,11 (2H, d, $J=4,8\text{Hz}$), 4,14 (2H, d, $J=6,8\text{Hz}$), 3,99 (2H, d, $J=6,4\text{Hz}$), 3,94 (2H, d, $J=3,2\text{Hz}$), 3,89 (2H, d, $J=6,4\text{Hz}$), 3,84 (2H, d, $J=6,4\text{Hz}$), 3,66 (3H, s), 2,33 (2H, m, $J=6,4\text{Hz}$ et $J=6,8\text{Hz}$), 2,14 (2H, m, $J=6,8\text{Hz}$ et $J=8\text{Hz}$), 1,21 (9H, s), 1,19 (6H, d, $J=6,8\text{Hz}$), 1,18 (6H, d, $J=6,8\text{Hz}$), 1,05 (12H, m, $J=8\text{Hz}$)

RMN-¹³C (100MHz, CDCl_3) : δ = 167,6 ; 167,1 ; 165,2 ; 164,7 ; 163,2 ; 162,7 ; 161,9 ; 161,4 ; 158,8 ; 157,6 ; 155,7 ; 151,6 ; 150,8 ; 149,7 ; 146,4 ; 139,3 ; 138,3 ; 134,5 ; 134,0 ; 127,9 ; 127,3 ; 122,0 (2C) ; 117,4 ; 117,0 ; 116,2 ; 115,9 ; 110,7 ; 109,6 ; 107,5 ; 107,0 ; 101,0 ; 99,1 ; 79,2 ; 75,3 ; 75,0 ; 74,8 ; 74,6 ; 52,5 ; 45,3 ; 44,9 ; 28,2 (4C) ; 28,0 (3C) ; 19,3 (2C) ; 19,2 (2C) ; 19,0 (4C).

MS (maldi) : m/z = 1029,20 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 1051,22 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

IR (KBr) ν (cm^{-1}): 3395, 3319, 3082, 2962, 2931, 2874, 1720, 1683, 1602, 1572, 1531, 1470, 1421, 1385, 1358, 1330, 1267, 1173, 1114, 1045, 993, 967, 916, 867, 818, 760, 724.

Octamère (16)



Saponification : **15** (72mg, 0,07mmol, 1éq.), KOH (12mg, 0,21mmol, 3éq.), THF (1,5mL), MeOH (0,5mL). L'acide **15a** est obtenu avec un rendement de 100%.

Déprotection de l'amine : **15** (72mg, 0,07mmol, 1éq.), TFA (44 μ L, 0,56mmol, 8éq.), DCM (1mL). L'amine **15b** est obtenue avec un rendement de 100%.

Couplage : **15a** (71mg, 0,07mmol, 1éq.), **15b** (65mg, 0,07mmol, 1éq.), DIEA (61 μ L, 0,35mmol, 5éq.), HBTU (40mg, 0,11mmol, 1,5éq.), HOBt (10mg, 0,07mmol, 1éq.), DMF (2mL). Il est obtenu 103mg de l'oligomère **16** soit un rendement de 77%.

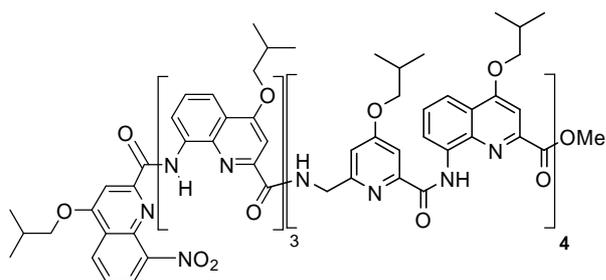
RMN-¹H (400MHz, CDCl_3) : δ 12,24 (1H, s), 11,66 (2H, s), 11,44 (1H, s), 9,09 (1H, bs), 8,90 (1H, bs), 8,72 (1H, d, $J=7,2\text{Hz}$), 8,64 (1H, bs), 8,45 (2H, m), 8,07 (1H, d, $J=7,2\text{Hz}$), 7,76-7,23 (10H, m), 7,18 (5H, m), 7,05 (1H, s), 6,94 (1H, s), 6,77 (1H, s), 6,76 (3H, m), 5,24 (1H, bs), 4,53 (2H, bs), 4,23 (2H, bs), 4,03 (2H, d, $J=6,0\text{Hz}$), 3,97 (2H, d, $J=6\text{Hz}$), 3,88-3,81 (12H, m), 3,66 (2H, d, $J=6,0\text{Hz}$), 3,57 (5H, m), 2,32 (3H, m), 2,20 (1H, m), 2,06 (3H, m), 1,90 (1H, m), 1,27 (9H, s), 1,25-0,88 (48H, m).

RMN-¹³C (100MHz, CDCl_3) : δ = 167,7 ; 167,4 ; 167,3 ; 164,8 ; 164,7 ; 164,1 ; 162,9 ; 162,8 ; 162,1 ; 161,9 ; 161,4 ; 161,0 ; 159,3 ; 158,5 ; 155,6 ; 151,7 ; 151,4 ; 151,3 ; 151,2 ; 148,6 ; 148,5 ; 146,3 ; 138,5 ; 138,0 ; 137,6 ; 137,5 ; 134,3 ; 133,8 ; 133,5 ; 133,1 ; 128,1 (2C) ; 127,6 (2C) ; 127,3 ; 127,1 ; 126,7 ; 125,6 ; 121,7 ; 121,6 ; 121,3 ; 121,2 ; 117,5 ; 116,5 ; 116,4 ; 116,3 ; 116,2 ; 116,0 ; 115,7 ; 115,6 ; 110,7 ; 109,9 ; 109,6 (2C) ; 107,3 ; 107,0 ; 106,8 ; 106,5 ; 100,6 ; 99,0 ; 98,4 (2C) ; 79,4 ; 75,1 (2C) ; 74,7 (4C) ; 74,6 (2C) ; 52,5 ; 45,9 ; 45,3 ; 45,1 ; 44,4 ; 28,3 (2C) ; 28,2 (2C) ; 28,1 (2C) ; 28,0 (3C) ; 27,9 ; 27,3 ; 19,7 (2C) ; 19,4 (3C) ; 19,3 (3C) ; 19,2 (3C) ; 19,1 (3C) ; 19,0 (2C).

MS (maldi) : m/z = 1925,38 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 1947,49 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1963,39 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

IR (NaCl) ν (cm^{-1}): 3386, 3307, 3055, 2960, 2934, 2874, 1715, 1681, 1601, 1566, 1531, 1469, 1422, 1385, 1356, 1330, 1265, 1176, 1117, 1046, 994, 969, 916, 868, 819, 736, 705.

Oligomère (**18**)



Déprotection de l'amine : oligomère **16** (20mg, 0,01mmol, 1éq.), TFA (10 μ L, 0,08mmol, 8éq.), DCM (1mL). L'amine est obtenue avec un rendement de 100%.

Couplage : tétramère quinoline acide **17** (12mg, 0,012mmol, 1,2éq.), amine **16b** (18mg, 0,01mmol, 1éq.), DIEA (10 μ L, 0,05mmol, 5éq.), HBTU (6mg, 0,06mmol, 1,5éq.), HOBt (1mg, 0,01mmol, 1éq.), DMF

(1,6mL). Il est obtenu 20mg de l'oligomère **18** soit un rendement de 71%.

RMN-¹H (400MHz, CDCl₃) : δ 11,27 (2H, s), 11,02 (2H, s), 10,72 (1H, s), 10,63 (1H, s), 10,40 (1H, s), 10,34 (1H, s), 8,45 (1H, bt), 8,29 (1H, bs), 8,27 (1H, d, $J=7,2$ Hz), 8,24 (1H, d, $J=7,6$ Hz), 8,19 (1H, d, $J=8,0$ Hz), 8,13 (2H, bs), 7,95 (1H, d, $J=7,6$ Hz), 7,88 (1H, d, $J=8,0$ Hz), 7,83 (1H, d, $J=8,0$ Hz), 7,73 (2H, m), 7,68-7,63 (3H, m), 7,57 (1H, s), 7,34 (2H, m), 7,30 (1H, s), 7,23-7,00 (11H, m), 6,93 (2H, m), 6,80 (1H, s), 6,69 (1H, s), 6,65 (1H, s), 6,42 (2H, bs), 6,38 (1H, s), 6,37 (1H, s), 6,33 (1H, s), 6,30 (1H, s), 6,28 (1H, s), 6,01 (1H, s), 6,00 (1H, s), 4,19-4,13 (2H, bm), 4,03-3,99 (2H, bm), 3,95-3,55 (22H, m), 3,26 (1H, d, $J=16,0$ Hz), 3,06 (2H, m), 2,93 (3H, s), 2,43-2,04 (16H, m), 1,93 (1H, d, $J=16,0$ Hz), 1,28-1,03 (72H, m).

RMN-¹³C (100MHz, CDCl₃) : pas assez de produit

MS (maldi) : $m/z = 2824,23$ [M+H]⁺.

Références bibliographiques

- ¹ Hanessian, S.; Papeo, G.; Fettis, K.; Therrien, E.; Viet, M. T. P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 489.
- ² Oren, Z.; Shai, Y. *Biochemistry* **2000**, *39*, 6103-6114.
- ³ Porter, E. A.; Wang, X.; Lee, H. S.; Weisblum, B.; Gellman, S.H. *Nature* **2000**, *404*, 565.
- ⁴ Porter, E. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7324.
- ⁵ Raguse, T. L.; Porter, E. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12774.
- ⁶ Werder, M.; Hauser, H.; Abele, S.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta.* **1999**, *82*, 1774.
- ⁷ Hamuro, Y.; Schneider, J. P.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 12200.
- ⁸ Liu, D.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7553.
- ⁹ Hintermann, T.; Gademan, K.; Jaun, B.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta.* **1998**, *81*, 983.
- ¹⁰ Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R.; Michnick, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569.
- ¹¹ Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4925.
- ¹² Szabo, L.; Smith, B. L.; McReynolds, K. D.; Parill, A. L.; Morris, E. R.; Gervay, J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1074.
- ¹³ Long, D. D.; Hungerford, N. L.; Smith, M. D.; Brittain, D. E. A.; Marquess, D. G.; Claridge, T. D. W.; Fleet, G. W. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2195.
- ¹⁴ Jiang, H.; Léger, J.-M.; Dolain, C.; Guionneau, P.; Huc, I. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8365.
- ¹⁵ Schmitt, M. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6848.
- ¹⁶ Keller, D.; Clausen, R.; Josefsen, K.; Led, J. J. *Biochemistry* **2001**, *40*, 10732.
- ¹⁷ Kittaka, A.; Sugano, Y.; Otsuka, M.; Ohno, M. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 2821.
- ¹⁸ Valenta, V.; Bartosova, M.; Protiva, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1980**, *45*, 517.
- ¹⁹ Schreiner, P. T.; Scleyer, P. V. R.; Hill, R. K. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2822.
- ²⁰ Honda, T.; Namiki, H.; Satoh, F. *Organic Letters* **2001**, *3*, 631.
- ²¹ Dourtoglou, V.; Gross, B. *Synthesis Communications.* **1984**, 572.
- ²² Knorr, R.; Trzeciak, A.; Bannwarth, W.; Gillessen, D. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927.
- ²³ Dourtoglou, V.; Ziegler, J. C.; Gross, B. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 1269.
- ²⁴ Carpino, L. A.; El-Faham, A.; Minor, C. A.; Albericio, F. *Chem. Commun.* **1994**, 201.
- ²⁵ H. Jiang, J.-M. Léger, I. Huc, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3448.
- ²⁶ Dolain, C.; *thèse, Université Bordeaux I* **2004**.
- ²⁷ Dolain, C.; Grélard, A.; Laguerre, M.; Jiang, H.; Maurizot, V.; Huc, I. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6135.
- ²⁸ Slutsky, M. M.; Jones, T. V.; Tew, G. N. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 342.
- ²⁹ Schneider, J. P.; Kelly, J. W.; *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2169.
- ³⁰ Kemp, D. S.; Curran, T. P. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4931.
- ³¹ Groebke, K.; Renold, P.; Tsang, K. Y.; Allen, T. J.; McClure, K. F.; Kemp, D. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 4025.
- ³² Tuchscherer, G.; Mutter, M. *Journal of Biotechnology* **1995**, *41*, 197.
- ³³ Miyagawa, T.; Yamamoto, M.; Muraki, R.; Onouchi, H.; Yashima, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3676.
- ³⁴ Johnson, N. P.; Lindstrom, J.; Baase, W. A.; von Hippel, P. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 4840.

- ³⁵ Hunter, C. A.; Spitaleri, A.; Tomas, S. *Chem. Commun.* **2005**, 3691.
- ³⁶ Jiang, L.; Okano, J.; Orita, A.; Otera, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2121.
- ³⁷ Brüggeman, J.; Bitter, S.; Müller, S.; Müller, W. M.; Müller, U.; Maier, N. M.; Linder, W.; Vögtle, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 254.
- ³⁸ Feigel, M.; Ladberg, R.; Engels, S.; Herbst-Irmer, R.; Fröhlich, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5698.
- ³⁹ Ghosh, S.; Ramakrishnan, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3264.
- ⁴⁰ Gabriel, G. J.; Sorey, S.; Iverson, B. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2637.
- ⁴¹ Zhang, W.; Horoszewski, D.; Decatur, J.; Nuckolls, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4870.

Chapitre IV

Conception, Synthèse et Etudes de structures tertiaires protéomimétiques

Une partie du travail présenté dans ce chapitre a donné lieu à une publication. Une seconde publication est en cours de rédaction.

Delsuc, N.; Léger, J.-M.; Massip, S; Huc, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 214.

Introduction

Comme il a été vu dans le chapitre I, parvenir à synthétiser et caractériser des structures tertiaires natives est un enjeu qui suscite un grand intérêt. L'apparition des foldamères au cours de ces quinze dernières années est un apport considérable dans ce domaine. Alors que le développement de structures tertiaires constituées de foldamères en est à ses balbutiements, les récents développements présentés dans l'étude bibliographique permettent d'envisager ce champ d'application avec beaucoup d'enthousiasme.

En effet, les foldamères permettent de concevoir des structures secondaires avec un faible nombre de résidus ; la prévisibilité et la stabilité du repliement de certains d'entre eux sont de surcroît des atouts qu'il est possible d'exploiter pour simplifier la complexité des phénomènes d'auto-assemblage ou d'auto-organisation régissant la formation de structures tertiaires et quaternaires protéiques. A l'heure actuelle, seuls des foldamères dits bioinspirés sont utilisés dans ce but, puisqu'ils ont intrinsèquement des caractéristiques de solubilité et de repliement similaires à celles des peptides naturels.

Le travail de l'équipe d'Ivan Huc, présenté dans le chapitre II, permet d'entrevoir la perspective d'utiliser des foldamères abiotiques pour l'élaboration de structures tertiaires en faisceaux d'hélices. En effet, les structures hélicoïdales adoptées par les oligomères dérivés de l'acide 8-amino-2-carboxylique sont prévisibles et très stables.^{1,2} De plus, les efforts effectués pour en synthétiser des versions hydrosolubles montrent le désir de davantage s'installer dans le domaine biomimétique.^{3,4,5}

Ce chapitre a pour but de mettre au point une nouvelle stratégie permettant l'élaboration de structures tertiaires protéomimétiques. Afin de simplifier leur réalisation et leur étude, dans un premier temps, seules des versions organosolubles et covalentes (unimoléculaires) seront synthétisées. Les interactions tertiaires seront uniquement le fait de contacts entre les hélices, liés à la conception des systèmes en eux-mêmes. De cette manière, il est possible de s'affranchir totalement de l'effet hydrophobe, qui est la force motrice majeure des auto-assemblages couramment présentés mais dont la sélectivité est difficile à contrôler. Dans un second temps, pour concevoir des structures de grande taille, l'auto-assemblage d'hélices par coordination de métaux sera utilisé afin de donner des édifices multimoléculaires.

1. Conception de faisceaux d'hélices

1.1 Elaboration des structures

L'objectif de ce travail est l'étude de structures tertiaires synthétiques ressemblant à celles adoptées par les protéines. Nous envisageons de synthétiser une famille de structures tertiaires, les faisceaux d'hélices. Le sens d'hélicité de chaque hélice constituant la structure n'étant pas contrôlé de façon absolue, les interactions dites « tertiaires », c'est-à-dire entre hélices, pourront être caractérisées à travers la communication du sens d'hélicité d'une hélice à l'autre. En effet, si une hélice impose un sens d'hélicité à une autre hélice, à laquelle elle est connectée latéralement, alors cette forme de communication peut être attribuée à des interactions « tertiaires » de nature stérique ou électrostatique.

Dans le but de mettre en évidence de tels phénomènes, il est nécessaire d'avoir accès facilement et rapidement à des molécules de grandes tailles. Il est impératif de prendre en compte la faisabilité de la synthèse et de proposer une stratégie différente de celle utilisée en synthèse peptidique ; celle-ci, requérant un grand nombre d'étapes en ligne et ne permettant pas de synthétiser des quantités importantes de produit. C'est pourquoi, pour l'obtention des faisceaux d'hélices, nous proposons ici une architecture branchée, où chaque branche hélice-espaisseur-hélice, est reliée covalamment par son centre à un « lien » (Figure 1).

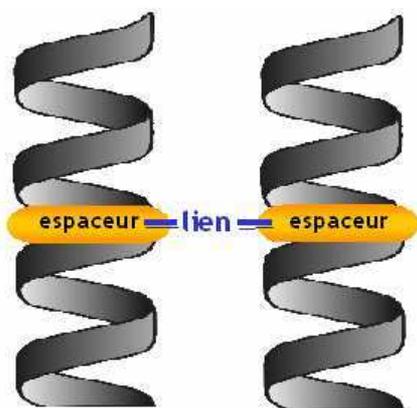


Figure 1. Représentation schématique de la stratégie employée.

La méthode de synthèse privilégiée sera alors similaire à celle utilisée dans l'élaboration de dendrimères. La synthèse débute depuis le cœur, le « lien », puis, une première génération consiste à ajouter les espaceurs et enfin une deuxième, à ajouter les segments hélicoïdaux.

1.2 Les « liens »

La conception de systèmes de ce type offre la possibilité d'obtenir une grande diversité structurale à travers le choix du « lien ». Il est possible d'envisager la synthèse de faisceaux à deux ou trois d'hélices (Figure 2) ou même davantage. Dans le but d'obtenir une variété structurale intéressante, deux « liens » ont été utilisés : l'éthylène glycol (faisceau à deux hélices) et le 1,3,5 tris hydroxyméthylbenzène (faisceau à trois hélices).

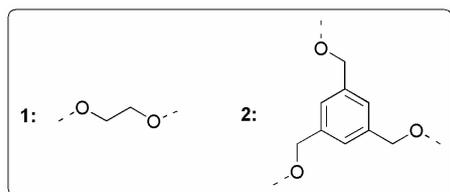


Figure 2. Les différents « liens ». **1.** l'éthylène glycol. **2.** le 1,3,5 tris hydroxyméthylbenzène.

1.3 L'espaceur

L'espaceur a été incorporé afin de faciliter la synthèse de ces structures tertiaires. En effet, sa symétrie permet de concevoir une synthèse convergente où un segment hélicoïdal peut être attaché à chacune de ses fonctions amines. De plus la symétrie qu'il introduit au sein de la structure doit simplifier la signature spectroscopique des composés et donc leurs analyses, en particulier par RMN-¹H.

Il est nécessaire que l'espaceur s'insère parfaitement dans le motif hélicoïdal, de manière à ne pas avoir d'interruption du sens d'hélicité. Chaque bloc, hélice-espaceur-hélice, sera donc une seule et même hélice. Fort des connaissances acquises sur l'introduction d'un espaceur au sein de motifs hélicoïdaux (chapitre II), l'espaceur 2,6-bis(aminométhyle)-4-hydroxypyridine a été choisi pour remplir ce rôle (Figure 3).

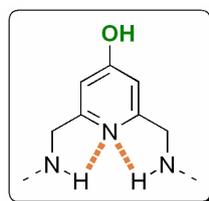


Figure 3. Espaceur 2,6-bis (aminométhyle)-4-hydroxypyridine. En rouge sont représentées les probables liaisons hydrogène.

Ce motif présente l'avantage de posséder un azote endocyclique, potentiellement donneur de liaison d'hydrogène. De plus, il possède des amines aliphatiques relativement nucléophiles et un groupement hydroxy qu'il est possible de fonctionnaliser. La vérification de l'hypothèse selon laquelle ce motif n'interrompt pas la conformation hélicoïdale devra être préalablement effectuée.

1.4 Les segments hélicoïdaux

Les hélices seront greffées lors de la dernière étape de la synthèse. Elles doivent posséder une fonction acide afin de les coupler aux fonctions amines de l'espaceur. De plus, leur conformation doit être bien définie et stable. Les oligomères constitués d'unités quinolines sont par conséquent de bons candidats. Ils permettent d'obtenir des conformations hélicoïdales stables relativement simplement. De plus, il est possible de synthétiser des hélices de différentes tailles (en fonction du nombre de résidus) afin d'observer l'influence de la longueur des hélices sur la conformation adoptée (Figure 4).

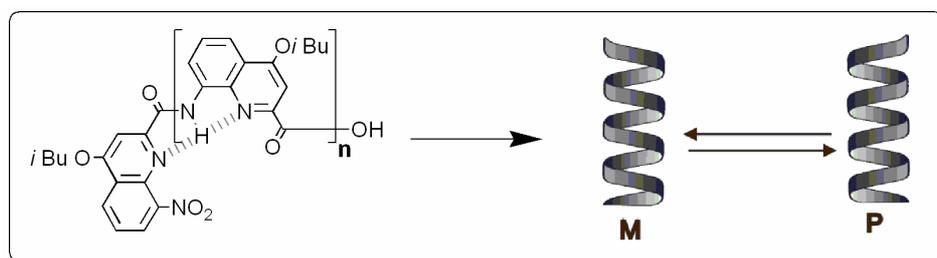


Figure 4. Oligomères quinolines acides de différentes tailles ($n = 3, 4$ et 7) se repliant en hélice

Il a été délibérément choisi de ne pas contrôler le sens d'hélicité de ces oligomères afin de permettre au système d'adopter la conformation thermodynamiquement la plus stable. Il sera aussi possible par ce biais de mettre en évidence les interactions tertiaires par des études du sens d'hélicité relatif des blocs hélice-espaceur-hélice.

1.5 Exemples de structures

Préalablement à la synthèse de ces structures, des calculs de minimisation ont été réalisés. Ceux-ci ont été effectués par Ivan Huc afin d'avoir une idée des conformations auxquelles il était possible de s'attendre. La validité de ces calculs est cependant limitée puisque chaque branche a été conçue sur le modèle d'une hélice canonique (transmission du sens d'hélicité de l'espaceur) et que la conformation du lien a été imposée (*trans* dans le cas du lien éthylène glycol et, de symétrie C_3 dans le cas du lien 1,3,5 tris hydroxyméthylbenzène). Dans le cas des faisceaux à deux hélices, il ne semble pas y avoir de contacts stériques entre les hélices et donc pas de communication. En revanche, pour les faisceaux à trois hélices, compte tenu des distances observées, les chaînes latérales des résidus situés à l'extrémité des segments hélicoïdaux, sont susceptibles d'interagir (Figure 5).

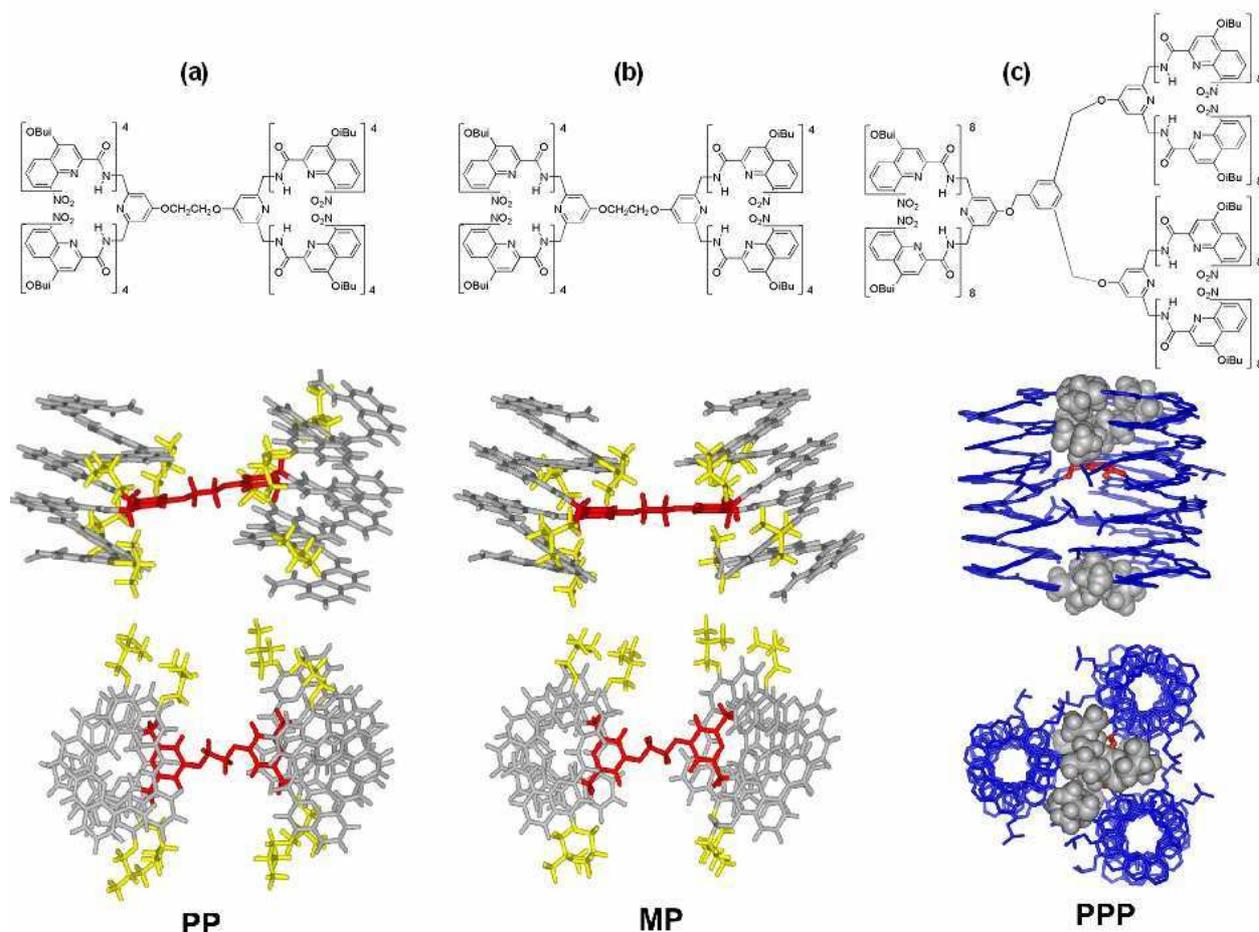


Figure 5. Structures modélisées (minimisation d'énergie) dans le champ de forces MM3, en haut, vue latérale, en bas vue de dessus. **(a)** Conformation PP d'un faisceau à deux hélices où le lien éthylène glycol et les espaceurs pyridiniques sont représentés en rouge, les chaînes latérales des résidus susceptibles d'interagir en jaune et où les segments hélicoïdaux sont des tétramères de quinolines (en gris). **(b)** Conformation MP de la même molécule. **(c)** Conformation PPP d'un faisceau à trois hélices où le linker tris-hydroxyméthylbenzène est représenté en rouge, les chaînes isobutyles des résidus susceptibles d'interagir en gris et où les segments hélicoïdaux sont des octamères (en bleu).

2. Validation de l'espaceur

Comme il a été dit auparavant, l'espaceur doit impérativement conserver le sens d'hélicité au sein du bloc hélice-espaceur-hélice. L'objet de cette partie sera par conséquent la vérification de la validité du choix qui a été effectué.

2.1 Synthèse de l'espaceur

La synthèse de l'espaceur, 2,6-bis(aminométhyle)-4-hydroxypyridine, s'effectue à partir de l'acide chélidamique dont toutes les fonctions sont préalablement protégées par un éther et des esters de benzyle. Les esters subissent ensuite une aminolyse par l'ammoniac et

les amides ainsi obtenus sont réduits par des hydrures de bore. La diamine en résultant est alors protégée par des groupements carbamates de tertiobutyle (Schéma 1).

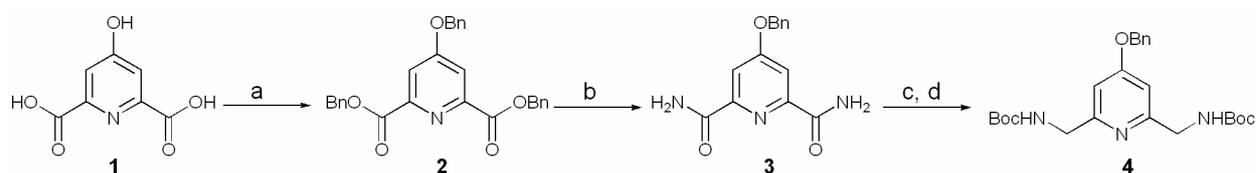


Schéma 1. Synthèse de l'espaceur protégé. **a** BnBr, K₂CO₃, NaI, acétone, t.a., 48h, 73%. **b** NH₃ (g), MeOH, t.a., 2h, 81%. **c** BH₃, THF, 70°C, 68h puis MeOH, 70°C, 48h, quant. **d** BocOBoc, THF, t.a., 24h, 75%.

