

Université de Montréal

Synthèse et études conformationnelles de motifs stabilisant des
structures secondaires de peptides

Par
Kamal Fettis

Département de chimie
Faculté des arts et sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise (M.Sc.)
en chimie

Août 2004

© Kamal Fettis, 2004



QD

3

U54

2005

v. 010

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Synthèse et études conformationnelles de motifs stabilisant des
structures secondaires de peptides

Présenté par :
Kamal Fettis

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Prof. Stephen Hanessian (Directeur de recherche)

Prof. William D. Lubell (Président-Rapporteur)

Prof. Shawn Collins

« J'ai vu l'ordre émerger du chaos... »

Hermès Trismégiste, premier alchimiste,
dans *Tablettes d'émeraude, Tablette IX*

Résumé

Ce mémoire décrit la conception, la synthèse et les études conformationnelles (en solution par RMN, CD, et FTIR, ainsi qu'à l'état cristallin par diffraction des rayons X) de motifs capables de stabiliser des structures secondaires de peptides.

Le premier motif étudié est un dérivé de type indanopyrrolidine, qui est considéré comme un analogue tricyclique contraint de Ac-L-Pro, et qui est préparé par une réaction-clé de cyclisation de type Friedel-Crafts N-acyliminium intramoléculaire. Couplé à une autre unité L-Pro, il forme un motif dont l'isomère majeur est capable d'induire une structure en hélice (hélice 3_{10} distordue) en solution dans un solvant organique, lorsqu'il est attaché en position N-terminale de courts oligopeptides de type homoalanine (de 2 à 4 unités).

Les études conformationnelles réalisées sur un dérivé de type indolizidinone (analogue bicyclique contraint de Ac-Aib-L-Pro) ont montré que ce second motif, placé en position N-terminale de courts peptides de type homoalanine, possède la géométrie nécessaire pour créer ainsi en solution un réseau de liaisons hydrogène de type hélice 3_{10} , qui est conservé à l'état solide.

Le motif (*1R*, *2R*)-diaminocyclohexane est utilisé comme un espaceur sur lequel sont greffées deux branches peptidiques symétriques, constituées d'acides aminés α alternant les configurations L et D. Alanine, sérine et sérine O-benzyle ont été choisis pour étudier l'influence de la chaîne latérale. La présence d'une structure intermédiaire entre une hélice et un feuillet β stabilisée par liaisons hydrogène a été montrée en solution, avec une association probable entre les molécules. L'étude à l'état solide par diffraction des rayons X indique que les molécules présentent une conformation hélicoïdale stabilisée par 3 liaisons H intramoléculaires dont deux sont de type feuillet β antiparallèle. Les molécules s'associent en colonnes tubulaires, avec les groupements hydrophobes constituant la paroi de ces nanotubes, par l'intermédiaire de liaisons H intermoléculaires de type feuillet β antiparallèle.

Mots-clés: hélice, feuillet β antiparallèle, liaison hydrogène, association, assemblage supramoléculaire, nanotubes.

Abstract

This thesis deals with the design, the synthesis and the conformational studies (in solution by NMR, CD and FTIR and in solid state via X-ray diffraction analysis) of templates able to stabilize peptide secondary structures.

The first template is based on an indanopyrrolidine core, which can be seen as a tricyclic constrained analogue of Ac-L-Pro. It is prepared via a key intramolecular Friedel-Crafts N-acyliminium cyclization step. When coupled to a second L-Pro unit, it forms a template capable of nucleating a helical structure (distorted 3_{10} -helix) of short peptides (2-4 residues) in organic solvents.

The second template is based on an indolizidinone core, which represents a bicyclic constrained analogue of Ac-Aib-L-Pro, and is used as a N-cap for short oligoalanines. Conformational studies showed that the template possesses the correct geometry to create a hydrogen bond-network in solution corresponding to a 3_{10} -helix. The dipeptide compound showed the same structure in solid state.

(1*R*, 2*R*)-Diaminocyclohexane is used as a spacer on which are attached two symmetrical α -peptide chains of alternating L and D configurations. Alanine, serine and O-benzyl serine were chosen to study the influence of the side chain. An intermediate structure between a helix and a β -sheet and stabilized by hydrogen bonds was determined in solution, with a probable association between the molecules. X-ray diffraction analysis in the solid state shows a new helical conformation stabilized by 3 intramolecular hydrogen bonds, with two of them corresponding to an antiparallel β -sheet. These monomers self-associate into tubular columns stabilized by an intermolecular hydrogen bond network (antiparallel β -sheet type). The nanotube-like motifs present hydrophobic walls, with an external diameter of 17 Å.

Keywords: template, helix, antiparallel β -sheet, hydrogen bond, association, supramolecular assembly, nanotubes

Table des matières

Résumé	iv
Abstract	vi
Table des matières	vii
Liste des figures	xiii
Liste des schémas	xvi
Liste des tableaux	xvii
Liste des sigles et abbréviations	xviii
Remerciements	xxi
INTRODUCTION	1
1. Structures secondaires de peptides	2
1.1. <i>Quelques définitions</i>	2
1.2. <i>Importance biologique de la structure secondaire</i>	7
2. Motifs stabilisant des structures secondaires	8
2.1. <i>Stabilisation d'hélices</i>	9
2.2. <i>Stabilisation de feuilletts β</i>	11
3. Méthodes d'analyse conformationnelle	12
3.1. <i>Dichroïsme circulaire</i>	13
3.2. <i>Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier</i>	14
3.3. <i>Résonance magnétique nucléaire</i>	15
3.3.1. Spectroscopie NOESY	16
3.3.2. Constante de couplage $^3J_{\text{NHCH}_\alpha}$	17
3.3.3. Déplacement chimique du proton H_α	17
3.3.4. Variation de température	17
3.3.5. Titration DMSO	18
3.3.6. Vitesse d'échange proton/deutérium	18

4. Synthèses et études conformationnelles de motifs stabilisant une structure secondaire	19
---	-----------

CHAPITRE 1. INDANOPYRROLIDINES ET STABILISATION D'HELICES

3₁₀	21
-----------------------	-----------

1. Proline et isomérisation <i>cis/trans</i>	22
---	-----------

1.1. <i>Propriétés de la L-Proline</i>	22
--	----

1.2. <i>Contrôle de l'isomérisation <i>cis/trans</i></i>	24
--	----

2. Design du motif	25
---------------------------	-----------

3. Synthèse	26
--------------------	-----------

3.1. <i>Synthèse du motif indanopyrrolidine</i>	26
---	----

3.2. <i>Synthèse du motif et des dérivés peptidiques</i>	29
--	----

4. Etudes conformationnelles en solution	32
---	-----------

4.1. <i>Etude du motif seul</i>	32
---------------------------------	----

4.2. <i>Etude de Ac-L-TcaP-L-Pro-L-Ala-OMe</i>	34
--	----

4.3. <i>Etude de Ac-L-TcaP-L-Pro-L-Ala₂-OtBu</i>	37
---	----

4.4. <i>Etude de Ac-L-TcaP-L-Pro-L-Ala₄-OtBu</i>	40
---	----

5. Conclusions et perspectives	43
---------------------------------------	-----------

CHAPITRE 2. INDOLIZIDINONES ET STABILISATION D'HELICES 3₁₀

45

1. Design du motif	46
---------------------------	-----------

2. Synthèse	48
--------------------	-----------

2.1. <i>Synthèse du précurseur indolizidinone</i>	48
---	----

2.2. <i>Synthèse du motif et des dérivés peptidiques</i>	49
--	----

3. Etudes conformationnelles	51
3.1. <i>Etude de Ac-L-BcaP-(L-Ala)₂-OtBu</i>	51
3.2. <i>Etude de Ac-L-BcaP-(L-Ala)₄-OtBu</i>	54
3.3. <i>Etude de N₃-L-BcaP-(L-Ala)₄-OtBu</i>	58

4. Conclusion et perspectives	62
--------------------------------------	-----------

CHAPITRE 3. DERIVES PEPTIDIQUES DU TRANS-1,2-DIAMINOCYCLOHEXANE : AUTO-ASSEMBLAGE EN NANOTUBES 64

1. Principe	65
1.1. <i>Nanotubes peptidiques</i>	65
1.2. <i>Utilisation de la diaminocyclohexane comme motif</i>	67

2. Synthèse	69
2.1. <i>Synthèse de la série Alanine</i>	69
2.2. <i>Synthèse de la série Sérine</i>	71

3. Etudes conformationnelles	74
3.1. <i>Série Alanine</i>	74
3.2. <i>Série Sérine protégée</i>	78
3.2.1. <i>Etude en solution</i>	78
3.2.2. <i>Etude à l'état solide</i>	83
3.3. <i>Série Sérine déprotégée</i>	90

4. Conclusion et perspectives	93
--------------------------------------	-----------

SECTION EXPERIMENTALE : NOTES GENERALES 95

1. Analyse des composés synthétisés	96
1.1. <i>Points de fusion</i>	96
1.2. <i>Pouvoirs rotatoires</i>	96
1.3. <i>Résonance magnétique nucléaire</i>	96

1.4.	<i>Spectroscopie de masse</i>	96
1.5.	<i>Cristallographie</i>	97
1.6.	<i>Spectroscopie infrarouge</i>	97
1.7.	<i>Dichroïsme circulaire</i>	97
2.	Purification des produits	97
2.1.	<i>Chromatographie sur couche mince</i>	97
2.2.	<i>Chromatographie sur colonne de silice</i>	98
2.3.	<i>Révélateurs pour chromatographie sur couche mince</i>	98
2.3.1.	Lumière UV	98
2.3.2.	Permanganate de potassium	98
2.3.3.	Molybdate de cérium et d'ammonium	98
3.	Purification des solvants et réactifs	98
3.1.	<i>Solvants usuels</i>	98
3.2.	<i>Réactifs et réactions anhydres</i>	99
SECTION EXPERIMENTALE DU CHAPITRE 1 : INDANOPYRROLIDINES		
ET PEPTIDES CORRESPONDANTS		100
	Synthèse de (<i>L</i> -Ala) ₂ -OtBu (13)	101
	Synthèse de (<i>L</i> -Ala) ₃ -OtBu (14)	102
	Synthèse de (<i>L</i> -Ala) ₄ -OtBu (15)	103
	Synthèse de (1 <i>S</i> , 4 <i>S</i>)-4-(3-méthoxy-benzyl)-5-oxo-pyrrolidine-1,2-dicarboxylate de diméthyle (2)	104
	Synthèse de (2 <i>S</i> , 3 <i>aS</i> , 8 <i>aR</i>)-6-méthoxy-1,3 <i>a</i> ,8,8 <i>a</i> -tetrahydro-2 <i>H</i> -3-aza-cyclopenta[<i>a</i>]indène-2,3-dicarboxylate de diméthyle (4)	105
	Synthèse de Acide (2 <i>S</i> , 3 <i>aS</i> , 8 <i>aR</i>)-6-méthoxy-3-méthoxycarbonyl-1,3 <i>a</i> ,8,8 <i>a</i> -tetrahydro-2 <i>H</i> -3-aza-cyclopenta[<i>a</i>]indène-2-carboxylique (5)	107
	Synthèse de (2 <i>S</i> , 3 <i>aS</i> , 8 <i>aR</i>)-2-hydroxyméthyl-6-méthoxy-1,3 <i>a</i> ,8,8 <i>a</i> -tetrahydro-2 <i>H</i> -3-aza-cyclopenta[<i>a</i>]indène-3-carboxylate de méthyle (6)	108
	Synthèse de (2 <i>S</i> , 3 <i>aS</i> , 8 <i>aR</i>)-(6-méthoxy-1,2,3,3 <i>a</i> ,8,8 <i>a</i> -hexahydro-3-aza-cyclopenta[<i>a</i>]indèn-2-yl)-méthanol (7)	109

Synthèse de (2S, 3aS, 8aR)-1-(2-hydroxyméthyl-6-méthoxy-1,3a,8,8a-tetrahydro-2H-3-aza-cyclopenta[a]indèn-3-yl)-éthanone (8)	110
Synthèse de Acide (2S, 3aS, 8aR)-3-acétyl-6-méthoxy-1,2,3,3a,8,8a-hexahydro-cyclopenta[a]indène-2-carboxylique (Ac- <i>L</i> -TcaP-OH) (9)	111
Synthèse de Ac- <i>L</i> -TcaP- <i>L</i> -Pro-OMe (10)	112
Synthèse de Ac- <i>L</i> -TcaP- <i>L</i> -Pro-OH (11)	113
Synthèse de Ac- <i>L</i> -TcaP- <i>L</i> -Pro- <i>L</i> -Ala-OMe (16)	114
Synthèse de Ac- <i>L</i> -TcaP- <i>L</i> -Pro- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>O</i> <i>t</i> Bu (17)	115
Synthèse de Ac-TcaP- <i>L</i> -Pro- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>O</i> <i>t</i> Bu (18)	117

SECTION EXPERIMENTALE DU CHAPITRE 2 : INDOLIZIDINONES ET PEPTIDES CORRESPONDANTS 119

Synthèse de (3S, 6S, 8S, 9S)-6-azido-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-méthyl-hexahydro-indolizin-5-one (27)	120
Synthèse de Acide (3S, 6S, 8S, 9S)-6-azido-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (27a)	120
Synthèse de (3S, 6S, 8S, 9S)-6-azido-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylate de méthyle (28)	122
Synthèse de (3S, 6S, 8S, 9S)-6-acétylamino-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylate de méthyle (29)	122
Synthèse de Acide (3S, 6S, 8S, 9S)-6-acétylamino-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique 9 (30)	123
Synthèse de <i>L</i> -BcaP- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>O</i> <i>t</i> Bu (31)	124
Synthèse de <i>L</i> -BcaP- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>O</i> <i>t</i> Bu (32)	125
Synthèse de Azide- <i>L</i> -BcaP- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>O</i> <i>t</i> Bu (33)	126

SECTION EXPERIMENTALE DU CHAPITRE 3 : DIAMINOCYCLOHEXANE ET PEPTIDES CORRESPONDANTS 128

Synthèse de (1 <i>R</i> , 2 <i>R</i>)- <i>N,N'</i> -bis(<i>L</i> -Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (35)	129
Synthèse de (1 <i>R</i> , 2 <i>R</i>)- <i>N,N'</i> -bis(<i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (36)	129

Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala- <i>L</i> -Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (37)	131
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (38)	132
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala)-diaminocyclohexane (39)	133
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala-Ac)-diaminocyclohexane (41)	134
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala- <i>L</i> -Ala- <i>D</i> -Ala-Boc)-diaminocyclohexane (40)	134
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (42)	135
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser(OBn)- <i>D</i> -Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (43)	136
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser(OBn)- <i>D</i> -Ser(OBn)- <i>L</i> -Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (44)	137
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser(OBn)- <i>D</i> -Ser(OBn)- <i>L</i> -Ser(OBn)- <i>D</i> -Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (45)	138
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser(OBn)- <i>D</i> -Ser(OBn)- <i>L</i> -Ser(OPBB)-Boc)-diaminocyclohexane (46)	139
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser- <i>D</i> -Ser-Boc)-diaminocyclohexane (47)	140
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser- <i>D</i> -Ser- <i>L</i> -Ser-Boc)-diaminocyclohexane (48)	141
Synthèse de (<i>1R,2R</i>)-N,N'-bis(<i>L</i> -Ser- <i>D</i> -Ser- <i>L</i> -Ser- <i>D</i> -Ser-Boc)-diaminocyclohexane (49)	142

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 143

ANNEXES 152

Liste des figures

Figure 1. Angles de torsion définis selon la nomenclature de l'IUPAC	3
Figure 2. Carte Ramachandran pour la L-Alanine.....	3
Figure 3. Hélice α et hélice 3_{10}	5
Figure 4. Feuillet β	6
Figure 5. Tour β et tour γ réguliers	7
Figure 6. Motifs stabilisant des hélices α	9
Figure 7. Stabilisation d'hélice par fermeture de cycle par métathèse	10
Figure 8. Stabilisation d'hélice par l'intermédiaire de complexes de Pd	10
Figure 9. Motifs stabilisant des feuillets β	12
Figure 10. Spectres CD caractéristiques de structures secondaires	13
Figure 11. Corrélations nOe usuelles pour les peptides	16
Figure 12. Motifs étudiés pour la stabilisation d'hélices	19
Figure 13. Dérivés peptidiques de la diaminocyclohexane.....	20
Figure 14. Conformation du peptide Piv-Pro-Pro-Ala-NHMe.....	23
Figure 15. Isomérisation cis/trans de la L-Proline	23
Figure 16. Motif développé par Gani	24
Figure 17. Motif développé par Kemp.....	24
Figure 18. Influence d'un substituant volumineux en position 5	25
Figure 19. Design du motif indanopyrrolidine	26
Figure 20. Formation d'indanopyrrolidines par réaction de Friedel-Crafts N-acyliminium	26
Figure 21. Mécanisme de la cyclisation.....	28
Figure 22. Région NH amide du spectre FTIR du composé 16	35
Figure 23. Région 5-9 ppm du spectre RMN ^1H du composé 16	36
Figure 24. Expériences de variation de température (A) et de titrage au DMSO (B) pour le composé 16	36
Figure 25. Région NH amide du spectre FTIR du composé 17	38
Figure 26. Spectre CD du composé 17	38
Figure 27. Région 5-9 ppm du spectre RMN ^1H du composé 17	39
Figure 28. Structure RMN de plus basse énergie obtenue par modélisation à partir des données NOESY pour le composé 17 (isomère majeur).....	40

Figure 29. Comparaison des régions NH amide des spectres FTIR de Cbz-L-Ala ₄ -OtBu (A) et du composé 18 (B)	41
Figure 30. Spectre CD du composé 18	41
Figure 31. Structure RMN de plus basse énergie obtenue par modélisation à partir des données NOESY pour le composé 18 (isomère majeur).....	43
Figure 32. Azabicycloalcanes : analogues rigides de L-Ala-L-Pro	46
Figure 33. Motif bicyclique.....	47
Figure 34. Région NH amide du spectre FTIR du composé 31	52
Figure 35. Spectre CD du composé 31	52
Figure 36. Représentation Ortep du composé 31	53
Figure 37. Région NH amide du spectre FTIR du composé 32	54
Figure 38. Spectre CD du composé 32	55
Figure 39. Expériences de variation de température (A) et de titrage au DMSO (B) pour le composé 32	57
Figure 40. Structure proposée pour le composé 32	58
Figure 41. Région NH amide du spectre FTIR du composé 33	59
Figure 42. Spectre CD du composé 33	59
Figure 43. Comparaison des spectres RMN ¹ H des composés 32 et 33 (A et B respectivement)	60
Figure 44. Expérience de titrage au DMSO pour le composé 33	61
Figure 45. Structure tridimensionnelle proposée pour le composé 33	62
Figure 46. Structure cristalline de la gramicidine A (complexe avec CsCl).....	66
Figure 47. Travaux de Ghadiri : assemblage supramoléculaire de peptides cycliques	67
Figure 48. Travaux de Hanabusa sur l'aggrégation de dérivés du 1,2-diaminocyclohexane.....	68
Figure 49. Assemblages supramoléculaires hypothétiques envisagés.....	69
Figure 50. Région 3500-3200 cm ⁻¹ (NH amide A) des spectres FTIR de la série <i>alanine</i>	75
Figure 51. Spectres CD de la série <i>alanine</i>	76
Figure 52. Expérience de dilution en RMN ¹ H pour le composé 38	77
Figure 53. Expérience de titrage au DMSO pour le composé 38	78
Figure 54. Région 3500-3200 cm ⁻¹ (NH amide A) des spectres FTIR de la série <i>sérine</i>	79

Figure 55. Spectres CD de la série Sérine protégée.....	80
Figure 56. Expérience de titrage au DMSO pour les composés 43 (A), 44 (B), 45 (C) et 46 (D).....	81
Figure 57. Expérience de dilution en RMN ^1H pour le composé 46	83
Figure 58. Structure cristalline du composé 46 obtenue par diffraction des rayons X: schéma de la maille unitaire.....	84
Figure 59. Structure cristalline du composé 46 : conformation du monomère	85
Figure 60. Représentation des liaisons hydrogène intramoléculaires	86
Figure 61. Association entre les monomères.....	87
Figure 62. Structure cristalline du composé 46 : association de 4 molécules.....	88
Figure 63. Hélices formées par le centre de chaque cyclohexane : (A) vue latérale d'une colonne (B) vue selon l'axe z.....	89
Figure 64. Structure cristalline du composé 46 : Vue en coupe d'un nanotube....	90
Figure 65. Spectre CD du composé 48 (série <i>sérine</i> non protégée)	91
Figure 66. Expérience de titrage au DMSO pour les composés 47 (A) et 48 (B) .	92

Liste des schémas

Schéma 1. Synthèse du motif L-TcaP	27
Schéma 2. Acétylation de L-TcaP	29
Schéma 3. Synthèse du motif indanopyrrolidine	30
Schéma 4. Synthèse des oligopeptides.....	31
Schéma 5. Couplage du motif indanopyrrolidine	32
Schéma 6. Synthèse du précurseur indolizidinone	48
Schéma 7. Synthèse du motif indolizidinone	49
Schéma 8. Couplage du motif indolizidinone	50
Schéma 9. Synthèse du dérivé azide 33	51
Schéma 10. Synthèse de la série <i>alanine</i>	70
Schéma 11. Synthèse des dérivés N-Boc et N-acétyle.....	71
Schéma 12. Synthèse de la série <i>sérine</i> protégée	72
Schéma 13. Synthèse du dérivé dibromé	73
Schéma 14. Synthèse de la série <i>sérine</i> non protégée.....	74

Liste des tableaux

Tableau I. Angles de rotation des structures secondaires régulières	4
Tableau II. Fréquences observées des bandes amide I et II de polypeptides naturels.....	14
Tableau III. Isomérisation <i>cis/trans</i> pour le motif ester	33
Tableau IV. Déplacements chimiques ^{13}C des carbones β et γ	34
Tableau V. Corrélations nOe caractéristiques observées pour l'isomère majeur du composé 18	42
Tableau VI. Angles de torsion du composé 31 à l'état solide	54
Tableau VII. Corrélations nOe caractéristiques observées pour le composé 32 ...	56
Tableau VIII. Coefficients de température pour le composé 32	56

Liste des sigles et abréviations

$[\alpha]_D$	Pouvoir rotatoire à la raie D du sodium
δ	Déplacement chimique
$[\theta]$	Ellipticité molaire
μL	Microlitre
ν	Nombre d'onde
1D	Unidimensionnel
2D	Bidimensionnel
3D	Tridimensionnel
AA	Acide aminé
Ac	Acétyle
Aib	Acide aminoisobutyrique
Ala	Alanine
Anal. Elem.	Analyse élémentaire
Atm.	Atmosphère
Bn	Benzyle
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyle
c	Concentration en g/100mL
$^{\circ}\text{C}$	Degré Celsius
calc.	Calculé(e)
Cbz	Benzyloxycarbonyle
CCM	Chromatographie sur couche mince
CD	Dichroïsme circulaire
COSY	^1H - ^1H Correlated spectroscopy
d	Doublet
dd	Doublet de doublet
DIBAL	Hydruure de diisobutyle aluminium
DIEA	Diisopropyléthylamine
DCM	Dichlorométhane
DMAP	Diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde

dt	Doublet de triplet
EDC	1-(3-Diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide.HCl
EI	Electron ionisation
équiv.	Equivalent
Et	Ethyle
<i>et al.</i>	et collaborateurs
FAB	Fast atom bombardment
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
h	Heure
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tétraméthyluronium hexafluorophosphate
HOBt	1-Hydroxybenzotriazole
HRMS	Spectroscopie de masse à haute résolution
Hz	Hertz
IUPAC	International union of pure and applied chemistry
<i>J</i>	Constante de couplage
K	Degré Kelvin
L-BcaP	Bicyclic constrained analogue of L-Proline
Liaison H	Liaison hydrogène
LiHMDS	Hexaméthylidisilazidure de lithium
L-Tcap	Tricyclic constrained analogue of L-Proline
m	Multiplet
m/e	Masse/charge
Me	Méthyle
MHz	Mégahertz
mL	Millilitre
mM	Millimolaire
mmol	Millimole
MS	Spectrométrie de masse
nm	nanomètre
nOe	Nuclear Overhauser effect
NOESY	Nuclear Overhauser enhancement spectroscopy
PBB	<i>para</i> -Bromobenzyle
p.f.	Point de fusion

pH	Potentiel hydrogène
Piv	Pivaloyle
ppb	Partie par billion
ppm	Partie par million
Pro	Proline
PyBOP	Benzotriazol-1-yloxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
q	Quadruplet
quint	Quintuplet
RCM	Fermeture de cycle par métathèse
RMN	Résonance magnétique nucléaire
s	Singulet
Ser	Sérine
t	Triplet
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphénylesilyle
TEMPO	2,2,6,6-Tétraméthylpipéridine-1-oxyl radical
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofuranne
TMS	Triméthylesilyle
tp	Température de la pièce
UV	Ultraviolet
%v/v	Pourcentage en volume
%w/w	Pourcentage en masse
Xaa	Acide aminé

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier le professeur Stephen Hanessian pour m'avoir donné l'opportunité de faire partie de son groupe de recherche et de travailler sur des projets aussi excitants. Cette expérience m'a permis d'aller beaucoup, beaucoup plus loin dans mes connaissances et d'acquérir la confiance en soi qui me manquait en arrivant dans le groupe..

J'aimerais également remercier Dr Gianluca Papeo qui a été (et qui est toujours !) un parrain, un professeur, un grand frère et un ami tout au long de notre collaboration.

J'aimerais ensuite remercier Dr Minh Tan Phan Viet, Sylvie Bilodeau, Dr Thierry Maris et Dr Michel Simard pour leur collaboration essentielle aux différents projets. Merci aussi à Carol, Elaine et Peggy pour leur aide quotidienne au laboratoire.

Ma reconnaissance va aussi aux membres du groupe passé et présent qui m'ont fait oublier que j'étais loin de chez moi grâce à leur sympathie et leur bonne humeur, en particulier, par ordre chronologique : Cécile, Clément, Vincent, Hongying, Philippe, Marco, Mauro, Saskia, Emily, Maxime, Julien, Valerio. Merci à Eric, toujours disponible pour un problème informatique.

J'aimerais remercier mes parents et ma famille pour leur support constant, même à 6000 km de là.

Finalement, merci à Caroline pour tout. Sans son soutien, cette expérience nord-américaine aurait été beaucoup plus difficile voire impossible...

Introduction

L'étude des phénomènes liés à la structure tridimensionnelle des protéines (et par extension, des peptides linéaires plus courts) est actuellement en plein essor. On le comprend aisément lorsque l'on sait que, d'une part, de nombreuses maladies résultent d'une déformation de la structure 3D d'une protéine (enzyme, récepteur, etc...) et que d'autre part, certains peptides d'importance biologique ne sont actifs que s'ils possèdent une conformation 3D précise (ligand, inhibiteur, antibactérien, etc...). Ce lien crucial entre structure conformationnelle et activité biologique est donc à l'origine de l'intérêt de nombreux groupes de recherche sur la dynamique conformationnelle des peptides en solution.

1. Structures secondaires de peptides

1.1. Quelques définitions

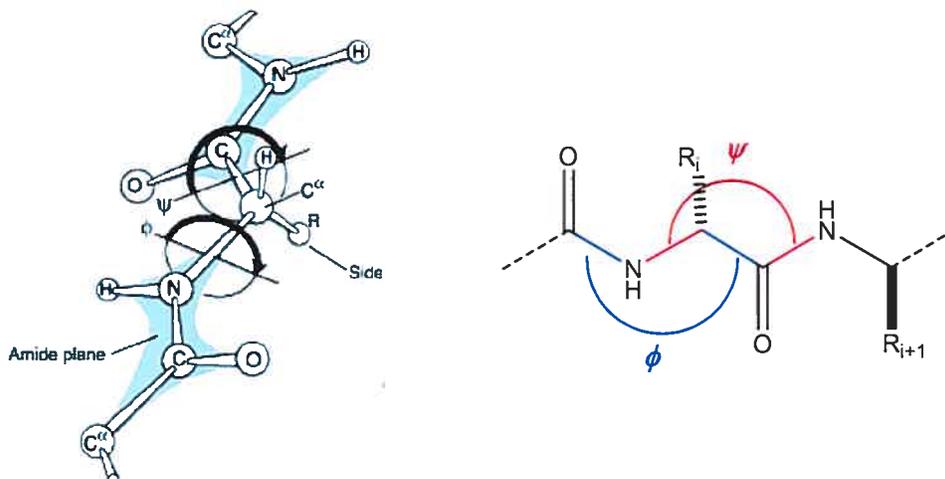
La structure tridimensionnelle d'une protéine peut se décrire par 4 types de sous-structures : primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire. La structure primaire correspond à la séquence d'acides aminés (liés par liaison peptidique) composant la chaîne principale de la protéine. La structure secondaire correspond à la conformation tridimensionnelle « locale » d'un segment de la protéine ou du peptide (c'est-à-dire une région ordonnée de la chaîne). La stabilité de cette conformation est en général assurée par des liaisons hydrogène. La structure tertiaire est l'organisation de structures secondaires du polypeptide (liés ensemble par des segments plus flexibles de la chaîne) en un arrangement tridimensionnel. La structure quaternaire enfin correspond à l'assemblage de plusieurs sous-unités du polypeptide en la protéine fonctionnelle (aggrégation).

L'examen des structures 3D des protéines incite à penser que les arrangements tertiaires et les associations de type quaternaire peuvent se décomposer en un nombre limité de structures secondaires tels que hélices, tours et feuillets.¹

Ces structures secondaires de base ne diffèrent principalement que par les angles de torsions des acides aminés impliqués et l'arrangement des liaisons hydrogène qui les stabilisent. Ces angles de torsion, qui dépendent fortement de la

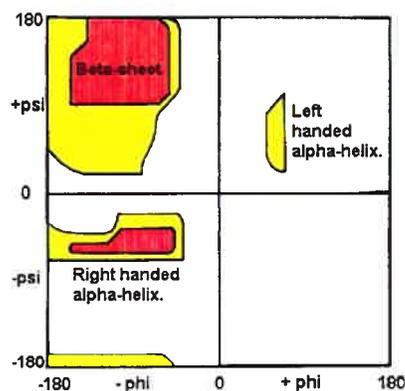
nature des acides aminés, ont été définis par l'IUPAC-IUB en 1969 pour des acides α -aminés² et sont appelés ϕ et ψ .

Figure 1. Angles de torsion définis selon la nomenclature de l'IUPAC



L'angle ϕ correspond à l'angle formé par la séquence $C_{i-1}, N_i, C_i^{\alpha}, C_i$. L'angle ψ correspond à l'angle formé par la séquence $N_i, C_i^{\alpha}, C_i, N_{i+1}$. On peut donc considérer deux degrés de rotation conformationnelle par acide aminé. Cependant ces degrés de rotation sont limités, du fait des interactions de type Van der Waals entre les atomes de la chaîne principale et ceux de la chaîne latérale. Ainsi, selon l'acide aminé, les valeurs de ϕ et ψ sont restreintes à une portion de l'espace conformationnel. Ramachandran et ses collaborateurs ont déterminé ces valeurs et tracé des « cartes » indiquant les angles permis.³

Figure 2. Carte Ramachandran pour la L-Alanine



Les structures secondaires de base (ou régulières) que l'on rencontre habituellement dans les protéines et les peptides naturels sont peu nombreuses, ce qui n'est guère surprenant si l'on considère les restrictions imposées aux angles de torsion. On répertorie ainsi :

- les hélices de type 3_{10} et de type α
- les feuillets β parallèles et antiparallèles
- les tours β (de type I et I', II et II', III et III') et les tours γ

Tableau I. Angles de rotation des structures secondaires régulières

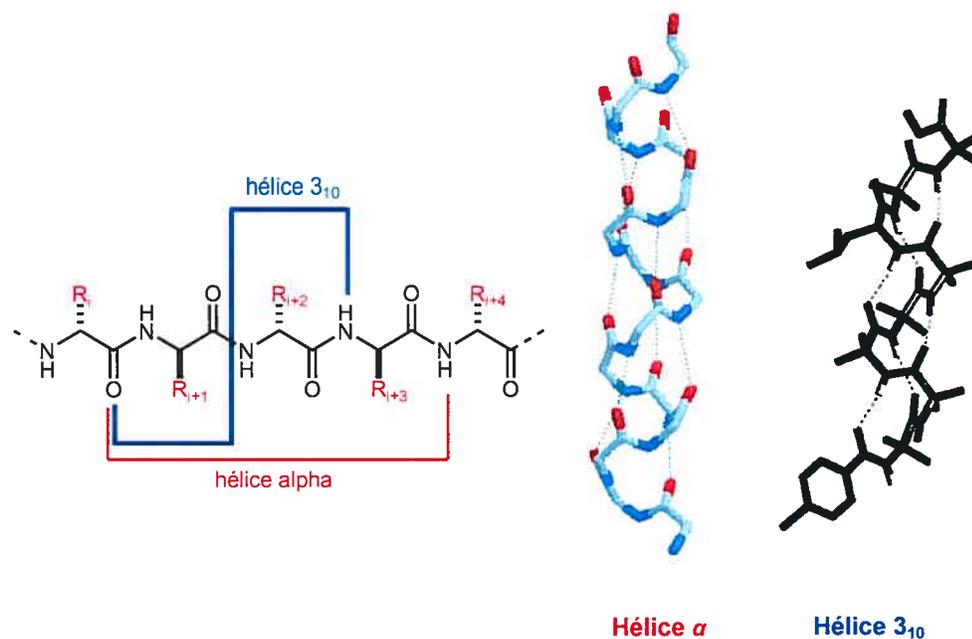
<i>Structure secondaire</i>	φ	ψ
Hélice α	-57°	-42°
Hélice 3_{10}	-57°	-30°
Feuillet β parallèle	-119°	$+113^\circ$
Feuillet β antiparallèle	-139°	$+135^\circ$
Tour γ (résidu $i+1$)	$+75^\circ$	-64°
Tour β type I	$-60^\circ (i+1)$	$-30^\circ (i+1)$
	$-90^\circ (i+2)$	$0^\circ (i+2)$
Tour β type II	$-60^\circ (i+1)$	$+120^\circ (i+1)$
	$+80^\circ (i+2)$	$0^\circ (i+2)$
Tour β type III	-60°	-30°

Les hélices α constituent environ 30% des résidus des protéines, ce qui en fait la structure secondaire la plus abondante et dénote une stabilité particulière. La longueur moyenne d'une hélice α est de 10 acides aminés. Cette structure présente une liaison hydrogène entre l'acide aminé (i) et l'acide aminé ($i+4$), ce qui donne 13 atomes par boucle.

Les hélices 3_{10} sont un peu plus rares (environ 3 à 4% des résidus) et se retrouvent la plupart du temps au début ou à la fin d'une hélice α (certains considèrent même que c'est une conformation intermédiaire en équilibre avec l'hélice α).⁴ C'est une hélice en moyenne plus courte que l'hélice α (environ 4

résidus) et un peu moins stable : la structure est plus tendue et moins stabilisée par les interactions entre chaînes latérales. Elle présente une liaison hydrogène entre l'acide aminé (i) et l'acide aminé ($i+3$), soit 10 atomes par boucle. Elle peut être considérée comme une succession de tours β de type III.

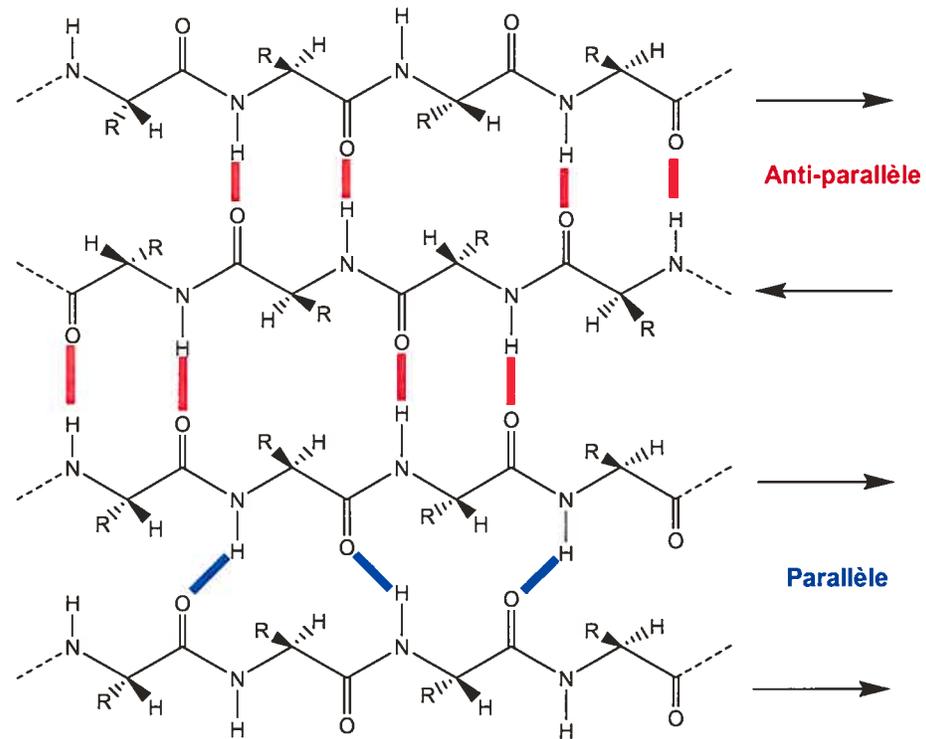
Figure 3. Hélice α et hélice 3_{10} ⁹



Le feuillet β est la deuxième structure la plus abondante dans les protéines. Cette structure correspond à l'organisation de segments linéaires ou étendus (appelés branches) de la chaîne peptidique en « feuillets », stabilisés par des liaisons hydrogène inter-branches et des interactions entre les chaînes latérales. Une branche contient environ 6 résidus et un feuillet de 2 à 6 branches.

On distingue deux types de feuillets β selon la direction des branches : le feuillet est parallèle si les chaînes vont dans le même sens (de N_{terminal} vers C_{terminal}), et antiparallèle si elles vont en sens opposés l'une par rapport à l'autre. L'arrangement des liaisons hydrogène sera ainsi différent d'un type de feuillet à l'autre.

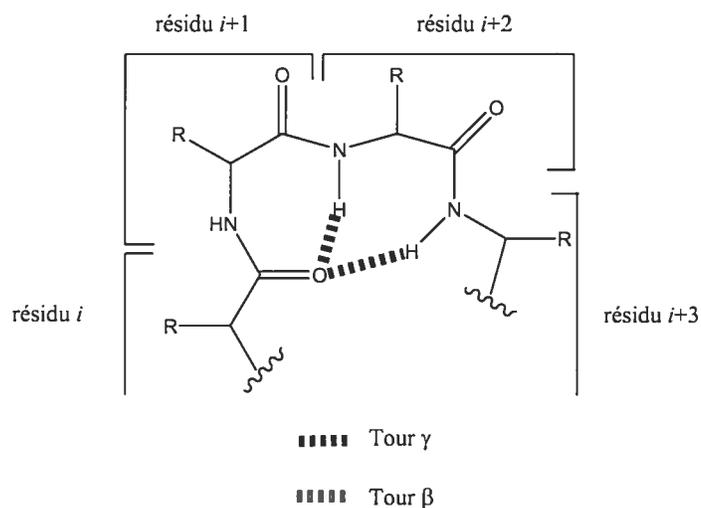
Figure 4. Feuilletés β^5



Les tours β correspondent à la structure que l'on retrouve aux endroits où la chaîne principale change de direction (appelés aussi boucle ou « épingle à cheveux »). Les tours sont constitués de 4 acides aminés et stabilisés par une liaison hydrogène entre l'acide aminé (i) et l'acide aminé ($i+3$) (soit 10 atomes par tour). Les différents types de tours se distinguent par les angles de torsion des acides aminés ($i+1$) et ($i+2$).⁶

Le tour γ est un tour plus rare (et moins stable) qui comprend 3 résidus et une liaison hydrogène entre l'acide aminé (i) et l'acide aminé ($i+2$) (soit 7 atomes par tour). On le rencontre la plupart du temps dans des peptides contenant une proline.

Figure 5. Tour β et tour γ réguliers



1.2. Importance biologique de la structure secondaire

Comme mentionné précédemment, la relation entre la structure 3D et la fonction de la protéine ou du peptide est essentielle du point de vue biologique. Un polypeptide qui présente une structure ordonnée spécifique va pouvoir être reconnu par une autre molécule (peptidique ou non). En effet, de nombreux processus biologiques tels que la reconnaissance d'un inhibiteur par le site actif d'une enzyme, ou bien un ligand par un récepteur, mettent souvent en jeu des interactions entre deux structures secondaires.

On trouve dans la littérature une multitude d'exemples où la conformation du peptide est nécessaire à l'activité biologique. Ainsi, les hormones peptidiques telles que le neuropeptide Y⁷ ou la calcitonine⁸ présentent une hélice α au niveau du site de liaison avec leur récepteur ; ou encore, l'activité hémolytique de peptides tels que la melittine et l'alaméthicine est reliée à leur structure d'hélice.⁹

Une autre catégorie de peptides biologiquement actifs dont la structure secondaire est cruciale pour l'activité est celle des peptides antibactériens.¹⁰ Ces peptides possèdent une structure tridimensionnelle leur permettant d'interagir avec la paroi bactérienne. Parmi ceux-ci, deux types importants :

- les hélices dites amphipathiques telles que les magainines^{10,11}, qui présentent une face hydrophobe polaire (et chargée) et une face hydrophile, et qui peuvent ainsi détruire les structures membranaires bactériennes ;
- les nanotubes peptidiques, développés par le groupe de Ghadiri¹², qui sont des peptides cycliques (alternant des acides aminés hydrophobes de configuration L et D) s'assemblant en feuillets β et formant ainsi une structure tubulaire fonctionnant comme un canal transmembranaire.

2. Motifs stabilisant des structures secondaires

Les peptides linéaires courts composés de 15 acides aminés ou moins ne présentent pas en général de conformations définies en solution.¹³ On considère qu'ils présentent plutôt un ensemble de conformations de même niveau énergétique s'interchangeant rapidement. Cette absence de structure définie est due à la différence d'énergie existant entre un état replié du peptide et un état non-plié (environ 3-15 kcal/mol). Cette différence d'énergie est facilement compensable lorsque le peptide est une séquence appartenant à une protéine, mais difficilement réalisable pour un peptide en solution. En effet, l'énergie de stabilisation intrinsèque apportée par les liaisons hydrogène n'est pas suffisante pour compenser les effets entropiques et enthalpiques du solvant et de la chaîne peptidique. Pour obtenir un peptide avec une conformation bien définie en solution, il est donc nécessaire de le stabiliser en utilisant :

- soit un ou des acides aminés non naturels (acide aminé β , acide aminé γ , acides α -aminés α,α -disubstitués,...)
- soit un mimétique de liaison hydrogène (pont disulfure, hydrazone,...)
- soit une contrainte entre chaînes latérales (métallique,...)
- soit un motif contraint (ou « template ») placé en début de chaîne, qui induit ou propage une conformation définie d'une partie ordonnée (motif) vers une partie non-ordonnée (peptide).

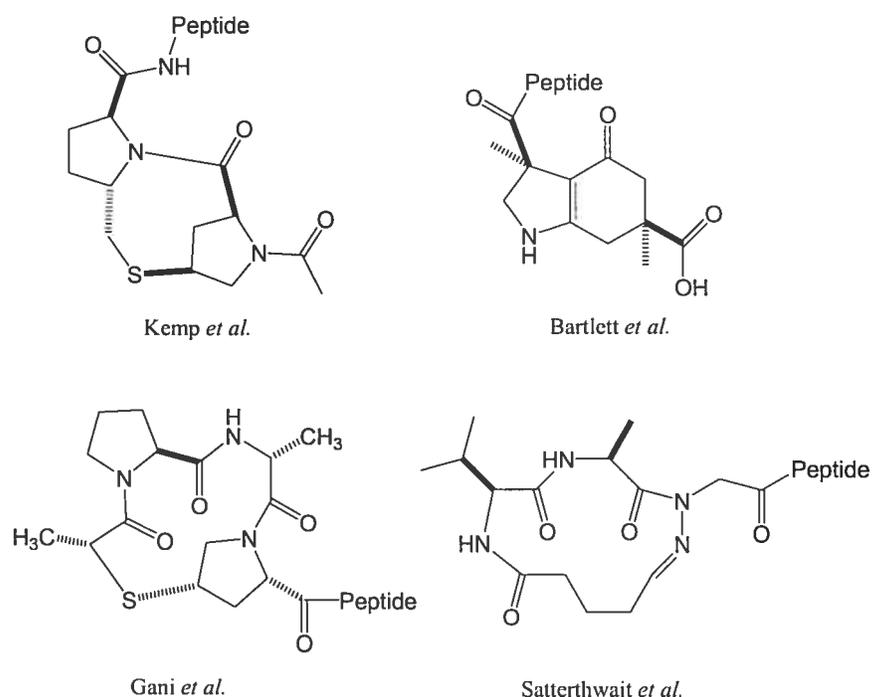
La synthèse et l'étude conformationnelle de ces motifs peptidiques permettent d'une part de mieux connaître les mécanismes de formation et de stabilisation des structures secondaires de peptides et des protéines, et d'autre part, d'identifier des moyens de fixer un peptide d'intérêt biologique dans une conformation active.

2.1. Stabilisation d'hélices

Différentes approches ont été utilisées dans la littérature pour stabiliser des hélices de type α ou, plus rarement, de type 3_{10} . La méthode la plus utilisée est celle du motif placé en général en position N-terminale du peptide. Dans la plupart des cas, le motif est une molécule cyclique et contrainte mimant un premier tour de l'hélice ou possédant une géométrie tridimensionnelle suffisante pour induire la formation de l'hélice (notamment par l'orientation adéquate des carbonyles pour les liaisons hydrogène et les angles de torsion idéaux). En effet, dans le cas de l'hélice α , les 3 premiers résidus de la chaîne ne sont pas stabilisés par les liaisons hydrogène subséquentes et il faut donc réduire l'entropie ainsi générée.

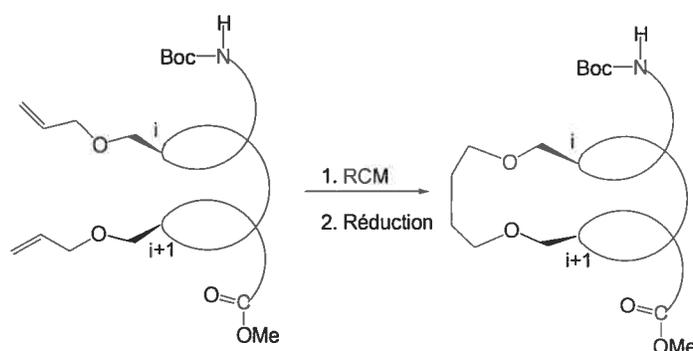
Parmi les motifs décrits dans la littérature, on peut retenir ceux basés sur le dipeptide L-Pro-L-Pro tels que celui de Kemp *et al.*,¹⁴ ceux comprenant un macrocycle peptidique tels que de Gani *et al.*,¹⁵ ou Satterthwait *et al.*,¹⁶ et enfin le motif bicyclique non peptidique mais néanmoins efficace de Bartlett *et al.*¹⁷

Figure 6. Motifs stabilisant des hélices α



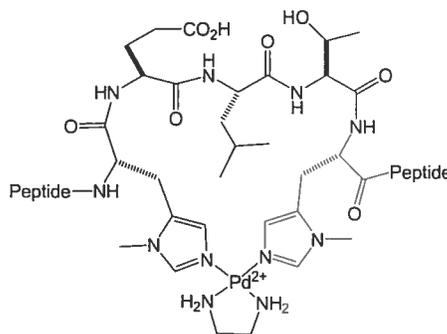
Une autre approche importante consiste à stabiliser (ou forcer, selon le cas) le peptide dans une conformation hélicale à l'aide d'une contrainte utilisant les chaînes latérales. On peut ainsi citer le travail du groupe de Grubbs,¹⁸ qui utilise une fermeture de cycle par métathèse entre deux résidus sérine O-allylés (espacés par 3 acides aminés) pour stabiliser le peptide dans sa conformation hélice α .

Figure 7. Stabilisation d'hélice par fermeture de cycle par métathèse (Grubbs *et al.*)



On peut également citer les travaux du groupe de Ghadiri¹⁹ et du groupe de Fairlie²⁰ qui utilisent des interactions ioniques métalliques pour contraindre le peptide dans une conformation de type hélice α à l'aide des chaînes latérales de résidus histidine.

Figure 8. Stabilisation d'hélice par l'intermédiaire de complexes de Pd (Fairlie *et al.*)

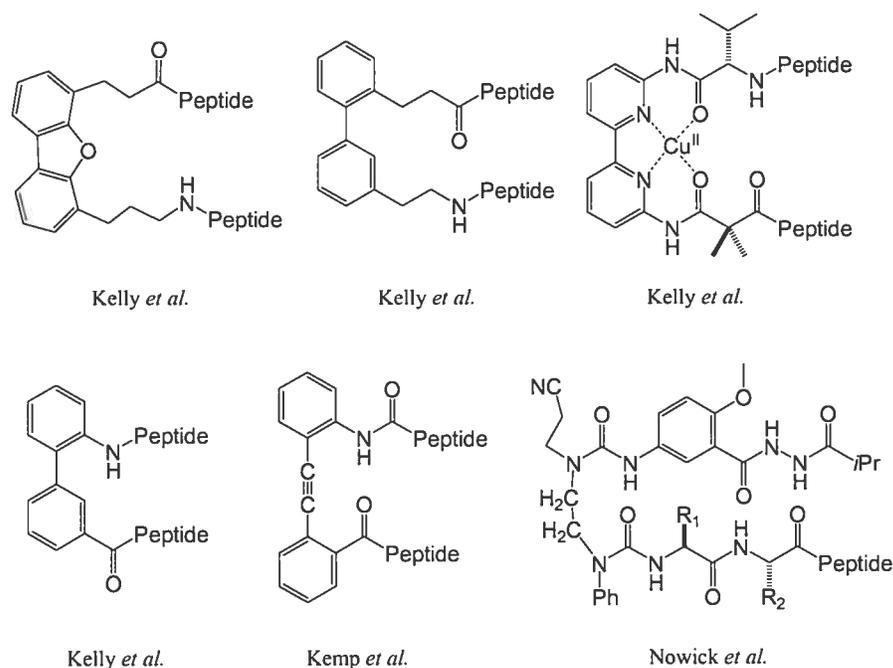


Il est important de noter que dans la plupart des exemples cités ci-dessus, une population plus ou moins grande des peptides stabilisés présente une conformation de type hélice 3_{10} .

D'autres groupes, enfin, ont choisi d'utiliser des acides aminés non naturels tels que les acides aminés β (notamment les travaux de Seebach *et al.* et de Gellman *et al.*²¹), et les acides aminés γ (Hanessian *et al.*²²), qui ont une plus grande flexibilité et qui permettent d'obtenir une plus grande variété d'hélices que les acides α -aminés pour les homopeptides correspondants. Les peptides contenant des acides α -aminés α,α -disubstitués sont quant à eux connus pour former des hélices de type 3_{10} en solution (travaux de Toniolo *et al.*²³), les degrés de rotation de ces acides aminés étant plus restreints que les acides aminés naturels.

2.2. Stabilisation de feuillets β

Parmi les approches publiées dans la littérature pour stabiliser des feuillets β ,^{1,13b,c} celle consistant à utiliser un motif est de loin la plus populaire. Le motif est choisi de telle sorte qu'il imite une épingle à cheveux ou un tour β , permettant ainsi le changement de direction de la chaîne peptidique. Ces motifs ont en général deux groupements fonctionnels permettant d'attacher les parties N- et/ou C-terminales des segments peptidiques. De plus, l'éloignement de ces deux groupes fonctionnels est choisi de telle sorte que les deux branches parallèles ou antiparallèles soient à une distance convenable pour la formation de liaisons hydrogène. On peut ainsi citer les travaux du groupe de Kelly²⁴ et du groupe de Kemp²⁵ basés sur des motifs de type aromatique, et également ceux du groupe de Nowick²⁶ basés sur des motifs de type oligourée.

Figure 9. Motifs stabilisant des feuillets β 

De la même manière qu'ils peuvent former des hélices, les peptides contenant des acides aminés non naturels peuvent présenter des conformations de type feuillet β , notamment lorsqu'ils sont placés au niveau d'une épingle à cheveux.⁵

Un cas particulier d'arrangement en feuillets est celui des peptides cycliques qui s'autoassemblent en nanotubes. Ces peptides sont en général formés d'acides α -aminés alternants les configurations L et D^{12,27} (travaux pionniers du groupe de Ghadiri), mais on trouve quelques exemples de nanotubes formés de peptides β ²⁸ ou mixtes α/γ .²⁹ La stabilisation de la conformation est fortement liée à la géométrie planaire de ces peptides cycliques et par conséquent, à l'orientation des carbonyles et des chaînes latérales (voir chapitre 3).

3. Méthodes d'analyse conformationnelle

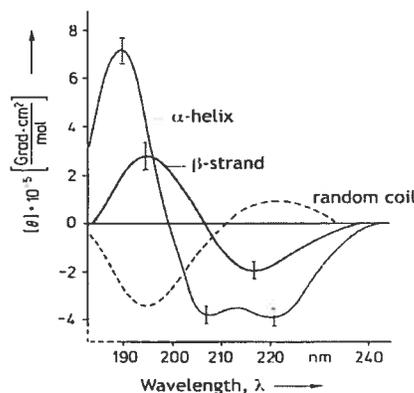
Pour déterminer la structure d'un peptide en solution, on dispose de plusieurs méthodes spectroscopiques^{13a}: le dichroïsme circulaire (CD), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), et la plus importante de

toutes, la résonance magnétique nucléaire (RMN). Ces différentes techniques permettent l'observation des conformations du peptide sur des échelles de temps différentes, donnant ainsi des informations complémentaires sur les populations de conformères.

3.1. Dichroïsme circulaire

La spectroscopie CD est une technique d'absorption de la lumière qui mesure la différence entre l'absorbance de la lumière polarisée circulaire à gauche et l'absorbance de la lumière polarisée circulaire à droite par une substance en solution (cette différence s'exprime en terme d'ellipticité). Le spectre ainsi obtenu pour des longueurs d'onde comprises entre 180 nm et 260 nm (UV lointain) est caractéristique des différentes structures secondaires.

Figure 10. Spectres CD caractéristiques de structures secondaires³⁰



Un peptide présentant une conformation de type hélice α donne un spectre idéal avec deux bandes d'ellipticité négative à 208 nm (transition π - π^* du carbonyle) et 222 nm (transition n - π^*), et une bande positive autour de 190 nm (transition π - π^*). Le pourcentage théorique d'hélicité peut être déterminé en utilisant l'ellipticité moyenne par résidu à 222 nm.³¹ Une hélice 3_{10} présentera les mêmes bandes mais avec une intensité différente pour les deux bandes négatives. Ainsi pour une hélice α , le ratio $[\theta]_{222}/[\theta]_{208}$ sera environ 0.7-1 alors que pour une hélice 3_{10} le ratio sera plus faible (~ 0.4 -0.7).³²

Un tour β de type I donne en général un spectre proche de celui d'une hélice α , alors qu'un tour de type II donnera une bande caractéristique positive vers 200-210 nm.

Un feuillet β présente un spectre avec une bande négative à 218 nm (transition π - π^*) et une bande d'ellipticité positive vers 196 nm (transition n - π^*).

Il faut cependant savoir que ces valeurs sont pour des conformations idéales. Un peptide, n'ayant qu'une petite population de conformations hélicales ou avec des angles de torsion déviant légèrement des angles idéaux, présentera un spectre CD avec des intensités diminuées, rendant ainsi difficile l'interprétation du spectre. La spectroscopie CD ne donne donc que des informations qualitatives et n'est pas suffisante seule pour affirmer ou infirmer une structure.

3.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les spectres infrarouge de protéines et de peptides montrent différentes bandes d'absorption qui peuvent être utilisées pour déterminer la structure secondaire. Les bandes appelées amide I (qui est la plus utilisée et correspond principalement à la vibration d'élongation du C=O du groupement amide) et amide II représentent les différents modes de vibration de la liaison peptidique. Ces deux bandes situées entre 1700 et 1500 cm^{-1} sont caractéristiques de la conformation adoptée par le peptide.

Tableau II. Fréquences observées des bandes amide I et II de polypeptides naturels³³

<i>Conformation</i>	<i>Amide I (cm^{-1})</i>	<i>Amide II (cm^{-1})</i>
Chaîne libre	1656 (F)	1535 (F)
Hélice α	1650 (F), 1652 (m)	1516 (f), 1546 (F)
Feuillet β parallèle	1630 (F), 1645 (f)	1530 (F), 1550 (f)
Feuillet β antiparallèle	1632 (F), 1685 (f)	1530 (F)

Intensité : (F) : forte, (m) : moyenne, (f) : faible

La région comprise entre 3200 et 3500 cm^{-1} du spectre infrarouge d'un peptide peut être également utilisée dans l'élucidation de conformations en solution.³⁴ On peut y observer les bandes d'élongation de la liaison N-H (ou bandes amide A), bandes qui peuvent indiquer la présence ou l'absence d'un réseau de liaisons hydrogène. Ainsi une bande d'absorption autour de 3400-3450 cm^{-1} correspond à une population de NH libres alors qu'une bande autour de 3250-3350 cm^{-1} est caractéristique de NHs liés par liaisons hydrogène.

Il est important de noter que la concentration du peptide en solution est un facteur influençant la nature des liaisons hydrogène. Une forte concentration favorise la formation de liaisons hydrogène intermoléculaires alors qu'une solution diluée empêchera cette formation. On peut ainsi éviter des bandes non désirées qui peuvent fausser la détermination de la conformation.

3.3. Résonance magnétique nucléaire

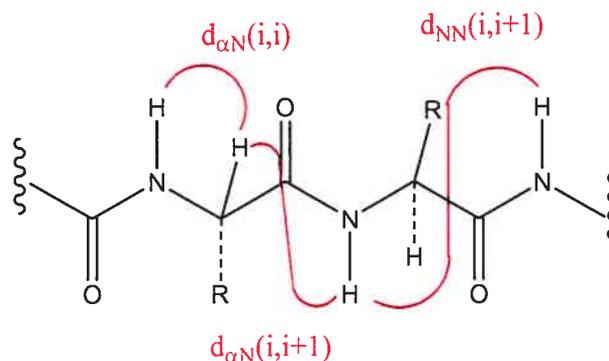
La résonance magnétique nucléaire 1D et 2D est devenue un outil indispensable pour l'élucidation de conformations de peptide en solution. La grande diversité d'expériences possibles apportent de nombreuses informations locales sur la structure tridimensionnelle ainsi que sur la présence de liaisons hydrogène. Parmi ces expériences, on peut distinguer principalement :

- la spectroscopie NOESY (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*) ou ROESY (*Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy*)
- les constantes de couplage $^3J_{\text{NHCH}\alpha}$
- l'index de déplacement chimique du proton H_α
- l'expérience de variation de température
- le titrage au DMSO des protons NH
- l'échange proton-deutérium

3.3.1. Spectroscopie NOESY

La spectroscopie NOESY est une méthode bidimensionnelle de RMN ^1H basée sur la mesure de NOEs (« nuclear Overhauser effects »). L'observation d'un NOE entre deux protons indique la présence d'une population non négligeable de conformères dans lesquels la distance entre ces protons est assez courte (en général $<3.5 \text{ \AA}$).^{13a} Cette méthode permet d'obtenir des informations locales, par résidu, sur la structure tridimensionnelle. Selon la nomenclature couramment utilisée, on représente un NOE entre le H_α d'un résidu i et le NH du résidu suivant $i+1$ par $d_{\alpha\text{N}}(i, i+1)$. De même, un NOE entre les NH de deux résidus adjacents sera noté $d_{\text{NN}}(i, i+1)$.

Figure 11. Corrélations NOE usuelles pour les peptides



La présence des NOEs $d_{\text{NN}}(i, i+1)$ et $d_{\alpha\text{N}}(i, i+3)$ de forte intensité est caractéristique d'une conformation hélicale. On peut également observer des NOEs de faible à moyenne intensité de type $d_{\alpha\text{N}}(i, i+2)$ (surtout dans le cas d'une hélice 3_{10}) et $d_{\alpha\text{N}}(i, i+4)$ (surtout dans le cas d'une hélice α).^{20c,35}

La présence de NOEs $d_{\alpha\text{N}}(i, i+1)$ de forte intensité avec l'absence de NOEs $d_{\text{NN}}(i, i+1)$ est souvent caractéristique d'une chaîne en conformation étendue (feuillet β).

Il est important de noter que l'on observe aussi les NOEs $d_{\alpha\text{N}}(i, i+1)$ pour des peptides flexibles sans conformation ordonnée.

3.3.2. Constante de couplage ${}^3J_{\text{NHCH}\alpha}$

La constante de couplage ${}^3J_{\text{NHCH}\alpha}$ entre le proton de l'amide et le proton H_α d'un résidu est liée fortement à l'angle de torsion φ de ce résidu, selon la courbe de Karplus.³⁶ La mesure de cette constante donne donc une information précieuse sur la conformation de la chaîne peptidique. Les travaux du groupe de Wüthrich ont permis de déterminer les valeurs moyennes de cette constante pour les structures secondaires régulières : on attend ainsi une constante de couplage d'environ 4-6 Hz ($-70^\circ < \varphi < -30^\circ$) pour une hélice α (mais on considère en général qu'une série de constantes < 6 Hz est caractéristique), et une constante d'environ 8-10 Hz ($-150^\circ < \varphi < -90^\circ$) pour un feuillet β .

Cependant, la constante de couplage n'est pas un paramètre infallible car on retrouve souvent dans les protéines naturelles des hélices dont les résidus présentent une constante de 6-7 Hz, constante que l'on attribue en général à un peptide flexible.

3.3.3. Déplacement chimique du proton H_α

Il a été démontré que le déplacement chimique du proton H_α est fortement dépendant de la nature de la structure secondaire.³⁷ Ainsi, on peut observer un déplacement vers les bas champs (par rapport à un peptide flexible sans structure ordonnée) de plus de 0.1 ppm du signal du H_α dans le cas d'un résidu dans une conformation feuillet β . On observe le même genre de déplacement mais dans la direction opposée (haut champ) pour les résidus participant à une hélice α .

3.3.4. Variation de température

L'amplitude de variation du déplacement chimique des protons NH en fonction de la température peut être utilisée comme un indice de la présence ou non de liaisons hydrogène.³⁸ En effet, il est connu que le déplacement chimique des protons d'amide engagés dans une liaison hydrogène se situe souvent vers les bas champs (entre 7 et 9 ppm) du fait de la présence du carbonyle. Lorsque l'on

augmente la température, du fait de l'augmentation de la distance entre les atomes, la liaison hydrogène faiblit et on doit observer un déplacement du signal vers les hauts champs (d'où le terme de coefficient de température négatif).

Cependant l'interprétation de cette expérience est rendue plus complexe dans le cas de courts peptides car il faut alors considérer l'importance du solvant (solvant accepteur de liaison H ou non, NHs exposés au solvant, ...) et le fait que la structure secondaire peut s'altérer et même disparaître avec la hausse de température.^{38b,c}

Même si le sujet reste controversé, on considère en général qu'un NH lié par liaison hydrogène ou non-exposé au solvant (tel que DMSO ou D₂O) présente un coefficient de température faible ($d\delta/dT \leq 3-4$ ppb.K⁻¹), alors qu'un NH libre ou exposé au solvant présente une valeur plus élevée.

3.3.5. Titrage DMSO

Le titrage au DMSO des protons NH permet de déterminer si le NH est lié par liaison hydrogène ou si le NH est exposé au solvant.³⁹ Le DMSO est un solvant connu pour être un très bon accepteur de liaison hydrogène. Lorsqu'on augmente la quantité de DMSO dans une solution de peptide (dans un solvant faiblement accepteur de liaison H), les NHs libres vont montrer un déplacement chimique qui varie fortement vers les bas champs, du fait de la création de liaisons H intermoléculaires. Les NHs liés ou non exposés présenteront une variation de moins forte amplitude. Le titrage est considéré comme un critère plus fiable que la variation de température.

3.3.6. Vitesse d'échange proton/deutérium

La relative labilité des protons NHs d'un peptide (due à leur acidité) rend possible l'échange des protons NH par des deutériums lorsque le peptide est en solution dans un solvant deutéré (comme CD₃OD ou D₂O). La vitesse d'échange proton/deutérium peut être alors utilisée comme une mesure du degré d'exposition

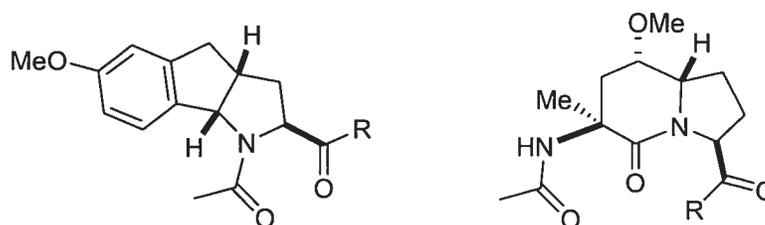
au solvant, et donc de la présence de liaisons hydrogène,⁴⁰ puisqu'un NH lié ou non-exposé échangera plus lentement qu'un NH libre.

4. Synthèses et études conformationnelles de motifs capables d'induire une structure secondaire

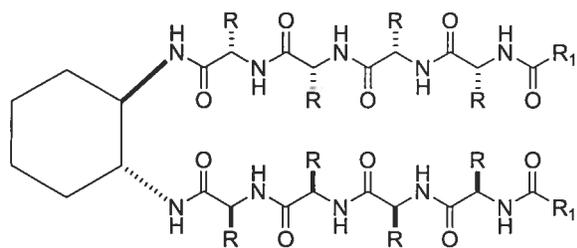
On a vu précédemment l'importance de la structure secondaire des peptides et les moyens utilisés dans la littérature pour stabiliser ces structures dans le cas de peptides courts (< 10 résidus) en solution. Les chapitres suivants montrent les motifs que nous avons utilisés dans le groupe du Professeur Hanessian pour stabiliser des oligopeptides attachés dans leur conformation hélicale ou un arrangement supramoléculaire de type feuillet.

Deux motifs analogues contraints de la proline, l'un bicyclique et l'autre tricyclique, ont été synthétisés et attachés à un tetrapeptide et leur abilité à induire une hélice 3_{10} a été étudiée par les méthodes d'analyse conformationnelle décrites ci-dessus. Ces études sont rapportées dans les chapitres 1 et 2 respectivement de ce mémoire.

Figure 12. Motifs étudiés pour la stabilisation d'hélices



La (*1R, 2R*)-diaminocyclohexane a été également utilisée comme motif pour créer un assemblage supramoléculaire de type nanotube lorsqu'elle est couplée à deux chaînes peptidiques parallèles. Le design, la synthèse et l'élucidation de la structure sont rapportés dans le chapitre 3 du mémoire.

Figure 13. Dérivés peptidiques de la (1*R*,2*R*)-diaminocyclohexane

R = CH₃, OBn, OH

R₁ = CH₃, OtBu, OBn

Chapitre 1
Indanopyrrolidines et stabilisation d'hélices 3₁₀

On a vu dans le chapitre précédent que l'utilisation d'un motif pour induire ou « ensemercer » une conformation de type hélice α ou hélice 3_{10} à partir d'un peptide linéaire était une méthode plus ou moins efficace si l'on se réfère aux exemples que l'on trouve dans la littérature. En connaissant les propriétés géométriques particulières de la L-proline dans la stabilisation de structures secondaires peptidiques, nous avons décidé d'utiliser un motif indanopyrrolidine, soit un analogue tricyclique de la proline, comme « nucléateur ». Ce motif couplé à une autre unité proline forme une structure de base sur laquelle sont attachés des peptides de différentes longueurs. La synthèse et les études conformationnelles de ces molécules sont décrites dans ce chapitre.

1. Proline et isomérisation *cis/trans*

1.1. Propriétés de la L-Proline

La L-Proline est le seul acide α -aminé protéinogénique cyclique, ce qui lui confère des propriétés géométriques particulières. A cause de ces propriétés, la proline a un effet plutôt destructeur sur la stabilité d'une hélice lorsqu'elle se trouve à une position interne de la chaîne peptidique. Ceci est dû principalement aux effets stériques du cycle et à l'absence de proton NH.^{9,41}

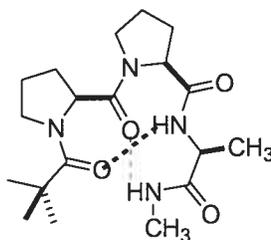
Cependant, on retrouve souvent un résidu proline en position N-terminale d'hélice α dans le cas des peptides naturels, là où, d'une part, il n'interfère pas avec le réseau de liaisons hydrogène et d'autre part, il peut aider à la nucléation de l'hélice. En effet, l'angle de torsion φ de la L-Proline est d'environ 60° , donc très proche de la valeur théorique des résidus impliqués dans une hélice α ou 3_{10} .

L'idée d'utiliser la L-Proline ou de proches dérivés comme motif pour la stabilisation d'hélices a déjà été exploitée, en particulier par les groupes de Balaram,⁴² de Gani¹⁵ et de Kemp.¹⁴

Balaram et ses collaborateurs ont ainsi rapporté l'étude conformationnelle du peptide Piv-L-Pro-L-Pro-Ala-NHMe dans des solvants organiques. Ils ont montré par des expériences RMN que le peptide formait une structure semblable à

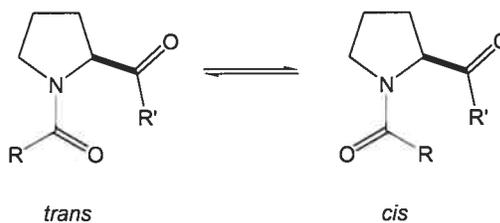
une hélice 3_{10} dans le chloroforme et le DMSO. Cette conformation serait facilitée par la présence de deux unités proline contigües, cependant cette structure n'est pas assez rigide pour induire une hélice dans un solvant tel que l'eau.

Figure 14. Conformation du peptide Piv-Pro-Pro-Ala-NHMe



Il faut savoir que l'étude de dérivés de la proline est souvent rendue complexe du fait de la présence de multiples conformères créés par l'isomérisation *cis/trans* au niveau de la liaison amide Xaa-L-Pro.⁴³ En effet, la proline est un acide aminé dont les deux isomères de la liaison amide sont énergétiquement favorables. L'isomère *trans* n'est que très légèrement plus stable que l'isomère *cis* (environ 2 kcal/mol) ce qui rend facile l'interconversion entre les deux. Cette barrière rotationnelle augmente en énergie avec la polarité du solvant,⁴⁴ ce qui peut devenir un obstacle si l'on étudie l'abilité d'un motif à induire une hélice dans un solvant polaire, puisque l'isomère désiré pourrait alors devenir inaccessible.

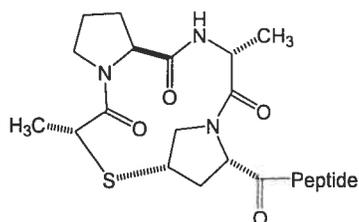
Figure 15. Isomérisation *cis/trans* de la L-Proline



1.2. Contrôle de l'isomérisie *cis/trans*

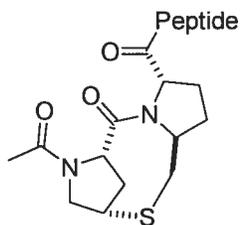
Pour outrepasser ce problème d'isomérisie, Gani et ses collaborateurs ont essayé d'utiliser un dérivé de la proline de type macrocyclique pour induire la formation d'une hélice sur un peptide attaché.¹⁵ Le motif était construit dans le but d'aligner correctement les groupements carbonyles pour fonctionner comme des accepteurs de liaisons hydrogène. Malheureusement, même si les liaisons amide présentaient une conformation *trans*, cet alignement n'a pas été observé ou seulement dans le cas d'un isomère mineur.

Figure 16. Motif développé par Gani *et al.*



Une solution élégante a été rapportée par le groupe de Kemp,¹⁴ qui a développé un motif capable de stabiliser des peptides de 5 à 11 résidus dans une conformation hélicale en milieu aqueux. Ce motif est un analogue plus ou moins rigide de Ac-L-Pro-L-Pro qui, lorsqu'il est placé en position N-terminale du peptide, réalise des liaisons hydrogène avec les premiers résidus, avec une orientation correcte des groupements carbonyle (isomère majeur, dans un solvant polaire).

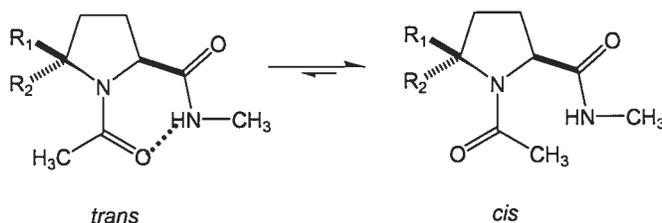
Figure 17. Motif développé par Kemp



Dans le cas du motif de Kemp, les restrictions conformationnelles concernent la liaison amide entre les deux prolines. Le groupement acétamide, par contre, peut occuper les deux conformations *cis* et *trans*, ce qui donne plusieurs isomères en solution, dont le ratio dépend du solvant et de la longueur du peptide attaché.