Le produit obtenu **4** présente deux fonctions aminométhyles protégées et un éther de benzyle qu'il est aisé de cliver afin de retrouver la fonction hydroxy de la pyridine.

2.2 Etude d'un oligomère de référence

Un oligomère constitué de deux segments hélicoïdaux (dont la chiralité n'est pas contrôlée) reliés entre eux par l'espaceur a été synthétisé (Schéma 2).

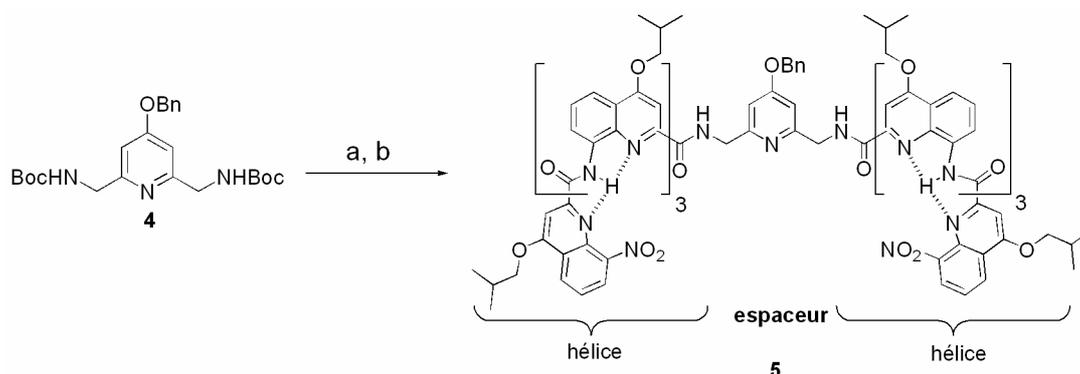


Schéma 2. Synthèse de l'oligomère **5**. **a** TFA, DCM, t.a., 3h, quant. **b** Tétramère acide, HBTU, HOBT, DIEA, DMF, t.a., 48h, 65%.

L'oligomère **5** permettra de vérifier si l'espaceur transmet le sens d'hélicité d'un segment hélicoïdal à l'autre. En effet, si celui-ci s'insère dans l'hélice, ne seront obtenues que les espèces homochirales PP/MM. En revanche, s'il ne possède pas une forte propension à l'hélicité, il sera obtenu un mélange entre les espèces homochirales PP/MM et l'espèce méso PM, et enfin s'il s'agit d'un centre d'inversion, il sera obtenu uniquement l'espèce méso PM.

Dans en premier temps, les études en solution par RMN ¹H ont révélées la présence d'un seul jeu de signaux (Figure 6 b). De plus, ces signaux sont fins ce qui suggère l'absence d'un équilibre entre les conformères PP/MM et PM. Il est alors possible d'en déduire la

présence d'une seule espèce en solution, l'espèce homochirale *ou* l'espèce méso. Par conséquent, l'espaceur s'insère parfaitement dans le motif hélicoïdal ou constitue un centre d'inversion.

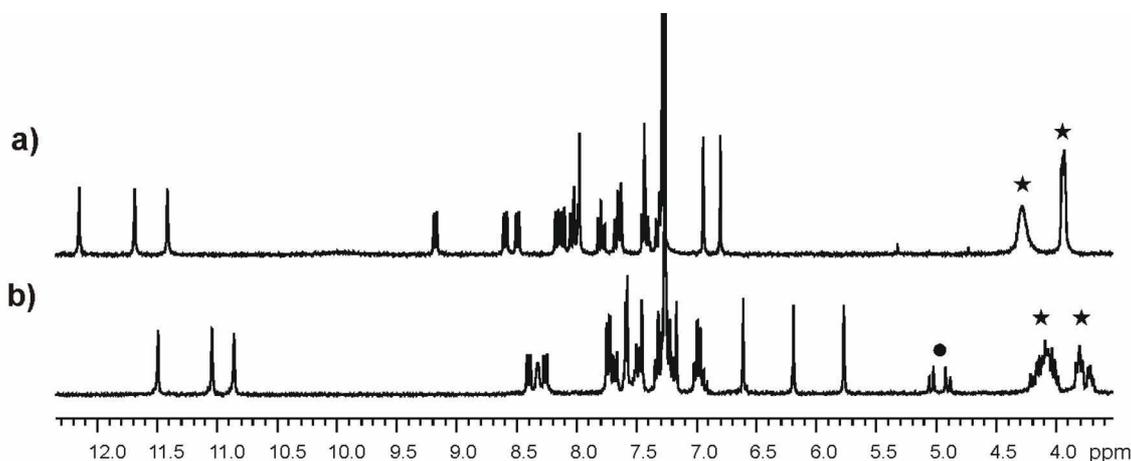


Figure 6. Spectres RMN ^1H 400 MHz dans CDCl_3 de **a)** Tétramère acide. **b)** Oligomère **5**. Les astérisques désignent les méthylènes des chaînes isobutoxy et le cercle le méthylène de la chaîne benzyloxy de l'espaceur.

La diastéréotopie des signaux du méthylène benzylique (4,9 ppm, cercle, Figure 6 b) ainsi que celle des méthylènes des chaînes isobutoxy (3,9 ppm, astérisques, Figure 6 b) suggèrent un ralentissement important de l'équilibre d'inversion du sens d'hélicité. A température ambiante, l'équilibre d'inversion du sens d'hélicité d'un tétramère est rapide au temps de la RMN ; les méthylènes des chaînes isobutoxy apparaissent sous la forme d'un large signal et d'un doublet (astérisques, Figure 6 a). En revanche, ces mêmes méthylènes d'un octamère apparaissent sous forme de doublets de doublets du fait du ralentissement de l'équilibre d'inversion. Ce ralentissement est également indicateur de l'insertion de l'espaceur dans le motif hélicoïdal : l'équilibre entre PP et MM s'il s'agit de l'espèce homochirale, ou l'équilibre entre PM et MP (espèces dégénérées) s'il s'agit de l'espèce méso, est lent car il requiert l'inversion de deux segments tétramériques. A ce stade des investigations, il n'est tout de même pas possible de trancher. Cet oligomère a pu, par la suite, être cristallisé et un monocristal a été analysé par diffraction des rayons X.

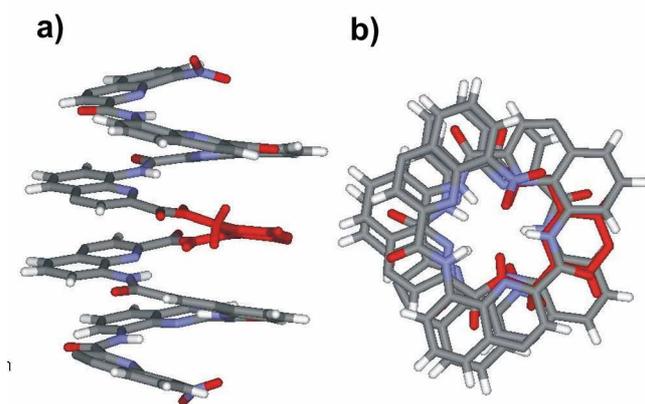


Figure 7. Structure cristalline de l'oligomère 5. **a)** Vue latérale. **b)** Vue de dessus. Les chaînes latérales ainsi que les molécules de solvant ont été omises pour plus de clarté. L'espaceur est représenté en rouge.

La résolution de la structure révèle une conformation homochirale où l'espaceur est complètement incorporé dans l'hélice (Figure 7). Le pas et le nombre de résidus par tour ne sont pas modifiés par cette introduction. Il s'agit donc d'un bon candidat pour l'élaboration de structures plus complexes présentées précédemment.

3. Synthèse des oligomères

3.1 Synthèse des plates formes espaceur-lien-espaceur

Le greffage de l'espaceur sur le lien est réalisé grâce à une réaction de Mitsunobu entre les fonctions alcool des liens et la fonction hydroxy de l'espaceur. Cependant, le 1,3,5-tris(hydroxyméthyl)-benzene n'étant pas commercial, il a fallu synthétiser ce triol (Schéma 3 b).

La réaction de Mitsunobu permet ensuite l'addition d'autant d'espaceurs que de fonctions hydroxy portées par les différents liens. Malgré la présence des sous-produits inhérents à cette réaction (oxyde de triphénylphosphine...), les produits ont pu être isolés et purifiés avec des rendements corrects (Schéma 3 c et d).

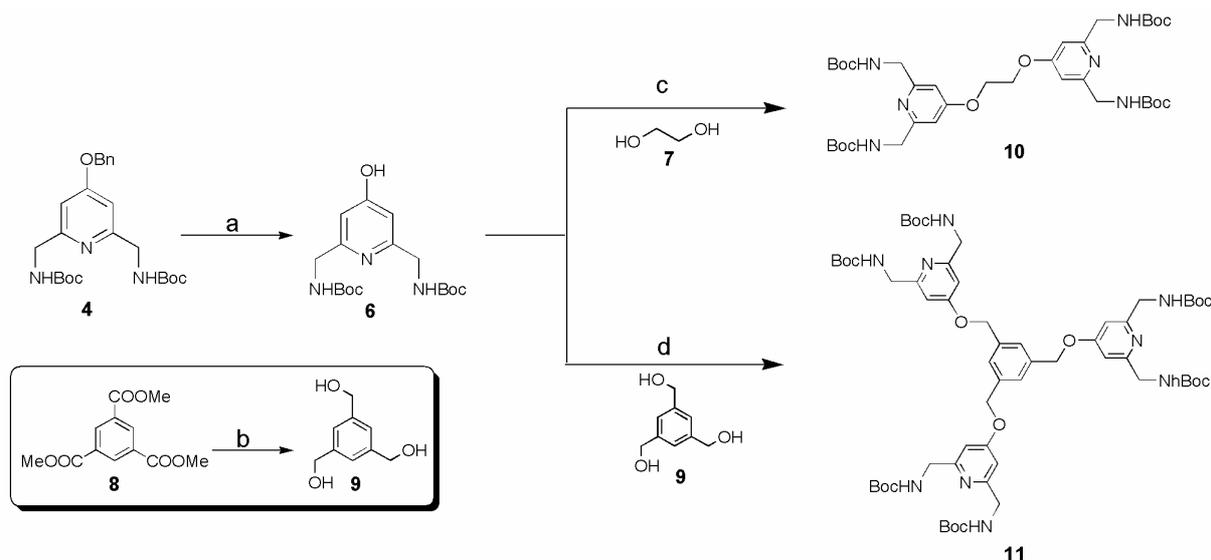


Schéma 3. Synthèse des plates formes espaceur-lien-especeur. **a** H₂, Pd black, MeOH/EtOAc, t.a., 16h, 80%. **b** LiAlH₄, THF, 70°C, 5h, 90%⁶. **c** PPh₃, DIAD, THF, t.a., 16h, 89%. **d** PPh₃, DIAD, THF, t.a., 16h, 66%.

3.2 Couplages

L'obtention d'une grande variété de structures nécessite la synthèse de nombreux oligomères. La diversité pourra être introduite par le lien (cf précédemment) mais aussi par la longueur des segments hélicoïdaux. C'est pour cela que cinq oligomères ont été synthétisés. Tous les couplages entre les espaceurs et les segments hélicoïdaux acides ont été réalisés dans des conditions classiques de synthèse peptidique, en utilisant HBTU et HOBt. L'efficacité de cette réaction, liée à l'importante réactivité des fonctions amines benzyliques, permet l'introduction simultanée de tous les segments hélicoïdaux malgré la taille importante de ceux-ci. Compte tenu du fait que la réaction est effectuée quatre ou six fois, les rendements se sont avérés très satisfaisants (Tableau 1). Une purification précautionneuse des oligomères acides a été requise afin de limiter toutes les réactions de couplage parasites (réaction avec des impuretés, par exemple des oligomères de plus petite taille...). Ceci a permis ultérieurement de simplifier les étapes de purification des oligomères finaux.

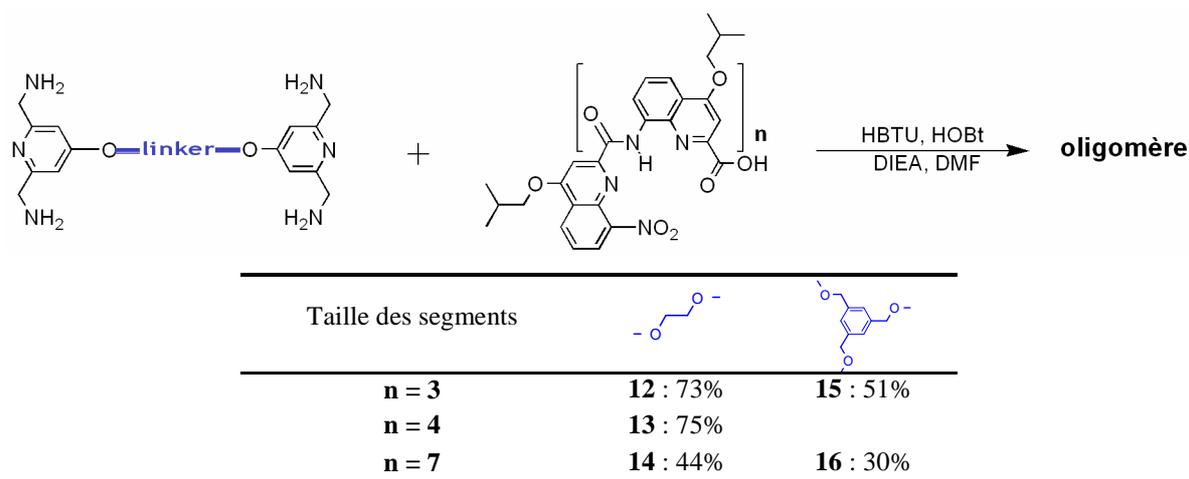


Tableau 1. Rendements des réactions de couplage. Les oligomères **12** à **16** ont été synthétisés en utilisant les mêmes conditions expérimentales.

Quand les produits de couplage n'ont pas précipité, les oligomères ont été purifiés par chromatographie sur gel de silice et par chromatographie d'exclusion stérique (GPC : Gel Permeation Chromatography). La présence des produits attendus a été contrôlée par spectrométrie de masse. Afin de vérifier que toutes les fonctions amines avaient effectivement réagi, les plaques CCM ont été révélées à la ninhydrine. Aucune d'entre elles n'a présenté une coloration marron, caractéristique de la présence d'une fonction amine libre.

4. Analyses structurales

Comme il a été montré précédemment, des oligomères de différentes tailles et de différentes symétries ont été synthétisés. Ils constituent de bons supports pour l'étude de la communication entre les hélices du faisceau par le biais de contact entre chaînes latérales et pour ainsi mettre en évidence l'existence d'interactions tertiaires.

4.1 Les faisceaux à deux hélices

4.1.1 Observation des espèces présentes en solution

Au cours de cette étude dans le chloroforme deutérié, le sens d'hélicité n'est pas contrôlé. La symétrie de l'architecture étant conservée en solution, il est attendu pour le lien éthylène glycol, un mélange 1/1 entre les espèces PP/MM et PM qui ont toutes deux des signatures spectroscopiques différentes (ce sont des diastéréoisomères). Toute divergence par

rapport à la distribution statistique 50/50 entre les espèces homo et hétérochirales pourra être attribuée à une forme de communication entre les hélices conduisant à la stabilisation d'une espèce ou à la déstabilisation de l'autre. Les facteurs qui peuvent amener ces préférences sont principalement d'ordre stérique puisque les chaînes latérales ne portent aucun groupement susceptible d'apporter des interactions spécifiques dans les solvants organiques.

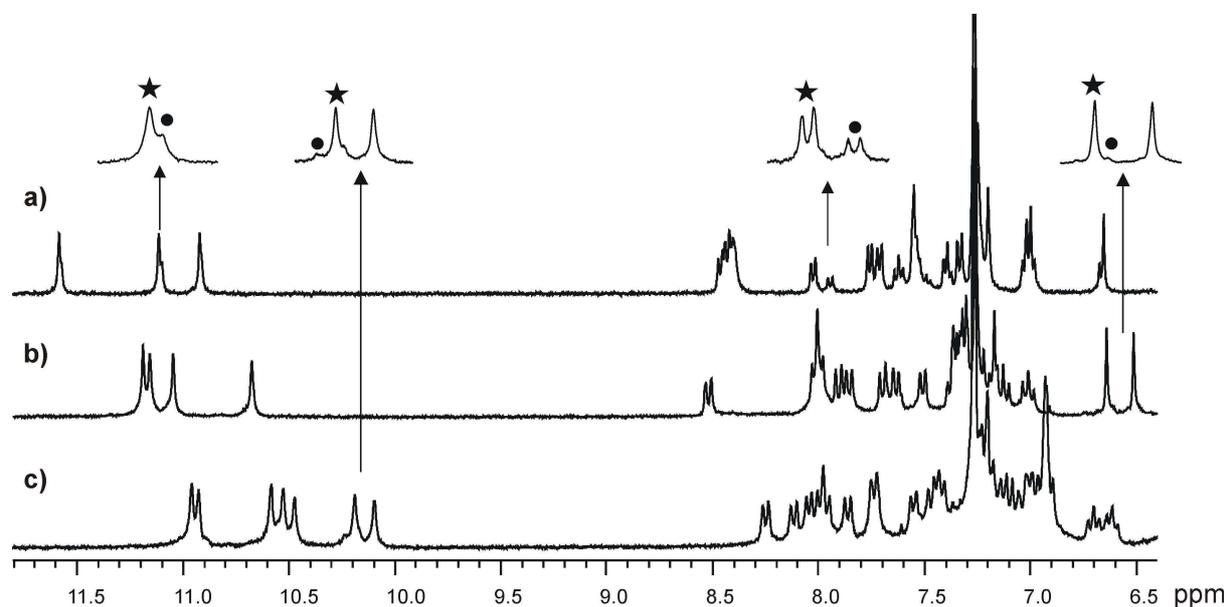


Figure 8. Spectres RMN ^1H 300 MHz dans CDCl_3 des oligomères a) **12**. b) **13**. c) **14**. Les astérisques désignent l'espèce majoritaire et les cercles pleins l'espèce minoritaire

Comme le montre la Figure 8, les études en solution semblent montrer une espèce très majoritaire. La question principale est de savoir si une seule espèce est effectivement favorisée ou bien si les espèces diastéréomériques PP/MM et PM ont en fait des spectres superposables et ne peuvent être distinguées. Un examen attentif de ces spectres révèle quelques signaux minoritaires. L'attribution des signaux majoritaires et des signaux minoritaires aux deux diastéréomères présents en solution, et non pas à des impuretés, peut être validée sans ambiguïté par le fait qu'en changeant le solvant, les proportions entre ces deux espèces changent (voir section 4.1.4). En résumé, les spectres montrent que les espèces PP/MM et PM coexistent, que la majorité de leurs signaux se superposent, et que les signaux permettant de les distinguer révèlent une déviation par rapport à la distribution statistique. Les espèces PP/MM et PM ne sont pas équiprobables. En particulier, lorsque l'on augmente la longueur des hélices, on observe une préférence accrue pour l'une des deux espèces. (74/26 pour **12**, 7/93 pour **13** et 7/93 pour **14**). L'attribution de l'espèce majoritaire PP/MM ou PM

ne peut être déduite directement du spectre RMN, des investigations plus approfondies ont alors été menées.

4.1.2 Conformation dans le solide

Malgré la taille importante (similaire à celle de petites protéines) des composés **12**, **13** et **14**, des cristaux ont été obtenus relativement facilement et leur structure cristalline a pu être déterminée par J.-M. Léger (Professeur, université Bordeaux II) et S. Massip (Assistant Ingénieur, université Bordeaux II) avec une très bonne résolution.

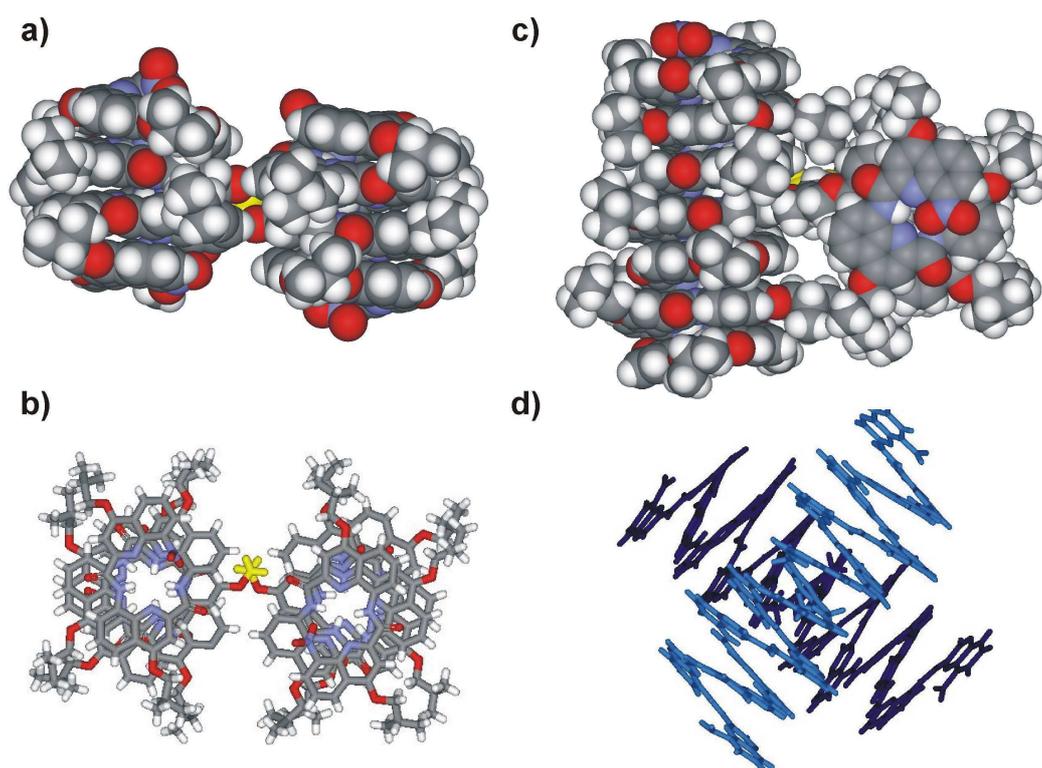


Figure 9. Structures cristallines. a) Vue latérale en CPK de l'oligomère **12**. b) Vue de dessus de l'oligomère **12**. c) Vue de dessus en CPK de l'oligomère **14**. d) Vue latérale de l'oligomère **14**. Le linker est représenté en jaune.

Les deux premières à avoir été résolue sont celles des composés **12** et **14**. Dans ces deux structures le lien éthylène glycol adopte une conformation *gauche*, alors qu'une conformation *trans* aurait peut-être davantage écarté les deux hélices et ainsi diminué les répulsions stériques. La conformation *trans* est certainement accessible en solution mais la conformation *gauche* conduit à une structure plus compacte, sans doute favorisée dans l'empilement cristallin. La structure cristalline de l'oligomère **12**, révèle une structure où les deux hélices sont parallèles et ont le même sens d'hélicité PP ou MM (Figure 9 a et b). La structure cristalline de l'oligomère **14**, révèle, quant à elle, une conformation où les hélices sont orientées perpendiculairement et ont un sens d'hélicité opposé (PM) (Figure 9 c et d).

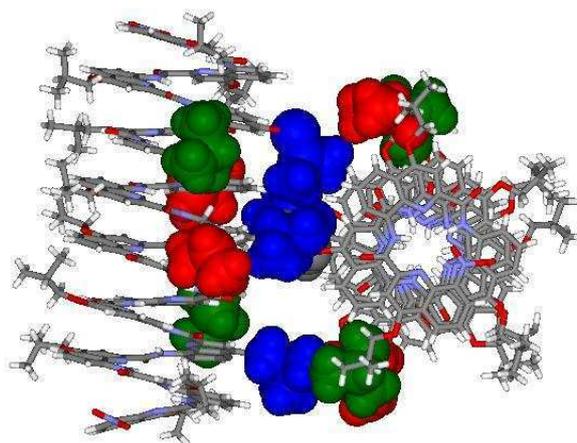


Figure 10. Structure cristalline de l'oligomère **14**. Les chaînes latérales des résidus en position 5, 3 et 2 sont représentés par des sphères de van der Waals bleues, vertes et rouges respectivement. Le lien éthylène glycol est représenté en gris

Cette orientation particulière semble être due à des répulsions stériques entre les chaînes latérales des deux hélices. Si la numérotation des résidus débute à chaque extrémité C-terminale (au centre de chaque hélice), alors les résidus en position 5, 3 et 2 semblent intervenir dans ces interactions. En particulier, les chaînes latérales des résidus en position 5 de chaque segment hélicoïdal octamérique se retrouvent à l'interface hélice-hélice. Elles pourraient alors fortement contribuer aux répulsions (Figure 10).

C'est dans le but de vérifier cette hypothèse que l'oligomère **13** a été synthétisé. Cet oligomère est issu d'une hélice plus courte que **14** mais il possède tous les résidus mentionnés ci-dessus potentiellement impliqués dans des interactions stériques intramoléculaires, notamment le résidu 5. Comme il a été dit auparavant, il est vraisemblable que ces répulsions stériques soient à l'origine du basculement de la deuxième hélice dans une orientation perpendiculaire.

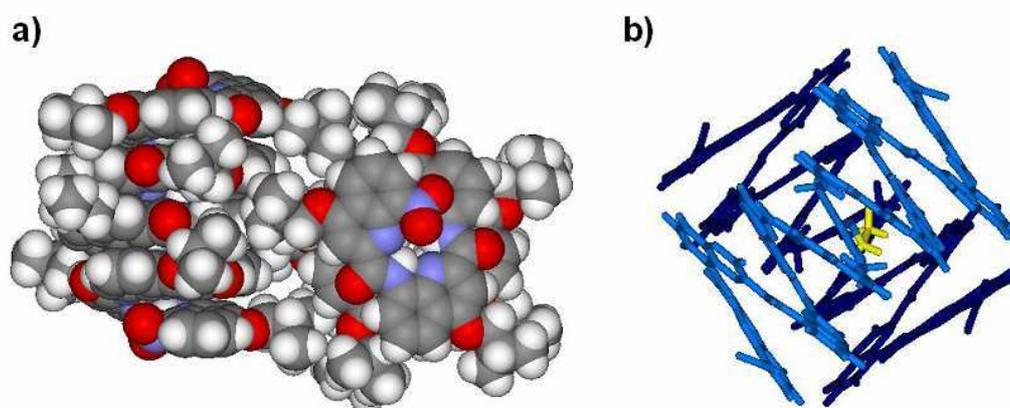


Figure 11. Structure cristalline de l'oligomère **13** révélant une conformation PM. a) Représentation en CPK, vue de haut. b) Vue latérale. Le lien éthylène glycol est représenté en jaune.

Comme le montre la structure cristalline de l'oligomère **13**, résolue très récemment, les deux hélices sont effectivement perpendiculaires et ont un sens d'hélicité opposé (Figure 11). Le lien éthylène glycol adopte également une conformation *gauche*. L'addition d'un monomère à chaque segment hélicoïdal (passage de **12** à **13**) a donc suffi à faire basculer l'orientation des deux hélices. Ceci met en exergue l'importance de ce résidu en position 5 et, en particulier, prouve que les hélices adoptent cette orientation afin de diminuer les interactions stériques entre les chaînes latérales de ces résidus.

4.1.3 Attribution des espèces présentes en solution

La résolution de la structure cristalline des composés **13** et **14** a permis d'attribuer sans ambiguïté les signatures spectroscopiques des espèces présentes en solution. En effet, les spectres RMN-¹H de monocristaux fraîchement dissous permettent d'observer le spectre de l'espèce cristallisée uniquement. Ces expériences ont révélé que pour les oligomères **13** et **14**, l'espèce cristallisée PM était effectivement l'espèce majoritaire en solution. La caractérisation de cette espèce *méso* souligne le fait qu'il était utile de ne pas contrôler le sens d'hélicité au moyen de résidus chiraux. En effet, si tous les segments hélicoïdaux avaient eu le même sens d'hélicité, seules les espèces PP ou MM auraient été observées, espèces qui ne sont pas, dans ces deux cas thermodynamiquement favorisées.

Pour l'oligomère **12**, ces expériences n'ont pas été possibles car l'inversion du sens d'hélicité s'est avérée trop rapide au temps de l'expérience (le spectre RMN d'un cristal fraîchement dissout montre que le système est déjà à l'équilibre). Ainsi une signature spectroscopique unique n'a pu être observée. Quoiqu'il en soit, il est intéressant d'observer que la préférence pour l'une des deux espèces est moins importante pour **12** (74/26) que pour **13** et **14** (93/7). Par conséquent, plus les segments hélicoïdaux sont grands plus la préférence pour une espèce est importante.

4.1.4 Influence du solvant

L'étude précédente a mis en évidence l'influence de la longueur des hélices sur leur orientation ainsi que sur les proportions des espèces en solution. Toutefois, ce n'est pas le seul paramètre pouvant moduler le ratio des deux espèces. Comme il a été montré antérieurement, l'équilibre conformationnel entre deux diastéréoisomères peut être sensible au solvant.^{7,8} Il est donc intéressant d'observer s'il est possible de favoriser l'un ou l'autre des diastéréoisomères par ce biais. Pour cela, des études en solution par RMN ¹H ont été réalisées pour les oligomères **12**, **13** et **14**.