Le groupe de Lubell a utilisé une autre approche efficace pour contrôler l'isomérisation *cis/trans* de la proline.⁴⁵ En étudiant l'influence des substituants 5 de la proline, le groupe a observé une augmentation de la population d'isomères *cis*. Ceci serait dû principalement à des effets stériques. L'insertion d'un groupement d'une taille précise à cette position serait donc un moyen possible d'obtenir un isomère particulier et ainsi obtenir une orientation préférentielle du carbonyle.

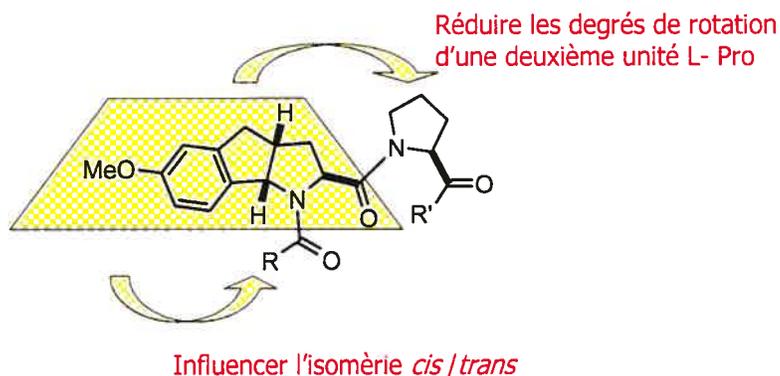
Figure 18. Influence d'un substituant volumineux en position 5



2. Design du motif

Nous avons vu que les dérivés de la L-Proline de type Xaa-L-Pro-L-Pro pouvaient être considérés comme de bons motifs potentiels, si on restreignait les rotations autour des liaisons prolyl-amide. L'utilisation de dérivés tricycliques tels que les indanopyrrolidines pourrait ainsi être une solution intéressante à ce problème d'isomérisation et permettre de construire un motif possédant une géométrie correcte pour induire une conformation hélicale. Ces molécules tricycliques, par des contraintes stériques et/ou stéréoélectroniques, pourraient influencer l'isomérisation *cis/trans* au niveau de la liaison amide mais aussi favoriser la bonne orientation de la seconde proline en réduisant les degrés de rotation possibles.

Figure 19. Design du motif indanopyrrolidine

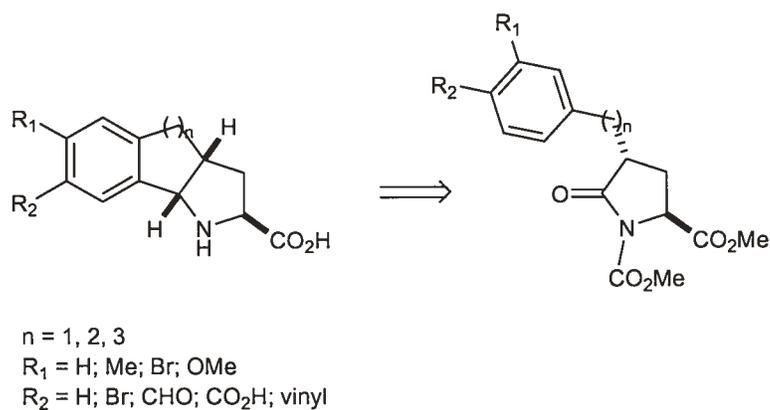


3. Synthèse

3.1. Synthèse du motif indanopyrrolidine

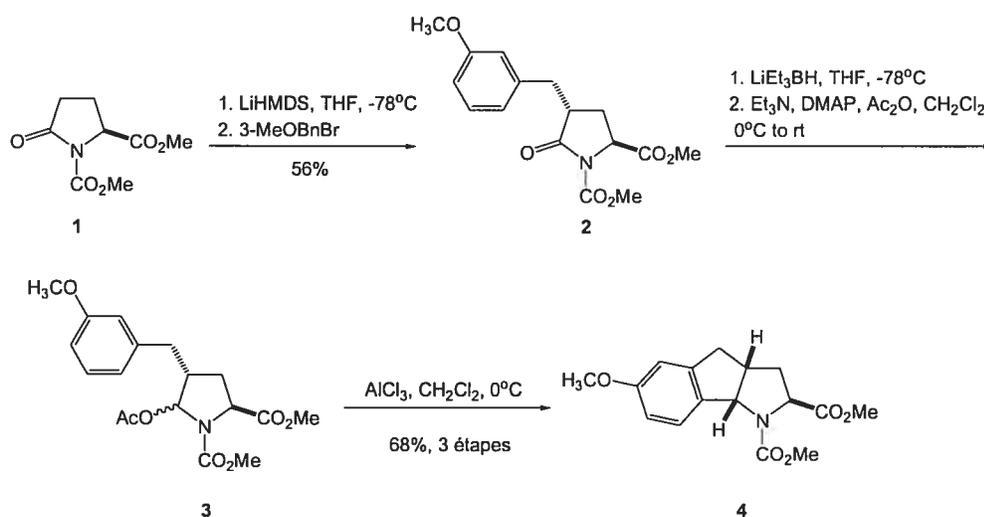
Dans le groupe du professeur Hanessian a été développée la synthèse d'indanopyrrolidines par une réaction de Friedel-Crafts de type N-acyliminium à partir d'un précurseur cationique dérivé de l'acide L-pyroglyutamique.⁴⁶

Figure 20. Formation d'indanopyrrolidines par réaction de Friedel-Crafts N-acyliminium



Pour construire le motif qui sera ensuite étudié comme stabilisateur d'hélice, nous avons choisi de synthétiser par cette méthode le dérivé tricyclique présentant cinq carbones pour le cycle central (analogue le plus rigide) et possédant un méthoxy comme substituant aromatique (facilite la réaction de cyclisation en enrichissant le cycle aromatique en électrons). Un groupement acétyle sera utilisé pour imiter la séquence Ac-L-Pro-L-Pro. La synthèse du dérivé tricyclique (que l'on appellera L-TcaP, pour « tricyclic constrained analogue of L-Proline ») est décrite dans le schéma ci-dessous.

Schéma 1. Synthèse du motif L-TcaP



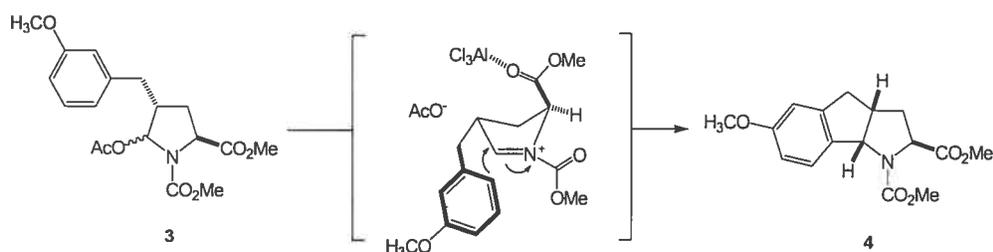
L'alkylation de l'énolate dérivé du N-méthoxycarbonyl-L-pyrroglutamate **1**⁴⁷ avec le bromure de 3-méthoxybenzyle donne le dérivé benzyle **2**, avec l'isomère *trans* comme produit majoritaire.⁴⁸ Ceci est dû principalement au fait que le groupement ester méthylique se place en position pseudoaxiale et gêne l'approche de l'électrophile par la face supérieure du cycle.

La réduction du carbonyl de la lactame avec le Super-Hydrure, suivie par l'acétylation permet d'obtenir l'hémiaminal acétylé **3**, précurseur de la réaction de cyclisation. Celle-ci est effectuée par traitement de **3** avec AlCl_3 dans le dichlorométhane pour donner le produit tricyclique **4** avec 68% de rendement pour 3 étapes. Comme attendu, le seul produit formé est le tricycle avec la jonction *cis*. Différents groupements protecteurs pour l'amine, différents

substituants de l'hémiacétal et différents acides de Lewis ont été essayés précédemment par un autre chercheur du groupe mais ces conditions ont été prouvées être les plus efficaces.⁴⁶

La diffraction aux rayons X de cristaux du dérivé non-substitué au niveau du cycle aromatique a montré que la molécule tricyclique adoptait une forme en L.⁴⁶

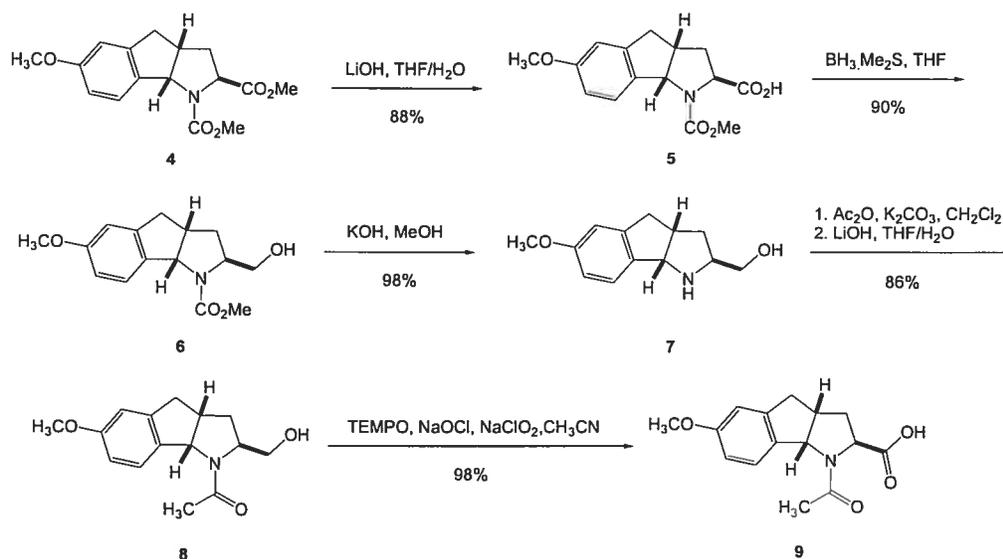
Figure 21. Mécanisme de la cyclisation



Il est intéressant de noter que le spectre RMN du composé **4** montre la présence de deux rotamères au niveau du carbamate, avec un ratio d'environ 1:1 (ratio qui peut s'expliquer par la barrière rotationnelle d'énergie plus faible que celle d'un amide correspondant).⁴⁴ A partir de cette étape et jusqu'à la fin de la synthèse, on observera cette isomérisation rotationnelle dans les spectres RMN des composés (processus lent à l'échelle de temps de la RMN).

Le remplacement du groupement carbamate par l'acétyle nécessite de passer par la réduction de l'ester en alcool, puisque la réaction de déprotection du méthylcarbamate par KOH / méthanol s'est montrée peu reproductible. La séquence de réaction est décrite dans le schéma suivant.

Schéma 2. Acétylation de L-TcaP

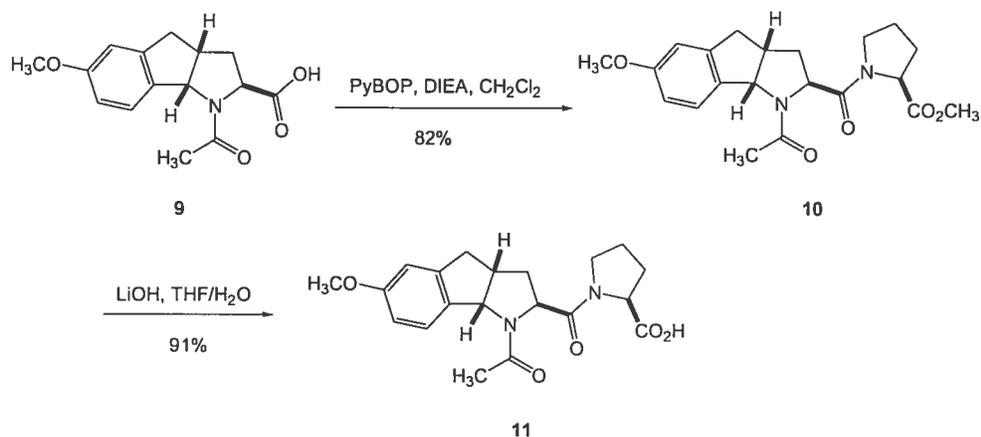


La saponification de l'ester **4**, suivie de la réduction de l'acide **5** obtenu par le complexe borane – sulfure de diméthyle donne l'alcool **6**. Celui-ci peut alors être déprotégé facilement en conditions basiques, grâce à l'assistance anchimérique intramoléculaire du groupement hydroxyle pour donner l'amin-alcool **7**. La N-acétylation est réalisée à 0°C dans le dichlorométhane avec du carbonate de potassium. Cette réaction est parfois accompagnée de O-acétylation, ce qui nécessite l'hydrolyse de l'acétate non-désiré par l'hydroxyde de lithium. Après purification, le dérivé N-acétyle **8** est obtenu avec 86% de rendement. L'oxydation de l'alcool à l'aide de NaClO₂, d'hypochlorite de sodium et de TEMPO⁴⁹ permet d'obtenir l'acide Ac-L-Tcap **9** avec un rendement presque quantitatif.

3.2. Synthèse du motif et des dérivés peptidiques

Pour compléter la synthèse du motif,⁵⁰ le dérivé tricyclique est couplé à la L-proline, afin d'obtenir un analogue rigide de Ac-L-Pro-L-Pro. Pour ce faire, l'acide **9** est couplé à l'ester méthylique de la L-proline en utilisant PyBOP et la diisopropyléthylamine dans le dichlorométhane pour donner le composé **10**. Le traitement de celui-ci par l'hydroxyde de lithium dans un mélange eau/THF permet d'obtenir finalement le motif **11**.

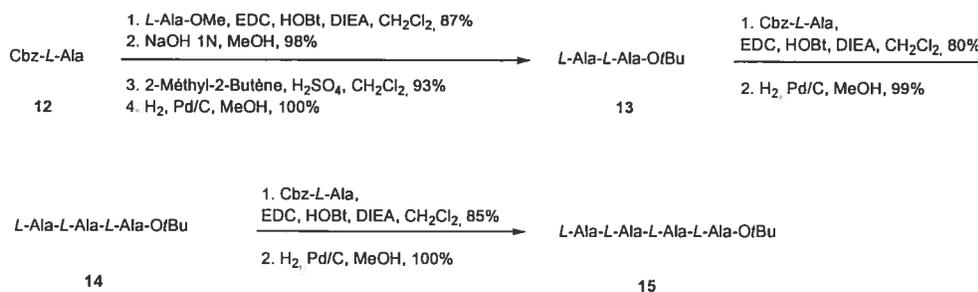
Schéma 3. Synthèse du motif indanopyrrolidine



Nous avons décidé de vérifier la capacité du motif à induire une conformation hélicale sur des oligopeptides composés uniquement de résidus L-alanine, de longueur allant de 1 à 4 unités. Le choix de l'alanine est basé principalement sur le fait que l'alanine est connue pour être présente en grande quantité dans les hélices α de protéines naturelles, même si la propension intrinsèque de L-Ala à la stabilisation d'hélices demeure controversée.⁹ D'autre part, les homopeptides de l'alanine offrent l'avantage de donner des spectres RMN plus facilement interprétables.

Les différents oligopeptides sont préparés en solution en utilisant EDC et HOBt comme agents de couplage peptidique, et les groupements N-benzyloxycarbonyl (Cbz) et *tert*-butyl ester (OtBu) comme groupes protecteurs orthogonaux.

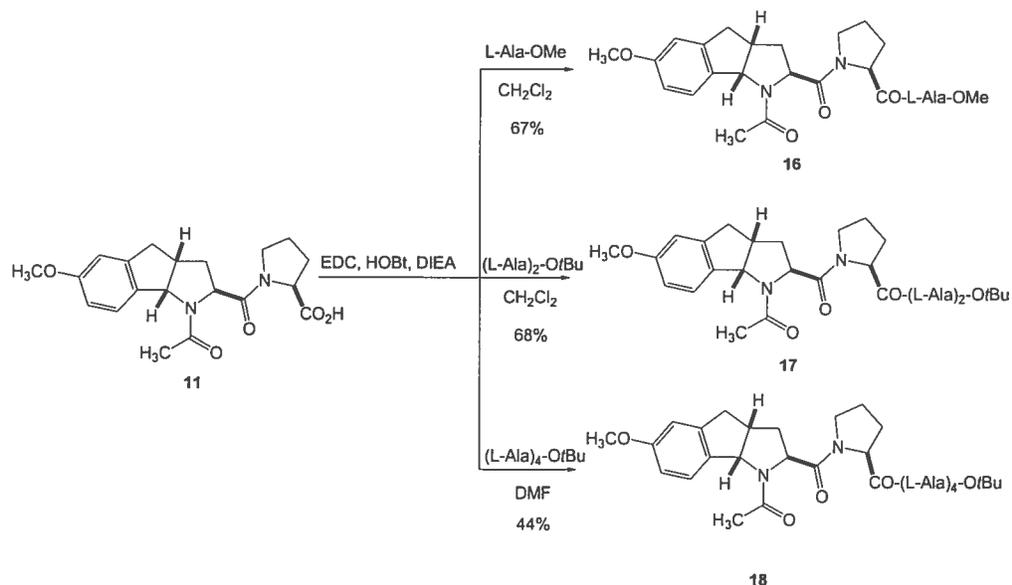
Schéma 4. Synthèse des oligopeptides



En pratique, Cbz-L-Ala est couplé à l'ester méthylique de la L-alanine (tous deux disponibles commercialement) en utilisant EDC et HOBt comme agents de couplage avec un rendement de 87%. L'hydrolyse de l'ester avec de l'hydroxyde de sodium, puis la transformation en ester *tert*-butylique en présence d'isobutène et d'acide sulfurique donne le dipeptide complètement protégé. L'hydrogénation du N-benzyloxycarbonyl permet d'obtenir le composé **13** avec un très bon rendement global. Le dipeptide est soumis à la même séquence couplage-hydrogèno-lyse pour donner le tripeptide (L-Ala)₃-Ot-Bu **14**. La même séquence de deux étapes permet d'atteindre le tétrapeptide (L-Ala)₄-Ot-Bu **15**.

Ces oligomères de la L-alanine ont ensuite été couplés au motif Ac-L-TcaP-L-Pro au niveau de leur partie N-terminale. Le premier dérivé à être préparé est le peptide Ac-L-TcaP-L-Pro-L-Ala-OMe **16** ne contenant qu'un seul résidu alanine. Les mêmes conditions de couplage que celles décrites précédemment ont été utilisées (EDC, HOBt) pour donner le composé **16** avec un rendement de 67%. Le dipeptide Ac-L-TcaP-L-Pro-(L-Ala)₂-Ot-Bu **17**, avec deux résidus alanine est préparé dans des conditions identiques à partir du motif Ac-L-TcaP-L-Pro avec un rendement de 68%. Dans le cas du tétrapeptide Ac-L-TcaP-L-Pro-(L-Ala)₄-Ot-Bu **18**, cette méthode de couplage a permis d'obtenir le composé désiré avec un rendement modeste de 44%.

Schéma 5. Couplage du motif indanopyrrolidine



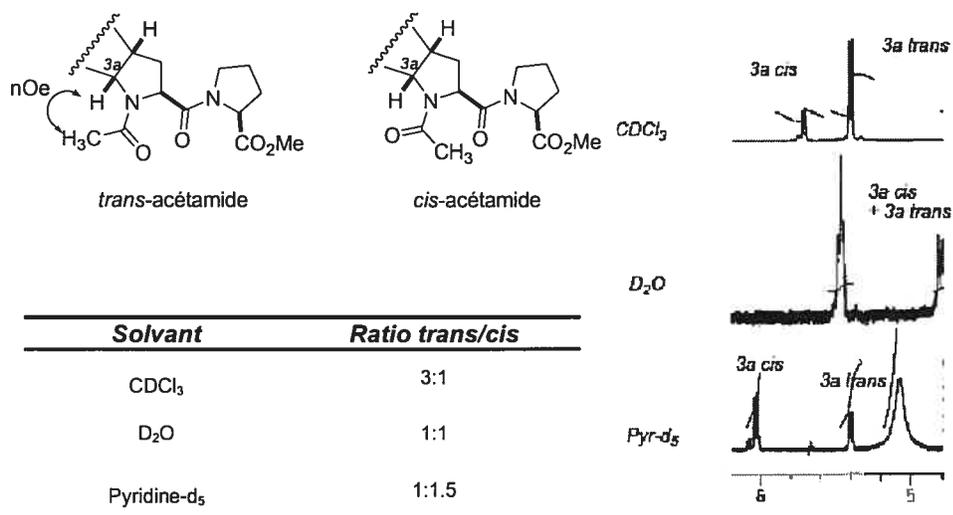
4. Etudes conformationnelles en solution

4.1. Etude du motif seul

L'étude conformationnelle du motif est basée principalement sur des observations RMN de l'ester **10** et de l'acide **11**.

Le spectre ¹H de l'ester **10** dans le CDCl₃ montre un ratio de 3:1 de deux conformères majeurs. Ce ratio est déterminé à l'aide de la paire de doublets du signal du proton H_{3a} à 5.4 et 5.7 ppm, correspondant respectivement aux isomères *trans* et *cis* de l'acétamide. Ce ratio tombe à 1:1 dans le D₂O et s'inverse à 1:1.5 dans la pyridine-d₅. L'attribution du doublet situé vers les hauts champs à l'isomère *trans*-acétamide et celui situé vers les bas champs à l'isomère *cis*-acétamide a été déterminée par des expériences NOESY dans le CDCl₃ et la pyridine-d₅. En effet, on peut observer une corrélation nOe entre le proton H_{3a} et le méthyle de l'acétamide uniquement dans le cas de l'isomère *trans*.

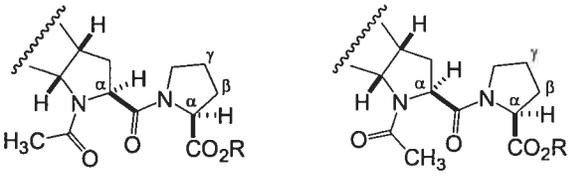
Tableau III. Isomérisie *cis/trans* pour le motif ester



Ces données sont en accord avec les exemples de la littérature montrant que l'isomère *trans*-acétamide est habituellement légèrement prédominant dans des petits peptides contenant de la proline et que la proportion d'isomère *cis* augmente avec la polarité du solvant.⁵¹ Le fait que l'isomère *trans*-acétamide est l'isomère majoritaire (dans les solvants non-polaires) alors que la proline est substituée en position 5 pourrait s'expliquer par la répulsion entre le cycle aromatique riche en électrons et les doublets libres du carbonyle de l'acétamide.⁵²

Pour établir la géométrie de la liaison amide entre le L-TcaP et la proline pour l'ester, il est possible d'utiliser les déplacements chimiques en RMN ¹³C. En effet, les résonances des carbones β et γ de la proline sont connues pour être fortement influencées par l'effet de proximité du carbonyle de la liaison amide.⁵³ Les déplacements chimiques observés pour les carbones β et γ de l'unité proline du motif dans le CDCl₃ montrent que la liaison prolyl-amide est préférentiellement *trans*, et cela peu importe la géométrie de l'acétamide sur l'unité L-TcaP (voir Tableau IV). Ces résultats sont également observés dans la pyridine-d₅. L'absence de nOe observable entre les deux protons H_α de L-Tcap et de L-Pro dans le CDCl₃ confirme l'orientation majoritairement *trans* de la liaison amide interne.

Tableau IV. Déplacements chimiques ^{13}C des carbones β et γ



Composé	C_β	C_γ
R= Me, 10	29.2 ppm (<i>trans</i> -Ac) ^a 29.0 ppm (<i>cis</i> -Ac) ^a	25.3 ppm (<i>trans</i> -Ac) ^a 25.4 ppm (<i>cis</i> -Ac) ^a
R= H, 11	28.2 ppm (<i>trans</i> -Ac) ^a 28.7 ppm (<i>cis</i> -Ac) ^a	25.4 ppm (<i>trans</i> -Ac) ^a

Dans le cas du motif-acide **11**, les expériences RMN 1D et 2D dans le CDCl_3 montrent un ratio *trans/cis* de 7:1 pour l'acétamide. L'augmentation du ratio entre l'ester et l'acide pourrait s'expliquer par le fait qu'il serait possible qu'une liaison hydrogène puisse se former entre l'acide et le carbonyle de l'acétamide, stabilisant ainsi légèrement la conformation *trans*-acétamide. Ceci pourrait être confirmé par le fait que ce ratio est dépendant de la polarité du solvant, puisqu'il diminue à 1:1 dans la pyridine- d_5 .

On peut donc voir que le motif seul possède déjà une conformation préférentielle dépendamment du solvant utilisé. Le conformère majeur présente ainsi au départ une géométrie correcte pour la stabilisation d'hélice.

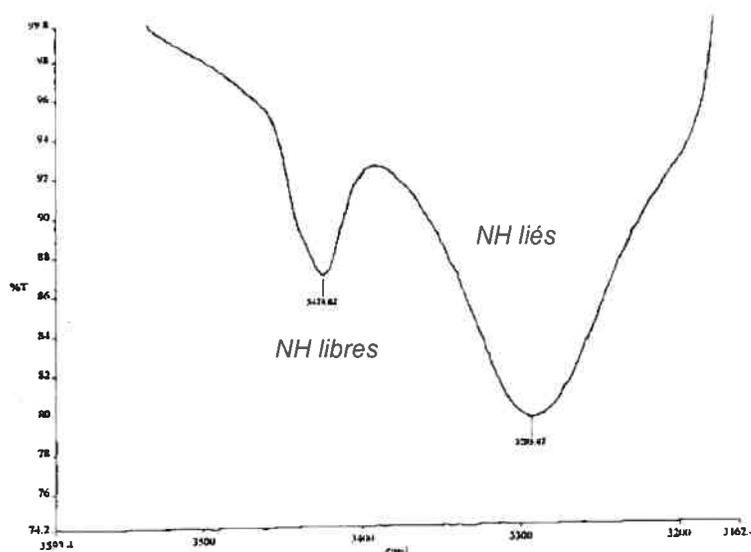
4.2. Etude de Ac-L-TcaP-L-Pro-L-Ala-OMe **16**

L'étude conformationnelle du dérivé peptidique **16** contenant un seul résidu alanine a été réalisée à partir de données RMN et FTIR.

Le spectre infrarouge du composé en solution diluée (1mM, CDCl_3) montre deux bandes d'élongation NH amide à 3420 cm^{-1} et 3290 cm^{-1} . La première bande, correspondant aux NHs libres, est minoritaire comparativement à la

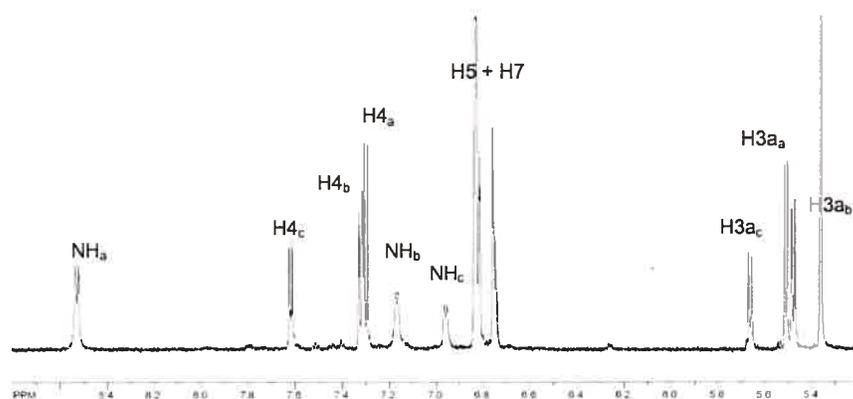
seconde bande, correspondant aux NHs liés par liaison H. On peut donc imaginer une population majoritaire de conformères possédant une liaison hydrogène intramoléculaire.

Figure 22. Région NH amide du spectre FTIR du composé **16**



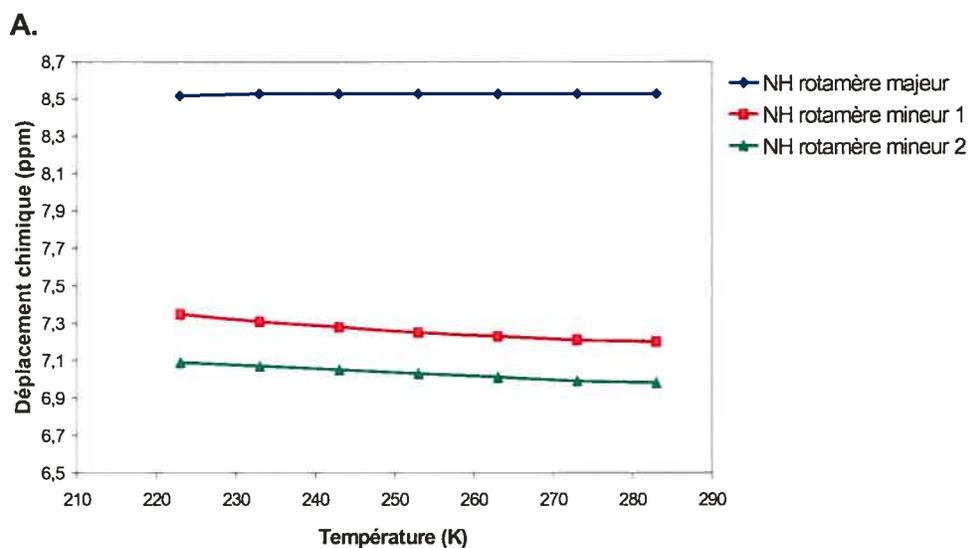
Les expériences RMN ont été réalisées en solution dans le CD_2Cl_2 (les spectres sont mieux résolus dans ce solvant) à une concentration de 5.8 mM. On peut observer 3 conformères dans un ratio de 1 : 1.6 : 1.4, déterminé à partir des doublets correspondants au proton H_{3a} à 5.66, 5.50 et 5.47 ppm. Les expériences NOESY dans ce même solvant permettent d'attribuer ces deux derniers signaux à l'isomère *trans*-acétamide. Le fait qu'on observe un second isomère *trans*-acétamide pour le dérivé **16** s'explique par l'augmentation de la population de cet isomère après le couplage de l'alanine par rapport à l'ester **10**, où il était déjà présent en quantité minoritaire. Cette augmentation de population peut être reliée à la stabilisation possible par une liaison H.

Figure 23. Région 5-9 ppm du spectre RMN ^1H du composé 16

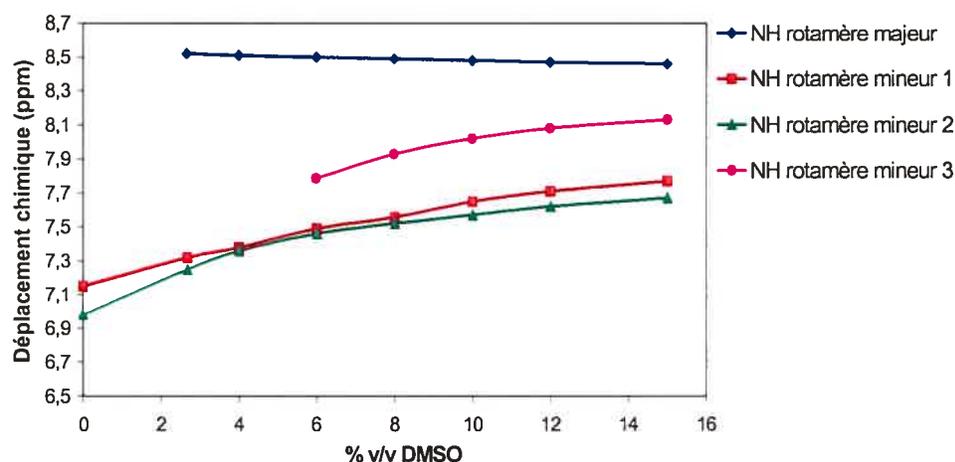


Pour confirmer la présence de liaison hydrogène, les expériences de variation de température dans l'intervalle 210-290 K et de titrage au DMSO (0-15% v/v) ont été effectuées dans le CD_2Cl_2 . Ces expériences montrent de manière évidente que le NH correspondant à l'isomère majoritaire est lié par liaison hydrogène.

Figure 24. Expériences de variation de température (A) et de titrage au DMSO (B) pour le composé 16



B.



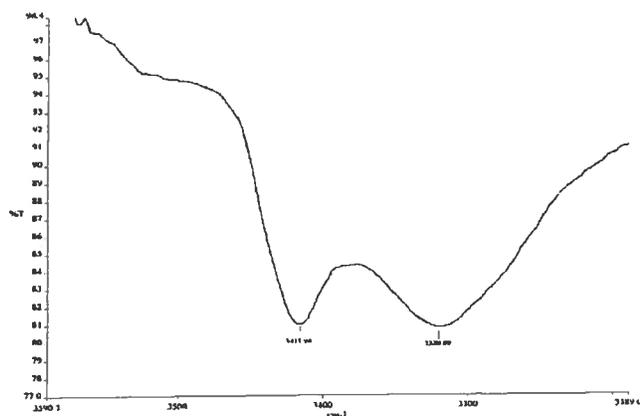
La liaison hydrogène impliquerait le NH de l'alanine avec le carbonyle de l'acétamide pour former une boucle à 10 atomes, c'est-à-dire un tour de type β . Il est peu probable que cette liaison hydrogène soit celle d'un tour γ , puisque cette conformation n'a que peu ou pas d'avantage enthalpique par rapport à une conformation sans liaison H.⁵⁴

4.3. Etude de *Ac-L-TcaP-L-Pro-L-Ala₂-OtBu 17*

L'étude conformationnelle du dérivé peptidique **17** contenant deux résidus alanine a été réalisée à partir de données RMN, CD et FTIR.

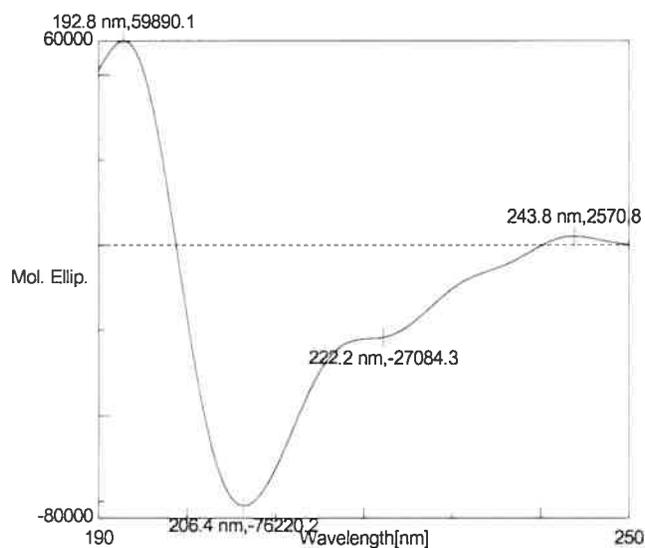
Le spectre infrarouge du composé en solution diluée (1mM, CDCl_3) montre deux bandes d'élongation NH amide à 3418 cm^{-1} et 3320 cm^{-1} . De façon identique au composé avec une seule unité alanine, la bande correspondant aux NH libres est minoritaire comparativement à la bande correspondant aux NH liés par liaison H. On peut donc conclure également qu'une population de conformères possédant au moins une liaison hydrogène intramoléculaire est majoritaire.

Figure 25. Région NH amide du spectre FTIR du composé 17



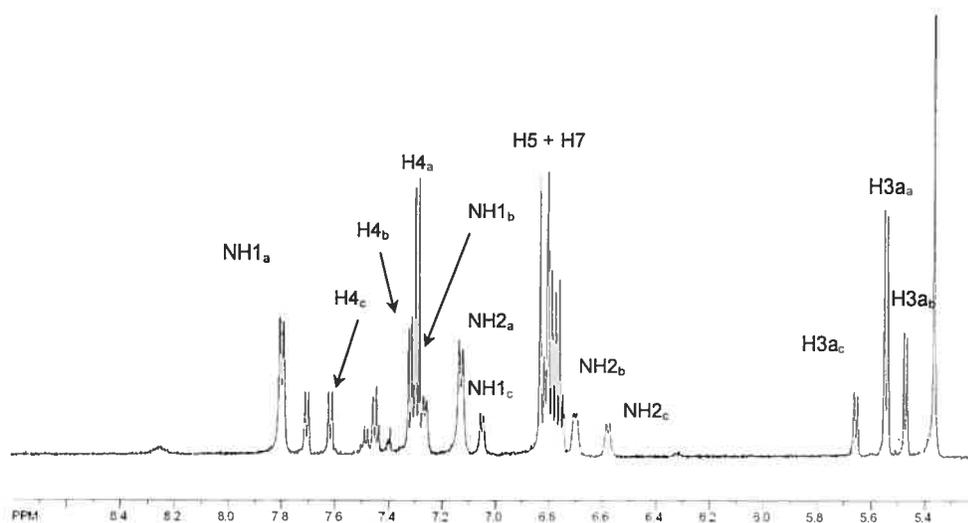
Le spectre de dichroïsme circulaire du composé 17 en solution dans le méthanol (0.19 mM) a permis d'obtenir une idée un peu plus précise de la conformation majoritaire. En effet, le spectre CD obtenu est très semblable à celui d'une hélice 3_{10} idéale (minimum négatifs à 222 et 206 nm, ratio $[\theta]_{222}/[\theta]_{208} = 0.35$), ce qui implique la présence de deux liaisons hydrogène et une conformation *trans* obligatoire pour l'acétamide.

Figure 26. Spectre CD du composé 17 (MeOH)



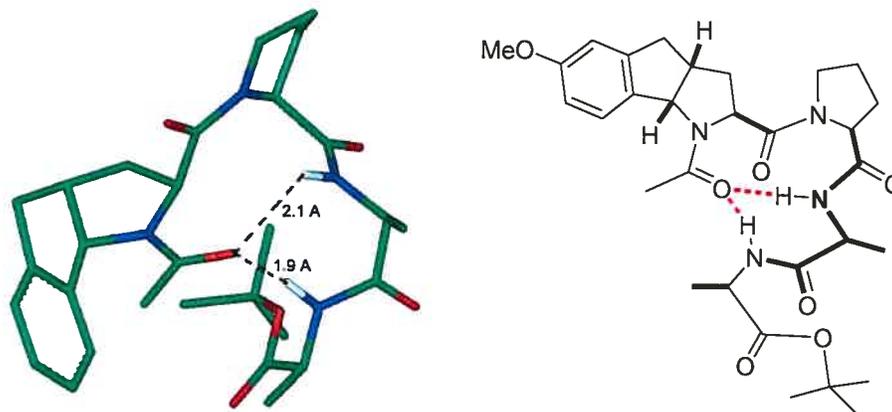
Les expériences RMN ont été réalisées en solution dans le CD_2Cl_2 à une concentration de 8.9 mM. On peut observer les 3 mêmes conformères dans un ratio de 1:3.4:1.8, déterminé comme précédemment à partir des doublets correspondants au proton H_{3a} à 5.65, 5.54 et 5.47 ppm. Les expériences de corrélation COSY et NOESY dans ce même solvant permettent d'attribuer le signal majoritaire à l'isomère *trans*-acétamide.

Figure 27. Région 5-9 ppm du spectre RMN ^1H du composé 17



Les corrélations nOe collectées ont permis d'obtenir une structure RMN probable de l'isomère majeur par des calculs d'énergie conformationnelle avec contraintes (HyperChem). La structure de plus basse énergie suggère une liaison hydrogène bifide entre les deux NHs des alanines et le carbonyle de l'acétamide.

Figure 28. Structure RMN de plus basse énergie obtenue par modélisation à partir des données NOESY pour le composé **17** (isomère majeur)



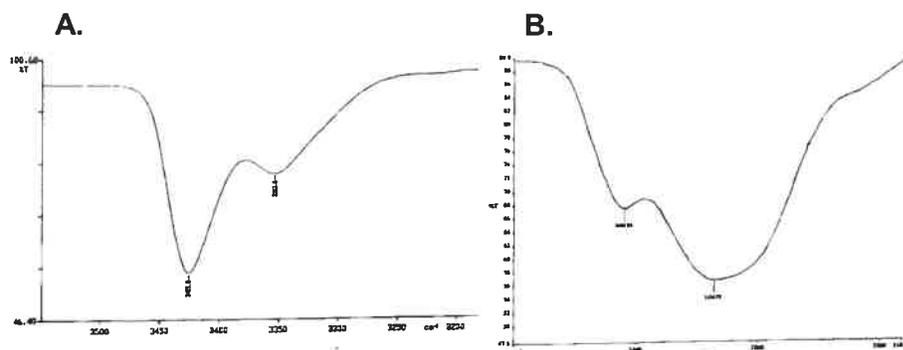
Malheureusement, les expériences de titrage au DMSO et de variation de température n'ont pas pu être utilisées pour confirmer cette structure à cause de signaux se superposant et rendant difficile leur assignation.

4.4. Etude de *Ac-L-TcaP-L-Pro-L-Ala₄-OtBu* **18**

L'étude conformationnelle du dérivé peptidique **18** contenant quatre résidus alanine a été réalisée à partir de données RMN, CD et FTIR.

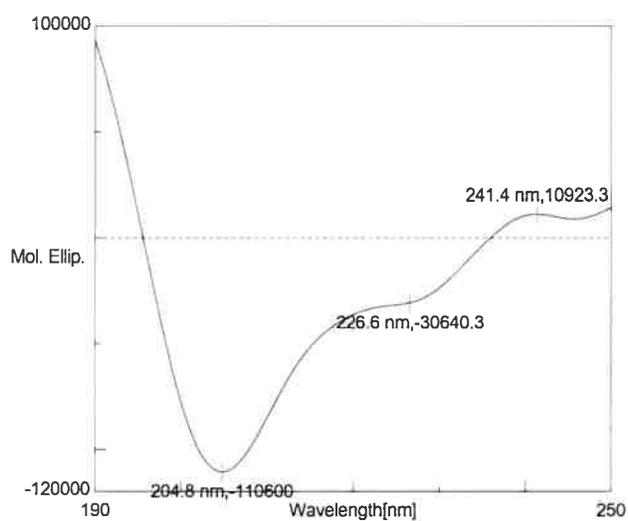
Le spectre infrarouge du composé en solution diluée (1mM, CDCl_3) montre deux bandes d'élongation NH amide à 3420 cm^{-1} et 3350 cm^{-1} . De façon identique aux deux composés précédents, la bande correspondant aux NHs libres est minoritaire comparativement à la bande correspondant aux NHs liés par liaison H. On peut donc conclure également qu'une population de conformères possédant au moins une liaison hydrogène intramoléculaire est majoritaire. En comparaison, le spectre infrarouge du térapeptide sans motif *Cbz-L-Ala₄-OtBu* dans les mêmes conditions montre une bande NH lié minoritaire, probablement due à une structure irrégulière de type tour γ .

Figure 29. Comparaison des régions NH amide des spectres FTIR de Cbz-L-Ala₄-OtBu (A) et du composé **18** (B)



Le spectre de dichroïsme circulaire du composé **18** en solution dans le méthanol (0.14 mM) est très semblable à celui du di-alanine **17** et ressemble donc fortement à une hélice 3_{10} (minimum négatifs à 222 et 206 nm, ratio $[\theta]_{222}/[\theta]_{208} = 0.28$), ce qui implique la présence de liaisons hydrogène et une conformation *trans* pour l'acétamide.

Figure 30. Spectre CD du composé **18** (MeOH)



Les expériences RMN ont été réalisées en solution dans le CD_2Cl_2 à une concentration de 5.6 mM. On peut observer les 3 mêmes conformères que précédemment dans un ratio de 1:8.5:6.5, déterminé à partir des doublets correspondants au proton H_{3a} à 5.66, 5.56 et 5.48 ppm. Les expériences de corrélation COSY et NOESY dans ce même solvant permettent d'attribuer les deux signaux majoritaires à une conformation *trans* pour l'acétamide. Les corrélations nOe (notamment $d_{\text{NN}}(i, i+1)$ et $d_{\alpha\text{N}}(i, i+2)$) permettent en outre de confirmer une structure de type hélice pour le conformère majoritaire dans le CD_2Cl_2 .

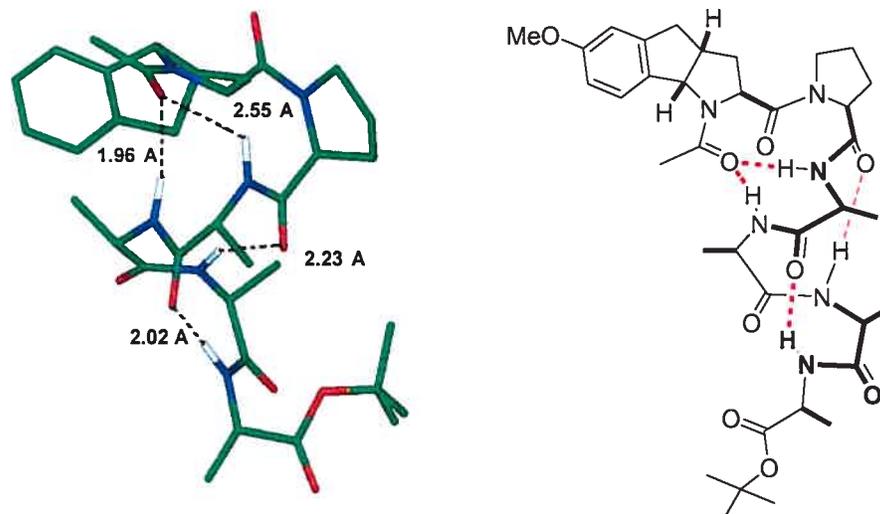
Tableau V. Corrélations nOe caractéristiques observées pour l'isomère majeur du composé **18**

Corrélation	Ala 1	Ala 2	Ala 3	Ala 4
$d_{\text{NN}}(i, i+1)$	████████	████████	████████	
$d_{\alpha\text{N}}(i, i+1)$	████████	████████	████████	
$d_{\alpha\text{N}}(i, i+2)$	███	███	███	███
$d_{\alpha\text{N}}(i, i+3)$	-----	-----	-----	-----

N.B. : l'épaisseur du trait correspond à l'intensité du nOe observé

Les données NOESY collectées ont également permis d'obtenir une structure RMN de l'isomère majeur par la même méthode de calcul d'énergie conformationnelle que pour la di-Alanine. La structure de plus basse énergie suggère la même liaison hydrogène bifide entre les deux NH des deux premières alanines et le carbonyle de l'acétamide. Les NH des alanines suivantes complèteraient le schéma d'une hélice 3_{10} en réalisant des liaisons H avec les carbonyles des alanines précédentes.

Figure 31. Structure RMN de plus basse énergie obtenue par modélisation à partir des données NOESY pour le composé **18** (isomère majeur)



Malheureusement, les expériences de titrage au DMSO et de variation de température n'ont pas pu être utilisées pour confirmer cette structure à cause de signaux se superposant et rendant difficile leur assignation.

Pour la même raison, les constantes de couplage $^3J_{\text{NHCH}\alpha}$ n'ont pu être mesurées que pour les NH des deux alanines les plus proches du motif. Toutefois, celles-ci sont en accord avec une structure de type hélicale puisque elles ont une valeur inférieure à 6 Hz (NH_{Ala1} : 5.4 Hz, NH_{Ala2} : 4.5 Hz).

5. Conclusions et perspectives

Nous avons décrit dans ce chapitre la synthèse d'un nouveau motif analogue contraint de Ac-L-Pro-L-Pro, qui stabilise la formation d'hélices 3_{10} chez des peptides de type homoalanine de quatre résidus, dans des solvants organiques.

Le motif Ac-L-TcaP-L-Pro présente plusieurs conformations dues à la rotation autour de la liaison acétamide et de la liaison Pro-Pro. La conformation trans-acétamide est la conformation préférentielle dans les solvants non-polaires

probablement du fait des effets stéréoelectroniques du cycle aromatique. La structure RMN de l'isomère majeur du composé motif-tétraalanine, confirmée par les données obtenues par FTIR et CD, montre une conformation de type hélice 3_{10} avec une probable liaison hydrogène bifide entre les NHs des deux premières unités alanine et le carbonyle de l'acétamide.

Il serait intéressant de vérifier si cette conformation est conservée quelles que soient la longueur du peptide et la nature des acides aminés qui le composent, ce qui prouverait la capacité intrinsèque du motif à induire une hélice et permettrait de le comparer véritablement aux autres motifs existants dans la littérature. On peut cependant déjà remarquer que ce motif, contrairement à celui de Kemp ou de Bartlett qui sont plus rigides, ne possède pas l'orientation et la géométrie adéquate pour stabiliser une hélice α , probablement à cause des degrés de liberté existants autour des liaisons inter-Proline et acétamide.

Il serait aussi intéressant d'utiliser le motif comme indicateur de la propension d'un acide aminé à former des hélices, puisqu'il est possible de déterminer le ratio de conformères par RMN. Il suffirait ainsi de coupler le motif à des homopeptides et de vérifier comment les populations de conformères varient.

Enfin, il serait intéressant de vérifier si le motif permet de stabiliser des hélices en milieu aqueux, ce qui rendrait possible son utilisation pour des peptides d'intérêt biologique. En effet, les études réalisées sur ce motif dans les solvants organiques donnent un indice sur le comportement de ces peptides dans un environnement plutôt non polaire tel que certains sites actifs hydrophobes, mais ne correspondent pas forcément à la majorité des environnements biologiques, plutôt aqueux. Il est donc utile de réaliser les mêmes études conformationnelles en solution aqueuse ; pour cela, il serait nécessaire de rendre le motif peptidique soluble dans l'eau, par exemple en utilisant des acides aminés hydrophiles ou en déprotégeant l'acide terminal.

Chapitre 2
Indolizidinones et stabilisation d'hélices 3_{10}

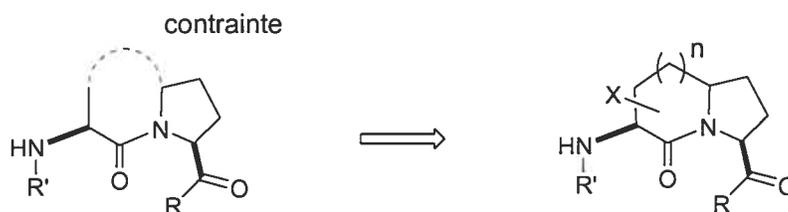
On a vu dans le chapitre précédent l'utilisation d'un motif basé sur un analogue rigide de la proline pour stabiliser une conformation de type hélice 3_{10} d'un peptide de 4 résidus. Pour éviter les problèmes d'isomérisation rotationnelle autour de la liaison prolyl-amide et tout en conservant les propriétés géométriques particulières de la L-proline, nous avons décidé d'utiliser un motif indolizidinone, soit un analogue bicyclique de la proline, comme nucléateur. La synthèse et les études conformationnelles de ce motif couplé à des peptides de différentes longueurs, sont décrites dans ce chapitre.

1. Design du motif

Le motif utilisé dans le chapitre précédent, bien qu'il soit une version contrainte de Ac-L-Pro-L-Pro et qu'il soit capable de stabiliser des peptides dans une conformation d'hélice 3_{10} , n'est cependant pas assez rigide : les degrés de liberté autour des liaisons amide entraînent une isomérisation rotationnelle qui est dépendante du solvant utilisé. Pour qu'un motif soit véritablement performant, il faudrait que les angles de rotation soient rigidifiés au maximum pour fixer une conformation possédant l'orientation adéquate des groupements fonctionnels.

Les motifs de type azabicycloalcanes, et notamment les indolizidinones, sont connus dans la littérature pour être de bons analogues rigides du dipeptide L-Ala-L-Pro.⁵⁵ De ce fait, ces lactames bicycliques ont été souvent utilisées comme mimétiques de tour β ,^{55,56} en remplacement des résidus $i+1$ et $i+2$.

Figure 32. Azabicycloalcanes : analogues rigides de L-Ala-L-Pro



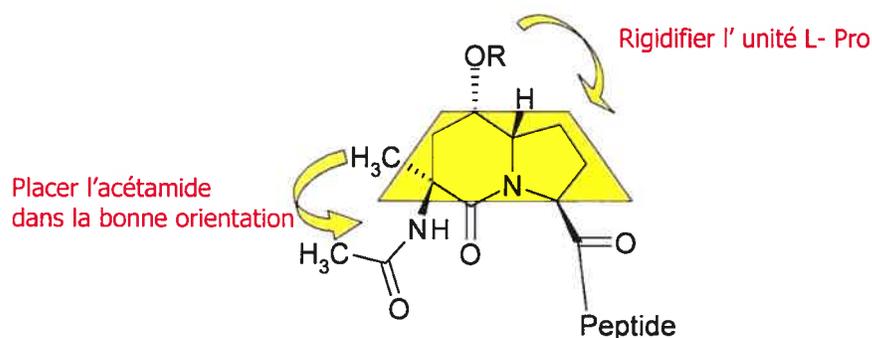
En choisissant un de ces analogues, il serait possible de développer un motif bicyclique assez rigide pour induire le premier tour β d'une hélice 3_{10} et placer correctement dans l'espace les groupements nécessaires à la propagation de cette hélice.

L'unité 1-aza-2-oxobicyclo[4.3.0]nonane (ou indolizidinone) correspond à une δ -lactame bicyclique [5,6]. Ce motif peut être considéré comme un analogue rigide de L-Ala-L-Pro où la liaison prolyl-amide serait fixée à l'isomère *trans*.

En modifiant cette unité de telle sorte que l'orientation du groupement amine terminal soit également fixée, on devrait obtenir un motif assez rigide pour être couplé en position N-terminale d'un peptide et stabiliser une hélice α ou 3_{10} . Ainsi, en substituant la position C-3 avec un méthyle, il est possible de réduire encore les degrés de liberté de l'amine qui se trouve alors sur un carbone quaternaire, en position pseudo-axiale. Le motif devient un analogue rigide de Aib-L-Pro (Aib : acide aminoisobutyrique).

De même que pour le motif décrit dans le chapitre 1, un groupement acétamide sera placé en position N-terminale pour simuler le premier acide aminé. Le carbonyle de l'acétamide pourrait alors fonctionner comme accepteur de liaison hydrogène.

Figure 33. Motif bicyclique

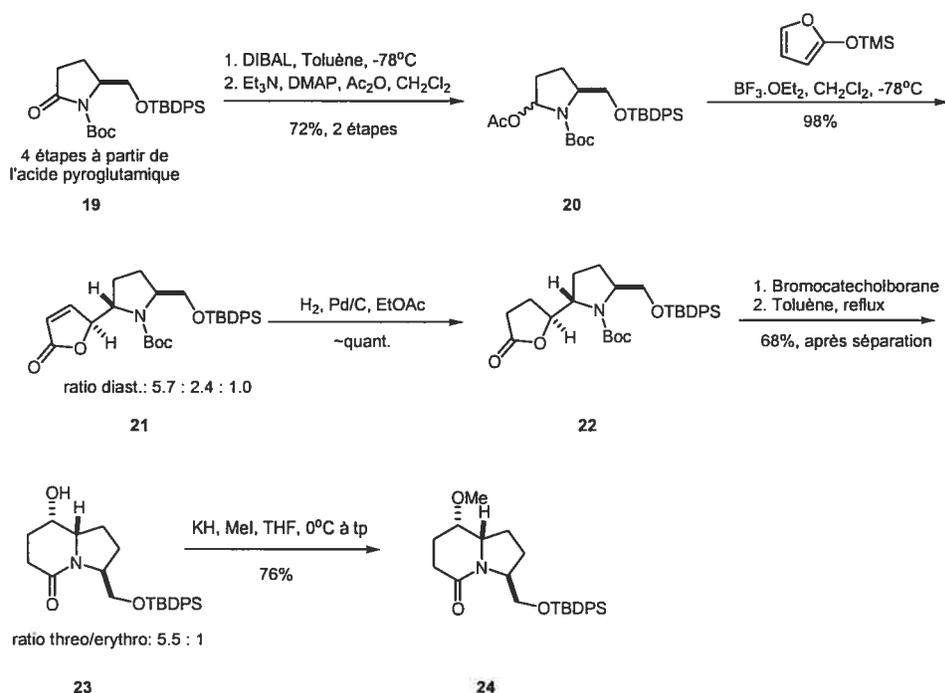


2. Synthèse

2.1. Synthèse du précurseur indolizidinone

La synthèse des indolizidinones et leur utilisation comme molécules biologiquement actives ont été rapportées précédemment par le groupe du Professeur Hanessian.⁵⁷ Ces molécules peuvent être obtenues à partir de l'acide pyroglutamique via une réaction de condensation de type N-acyliminium. Le précurseur du motif a été préparé par la même voie par un collaborateur du groupe, Eric Therrien.

Schéma 6. Synthèse du précurseur indolizidinone



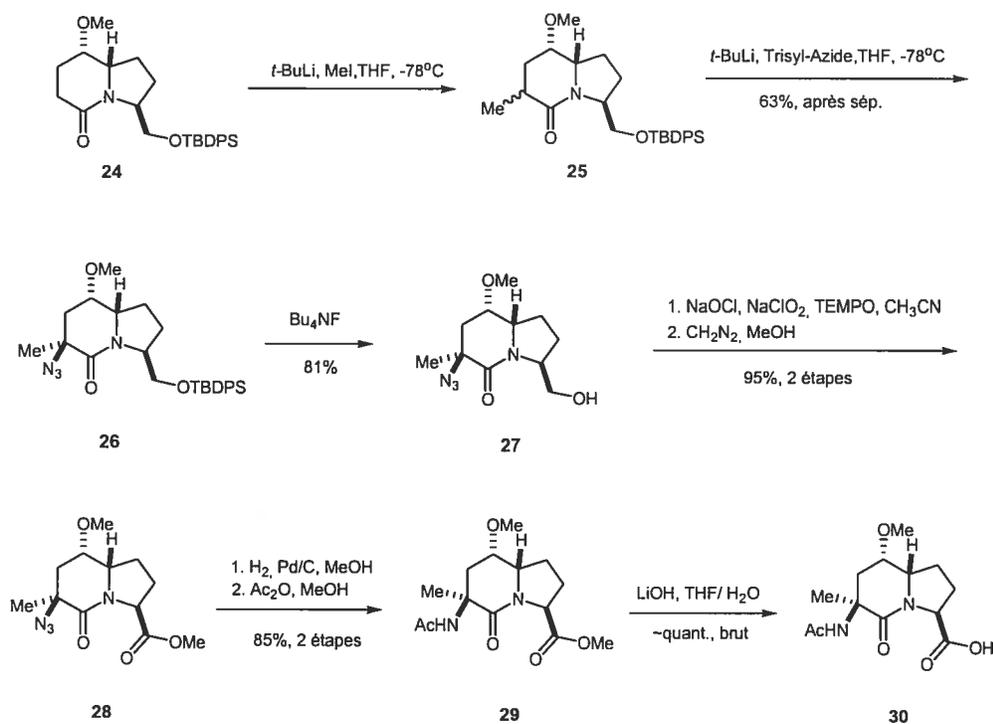
Le dérivé protégé **19** est obtenu à partir de l'acide L-pyroglutamique en 4 étapes triviales. La réduction du carbonyle de la lactame avec l'hydrure de diisobutylaluminium, suivie par l'acétylation permet d'obtenir l'hémiacétal acétylé **20**, précurseur de la réaction de condensation. Celle-ci est effectuée par traitement de **20** avec le furanne-OTMS en présence d'acide de Lewis dans le dichlorométhane pour donner un mélange de diastéréoisomères **21** avec 98% de

rendement. Le mélange est hydrogéné pour réduire l'oléfine et, après déprotection du groupement Boc, chauffé à reflux dans le toluène pour effectuer la cyclisation. La lactame bicyclique **23** est obtenue avec 68% de rendement après séparation des diastéréoisomères. L'alcool est alors protégé sous forme d'éther méthylique pour donner le précurseur **24**.

2.2. Synthèse du motif et des dérivés peptidiques

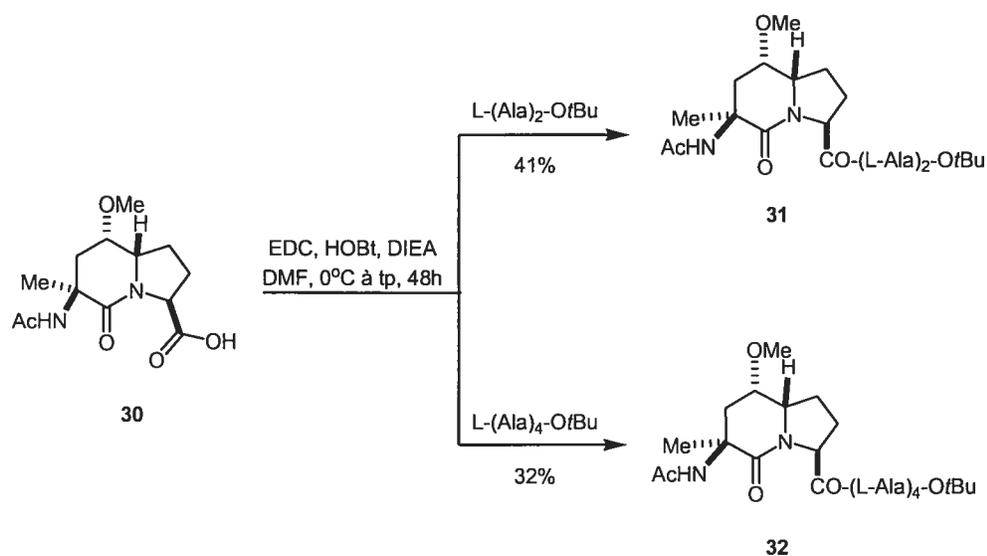
Pour compléter la synthèse du motif, le précurseur **24** est alkylé en position C-3 en utilisant le *t*-BuLi pour former l'énolate intermédiaire.⁵⁰ Le mélange de diastéréoisomères est utilisé tel quel dans les mêmes conditions avec l'azidure de trisyle pour donner l'azide tertiaire **26** comme isomère majeur. Il semblerait que l'effet stéréoelectronique du groupement méthoxy en position C-8 influencerait l'approche de l'électrophile.⁵⁸

Schéma 7. Synthèse du motif indolizidinone⁵⁰



La déprotection de l'alcool suivie de son oxydation en acide puis transformation en ester méthylique donne le composé **28**. L'azide est ensuite réduit, puis l'amine obtenue est acétylée pour donner le motif protégé **29**. L'hydrolyse de l'ester méthylique par l'hydroxyde de lithium permet d'obtenir finalement le motif **30** (que l'on nommera Ac-L-BcaP, pour « Acetamide Bicyclic constrained analogue of L-Proline »), sur lequel seront ensuite greffés les différents peptides.

Schéma 8. Couplage du motif indolizidinone



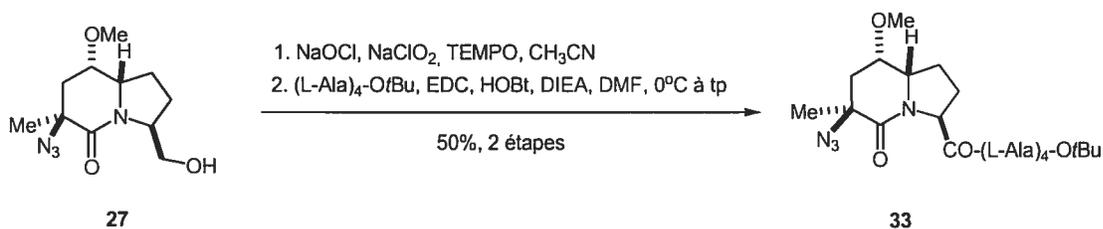
Pour les mêmes raisons que celles exposées dans le chapitre 1, nous avons décidé de vérifier la capacité du motif à induire une conformation hélicale sur des oligopeptides composés uniquement de résidus L-Alanine, de longueur allant de 2 à 4 unités. Les différents oligopeptides sont préparés selon la même méthode, en solution (EDC, HOBT).

Ces oligomères de la L-alanine ont ensuite été couplés au motif Ac-L-BcaP au niveau de leur partie N-terminale. Le premier dérivé à être préparé est le peptide Ac-L-BcaP-(L-Ala)₂-Ot-Bu avec deux résidus alanine dans des conditions de couplage peptidique identiques à celles décrites précédemment. Le peptide **31** est obtenu avec un rendement moyen de 41% (rendement après isolation). Le

second dérivé synthétisé est le térapeptide Ac-L-BcaP-(L-Ala)₄-Ot-Bu **32**. La même méthode de couplage a permis d'obtenir ce composé avec un rendement modeste de 32%.

Nous avons également décidé de préparer le dérivé tétra-alanine couplé au motif sans acétamide pour vérifier l'influence de celui-ci sur une éventuelle structure hélicale. Pour cela l'alcool **27** est oxydé en acide puis attaché à la tétra-alanine suivant les mêmes conditions de couplage. Le dérivé azide **33** est obtenu avec un rendement de 50%.

Schéma 9. Synthèse du dérivé azide **33**



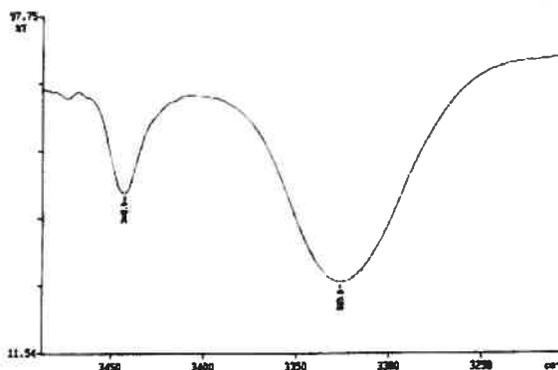
3. Etudes conformationnelles

3.1. Etude de Ac-L-BcaP-(L-Ala)₂-OtBu **31**

L'étude conformationnelle du dérivé peptidique **31** contenant deux résidus alanine a été réalisée à partir de données RMN, CD et FTIR.

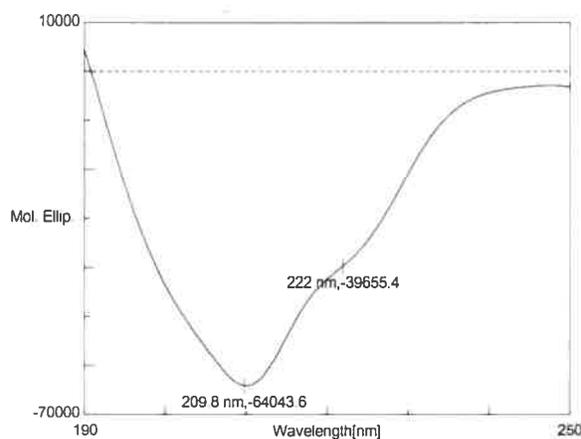
Le spectre infrarouge du composé en solution diluée (1mM, CHCl₃) montre deux bandes d'élongation NH amide à 3440 cm⁻¹ et 3330 cm⁻¹. La première bande, correspondant aux NHs libres, est minoritaire comparativement à la seconde bande, correspondant aux NHs liés par liaison H. Ces résultats permettent de penser que un ou plusieurs des NH présents dans la molécule sont liés par liaison hydrogène de façon intramoléculaire.

Figure 34. Région NH amide du spectre FTIR du composé **31**



Le spectre de dichroïsme circulaire du composé **31** en solution dans le méthanol (0.21 mM) a permis d'obtenir une idée plus précise de la conformation du peptide. En effet, le spectre CD obtenu est semblable à celui d'une hélice 3_{10} (minimum négatifs à 222 et 209 nm, ratio $[\theta]_{222}/[\theta]_{208} = 0.62$). Ceci confirmerait les données obtenues par FTIR, à savoir la présence d'au moins une liaison hydrogène impliquée dans un tour β .

Figure 35. Spectre CD du composé **31**

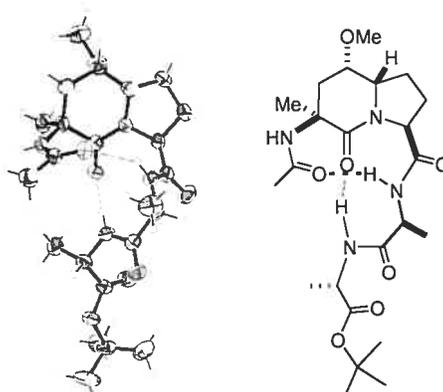


Les spectres RMN du composé **31** ont été réalisés en solution dans le CDCl_3 . Comme prévu et contrairement au motif tricyclique précédent, on

n'observe qu'un seul conformère. Les constantes de couplage $^3J_{\text{NHCH}\alpha}$ ont pu être mesurées pour les NHs des deux alanines, et celles-ci sont en désaccord avec les valeurs habituellement observées pour une structure de type hélicale puisque elles ont une valeur supérieure à 6 Hz (NH_{Ala1} : 8.9 Hz, NH_{Ala2} : 7.4 Hz). Cependant ces valeurs ne permettent pas de conclure sur la nature de la conformation, car il est possible que les angles de rotations des résidus alanine correspondent à une structure légèrement distordue d'une hélice, étant donné que ces résidus sont proches du motif.

La conformation du peptide à l'état solide a permis de confirmer un peu plus l'hypothèse de la structure en hélice 3_{10} du peptide en solution. En effet, il a été possible d'obtenir des cristaux d'assez bonne qualité pour obtenir un spectre de diffraction aux rayons X. Sur la structure correspondante, on peut remarquer la présence de deux liaisons hydrogène intramoléculaires impliquées dans deux tours β consécutifs : le NH de la première alanine avec le carbonyle de l'acétamide et le NH de la seconde alanine avec le carbonyle de la lactame. Il est intéressant de noter que le NH de l'acétamide ne participe à aucune liaison H. Cette conformation en hélice 3_{10} permet d'envisager une structure plus ou moins identique en solution, puisque la formation de cristaux traduit généralement une structure ordonnée au départ. Il est intéressant de noter que l'arrangement des liaisons hydrogène observé est différent de celui du ruban β décrit par Toniolo dans le cas des peptides de type $(\text{L-Pro-Aib})_n$.^{23b}

Figure 36. Représentation Ortep du composé **31**



Les angles de rotation mesurés sur la structure cristalline montrent que l'hélice est légèrement distordue par rapport à une hélice 3_{10} idéale, notamment au niveau de la première unité alanine.

Tableau VI. Angles de torsion du composé 31 à l'état solide

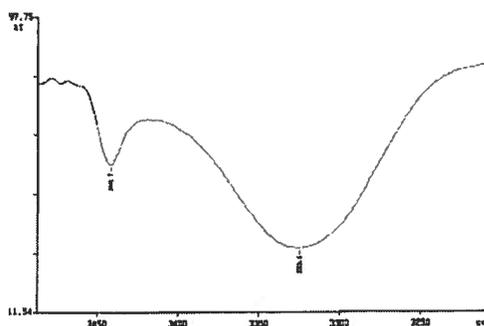
<i>Résidu</i>	φ	ψ
Alanine 1	-82°	-13°
Alanine 2	-63°	-35°
Hélice 3_{10} idéale	-57°	-30°

3.2. Etude de *Ac-L-BcaP-(L-Ala)₄-OtBu 32*

L'étude conformationnelle du dérivé peptidique **32** contenant quatre résidus alanine a été réalisée à partir de données RMN, CD et FTIR.

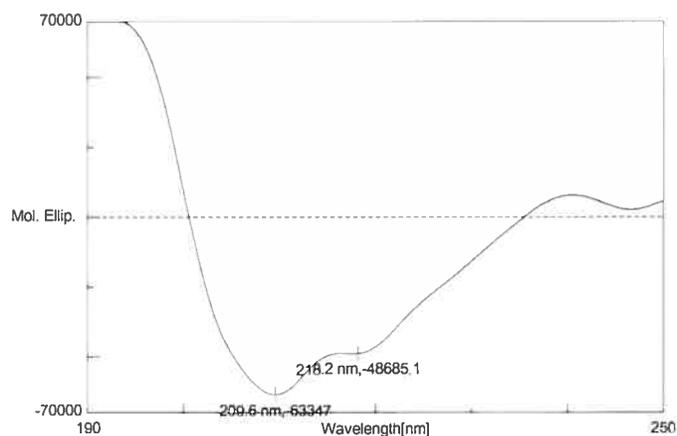
Le spectre infrarouge du composé en solution diluée (0.5 mM, CHCl_3) montre deux bandes d'élongation NH amide à 3440 cm^{-1} et 3325 cm^{-1} . La bande correspondant aux NHs libres est minoritaire comparativement à la bande correspondant aux NHs liés par liaison H. Ces résultats confirment ceux obtenus pour la di-alanine, c'est-à-dire qu'un ou plusieurs des NHs présents dans la molécule sont liés par liaison hydrogène de façon intramoléculaire.

Figure 37. Région NH amide du spectre FTIR du composé **32**



Le spectre de dichroïsme circulaire du composé **32** en solution dans le méthanol (0.16 mM) est assez semblable à celui du dérivé di-alanine et ressemble à celui d'une hélice 3_{10} (minimum négatifs à 220 et 209 nm, ratio $[\theta]_{222}/[\theta]_{208} = 0.76$). Ceci confirmerait les données obtenues par FTIR et permettrait d'envisager le même type de structure que celle déterminée précédemment pour le composé **31**.

Figure 38. Spectre CD du composé **32**



Les spectres RMN du composé **32** ont été réalisés en solution dans le CDCl_3 . Comme pour le peptide précédent, on n'observe toujours qu'un seul conformère. Les constantes de couplage $^3J_{\text{NHCH}\alpha}$ ont pu être mesurées pour les NH des quatre alanines, et celles-ci ont également une valeur supérieure à 6 Hz ($\text{NH}_{\text{Ala}1}$: 6.7 Hz, $\text{NH}_{\text{Ala}2}$: 7.1 Hz, $\text{NH}_{\text{Ala}3}$: 7.7 Hz, $\text{NH}_{\text{Ala}4}$: 7.2 Hz). Ces valeurs ne permettent évidemment pas de conclure sur la nature de la conformation, car il est possible qu'elles correspondent à une structure légèrement distordue d'une hélice.