Oligomères	CDCl ₃	toluène-d ₈	DMSO-d ₆	CDCl ₃ /MeOD (2/3)
Oligomère 12	74/26 [#]	58/42 [#]	50/50	77/23 [#]
Oligomère 13	7/93	insoluble (!)	50/50	16/84
Oligomère 14	7/93	70/30	50/50	20/80

Tableau 2. Détermination par RMN ¹H du ratio PP/MM sur PM. [#] désignent les ratios où les espèces PP/MM et PM n'ont pu être formellement identifiées.

Comme le montre le Tableau 2, il n'y a pas de communication entre les hélices dans le DMSO, elles peuvent être indifféremment P ou M. En revanche, dans le chloroforme ou dans un mélange chloroforme/méthanol (2/3), la communication est importante alors qu'elle est moindre dans le toluène. La conformation de l'oligomère **12** majoritairement représentée en solution (74% dans CDCl₃) pourrait être PP/MM. En effet, comme le montre la Figure 9 a, la conformation PP/MM est celle qui a cristallisé dans le dichloroéthane, ce qui peut laisser penser qu'il s'agit de l'espèce majoritaire en solution. On ne peut exclure cependant que l'espèce minoritaire ait cristallisé. Un point intéressant qui oppose l'oligomère **12** au composé **14** est que l'espèce qui prédomine, quelle qu'elle soit, est la même dans tous les solvants (hors le DMSO), ainsi que le montrent des spectres RMN dans des mélanges de solvants.

Pour l'oligomère **13**, le chloroforme favorise davantage l'espèce *méso* que le mélange CDCl₃/MeOD (2/3 v:v). Curieusement, ce composé n'est pas soluble dans les solvants aromatiques alors que les deux autres le sont.

En ce qui concerne le composé **14**, la préférence pour l'espèce *méso* dépend du solvant (de 93% dans le chloroforme à 80% dans le mélange chloroforme/méthanol). L'équilibre est cependant complètement déplacé dans les solvants aromatiques où la conformation PP/MM devient prédominante (de 7% dans CDCl₃ à 70% dans le toluène ou le benzène). Cette inversion a pu être mise en évidence par RMN par des ajouts successifs, après équilibration, de CDCl₃ dans le toluène-d₈ (Figure 12).

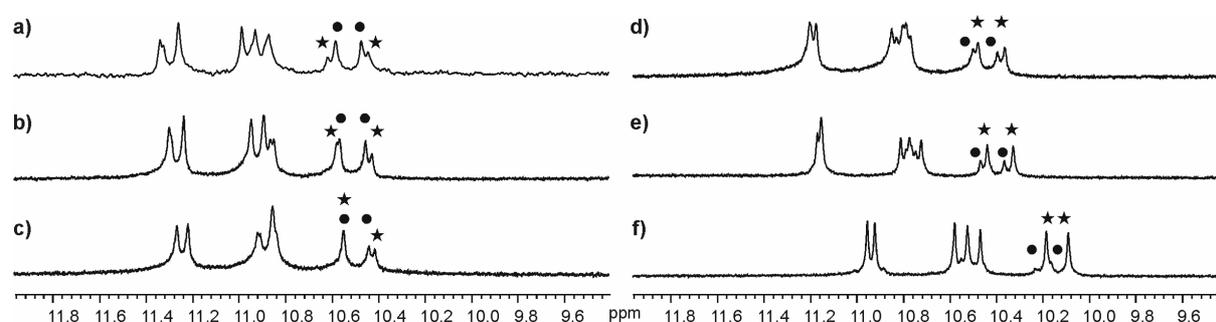


Figure 12. Résonance des protons amides par RMN ¹H (400 MHz) de l'oligomère **14** à l'équilibre dans le toluène-d₈, avec des ajouts successifs de CDCl₃: **a)** toluène-d₈ pur. **b)** 5% CDCl₃. **c)** 9% CDCl₃. **d)** 18% CDCl₃. **e)** 33% CDCl₃. **f)** CDCl₃ pur. Les cercles noirs désignent l'espèce PP/MM et les astérisques l'espèce PM.

L'observation de cette préférence conformationnelle différente dans le chloroforme et le toluène a conduit à l'étude de la cinétique d'inversion du sens d'hélicité dans ces deux solvants. Pour cela, des cristaux obtenus dans le dichloroéthane sont dissous dans le toluène et des cristaux obtenus dans le toluène sont dissous dans CDCl_3 . La lente interconversion des espèces peut être suivie par RMN puis extrapolée par des exponentielles décroissantes. De façon surprenante, l'inversion des hélices est plus rapide dans le toluène (temps caractéristique de 3,5h) que dans le chloroforme (temps caractéristique de 10h) à 25°C (Figure 13).

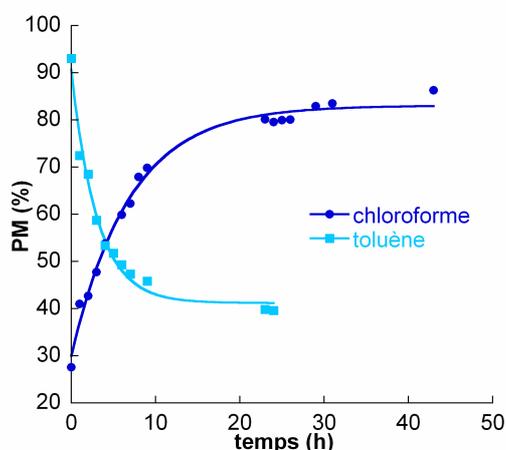


Figure 13. Cinétique d'interconversion des espèces PP/PM et PM effectuée par RMN ^1H . En bleu foncé, dans CDCl_3 , en bleu clair dans le toluène- d_8 .

L'origine de l'influence du solvant sur les proportions des deux espèces et sur leur vitesse d'interconversion n'est pas clairement établie. Cependant, la présence d'une molécule de dichloroéthane entre les deux hélices dans la structure cristalline de l'oligomère **14**, suggère que le solvant participe aux interactions hélice-hélice.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence des interactions hélice-hélice tertiaires au sein de structures synthétiques de tailles comparables à celles de petites protéines. La communication observée entre les hélices semble être le fait d'interactions stériques transmises par des molécules de solvant.

4.2 Les Faisceaux à trois hélices

Pour les faisceaux **15** et **16** construits avec le lien 1,3,5 tris hydroxyméthylbenzène présentant un axe de symétrie d'ordre 3, il est attendu en solution, un mélange entre seulement deux espèces PPP/MMM et PPM/MMP. Les proportions statistiques sont 1 pour 3, l'espèce hétérochirale étant plus probable du fait qu'elle est dégénérée. De même que précédemment, si les proportions des deux espèces divergent de cette distribution statistique,

alors il sera possible de mettre en évidence des interactions tertiaires. Un avantage escompté lors de la conception de cette molécule mais qui a été invalidé par l'expérience est que les deux espèces ont des symétries différentes et doivent, en principe, pouvoir être identifiées directement de part la multiplicité de leurs signaux RMN.

En effet, en RMN- ^1H , il est attendu pour l'espèce symétrique homohélicoïdale PPP/MMM un signal pour chaque type de protons amides (3 signaux pour les 6 tétramères de **15**, 7 signaux pour les 6 octamères de **16**). En revanche, pour l'espèce PPM/MMP, potentiellement, les hélices P et M ont des signatures spectroscopiques différentes. De plus, il est aussi envisageable que les deux hélices P ne « voient » pas l'hélice M de la même façon (elles sont diastéréomères). Il serait par conséquent possible d'observer trois jeux de signaux correspondants à chacune des hélices du faisceau. Ainsi pour un faisceau composé de tétramères, on pourrait avoir 9 signaux amides et 21 pour un faisceau d'octamères.

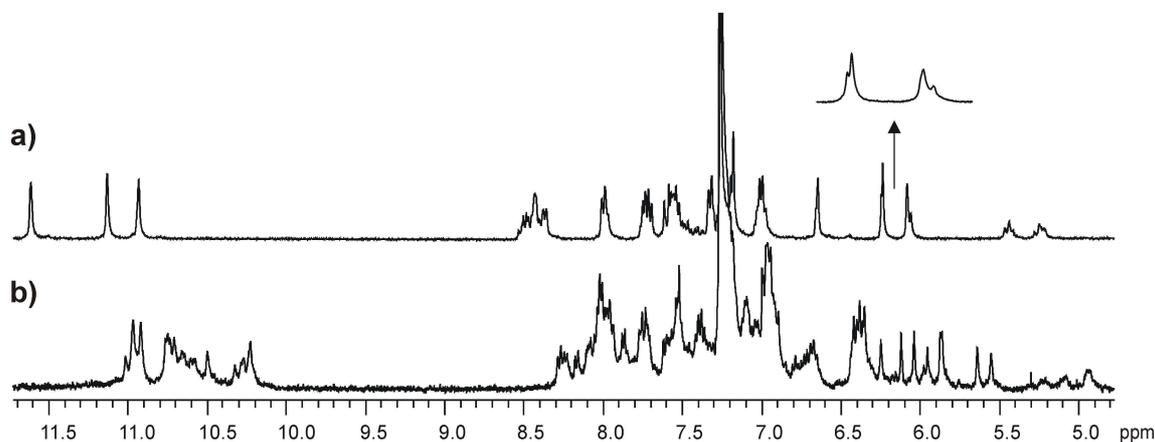


Figure 14. Spectres RMN ^1H 400 MHz dans CDCl_3 de a) l'oligomère **15**. b) l'oligomère **16**.

Le spectre RMN de l'oligomère **15** (Figure 14 a) se révèle être assez simple, la multiplicité des signaux semble être faible. L'espèce homochirale PPP/MMM pourrait être par conséquent l'espèce majoritaire puisque une symétrie importante est observée. Cependant, la présence d'épaulements sur certains des signaux suggèrent l'existence d'au moins une autre espèce. Il est possible qu'il s'agisse de l'espèce PPM/MMP qui présenterait alors une faible diastéréométrie (superposition des trois jeux de signaux attendus). A ce stade, compte tenu du faible étalement des signaux et en l'absence de structure cristalline, il n'est pas possible de conclure.

Lorsque que l'on augmente la longueur des segments hélicoïdaux (Figure 14 b), le spectre RMN de l'oligomère **16** révèle une complexité inattendue. Malgré les différentes étapes de purification (colonne chromatographie, chromatographie d'exclusion stérique,

chromatotron) et les tests pour vérifier la pureté de ce composé (chromatographie sur couche mince, révélation à la ninhydrine), il n'est pas possible d'exclure formellement la présence d'impuretés, notamment d'une structure dans laquelle non pas six mais seulement cinq oligomères quinolines auraient été couplés. Toutefois, même dans l'hypothèse où cet oligomère serait pur, le spectre RMN ne permet pas de distinguer les deux espèces PPP/MMM et PPM/MMP et il semble que la multiplicité des signaux soit trop importante. Cette trop grande multiplicité pourrait aussi s'expliquer par l'existence d'un équilibre conformationnel du lien qui induirait la perte de la symétrie C_3 , ce qui aurait pour conséquence de discriminer les espèces PPP et PPP* ou encore PPM*, PPM et P*PM (où * désigne l'hélice dont le bras du lien n'est pas orienté comme les deux autres) (Schéma 4).

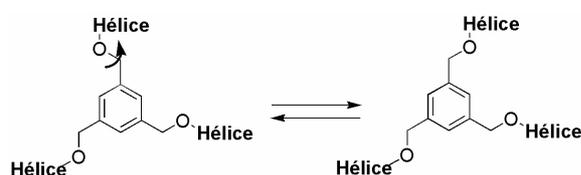


Schéma 4. Illustration de l'équilibre conformationnel possible induisant une perte de symétrie.

Cet équilibre conformationnel pourrait être, de plus, à l'origine du fait que nous n'ayons pas pu obtenir des cristaux de ces deux composés.

Des expériences sont encore envisagées pour poursuivre ce travail, notamment l'utilisation de réactifs de shift pour permettre un éclatement plus important du spectre RMN. De plus, il est aussi possible d'utiliser des segments hélicoïdaux bromés à des positions précises pour augmenter la cristallinité des oligomères (voir partie 5.1 pour exemple).

Afin d'accroître un peu plus la taille et la complexité de nos structures, en mettant en jeu davantage d'hélices, nous avons ensuite utilisé le concept de structures tertiaires auto-assemblées.

5. Structures tertiaires non covalentes

Un moyen efficace et convergent d'obtenir des structures tertiaires de grande taille est l'utilisation de la coordination de métaux. En effet, la formation de liaisons métal-ligand est une force motrice importante qui est souvent exploitée pour la formation de faisceaux d'hélices (chapitre I). Cette approche présente, par ailleurs, l'avantage de permettre

l'introduction d'une grande diversité structurale à travers le choix du métal (géométrie plan carré, tétraédrique ou octaédrique) et de la stoechiométrie du complexe.

Récemment, nous avons décidé de développer cette approche combinée à la stratégie synthétique décrite précédemment (Figure 15).

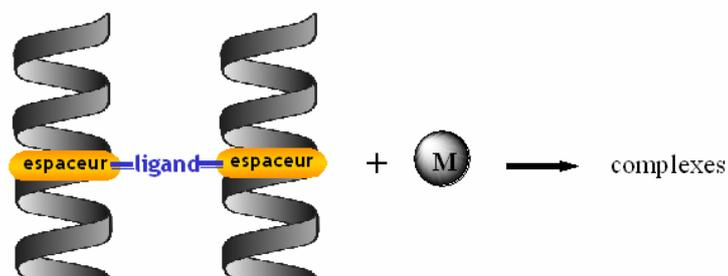


Figure 15. Illustration de la stratégie employée pour l'élaboration de structures de grandes tailles

L'espaceur et les segments hélicoïdaux sont les mêmes que ceux étudiés dans ce chapitre. Le lien qui est aussi le ligand est une 2,2'-bipyridine qui possède en 4 et 4' des fonctions hydroxyméthyles. Il sera alors à nouveau possible de lier l'espaceur et le ligand *via* une réaction de Mitsunobu. Enfin, les couplages entre la plate-forme et les segments hélicoïdaux ont été effectués dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment (Schéma 5).

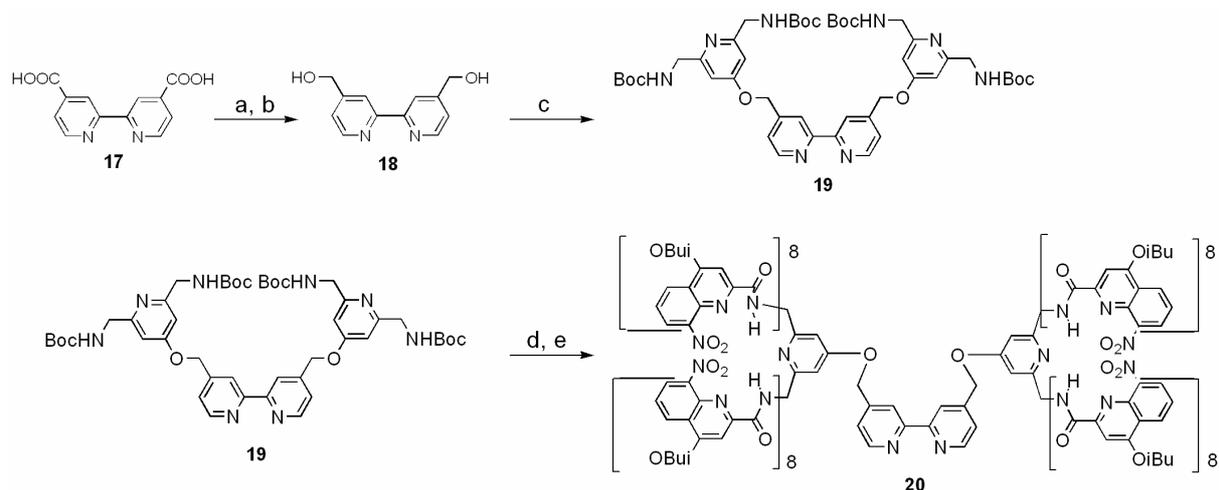


Schéma 5. Synthèse de l'oligomère **20**. **a.** EtOH, H₂SO₄, reflux, 16h, 75%. **b.** NaBH₄, EtOH, 40°C, 16h, 65%. **c.** **6**, PPh₃, DIAD, THF, t.a., 12h, 79%. **d.** TFA, DCM, t.a., 100%. **e.** Octamère acide, HBTU, HOBT, DIEA, DMF, t.a., 16h, 54%. La bipyridine est représentée en conformation *cis* pour la clarté du schéma alors qu'en réalité elle adopte une conformation *trans*.

L'oligomère **20** est ensuite complexé avec un équivalent de différents métaux de transition (Tableau 3). Les analyses par spectrométrie de masse n'ont pas permis de mettre en évidence la formation des complexes. Cependant, le fait de ne pas observer la masse attendue pour les complexes peut résulter de leur dissociation au cours de l'expérience. Des analyses par spectroscopie UV vont être menées très prochainement pour caractériser leur formation. En effet, l'apparition de bandes d'absorptions caractéristiques des complexes pourrait permettre de valider leur obtention.

Métaux	Pd (II)	Cu (II)	Co (II)	Fe (II)
Nbre d'équiv. oligomère 20	2	2	2	3

Tableau 3. Stoechiométrie des complexes synthétisés.

Les solides obtenus au cours des réactions de complexation ont été mis à cristalliser afin de pouvoir effectuer des études par diffraction des rayons X et ainsi observer leur conformation. De nombreuses conditions de cristallisation ont été testées. Il a été obtenu des cristaux pour certains complexes, cependant, la plupart des cristaux ne diffractaient pas ou étaient trop fragiles. C'est pourquoi, afin d'augmenter la cristallinité des complexes et de faciliter la résolution des structures cristallines, un nouveau ligand a été synthétisé. Il s'agit d'un dérivé de l'oligomère **20** où les segments hélicoïdaux ont été préalablement bromés. La bromation d'oligomères quinolines, étudiée par le Dr. S. Kolupula, (en stage post-doctoral dans le groupe d'Ivan Huc) a permis l'introduction sélective d'un brome en position 5 du noyau quinoline et ce, sur 7 des 8 noyaux constituant l'octamère. Après saponification l'octamère acide obtenu est couplé dans les mêmes conditions que celles décrites pour la synthèse de l'oligomère **20** (Schéma 6).

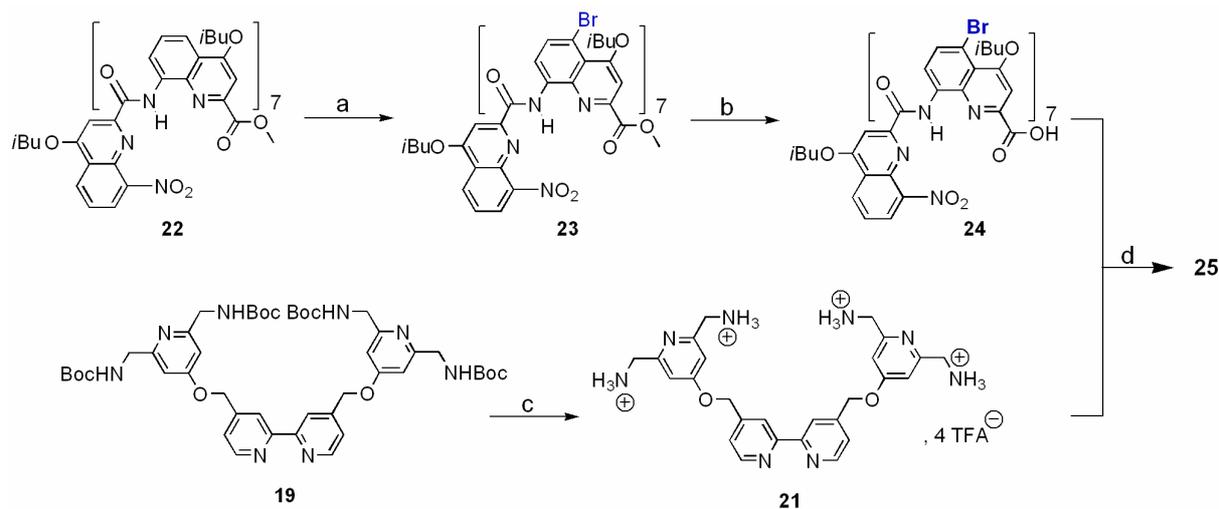


Schéma 6. Synthèse de l'oligomère **25**, dérivé bromé de l'oligomère **20**. **a.** NBS, DCE, 45°C, 13j, 79% **b.** NaOH, THF/MeOH, 40°C, 16h, . **c.** TFA, DCM, t.a., 6h, quant. **d.** HBTU, HOBt, DIEA, DMF, t.a., 16h, 57%.

A nouveau, l'oligomère **25** a été mis en jeu dans des complexations avec un équivalent de différents métaux (Tableau 4).

Métaux	Pd (II)	Cu (II)	Co (II)	Co (II)	Fe (II)
Nbre d'équiv. oligomère 25	2	2	2	3	3

Tableau 4. Stoechiométrie des complexes synthétisés.

Pour l'ensemble des complexes synthétisés, des cristaux ont été obtenus. La bromation des oligomères s'est révélée être fructueuse pour l'obtention de cristaux, il reste cependant à déterminer si cette stratégie simplifiera la résolution des structures cristallines. Ceci permettra alors d'observer l'orientation et la géométrie des édifices.

Des mesures de diffraction des rayons X ont pu être réalisées sur certains des cristaux. A ce jour, les jeux de données collectés sont en cours de traitement par le Dr. B. Kauffmann (Ingénieur de recherche en cristallographie à l' IECB). Dans le cas du complexe avec le fer, des cristaux obtenus par diffusion de méthanol dans un mélange dichoroéthane/acétonitrile ont révélé la présence du ligand uniquement. Ceci peut-être dû soit à une dissociation du complexe au cours de la cristallisation du fait des solvants utilisés (le méthanol fait précipiter le ligand mais solubilise le métal) soit à l'absence du complexe. C'est pourquoi, il apparaît essentiel de caractériser formellement la formation des différents complexes. Beaucoup d'efforts vont être investis dans ce sens.

Conclusion et perspectives

La stratégie adoptée pour la conception de structures protéomimétiques a donné accès à des faisceaux d'hélices de grandes tailles de façon convergente. La synthèse de ces édifices, malgré le nombre non négligeable d'étapes de synthèse a permis l'obtention de quantités significatives de ces mimes de protéines. Des interactions tertiaires ont alors pu être mises en évidence entre les hélices composant les faisceaux. Ce travail valide par conséquent l'utilisation d'oligomères abiotiques pour l'élaboration de structures tertiaires protéomimétiques.

L'utilisation de groupements hydrosolubilisants permettrait de davantage s'inscrire dans le domaine biomimétique. De plus si des hélices amphipathiques sont utilisées comme segments hélicoïdaux, l'effet hydrophobe deviendrait alors, aussi, une force qu'il serait possible d'exploiter.

Enfin, l'orientation des hélices au sein des structures présentées suggère qu'il est possible d'utiliser les chaînes latérales des résidus (et en particulier du 4^{ème} résidu des séquences) pour contraindre les hélices à devenir parallèles. En effet, si des groupements capables d'interagir favorablement sont disposés en vis-à-vis, il est probable que même pour des segments hélicoïdaux de grandes tailles les hélices basculent et reviennent à une orientation parallèle.

En ce qui concerne les édifices tertiaires non covalents, l'obtention de structures cristallines reste une priorité car en leur absence, il est difficile de caractériser l'orientation relative des hélices. Cependant, un travail sur la transmission de chiralité des hélices vers le métal a été engagé. Celui-ci consiste à imposer un sens d'hélicité aux segments hélicoïdaux par l'introduction d'un groupement chiral à l'extrémité N-terminale. Ainsi, si le métal adopte une configuration privilégiée, il sera possible de mettre en évidence des phénomènes de communication entre les hélices et le métal central. A ce propos, le ligand possédant des segments hélicoïdaux de sens d'hélicité contrôlé a été synthétisé et caractérisé. Les réactions de complexation ainsi que les études par dichroïsme circulaire doivent encore être menées.

Partie Expérimentale

1 Cristallographie

Pour les oligomères **5** et **14**, les données ont été collectées sur un diffractomètre Rigaku Rapid équipé d'une anode tournante microfocuse MM007 et des optiques Osmic Varimax® générant une radiation monochromatique Cu-K α (1,54178 Å). La collecte des données, l'affinement de la maille et l'intégration des intensités diffractées ont été effectués avec le logiciel CrystalClear®. La position de nombreux atomes (non hydrogène) a été déterminée par le programme SHELXD (dans ces calculs, il est rare que tous les atomes apparaissent). Des calculs de fourrier différence successifs permettent de positionner les autres atomes (non H). Parfois les chaînes latérales sont désordonnées. Les coordonnées des atomes d'hydrogène en positions théoriques sont calculées et introduites dans l'affinement pour calculer le facteur de structure.

Données cristallographiques	Oligomère 5	Oligomère 12	Oligomère 13	Oligomère 14
Solvant de cristallisation	CHCl ₃ /pentane	DCE/MeOH	DCM/toluène/MeOH	DCE/MeOH
Formule brute	C ₁₄₀ H ₁₂₉ Cl ₁₂ N ₁₉ O ₂₆	C ₂₄₇ H ₂₇₅ ClN ₃₈ O ₅₅	C ₃₁₀ H ₃₂₂ N ₄₆ O ₅₅	C ₄₇₆ H ₅₅₀ Cl ₁₂ N ₇₀ O ₁₀₅
Dimensions (mm)	0,2 × 0,15 × 0,10	0,3 × 0,3 × 0,5	0,15 × 0,10 × 0,10	0,20 × 0,15 × 0,10
Aspect	Prismes jaunes	Prismes jaunes	Prismes jaunes	Prismes jaunes
Mailles	Triclinique	Triclinique	Monoclinique	Triclinique
Groupe spatial	P-1	P-1	Cc	P-1
Z	2	2	4	2
a (Å)	16,7757 (12)	21,925 (4)	47,509 (10)	28,1917 (13)
b (Å)	20,1283 (15)	27,301 (5)	29,741 (6)	29,8945 (13)
c (Å)	23,7478 (17)	28,332 (6)	33,604 (7)	36,8224 (17)
α (deg)	89,778 (5)	91,736 (6)	90,00	78,369 (3)
β (deg)	76,890 (5)	106,690 (5)	134,96 (3)	80,612 (3)
γ (deg)	68,634 (5)	97,015 (5)	90,00	71,172 (3)
Température(K)	153 (2)	293 (2)	133 (2)	140 (2)
Volume (Å ³)	7245,6 (9)	16085 (5)	33599 (12)	28608 (2)
FW (g.mol ⁻¹)	2809,0	4691,50	5572,14	9773,8
ρ (g.cm ⁻³)	1,288	0,969	1,102	1,135
Radiation	Cu-K α	Si	Si	Cu-K α
λ (Å)	1,54178	0,84900	0,85000	1,54178
θ mesurés	6,56 ≤ θ ≤ 72,37	3,58 ≤ θ ≤ 22,70	1,09 ≤ θ ≤ 29,88	6,51 ≤ θ ≤ 72,35
Refl. Mesurées	24974	182422	43598	171148
Refl. uniques	24974	23921	43591	81044
GOF	1,005	1,043	1,090	1,018
R ₁ (I > 2 σ (I))	0,1522	0,1997	0,1943	0,1926
wR ₂ (all data)	0,3243	0,5896	0,4931	0,4218

Pour les oligomères **12** et **13**, les données ont été collectées à Hambourg sur la ligne de lumière X11 du synchrotron DESY exploité par l'EMBL. La radiation monochromatique (0,85 Å) de cette ligne de lumière est issue d'un aimant courbe (BM) et d'un monochromateur de Silicium 111. L'affinement de la maille et l'intégration des signaux ont été effectués avec le logiciel CrystalClear®. La position des atomes (non hydrogène) a été déterminée par le programme SHELXD. La position des atomes d'hydrogène a été déduite des coordonnées des autres atomes et a été confirmée par l'examen des cartes de densités électroniques « Fourier différence ». Les atomes d'hydrogène ont été inclus pour le calcul des facteurs de structure mais pas pour l'affinement.

2 Procédures générales

Sauf spécification, les produits utilisés sont commerciaux et introduits sans purification préalable. Le THF est distillé sur Na/benzophenone, le MeOH et l'EtOH sur Mg/I₂, le CH₂Cl₂, la diisopropyléthylamine et le DMF sur CaH₂ avant utilisation. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm et sont calibrés sur le pic résiduel de solvant de CDCl₃ (δ 7.26, 77.0), DMSO-d₆ (δ 2.50, 39.4), ou CD₃OD (δ 3.31, 49.1). Les constantes de couplage sont données en Hz. Les chromatographies sur gel de silice ont été réalisées avec de la silice Merck Kieselgel Si 60. Les spectres de masse d'impact électronique et de maldi (matrix assisted laser desorption ionization time of flight, matrice acide α -cyanohydroxycinnamique) ont été obtenus en mode positif.

Réaction de Mitsunobu :

Le lien (1éq.), l'espaceur (1,1éq./fonction alcool du linker) ainsi que PPh₃ (1,5éq./fonction alcool du linker) sont introduits dans un monocol puis placés sous atmosphère d'azote. Il est ajouté le THF distillé puis le mélange est placé à 0°C. Le DIAD (1,5éq./fonction alcool du linker) est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 30minutes puis à température ambiante pendant 24heures. Après évaporation du THF, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/MeOH).

Clivage des boc :

Le carbamate de tertio butyle est dissout dans du DCM. L'acide trifluoroacétique (16éq.par fonction amine) est ajouté. Le mélange réactionnel est agité pendant 6h à température ambiante. Le DCM est évaporé et du toluène est ajouté afin d'azéotroper l'acide

trifluoroacétique. Cette opération est répétée 3 fois. L'huile obtenue est séchée sous vide et l'amine est utilisée sans purification.

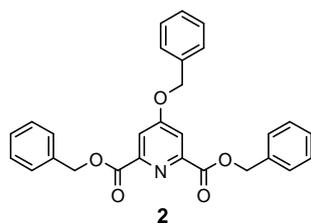
Couplages en présence de HBTU et HOBt :

L'acide (1,1éq./fonction amine), HBTU (1,5éq./fonction amine) et HOBt (1éq./amine), sont ajoutés dans un bicol. Les poudres sont placées sous atmosphère d'azote. Le DMF distillé est ajouté ainsi que la DIEA (5éq./fonction amine). Le mélange est agité à température ambiante pendant 30 minutes. L'amine (1éq.) dissoute dans du DMF distillé est ajoutée et le mélange réactionnel est agité pendant 16 heures. Lorsqu'un précipité apparaît, il est récupéré par filtration. Sinon, il est ajouté du toluène qui est lavé avec une solution saturée de NaHCO_3 . La phase aqueuse est extraite 2 fois avec du toluène. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées, évaporées à sec puis purifiées par chromatographie sur gel de silice (toluène/acétate d'éthyle 90/10).

3 Les composés

Les caractérisations des composés ayant déjà fait l'objet de publications ne seront pas répétées ici. Seuls les protocoles et les spectres RMN ^1H seront explicités.

Protection de l'acide chélidamique : **2**



Dans un bicol, l'acide chélidamique (3,0g, 16,4mmol, 1éq.) est dissout dans l'acétone (100mL). Le mélange est porté à reflux. K_2CO_3 (10,2g, 73,8mmol, 4,5éq.), le bromure de benzyle (6,8mL, 57,4mmol, 3,5éq.) ainsi que NaI (1,22g, 8,2mmol, 0,5éq.) sont ajoutés. Le mélange est agité à reflux de l'acétone pendant 48h. Après retour à température ambiante, de l'HCl 2N (100mL) est ajouté. Le mélange est extrait avec 3×150mL d'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée puis évaporée. L'huile obtenue est triturée dans l'éther de pétrole. Le produit attendu précipite et est filtré. Il est alors obtenu 5,4g d'une poudre jaune soit un rendement de 73%.

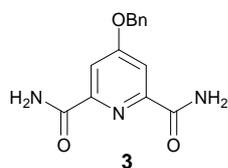
RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) : δ = 7,84 (2H, s), 7,47-7,33 (15H, m), 5,43 (4H, s), 5,20 (2H, s).

RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) : δ = 166,5 ; 164,3 ; 150,0 ; 135,3 ; 134,6 ; 128,8 ; 128,7 ; 128,5 ; 128,4 ; 128,3 ; 127,7 ; 114,8 ; 70,7 ; 67,7.

SM (EI) : m/z = 454 (5, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 319 (66), 228 (16), 182 (7), 91 (100).

HRSM (ESI- $[\text{M}+\text{H}]^+$) : masse calculée pour $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{NO}_5$: 454,1654 ; trouvée : 454,1668 ; Δ = 3ppm.

Aminolyse des esters de benzyles : **3**



Dans un tricol, de l'ammoniac gazeux est mis à buller pendant 30 min dans du méthanol (60mL). Il est ajouté le produit **2** (2g, 4,41mmol, 1éq.) et le mélange est agité à température ambiante pendant 1 heure avec le même débit d'ammoniac. Le réactif se solubilise peu à peu puis le produit attendu précipite. Le mélange est encore agité pendant 30 minutes après l'arrêt de l'arrivée d'ammoniac. Le mélange réactionnel est

filtré, le solide obtenu est lavé avec 20mL de méthanol froid. Il est alors obtenu 1,62g d'une poudre blanche soit un rendement de 81%.

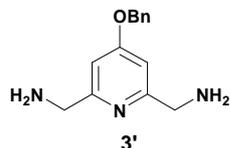
RMN ¹H (400MHz, DMSO d₆) : δ = 8,84 (2H,s), 7,73 (2H, s), 7,71 (2H, s), 7,49-7,35 (5H, m), 5,35 (2H, s).

RMN ¹³C (100MHz, DMSO d₆) : δ = 166,8 ; 165,1 ; 151,2 ; 135,8 ; 134,6 ; 128,5 ; 128,1 ; 127,7 ; 110,4 ; 69,8.

MS (EI) : m/z = 272 (22, [M+H]⁺), 271 (42, [M]⁺), 228 (14), 138 (24), 181 (9), 91 (100).

HRSMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₄H₁₄N₃O₃ : 272,1035 ; trouvée : 272,1041 ; Δ = 2,1ppm.

Réduction des diamides : 3'

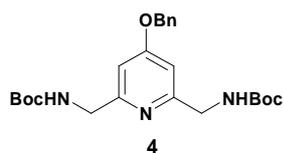


Dans un tricol muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome le produit **3** (828mg, 3,054mmol, 1éq.) est ajouté. Le montage est placé sous atmosphère d'azote. La solution de BH₃ dans le THF (50 mL, 1 M, 16éq.) est additionnée goutte à goutte sous agitation. Après l'ajout de la totalité de la solution le mélange est porté à reflux du THF pendant 24 heures. Après retour à température ambiante, du méthanol est ajouté goutte à goutte

jusqu'à l'arrêt du dégagement gazeux. Les solvants sont évaporés. Du méthanol (110mL) est ajouté et le mélange est agité à reflux pendant 48 heures. Le méthanol est évaporé. Le produit est repris dans du DCM (100mL), la phase organique est lavée avec une solution de NaOH 1N (100mL), séchée sur Na₂SO₄ filtrée puis évaporée. Il est obtenu 742mg d'une huile jaune soit un rendement de 100%.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 7,42-7,34 (5H, m), 6,75 (2H, s), 5,10 (2H, s), 4,64 (4H, bs), 3,86 (2H, s).

Protection des amines : 4



Dans un monocol, **3'** (742mg, 3,05mmol, 1éq.) est dissout dans du THF (100mL). Dans un bécher, le di-tertbutyl dicarbonate (1,33g, 6,10mmol, 2éq.) est aussi dissout dans du THF (50mL). La solution ainsi préparée est ajoutée lentement dans le ballon. Le mélange est agité à température ambiante pendant 5 heures. Le THF est évaporé, le mélange est repris dans du DCM (50mL) et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl (50mL). La phase organique est séchée sur

Na₂SO₄, filtrée, évaporée puis purifiée par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 98/2). Il est obtenu 1,35g du solide **4** soit un rendement de 75%.

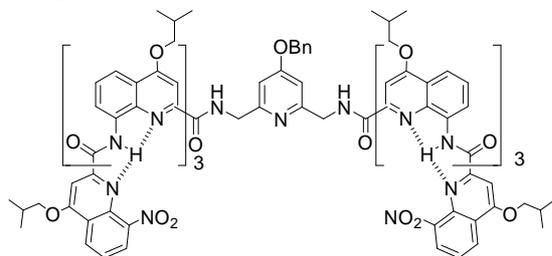
RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 7,38 (5H, m), 6,74 (2H, s), 5,42 (2H, bs), 5,08 (2H, s), 4,64 (2H, s), 4,35 (4H, d, J=4,8Hz), 1,47 (18H, s).

RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 166,0 ; 158,8 ; 155,9 ; 135,5 ; 128,7 ; 128,4 ; 127,5 ; 106,7 ; 79,5 ; 69,9 ; 45,7 ; 28,4.

MS (EI) : m/z = 444 (3, [M+H]⁺), 443 (2, [M]⁺), 388 (8), 343 (27), 332 (8), 314 (27), 269 (13), 287 (33), 152 (19), 91 (100).

HRSMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₄H₃₄N₃O₅ : 444,2498 ; trouvée : 444,2518 ; Δ = 4,4ppm.

Oligomère 5 :



Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé : **4** (21mg, 0,05mmol, 1éq.), DCM (1mL), TFA (0,12mL, 1,5mmol, 32éq.).

Couplage: l'oligomère **5** est synthétisé d'après la procédure générale. Tétramère acide (105mg, 0,10mmol, 2,2éq.), HBTU (54mg, 0,14mmol, 3éq.), HOBt (13mg, 0,09mmol, 2éq.), DMF distillé (1,5mL), DIEA (100μL, 0,47mmol, 10éq.) et amine (22mg, 0,05mmol, 1éq.) dissoute dans 0,5mL de DMF distillé. En fin de réaction, il

apparaît un précipité qui est récupéré par filtration. Il est obtenu 31mg du produit attendu. Le filtrat est récupéré, il est ajouté 15mL de toluène et 15mL d'eau. La phase aqueuse est extraite avec 2x15mL de toluène. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄, filtrées, évaporées à sec puis purifiées par chromatographie sur gel de silice (toluène/acétate d'éthyle 90/10). Il est obtenu 38mg de plus soit un rendement global de 65%.

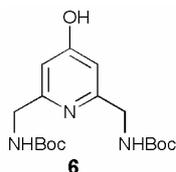
RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 11,49 (2H, s), 11,04 (2H, s), 10,85 (2H, s), 8,39 (2H, dd, J=7,6Hz, J=1,6Hz), 8,31 (2H, bs), 8,26 (2H, d, J=7,2Hz), 7,73 (2H, d, J=7,6Hz), 7,67 (2H, d, J=8Hz), 7,59 (2H, s), 7,58 (2H, s), 7,48 (2H, d, J=7,6Hz), 7,45 (1H, s.), 7,34-7,20 (10H, m), 7,16 (1H, s), 6,99 (4H, m), 6,60 (2H, s), 6,17 (2H, s), 5,76

(2H, s), 5,03 (1H, d, $J=11,2\text{Hz}$), 4,89 (1H, d, $J=10,8\text{Hz}$), 4,21-3,99 (10H, m), 3,83-3,69 (6H, m), 3,09 (2H, dd, $J=17,7\text{Hz}$, $J=2,1\text{Hz}$), 2,27 (8H, m), 1,63 (2H, dd, $J=17,7\text{Hz}$, $J=2,1\text{Hz}$), 1,31-1,16 (48H, m).

RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3): $\delta = 164,8 ; 163,7 ; 162,7 ; 162,2 ; 162,0 ; 161,8 ; 160,9 ; 160,1 ; 159,9 ; 153,7 ; 153,4 ; 150,2 ; 149,0 ; 148,0 ; 144,9 ; 138,6 ; 138,0 ; 137,7 ; 136,7 ; 136,2 ; 133,9 ; 133,0 ; 131,5 ; 128,8 ; 128,4 ; 127,6 ; 127,5 ; 127,1 ; 126,1 ; 125,4 ; 124,6 ; 123,7 ; 121,8 ; 121,1 ; 119,8 ; 117,0 ; 116,4 ; 116,0 ; 115,1 ; 105,6 ; 100,1 ; 98,6 ; 98,1 ; 97,3 ; 75,5 ; 75,2 ; 74,6 ; 69,6 ; 41,6 ; 28,3 ; 28,2 ; 28,1 ; 19,6 ; 19,4 ; 19,3$.

SM (maldi) : $m/z = 2240,71 [\text{M}+\text{H}]^+ , 2262,69 [\text{M}+\text{Na}]^+ , 2278,66 [\text{M}+\text{K}]^+$.

Réduction de l'éther de benzyle: **6**



L'éther de benzyle **4** (362mg, 0,82mmol, 1éq.) est dissout dans un mélange acétate d'éthyle/MeOH (3/1, 11mL/4mL). Le palladium black est ajouté (10% massique, 36mg). Après avoir fait le vide, le mélange est placé sous atmosphère d'hydrogène. Le mélange est agité sous pression d' H_2 toute la nuit. Le mélange est filtré sur celite, rincé avec du méthanol et évaporé à l'évaporateur rotatif. Le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 98/4) puis (DCM/MeOH 92/8). Il est obtenu 212mg d'un solide blanc soit un

rendement de 73%.

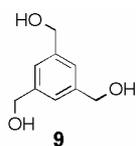
RMN ^1H (400MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 1/1) : $\delta = 10,86$ (1H, bs), 6,24 (2H, s), 5,72 (2H, bs), 4,17 (4H, s), 1,45 (18H, s).

RMN ^{13}C (100MHz, MeOD) : $\delta = 158,5 ; 113,1 ; 81,0 ; 42,5 ; 28,7$.

MS (EI) : $m/z = 354$ (20, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 298 (29), 253 (44), 242 (69), 224 (55), 198 (51), 197 (87), 180 (54), 154 (61), 152 (64), 136 (86), 57 (100).

HRSMS (ESI- $[\text{M}+\text{H}]^+$) : masse calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_5$: 354,2029 ; trouvée : 354,2034 ; $\Delta = 1,4\text{ppm}$.

Réduction des esters de méthyle : **9⁶**

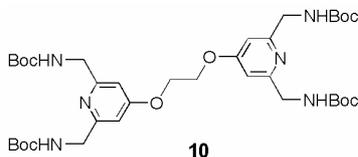


Dans un ballon muni d'un réfrigérant, LiAlH_4 (50mg, 1,31mmol, 3,3éq.) est introduit puis le montage est placé sous atmosphère d'azote. Il est ajouté du THF distillé (1,5mL). Le mélange est porté à reflux. Parallèlement, une solution du triester **8** (100mg, 0,40mmol, 1éq.) dans du THF distillé (1mL) est préparée sous atmosphère d'azote. Cette solution est ajoutée goutte à goutte à la suspension de LiAlH_4 . Le mélange est agité à reflux pendant 5 heures. Après retour à température

ambiante, le mélange est placé à 0°C . Il est ajouté lentement H_2O (0,15mL), puis une solution de NaOH à 15% (0,10mL) puis à nouveau H_2O (0,1mL). Le mélange est agité à température ambiante toute la nuit. Les solvants sont évaporés, le solide est lavé avec du THF. Le filtrat recueilli est évaporé. Il est obtenu 60mg d'un solide blanc soit un rendement de 90%.

RMN ^1H (400MHz, MeOD) : $\delta = 7,26$ (3H, s), 4,61 (6H, s)

Mitsunobu : **10**



Le composé **10** est obtenu d'après la procédure générale. L'alcool **6** (120mg, 0,34mmol, 2,2éq.), PPh_3 (122mg, 0,46mmol, 3éq.), solution d'éthylène glycol **9** anhydre dans le THF distillé (862 μL , 0,179M 0,15mmol, 1éq.), DIAD (91 μL , 0,46mmol, 3éq.). Après évaporation du THF, l'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 98/2 v:v). Il

est obtenu 100mg d'un solide blanc soit un rendement de 89%.

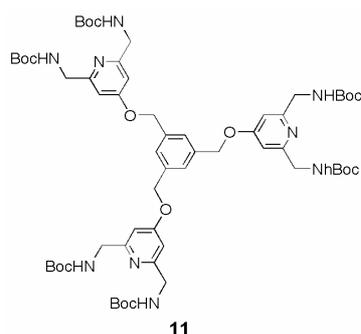
RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) : $\delta = 6,68$ (4H, s), 5,55 (4H, bs), 4,32 (12H, bs), 1,44 (36H, s).

RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) : $\delta = 165,7 ; 159,0 ; 155,9 ; 106,3 ; 79,4 ; 65,8 ; 45,6 ; 28,3$.

MS (EI) : $m/z = 733$ (2, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 632 (4), 532 (4), 432 (6), 314 (14), 153 (8), 59 (100).

HRSMS (ESI- $[\text{M}+\text{H}]^+$) : masse calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{57}\text{N}_6\text{O}_{10}$: 733,4136 ; trouvée : 733,4112 ; $\Delta = 3,3\text{ppm}$.

Mitsunobu: 11



Le composé **11** est obtenu d'après la procédure générale. Le triol **9** (43mg, 0,26mmol, 1éq.), le monoalcool **6** (300mg, 0,85mmol, 3,3éq.), PPh₃ (303mg, 1,16mmol, 4,5éq.), DIAD (0,29mL, 1,16mmol, 4,5éq.) et THF (2mL). Après évaporation du THF, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 98/2 puis 97/3 v:v). Il est obtenu 200mg d'un solide blanc soit un rendement de 66%.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃): δ = 7,41 (3H, s), 6,74 (6H, s), 5,52 (6H, bs), 5,12 (6H, s), 4,34 (12H, d, J=5,2Hz), 1,46 (54H, s).

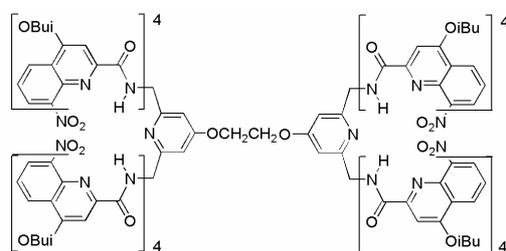
RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃): δ = 165,8 ; 159,0 ; 156,0 ; 136,9 ; 126,3 ; 106,6 ; 79,5 ; 69,2 ; 45,6 ; 28,4.

MS (maldi): m/z = 1174,36 [M+H]⁺.

HRSM (ESI-[M+H]⁺): masse calculée pour C₆₀H₈₈N₉O₁₅: 1174,6400 ;

trouvée: 1174,6396 ; Δ = 0,3ppm.

Oligomère 12 :



Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé: **10** (33mg, 0,045mmol, 1éq.), DCM (1mL), TFA (0,22mL, 2,88mmol, 64éq.).

Couplage: l'oligomère **12** est synthétisé selon la procédure de couplage. Tétramère acide (201mg, 0,20mmol, 4,4éq.), HBTU (102mg, 0,27mmol, 6éq.), HOBT (25mg, 0,18mmol, 4éq.), DMF distillé (3,0mL), DIEA (156μL, 0,90mmol, 20éq.), amine (35,5mg, 0,05mmol, 1éq.) dissoute dans 0,75mL de DMF distillé. En fin de réaction, il apparaît un

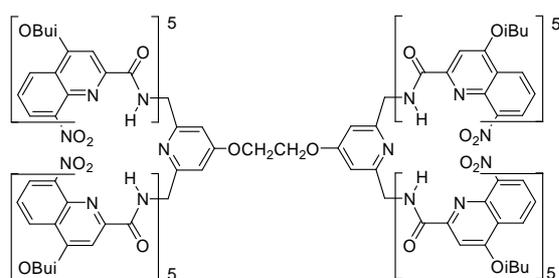
précipité qui est récupéré par filtration. Il est obtenu 90mg du produit attendu. Le filtrat est récupéré, il est ajouté 25mL de toluène et 25mL d'eau. La phase aqueuse est extraite avec 2x25mL de toluène. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄, filtrées, évaporées à sec puis purifiées par chromatographie sur gel de silice (toluène/acétate d'éthyle 90/10). Il est obtenu 52mg de plus soit un rendement global de 73%.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃): δ = 11,58 (4H, s), 11,57 (2H, s), 11,11 (4H, s), 11,10 (2H, s), 10,92 (6H, s), 8,47-8,40 (18H, m), 8,02 (4H, d, J=7,6Hz), 7,94 (2H, d, J=8,4Hz), 7,76 (4H, d, J=8,0Hz), 7,71 (4H, d, J=8Hz), 7,64-7,45 (19H, m), 7,41-7,32 (10H, m), 7,20 (5H, s), 7,04-6,98 (12H, m), 6,67 (2H, s), 6,65 (4H, s), 6,23 (6H, s), 5,89 (6H, s), 4,49 (2H, bs), 4,31-3,87 (40H, m), 3,88-3,72 (20H, m), 3,20 (6H, d, J=16,4Hz), 2,47-2,31 (24H, m), 1,33-1,17 (144H, m).

RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃): δ = 164,6 ; 163,8 ; 162,8 ; 162,4 ; 162,1 ; 161,9 ; 161,0 ; 160,2 ; 160,0 ; 153,9 ; 153,4 ; 150,4 ; 150,3 ; 149,0 ; 148,0 ; 145,0 ; 138,7 ; 138,1 ; 137,7 ; 136,7 ; 134,0 ; 133,0 ; 131,6 ; 127,6 ; 127,5 ; 126,1 ; 125,4 ; 125,0 ; 123,8 ; 123,7 ; 121,9 ; 121,3 ; 119,9 ; 117,0 ; 116,5 ; 116,1 ; 116,0 ; 115,6 ; 115,2 ; 115,1 ; 105,5 ; 105,4 ; 100,2 ; 98,5 ; 98,2 ; 97,4 ; 75,5 ; 75,3 ; 74,6 ; 66,2 ; 41,7 ; 29,7 ; 28,3 ; 28,2 ; 28,1 ; 19,7 ; 19,5 ; 19,4 ; 19,3.

SM (maldi): m/z = 4326,28 [M+H]⁺, 4348,25 [M+Na]⁺, 4364,23 [M+K]⁺.

Oligomère 13:



Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé: **10** (13mg, 0,018mmol, 1éq.), DCM (0,38mL), TFA (0,09mL, 1,14mmol, 64éq.).

Couplage: l'oligomère **13** est obtenu d'après la procédure générale. Pentamère acide (99mg, 0,08mmol, 4,4éq.), HBTU (41mg, 0,11mmol, 6éq.), HOBT (10mg, 0,07mmol, 4éq.), DMF distillé (2,0mL), DIEA (62μL, 0,35mmol, 20éq.) et amine (14,0mg, 0,018mmol, 1éq.) dissoute dans 0,92mL de DMF distillé. En fin de réaction, il apparaît un précipité qui est récupéré par filtration. Il est

obtenu 94mg du produit attendu soit un rendement de 75%.

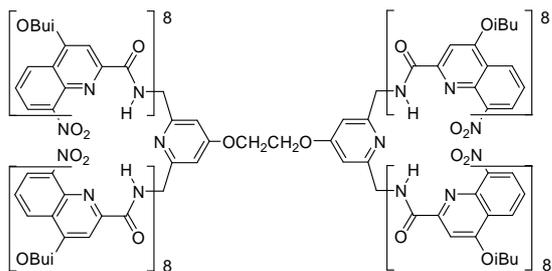
RMN ¹H (300MHz, CDCl₃): δ = 11,19 (4H, s), 11,16 (4H, s), 11,04 (4H, s), 10,67 (4H, s), 8,52 (4H, d, J=8,1Hz), 8,00 (12H, m), 7,90 (4H, d, J=8,4Hz), 7,85 (4H, d, J=7,8Hz), 7,69 (4H, d, J=8,1Hz), 7,63 (5H, m),

7,51 (4H, d, $J=7,2\text{Hz}$), 7,39-7,30 (15H, m), 7,22-7,10 (12H, m), 6,98 (4H, m), 6,64 (4H, s), 6,51 (4H, s), 6,17 (4H, s), 5,49 (4H, s), 4,36 (4H, m), 4,22-4,06 (22H, m), 3,97-3,86 (14H, m), 3,80-3,75 (8H, m), 2,74 (2H, d, $J=16,2\text{Hz}$), 2,59-2,30 (20H, m), 1,48 (2H, d, $J=16,8\text{Hz}$), 1,37-1,20 (120H, m).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): $\delta = 164,5 ; 163,3 ; 163,0 ; 162,6 ; 162,2 ; 161,9 ; 161,9 ; 161,3 ; 161,0 ; 160,6 ; 160,1 ; 159,0 ; 153,8 ; 153,2 ; 150,3 ; 149,5 ; 148,0 ; 147,8 ; 145,0 ; 138,9 ; 138,1 ; 137,6 ; 137,2 ; 136,8 ; 133,5 ; 133,2 ; 132,4 ; 131,2 ; 127,5 ; 126,9 ; 126,1 ; 125,8 ; 125,7 ; 124,9 ; 124,2 ; 123,7 ; 122,3 ; 121,7 ; 121,2 ; 120,0 ; 117,2 ; 116,6 ; 116,4 ; 116,1 ; 116,0 ; 115,6 ; 115,3 ; 115,1 ; 104,9 ; 99,9 ; 99,7 ; 99,2 ; 97,4 ; 96,5 ; 75,5 ; 75,2 ; 75,1 ; 74,6 ; 66,2 ; 41,4 ; 28,3 ; 28,2 ; 28,1 ; 28,0 ; 19,6 ; 19,5 ; 19,4 ; 19,3.$

SM (ESI) : $m/z = 5317,12 [\text{M}+\text{Na}]^+$, $2671,52 [\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$, $1789,03 [\text{M}+3\text{Na}]^{3+}$.

Oligomère 14:



Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé: **10** (11mg, 0,014mmol, 1éq.), DCM (0,30mL), TFA (0,07mL, 0,89mmol, 64éq.).

Couplage: l'oligomère **14** est obtenu d'après la procédure générale de couplage. Octamère acide (122mg, 0,06mmol, 4,4éq.), HBTU (32mg, 0,08mmol, 6éq.), HOBt (8mg, 0,06mmol, 4éq.), DMF distillé (1,75mL), DIEA (48 μL , 0,28mmol, 20éq.) et amine (11mg, 0,014mmol, 1éq.) dissoute dans 0,55mL de DMF

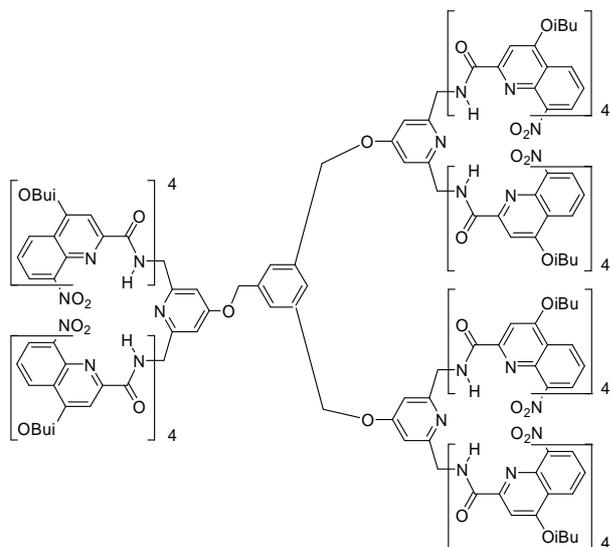
distillé. A la fin de la réaction, il est ajouté 15mL de toluène et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO_3 . La phase aqueuse est extraite avec $2 \times 15\text{mL}$ de toluène. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées, évaporées à sec puis purifiées par chromatographie sur gel de silice (toluène/acétate d'éthyle 98/2 jusqu'à 90/10 v:v). La fraction comprenant le produit est alors purifiée par chromatographie d'exclusion stérique (éluant : chloroforme) Il est obtenu 50mg de produit soit un rendement de 44%.

RMN ^1H (400MHz, CDCl_3): $\delta = 10,96$ (4H, s), 10,92 (4H, s), 10,58 (4H, s), 10,53 (4H, s), 10,47 (4H, s), 10,19 (4H, s), 10,09 (4H, s), 8,24 (4H, dd, $J=7,6\text{Hz}$), 8,11 (4H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,04 (4H, d, $J=7,2\text{Hz}$), 8,00-7,95 (8H, m), 7,86 (4H, d, $J=8,4\text{Hz}$), 7,75-7,72 (8H, m), 7,56-7,40 (20H, m), 7,24-6,89 (51H, m), 6,70 (4H, t, $J=8,0\text{Hz}$), 6,61 (4H, t, $J=8,0\text{Hz}$), 6,33 (9H, s), 6,16 (3H, s), 5,92 (3H, s), 5,79 (3H, s), 5,19 (3H, s), 4,10-3,47 (76H, m), 2,61-2,13 (32H, m), 1,37-1,10 (192H, m).

RMN ^{13}C : pas assez de produit.

SM (maldi): $m/z = 8158,20 [\text{M}+\text{H}]^+$.

Oligomère 15



Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé: **11** (35mg, 0,03mmol, 1éq.), DCM (1,0mL), TFA (221 μL , 2,86mmol, 96éq.).

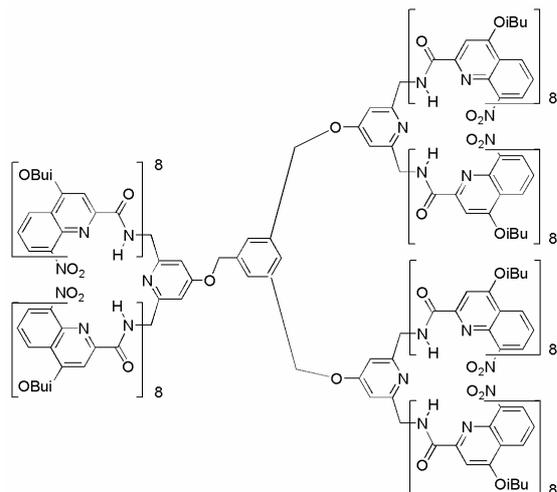
Couplage: l'oligomère **15** est obtenu d'après la procédure générale. Tétramère acide (200mg, 0,20mmol, 6,6éq.), HBTU (102mg, 0,27mmol, 9éq.), HOBt (24mg, 0,18mmol, 6éq.), DMF distillé (2,5mL), DIEA (155 μL , 0,89mmol, 30éq.) et amine (37mg, 0,03mmol, 1éq.) dissoute dans 1,25mL de DMF distillé. En fin de réaction, il est ajouté 25mL de toluène et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO_3 . La phase aqueuse est extraite avec $2 \times 25\text{mL}$ de toluène. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées, évaporées à sec puis purifiées par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 99,5/0,5 v:v). La fraction comprenant le produit est alors purifiée par chromatographie d'exclusion stérique (éluant : chloroforme) Il est obtenu 100mg de produit soit un rendement de 51%.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 11,61 (6H, s); 11,13 (6H, s); 10,93 (6H, s); 8,50-8,36 (18H, m); 7,99 (9H, m); 7,75-7,69 (11H, m); 7,61-7,18 (42H, m); 7,04-6,98 (13H, m); 6,64 (6H, s); 6,23 (6H, s); 6,08 (6H, s); 5,43 (3H, m); 5,24 (3H, m); 4,25-4,03 (30H, m); 3,82-3,73 (18H, m); 3,26 (6H, d, J=16,6Hz); 2,42-2,28 (24H, m); 1,73 (6H, d, J=18,6Hz); 1,32-1,14 (144H, m).

RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 164,9 ; 163,8 ; 162,8 ; 162,4 ; 162,1 ; 161,8 ; 161,0 ; 160,2 ; 160,0 ; 153,9 ; 153,4 ; 150,4 ; 148,9 ; 148,0 ; 145,0 ; 138,6 ; 138,1 ; 137,7 ; 137,6 ; 136,7 ; 134,0 ; 133,0 ; 131,5 ; 127,4 ; 126,1 ; 125,4 ; 125,0 ; 124,6 ; 123,9 ; 123,6 ; 121,8 ; 121,3 ; 119,9 ; 117,0 ; 116,5 ; 116,1 ; 116,0 ; 115,6 ; 115,2 ; 115,1 ; 105,9 ; 100,1 ; 98,6 ; 98,2 ; 97,4 ; 75,5 ; 75,3 ; 74,6 ; 66,2 ; 41,7 ; 28,2 ; 28,1 ; 19,6 ; 19,4 ; 19,3.

SM (maldi) : m/z = 6566,70 [M+H]⁺.

Oligomère 16



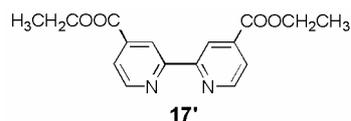
Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé : **11** (10mg, 0,008mmol, 1éq.), DCM (0,30mL), TFA (63μL, 0,82mmol, 96éq.).

Couplage : l'oligomère **16** est obtenu d'après la procédure générale. Octamère acide (105mg, 0,05mmol, 6éq.), HBTU (29mg, 0,08mmol, 9éq.), HOBT (7mg, 0,05mmol, 6éq.), DMF distillé (1,5mL), DIEA (44μL, 0,25mmol, 30éq.) et amine (11mg, 0,008mmol, 1éq.) dissoute dans 0,50mL de DMF distillé. En fin de réaction, il est ajouté 15mL de toluène et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃. La phase aqueuse est extraite avec 2×15mL de toluène. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄, filtrées, évaporées à sec puis purifiées par chromatographie sur gel de silice (toluène/acétate d'éthyle 98/2 jusqu'à 90/10). La fraction comprenant le produit est alors purifiée par chromatographie d'exclusion stérique (éluant :

chloroforme) Il est obtenu 32mg de produit soit un rendement de 30%.

SM (maldi) : m/z = 12377,8 [M+H]⁺.

Estérification⁹ : 17'

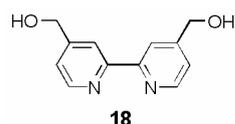


La bipyridine diacide **17'** (200mg, 0,82mmol, 1éq.) est dissoute dans de l'éthanol absolu (14mL). L'acide sulfurique concentré est ajouté (400μL) et la solution est agitée à reflux pendant 4 heures. Après retour à t.a., de l'hydroxyde d'ammonium est ajouté lentement jusqu'à ce que la solution

devienne basique. L'éthanol est évaporé et le produit est recristallisé de l'éthanol pour donner 185mg d'une poudre blanche soit un rendement de 75%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 8,95 (2H, s), 8,87 (2H, d, J=4,9Hz), 7,91 (2H, dd, J=4,9Hz et J=1,3Hz), 4,46 (4H, q, J=7,2Hz), 1,45 (6H, t, J=7,2Hz).

Réduction des esters¹⁰ : 18

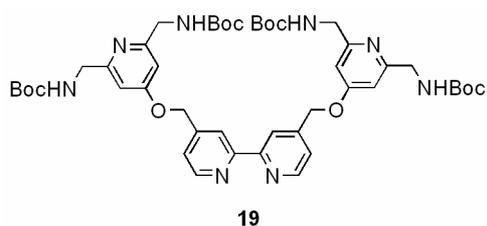


Dans un monocol, le diester **17'** (246mg, 0,82mmol, 1éq.) ainsi que NaBH₄ (93mg, 2,46mmol, 3éq.) sont placés sous atmosphère inerte. L'éthanol distillé est ajouté (11,2mL) et le mélange est ajouté à t.a. pendant 3 heures. De l'eau est ajoutée (11mL) et le mélange est agité à t.a. pendant 12 heures. Le milieu réactionnel est extrait avec de l'acétate d'éthyle (2 × 10mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées avec

Na₂SO₄, filtrées puis évaporées. Le produit est alors recristallisé de l'éthanol pour donner 115mg d'une poudre blanche soit un rendement de 65%.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 8,66 (2H, d, J=4,7Hz), 8,38 (2H, s), 7,37 (2H, d, J=4,3Hz), 4,84 (4H, d, J=4,2Hz).

Mitsunobu : 19



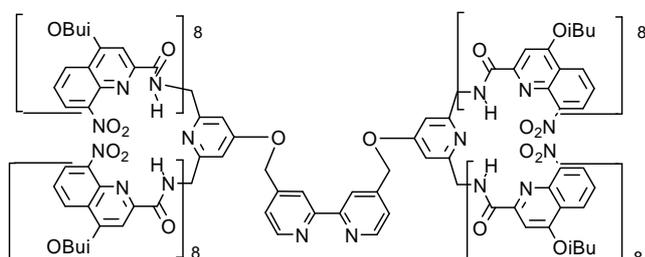
Le composé **19** est obtenu d'après la procédure générale. Le diol **18** (47mg, 0,22mmol, 1éq.), le monoalcool **6** (170mg, 0,48mmol, 2,2éq.), PPh₃ (172mg, 0,65mmol, 3éq.), THF distillé (2,7mL) et DIAD (129μL, 0,65mmol, 3éq.). Après évaporation du THF, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice (DCM/MeOH 99/1 puis 96/4 v:v). Il est obtenu 156mg d'un solide blanc soit un rendement de 79%.

RMN^1H (300MHz, MeOD/CDCl₃) : δ = 8,66 (2H, d, J=5,4Hz), 8,43 (2H, s), 7,50 (2H, d, J=4,8Hz), 7,15 (2H, bs), 6,89 (4H, s), 5,37 (4H, s), 4,27 (8H, s), 1,44 (36H, s).

$RMN^{13}C$ (100MHz, CDCl₃) : δ = 165,8 ; 159,0 ; 156,0 ; 136,8 ; 126,3 ; 106,6 ; 79,5 ; 69,2 ; 45,6 ; 28,3.

$HRSMS$ (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₄₆H₆₃N₈O₁₀ : 887,4667 ; trouvée : 887,4631 ; Δ = 4,1ppm.

Oligomère 20



Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé : **19** (15mg, 0,017mmol, 1éq.), DCM (1mL), TFA (82μL, 1,06mmol, 64éq.).

Couplage: l'oligomère **20** est obtenu d'après la procédure générale. Octamère acide (145mg, 0,07mmol, 4,4éq.), HBTU (38mg, 0,10mmol, 6éq.), HOBt (9mg, 0,07mmol, 4éq.), DMF distillé (2mL), DIEA (58μL, 0,34mmol, 20éq.) et amine (16mg, 0,017mmol, 1éq.) dissoute

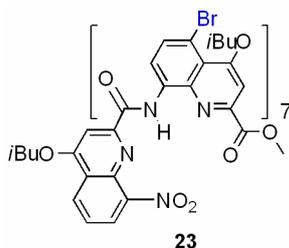
dans 0,70mL de DMF distillé. En fin de réaction, il apparaît un précipité qui est récupéré par filtration. Il est obtenu 75mg du produit attendu soit un rendement de 54%.

RMN^1H (300MHz, CDCl₃) : δ = 10,91 (8H, s); 10,57 (4H, s); 10,54 (4H, s); 10,41 (4H, s); 10,22 (4H, s); 10,09 (4H, s); 8,99 (2H, d, J=4,12Hz); 8,67 (2H, bs); 8,21 (4H, d, J=7,9Hz); 7,99 (8H, m); 7,91 (8H, d, J=7,6Hz); 7,78 (4H, d, J=8,1Hz); 7,70 (4H, d, J=7,9Hz); 7,62 (4H, d, J=8,5Hz); 7,56-7,49 (6H, m); 7,40 (4H, d, J=7,4Hz); 7,34 (4H, d, J=7,4Hz); 7,26-7,03 (32H, m); 6,88 (16H, m); 6,81 (4H, d, J=7,6Hz); 6,63 (8H, m); 6,28 (4H, s); 6,25 (4H, s); 6,23 (4H, s); 6,15 (4H, s); 5,87 (4H, s); 5,74 (4H, s); 5,29 (4H, s); 4,90 (2H, d, J=12,1Hz); 4,75 (2H, d, J=12,3Hz); 4,02-3,45 (64H, m); 2,38-2,15 (32H, m); 1,44 (4H, d, J=7,2Hz); 1,24-1,09 (192H, m).

$RMN^{13}C$ (75MHz, CDCl₃) : δ = 163,7; 162,8; 162,5; 162,4; 162,3; 162,2; 162,1; 161,9; 161,3; 160,6; 160,4; 160,3; 160,1; 159,9; 159,5; 158,9; 158,8; 158,6; 156,3; 153,3; 152,8; 149,8; 148,9; 148,7; 148,5; 148,1; 147,8; 147,1; 146,4; 144,5; 138,5; 137,8; 137,6; 137,3; 137,1; 136,8; 136,7; 136,1; 133,8; 133,5; 132,7; 132,3; 131,8; 130,8; 127,8; 126,6; 126,1; 125,5; 125,3; 125,2; 125,1; 124,5; 123,6; 123,4; 122,2; 122,1; 122,0; 121,5; 121,4; 121,1; 120,6; 119,8; 119,2; 116,8; 116,5; 116,4; 116,1; 116,0; 115,9; 115,8; 115,7; 115,5; 114,7; 114,6; 105,0; 99,6; 99,4; 98,9; 98,7; 98,6; 97,6; 96,9; 96,8; 75,4; 75,1; 75,0; 74,9; 74,8; 74,2; 28,1; 28,0; 27,9; 27,8; 19,6; 19,5; 19,4; 19,3; 19,2; 19,1.

SM (ESI) : m/z = 8385,45 [M+Na]⁺, 4202,57 [M+2Na]⁺, 2809,58[M+3Na]⁺, 2112,89 [M+4Na]⁺.

Bromation 23



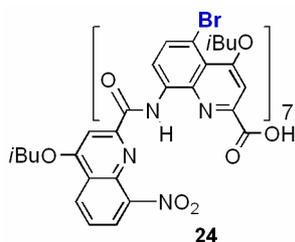
L'octamère **22** (500mg, 0,25mmol, 1éq.) est dissout dans le 1,2-dichloroéthane (25mL). La N-bromosuccinimide (445mg, 2,5mmol, 10éq.) est ajoutée et le mélange réactionnel est agité à 35°C pendant 48h. La réaction est suivie par RMN¹H. Un produit unique n'est pas formé, il est alors ajouté de la NBS (222mg, 1,25mmol, 5éq.) et le mélange est agité à 40°C pendant 4 jours. Il est à nouveau ajouté de la NBS (222mg, 1,25mmol, 5éq.) et le mélange est agité à 45°C pendant 4 jours puis 5éq. (222mg, 1,25mmol, 5éq.) de NBS sont encore ajoutés et le milieu réactionnel est agité à la même température pendant 3 jours. Après vérification par

RMN, la réaction est arrêtée, lavée une fois avec de l'eau. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 70/30 v:v) et il est obtenu 502mg d'un solide jaune soit un rendement de 79%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 11,44 (1H, s); 11,33 (1H, s); 11,19 (1H, s); 11,07 (1H, s); 10,99 (1H, s); 8,33 (1H, d, J=8,1Hz); 8,15 (1H, d, J=8,3Hz); 8,06 (1H, d, J=8,3Hz); 7,86-7,72 (4H, m); 7,61-7,33 (8H, m); 7,21-7,13 (4H, m); 6,68 (1H, s); 6,64 (1H, s); 6,59 (1H, s); 6,53 (1H, s); 6,51 (1H, s); 6,20 (1H, s); 4,30-3,67 (16H, m); 3,14 (3H, s); 2,61-2,28 (8H, m); 1,49-1,18 (48H, m).

SM (maldi) : m/z = 2538,8 [M+H]⁺, 2560,8 [M+Na]⁺, 2578,7 [M+K]⁺.

Saponification: **24**



L'octamère bromé **23** (300mg, 0,12mmol, 1éq.) est dissout dans un mélange THF/MeOH (32mL/3,5mL) à 40°C. KOH (17mg, 0,3mmol, 2,5éq.) est ajouté et le mélange est agité pendant 16h à 40°C. En fin de réaction, le milieu réactionnel est neutralisé avec un excès d'acide acétique puis les solvants sont évaporés. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : DCM/MeOH 99/1 v:v) et il est obtenu 275mg de produit **24** soit un rendement de 92%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 11,15 (2H, s); 11,03 (1H, s); 11,02 (1H, s); 11,00 (1H, s); 10,89 (1H, s); 10,80 (1H, s); 8,31 (1H, d, J=8,1Hz); 8,07 (2H, m); 7,83-7,71 (4H, m); 7,55-7,29 (7H, m); 7,21-7,10 (5H, m); 6,69 (1H, s); 6,56 (1H, s); 6,53 (1H, s); 6,47 (1H, s); 6,43 (1H, s); 6,18 (1H, s); 4,27-3,65 (16H, m); 2,60-2,31 (8H, m); 1,46-1,19 (48H, m).

Oligomère **25**

Amine: d'après la procédure générale de déprotection des boc, il est utilisé : **19** (12mg, 0,013mmol, 1éq.), DCM (1mL), TFA (64μL, 0,83mmol, 64éq.).

Couplage : l'oligomère **25** est obtenu d'après la procédure générale. Octamère acide **24** (148mg, 0,06mmol, 4,4éq.), HBTU (30mg, 0,08mmol, 6éq.), HOBt (7mg, 0,05mmol, 4éq.), DMF distillé (1,5mL), DIEA (46μL, 0,34mmol, 20éq.) et amine (12mg, 0,013mmol, 1éq.) dissoute dans 0,70mL de DMF distillé. En fin de réaction, il apparaît un précipité qui est récupéré par filtration. Il est obtenu 80mg du produit attendu soit un rendement de 57%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 10,95 (4H, s); 10,89 (4H, s); 10,73 (4H, s); 10,65 (4H, s); 10,59 (4H, s); 10,32 (4H, s); 10,17 (4H, s); 9,06 (2H, d, J=4,5Hz); 8,70 (4H, s); 8,23 (4H, d, J=8,1Hz); 7,71 (4H, d, J=8,1Hz); 7,61 (8H, m); 7,41-7,36 (19H, m); 7,21-7,06 (26H, m); 6,94 (7H, m); 6,79 (4H, d, J=8,1Hz); 6,35 (4H, s); 6,27 (4H, s); 6,26 (4H, s); 6,17 (4H, s); 6,01 (4H, s); 5,99 (4H, s); 5,57 (4H, s); 4,96 (4H, m); 4,18-3,69 (56H, m); 3,61-3,45 (8H, m); 2,70 (4H, d, J=16,8Hz); 2,49-2,30 (32H, m); 1,63 (4H, d, J=16,8Hz); 1,37-1,13 (192H, m).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 164,3; 163,8; 163,7; 163,6; 163,1; 163,0; 162,5; 160,5; 160,3; 160,1; 159,4; 158,8; 158,3; 158,2; 157,9; 153,5; 152,7; 149,7; 148,1; 147,9; 147,6; 147,5; 147,1; 146,7; 144,9; 139,2; 139,1; 138,4; 138,3; 138,2; 138,2; 137,9; 137,5; 133,6; 133,2; 133,1; 133,0; 132,8; 132,6; 131,7; 131,6; 131,4; 131,3; 130,8; 127,3; 125,3; 124,0; 123,5; 120,4; 119,8; 119,7; 119,1; 118,8; 117,9; 116,3; 116,0; 114,8; 114,7; 109,1; 109,0; 108,9; 108,8; 108,7; 108,5; 108,0; 105,2; 100,6; 99,9; 99,1; 99,0; 98,8; 98,6; 98,5; 98,1; 98,0; 76,3; 75,7; 30,8; 29,7; 28,1; 27,8; 19,8; 19,7; 19,6; 19,5; 19,4; 19,3; 19,2; 19,1.

SM (maldi) : m/z = 10530,1 [M+H]⁺.

Références bibliographiques

-
- ¹ Jiang, H.; Léger, J.-M.; Huc, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3448.
- ² Jiang, H.; Léger, J.-M.; Dolain, C.; Guionneau, P.; Huc, I. *Tetrahedron*. **2003**, *59*, 8365.
- ³ Gillies, E. R.; Dolain, C.; Léger, J.-M.; Huc, I. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7931.
- ⁴ Gillies, E. R.; Deiss, F.; Staedel, C.; Schmitter, J.-M.; Huc, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4081.
- ⁵ Shirude, S. P.; Gillies, E. R.; Ladame, S.; Godde, F.; Shin-Ya, K.; Huc, I.; Balasubramanian, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, accepté.
- ⁶ Diez-Barra, E.; Garcia-Martinez, J. C.; Merino, S.; del Rey, R.; Rodriguez-Lopez, J.; Sanchez-Verdu, P.; Tejada, J. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5664.
- ⁷ Watson, M. J.; Horsburgh, M. K.; Goodby, J. W.; Takatoh, K.; Slaney, A.; Patel, J. S.; Styring, J. *Mater. Chem.* **1998**, *8*, 1963.
- ⁸ Hill, D. J.; Moi, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893-4012.
- ⁹ C. M. Elliot, E. J. Hershenhart *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7519.
- ¹⁰ G. Will, G. Boschloo, S. Nagaraja Rao, D. Fitzmaurice *J. Phys. Chem. B.* **1999**, *103*, 8067.

Chapitre V

Formation dynamique de structures tertiaires protéomimétiques

Un manuscrit sur les résultats présentés dans ce chapitre est en cours de rédaction.

Introduction

L'élaboration d'assemblages de grandes tailles dont les propriétés ressemblent à celles des protéines nécessite une stratégie de synthèse convergente et une conception très fine des systèmes.

Dans le but de limiter les difficultés de synthèse et de rationalisation de tels objets, la Chimie Combinatoire Dynamique (CCD) peut être une alternative intéressante. L'approche combinatoire dynamique s'est rapidement développée ces dernières années et est utilisée pour la formation entre autres de molécules biologiquement actives. Parallèlement, les phénomènes d'auto assemblage dirigés par reconnaissance moléculaire ont aussi été largement étudiés en chimie supramoléculaire. L'association de ces deux concepts, notamment par J.-M. Lehn, a donné accès à une grande variété d'assemblages moléculaires qui n'ont pas requis de lourdes synthèses.^{1,2} Ainsi que l'illustre la Figure 1, la CCD nécessite une bibliothèque de constituants qui s'interconvertissent à travers un équilibre dynamique. Ces constituants de la bibliothèque sont des assemblages de molécules connectées entre elles par des liens covalents réversibles ou par des interactions faibles. Par la suite, quand une cible est introduite dans le mélange dynamique, seuls quelques constituants sont reconnus, ce qui conduit au déplacement de l'équilibre d'interconversion vers la formation des constituants reconnus uniquement. Leur présence au sein de la librairie est alors amplifiée et la concentration des constituants non reconnus diminue.

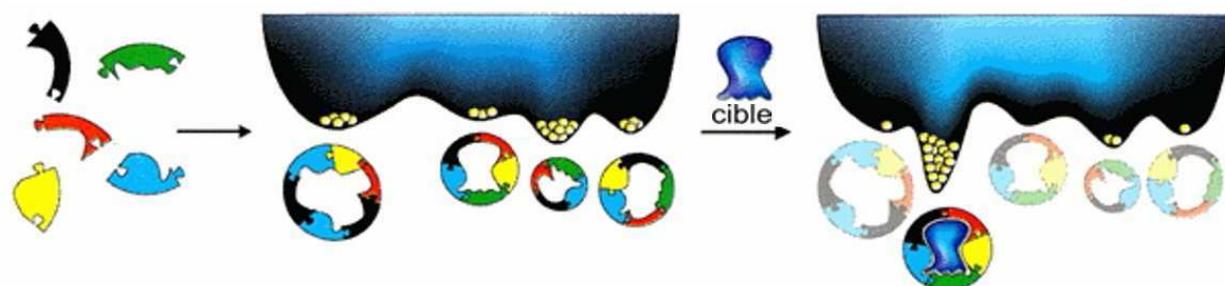


Figure 1. Représentation schématique d'une bibliothèque de CCD et de son profil énergétique. L'addition d'une cible induit une forte amplification d'un des constituants de la bibliothèque.³

Pour la constitution de bibliothèques, des réactions réversibles telles que la formation de liens disulfures,³ la transestérification,^{4,5} la transacétalisation,⁶ la métathèse^{7,8} ou la formation d'imines⁹ sont utilisées. D'autre part, le plus souvent, les liaisons non covalentes

mises en jeu dans la formation des bibliothèques dynamiques sont les liaisons hydrogène¹⁰ ou la coordination de métaux.^{11,12}

Une plus grande diversité des constituants de la bibliothèque peut être introduite si plusieurs réactions (ou interactions) réversibles sont possibles. Eliseev, Lehn et coll. ont à ce propos décrit une bibliothèque orthogonale où deux réactions réversibles peuvent être contrôlées indépendamment. La première est la formation de complexes de cobalt avec des ligands terpyridine amine et la seconde est la formation de fonctions imines entre des aldéhydes et ces ligands amines. L'échange entre ligands complexés peut être stoppé par une oxydation du métal central. Le second échange peut, quant à lui, être activé par diminution du pH et augmentation de la température (Figure 1).¹³

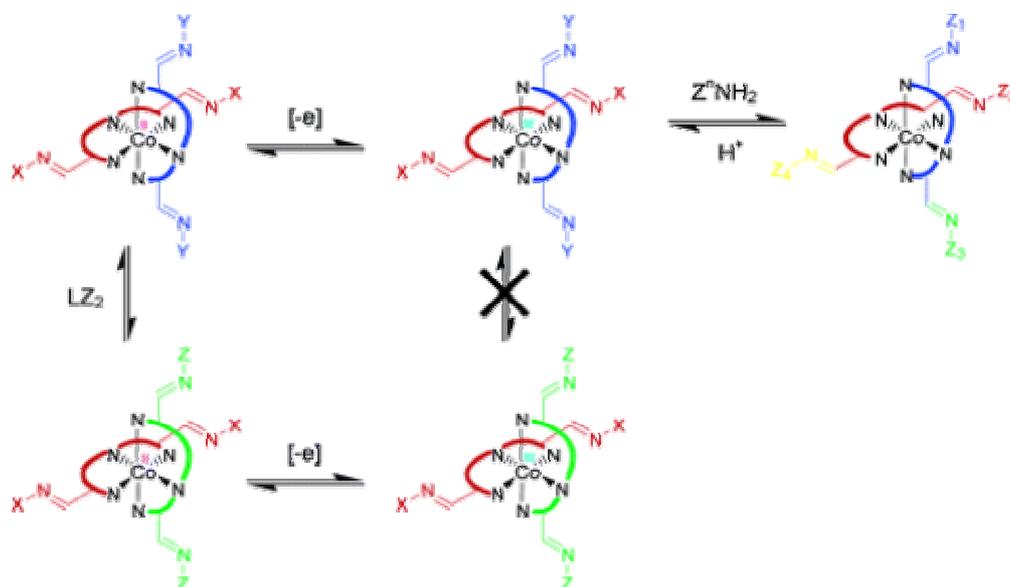


Figure 2. Exemple de réactions réversibles orthogonales utilisées en chimie combinatoire dynamique.^{12,13}

Cette stratégie combinant deux réactions réversibles a aussi été développée par J. Nitschke et coll. De la même manière, la réversibilité de la formation de liaisons imines et de liaisons métal-ligand est utilisée. Dans un premier temps, le mélange d'une diamine avec des aldéhydes donne plusieurs composés dans l'eau puis l'addition de cuivre I dans ce mélange permet la formation de seulement deux complexes (Figure 3).¹⁴

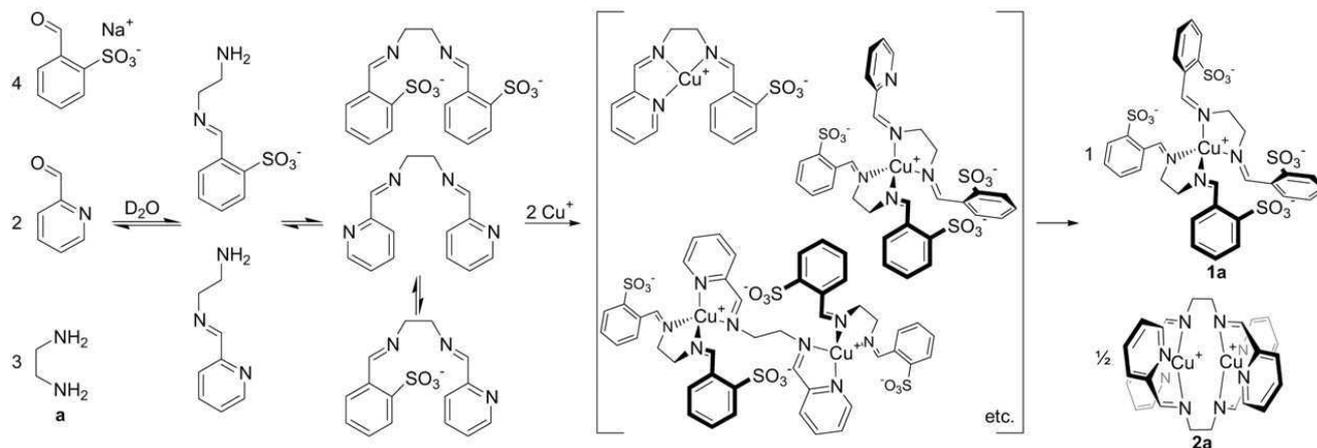


Figure 3. Formation simultanée de complexes à partir d'une librairie de ligands.¹⁴

L'efficacité de la chimie combinatoire dynamique a par ailleurs été exploitée pour l'élaboration de structures tertiaires protéiques. Par exemple, McLendon et coll. ont étudié le repliement en faisceaux d'hélices d'oligopeptides amphipathiques.¹⁵ Ils ont utilisé trois peptides, présentant des faces hydrophobes différentes (avec zéro, deux ou quatre leucines) et fonctionnalisés par des bipyridines à leur extrémité. L'ajout de fer II permet l'association des hélices en différents trimères constituant une librairie dynamique. En présence d'une faible concentration de fer II, le faisceau le plus stable, constitué des hélices les plus hydrophobes (quatre leucines), a alors pu être amplifié (Figure 4).

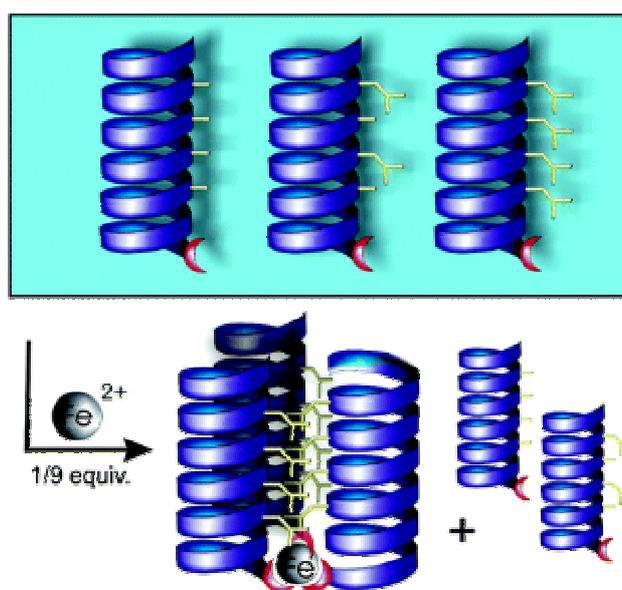


Figure 4. Sélection du faisceau d'hélices le plus stable à partir d'une librairie de complexes.¹⁵

Cet assemblage dynamique de motifs secondaires est un exemple prometteur vers l'utilisation de la chimie combinatoire dynamique pour la formation de structures protéomimétiques de grandes tailles.

L'objet du chapitre qui suit est la préparation d'architectures artificielles ayant une taille (4-40KDa) et un niveau de structuration se rapprochant de ceux des protéines. Ce travail effectué en collaboration avec le groupe de Jonathan Nitschke (université de Genève, Suisse) utilise la chimie combinatoire dynamique (chimie développée par le groupe de J. Nitschke), notamment la réversibilité des fonctions imines et la coordination des métaux, pour connecter des foldamères hélicoïdaux (chimie développée par le groupe de I. Huc). Les objets ainsi formés comprennent différents niveaux d'organisation : des séquences de monomères bien choisies se repliant en hélices stables, elles-mêmes connectées par des liens réversibles.

Le travail a été réparti de la manière suivante : à Bordeaux, les précurseurs amines (monomères et foldamères) ont été synthétisés, puis envoyés à Genève où les complexes ont été formés par Marie Hutin (doctorante du groupe de J. Nitschke). Les analyses par RMN et spectrométrie de masse ont été réalisées à Genève alors que la diffraction des rayons X a été effectuée à Bordeaux. Finalement, l'exploitation des données a été conjointement menée par les deux groupes.