Les expériences de corrélation COSY et NOESY ont été réalisées dans le même solvant. Les corrélations nOe (notamment $d_{\text{NN}}(i, i+1)$ et $d_{\alpha\text{N}}(i, i+2)$) permettent de confirmer une structure de type hélice pour le dérivé tétra-alanine.

Tableau VII. Corrélations nOe caractéristiques observées pour le composé 32

Corrélation	Ala 1	Ala 2	Ala 3	Ala 4
$d_{NN}(i, i+1)$	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■
$d_{\alpha N}(i, i+1)$	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■
$d_{\alpha N}(i, i+2)$	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■
$d_{\alpha N}(i, i+3)$	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■

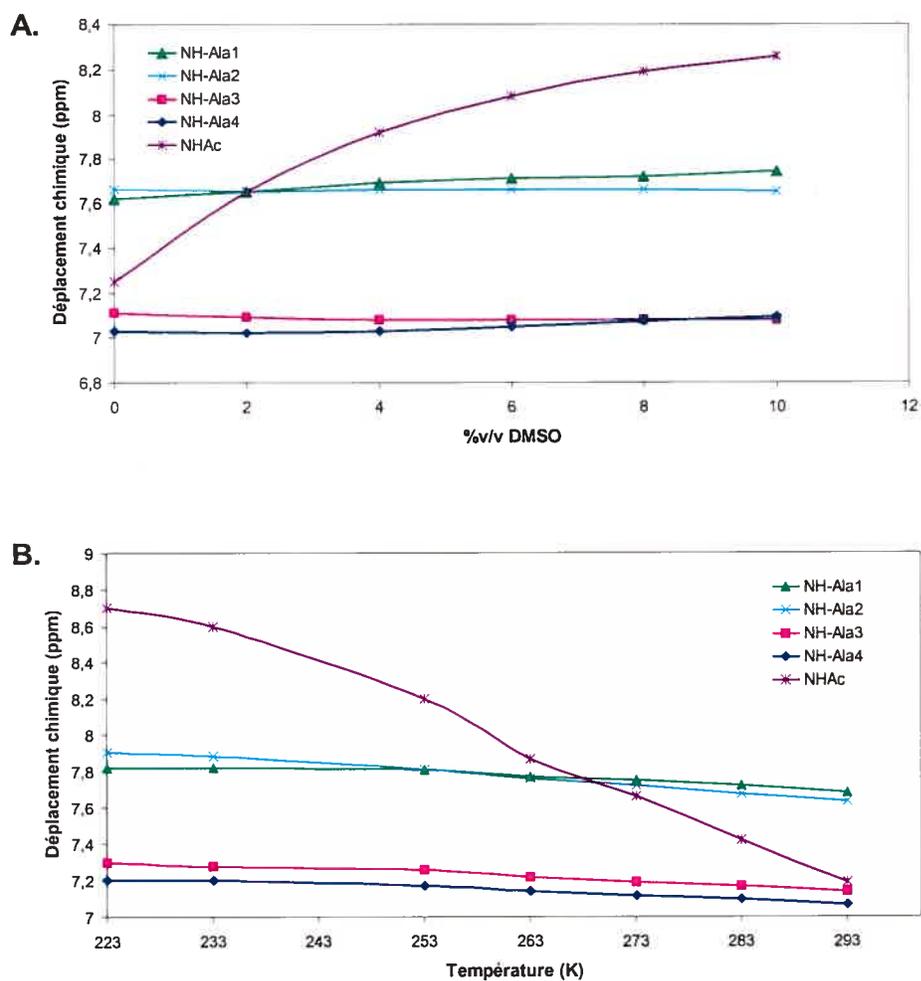
N.B. : l'épaisseur du trait correspond à l'intensité du nOe observé

Pour confirmer la présence de liaison hydrogène et la structure d'hélice 3_{10} , les expériences de variation de température dans l'intervalle 220-290 K et de titrage au DMSO (0-15% v/v) ont été effectuées dans le $CDCl_3$. Ces expériences montrent de manière évidente que les NHs appartenant aux quatre alanines sont liés par liaison hydrogène. Notamment, les coefficients de température pour ces quatre NHs sont tous inférieurs ou égaux à 3 ppb.K⁻¹.

Tableau VIII. Coefficients de température pour le composé 32

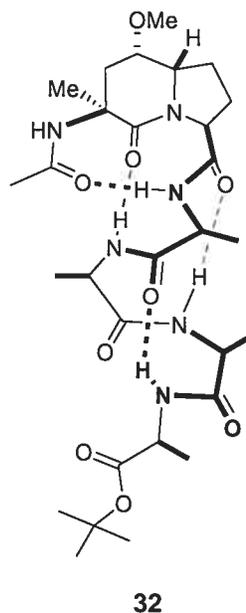
Résidu	Coefficient de température NH
Acétamide	-7.3 ppb.K ⁻¹
Alanine 1	-3.8 ppb.K ⁻¹
Alanine 2	-2.0 ppb.K ⁻¹
Alanine 3	-2.3 ppb.K ⁻¹
Alanine 4	-1.8 ppb.K ⁻¹

Figure 39. Expériences de variation de température (A) et de titrage au DMSO (B) pour le composé 32



D'autre part, le NH de l'acétamide semble être complètement exposé et ne participe pas à la stabilisation de l'hélice, ce qui confirme également les résultats obtenus pour le dérivé di-alanine. En se basant sur toutes ces données, on peut proposer la structure suivante pour le dérivé tétra-alanine :

Figure 40. Structure proposée pour le composé 32

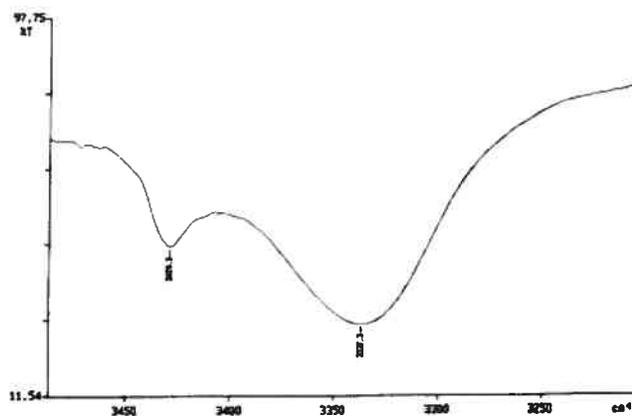


3.3. Etude de N_3 -L-BcaP-(L-Ala)₄-OtBu 33

Pour vérifier l'influence de l'acétamide sur la stabilisation de l'hélice, l'étude conformationnelle du dérivé peptidique **33** possédant un azide à la place de l'acétamide a été réalisée à partir de données RMN, CD et FTIR.

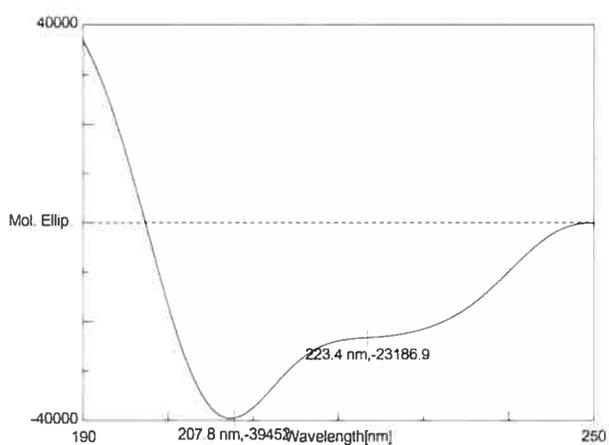
Comme pour le dérivé tétra-alanine avec l'acétamide, le spectre infrarouge du composé en solution diluée (0.5 mM, CHCl₃) montre deux bandes d'élongation NH amide à 3430 cm⁻¹ et 3335 cm⁻¹. La bande correspondant aux NHs libres est minoritaire comparativement à la bande correspondant aux NHs liés par liaison H. Ces résultats montrent que même sans l'acétamide, un ou plusieurs des NHs présents dans la molécule sont liés par liaison hydrogène de façon intramoléculaire.

Figure 41. Région NH amide du spectre FTIR du composé **33**



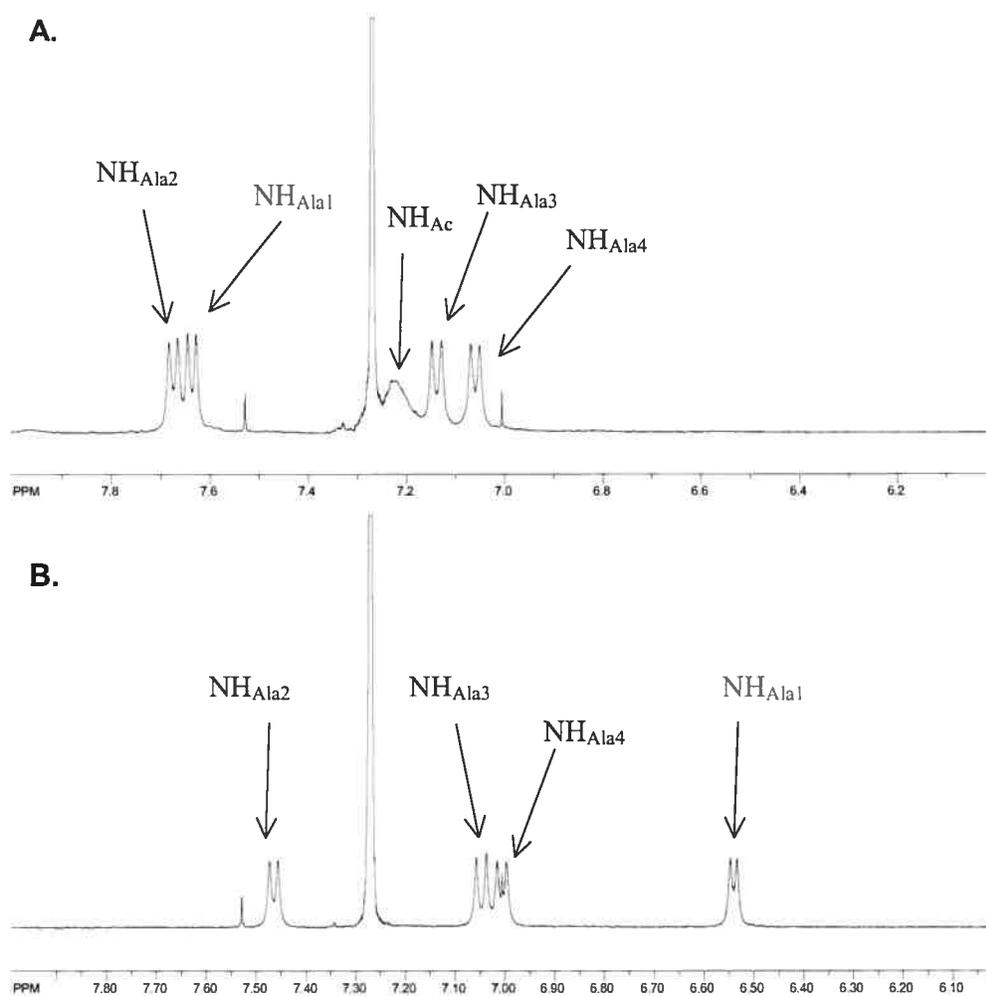
Le spectre de dichroïsme circulaire du composé **33** en solution dans le méthanol (0.18 mM) est assez semblable à celui du dérivé tétra-alanine avec l'acétamide et ressemble à celui d'une hélice 3_{10} (minimum négatifs à 222 et 208 nm, ratio $[\theta]_{222}/[\theta]_{208} = 0.59$). Ceci confirmerait les données obtenues par FTIR et impliquerait que la structure en hélice est conservée, même en l'absence du carbonyle de l'acétamide.

Figure 42. Spectre CD du composé **33**



Les spectres RMN du composé **33** ont été réalisés en solution dans le CDCl_3 . Le spectre RMN ^1H montre que le signal du NH de la première alanine (celle la plus proche du motif) s'est déplacé vers les hauts champs de plus de 1 ppm par rapport au dérivé avec l'acétamide. Ceci indique que le NH qui était lié par liaison H avec le carbonyle de l'acétamide est devenu complètement libre dans le cas du dérivé azide. Les signaux des NHs des résidus qui se situent en bout de chaîne présentent plus ou moins le même déplacement chimique, ce qui s'expliquerait par une certaine stabilité de l'hélice.

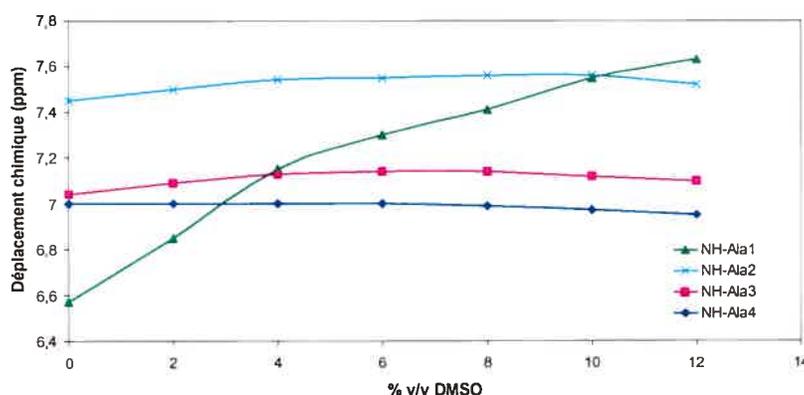
Figure 43. Comparaison des spectres RMN ^1H des composés **32** et **33** (A et B respectivement)



Pour confirmer l'absence de liaison hydrogène pour le NH de la première unité alanine, l'expérience de titrage au DMSO (0-15% v/v) a été effectuée dans

le CDCl_3 . Les courbes obtenues montrent de manière évidente que tous les NHs sauf celui de la première alanine sont liés par liaison hydrogène. Ceci prouve le rôle d'accepteur de liaison H du carbonyle de l'acétamide. On peut également déduire de ces résultats que le motif peut stabiliser l'hélice 3_{10} même en l'absence du premier tour β impliquant l'acétamide et le NH de la première alanine (grâce probablement à une géométrie correcte du motif).

Figure 44. Expérience de titrage au DMSO pour le composé **33**

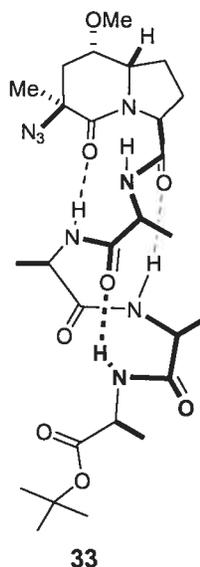


Les constantes de couplage $^3J_{\text{NHCH}\alpha}$ ont pu être mesurées pour les NHs des quatre alanines, et celles-ci ont également une valeur proche de 6 Hz (NH_{Ala1} : 5,2 Hz, NH_{Ala2} : 6,6 Hz, NH_{Ala3} : 8,2 Hz, NH_{Ala4} : 7,3 Hz). Ces valeurs qui sont proches de celles observées dans le cas du composé avec acétamide indiquent que la structure tridimensionnelle a été peu ou pas modifiée en supprimant le premier tour β .

Les expériences de corrélation COSY et NOESY ont été réalisées dans le même solvant, CDCl_3 . Les corrélations $d_{\text{NN}}(i, i+1)$ de forte intensité sont observables et sont en accord avec une structure de type hélice. Cependant, à cause de signaux se superposant, les corrélations $d_{\alpha\text{N}}(i, i+2)$ et $d_{\alpha\text{N}}(i, i+3)$ n'ont pas pu être attribuées avec certitude.

En se basant sur toutes ces informations, on peut proposer pour le dérivé **33** une structure de type hélice 3_{10} avec le même arrangement de liaisons H que le dérivé acétamide excepté l'absence du premier tour β .

Figure 45. Structure tridimensionnelle proposée pour le composé **33**



4. Conclusion et perspectives

Nous avons décrit dans ce chapitre la synthèse d'un nouveau motif analogue contraint de Ac-L-Ala-L-Pro, qui stabilise la formation d'hélices 3_{10} chez des peptides de type homoalanine de deux et quatre résidus, dans des solvants organiques (CHCl_3 et MeOH).

Le motif Ac-L-BcaP placé en position N-terminale de ces peptides possède la géométrie nécessaire pour assurer une orientation adéquate des groupements carbonyles et créer ainsi un réseau de liaisons hydrogène avec le peptide attaché, en solution. Ce réseau correspond à un arrangement tridimensionnel de type hélice 3_{10} pour le dérivé di-alanine et semble, d'après les données RMN, FTIR et CD, se conserver si l'on prolonge la chaîne peptidique de deux unités supplémentaires. La structure en hélice est conservée à l'état solide, selon la structure obtenue par diffraction aux rayons X pour le dérivé di-alanine. Les différentes expériences ont

également montré que le carbonyle de l'acétamide est impliqué dans une liaison hydrogène avec le NH de la première unité alanine et créant ainsi le premier tour β de l'hélice 3_{10} . Cependant, les résultats obtenus avec le composé azide indiquent que la suppression de cet acétamide ne semble pas détruire la structure en hélice. La géométrie du motif serait donc suffisante pour induire une hélice et le premier tour β impliquant l'acétamide servirait à stabiliser encore plus fortement cette hélice.

Comme pour le motif décrit au chapitre 1, il serait intéressant de vérifier si la structure en hélice 3_{10} est conservée quels que soient la longueur du peptide et les acides aminés qui le composent. En particulier, on pourrait utiliser le motif avec un peptide qui possède un nombre de résidus supérieur au nombre de résidus moyen d'une hélice 3_{10} naturelle et déterminer si l'hélice 3_{10} continue de se propager en bout de chaîne (ce qui prouverait la puissance du motif) ou se transforme en hélice α (comme souvent dans les protéines naturelles), ou tout simplement si le peptide redevient flexible.

Enfin, il serait bien sûr intéressant de vérifier si le motif permet de stabiliser des hélices en milieu aqueux, ce qui rendrait possible son utilisation pour des peptides d'intérêt biologique.

Chapitre 3
Dérivés peptidiques du *trans*-1,2-diaminocyclohexane
Auto-assemblage en nanotubes

Ce chapitre 3 décrit le design, la synthèse et l'élucidation de la structure de dérivés peptidiques du (*1R, 2R*)-diaminocyclohexane. Celui-ci a été utilisé comme motif dans le but de créer un assemblage supramoléculaire de type nanotube lorsqu'il est greffé à deux chaînes peptidiques parallèles alternant des acides aminés de configurations L et D.

1. Principe

1.1. Nanotubes peptidiques

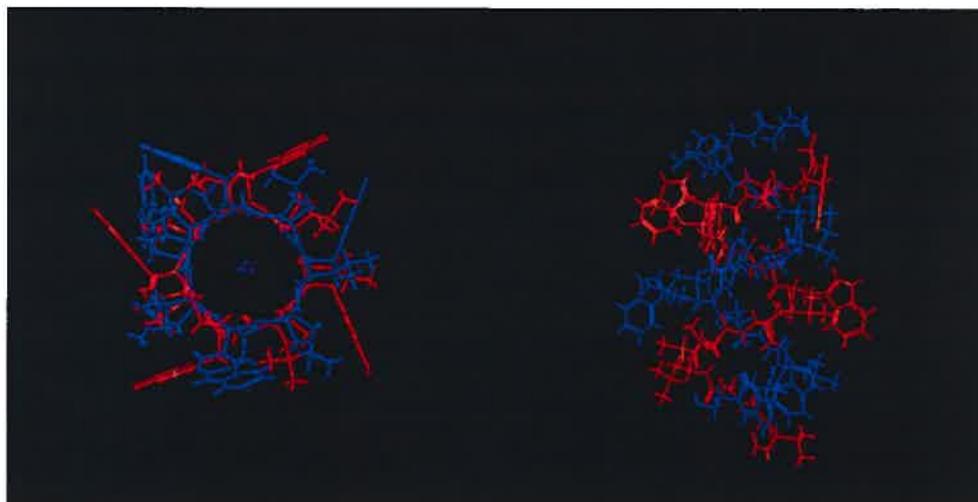
Le nombre d'études concernant des molécules s'auto-assemblant pour former des nanostructures définies est en pleine expansion. Parmi ces nanostructures, les nanotubes organiques sont ceux qui ont reçu le plus d'attention ces dernières années parmi la communauté scientifique.⁵⁹ Ceci est assez compréhensible si l'on regarde le nombre d'applications possibles de ces nanotubes : biosenseurs, antibactériens, matériaux photoactifs, biomatériaux, catalyse, canaux ioniques et moléculaires, etc.

Une classe importante de ces nanotubes organiques est celle des nanotubes peptidiques, et en particulier les peptides possédant un nombre égal de résidus L et D s'alternant le long de la chaîne. La découverte des propriétés de ces peptides pouvant s'auto-assembler en nanotubes ou nanopores provient principalement des études réalisées sur la structure conformationnelle du peptide naturel gramicidine A.⁶⁰ La gramicidine A est un pentadécapeptide linéaire composé d'acides aminés de configuration alternée L et D, qui a été isolé originellement de la bactérie *Bacillus brevis*.⁶¹ Ce peptide doit ses propriétés antibiotiques au fait qu'il forme des canaux ioniques transmembranaires grâce aux conformations tubulaires qu'il adopte. En effet, il a été montré que la gramicidine A présentait une conformation de type hélice π_{DL} ou hélice β dans des solvants organiques ou en présence de membranes lipidiques.⁶⁰

Les structures hélice π_{DL} ou hélice β sont des structures cylindriques que l'on retrouve en particulier chez les peptides linéaires composés d'acides aminés L et D. Ces hélices possèdent un agencement de liaisons hydrogène semblable à

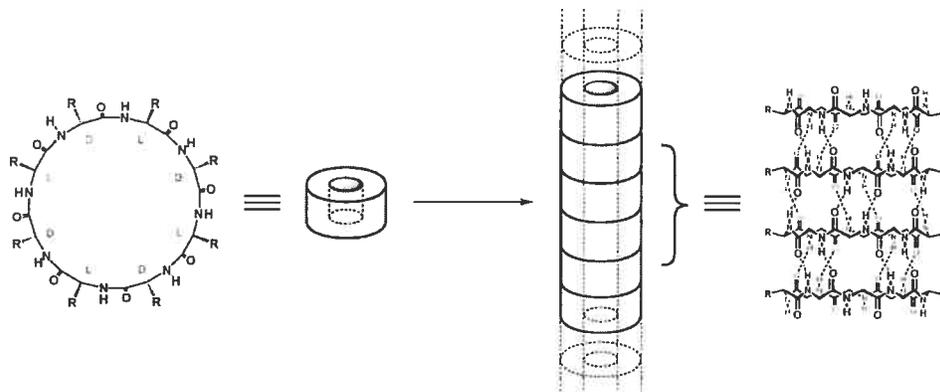
celui d'un feuillet β mais les angles de torsion des résidus L et D obligent la chaîne à adopter une courbure hélicale plutôt qu'une conformation étendue que l'on peut observer chez des peptides où tous les résidus sont de configuration identique. Ces structures sont également connues pour s'organiser en dimères ou former des hélices à double brin.^{59,60} La caractéristique majeure de ces superstructures secondaires est l'espace tubulaire (ou pore) créé à l'intérieur du cylindre hélicoïdal, avec un diamètre de l'ordre de 3 à 6 Å, dépendamment du nombre de résidus par tour. Dans le cas de la gramicidine A, la largeur du pore permet le passage d'ion tels que Cs^+ , K^+ , Ag^+ , Tl^+ et NH_4^+ .^{60d,e}

Figure 46. Structure cristalline de la gramicidine A (complexe avec CsCl)



L'avancée majeure dans le domaine des nanotubes peptidiques a été réalisée par Ghadiri et ses collaborateurs.¹² En se basant sur la structure tubulaire de la gramicidine A, Ghadiri a imaginé d'utiliser des peptides cycliques pour contrôler les dimensions du pore. Ces peptides cycliques, de taille allant de 8 à 12 résidus, s'empilent selon un arrangement de liaisons hydrogène de type feuillet β pour former une colonne creuse de longueur infinie. Le diamètre des pores obtenus déterminés à partir des rayons de Van der Waals varie de 5 à 13 Å et permettent le passage d'ions et même de molécules telles que le D-glucose^{12d} ou l'acide L-glutamique.^{12e}

Figure 47. Travaux de Ghadiri : assemblage supramoléculaire de peptides cycliques⁵⁹



D'autres groupes ont utilisé l'idée de Ghadiri pour synthétiser des nanotubes avec des peptides cycliques composés d'acides aminés α ⁶² ou non naturels tels que des peptides β (travaux de Seebach),⁶³ un mélange d'acides aminés α et γ ,⁶⁴ des peptides δ vinylogues,⁶⁵ ou des analogues de type oligourée.⁶⁶

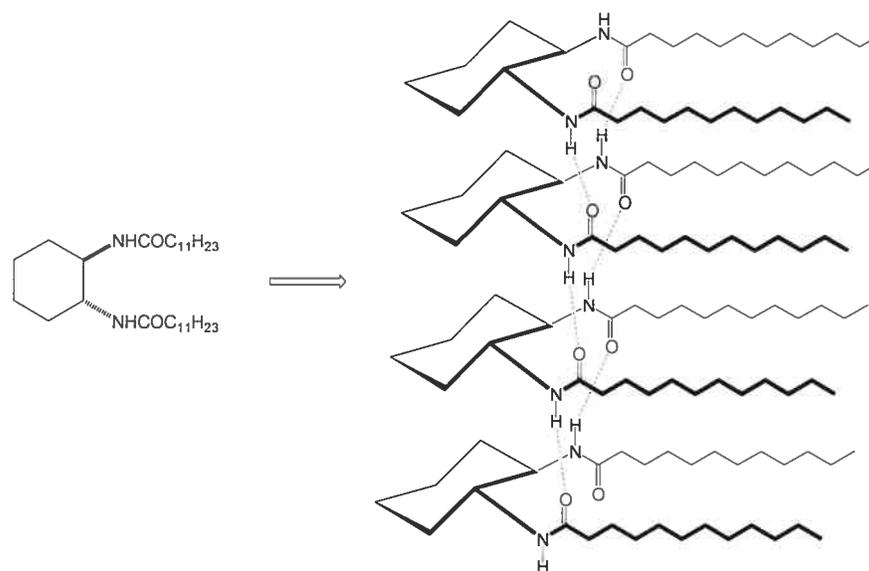
1.2. Utilisation du diaminocyclohexane comme motif

L'élément commun que l'on retrouve dans la structure 3D de la gramicidine A ou bien dans les nanotubes de peptides cycliques est cet agencement de deux branches constituées d'acides aminés D/L liés par liaisons hydrogène de type feuillet β , parallèle ou antiparallèle.

En s'inspirant de ce motif de base, il serait intéressant d'étudier la conformation tridimensionnelle adoptée par deux chaînes peptidiques (alternant les acides aminés L et D) placées de manière parallèle l'une par rapport à l'autre à l'aide d'un espaceur approprié, ainsi que leur assemblage supramoléculaire éventuel. Pour le projet décrit dans ce chapitre, nous avons décidé d'utiliser le (1R, 2R)-*trans*-diaminocyclohexane comme espaceur, sur lequel seront greffés des α -peptides L/D de différentes longueurs et différentes chaînes latérales (homooligoalanines et homooligosérines).

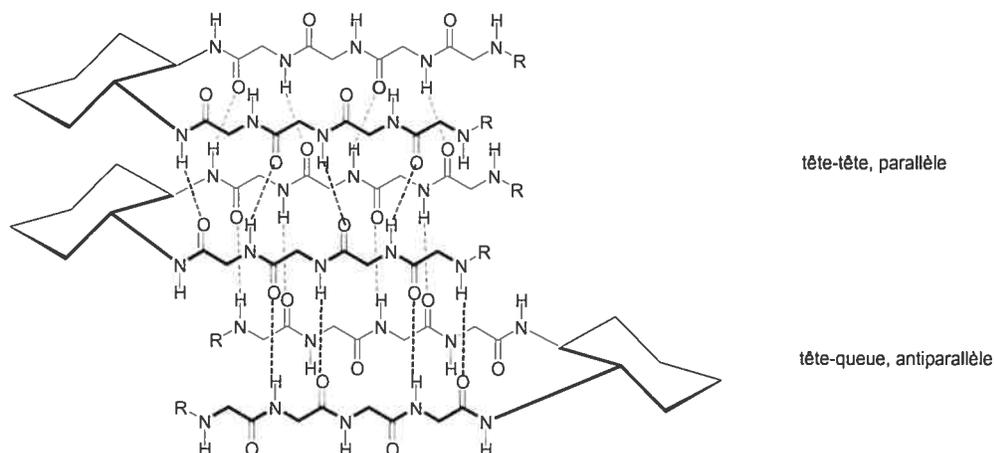
Le choix de cet espaceur s'appuie sur les observations du groupe de Hanabusa sur l'aggrégation d'alkylamides dérivés du diaminocyclohexane.⁶⁷ Ces molécules sont constituées d'une unité diaminocyclohexane sur laquelle sont couplés deux acides gras. L'association d'une partie amide polaire permettant l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires et d'une partie hydrophobe constituée par les longues chaînes aliphatiques entraîne l'aggrégation de ces molécules et la formation conséquente de gels dans des solvants organiques.

Figure 48. Travaux de Hanabusa sur l'aggrégation de dérivés du 1,2-diaminocyclohexane



Dans notre cas, les chaînes aliphatiques seront remplacées par les chaînes peptidiques. Bien qu'il soit difficile de prédire quelle sera la structure tridimensionnelle exacte de ces dérivés peptidiques, on peut cependant supposer que les chaînes seront orientées de telle manière que les groupements carbonyles et les groupements NH soient de part et d'autre du plan du cyclohexane, permettant ainsi l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogène intermoléculaires. Un arrangement de type « tête-tête » pourrait ainsi donner une structure supramoléculaire de type feuillet β parallèle, alors qu'un arrangement « tête-queue » serait de type antiparallèle.²⁶

Figure 49. Assemblages supramoléculaires hypothétiques envisagés



La synthèse et l'étude phénoménologique de ces dérivés peptidiques sont décrites ci-après.

2. Synthèse

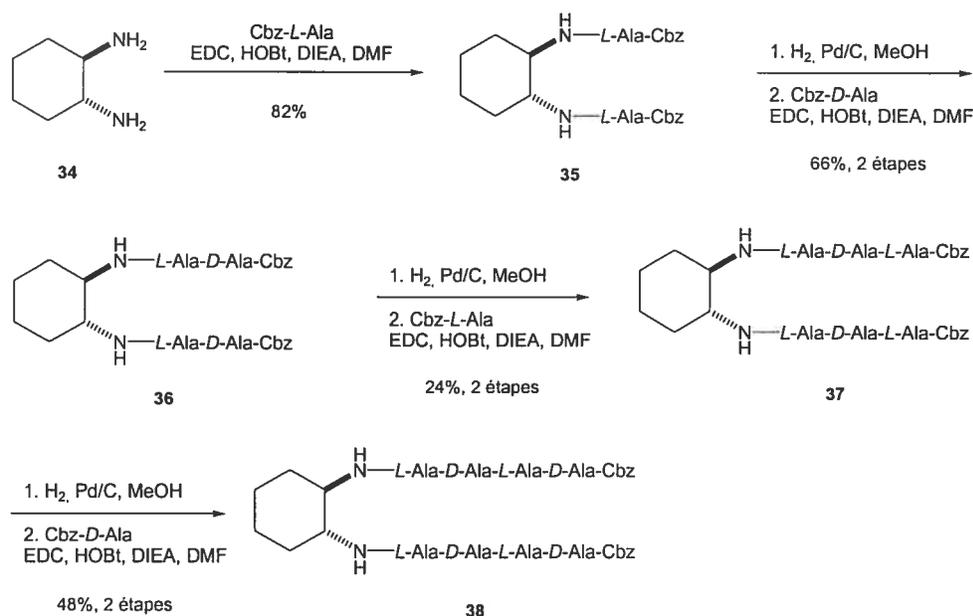
Les deux séries de molécules ont été synthétisées selon deux stratégies de couplage différentes. Pour la série *alanine*, nous avons utilisé une méthode basée sur la combinaison d'agents de couplage EDC et HOBT, en solution dans le DMF, avec l'amine terminale protégée par un groupement Cbz (Benzyloxycarbonyle). Pour la série *sérine*, l'agent de couplage utilisé est HATU, également en solution dans le DMF, et le choix du groupement protecteur pour l'amine terminale s'est porté sur Boc (*tert*-butyloxycarbonyle).

2.1. Synthèse de la série *alanine*

La synthèse des dérivés de la série *alanine* est basée sur un allongement simultané des deux chaînes parallèles à partir du (*1R*, *2R*)-diaminocyclohexane (une unité alanine sur chaque branche à chaque couplage). La version énantiopure du diaminocyclohexane peut être obtenue par résolution du composé racémique

commercial avec de l'acide tartrique L.⁶⁸ Elle est également disponible commercialement.

Schéma 10. Synthèse de la série *alanine*

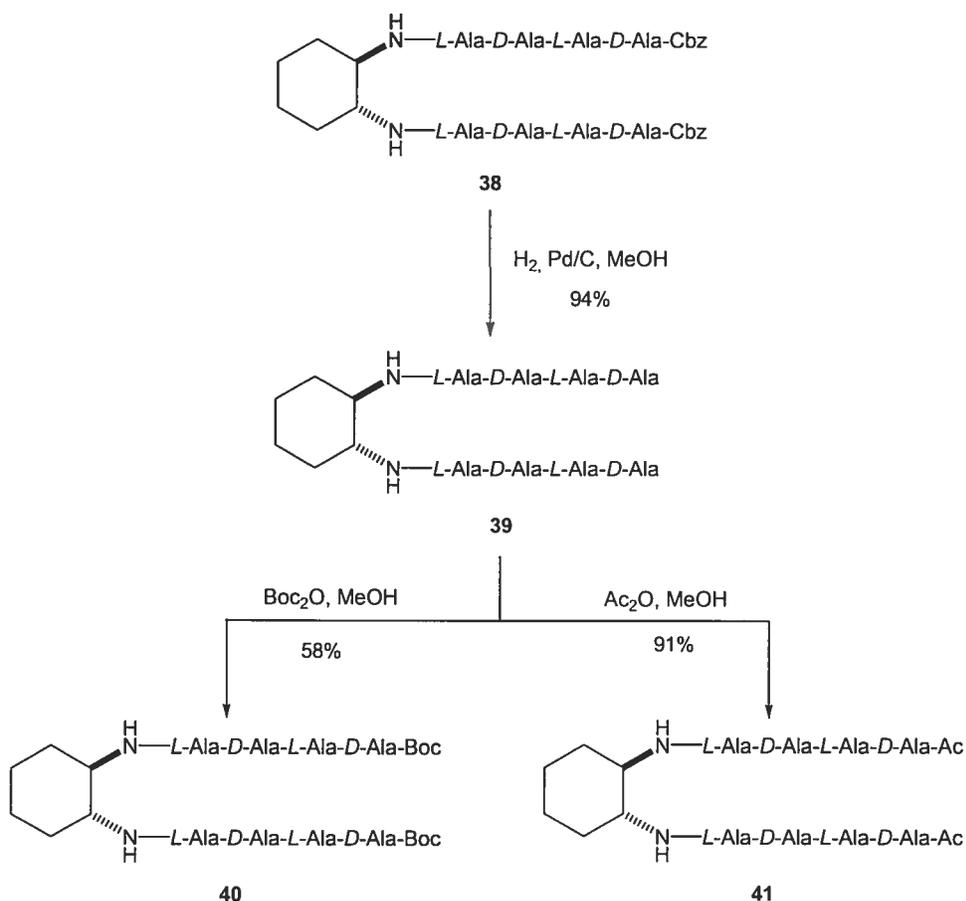


La diaminocyclohexane **34** est traitée avec Cbz-*L*-Ala en présence de HOBT et EDC pour donner le dérivé **35** avec une unité Ala sur chaque branche et un excellent rendement. Ce composé est soumis à une hydrogénéolyse pour enlever le groupement protecteur puis couplé à Cbz-*D*-Ala dans les mêmes conditions que le premier couplage, ce qui permet d'obtenir le peptide **36**. La même séquence de deux réactions (hydrogénéolyse-couplage) permet d'atteindre le composé **37** avec 3 résidus Ala sur chaque branche, avec toutefois un rendement d'isolation modeste (cette étape n'a pas été optimisée). Ceci est dû principalement à un problème de solubilité du dérivé. Le composé **38** est obtenu après une séquence supplémentaire d'hydrogénéolyse puis couplage avec Cbz-*D*-Ala, avec le même problème de solubilité notamment dans le chloroforme et le dichlorométhane (formation de gel, voir plus loin dans ce chapitre).