1. Conception des structures

L'objectif de ce travail est l'élaboration d'édifices supramoléculaires organisés de taille similaire à celle des protéines. Ces architectures protéomorphes structurées pourraient permettre, à long terme, de mimer les fonctions des protéines (reconnaissance moléculaire de substrats, catalyse...).

1.1 Méthode

La coordination des métaux est une stratégie efficace pour parvenir à synthétiser des composés de hauts poids moléculaires de façon rapide et convergente. De surcroît, une telle stratégie d'auto-assemblages permet l'introduction d'une grande diversité structurale à travers le choix du métal, du nombre de sites de coordination et de la nature du ligand. C'est pourquoi, nous proposons ici d'utiliser la chimie combinatoire dynamique et en particulier des auto-assemblages dynamiques de foldamères hélicoïdaux liés par liaisons non covalentes réversibles que sont les liaisons métal-ligand (Figure 5).

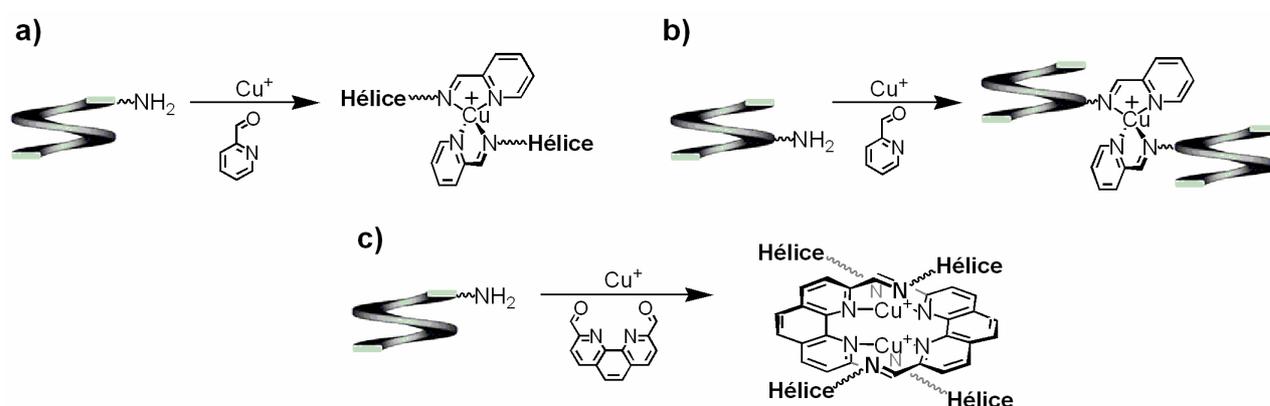


Figure 5. Stratégie proposée pour la formation des auto-assemblages de foldamères hélicoïdaux. **a)** Complexe mononucléaire où l'hélice est liée au métal par son extrémité. **b)** Complexe mononucléaire où l'hélice est liée latéralement au métal. **c)** Complexe dinucléaire où l'hélice est liée au métal par son extrémité.

Cette approche implique la formation de liaisons imines autour d'un métal de transition, le cuivre I. Deux niveaux distincts et orthogonaux d'auto-assemblages sont par conséquent introduits du fait de la réversibilité de la liaison covalente imine d'une part et du fait de la réversibilité de la liaison dative ligand-métal d'autre part.

1.2 Les structures hélicoïdales

Dans le but de simplifier la préparation d'objets protéomorphes de grandes tailles, l'utilisation d'oligoamides ayant une conformation repliée bien définie et stable est un atout incontestable (chapitre II). Les foldamères dérivés de l'acide 8-amino-2-quinoline carboxylique permettent, en effet, d'avoir la certitude qu'ils adoptent une structure secondaire hélicoïdale, seuls le sens d'hélicité et l'orientation des hélices au sein des complexes ne seront pas contrôlés. De plus, ils sont synthétisés aisément et possèdent de nombreux sites fonctionnalisables. Ils peuvent être fonctionnalisés par différents groupes (amines, acides,

amides...) à leurs extrémités C ou N-terminales ou au niveau de leurs chaînes latérales. Enfin, il est possible de contrôler le sens d'hélicité de leurs conformations par l'incorporation d'un groupement chiral à l'extrémité N-terminale de leur squelette.

1.3 Assemblage par coordination du cuivre I

La formation de liaisons imines autour de cuivre I pour l'obtention de complexes est une technique largement étudiée par J. Nitschke. Elle permet l'élaboration de complexes variés mais permet aussi d'obtenir une grande sélectivité des complexes formés. Malgré la stabilité thermodynamique de ces complexes (notamment dans l'eau!), des réarrangements dynamiques peuvent être induits et contrôlés par transfert de protons^{16,17} ou par diminution des contraintes stériques (Figure 6).¹⁴

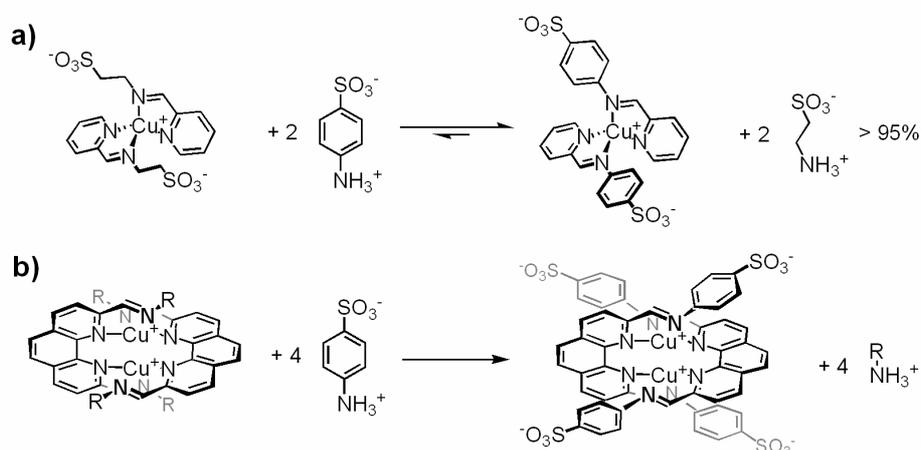


Figure 6. Réactions de substitutions des composants des ligands dirigées par la différence de pKa. **a)** Pour un complexe mononucléaire.¹⁶ **b)** Pour un complexe dinucléaire. R désigne des chaînes aliphatiques.¹⁷

Comme le montre la Figure 6, la modification du ligand n'altère pas la géométrie et la stoechiométrie du complexe, les deux réactions réversibles (formation des imines et coordination du cuivre) peuvent être contrôlées de façons indépendantes.

2. Validation des réactions de complexation

Les structures envisagées impliquent la fonctionnalisation des oligomères hélicoïdaux. Dans un premier temps, les fonctions amines seront introduites uniquement aux extrémités C et N-terminales. Afin de valider la formation des complexes, des monomères quinolines ont d'abord été utilisés.

2.1 Synthèse de monomères-amines

Des amines aliphatiques (Schéma 1, **2** et **5**) ou des amines aromatiques (Schéma 1, **3** et **4**) ont été introduites en position C ou N-terminale à partir de différents précurseurs (**1** : monomère nitro-ester, **1a** : monomère nitro-acide, **1b** : monomère amine-ester) dont la synthèse a été décrite au chapitre II. Hormis, l'amine **2** qui est issue de l'aminolyse de l'ester méthylique, les autres sont obtenues après des réactions de couplage, soit en présence d'agents de couplage (**5**) soit par la condensation d'une amine sur un chlorure d'acide (**3** et **4**).

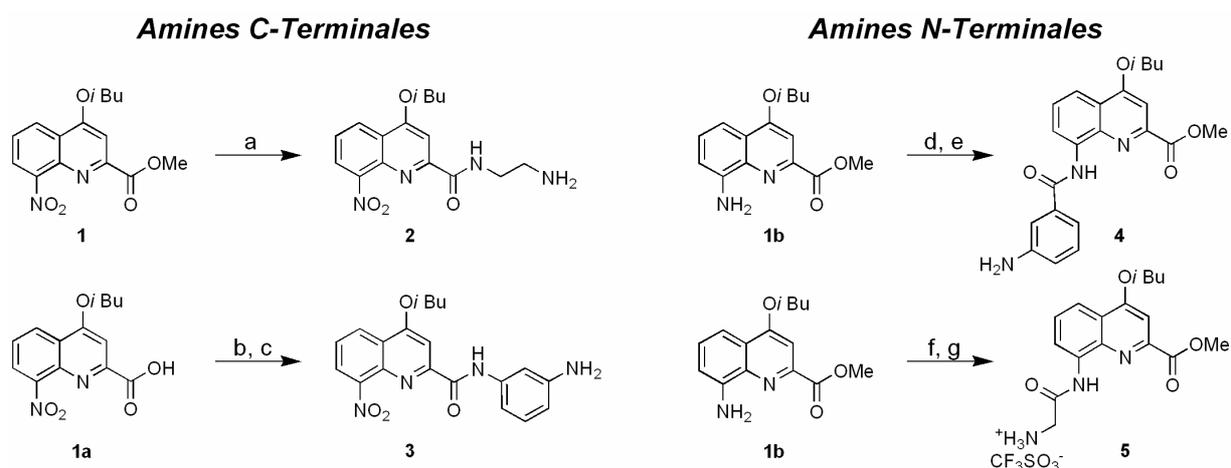


Schéma 1. Synthèse des précurseurs amines. **a.** $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, THF, MeOH, t.a., 1h, quant. **b.** SOCl_2 , 90°C , 10min, quant. **c.** *m* diaminobenzène, DIEA, DCM, t.a., 16h, 50%. **d.** 3- NO_2PhCOCl , DIEA, DCM, t.a., 16h, 80%. **e.** H_2 , Pd/C, EtOAc, t.a., 2h, quant. **f.** BocGlyOH, PyBop, DIEA, DMF, t.a., 16h, 73%. **g.** $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$, DCM, t.a., 1h, 60%.

Au cours de la synthèse de l'amine **3**, il a été obtenu une proportion non négligeable (25%) du composé symétrique (issu de la condensation des deux fonctions amines sur des monomères chlorure d'acide) malgré le fort excès de 3-aminoaniline utilisé. Ceci est possiblement dû à une activation significative de la deuxième fonction amine après la condensation de la première.

Les ions trifluoroacétates ont tendance à accélérer les réactions de dismutation du cuivre I par la formation de structures stables paddlewheel (roue à aubes) $\text{Cu}_2(\text{O}_2\text{CF}_3)_4$, c'est pourquoi l'amine **5** a été synthétisée sous forme d'un sel de triflate et non en utilisant l'acide trifluoroacétique plus classique pour la déprotection d'un groupe Boc.

D'une manière générale, les amines ont été synthétisées avec des rendements corrects afin d'obtenir environ 100mg de produit.

2.2 Résultats

Les amines présentées ci-dessus ont alors été mises en présence de différents aldéhydes et de cuivre I afin de former des complexes. Les résultats de ces réactions sont présentés dans le Tableau 1.

Complexes mononucléaires

$$2 \text{ R-NH}_2 + \begin{matrix} \text{2} \\ \text{ou} \\ \text{2} \end{matrix} \begin{matrix} \text{aldéhyde} \\ \text{aldéhyde} \end{matrix} + 1 \text{ Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{BF}_4 \xrightarrow[50^\circ\text{C}]{\text{solvant, Argon}} \text{Complexe mononucléaire}$$

Complexes dinucléaires

$$4 \text{ R-NH}_2 + 2 \text{ Aldéhyde} + 2 \text{ Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{BF}_4 \xrightarrow[50^\circ\text{C}]{\text{solvant, Argon}} \text{Complexe dinucléaire}$$

	Aldéhyde 1			Aldéhyde 2			Aldéhyde 3		
	CD ₃ CN	MeOD	DMSO	CD ₃ CN	MeOD	DMSO	CD ₃ CN	MeOD	DMSO
2 :	oui vf	non	oui of	oui of		oui of		oui of	
3 :	oui vf	oui vf	oui vf				oui rf	oui rf	non
4 :	oui vf	oui vf	oui vf				oui rf	oui rf	oui rf
5 :							non	non	non

Tableau 1. Récapitulation des essais de complexation effectués. Il est noté *non* quand aucune trace de complexe n'a été observée. Il est noté *oui* quand le complexe a été observé par RMN et par spectrométrie de masse. Dans ce cas, la couleur des complexes est précisée (**vf** : vert foncé, **of** : orange foncé, **rf** : rose foncé).

Les complexes issus des amines **2**, **3** et **4** ont pu être généralement obtenus dans les trois solvants testés.

Dans le méthanol, malgré la faible solubilité des précurseurs amines et des complexes finaux, les réactions ont été quantitatives. Toutefois, en fin de réaction quand des précipités sont apparus, ils ont été récupérés par filtration afin d'être analysés par RMN et spectrométrie de masse. Dans chaque cas, les composés étaient bien les complexes attendus.

Les essais réalisés avec l'amine **5** n'ont pas permis de mettre en évidence la formation des complexes désirés. Il est possible que l'amide du composé **5** ait été déprotoné, créant ainsi

un site de coordination tridentate capable de complexer le cuivre II. Pour les composés **3** et **4**, ce problème n'a pas été rencontré.

La 6-méthyl-2-pyridinecarboxaldéhyde a été préférée à la 2-pyridinecarboxaldéhyde car l'équilibre de racémisation du complexe ($\Delta \leftrightarrow \Lambda$),ⁱ lié à la chiralité du cuivre I, est ralenti du fait de la présence du méthyle. Les spectres RMN se sont révélés plus fins et plus facilement exploitables.

L'ensemble de ces expériences a permis de mettre au point les conditions expérimentales et de valider l'utilisation des amines précédentes pour la formation d'auto-assemblages de foldamères.

3. Formation d'auto-assemblages de foldamères

3.1 Synthèse des oligomères fonctionnalisés

Sur la base des résultats décrits en section 2, un certains nombres d'amines aromatiques et aliphatiques ont été introduites en position N ou C-terminale de tétramères de quinolines (hélices de 1.5 tour) en suivant des protocoles similaires à ceux présentés précédemment. Parmi les amines introduites sur des monomères quinoline, seule l'amine aliphatique N-terminale du composé **5** a été écartée. Afin d'agrandir la bibliothèque d'amines, les oligomères **10** et **11** ont aussi été synthétisés car ils présentent l'avantage de ne requérir que peu d'étapes de synthèse. Les rendements de réaction vont de 72 à 93% et ont permis l'obtention de quantités suffisantes (de 50 à 200mg) de tétramères fonctionnalisés pour effectuer des essais de complexation (Schéma 2).

ⁱ Formellement, la nomenclature Λ et Δ est indiquée par l'IUPAC dans le seul cas des complexes à géométrie octaédrique de ligands tridendates. Un complexe mononucléaire tétraédrique de Cu(I) possédant deux ligands bidentates n'étant pas eux-mêmes symétriques possède une forme de chiralité axiale, comme celle d'un allène, d'un spirane ou d'un biphenyle ortho substitué. Les configurations absolues d'un tel complexe devraient être désignées par P ou M (ou R et S). Cependant, pour éviter la confusion avec la description du sens d'hélicité des oligomères, nous nommons ici Λ la configuration M du complexe et Δ la configuration P du complexe. P, et M sont eux-mêmes définis par le sens hélicité du complexe mononucléaire en prenant son axe C2 comme axe hélicoïdal, comme dans un hélicate multinucléaire.

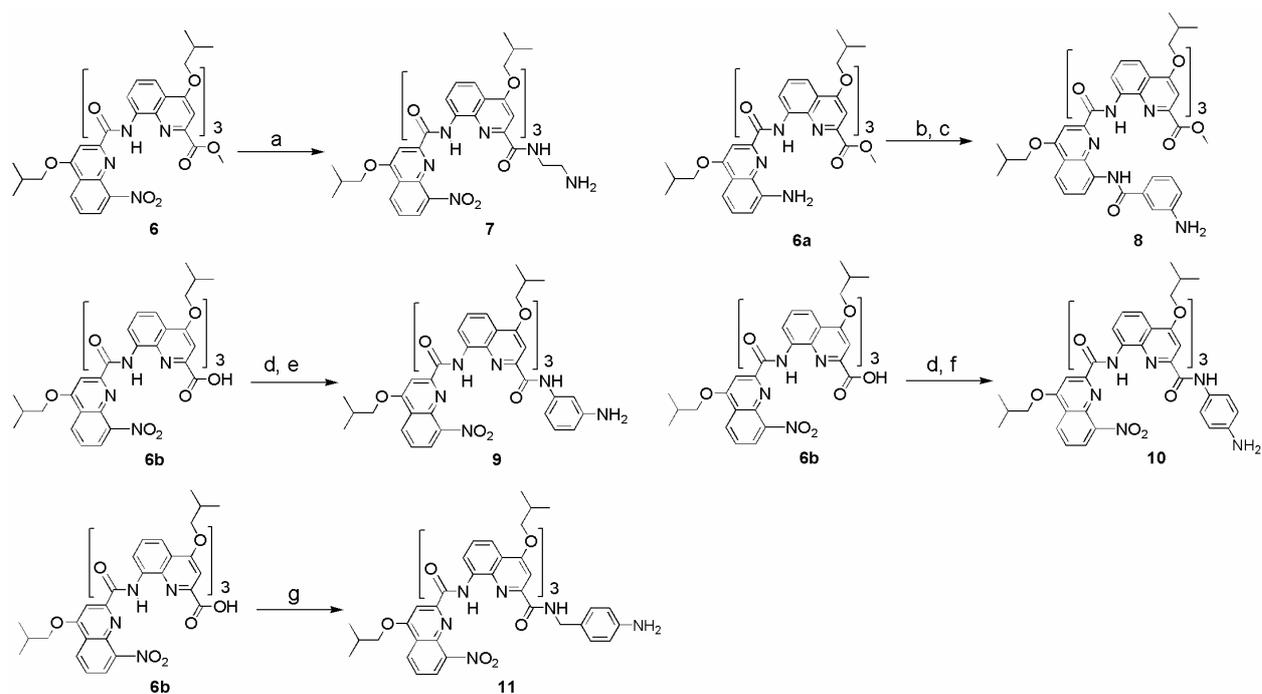


Schéma 2. Synthèse des foldamères fonctionnalisés par des amines. **a.** $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, THF, MeOH, t.a. puis 40°C , 3j, 88%. **b.** 3- NO_2PhCOCl , DIEA, DCM, t.a., 16h, 72%. **c.** H_2 , 4 bars, Pd/C, EtOAc, t.a., 16h, quant. **d.** Chloroamine, DCM, t.a., 16h, quant. **e.** *m* diaminobenzène, DIEA, DCM, t.a., 16h, 75%. **f.** *p* diaminobenzène, DIEA, DCM, t.a., 16h, 76%. **g.** *p* amino-benzylamine, HBTU, HOBt, DIEA, DMF, t.a., 16h, 93%.

Contrairement aux résultats observés pour le composé **3**, au cours de la synthèse de l'oligomère **9**, il n'a pas été observé la formation du composé symétrique. L'encombrement stérique de la seconde fonction amine rend peut-être la seconde condensation plus difficile.

3.2 Résultats et discussion

Comme pour les monomères fonctionnalisés, chaque tétramère-amine a été placé en présence de différents aldéhydes et de cuivre I (Schéma 3). Le cas de la phénantroline dialdéhyde ne sera pas discuté ici puisque les résultats obtenus pour l'instant n'ont pas permis de mettre clairement en évidence la formation de complexes.

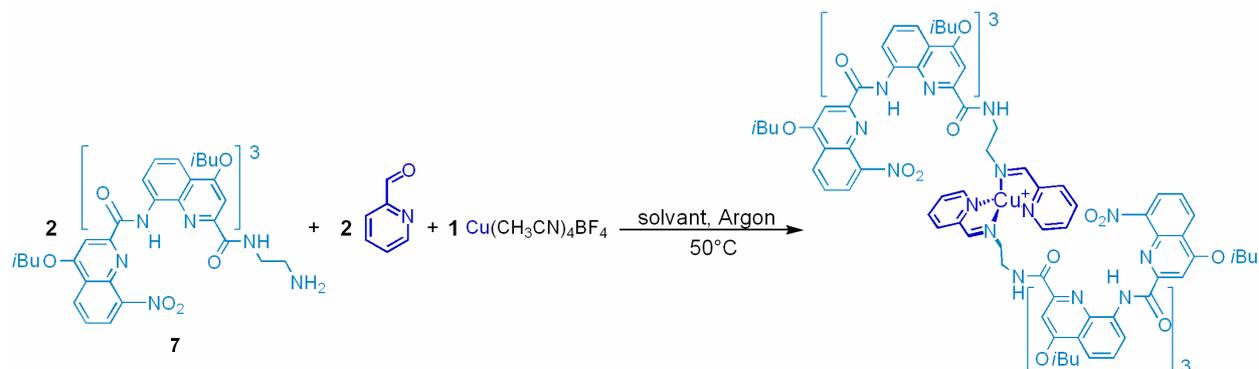


Schéma 3. Exemple de réaction effectuée pour la formation d'un complexe mononucléaire. L'oligomère **7** est représenté en bleu clair, le cuivre I et la 2-pyridinecarboxaldéhyde en bleu foncé.

Dans le cas des complexes mononucléaires, le cuivre I est une source de chiralité, il peut être Λ ou Δ . Comme il a été dit précédemment, il est possible de ralentir l'équilibre d'inversion de la chiralité du cuivre via l'échange de ligand en encombrant les ligands et en particulier les aldéhydes. De plus, le repliement en hélice de chaque oligomère quinoline leur confère aussi une chiralité. Une hélice peut en effet être P (hélice droite) ou M (hélice gauche). Lorsqu'il s'agit de tétramères (de taille relativement faible : 1,5 tour), comme c'est le cas dans notre étude, l'équilibre d'interconversion des hélices P et M est rapide relativement à des oligomères plus longs, mais, si nécessaire, il est possible de le ralentir au point qu'il devienne lent au temps de la RMN en abaissant la température à 10°C.

Pour un complexe donné, deux ligands sont nécessaires (soit deux hélices), et un cuivre I. Par conséquent, six espèces, rassemblées en trois couples d'énantiomères, peuvent se trouver en équilibre : les espèces homohélicoïdales P Δ P/M Λ M et P Λ P/M Δ M ainsi que les espèces hétérohélicoïdales P Δ M/M Λ P. Statistiquement, c'est-à-dire dans le cas improbable où ces diasétéroisomères possèderaient la même énergie, il est attendu un mélange constitué à 25% de chaque paire d'énantiomères homohélicoïdaux et à 50% de la paire d'énantiomères hétérohélicoïdaux. En effet, les espèces hétérohélicoïdales sont deux fois plus probables du fait de leur dégénérescence, P Δ M étant identique à M Λ P. Toute déviation des proportions par rapport à ces valeurs statistiques pourra être interprétée comme le résultat d'interactions particulières entre les différents éléments de chiralités des espèces. L'étude des proportions des différentes espèces permettra alors de mettre en évidence des phénomènes de communication métal-hélice ou hélice-hélice si celles-ci sont en contact direct.

3.2.1 Multiplicité des signaux par RMN ^1H

L'étude de la transmission de chiralité entre les hélices et le métal a dans un premier temps été effectuée en solution par RMN ^1H . Compte tenu du fait que trois espèces sont susceptibles d'être présentes en solution, il est attendu une certaine complexité des spectres RMN. Afin de simplifier les analyses, seule la région des protons amides du squelette des oligomères sera considérée.

D'une manière générale, le squelette d'un tétramère quinoline est constitué de trois protons amides fortement déblindés vers 11-12 ppm (chapitre II). De même, pour les deux racémiques de complexes homohélicoïdaux (P Δ P/M Λ M et P Λ P/M Δ M) il est attendu trois protons amides puisque les deux hélices d'un même complexe sont équivalentes : l'une est exactement dans le même environnement que l'autre. Les deux énantiomères au sein d'une

paire possèdent des spectres RMN identiques, c'est au final un jeu de trois signaux qui est attendu pour chaque espèce homohélicoïdale (Tableau 2).

Entrée	Référence	Espèces homohélicoïdales		Espèces hétérohélicoïdales
	Tétramère	PΔP/MΔM	PΔP/MΔM	PΔM/MΔP
Nombre de protons <i>amides</i>	3	6	6	6
Multiplicité des signaux	3	3	3	6

Tableau 2. Prévion de la multiplicité des signaux des protons amides du squelette des oligomères engagés dans les complexes.

Pour les espèces hétérohélicoïdales, les hélices P et M d'un complexe n'ont pas le même environnement électronique car leurs interactions respectives avec le complexe métallique de chiralité définie qui les porte sont diastéréotopiques. Par conséquent, six signaux correspondant aux six protons amides seront attendus. De même que précédemment, les deux énantiomères (PΔM/MΔP) ne pourront pas être discriminés, seuls six signaux correspondants à ces deux espèces peuvent être observés (Tableau 2).

L'étude de la multiplicité des signaux des protons amides permettra a priori d'effectuer une première identification des espèces présentes en solution.

3.2.2 Criblage des complexes

Tous les oligomères synthétisés ont été systématiquement engagés dans des réactions de complexation avec différents aldéhydes et dans différents solvants. Par rapport aux tests effectués avec les monomères, quelques modifications des protocoles ont dû être effectuées notamment à cause des différences de solubilité des monomères et des tétramères.

A ce jour, les oligomères **10** et **11** sont toujours en cours d'étude, les résultats ne seront pas présentés ici. Différents tests ont été réalisés avec l'oligomère **9** mais pour l'instant les données accumulées ne permettent pas de mettre en évidence de phénomènes intéressants.

L'oligomère **8**, a, quant à lui, été engagé dans des réactions de complexation avec la 2-pyridine carboxaldéhyde, la 6-méthylpyridine-2-carboxaldéhyde et la 2-quinoline carboxaldéhyde. De tous les solvants testés, les données obtenues dans l'acétonitrile ont été les plus exploitables (même si les complexes ont été formés dans d'autres solvants) car les spectres RMN ¹H ont révélé des signaux fins et relativement étalés.

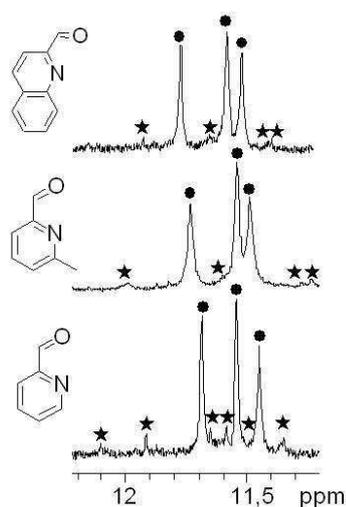


Figure 7. Parties des spectres RMN ^1H 500MHz des complexes formés avec l'oligomère **8** dans CD_3CN à 293K. Les cercles noirs désignent l'espèce homohélicoïdale. Les astérisques noirs désignent l'espèce hétérohélicoïdale.

Quels que soient les aldéhydes utilisés, les complexes formés présentent une espèce fortement majoritaire (cercles noirs Figure 7) et une espèce minoritaire (astérisques noirs

Figure 7). La multiplicité des signaux observés (3 NH) permet de dire que l'espèce majoritaire est l'un des deux couples homohélicoïdaux ($\text{P}\Delta\text{P}/\text{M}\Lambda\text{M}$ ou $\text{P}\Lambda\text{P}/\text{M}\Delta\text{M}$). Par ailleurs, sur les trois spectres RMN, l'espèce minoritaire possède plus de trois signaux visibles, il s'agit par conséquent de l'espèce hétérohélicoïdale ($\text{P}\Delta\text{M}/\text{M}\Lambda\text{P}$). L'absence des signaux de la deuxième espèce homohélicoïdale ainsi que les faibles proportions de l'espèce hétérohélicoïdale révèlent une préférence importante d'une des deux hélicités (P ou M) pour une seule des chiralités du cuivre (Δ ou Λ). Par exemple, si une interaction $\text{P}\Delta$ est plus favorable qu'une interaction $\text{P}\Lambda$, alors l'espèce $\text{P}\Delta\text{P}$ (et son énantiomère $\text{M}\Delta\text{M}$) seront favorisées, l'espèce $\text{P}\Lambda\text{M}$ (et $\text{M}\Delta\text{P}$) dans une moindre mesure, même si il faut tenir compte de la dégénérescence, et l'espèce $\text{P}\Delta\text{P}$ (et $\text{M}\Lambda\text{M}$) ne le sera pas du tout.

De plus, on note que les proportions de deux espèces présentes en équilibre changent en fonction de la nature de l'aldéhyde. Moins l'aldéhyde est encombré (de la quinoline carboxaldéhyde à la pyridine carboxaldéhyde), plus l'espèce hétérohélicoïdale est abondante (de 13% à 14%).

En l'absence de structure cristalline, il n'est pas possible d'attribuer les jeux de signaux et d'expliquer l'effet de l'encombrement des aldéhydes, des essais de cristallisation sont toujours en cours.

3.2.3 Avec l'oligomère 7

Les mêmes complexes que ceux synthétisés avec l'oligomère 8 ont été formés avec l'oligomère 7 dans le dichlorométhane et l'acétonitrile. Leur obtention a été contrôlée par spectrométrie de masse.

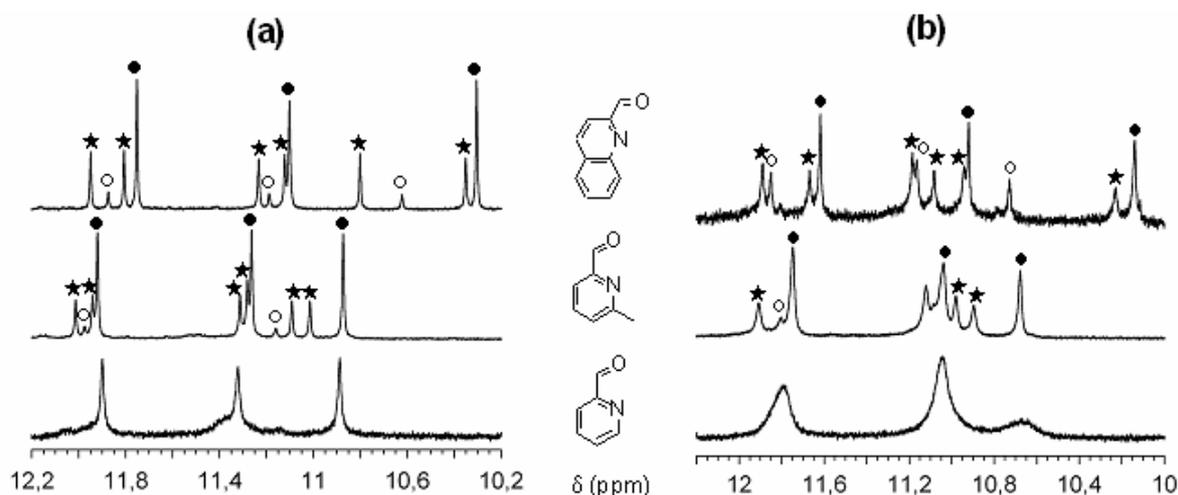


Figure 8. Parties des spectres RMN ^1H 500MHz des complexes formés avec l'oligomère 7 et les différents aldéhydes. (a) à 253K dans CD_2Cl_2 . (b) à 253K dans CD_3CN . Les cercles pleins désignent l'espèce homohélicoïdale majoritaire, les cercles vides désignent l'espèce homohélicoïdale minoritaire et les astérisques noirs désignent l'espèce hétérohélicoïdale.

Comme le montre la Figure 8, avec la quinoline carboxaldéhyde et la 6-méthyl-2-pyridine carboxaldéhyde, dans les deux solvants utilisés, il apparaît un équilibre lent au temps de la RMN entre trois espèces. Les deux espèces homohélicoïdales sont présentes (cercles pleins et cercles vides Figure 8) ainsi que l'espèce hétérohélicoïdale (astérisques Figure 8). En revanche, avec la 2-pyridine carboxaldéhyde, quelque soit la température, des signaux larges, non attribuables ont été observés. Il s'agit certainement d'un équilibre entre plusieurs espèces ; à 253K, celui-ci est trop rapide pour observer les espèces distinctement mais trop lent pour observer un spectre moyen.

	2-quinoline carboxaldéhyde			6-méthyl-2-pyridine carboxaldéhyde		
	homohélic. maj.	homohélic. min.	hétérohélic.	homohélic. maj.	homohélic. min.	hétérohélic.
CD_2Cl_2	49%	7%	44%	53%	7%	40%
CD_3CN	34%	15%	51%	33%	14%	53%

Tableau 3. Proportions dans CD_2Cl_2 et CD_3CN des espèces en équilibre formées avec l'oligomère 7 et la 2-quinoline carboxaldéhyde ou la 6-méthyl-2-pyridine carboxaldéhyde.

Dans les deux solvants, une des deux espèces homohélicoïdales (P Δ P/M Δ M ou P Δ P/M Δ M) domine, un des deux types d'interactions hélice-métal P Δ (et M Δ) ou P Δ (et M Δ) est donc favorisé (Tableau 3). Cette préférence est toutefois beaucoup plus marquée dans CD₂Cl₂. Les différences observées laissent penser que le solvant joue un rôle important dans les interactions hélice-métal, mais ne permettent pas de conclure quant à la communication entre ces deux partenaires. Dans CD₂Cl₂, il semblerait que l'encombrement de l'aldéhyde joue un rôle inverse que dans le cas de l'oligomère **8**. En effet, lorsque que l'on passe de la quinoline carboxaldéhyde à la méthyl pyridine carboxaldéhyde, l'espèce majoritaire est un peu plus favorisée (de 49% à 55%).

Quelque soit le solvant, et pour les deux aldéhydes, les proportions observées dans le Tableau 3 sont conformes à un modèle où il n'y a pas d'interactions hélice-hélice. En effet, en l'absence d'interactions hélice-hélice, si la proportion des interactions P Δ est x alors la proportion des interactions P Δ est $y = 1 - x$. Compte tenu de la dégénérescence des espèces, le complexe P Δ P/M Δ M a alors une proportion x^2 , le complexe P Δ P/M Δ M une proportion y^2 et le complexe P Δ M/M Δ P une proportion $2xy$. Ce modèle s'applique relativement bien pour les quatre situations précédentes. Par exemple, prenons le cas du complexe formé avec la 2-quinolinecarboxaldéhyde dans le dichlorométhane. Si l'espèce majoritaire est P Δ P/M Δ M, alors on a $x^2 = 0,49$, $x = 0,70$, $y = 1 - x = 0,30$, $y^2 = 0,09$ et $2xy = 0,42$. Expérimentalement, on a trouvé $x^2 = 0,49$, $y^2 = 0,07$ et $2xy = 0,44$, aux erreurs près d'intégration des signaux RMN, ces données sont en accord.

Des cristaux obtenus avec la méthyl pyridine carboxaldéhyde et issus de deux solvants de cristallisation différents ont pu être analysés par diffraction des rayons X.

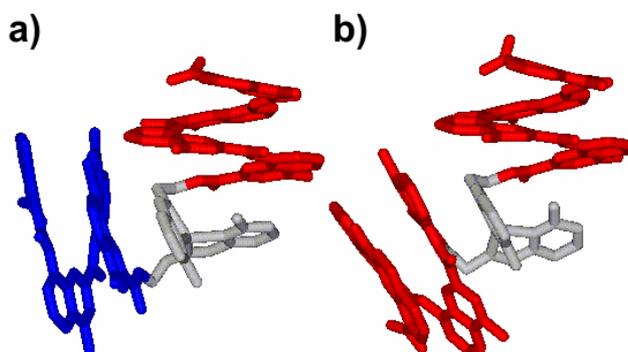


Figure 9. Structures cristallines de complexes de Cu(I) de l'imine obtenue par condensation de **7** avec la méthyl pyridine carboxaldéhyde. **a)** Cristaux issus du méthanol révélant un mélange racémique M Δ P/P Δ M. **b)** Cristaux issus du benzène révélant un mélange racémique du complexe M Δ M/P Δ P. Dans cette figure, seules les unités asymétriques apparaissent, avec la configuration Δ du complexe de cuivre. Une hélice P est représentée en bleu et les hélices M en rouge. Les chaînes latérales ainsi que les molécules de solvant ont été omises pour plus de clarté.

Comme le montre la Figure 9 a, alors que les études en solution précédentes ont révélé que l'espèce hétérohélicoïdale MΔP et son énantiomère PΔM n'étaient pas nécessairement majoritaires, c'est celles qui ont cristallisé dans le méthanol. En revanche dans le benzène, c'est l'espèce PΔP et son énantiomère MΔM qui ont cristallisé (Figure 9 b). La dissolution des cristaux obtenus dans le benzène et la mesure d'un spectre RMN ne permet pas d'attribuer les signatures spectrales des espèces en solution car l'inversion du sens d'hélicité est rapide et le mélange retourne à l'équilibre. Ainsi, nous ne pouvons pas dire si l'espèce homohélicoïdale qui a cristallisé est l'espèce majoritaire en solution ou bien, de façon inattendue mais pas impossible, est l'espèce la moins abondante.

Dans les deux structures, les hélices composant le complexe sont orientées à 90° car l'orientation perpendiculaire des ligands dans la géométrie tétraédrique du complexe de cuivre I se répercute sur celle des hélices. De plus, il semblerait dans ces deux structures que les interactions PΔ (et MΔ) donnent lieu à un meilleur recouvrement aromatique entre la pyridine et le premier monomère quinoline que les interactions MΔ (et PΔ).

La conformation originale du complexe dite « en coin » permet d'envisager des extensions de ce travail. L'utilisation de segments hélicoïdaux fonctionnalisés par des groupes aminoéthyl à leurs *deux* extrémités pourrait permettre l'élaboration de structures supramoléculaires cycliques de type polygone dans lesquelles chaque sommet serait un complexe de cuivre et chaque côté un segment hélicoïdal (voir en conclusion).

Afin de tenter de corréler les données en solution et dans le solide et d'attribuer les signaux observés par RMN à des configurations absolues, nous avons décidé d'étudier des complexes composés d'un oligomère dont le sens d'hélicité est contrôlé.

3.2.4 Attribution des espèces en solution

Sur la base des travaux de C. Dolain¹⁸ et Legiso Poniman, doctorants de l'équipe d'Ivan Huc, il a été démontré qu'il était possible de contrôler de façon quantitative le sens d'hélicité d'un oligomère quinoline en ajoutant à l'extrémité N-terminale un groupement chiral particulier : l'acide camphanique. L'acide camphanique utilisé contraint l'hélice à adopter un sens d'hélicité unique (P dans notre cas), caractérisé par RMN (critère de pureté) et par dichroïsme circulaire (pour l'attribution du sens d'hélicité).

Dans le cadre de notre étude, un tétramère quinoline possédant ce groupement chiral à l'extrémité N-terminale a été synthétisé (composé **14** Schéma 4).

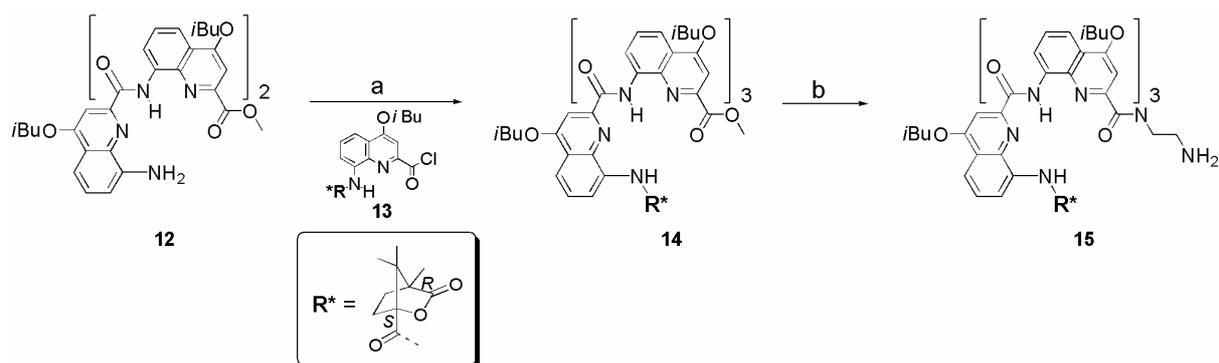


Schéma 4. Synthèse du précurseur amine dont le sens d'hélicité est contrôlé. **a)** DIEA, DCM, t.a., 16h, 78%. **b)** $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, THF, MeOH, t.a. puis 40°C , 3j, 49%.

L'aminolyse de l'oligomère **14** avec l'éthylène diamine a permis d'obtenir l'oligomère **15** avec un rendement modéré. Ce rendement peut, peut-être, s'expliquer par une réaction parasite de l'éthylène diamine avec la lactone cyclique du motif camphanique.

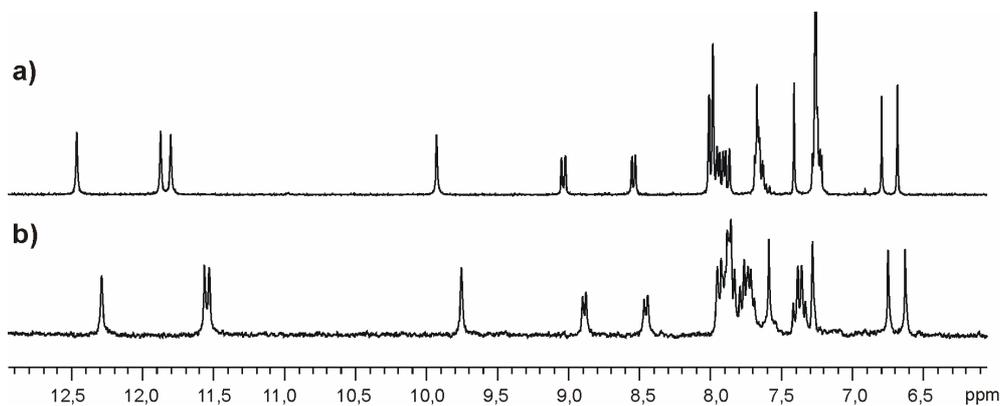


Figure 10. Parties des spectres RMN ^1H 300 MHz. **a)** Oligomère **14** dans CDCl_3 . **b)** Oligomère **15** dans DMSO-d_6 .

L'induction totale du sens d'hélicité a été contrôlée par RMN ^1H (Figure 10). Les spectres des oligomères **14** et **15** ne révèlent qu'un seul jeu de signaux, il ne s'agit donc pas d'un mélange de diastéréoisomères. Seules les hélices P sont présentes en solution.

L'oligomère **15** a ensuite été mis en présence de 6-méthyl-2-pyridine carboxaldéhyde et de cuivre I afin d'obtenir les mêmes complexes que précédemment. Le contrôle du sens d'hélicité permet de grandement diminuer le nombre d'espèces susceptibles d'être formées. Seuls les diastéréoisomères P Δ P et P Δ P peuvent être obtenus. Les expériences menées avec l'oligomère **7** sur les racémiques (section précédente) ont montré que l'une de ces deux espèces est fortement favorisée par rapport à l'autre. Il devrait donc résulter un fort excès diastéréomérique du complexe Λ ou du complexe Δ . Dans le but de déterminer lequel de ces complexes domine, des études par dichroïsme circulaire (détection UV) ont été menées.

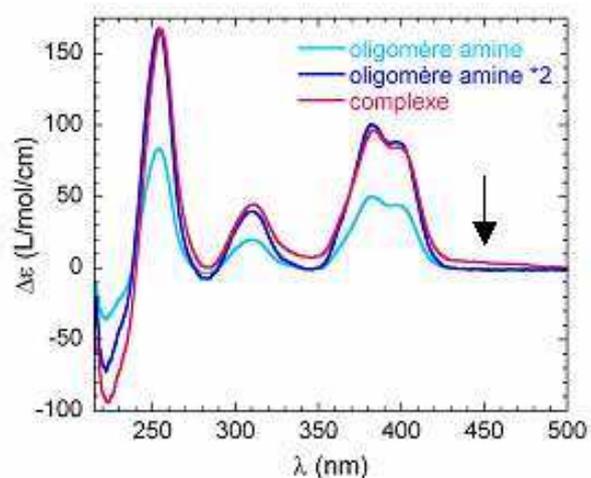


Figure 11. Spectres CD-UV dans CH_2Cl_2 à 20°C de l'oligomère **15** (bleu clair) de l'oligomère **15** multiplié par 2 (bleu foncé) et du complexe avec la 6-méthyl-2-carboxaldéhyde (rouge).

Les spectres CD présentent de fortes bandes dans la région d'absorption des noyaux quinolines entre 220 et 420nm (Figure 11). L'effet « cotton » positif à $\lambda = 385\text{nm}$ de l'oligomère **15** est caractéristique d'une hélice droite. Cette même bande est par conséquent observée pour le complexe. En revanche, le spectre du complexe présente aussi une bande positive de faible intensité ($\Delta\epsilon = 3,8 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) à $\lambda = 450\text{nm}$. Il s'agit de la bande MLCTⁱⁱ c'est-à-dire la bande de transfert de charge du métal vers le ligand. Il est possible de directement corrélérer cet effet « cotton » positif de la MLCT avec une configuration Δ du cuivre central,¹⁹ ainsi l'espèce majoritaire observée est l'espèce $P\Delta P$. La présence d'une espèce majoritaire révèle une transmission de chiralité de l'hélice vers le métal.

En extrapolant ce phénomène, il est possible de dire que la chiralité du motif camphanique est transmise à la chiralité axiale du complexe de cuivre I *via* les foldamères hélicoïdaux.

En se référant aux spectres RMN de la Figure 8a et des proportions données dans le Tableau 3 il est possible d'en déduire que, dans les complexes de cuivre I issus de l'oligomère **7**, l'espèce homohélicoïdale majoritaire est l'espèce $P\Delta P/M\Delta M$ et que l'espèce homohélicoïdale minoritaire est l'espèce $P\Delta P/M\Delta M$. Ceci est cohérent avec les structures cristallines obtenues : le racémique homohélicoïdal majoritaire en solution est bien celui qui a cristallisé du benzène.

De l'ensemble de ces données, il est possible de dégager une tendance pour les complexes formés avec la méthyl pyridine carboxaldéhyde : un sens d'hélicité P des hélices

ⁱⁱ Pour Metal-to-Ligand Charge Transfer

serait davantage adéquat pour à une configuration Δ du cuivre I. Il est difficile de rationaliser cette tendance mais les structures cristallines peuvent laisser penser qu'une conformation PAP/MAM conduit à un recouvrement aromatique plus important et donc à davantage d'interactions stabilisantes de π - π stacking entre la pyridine de l'aldéhyde et le premier monomère quinoline que la conformation PAP/M Δ M.

Cependant l'utilisation de la quinoline carboxaldéhyde à la place de la méthyl pyridine carboxaldéhyde, bien que sa surface aromatique soit plus importante ne donne pas lieu à une meilleure sélectivité (Tableau 3).

Conclusion et perspectives

Les tests effectués avec les monomères fonctionnalisés ont permis de valider la formation de complexes de cuivre I et de mettre au pont les protocoles expérimentaux. La synthèse relativement simple des oligomères a ensuite permis d'effectuer un criblage des oligomères qui a conduit à l'observation de phénomènes intéressants.

Pour l'oligomère **9**, il semblerait que la transmission de la chiralité entre les hélices et le métal central soit importante. Cette forme de communication serait, de plus, dépendante de l'encombrement stérique de l'aldéhyde.

Pour l'oligomère **7**, cette transmission de chiralité serait moins efficace puisque les trois couples d'énantiomères sont observés en solution et que la déviation des proportions par rapport aux proportions statistiques n'est pas très importante. L'étude complète effectuée sur cet oligomère a permis d'identifier les espèces. Il est probable que les deux méthylènes de l'éthylène amine permettent d'éloigner les hélices du métal et ainsi diminuer les interactions hélices/métal. Cependant, un arrangement original des hélices à 90° a été mis en évidence dans les structures cristallines. Cette topologie particulière permet d'envisager la formation de structures cycliques complexes.

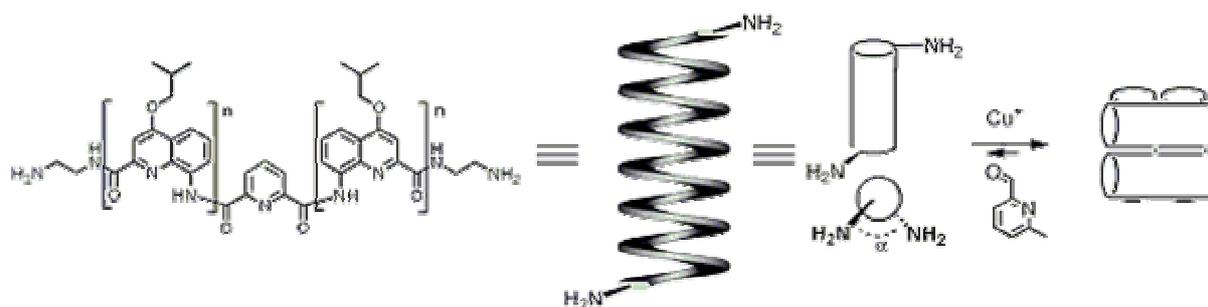


Figure 12. Conception d'auto-assemblages exploitant la structure « en coin » mise en évidence avec l'oligomère 7.

Comme le montre la Figure 12, la position relative et l'angle (α) que décrivent les deux fonctions amines peuvent être choisis en fonction du nombre de résidus (n) de la séquence oligomérique. Si le plus petit auto-assemblage peut être un carré, il est possible d'imaginer d'autres structures de taille plus importante (avec plus de deux complexes) où un cuivre I serait aux différents sommets de polygones.

D'autres extensions à ce travail peuvent être envisagées. Il est possible, d'une part, d'utiliser des hélices amphipathiques afin de favoriser la formation de faisceaux dans l'eau qui seraient alors stabilisés par effet hydrophobe.

D'autre part, les fonctions amines peuvent être introduites à d'autres positions (chaînes latérales par exemple), augmentant ainsi le nombre de fonctions amines et le nombre de constituants de la bibliothèque.

Enfin, il est possible de jouer sur la nature des amines (amines aliphatiques et amines aromatiques). Dans un premier temps, les amines les plus nucléophiles (aliphatiques) seraient mises en jeu dans le complexe. En diminuant le pH, les amines aliphatiques se protoneraient, laissant alors leur place aux amines aromatiques. Il serait alors possible d'induire des réarrangements (ou des mouvements) en jouant uniquement sur le pH.

Partie expérimentale

1 Cristallographie

Pour les deux complexes, les données ont été collectées sur un diffractomètre Rigaku Rapid équipé d'une anode tournante microfocus MM007 et des optiques Osmic Varimax® générant une radiation monochromatique Cu-K α (1,54178 Å). La collecte des données, l'affinement de la maille et l'intégration des intensités diffractées ont été effectués avec le logiciel CrystalClear®. La position de nombreux atomes (non hydrogène) a été déterminée par le programme SHELXD (dans ces calculs, il est rare que tous les atomes apparaissent). Des calculs de fourrier différence successifs permettent de positionner les autres atomes (non H). Parfois les chaînes latérales sont désordonnées. Les coordonnées des atomes d'hydrogène en positions théoriques sont calculées et introduites dans l'affinement pour calculer le facteur de structure.

données cristallographiques	complexe MAP/PAM	complexe MAM/PAP
Solvant de cristallisation	MeOH	benzène/n-hexane
Formule brute	C ₂₅₂ H ₂₅₂ B ₂ Cu ₂ F ₈ N ₄₄ O ₄₀	C ₂₅₂ H ₂₅₂ B ₂ Cu ₂ F ₈ N ₄₄ O ₄₀
Dimensions (mm)	0,1 × 0,1 × 0,1	0,1 × 0,1 × 0,05
Aspect	Prismes jaunes	Prismes jaunes
Mailles	Triclinique	Triclinique
Groupe spatial	P-1	P-1
Z	4	2
a (Å)	20,6510 (4)	19,457 (2)
b (Å)	26,1810 (5)	22,679 (2)
c (Å)	31,3470 (6)	23,441 (2)
α (deg)	110,980 (3)	117,311 (6)
β (deg)	90,726 (3)	109,269 (7)
γ (deg)	108,766 (3)	93,354 (7)
Température(K)	173 (2)	153 (2)
Volume (Å ³)	14825,9 (10)	8399,7 (13)
FW (g.mol ⁻¹)	4837,68	4837,68
ρ (g.cm ⁻³)	1,084	1,913
Radiation	Cu-K α	Cu-K α
λ (Å)	1,5418	1,5418
θ mesurés	6,53 ≤ θ ≤ 72,56	6,54 ≤ θ ≤ 72,32
Refl. Mesurées	126294	96533
Refl. uniques	49565	28240
GOF	1,02	1,043
R ₁ (I > 2 σ (I))	0,1496	0,1471
wR ₂ (all data)	0,3097	0,4676

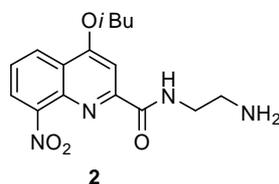
2 Procédures générales

Sauf spécifications, les produits utilisés sont commerciaux et introduits sans purification préalable. Le THF est distillé sur Na/benzophenone, le CH₂Cl₂, la

diisopropyléthylamine et le DMF sur CaH₂ avant utilisation. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm et sont calibrés sur le pic résiduel de solvant de CDCl₃ (δ 7.26, 77.0), DMSO-d₆ (δ 2.50, 39.4), ou CD₃OD (δ 3.31, 49.1). Les constantes de couplage sont données en Hz. Les chromatographies sur gel de silice ont été réalisées avec de la silice Merck Kieselgel Si 60. Les spectres de masse d'impact électronique et de maldi (matrix assisted laser desorption ionization time of flight, matrice acide α -cyano-hydroxycinnamique) ont été obtenus en mode positif.

3 Les composés

Composé 2



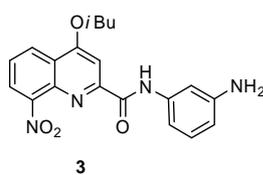
Dans un monocol, le monomère nitro-ester **1** (100mg, 0,33mmol, 1éq.) est dissout dans un mélange THF/MeOH (2,5mL/1,25mL). L'éthylène diamine (440 μ L, 6,6mmol, 20éq.) est ajouté et le mélange est agité à t.a. pendant 1h. Les solvants sont évaporés, le produit est repris dans du DCM (20mL) puis lavé avec une solution de HCl 1N (20mL), la phase aqueuse est extraite avec 2x20mL de DCM. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄, filtrées puis évaporées. Il est alors obtenu quantitativement 109mg du composé **2**.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 8,49 (1H, d, $J=8,4$ Hz), 8,43 (1H, bs), 8,11 (1H, d, $J=7,2$ Hz), 7,79 (1H, s), 7,62 (1H, m), 4,12 (2H, d, $J=6,4$ Hz), 3,58 (2H, m), 2,99 (2H, m), 2,30 (1H, m), 1,14 (6H, d, $J=6,8$ Hz).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 164,0; 163,0; 153,2; 147,6; 138,9; 126,6; 125,1; 125,0; 123,1; 99,9; 75,6; 42,6; 41,5; 28,2; 19,1.

HRSM (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₆H₂₁N₄O₄ : 333,1563 ; trouvée : 333,1570 ; Δ = 2,2ppm.

Composé 3



Le monomère acide **1a** est préalablement activé en présence de SOCl₂ suivant la procédure décrite dans le chapitre II.

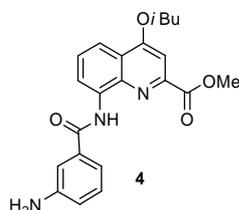
Dans un monocol, le *mé*ta diaminobenzène (745mg, 6,9mmol, 10éq.) est dissout dans du THF distillé (6mL) sous atmosphère inerte. La DIEA distillée (656 μ L, 3,79mmol, 5,5éq.) est alors ajoutée. Parallèlement le monomère quinoline chlorure d'acide (213mg, 0,69mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM distillé (3mL) sous atmosphère inerte. Le chlorure d'acide est alors canulé dans le ballon contenant l'amine à 0°C. Le mélange est agité à 0°C pendant 30min puis à t.a. pendant 16h. La phase organique est lavée avec une solution de HCl 1N (10mL) puis trois fois avec de l'eau (10mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : DCM/MeOH 99,5/0,5 v:v) afin d'obtenir 135mg du composé **3** soit un rendement de 50%.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 10,10 (1H, s), 8,52 (1H, d, $J=8,4$ Hz), 8,19 (1H, d, $J=8,4$ Hz), 7,86 (1H, s), 7,66 (1H, t, $J=8,4$ Hz), 7,32 (1H, s), 7,20 (1H, t, $J=8,4$ Hz et $J=6,4$ Hz), 7,10 (1H, d, $J=8,4$ Hz), 6,51 (1H, d, $J=6,4$ Hz), 4,15 (2H, d, $J=6,0$ Hz), 3,77 (2H, bs), 2,32 (1H, m), 1,15 (6H, d, $J=6,8$ Hz).

RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃) : δ = 163,6; 161,1; 153,2; 147,2; 138,8; 138,4; 129,9; 127,0; 125,6; 125,4; 123,3; 111,5; 110,1; 106,3; 99,7; 75,8; 28,1; 19,2.

HRSM (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₀H₂₁N₄O₄ : 381,1563 ; trouvée : 381,1570 ; Δ = 1,9ppm.

Composé 4



Dans un monocol, le monomère quinoline amine **1b** (180mg, 0,66mmol, 1,1éq.) est dissout dans du DCM distillé (4,3mL) sous atmosphère inerte. La DIEA distillée (569 μ L, 3,29mmol, 5,5éq.) est alors ajoutée. Parallèlement le chlorure d'acide de l'acide 3-nitro benzoïque (110mg, 0,60mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM distillé

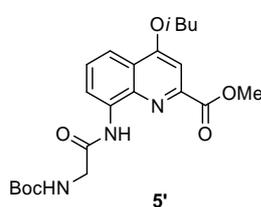
(2,3mL) sous atmosphère inerte. Le chlorure d'acide est alors canulé dans le ballon contenant l'amine à 0°C. Le mélange est agité à 0°C pendant 30min puis à t.a. pendant 16h. La phase organique est lavée avec une solution de NaHCO₃ saturée (10mL) puis avec de l'eau (10mL), puis avec une solution de HCl 1N (10mL) puis avec de l'eau (10mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le composé nitro est repris dans le chloroforme puis purifié par recristallisation par diffusion de vapeurs de pentane afin d'obtenir 217mg. 100mg (0,22mmol, 1éq.) de ce composé sont alors introduits dans un monocol, dissous dans l'acétate d'éthyle (4mL). Le Pd/C est ajouté (10mg) et le ballon est placé sous atmosphère de dihydrogène. Le mélange est agité pendant 2h puis filtré sur celite. Le filtrat est évaporé afin d'obtenir 93mg (rendement 100%) du composé **4**.