Pour étudier l'influence du groupement protecteur en position N-terminale sur la conformation du peptide (et également pour comparer avec la série *sérine*),

les dérivés N-Boc, N-acétylé ainsi que la diamine libre avec 4 unités Ala sur chaque branche ont été synthétisés. La diamine libre **39** est obtenue par hydrogénation à partir du composé **38**. Le traitement de cette amine avec Boc_2O permet d'accéder au dérivé protégé **40**, alors que le traitement avec l'anhydride acétique donne le dérivé acétylé **41** avec un bon rendement.

Schéma 11. Synthèse des dérivés N-Boc et N-acétylé



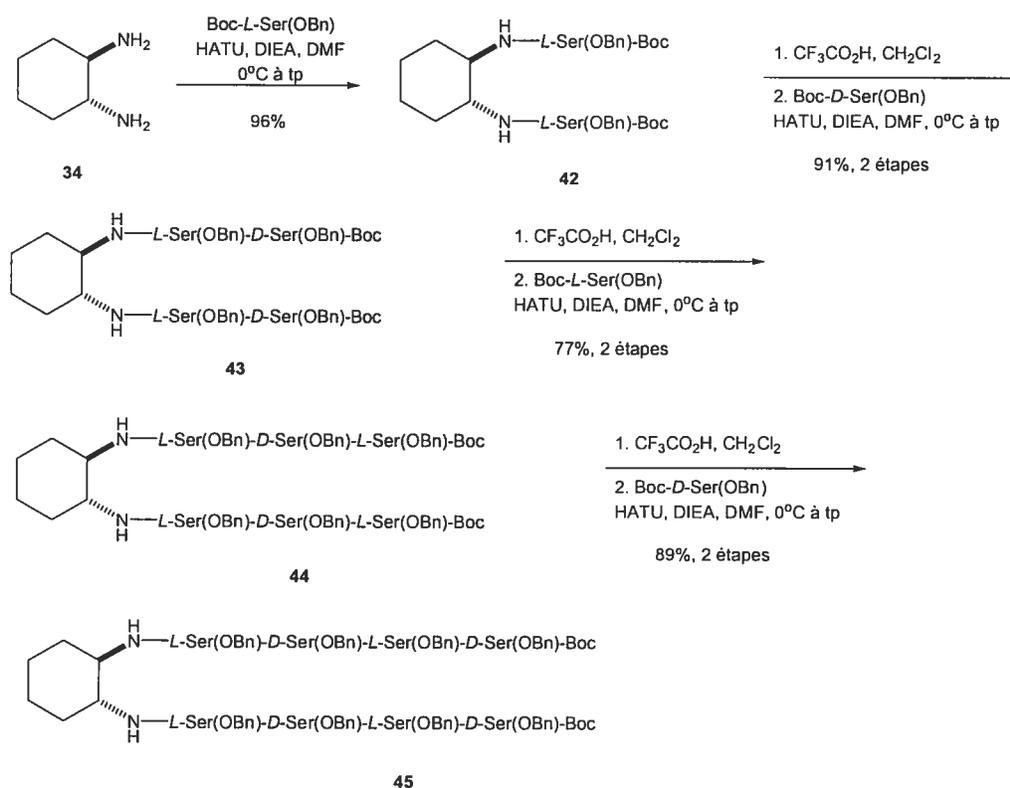
2.2. Synthèse de la série sérine

La synthèse des dérivés de la série *sérine* est basée sur le même principe d'allongement simultané des deux chaînes peptidiques à partir du (1*R*, 2*R*)-diaminocyclohexane (une unité sérine sur chaque branche à chaque couplage). Pour des raisons de solubilité des composés polysérines et également pour étudier l'influence de la chaîne latérale, nous avons choisi de réaliser les couplages avec

des unités sérine déjà protégées au niveau de l'alcool. La protection sous forme d'éther benzylique s'est révélée être celle donnant les meilleurs rendements de couplage (des essais ont été effectués avec le groupement TBDPS mais les rendements obtenus étaient faibles en général ; ces essais ne sont pas rapportés ici). La partie N-terminale est protégée à l'aide d'un groupement Boc.

D'autre part, pour éviter tout problème d'épimérisation lors du couplage, la réaction a été réalisée partiellement à 0°C et l'agent de couplage HATU a été utilisé.

Schéma 12. Synthèse de la série *sérine* protégée

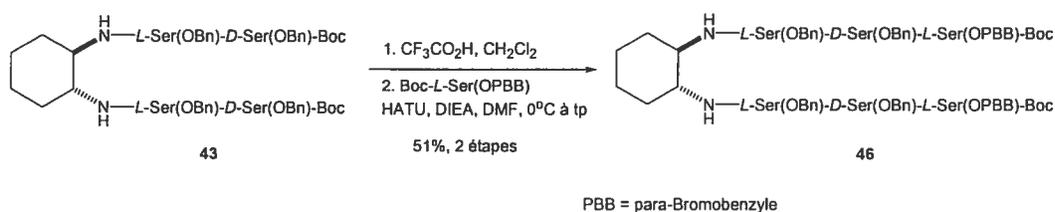


Le diaminocyclohexane **34** est traité avec Boc-L-Ser(OBn) (disponible commercialement) en présence de HATU et de diisopropyléthylamine pour donner le dérivé **42** avec une unité Ser(OBn) sur chaque branche et un rendement presque quantitatif. Le groupement Boc est enlevé en milieu acide (TFA) et le sel obtenu est couplé à Boc-D-Ser(OBn) dans les mêmes conditions que le premier

couplage, ce qui permet d'obtenir le peptide **43**. La même séquence de deux réactions (hydrolyse-couplage) permet d'atteindre le composé **44** avec 3 résidus Ser(OBn) sur chaque branche. Le composé **45** est obtenu après une séquence supplémentaire d'hydrolyse puis couplage avec Boc-*D*-Ser(OBn) avec un rendement encore excellent.

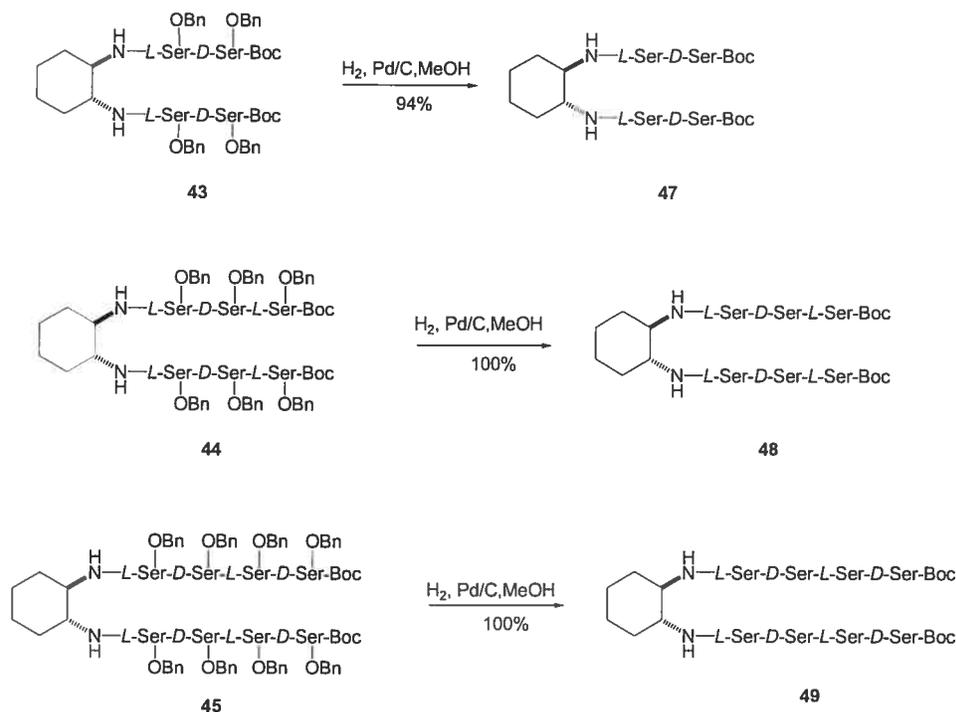
Dans le but d'obtenir des cristaux de qualité suffisante pour déterminer une structure par diffraction aux rayons X, le dérivé dibromé **46** a été synthétisé à partir du composé **43**, en utilisant les mêmes conditions d'hydrolyse et de couplage que précédemment.

Schéma 13. Synthèse du dérivé dibromé



Pour obtenir la série déprotégée, les composés **43**, **44** et **45** ont été soumis à une hydrogénation en présence de Pd pour donner quantitativement les dérivés correspondants **47**, **48** et **49**.

Schéma 14. Synthèse de la série *sérine* non protégée



3. Etudes conformationnelles

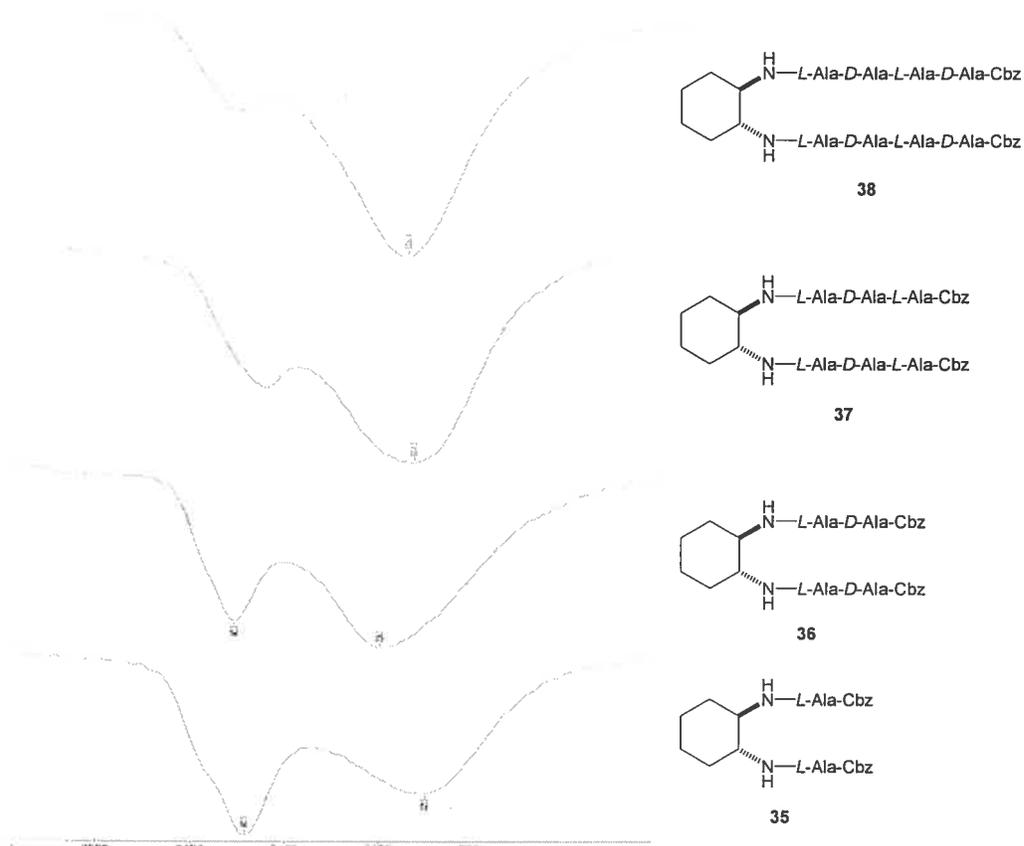
3.1. Série alanine

L'étude conformationnelle des composés de la série *alanine* a été réalisée à partir de données RMN, CD et FTIR.

Les spectres infrarouge des composés en solution diluée (1mM, CHCl₃) montrent deux bandes d'élongation NH amide à 3420-3440 cm⁻¹ et 3310-3340 cm⁻¹. Au fur et à mesure de l'allongement des deux chaînes peptidiques, on peut observer la première bande, correspondant aux NHs libres, devenir totalement minoritaire comparativement à la seconde bande, correspondant aux NHs liés par liaison H. Ceci montre qu'en augmentant le nombre de résidus sur les deux chaînes parallèles, on facilite l'établissement de liaisons hydrogène et donc probablement d'une conformation stabilisée par ces liaisons. Le fait que l'on observe ces liaisons hydrogène en solution très diluée ne permet cependant pas de déterminer avec certitude que ces liaisons sont de type intramoléculaire (entre les

deux branches de la même molécule) ou de type intermoléculaire (entre deux molécules associées fortement sous forme de dimère, par exemple).

Figure 50. Région $3500\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ (NH amide A) des spectres FTIR de la série *alanine*

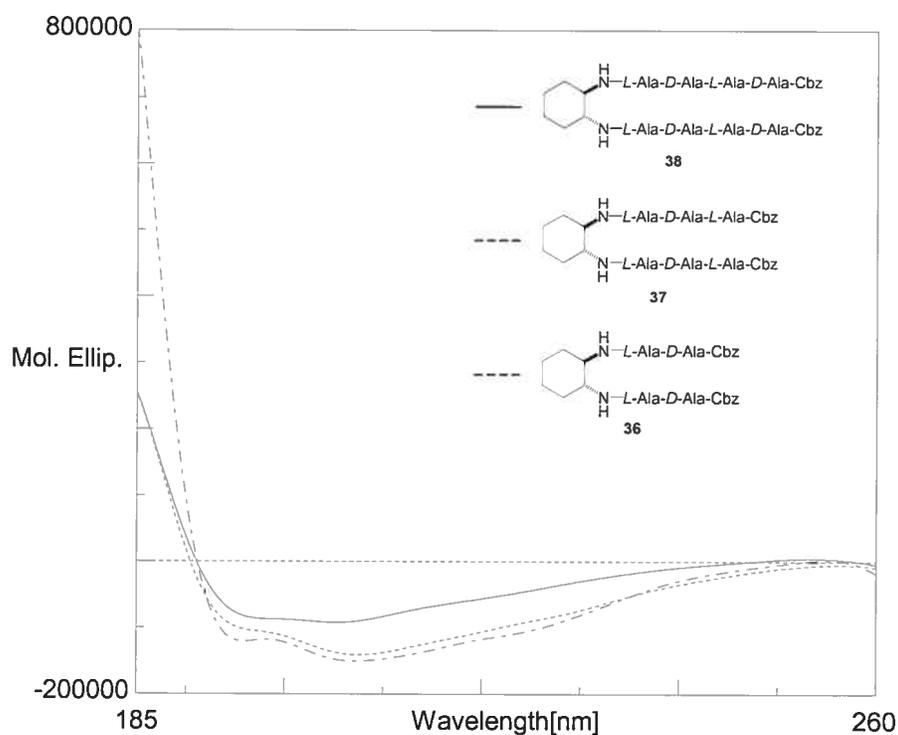


On peut également observer un déplacement de la bande amide I de 1680 cm^{-1} vers 1660 cm^{-1} avec l'allongement des chaînes (non représenté ici). Ce déplacement indique la formation probable d'une structure plus ordonnée, stabilisée par liaisons hydrogène.

Les spectres FTIR des dérivés N-Boc **40** et N-acétyle **41** avec 4 unités alanine par branche montrent des bandes d'élongation semblables à celles du dérivé Cbz correspondant, ce qui laisse supposer que la partie N-terminale n'influence pas de manière significative la structure tridimensionnelle du peptide.

Les spectres de dichroïsme circulaire ont été collectés en solution dans le méthanol avec des concentrations de l'ordre de 0.1 mM. Ces spectres ne montrent aucun minimum ou maximum précis, et ressemblent peu aux spectres de structures secondaires classiques. On peut cependant remarquer que les spectres ne correspondent pas à celui d'une structure complètement flexible, mais plutôt à une structure intermédiaire entre une hélice et un feuillet β .

Figure 51. Spectres CD de la série *alanine*

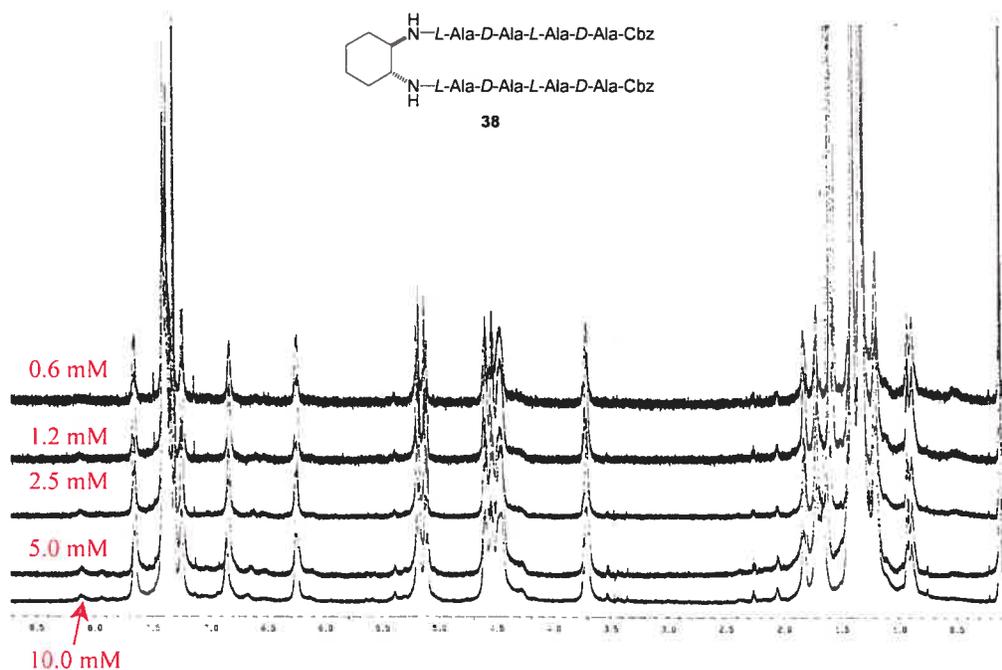


Les spectres RMN de la série *alanine* ont été réalisés en solution dans le CDCl_3 . Ces spectres correspondent tous à une molécule complètement symétrique puisque l'on n'observe qu'un seul signal pour deux protons équivalents de deux branches différentes.

Les constantes de couplage $^3J_{\text{NHCH}\alpha}$ n'ont pas pu être mesurées pour les NHs des quatre alanines, car les spectres ^1H obtenus montrent des signaux souvent larges et peu résolus, signe probable d'aggrégation ou de dimérisation.

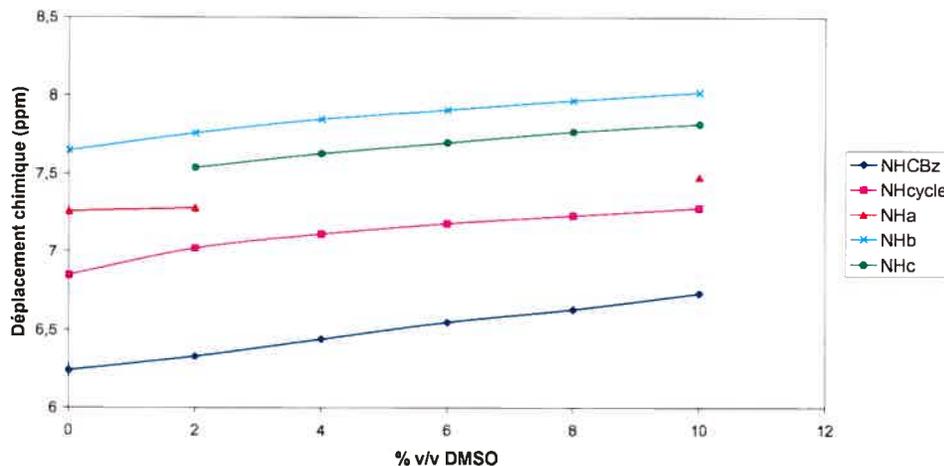
Un autre indice d'aggrégation est la formation de gel pour le composé **38** (avec 4 unités alanine sur chaque branche) dans le chloroforme et le dichlorométhane à une concentration supérieure à 5 mM, après quelques minutes. Pour vérifier le degré d'association des molécules entre elles, une expérience de variation de concentration en RMN ^1H (de 0.6 mM à 10 mM) a été réalisée sur ce composé. Cette expérience ne montre aucun déplacement significatif des signaux avec l'augmentation de la concentration, ce qui indique que les molécules sont fortement associées même en solution très diluée.

Figure 52. Expérience de dilution en RMN ^1H pour le composé **38**



Pour confirmer la présence de liaisons hydrogène, l'expérience de titrage au DMSO (0-15% v/v) pour le composé **38** a été effectuée dans le CDCl_3 . Cette expérience montre que les NHs appartenant aux quatre alanines, et probablement ceux du cyclohexane aussi, sont liés par liaison hydrogène puisque la variation de déplacement chimique est assez faible avec l'augmentation de concentration en DMSO. Il est cependant difficile de préciser si ces liaisons sont du type intramoléculaire ou intermoléculaire.

Figure 53. Expérience de titrage au DMSO pour le composé 38



Ces expériences n'ont pas pu être réalisées sur les dérivés N-Boc et N-acétyl correspondants car ceux-ci ne sont que peu ou pas solubles dans le chloroforme ou le dichlorométhane.

3.2. Série sérine protégée

L'étude conformationnelle des composés de la série sérine a été réalisée en solution à partir de données RMN, CD et FTIR, et à l'état solide par diffraction aux rayons X.

3.2.1. Etude en solution

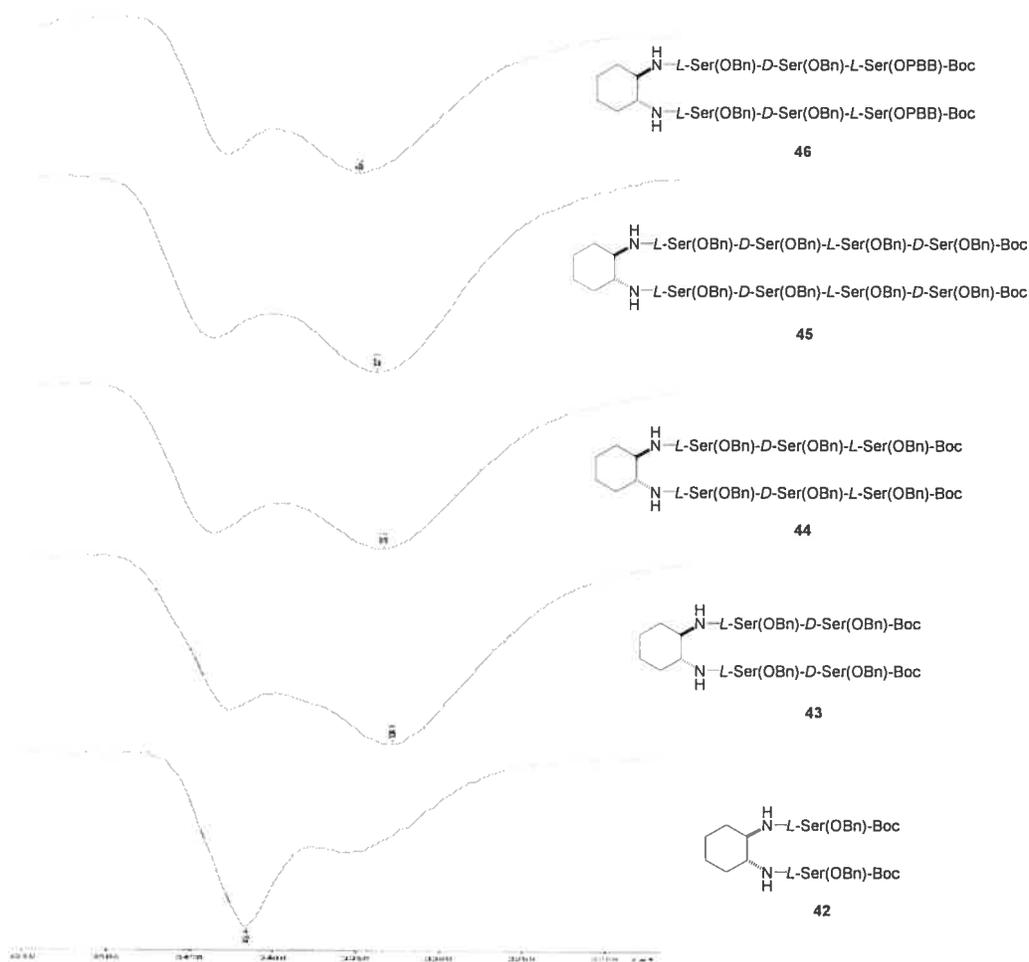
Les spectres infrarouge des composés en solution diluée (1mM, CHCl_3) montrent deux bandes d'élongation NH amide A à $3420\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$ et $3310\text{-}3340\text{ cm}^{-1}$. Comme pour la série *alanine*, la première bande, correspondant aux NH libres, est minoritaire comparativement à la seconde bande, correspondant aux NH liés par liaison H, et ceci dès que le peptide contient deux résidus par branche. En augmentant le nombre de résidus sur les deux chaînes parallèles, le ratio entre les deux bandes demeure plus ou moins identique, ce qui indique qu'une conformation stabilisée par liaisons H existe probablement quelle que soit la longueur des chaînes. A titre de comparaison, les peptides libres correspondants

(i.e. sans diaminocyclohexane) ont été synthétisés ; ils présentent tous une bande amide A à 3420 cm^{-1} majoritaire, montrant l'absence de liaisons H (spectres non représentés ici).

De même que précédemment, on ne peut pas déterminer avec certitude si ces liaisons sont de type intramoléculaire ou de type intermoléculaire, ou un mélange des deux.

On peut par ailleurs remarquer que le composé bromé **46** présente un spectre quasi-identique à celui du composé sans brome correspondant.

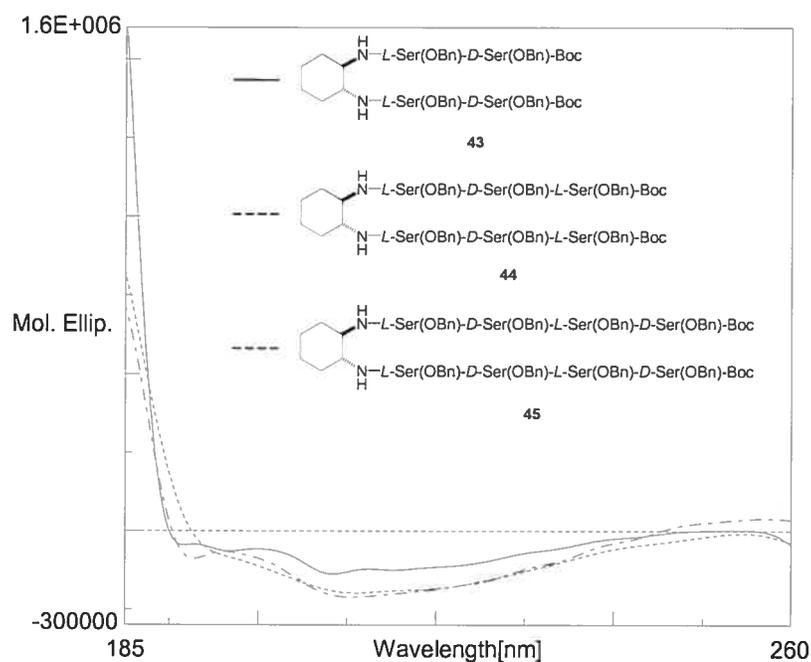
Figure 54. Région $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ (NH amide A) des spectres FTIR de la série *sérine*



Contrairement à la série alanine, la fréquence de la bande amide I (1668 cm^{-1}) ne varie pas avec l'allongement des chaînes (non représenté ici).

Les spectres de dichroïsme circulaire ont été collectés en solution dans le méthanol avec des concentrations de l'ordre de 0.1 mM . Ces spectres sont semblables à ceux obtenus dans la série *alanine* (les groupements benzyles ne semblent donc pas avoir d'influence sur les spectres, probablement car les cycles aromatiques n'absorbent qu'à des longueurs d'ondes supérieures à 260 nm) et correspondent donc également à une structure intermédiaire entre une hélice et un feuillet β .

Figure 55. Spectres CD de la série Sérine protégée

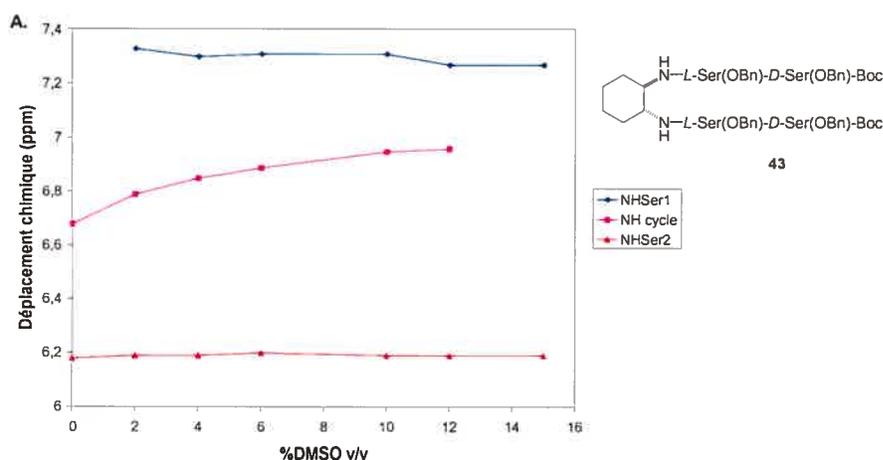


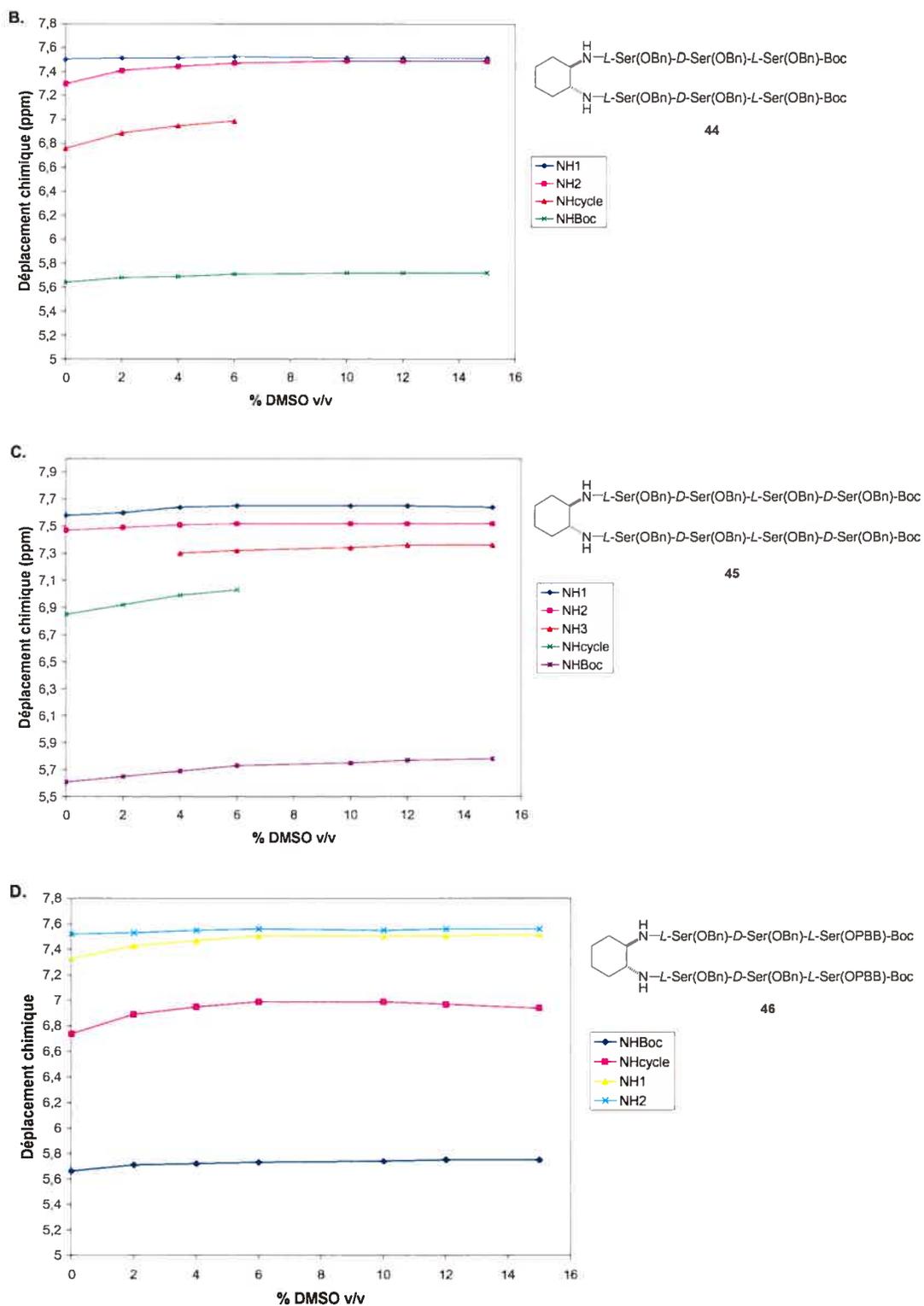
Les spectres RMN de la série *sérine* protégée ont été réalisés en solution dans le CDCl_3 . On n'observe qu'un seul signal pour deux protons équivalents de deux branches différentes, ce qui indique que les molécules sont complètement symétriques.

Les constantes de couplage $^3J_{\text{NHCH}\alpha}$ n'ont pu être mesurées que pour quelques NHs, car les spectres ^1H obtenus montrent des signaux souvent larges et peu résolus comme dans la série *alanine* (signe d'association entre les molécules). Ces valeurs de constante de couplage sont toutes de l'ordre de 6 Hz, ce qui indique que ces résidus présentent les angles de torsion caractéristiques d'une structure hélicoïdale (alors que des résidus en conformation étendue montrent en général des constantes d'environ 8-9 Hz).

Pour confirmer la présence de liaisons hydrogène, les expériences de titrage au DMSO (0-15% v/v) pour les composés **43**, **44**, **45** et **46** ont été effectuées dans le CDCl_3 . Ces expériences montrent que les NHs des résidus sérine et du cyclohexane sont liés par liaison hydrogène. On peut cependant remarquer que certaines liaisons sont plus faibles que les autres (variation plus grande), notamment pour les NHs correspondant au cyclohexane. Ces expériences ne permettent malheureusement pas de déterminer si ces liaisons sont du type intramoléculaire ou intermoléculaire.

Figure 56. Expérience de titrage au DMSO pour les composés **43** (A), **44** (B), **45** (C) et **46** (D)

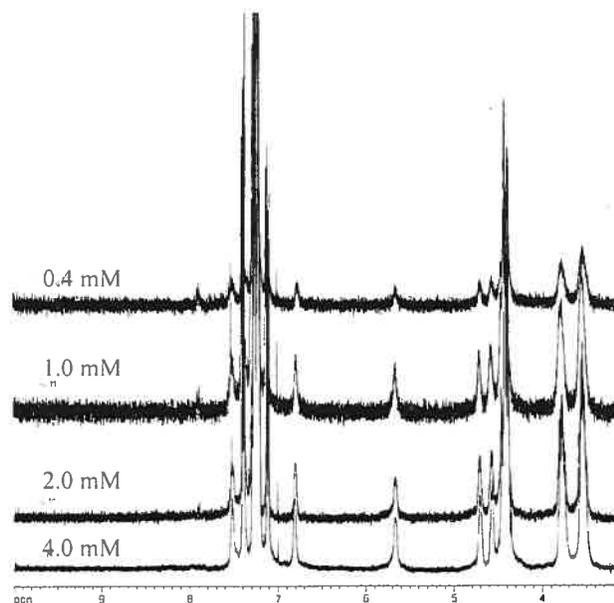




Pour vérifier le degré d'association des molécules entre elles, une expérience de variation de concentration en RMN ^1H (de 0.4 mM à 4 mM) a été réalisée sur

le composé bromé **46** (nous avons choisi ce composé comme étant représentatif de la série *sérine*). Cette expérience ne montre aucun déplacement significatif des signaux avec l'augmentation de la concentration, ce qui indique que les molécules sont fortement associées même en solution très diluée.