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 11,16 (1H, s), 9,06 (1H, s), 8,96 (1H, d, J=7,6Hz), 8,57 (1H, d, J=7,6Hz), 8,51 (1H, d, J=8,0Hz), 8,03 (1H, d, J=8,8Hz), 7,82 (1H, t, J=7,6Hz), 7,70 (1H, t, J=8,0Hz et J=7,6Hz), 7,66 (1H, s), 4,18 (3H, s), 4,13 (2H, d, J=6,4Hz), 2,36 (1H, m), 1,20 (6H, d, J=6,8Hz).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 165,7 ; 163,2 ; 162,0 ; 148,4 ; 147,0 ; 138,8 ; 136,1 ; 134,3 ; 133,8 ; 130,1 ; 128,3 ; 126,4 ; 122,0 ; 121,7 ; 117,4 ; 116,4 ; 101,4 ; 75,3 ; 53,1 ; 28,2 ; 19,2.

HRSMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₂H₂₂N₃O₆ : 424,1509 ; trouvée : 424,1509 ; Δ = 0,1ppm.

Composé 5



Le composé qui a été caractérisé est le précurseur de l'amine, le composé **5***.

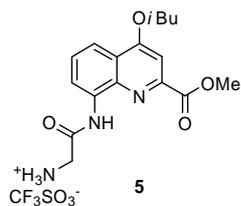
La BocGlycine acide (74mg, 0,42mmol, 1éq.) ainsi que PyBop (239mg, 0,46mmol, 1,1éq.) sont introduits dans un monocol puis placés sous atmosphère inerte. Le DCM distillé (1,63mL) et la DIEA distillée (400μL, 2,31mmol, 5,5éq.) sont alors ajoutés. Parallèlement, dans un autre ballon, le monomère quinoline amine **1b** (126mg, 0,46mmol, 1,1éq.) est dissout sous atmosphère inerte dans du DCM distillé (3mL). L'amine est alors canulée dans l'acide à t.a. puis le mélange est agité à t.a. pendant

16h. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ (10mL) puis la phase aqueuse est extraite 3 fois (3 × 10mL de DCM). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄, filtrées puis évaporées. Le résidu est alors purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : DCM/MeOH 99/1 v:v) afin d'obtenir 132mg du composé **5*** (rendement 73%).

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) : δ = 10,15 (1H, s), 8,79 (1H, J=7,3Hz), 7,91 (1H, d, J=8,1Hz), 7,57 (1H, t, J=8,1Hz), 7,53 (1H, s), 5,39 (1H, bs), 4,17 (2H, bs), 4,06 (3H, s), 4,04 (2H, d, J=6,6Hz), 2,30 (1H, m), 1,48 (9H, s), 1,14 (6H, d, J=6,6Hz).

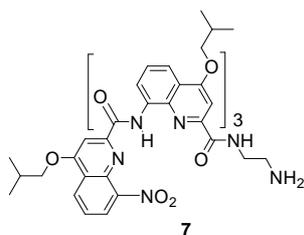
RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 168,1 ; 165,4 ; 162,3 ; 156,0 ; 146,2 ; 138,1 ; 134,2 ; 128,8 ; 125,0 ; 121,4 ; 115,4 ; 100,7 ; 78,7 ; 74,7 ; 52,7 ; 45,0 ; 28,1 ; 27,9 ; 19,0.

HRSMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₂H₃₀N₃O₆ : 432,2135 ; trouvée : 432,2151 ; Δ = 3,8ppm.



Le composé **5*** (50mg, 0,12mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM (2mL). L'acide triflique (100μL, 0,7mmol, 6éq.) est ajouté goutte à goutte. Le mélange est agité à t.a. pendant 1h. Le DCM est évaporé. Il est ajouté 500μL de MeOH et 1mL d'éther diéthylique. Le ballon est placé au congélateur pendant 16h puis le précipité est récupéré par filtration. Il est obtenu 35mg du composé **5** soit un rendement de 60%.

Oligomère 7



Dans un monocol, le tétramère nitro-ester **6** (150mg, 0,15mmol, 1éq.) est dissout dans un mélange THF/MeOH (3,3mL/1,7mL). L'éthylène diamine (195μL, 3,0mmol, 20éq.) est ajouté et le mélange est agité à t.a. pendant 3h. Il est alors ajouté de l'éthylène diamine (195μL, 3,0mmol, 20éq.) et le mélange est agité à 40°C pendant 16h. Comme la réaction n'est pas terminée, il est ajouté à nouveau de l'éthylène diamine (1,6mL, 23,4mmol, 160éq.) et le mélange est agité à 40°C pendant 2 jours. Les solvants sont évaporés, le produit est repris dans du DCM (40mL) puis lavé avec une solution de HCl 1N (20mL) puis avec de l'eau (20mL) puis avec une solution saturée de NaHCO₃ (20mL). La phase organique est séchée

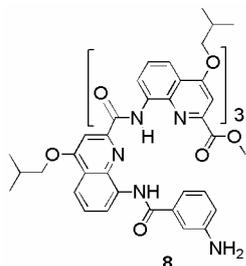
sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant DCM/Et₃N/MeOH 94/5/1 v:v:v). Il est alors obtenu 136mg de l'oligomère **7** soit un rendement de 88%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 12,33 (1H, s), 11,68 (1H, s), 11,60 (1H, s), 9,08 (1H, dd, J=7,5Hz et J=1,0Hz), 8,58 (1H, dd, J=8,4Hz et J=1,2Hz), 8,34 (1H, dd, J=7,8Hz et J=1,2Hz), 8,17 (1H, dd J=7,5Hz et J=1,0Hz), 8,05 (1H, bs), 8,02 (1H, bs), 7,95 (1H, d, J=8,4Hz et J=1,2Hz), 7,83 (1H, s), 7,80 (1H, t, J=7,8Hz), 7,62-7,54 (2H, m), 7,52 (1H, s), 7,40 (1H, t, J=8,1Hz), 7,28 (1H, t, J=8,1Hz), 6,90 (1H, s), 6,68 (1H, s), 4,28 (2H, bs), 4,23 (2H, d, J=6,6Hz), 3,91 (2H, d, J=6,6Hz), 3,88 (2H, d, J=6,6Hz), 3,62 (2H, m), 2,49-2,44 (4H, m), 2,34-2,28 (2H, m), 1,30-1,18 (24H, m).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 163,8; 163,7; 162,7; 162,5; 162,1; 160,8; 160,1; 153,1; 150,1; 148,6; 147,5; 144,5; 138,6; 138,4; 137,7; 137,6; 134,3; 133,0; 132,8; 127,6; 127,5; 126,3; 126,2; 125,5; 123,9; 123,4; 121,9; 121,6; 121,2; 117,3; 116,5; 116,4; 116,1; 116,0; 115,9; 99,8; 98,2; 97,8; 97,2; 75,4; 75,1; 74,8; 74,6; 38,8; 37,4; 27,8; 27,7; 27,6; 18,9; 18,8.

SM (maldi) m/z = 1059,3 [M+H]⁺, 1081,3 [M+Na]⁺.

Oligomère 8



Dans un monocol, le tétramère amine **6a** (200mg, 0,2mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM distillé (5,5mL) sous atmosphère inerte. La DIEA distillée (106µL, 8,24mmol, 41,3éq.) est alors ajoutée. Parallèlement le chlorure d'acide de l'acide 3-nitrobenzoïque (277mg, 1,47mmol, 7,5éq.) est dissout dans du DCM distillé (5,8mL) sous atmosphère inerte. Le chlorure d'acide est alors canulé dans le ballon contenant l'amine à 0°C. Le mélange est agité à 0°C pendant 30min puis à t.a. pendant 16h. La phase organique est lavée avec une solution de NaHCO₃ saturée (20mL) puis avec de l'eau (20mL), puis avec une solution de HCl 1N (20mL) puis avec de l'eau (20mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le brut résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : DCM/MeOH 99/1 v:v). Il est obtenu 165mg

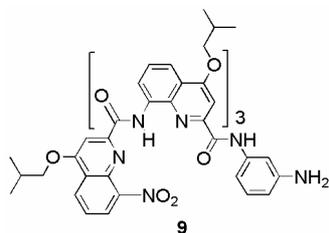
du composé nitro soit un rendement de 72%. 90mg (0,08mmol, 1éq.) de ce composé sont alors introduits dans un réacteur de « Parr », et dissout dans l'acétate d'éthyle (10mL). Le Pd/C est ajouté (10mg) et le réacteur est placé sous atmosphère de dihydrogène (4 bars). Le mélange est agité pendant 16h puis filtré sur celite. Le filtrat est évaporé afin d'obtenir 89mg (rendement 100%) de l'oligomère **9**.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 12,26 (1H, s), 12,00 (1H, s), 11,87 (1H, s), 10,06 (1H, s), 8,62 (1H, d, J=7,2Hz), 8,56 (1H, d, J=7,5Hz), 8,29 (1H, d, J=7,5Hz), 8,27 (1H, d, J=7,5Hz), 8,17-8,04 (5H, m), 7,81-7,71 (4H, m), 7,54 (1H, s), 7,45 (1H, m), 7,12 (2H, m), 6,94 (1H, s), 6,79-7,74 (4H, m), 4,35-4,29 (4H, bm), 4,04 (2H, d, J=6,6Hz), 3,98 (2H, d, J=5,7Hz), 3,57 (3H, s), 2,71-2,36 (4H, m), 1,43-1,33 (24H, m).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 163,9; 163,7; 163,5; 163,2; 162,2; 162,0; 161,4; 160,9; 151,3; 149,8; 148,9; 146,4; 145,3; 138,9; 138,2; 137,7; 137,3; 134,4; 134,0; 133,6; 133,5; 133,4; 128,7; 127,6; 127,4; 127,0; 126,9; 122,2; 121,7; 118,3; 117,3; 116,9; 116,8; 116,7; 116,3; 116,2; 116,1; 115,8; 115,7; 113,9; 100,2; 99,5; 98,6; 97,7; 75,6; 75,4; 75,1; 74,8; 52,2; 28,2; 28,1; 19,3; 19,2.

SM (maldi) m/z = 1120,4 [M+H]⁺, 1142,3 [M+Na]⁺.

Oligomère 9



Le tétramère acide **6b** est préalablement activé en présence de chloroènamine suivant la procédure décrite dans le chapitre II.

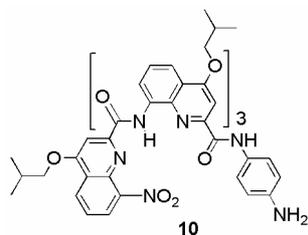
Dans un monocol, le *mé*ta diaminobenzène (318mg, 3,0mmol, 30éq.) est dissout dans du DCM distillé (9mL) sous atmosphère inerte. La DIEA distillée (93µL, 0,55mmol, 5,5éq.) est alors ajoutée. Parallèlement le tétramère chlorure d'acide (101mg, 0,1mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM distillé (2mL) sous atmosphère inerte. Le chlorure d'acide est alors canulé dans le ballon contenant l'amine à 0°C. Le mélange est agité à 0°C pendant 30min puis à t.a. pendant 16h. La phase organique est lavée avec une solution de HCl 1N (10mL) puis trois fois avec de l'eau (3 × 10mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : DCM/MeOH 99,5/0,5 v:v) afin d'obtenir 83mg de l'oligomère **8** soit un rendement de 75%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 12,22 (1H, s), 11,73 (1H, s), 11,34 (1H, s), 9,19 (1H, d, J=7,8Hz), 8,99 (1H, s), 8,58 (1H, d, J=7,5Hz), 8,39 (1H, d, J=7,5Hz), 8,17 (1H, d, J=7,5Hz), 8,13 (1H, d, J=8,4Hz), 8,09 (1H, d, J=8,4Hz), 7,99 (1H, d, J=8,4Hz), 7,80 (1H, t, J=7,8Hz), 7,65 (1H, d, J=6,3Hz), 7,59 (1H, t, J=7,8Hz), 7,42 (2H, m), 7,31 (1H, t, J=8,1Hz), 7,21 (1H, s), 7,12 (1H, s), 7,05 (1H, s), 6,92 (2H, m), 6,44 (1H, d, J=6,9Hz), 6,32 (1H, s), 4,22 (2H, bs), 3,99 (6H, bs), 3,89 (2H, bs), 2,52-2,29 (4H, m), 1,30-1,11 (24H, m).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): $\delta = 163,0; 162,7; 162,5; 162,3; 161,3; 160,1; 159,5; 153,1; 150,7; 149,2; 148,4; 146,8; 144,8; 138,9; 138,8; 137,9; 137,8; 137,7; 134,9; 133,2; 132,7; 129,3; 127,8; 127,7; 126,3; 126,1; 125,9; 124,1; 123,4; 122,1; 121,9; 121,7; 117,7; 117,6; 117,2; 116,3; 115,9; 111,0; 108,7; 105,1; 99,9; 99,2; 98,3; 98,0; 75,5; 75,0; 28,0; 19,2; 19,1; 19,0$.

SM (ESI) $m/z = 1107,5 [\text{M}+\text{H}]^+$.

Oligomère 10



Le tétramère acide **6b** est préalablement activé en présence de chloroènamine suivant la procédure décrite dans le chapitre II.

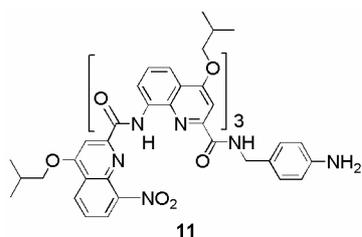
Dans un monocol, l'amine (639mg, 5,9mmol, 30éq.) est dissoute dans du THF anhydre (20mL) sous atmosphère inerte. La DIEA distillée (188 μL , 1,08mmol, 5,5éq.) est alors ajoutée. Parallèlement le tétramère chlorure d'acide (204mg, 0,20mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM distillé (4mL) sous atmosphère inerte. Le chlorure d'acide est alors canulé dans le ballon contenant l'amine à 0°C. Le mélange est agité à 0°C pendant 30min puis à t.a. pendant 16h. Les solvants sont évaporés. Le brut est repris dans le DCM, lavé avec une solution de HCl 1N (20mL) puis trois fois avec de l'eau (3 \times 20mL). La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée puis évaporée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : toluène/EtOAc 98/2 à 90/10 v:v) afin d'obtenir 166mg de l'oligomère **10** soit un rendement de 76%.

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): $\delta = 12,16$ (1H, s); 11,69 (1H, s); 11,43 (1H, s); 9,10 (1H, d, $J=7,6\text{Hz}$); 9,03 (1H, s); 8,57 (1H, d, $J=8,1\text{Hz}$); 8,37 (1H, d, $J=7,4\text{Hz}$); 8,16 (1H, d, $J=7,6\text{Hz}$); 8,09 (2H, t, $J=8,7\text{Hz}$ et $J=8,9\text{Hz}$); 7,98 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$); 7,80 (1H, t, $J=8,1\text{Hz}$ et $J=7,9\text{Hz}$); 7,63 (1H, d, $J=7,4\text{Hz}$); 7,55 (1H, t, $J=8,1\text{Hz}$ et $J=7,9\text{Hz}$); 7,42 (2H, m); 7,33-7,16 (4H, m); 7,07 (1H, s); 7,05 (2H, s); 6,99 (1H, s); 6,49 (2H, d, $J=8,3\text{Hz}$); 4,25 (2H, bs); 4,07 (2H, bs); 3,95 (4H, d, $J=6,2\text{Hz}$); 2,51-2,29 (4H, m); 1,29-1,18 (24H, m).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): $\delta = 163,3; 163,2; 162,9; 162,8; 162,3; 161,5; 160,4; 159,1; 153,5; 151,0; 149,3; 148,9; 145,2; 142,5; 139,1; 139,0; 138,1; 138,0; 135,1; 133,5; 132,9; 129,2; 128,1; 127,9; 126,5; 126,2; 126,0; 124,3; 123,7; 122,2; 121,9; 119,5; 119,0; 117,7; 117,4; 116,7; 116,5; 115,8; 115,3; 100,1; 99,4; 98,4; 98,0; 75,7; 75,2; 28,1; 19,4; 19,3; 19,2$.

SM (maldi) $m/z = 1107,4 [\text{M}+\text{H}]^+$, 1145,4 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

Oligomère 11



Le tétramère acide **6b** ainsi que HBTU et HOBt sont introduits dans un monocol et placés sous atmosphère inerte. Le DMF anhydre est alors ajouté ainsi que la DIEA. Le mélange réactionnel est agité à t.a. pendant 30min. L'amine dissoute dans du DMF anhydre est ajoutée et le mélange est agité à t.a. pendant 16h. Du toluène est ajouté et la phase organique est lavée avec une solution de NaHCO_3 saturée. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée puis évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOH/MeOH/toluène 1/0/99 puis 1/2/97 v:v:v). Il est obtenu

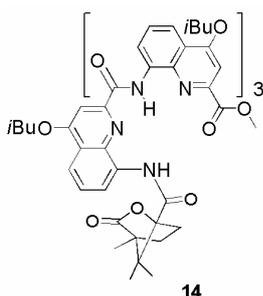
205mg de l'oligomère **11** soit un rendement de 93%.

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): $\delta = 12,28$ (1H, s); 11,61 (1H, s); 11,57 (1H, s); 9,13 (1H, d, $J=7,0\text{Hz}$); 8,56 (1H, d, $J=7,9\text{Hz}$); 8,31 (1H, d, $J=6,5\text{Hz}$); 8,17 (1H, d, $J=7,2\text{Hz}$); 8,04-7,76 (6H, m); 7,60-7,50 (3H, m); 7,38-7,17 (4H, m); 6,86 (1H, s); 6,81 (1H, s); 6,72 (1H, s); 6,70 (1H, s); 6,14 (2H, d, $J=6,6\text{Hz}$); 4,26 (2H, bs); 3,89 (2H, d, $J=5,1\text{Hz}$); 2,48-2,30 (4H, m); 1,29-1,20 (24H, m).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): $\delta = 164,1; 163,2; 162,9; 162,6; 162,0; 161,1; 160,5; 153,6; 150,8; 149,0; 148,6; 145,2; 145,1; 139,0; 138,9; 138,2; 138,1; 134,9; 133,5; 133,0; 128,7; 128,0; 127,9; 127,5; 126,6; 126,3; 125,9; 124,2; 123,8; 122,3; 122,0; 121,7; 118,1; 117,1; 117,0; 116,6; 116,5; 116,0; 114,8; 100,2; 98,8; 98,4; 97,7; 75,7; 75,6; 75,2; 75,0; 42,9; 28,2; 28,1; 28,0; 19,3; 19,2$.

SM (maldi) $m/z = 1143,4 [\text{M}+\text{Na}]^+$, 1159,4 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

Oligomère 14



Activation de l'acide : le monomère acide possédant un groupe chiralⁱⁱⁱ (85mg, 0,19mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM anhydre (2mL) sous atmosphère inerte. La chloroènamine est ajoutée (77 μ , 0,58mmol, 3éq.). Le mélange est agité à t.a. pendant 2h. Le DCM est évaporé et le produit **13** est séché à la rampe à vide pendant 5h. Le chlorure d'acide est utilisé sans purification.

Amine : réduction du nitro du trimère déjà décrite dans le chapitre II

Couplage : le trimère amine **12** (132mg, 0,17mmol, 1éq.) est dissout dans du DCM anhydre (3,3mL) sous atmosphère inerte. La DIEA anhydre (166 μ L, 0,86mmol, 5,5éq.) est ajoutée. Dans un autre ballon, le chlorure d'acide **12** (88mg, 0,19mmol, 1,1éq.) est également dissout sous atmosphère inerte dans du DCM anhydre (3,1mL). Le chlorure d'acide est alors canulé dans la solution d'amine à 0°C. Le mélange réactionnel est agité

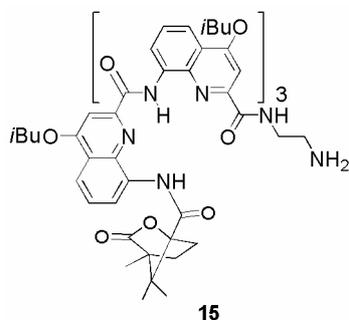
à 0°C pendant 30min puis à température ambiante pendant 16 heures. Il est ajouté 10mL de DCM puis la phase organique est lavée avec H₂O (10mL), puis avec une solution saturée de NaHCO₃ (10mL), puis à nouveau avec H₂O (10mL) et enfin avec une solution de HCl 1M (10mL). La phase organique est séchée avec Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (DCM 100%). Il est obtenu 160mg de l'oligomère **14** soit un rendement de 78%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 12,46 (1H, s), 11,87 (1H, s), 11,80 (1H, s), 9,93 (1H, s), 9,03 (1H, d, J =7,4Hz), 8,54 (1H, d, J =7,2Hz), 8,01-7,87 (6H, m), 7,69-7,63 (3H, m), 7,41 (1H, s), 7,28-7,22 (2H, m), 6,79 (1H, s), 6,68 (1H, s), 4,41 (1H, dd, J =6,2Hz et J =2,6Hz), 4,23-4,15 (3H, m), 3,91 (2H, d, J =6,2Hz), 3,86 (2H, d, J =6,1Hz), 3,52 (3H, s), 2,56-2,28 (4H, m), 2,22-2,13 (2H, m), 1,83-1,75 (2H, m), 1,31-1,19 (24H, m), 0,80 (3H, s), 0,78 (3H, s), 0,38 (3H, s).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : δ = 176,4; 164,6; 164,2; 163,8; 163,4; 163,3; 162,9; 162,1; 161,2; 160,8; 150,9; 150,6; 148,8; 145,3; 138,9; 138,2; 138,0; 137,4; 134,4; 133,9; 133,3; 132,4; 127,4; 127,2; 126,4; 126,2; 122,1; 121,8; 121,7; 116,9; 116,6; 116,4; 116,2; 116,0; 115,7; 100,3; 99,6; 98,6; 97,9; 91,8; 75,4; 75,1; 75,0; 74,8; 54,6; 54,1; 52,2; 29,2; 28,6; 28,2; 28,1; 28,0; 19,3; 19,2; 19,1; 16,1; 16,0; 9,5.

SM (maldi) m/z = 1181,5 [M+H]⁺.

Oligomère 15



Dans un monocol, l'oligomère **14** (130mg, 0,11mmol, 1éq.) est dissout dans un mélange THF/MeOH (2,5mL/1,3mL). L'éthylène diamine (736 μ L, 1,1mmol, 100éq.) est ajouté et le mélange est agité à t.a. pendant 16h. Les solvants sont évaporés, le produit est repris dans du DCM (40mL) puis lavé avec une solution de HCl 1N (20mL) puis avec de l'eau (20mL) puis avec une solution saturée de NaHCO₃ (20mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtrée puis évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant AcOH/MeOH/DCM 1/0,5/98,5 puis Et₃N/MeOH/DCM 1/0,5/98,5 v:v:v). Le produit est alors introduit dans un eppendorf, du DMSO est ajouté. Après centrifugation à 10°C pendant 10min (8000tr/min), le surnageant est lyophilisé, il est alors obtenu 65mg de l'oligomère **15** soit un rendement de 49%.

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) : δ = 12,29 (1H, s), 11,56 (1H, s), 11,53 (1H, s), 9,75 (1H, s), 8,89 (1H, d, J =7,5Hz), 8,45 (1H, d, J =7,5Hz), 7,95-7,69 (8H, m), 7,59 (1H, s), 7,42-7,33 (2H, m), 7,28 (1H, s), 6,75 (1H, s), 6,63 (1H, s), 4,44 (1H, m), 4,27 (3H, m), 4,06 (1H, m), 3,94 (3H, m), 1,96-1,82 (2H, m), 1,35-1,17 (24H, m), 0,72 (3H, s), 0,67 (3H, s), 0,24 (3H, s).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) : malgré plusieurs tentatives, un spectre correct n'a pas pu être obtenu.

SM (maldi) m/z = 1209,4 [M+H]⁺, 1231,4 [M+Na]⁺.

ⁱⁱⁱ Synthétisé par Legiso Poniman, doctorant.

Références bibliographiques

-
- ¹ Lehn, J.-M.; Eliseev, A. V. *Science* **2001**, *291*, 2331.
- ² Huc, I.; Lehn, J.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1997**, *94*, 2106.
- ³ Otto, S.; Furlan, R. L. E.; Sanders, J. *Science* **2002**, *297*, 590.
- ⁴ Rowan, S. J.; Sanders, J. K. M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1536.
- ⁵ Ahn, Y. H.; Chang, Y. T. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 3543.
- ⁶ Cacciapaglia, R.; Di Stefano, S.; Mandolini, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13666.
- ⁷ Nicolaou, K. C.; Hughes, R.; Cho, S. Y.; Winssinger, N.; Smethurst, C.; Labischinski, H.; Endermann, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3823.
- ⁸ Zhang, W.; Moore, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11863.
- ⁹ Nitschke, J. R.; Lehn, J.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2003**, *100*, 11970.
- ¹⁰ Hof, F.; Nuckolls, C.; Rebek, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4251.
- ¹¹ Kubota, Y.; Sakamoto, S.; Yamaguchi, K.; Fujita, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 4854.
- ¹² Corbett, P. T.; Leclaire, J.; Vial, L.; West, K. R.; Wietor, J.-L.; Sanders, J. K. M.; Otto, S. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3652.
- ¹³ Goral, V.; Nelen, M. I.; Eliseev, A.V.; Lehn, J.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 1347.
- ¹⁴ Schultz, D.; Nitschke, J. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 11191.
- ¹⁵ Case, M. A.; McLendon, G. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8089.
- ¹⁶ Nitschke, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3073.
- ¹⁷ Nitschke, J. R.; Schultz, D.; Bernardinelli, G.; Gérard, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16538.
- ¹⁸ Dolain, C.; Jiang, H.; Léger, J.-M.; Guionneau, P.; Huc, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12943.
- ¹⁹ Hutin, M.; Nitschke, J. R. *Chem. Commun.* **2006**, 1724.

CONCLUSION et PERSPECTIVES

Comme il a été montré au chapitre II, les oligomères dérivés de l'acide 8-aminoquinoline-2-carboxylique adoptent des structures repliées hélicoïdales remarquablement prévisibles et stables. Les hélices formées par ces oligomères se trouvent en mélange racémique (hélice droite et hélice gauche). Les deux types d'hélices sont en équilibre et le mécanisme d'inversion du sens d'hélicité semble passer par des états transitoires mais certainement pas par un état déplié ayant une durée de vie notable.

Comme il a été vu au chapitre III, cette extrême stabilité n'est pas nécessairement requise dans les systèmes biologiques. C'est pourquoi des oligomères de flexibilité modulable ont été étudiés. Ces foldamères hybrides aromatique/aliphatique ont alors permis de caractériser dans le solide et en solution une structure repliée originale en hélice non canonique. Désormais, il serait intéressant de déterminer le ratio minimum *résidu quinoline/résidu pyridine* nécessaire pour obtenir une structure hélicoïdale canonique. Il serait alors possible de synthétiser l'hélice canonique la moins stable dérivée d'oligoquinolines.

Les oligoamides dérivés de l'acide 8-aminoquinoline-2-carboxylique sont apparus comme de bons candidats pour l'élaboration de structures plus complexes comprenant plusieurs motifs hélicoïdaux (chapitre IV). Par une voie de synthèse convergente, des structures de tailles comparables avec celles de petites protéines ont été synthétisées. La stabilité de la conformation hélicoïdale des oligomères quinolines a permis d'avoir la certitude d'attacher entre elles des hélices et non pas des brins potentiellement repliés. Les interactions hélice-hélice ont, par conséquent, pu faire l'objet d'une étude indépendante du repliement hélicoïdal, ce qui n'est pas possible avec les protéines.

Enfin, les résultats présentés dans le chapitre V ont montré la formation dynamique de structures tertiaires. Des hélices ont été auto-assemblées par la formation de complexes de cuivre I. Une forme de communication entre les hélices et le métal a alors été mise en évidence par l'étude du sens d'hélicité des hélices et de la chiralité axiale du complexe métallique.

Pour l'ensemble des thématiques développées dans ce manuscrit, la chimie a d'abord été envisagée en milieu organique. A l'avenir, l'utilisation de monomères présentant une chaîne latérale hydrophile, c'est-à-dire hydrosolubilisante, peut être envisagée. En plus de davantage se rapprocher des systèmes naturels, cela permettrait d'utiliser l'effet hydrophobe comme force motrice dans l'organisation conformationnelle des protéomimes. Par exemple :

- Pour les hybrides aliphatique/aromatique décrits dans le chapitre III, des oligomères hydrophiles adopteraient certainement dans l'eau des conformations plus stables, peut-être fortement en faveur de l'hélice canonique, ou au contraire en faveur de l'hélice non canonique, notamment pour diminuer l'exposition des cycles aromatiques hydrophobes au solvant.

- Pour les structures tertiaires protéomimétiques présentées au chapitre IV, l'utilisation d'hélices amphipathiques permettrait d'exploiter l'effet hydrophobe pour contraindre les hélices à adopter une orientation parallèle. De plus, une conception fine des séquences, inspirée de la synthèse *de Novo*, permettrait de réaliser des mimes de metalloenzymes.

- Comme il a été montré dans le chapitre V, les complexes de cuivre I peuvent être formés dans l'eau, ainsi, il est possible d'envisager que l'effet hydrophobe stabilise davantage les faisceaux d'hélices obtenus par complexation du cuivre I.