Figure 57. Expérience de dilution en RMN ^1H pour le composé **46**

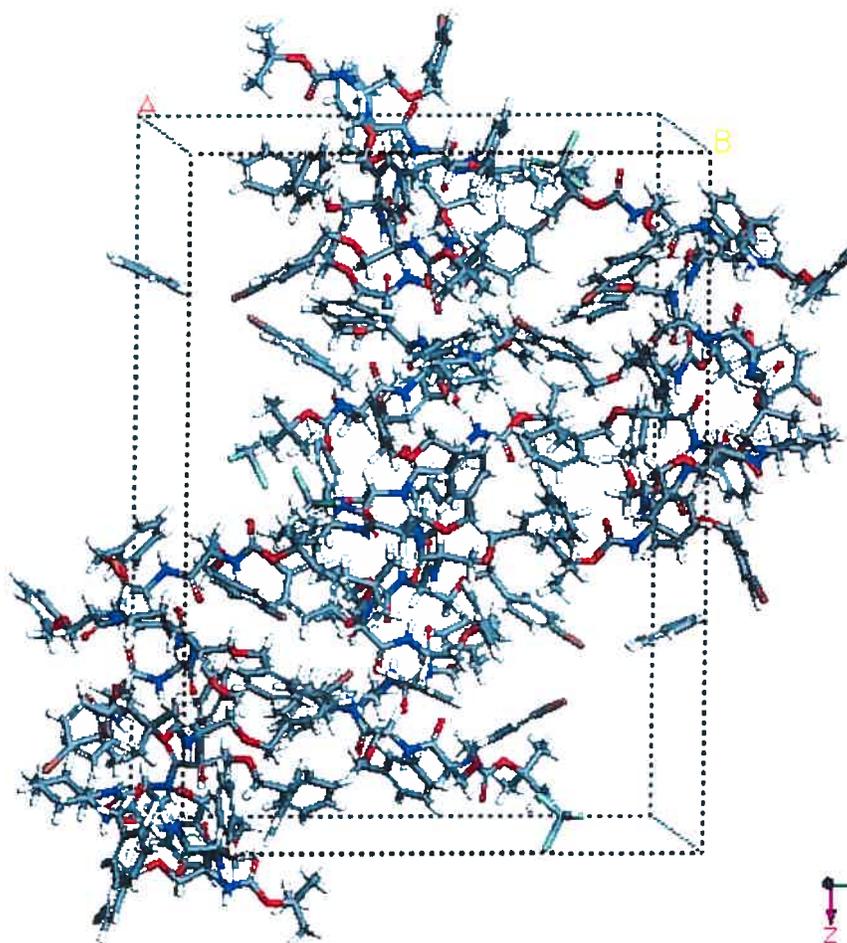


3.2.2. Etude à l'état solide

Pour avoir une meilleure idée de la conformation des dérivés peptidiques du diaminocyclohexane en solution, il était important d'obtenir une structure à l'état solide qui permettrait de rationaliser les données obtenues par RMN, CD et FTIR. Etant donné que la plupart des composés de la série *alanine* se présentaient sous la forme de poudres amorphes, nous nous sommes concentrés sur la série *sérine* qui donnait des produits cristallins, mais pas d'assez bonne qualité pour l'analyse de diffraction aux rayons X. Nous avons donc décidé de synthétiser le dérivé bromé avec trois unités sérine sur chaque branche, qui heureusement donne des cristaux appropriés dans un mélange benzène/chloroforme sous une atmosphère d'hexane.

La structure obtenue correspond à un assemblage de molécules formant une colonne tubulaire infinie stabilisée par liaisons hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires.

Figure 58. Structure cristalline du composé 46 obtenue par diffraction des rayons X: schéma de la maille unitaire



Les colonnes sont placées les unes à côté des autres, sans aucune interaction particulière, avec des molécules de benzène et de chloroforme dans l'espace libre. Entre les colonnes, on peut observer des cavités qui se répètent le long de l'axe z. Ces cavités sont de deux types, selon le volume qu'elles occupent : 58 \AA^3 pour la plus grosse, 11 \AA^3 pour l'autre.

Chaque colonne est constituée de tétramères associés les uns aux autres par des liaisons hydrogène intermoléculaires. Pour décrire le tétramère, il faut d'abord considérer la structure d'une unité monomère seule. Chaque molécule présente une conformation en hélice avec trois liaisons hydrogène intramoléculaires entre les deux branches peptidiques qui se replient l'une sur l'autre. Une de ces liaisons correspond à une boucle à 7 atomes dans une sorte de tour γ (NH du cyclohexane avec le C=O de la première sérine) et les deux autres correspondent à des boucles de 16 atomes (NH de la première sérine avec la C=O de la troisième sérine), avec un agencement comparable à un feuillet β antiparallèle. Selon nos connaissances, il n'existe pas de structure hélicoïdale semblable rapportée jusqu'à présent dans la littérature pour des peptides α alternant les configurations L et D.

Figure 59. Structure cristalline du composé 46 : conformation du monomère

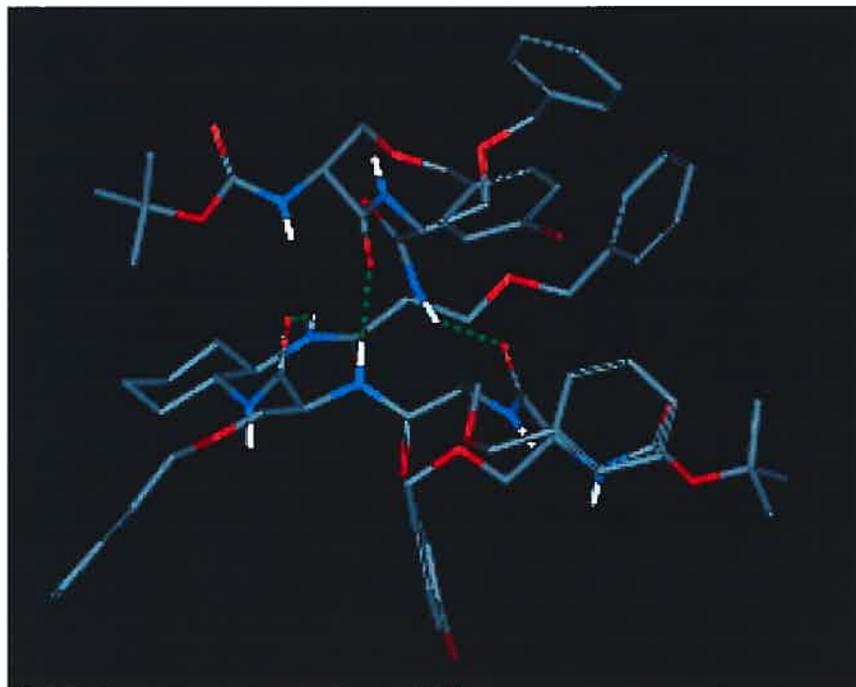
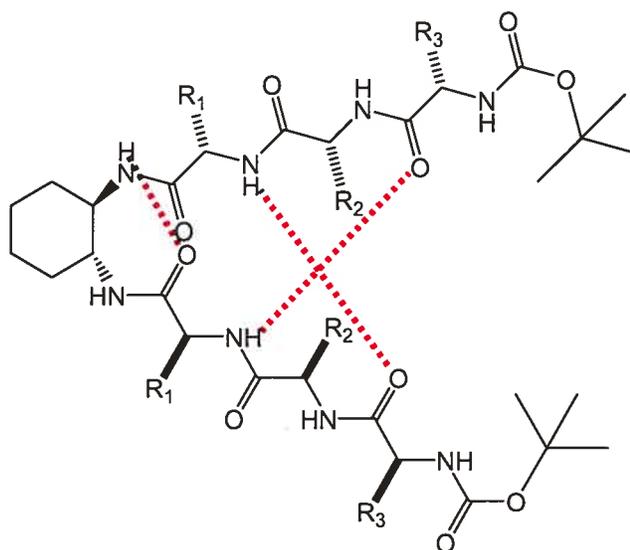


Figure 60. Représentation des liaisons hydrogène intramoléculaires



Chaque molécule associe une branche avec la molécule se trouvant au-dessus et une branche avec la molécule se trouvant en dessous, par l'intermédiaire de liaisons hydrogène intermoléculaires. Cette association est du type tête-queue.

Il est intéressant de noter que la molécule se trouvant au dessus et la molécule se trouvant en dessous sont différentes de par l'agencement de leurs liaisons hydrogène intermoléculaires: on observe ainsi une alternance de molécule de type A et de molécule de type B (voir figure suivante).

On distingue 4 liaisons hydrogène intermoléculaires dont deux sont bifurquées : NH cyclohexane avec C=O du Boc, NH deuxième sérine avec C=O deuxième sérine (2 fois) et NH troisième sérine avec C=O deuxième sérine (juste une branche sur les deux). Ce schéma de liaisons H correspond sans ambiguïté à celui d'un feuillet β de type antiparallèle, ce qui rapproche cette nouvelle structure de celle de la gramicidine A.

Figure 61. Association entre les monomères

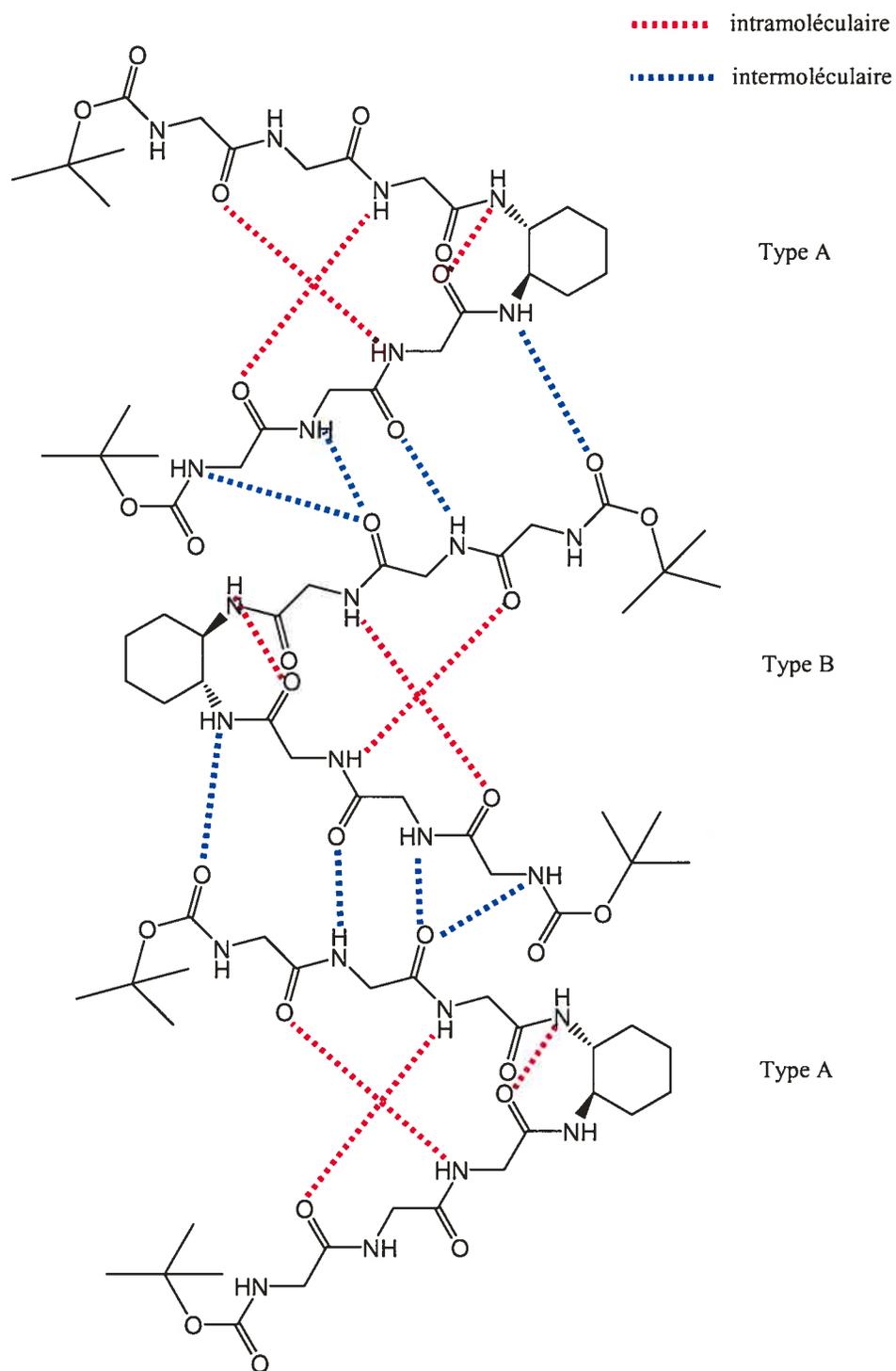
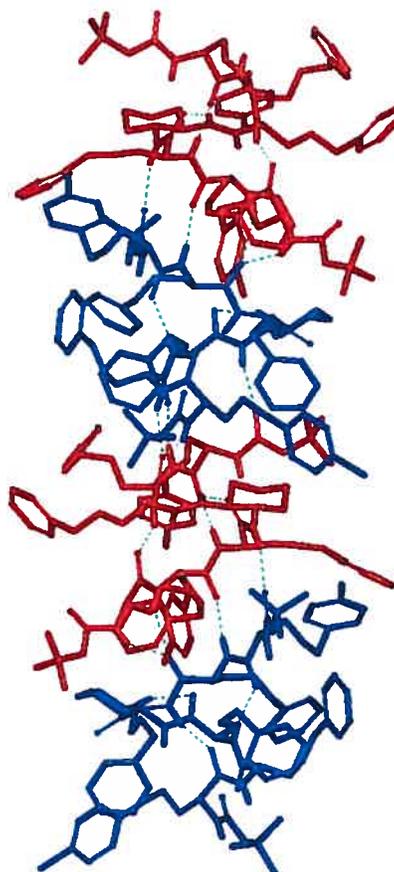


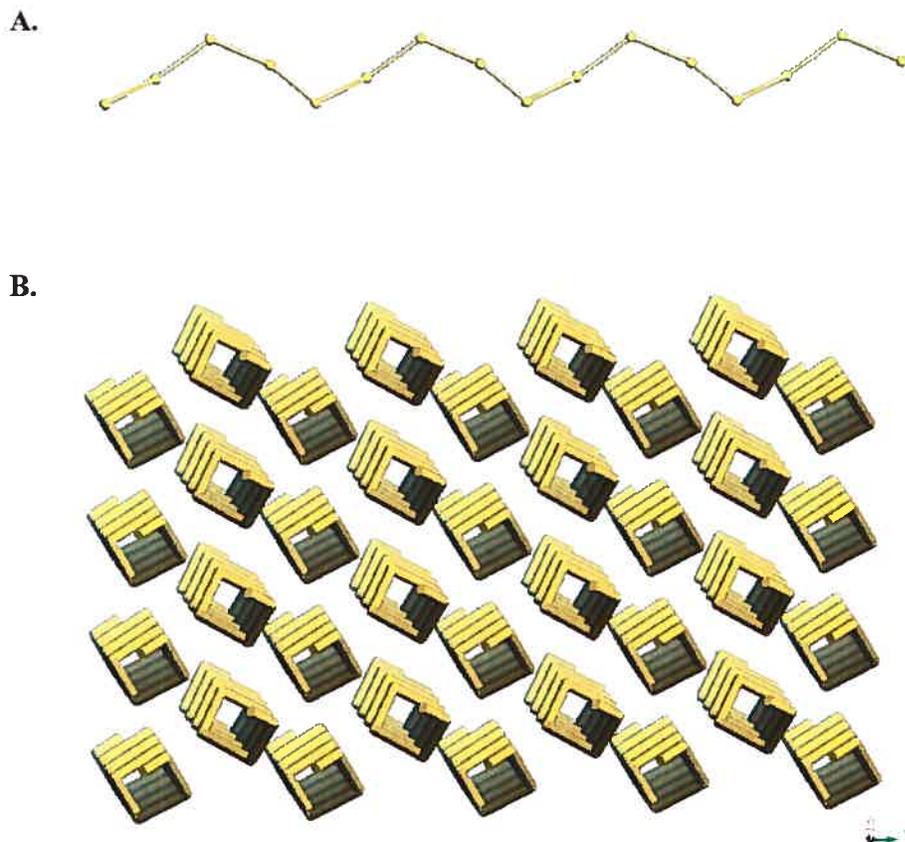
Figure 62. Structure cristalline du composé 46 : association de 4 molécules



On peut noter que cet agencement de liaisons hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires laisse un carbonyle (première sérine) et un NH (troisième sérine de la même branche) libres.

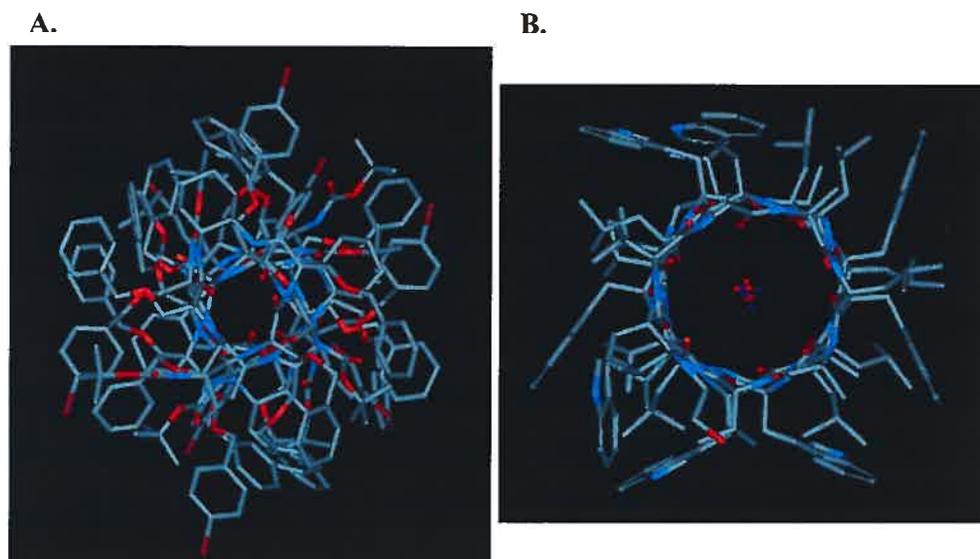
Comme il a été dit plus haut, les molécules s'associent sous la forme unitaire d'un tétramère : ceci est dû au fait que chaque molécule constitutive du tétramère place son unité cyclohexane dans un quadrant. Il faut donc « monter » de 4 molécules dans une colonne pour retrouver la même molécule. En reliant le centre de chaque cyclohexane d'une colonne, on obtient une hélice avec un pas de 4 unités monomériques (voir figure suivante).

Figure 63. Hélices formées par le centre de chaque cyclohexane : (A) vue latérale d'une colonne (B) vue selon l'axe z



Si l'on considère une colonne, on peut remarquer que celle-ci se présente sous la forme d'un tube, avec les groupements hydrophobes à l'extérieur (constituant en quelque sorte la paroi externe du tube) et avec les groupements polaires et les liaisons H à l'intérieur (paroi interne), créant ainsi un vide (de diamètre négligeable si l'on considère les rayons de Van der Waals) au centre même de la colonne. Le diamètre global d'une colonne est d'environ 17 Å.

Figure 64. Structure cristalline du composé **46** : (A) Vue en coupe d'un nanotube (B) Comparaison avec la Gramicidine A



3.3. Série sérine déprotégée

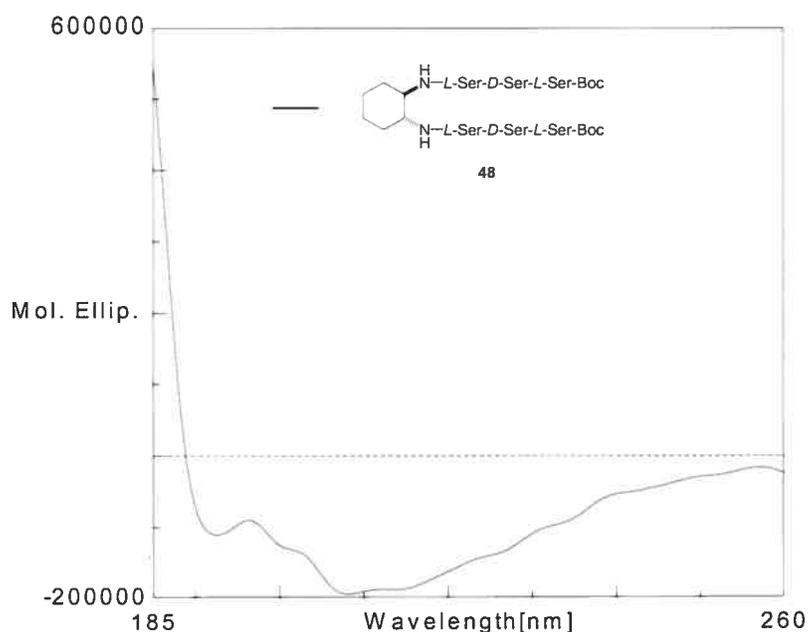
La conformation des composés de la série *sérine* en solution a été analysée à partir de données RMN, CD et FTIR.

Les spectres infrarouge des composés en solution diluée (1mM, CHCl₃) montrent une bande large vers 3340 cm⁻¹. Malheureusement, la bande d'absorption correspondant aux OH recouvre partiellement ou complètement la bande amide A, ce qui rend difficile l'attribution de cette bande large à l'une ou l'autre des fréquences d'élongation.

Comme pour la série *sérine* protégée, la fréquence de la bande amide I (1660 cm⁻¹) ne varie pas avec l'allongement des chaînes (non représenté ici).

Les spectres de dichroïsme circulaire ont été collectés en solution dans le méthanol avec des concentrations de l'ordre de 0.1 mM. Ces spectres sont semblables à ceux obtenus dans la série protégée et correspondent donc probablement au même type de structure.

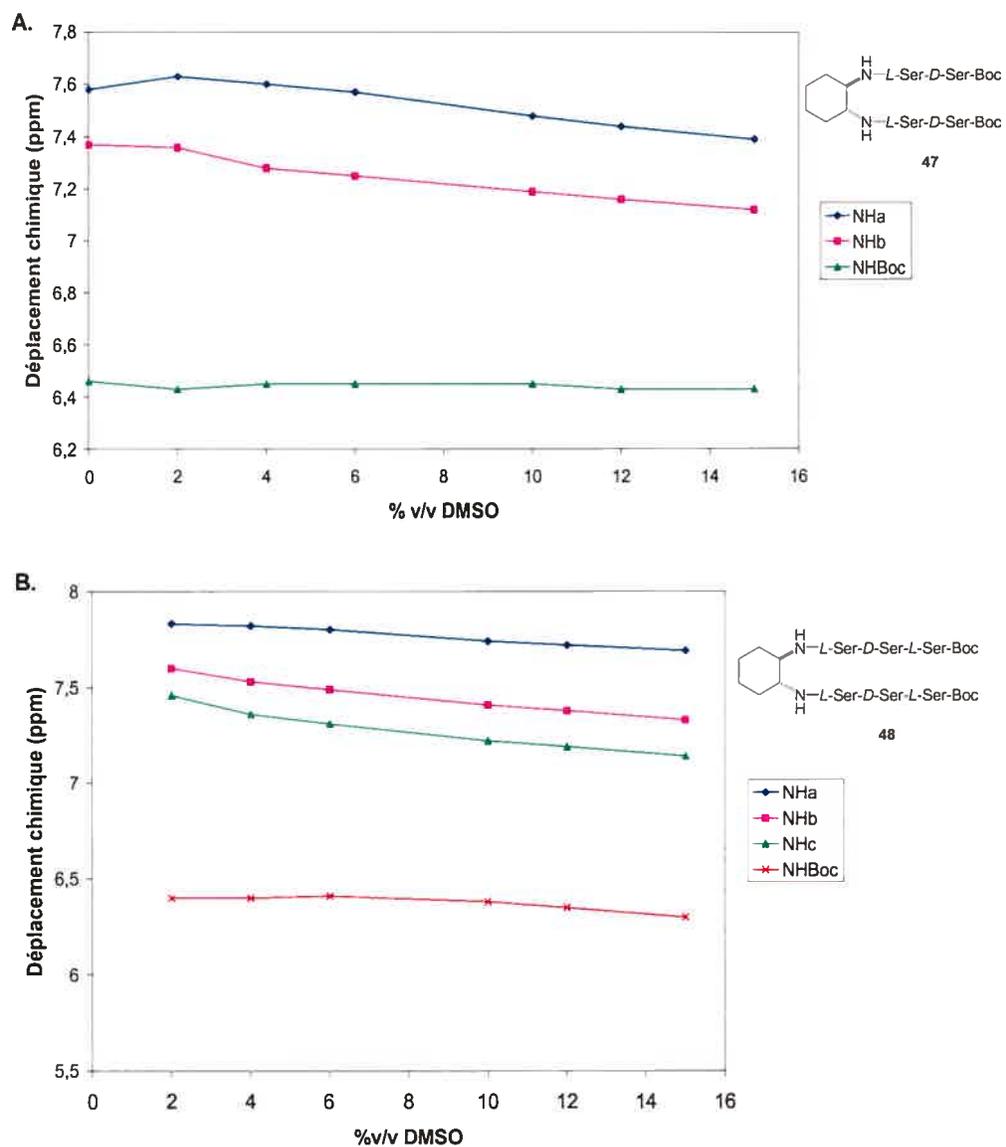
Figure 65. Spectre CD du composé **48** (série *sérine* non protégée)



La plupart des spectres RMN de la série *sérine* non protégée ont été réalisés en solution dans le CD_3OD car ces composés sont peu solubles dans le CDCl_3 . Comme pour la série protégée, on n'observe qu'un seul signal pour deux protons équivalents de deux branches différentes, ce qui indique que les molécules sont complètement symétriques.

Pour vérifier la présence de liaisons hydrogène, les expériences de titrage au DMSO (0-15% v/v) pour les composés **47** et **48** ont été effectuées dans le CDCl_3 . Ces expériences montrent que les NHs des résidus sérine et du cyclohexane sont liés par liaison hydrogène (variations assez faibles du déplacement chimique). Ces expériences ne permettent malheureusement pas de déterminer si ces liaisons sont du type intramoléculaire ou intermoléculaire.

Figure 66. Expérience de titrage au DMSO pour les composés 47 (A) et 48 (B)



Tous les composés de cette série se présentent sous la forme de poudre amorphe et il n'a pas été possible malheureusement d'obtenir des cristaux pour l'analyse par diffraction des rayons X.

4. Conclusion et perspectives

Nous avons décrit dans ce chapitre la synthèse et l'étude conformationnelle de dérivés peptidiques de la diaminocyclohexane en solution et, pour l'une des séries, à l'état solide. Le motif (*1R, 2R*)-diaminocyclohexane est utilisé comme un espaceur sur lequel sont greffées deux branches peptidiques symétriques, constituées d'acides aminés α alternant les configurations L et D. Les acides aminés alanine, sérine et sérine protégée avec un groupement benzyle ont été choisis pour étudier l'influence de la chaîne latérale dans la stabilisation d'une éventuelle structure tridimensionnelle.

Les études RMN, IR et CD ont montré la présence d'une conformation stabilisée par liaisons hydrogène en solution. Les données obtenues semblent montrer que cette conformation est une structure intermédiaire entre une hélice et un feuillet β , avec une association probable entre les molécules allant même jusqu'à la formation de gel dans le chloroforme pour le composé de la série alanine avec 4 unités par branche. Les expériences réalisées ne permettent cependant pas de déterminer la part de liaisons hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires. D'autre part, la structure semble être la même dans les différentes séries, ce qui indique une faible influence de la chaîne latérale.

L'analyse par diffraction aux rayons X des cristaux du dérivé bromé de la série sérine a permis d'obtenir une idée plus précise de la conformation tridimensionnelle. Les molécules présentent une conformation hélicoïdale stabilisée par 3 liaisons H intramoléculaires dont deux sont de type feuillet β antiparallèle, avec les deux branches se repliant l'une sur l'autre. Cette conformation est sans précédent à notre connaissance. Ces molécules s'associent en colonnes tubulaires, avec les groupements hydrophobes constituant la paroi de ces nanotubes. Cette association se fait par l'intermédiaire de liaisons H intermoléculaires de type feuillet β antiparallèle et selon un arrangement tête-queue, ce qui rapproche la structure globale de celle de la Gramicidine A.

Parmi les perspectives d'études complémentaires à réaliser sur ce projet, il serait intéressant de synthétiser des dérivés avec des chaînes peptidiques plus

longues (en augmentant le nombre d'acides aminés α ou bien en utilisant des acides aminés non naturels tels que les AAs β ou γ) pour vérifier si la structure en nanotube est conservée ou tout simplement si le peptide redevient flexible. Le cas échéant, il faudrait déterminer si la largeur du pore augmente ou si les branches d'un monomère continuent de se replier et forment une hélice plus longue.

Il serait également intéressant d'étudier plus en détail l'influence des groupements latéraux des peptides, notamment utiliser des acides aminés avec des chaînes latérales permettant des interactions supplémentaires (la lysine ou l'acide aspartique par exemple, ou bien des AAs hydrophobes). Ceci permettrait peut-être de trouver des molécules ayant une activité biologique de type antibactérien, avec un mode d'action semblable à la gramicidine A.

De même, il serait intéressant d'essayer de co-cristalliser les nanotubes avec des ions tels que Cs^+ , K^+ ou Na^+ , pour vérifier s'il est possible d'utiliser ces nanotubes comme canaux ioniques.

Section expérimentale

Notes générales

1. Analyse des composés synthétisés

1.1. Points de fusion

Les points de fusion sont mesurés sur un appareil Büchi B-540. Les valeurs obtenues n'ont pas été corrigées.

1.2. Pouvoirs rotatoires

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés à l'aide d'un polarimètre Perkin Elmer 241 à 20°C dans une cellule de 10 cm de longueur contenant un volume de 1 mL. Seule la longueur d'onde de la lampe de sodium à 589 nm a été utilisée. Les valeurs de $[\alpha]$ sont rapportées sans unités, ces dernières étant implicites (deg.mL / g.dm).

1.3. Résonance magnétique nucléaire

Les spectres 1D proton (^1H) et carbone (^{13}C) ainsi que les spectres de corrélation homo- et hétéro-nucléaires 2D et les expériences de variation de température ont été enregistrés sur un des appareils suivants : Bruker AMX-300 (^1H , 300 MHz ; ^{13}C , 75 MHz), Bruker ARX-400 (^1H , 400 MHz ; ^{13}C , 100 MHz), Bruker AV-300 (^1H , 300 MHz ; ^{13}C , 75 MHz), Bruker AV-400 (^1H , 400 MHz ; ^{13}C , 100 MHz) et Bruker DMX-600 (^1H , 600 MHz ; ^{13}C , 125 MHz). Les déplacements chimiques sont mesurés en partie par million (ppm) selon l'échelle δ par rapport aux références internes des solvants usuels. Les symboles utilisés pour décrire la multiplicité sont les suivants : *s* (singulet), *d* (doublet), *t* (triplet), *q* (quadruplet), *quint* (quintuplet), *dd* (doublet de doublet), *dt* (doublet de triplet), *m* (multiplet). Les valeurs de constante de couplage *J* sont exprimées en Hertz (Hz).

1.4. Spectrométrie de masse

Les spectres de masse ont été mesurés sur un spectromètre Autospec de micromass EBETOF pour les hautes et basses résolutions, en utilisant une source LSIMS, avec les techniques EI ou FAB. Les masses utilisées pour le calcul des

masses moléculaires sont : H = 1.0078246, C = 12.000, N = 14.0037032, O = 15.9949141.

1.5. Cristallographie

Les mesures de diffraction des rayons X ont été effectuées en utilisant un diffractomètre Nonius CAD-4 avec radiation monochromatique provenant d'une source de cuivre ($\text{CuK}\alpha$). Les structures ont été résolues à l'aide des programmes SHELX 76, SHELX 86 ou SHELX 93. Les rapports de cristallographie sont inclus en annexe.

1.6. Spectroscopie infrarouge

Les spectres infrarouge des produits ont été enregistrés sur un spectromètre Pelkin-Elmer FTIR Paragon 1000 en utilisant une couche mince du produit sur une plaque de NaCl ou en dispersant une quantité infime de produit solide dans du KBr et en faisant une pastille. Les mesures réalisées en solution ont été effectuées dans le chloroforme à une concentration de 1mM dans une cellule de NaCl de longueur 1 mm. Seules les fréquences pertinentes à l'identification d'un groupement fonctionnel précis ou une conformation sont rapportées.

1.7. Dichroïsme circulaire

Les mesures de dichroïsme circulaire ont été effectuées sur un spectromètre Jasco-710 en utilisant une cellule de quartz de longueur 0.01 cm, en solution diluée (0.1 mM) dans le méthanol.

2. Purification des produits

2.1. Chromatographie sur couche mince

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques commerciales (Merck, 0.025 x 2 x 10 cm) sur support de verre, couvertes

de gel de silice GF-UV254, imprégnées d'un indicateur fluorescent. Cette technique est utilisée pour suivre la progression des réactions et estimer la pureté des produits.

2.2. Chromatographie sur colonne de silice

La méthode de chromatographie sur colonne utilisée est décrite sous le nom de « flash chromatography ». ⁶⁹ Le type de gel utilisé est Kieselgel (E. Merck, no. 9385) de 40-63 mm (maille de 230-400 mesh).

2.3. Révélateurs pour chromatographie sur couche mince

2.3.1. Lumière UV

Les produits ayant des chromophores absorbant l'ultraviolet sont détectés en exposant directement la plaque CCM à la lumière UV (254 nm).

2.3.2. Permanganate de potassium

KMnO₄ (3 g) est dissout dans de l'eau (300 mL) et K₂CO₃ est ajouté (20 g), puis NaOH (5 mL d'une solution aqueuse à 5%). Les plaques de CCM y sont trempées puis chauffées à 300°C si nécessaire.

2.3.3. Molybdate de cérium et d'ammonium

On mélange 10 g de CeSO₄ et 25 g de (NH₄)₆Mo₉O₃₄.4H₂O dans 900 mL d'eau et 100 mL de H₂SO₄ concentré. Les plaques de CCM y sont trempées puis chauffées à 300°C si nécessaire.

3. Purification des solvants et réactifs

3.1. Solvants usuels

Le toluène, le THF, le dichlorométhane et l'éther sont purifiés à travers un système SDS (Solvent Dispensing System). Les autres solvants sont achetés de qualité spectroscopique et utilisés immédiatement après distillation sous atmosphère d'argon sec et sur agents desséchants.

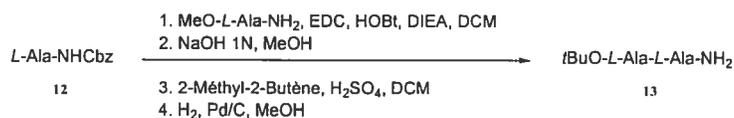
3.2. Réactifs et réactions anhydres

Les réactions qui requièrent des conditions anhydres sont effectuées sous atmosphère d'argon, avec de la verrerie flambée et des aiguilles préalablement séchées à l'étuve.

Sauf indication contraire, les réactifs commerciaux sont utilisés directement sans aucune purification.

Section expérimentale du chapitre 1
Indanopyrrolidines et peptides correspondants

Synthèse de (*L*-Ala)₂-OtBu (13).



A une solution refroidie à 0 °C de Cbz-*L*-alanine (3.46 g, 15.5 mmol) dans 60 mL de dichlorométhane, sont ajoutés l'hydrochlorure de l'ester méthylique de *L*-alanine (1.8 g, 12.9 mmol), HOBt (2.61 g, 19.3 mmol), EDC (3.70 g, 19.3 mmol), et la diisopropyléthylamine (5.6 mL, 2.5 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0°C et 24 h à température ambiante, H₂O (50 mL) est alors ajouté au mélange réactionnel. Les phases sont séparées et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ (2 × 30 mL), une solution saturée de NaCl (1 × 30 mL), puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / Hexanes, 1:1). N-Cbz-(*L*-Ala)₂-OMe est obtenu sous forme de solide blanc (3.46 g, 87 %).

A une solution de Cbz-(*L*-Ala)₂-OMe (3.39 g, 11.0 mmol) dans 50 mL de méthanol est ajoutée une solution aqueuse de NaOH 1N (22 mL, 22 mmol) à 0 °C. Le mélange est agité pendant 3 h à cette température. Une fois la saponification terminée, la solution est neutralisée avec 1.2 N HCl et concentrée sous pression réduite du méthanol, puis acidifiée jusqu'à pH 3 et extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 × 50 mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl (1 × 50 mL), séchées (Na₂SO₄) et évaporées sous vide pour donner Cbz-(*L*-Ala)₂ (3.18 g, 98%). Le composé obtenu possède les mêmes données spectroscopiques que celles rapportées dans la littérature⁷⁰ et est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

Cbz-(*L*-Ala)₂ (3.092 g, 10.5 mmol) est mis en suspension dans 170 mL de dichlorométhane à -78 °C. Du 2-méthyl-propène condensé (*ca.* 40 ml) est ajouté par cannule à la suspension et le mélange est laissé remonter à température ambiante. De l'acide sulfurique (950 µL, 17.85 mmol) est alors ajouté au mélange. La solution est agitée pendant 12 h à température ambiante, puis l'isobutène est évaporé sous pression réduite. La solution est alors lavée avec de l'eau (100 mL) et une solution saturée de NaHCO₃. La phase organique est ensuite neutralisée avec du NaHCO₃ solide, séchée (Na₂SO₄) et évaporée sous

vide. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt/Hexanes, 1/3 à 1/2) pour donner Cbz-(*L*-Ala)₂-OtBu (3.43 g, 93%) qui possède les mêmes données spectroscopiques que celles rapportées dans la littérature.⁷¹

Cbz-(*L*-Ala)₂-OtBu (3.39 g, 9.67 mmol) est dissous dans du méthanol (50 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (340 mg, 10% w/w) pendant 36 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est évaporé sous vide pour donner 2.1 g (quantitatif) de (*L*-Ala)₂-OtBu sous forme d'huile incolore.

$[\alpha]_D -6$ (*c* 1.0, CHCl₃);

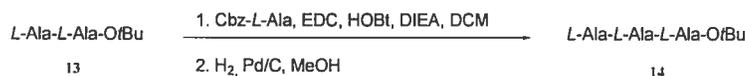
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) : 7.70-7.68 (1H, m), 4.45-4.35 (1 H, quint, *J* = 7.2 Hz), 3.50-3.43 (1 H, q, *J* = 6.9 Hz), 1.50-1.40 (9 H, s), 1.35-1.28 (6 H, m);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) : δ (ppm) : 175.6, 172.7, 82.1, 51.0, 48.5, 28.3, 22.1, 19.0;

MS (EI) *m/e* 216 [M]⁺;

HRMS (EI) calc. pour C₁₀H₂₀N₂O₃ 216.14739; obtenu 216.14778.

Synthèse de (*L*-Ala)₃-OtBu (14).



A une solution refroidie à 0 °C de (*L*-Ala)₂-OtBu (2.0 g, 9.25 mmol) dans 45 mL de dichlorométhane, sont ajoutés Cbz-*L*-alanine (2.48 g, 11.1 mmol), HOBt (1.88 g, 13.9 mmol), EDC (2.66 g, 13.9 mmol), et la diisopropyléthylamine (4.0 mL, 2.5 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 12 h à température ambiante. De l'eau (40 mL) est ensuite ajoutée au mélange réactionnel et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ (2 × 40 mL), une solution saturée de NaCl (1 × 40 mL), séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide obtenu est lavé avec de l'éther diéthylique (3 × 20 mL) et séché sous vide. Cbz-(*L*-Ala)₃-OtBu est obtenu sous forme de solide blanc (3.11 g, 80 %) et utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

Cbz-(*L*-Ala)₂-*O**t*Bu (3.0 g, 7.12 mmol) est dissous dans du méthanol (50 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (150 mg, 5% w/w) pendant 36 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite®, le solvant est évaporé sous vide pour donner 2.1 g (99%) de (*L*-Ala)₃-*O**t*Bu sous forme de solide blanc.

$[\alpha]_D -65$ (*c* 0.85, MeOH);

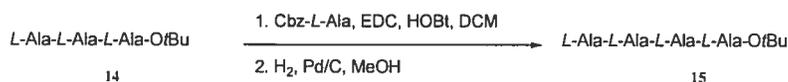
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) : 7.79-7.76 (1 H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.90-6.94 (1 H, d, *J* = 7.2 Hz), 4.52-4.42 (1 H, quint, *J* = 7.1 Hz), 4.42-4.32 (1 H, quint, *J* = 7.2 Hz), 3.54-3.47 (1 H, q, *J* = 7.0 Hz), 2.35-2.15 (2 H, s large), 1.47-1.43 (9 H, s), 1.38-1.28 (9 H, m);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) : δ (ppm) : 176.0, 172.3, 172.2, 82.2, 50.9, 49.1, 48.7, 28.3, 21.8, 18.9, 18.6;

MS (EI) *m/e* 287 [M]⁺;

HRMS (EI) calc. pour C₁₃H₂₅N₃O₄ 287.18450; obtenu 287.18493.

Synthèse de (*L*-Ala)₄-*O**t*Bu (15).



A une solution refroidie à 0 °C de (*L*-Ala)₃-*O**t*Bu (2.0 g, 6.72 mmol) dans 70 mL de dichlorométhane/DMF 1/1, sont ajoutés Cbz-*L*-alanine (1.80 g, 8.07 mmol), HOBt (1.365 g, 10.1 mmol), EDC (1.94 g, 10.1 mmol), et la diisopropyléthylamine (3.0 mL, 2.5 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 17 h à température ambiante. De l'eau (100 mL) et du chloroforme (100 mL) sont ensuite ajouté au mélange réactionnel et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (2 × 80 mL), une solution saturée de NaCl (1 × 40 mL), séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide obtenu est lavé avec de l'éther diéthylique (3 × 50 mL) et séché sous vide. Cbz-(*L*-Ala)₄-*O**t*Bu est obtenu sous forme de solide blanc (2.88 g, 85 %) et est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

Cbz-(L-Ala)₄-OtBu (1.5 g, 2.98 mmol) est dissous dans du méthanol/éthanol 1/1 (50 mL) avec 2 gouttes d'acide acétique et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (75 mg, 5% w/w) pendant 14 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est co-éaporé sous vide avec du toluène pour donner 1.2 g (quantitatif) de (L-Ala)₄-OtBu sous forme de solide blanc.

$[\alpha]_D -77$ (*c* 1.0, MeOH);

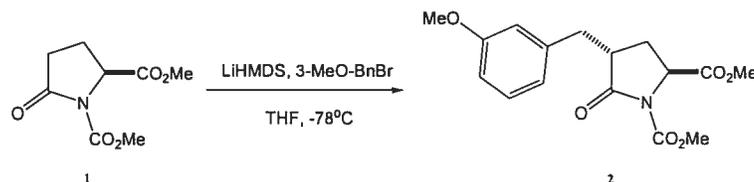
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ (ppm) : 7.74-7.71 (1 H, d, *J* = 7.0 Hz), 6.92-6.90 (1 H, d, *J* = 6.4 Hz), 6.64-6.62 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.46-4.36 (3 H, m), 3.56-3.49 (1 H, q, *J* = 6.3 Hz), 2.10-1.99 (2 H, s large), 1.46 (9 H, s), 1.44-1.33 (12 H, m);

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ (ppm): 175.3, 173.4, 172.8, 172.6, 81.1, 50.7, 49.3, 48.8, 48.7, 28.5, 22.6, 21.8, 19.4, 17.8;

MS (EI) *m/e* 358 [M]⁺;

HRMS (EI) calc. pour C₁₆H₃₀N₄O₅ 358.22162; obtenu 358.22150.

Synthèse de (1S, 4S)-4-(3-méthoxy-benzyl)-5-oxo-pyrrolidine-1,2-dicarboxylate de diméthyle (2).



A une solution de pyroglutamate de méthyle (10 mmol) dans du THF (50 mL) agitée à -78°C est ajoutée une solution 1 M de lithium hexaméthylidisilazide dans du THF (12 mL, 1.2 équiv) goutte-à-goutte. Après avoir agité le mélange réactionnel à -78°C pendant 1 h, le bromure de meta-méthoxy-benzyle (12 mmol, 1.2 équiv) dans du THF (6 mL) est ajouté par seringue et l'agitation est poursuivie pendant 2 h à -78°C . Le mélange réactionnel est ensuite neutralisé par l'ajout d'une solution aqueuse saturée de NH₄Cl (50 mL) et extrait avec de l'acétate d'éthyle (3 x 50 mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl (20 mL), séchées (Na₂SO₄), filtrées et évaporées à sec.

Le produit est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (Hexanes/AcOEt, 65/35), et est obtenu sous forme de solide blanc (1.8 g, 56%);

p.f.: 73-74°C;

[α]_D -24 (*c* 1.0, CHCl₃);

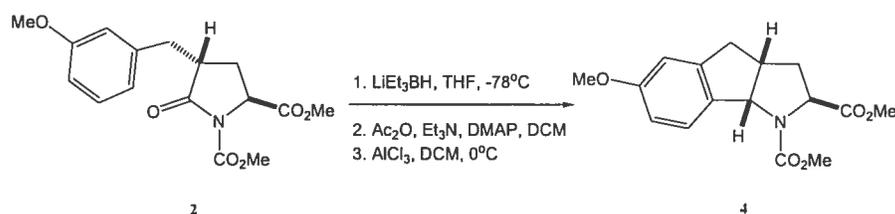
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 2.0-2.15 (m, 2H), 2.62-2.67 (dd, 1H, *J*=9.4, 13.9 Hz), 2.88-3 (d, 1H, *J*=15.7 Hz), 3.22-3.26 (dd, 1H, *J*=13.8, 4.2 Hz), 3.74 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 4.57 (dd, 1H, *J*=9.1, 1.7 Hz), 6.71-6.78 (m, 3H), 7.25-7.16 (d, 1H, *J*=7.7 Hz);

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 28.1, 36.0, 43.2, 52.6, 53.8, 55.0, 56.6, 111.8, 114.6, 121.2, 129.6, 151.8, 159.7, 139.5, 171.2, 173.6;

HRMS (FAB) calc. pour C₁₆H₂₀NO₆ [*M*+*H*]⁺: 322.12906; obtenu: 322.12990;

Anal. Elem. calc. pour C₁₆H₁₉NO₆: C, 59.81; H, 5.96; N, 4.36. obtenu: C, 59.74; H, 6.30; N, 4.33.

Synthèse de (2*S*, 3*aS*, 8*aR*)-6-méthoxy-1,3*a*,8,8*a*-tetrahydro-2*H*-3-aza-cyclopenta[*a*]indène-2,3-dicarboxylate de diméthyle (4).



A une solution du pyroglutamate (5 mmol) dans du THF (40 mL), est ajoutée une solution 1 M de triéthylborohydrure de lithium (Super-Hydride[®], 6 mL, 1.2 équiv) goutte-à-goutte à -78 °C. Le mélange est agité à cette température pendant 30 minutes, puis neutralisé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (13 mL), et la température est laissée remonter jusqu'à 0 °C. Puis 35 gouttes de H₂O₂ (30% w/w) sont ajoutées au mélange, qui est agité à 0 °C pendant 30 minutes. La phase aqueuse est alors extraite avec de l'éther (3 x 30 mL) les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl (10 mL), séchées (Na₂SO₄), filtrées et évaporées à sec.

L'hémiaminal non purifié est dissous dans du CH_2Cl_2 (30 mL), et la solution sous agitation est refroidie à 0 °C. De la triéthylamine (2.1 mL, 15 mmol, 3 équiv), 4-diméthylaminopyridine (0.12 g, 1 mmol, 0.2 équiv) et de l'anhydride acétique (1.4 mL, 15 mmol, 3 équiv) sont ensuite ajoutés. Après 30 minutes à 0 °C, le mélange réactionnel est laissé remonter à température ambiante et agité pendant la nuit, puis neutralisé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (30 mL). Le mélange est ensuite extrait avec du CH_2Cl_2 (2 x 30 mL) et les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl (10 mL), séchées (Na_2SO_4), filtrées et évaporées à sec. Le résidu est purifié rapidement par filtration à travers une couche de gel de silice et lavée avec un mélange AcOEt/Hexanes (1/1).

Après évaporation à sec, l'hémiaminal acétylé est dissous immédiatement dans du CH_2Cl_2 (90 mL), et la solution ainsi obtenue est agitée et refroidie à 0°C, avant d'ajouter du trichlorure d'aluminium (3.33 g, 25 mmol, 5 équiv) en une seule portion. Le mélange est alors agité à 0 °C pendant 1 h, puis neutralisé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (35 mL). Le mélange est extrait avec du CH_2Cl_2 (2 x 50 mL) et les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl (20 mL), séchées (Na_2SO_4), filtrées et évaporées à sec. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (Hexanes/AcOEt, 7/3) pour donner le produit sous forme de solide blanc (68%).

p.f. : 76-77 °C;

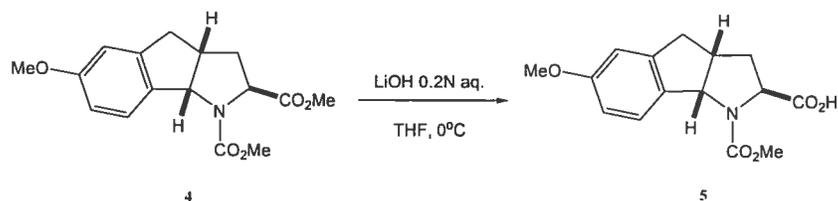
$[\alpha]_{\text{D}} -194$ (*c* 1.4, CHCl_3) ;

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) pour un mélange environ 1/1 de rotamères: δ (ppm): 1.83-1.96 (m, 1H), 2.14-2.25 (m, 1H), 2.69 (d, 1H, $J=19.5$ Hz), 2.98-3.18 (m, 2H), 3.74 (s, 1.5H), 3.75 (s, 1.5H), 3.77 (s, 1.5H), 3.78 (s, 1.5H), 3.88 (s, 1.5H), 4.32 (d, 0.5H, $J=8.9$ Hz), 4.34 (d, 0.5H, $J=8.9$ Hz), 5.39 (d, 0.5H, $J=7.5$ Hz), 5.50 (d, 0.5H, $J=7.5$ Hz), 6.66-6.77 (m, 2H), 7.40 (d, 0.5H, $J=8.4$ Hz), 7.68 (d, 0.5H, $J=8.4$ Hz) ;

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) : δ (ppm): (35), 35.5, 35.8, (36.3), 40.3, (41.53), 52.7, 53.1, (53.2), 55.8, 60.8, (61), (66.8), 67.6, 110.6, (110.7), 113.7, (113.8), (127.2), 128, (135.4), 136, 142.7, (143), (156.3), 156.5, (160.4), 160.4, (173.5), 173.6 ;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 306.13432; obtenu: 306.13452.

Synthèse de Acide (2S, 3aS, 8aR)-6-méthoxy-3-méthoxycarbonyl-1,3a,8,8a-tetrahydro-2H-3-aza-cyclopenta[a]indène-2-carboxylique (5).



A une solution sous agitation de l'ester méthylique tricyclique (5 mmol) dans du THF (45 ml) à température ambiante, une solution aqueuse 0.2 N d'hydroxyde de lithium (45 mL, 1.8 équiv) est ajoutée, et la solution légèrement jaune ainsi obtenue est agitée à température ambiante pendant 8 h. Le mélange réactionnel est alors neutralisé avec une solution aqueuse de HCl 3 N (3 mL), le THF est évaporé et la suspension résultante est acidifiée avec une solution aqueuse de HCl 3 N (1.5 mL) puis extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 x 50 mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées (Na_2SO_4), filtrées et évaporées à sec. La mousse blanche obtenue est utilisée dans l'étape suivante sans aucune autre purification (88%).

p.f.: 48-50 °C;

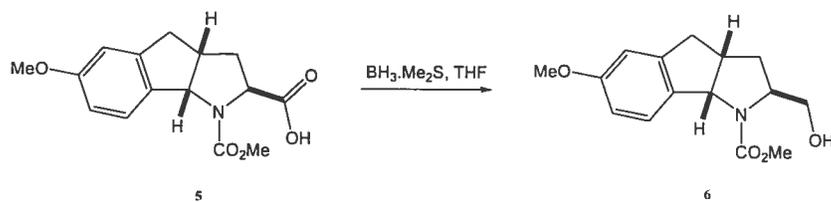
$[\alpha]_{\text{D}} -160$ (*c* 1.0, CHCl_3);

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) pour un mélange environ 1/1 de rotamères: δ (ppm): 1.88-1.98 (m, 1H), 2.27-2.33 (m, 1H), 2.67 (dd, 1H, $J = 16.3, 3.4$ Hz), 3.01-3.22 (m, 2H), 3.74 (s, 1.5H), 3.77 (s, 1.5H), 3.78 (s, 1.5H), 3.88 (s, 1.5H), 4.33 (d, 0.5H, $J=8.7$ Hz), 4.38 (d, 0.5H, $J=8.7$ Hz), 5.36 (d, 0.5H, $J=7.5$ Hz), 5.48 (d, 0.5H, $J=7.5$ Hz), 6.7-6.78 (2H, m), 7.39 (d, 0.5H, $J=8.4$ Hz), 7.68 (d, 0.5H, $J=8.4$ Hz);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm): (34.7), 34.9, (35.2), 35.7, (39.5), 41, (52.8), 52.9, 55.2, (60.4), 60.5, (66), 67, (110.1), 110.2, (113.3), 113.4, (126), 127.5, (134.8), 135.3, (142.3), 142.5, 156.2, 160, (177.1), 177.4;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 292.11867; obtenu: 292.11898.

Synthèse de (2*S*, 3*aS*, 8*aR*)-2-hydroxyméthyl-6-méthoxy-1,3*a*,8,8*a*-tetrahydro-2*H*-3-aza-cyclopenta[*a*]indène-3-carboxylate de méthyle (6).



A une solution sous agitation de l'acide précédent (2 g, 6.87 mmol) dans 35 mL de THF à température ambiante, une solution 2M de complexe borane-sulfure de diméthyle dans du THF (27.5 mL, 8 équiv) est ajoutée goutte-à-goutte. Le mélange réactionnel est alors agité à température ambiante pendant 5 h puis est neutralisé par l'addition de 35 mL de méthanol goutte-à-goutte (**ATTENTION**, dégagement d'hydrogène) et l'agitation est poursuivie pendant 1h. Le solvant est alors évaporé pour donner un résidu qui est dissous dans du CH₂Cl₂ (80 mL), lavé avec de l'eau (20 mL) puis une solution saturée de NaCl (20 mL), séché (Na₂SO₄), filtré et évaporé à sec. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt/Hexanes, 1/1) pour donner le produit sous forme de solide blanc (1.71 g, 90%).

p.f.: 130-131 °C;

$[\alpha]_D$ -142 (*c* 1.0, CHCl₃).

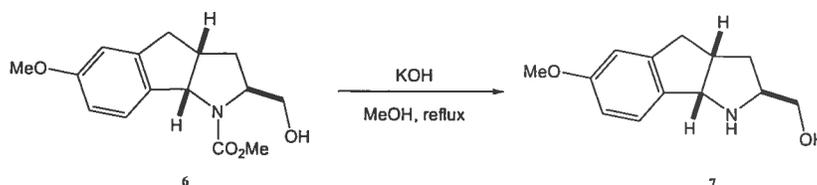
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) pour un mélange environ 3/1 de rotamères: δ (ppm) : 1.72-1.79 (m, 1H), 1.86-1.92 (m, 0.75H, majeur), 2.16-2.21 (m, 0.25H, mineur), 2.67—2.71 (d, 1H, *J*=14.7 Hz), 3.02-3.15 (m, 2H), 3.68-3.74 (m, 1H), 3.77 (s, 0.75H, mineur), 3.78 (s, 0.75H, mineur), 3.79 (s, 2.25H, majeur), 3.86 (s, 2.25H, majeur), 3.97-4.04 (m, 1H), 4.1-4.13 (dd, 1H, *J*=7.7, 2.9 Hz), 5.26-5.28 (d, 0.75H, *J*=7 Hz, majeur), 5.36-5.38 (d, 0.25H, *J*=7 Hz, mineur), 6.73-6.76 (m, 2H), 7.38-7.40 (d, 0.75H, *J*=8.35 Hz, majeur), 7.75-7.77 (d, 0.25H, *J*= 8.35 Hz, mineur);

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ (ppm) : 34.6, (34.8), (36), 36.3, (40.1), 41.4, (52.9), 53, 55.8, (60.2), 61.6, (64.5), 67.3, 67.4, 110.6, (113.5), 113.6, 127.3, (128.4), 135.2, (136.4), (143.3), 144, (156.4), 157.6, (160.3), 160.4;

HRMS (EI) calc. pour C₁₅H₁₉NO₄ [M]⁺: 277.13140; obtenu: 277.13085;

Anal. Elem. calc. pour $C_{15}H_{19}NO_4$: C, 64.97; H, 6.91; N, 5.05; obtenu: C, 64.31; H, 7.12; N, 4.86.

Synthèse de (2S, 3aS, 8aR)-(6-méthoxy-1,2,3,3a,8,8a-hexahydro-3-aza-cyclopenta[a]indèn-2-yl)-méthanol (7).



Un mélange du carbamate (400 mg, 1.44 mmol) et d'hydroxyde de potassium (5 g, 62 équiv) dans du méthanol (40 mL) est agité à reflux pendant 3 h, refroidi à 0 °C et neutralisé avec une solution aqueuse de HCl 6N. Le méthanol est alors évaporé et le pH est ajusté à 8-9 avec une solution aqueuse saturée de $NaHCO_3$. La phase aqueuse est ensuite extraite avec du CH_2Cl_2 (3 x 30 mL). Les phases organiques combinées sont séchées (Na_2SO_4), filtrées et évaporées à sec pour donner un solide jaune pâle (310 mg, 98%).

p.f.: 89-90 °C;

$[\alpha]_D^{20} +21$ (*c* 1.0, $CHCl_3$);

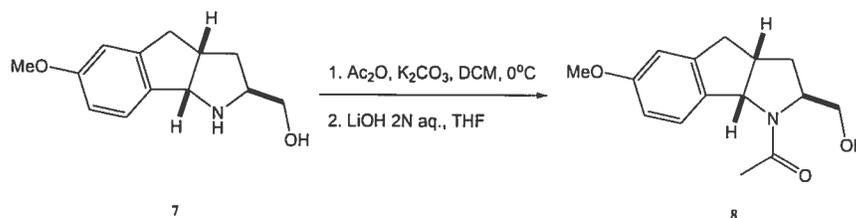
RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm): 1.55-1.60 (m, 1H), 1.84-1.91 (m, 1H), 2.67-2.72 (dd, 1H, $J=16.48, 3$ Hz), 2.96 (s large, 2H), 3.06-3.13 (m, 1H), 3.14-3.22 (m, 2H), 3.41-3.45 (dd, 1H, $J=10.9, 6.43$ Hz), 3.58-3.62 (dd, 1H, $J=10.9, 3.95$ Hz), 3.78 (s, 3H), 4.70-4.72 (d, 1H, $J=7$ Hz), 6.70 (s, 1H), 6.75-6.78 (dd, 1H, $J=8.3, 2.4$ Hz), 7.17-7.19 (d, 1H, $J=8.3$ Hz);

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 75 MHz): δ (ppm): 37.0, 39.6, 42.5, 55.8, 59.4, 64.2, 67.9, 109.9, 113.7, 125.6, 137.4, 145.3, 160.2;

HRMS (EI) calc. pour $C_{13}H_{17}NO_2$ $[M]^+$: 219.12592; obtenu: 219.12550;

Anal. Elem. calc. pour $C_{13}H_{17}NO_2$: C, 71.21; H, 7.81; N, 6.39; obtenu: C, 69.71; H, 7.88; N, 6.14.

Synthèse de (2S, 3aS, 8aR)-1-(2-hydroxyméthyl-6-méthoxy-1,3a,8,8a-tetrahydro-2H-3-aza-cyclopenta[a]indèn-3-yl)-éthanone (8).



A une solution du prolinol (71 mg, 0.324 mmol) dans 3.5 mL de dichlorométhane, refroidie à 0 °C, du carbonate de potassium (49 mg, 0.357 mmol) est ajouté et le mélange est agité vigoureusement pendant l'addition subséquente d'anhydride acétique goutte-à-goutte (37 µL, 0.389 mmol). Après 5 h à 0 °C, le produit de départ a totalement disparu (CCM, AcOEt/MeOH 90/10) . Le mélange est alors dilué avec du dichlorométhane (5mL) et extrait avec de l'eau (5 mL). La phase aqueuse est lavée avec du dichlorométhane (2 × 5mL) et les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl (5 mL), séchées (Na₂SO₄) et évaporées à sec. Le résidu (98.5 mg) est dissout dans 1.5 mL de THF et traité sous agitation avec LiOH 2N aqueux (0.162 mL, 0.324 mmol). Le système biphasique ainsi obtenu est agité à température ambiante pendant 2 h, puis dilué avec de l'acétate d'éthyle (5 mL) et de l'eau (5 mL). La phase organique est alors séparée et la phase aqueuse est lavée avec de l'acétate d'éthyle (2 × 5mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl (5 mL), séchées (Na₂SO₄) et évaporées à sec. Le produit brut est ensuite purifié par chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt/MeOH, 95/5) pour donner le produit sous forme de mousse blanche (73 mg, 86%).

p.f.: 106-108 °C;

[α]_D -246 (c 0.9, CHCl₃);

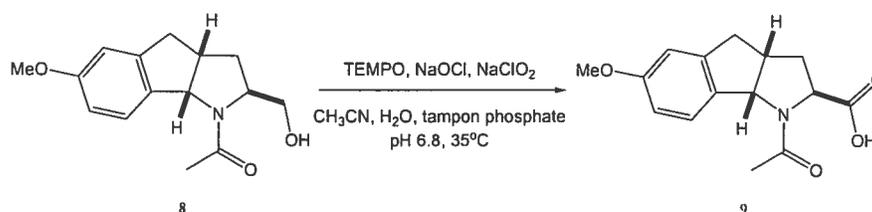
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) pour un mélange environ 1/1.6 de rotamères: δ (ppm) : 7.71, 7.23 (0.38 H, d, *J* = 9.0 Hz; 0.62 H, d, *J* = 9.0 Hz), 6.77, 6.71 (1.24 H, m; 0.76 H, m), 5.56, 5.29 (0.38 H, d, *J* = 7.4 Hz; 0.62 H, d, *J* = 6.5 Hz), 4.15-4.12, 3.90-3.88 (0.62 H, m; 0.38 H, m), 3.79, 3.77 (1.86 H, s; 1.14 H, s), 3.69-3.68 (1 H, m), 3.15-3.03 (2 H, m), 2.70-2.65 (2 H, dd, *J* = 15.7, 3.6 Hz), 2.44, 2.20 (1.86 H, s; 1.14 H, s), 1.90-1.88, 1.70-1.76 (0.76 H, m; 1.24 H, m);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 Hz): δ (ppm): 171.9, (171.0), 160.5, (160.2), 143.8, (143.2), (136.6), 133.8, (128.9), 125.7, 113.4, 111.6, (110.5), 68.8, (67.4), 67.3, (66.2), 62.2, (61.6), 55.8, 42.1, (39.6), (35.9), 35.6, (35.0), 34.3, 24.1, (23.3);

MS (FAB) m/e 262 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

HRMS (EI) calc. pour $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ 261.13649; obtenu 261.13744.

Synthèse de Acide (2S, 3aS, 8aR)-3-acétyl-6-méthoxy-1,2,3,3a,8,8a-hexahydro-cyclopenta[a]indène-2-carboxylique (Ac-L-TcaP-OH) (9).



A une solution de N-acétyl prolinol (65 mg, 0.25 mmol) dans l'acétonitrile (1.3 mL), un tampon de phosphate de sodium (0.95 mL d'une solution aqueuse 0.67 M de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ tamponnée à pH 6.8 avec de l'hydroxyde de sodium aqueux 2N) est ajouté et le mélange est agité vigoureusement à température ambiante pendant 5 minutes. Puis TEMPO (2.7 mg, 0.0175 mmol), une solution aqueuse de chlorate de sodium (45 mg dissous dans 0.45 mL d'eau, 0.5 mmol) et une solution commerciale d'eau de javel préalablement diluée avec de l'eau (0.114 mL d'une solution à 5.25 %, diluée dans 0.85 mL d'eau, 0.08 mmol), sont ajoutés successivement. La solution résultante rouge-marron est chauffée sous agitation à 35 °C pendant 15 h, puis refroidie à température ambiante, diluée avec de l'eau (2.0 mL). Le pH est ajusté à 8 par l'addition de 5 gouttes d'hydroxyde de sodium aqueux 2 N. La solution est alors refroidie à 0 °C et neutralisée avec une solution aqueuse de sulfite de sodium (64 mg dissous dans 1.21 mL d'eau), agitée pendant 30 minutes à 0 °C puis extraite avec de l'éther (2×10 mL). Les phases organiques sont jetées et la phase aqueuse est acidifiée (pH 2-3) avec HCl 1 N puis extraite avec de l'éther (2×10 mL) et du CH_2Cl_2 (5×10 mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées (Na_2SO_4) et évaporées à sec. Le produit brut Ac-L-TcaP-OH est obtenu sous

forme de mousse blanche et est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification (70 mg, 98%).

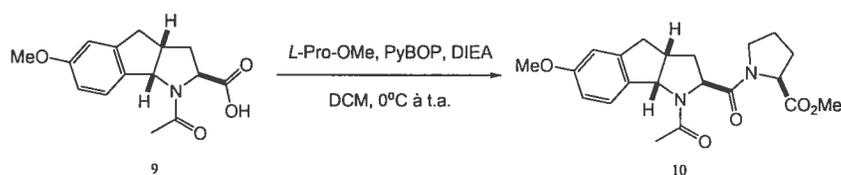
$[\alpha]_D -275$ (c 0.65, CHCl_3);

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) pour un mélange environ 1/1 de rotamères: δ (ppm) : 9.4-8.8 (1 H, s large), 7.66, 7.26 (0.5 H, d, $J = 8.3$ Hz; 0.5 H, d, $J = 7.6$ Hz), 6.80-6.71 (2 H, m), 5.68, 5.40 (0.5 H, d, $J = 7.0$ Hz; 0.5 H, d, $J = 7.0$ Hz), 4.49, 4.39 (0.5 H, d, $J = 9.2$ Hz; 0.5 H, d, $J = 8.7$ Hz), 3.80, 3.77 (1.5 H, s; 1.5 H, s), 3.37-3.25 (0.5 H, m), 3.11-3.05 (1.5 H, m), 2.73-2.66 (1 H, dd, $J = 15.9, 12.5$), 2.47 (1.5 H, s), 2.44-2.40, 2.36-2.31 (0.5 H, m; 0.5 H, m), 2.10 (1.5 H, s), 2.05-2.01, 1.85-1.79 (0.5 H, m; 0.5 H, m);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 Hz): δ (ppm) : (175.3), 174.8, (172.7), 171.9, (160.6), 160.3, (143.4), 142.6, 135.7, (133.6), 128.6, (125.8), 113.6, (111.6), 110.6, (68.2), 67.6, 62.3, (60.9), 55.8, (42.6), 39.9, (36.6), 35.5, 35.0, (34.1), (22.9), 22.5;

HRMS (EI) calc. pour $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ 275.11575; obtenu 275.11643.

Synthèse de Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro-OMe (10).



Ac-*L*-TcaP-OH (68 mg, 0.244 mmol), *L*-Pro-OMe.HCl (49 mg, 0.296 mmol) et PyBOP (180 mg, 0.346 mmol) sont dissous dans 6 mL de dichlorométhane et le mélange ainsi obtenu est refroidi à 0 °C. A cette solution est ajoutée goutte-à-goutte à 0°C de la diisopropyléthylamine (180 μL , 1.04 mmol) et le mélange de couleur jaune est agité à cette température pendant 30 minutes, puis pendant 48 h à température ambiante. Le mélange réactionnel est alors dilué avec du dichlorométhane et lavé successivement avec une solution aqueuse à 10 % de KHSO_4 (10 mL), une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (10 mL) et une solution saturée de NaCl (10 mL). La phase organique est séchée (Na_2SO_4) et évaporée à sec. L'huile orange résiduelle est purifiée par chromatographie flash

sur gel de silice (AcOEt/MeOH, 95/5). Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro-OMe est obtenu sous forme d'une mousse jaune pâle (78 mg, 82%);

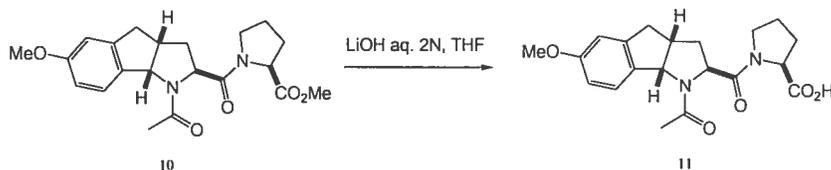
$[\alpha]_D -172$ (c 0.65, CH₂Cl₂);

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) pour un mélange environ 1/2.7 de rotamères majeurs: δ (ppm) : 7.69, 7.26 (0.27 H, d, $J = 8.5$ Hz; 0.73 H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.79-6.71 (2H, m), 5.72, 5.41 (0.27 H, d, $J = 7.6$ Hz; 0.73 H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.61-4.59 (1.73 H, m), 4.58 (0.27 H, d, $J = 4.2$ Hz), 3.79-3.73 (6.73 H, m), 3.56-3.41 (2.27 H, m), 3.08-3.03 (1 H, m), 2.68-2.64 (1 H, d, $J = 16.1$ Hz), 2.39 (2.19 H, s), 2.23-2.17 (2H, m), 2.05-1.95 (3 H, m), 1.94 (0.81 H, s), 1.78-1.76 (1 H, m);

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 Hz) : δ (ppm) : 173.4, (172.8), 171.0, (170.7), (170.5), 170.2, 160.4, (160.2), 143.6, (142.7), (136.6), 134.7, (128.6), 125.8, 113.5, 111.5, (110.5), 68.1, (67.8), (61.5), 59.7, (59.2), 59.0, 55.8, (55.7), (52.7), 52.5, 47.0, (46.9), 42.7, (39.6), (35.9), (35.7), 35.2, 33.8, 29.2, (29.0), (25.4), 25.3, 23.0, (22.9);

HRMS (EI) calc. pour C₂₁H₂₆N₂O₅ 386.18417; obtenu 386.18392.

Synthèse de Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro (11).



A une solution de Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro-OMe (65 mg, 0.168 mmol) dans 1.3 mL of THF, à température ambiante, une solution aqueuse 2N de LiOH (0.17 mL, 0.336 mmol) est ajoutée goutte-à-goutte et le système biphasique est agité à cette température pendant 3 h. Le THF est alors évaporé et le résidu dilué dans l'eau (5 mL), puis lavé avec de l'éther (2 × 5 mL). Les phases organiques sont jetées et la phase aqueuse est acidifiée à pH 3-4 avec HCl 1N, puis extraite avec du dichlorométhane (3 × 10 mL) puis avec un mélange dichlorométhane-méthanol 9/1 (3 × 10 mL). Les phases organiques combinées sont séchées (Na₂SO₄) et évaporées à sec pour donner un solide blanc (57 mg, 91 %);

p.f.: 134-136 °C, 153-154 °C (déc.);

$[\alpha]_D -209$ (c 0.5, CHCl_3);

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) pour un mélange environ 7/1 de rotamères majeurs:

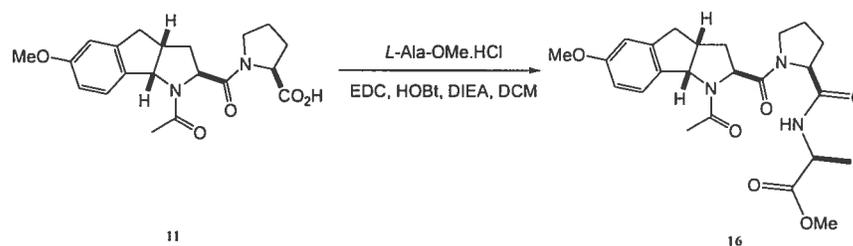
δ (ppm) : 7.68, 7.26 (0.12 H, d, $J = 8.1$ Hz; 0.88 H, d, $J = 5.5$ Hz), 6.81-6.72 (2 H, m), 5.75, 5.46 (0.12 H, d, $J = 7.0$ Hz; 0.88 H, d, $J = 7.0$ Hz), 4.68 (1 H, d, 5.8 Hz), 4.58, 4.52 (0.88 H, d, $J = 9.0$ Hz; 0.12 H, d, $J = 9.0$ Hz), 3.81, 3.78 (2.64 H, s; 0.36 H, s), 3.76-3.68 (1.76 H, m), 3.54-3.47 (2.24 H, m), 3.12-3.07 (1 H, dd, $J = 16.4$, 6.5 Hz), 2.71-2.67 (1 H, d, $J = 16.4$ Hz), 2.42 (3.52 H, m), 2.33-2.29 (0.12 H, m), 2.14-2.06 (2.12 H, m), 2.05 (1.24 H, m), 1.87-1.78 (1 H, m);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 Hz) : δ (ppm) : (174.0), 173.7, 173.0, (171.1), 170.7, 160.5, (160.2), 143.6, (142.7), (136.4), 134.2, (128.6), 125.7, 113.6, 111.5, (110.5), 68.2, (67.9), 59.9, (59.6), 59.5, 55.8, (55.7), 47.6, 42.9, (39.6), 35.2, 33.9, (28.7), 28.2, 25.4, 22.9, (22.8);

MS (EI) m/e 372 $[\text{M}]^+$;

HRMS (EI) calc. pour $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ 372.16852; obtenu 372.16870.

Synthèse de Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro-*L*-Ala-OMe (16).



A une solution refroidie à 0 °C d'hydrochlorure d'alaninate de méthyle (3 mg, 0.0156 mmol) dans 2 mL de dichlorométhane, Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro (5 mg, 0.013 mmol), HOBt (3 mg, 0.02 mmol), EDC (4 mg, 0.02 mmol), et de la diisopropyléthylamine (3 μL , 2.5 équiv) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 48 h à température ambiante. De l'eau (2 mL) est alors additionnée au mélange réactionnel et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (2 \times 2 mL), une solution saturée de NaCl (1 \times 2 mL), puis est séchée (Na_2SO_4) et évaporée à sec.

Le solide obtenu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH, 85/15). Le produit est obtenu sous forme de solide blanc (4 mg, 67 %);

$[\alpha]_{\text{D}} -158$ (c 0.1, CHCl_3);

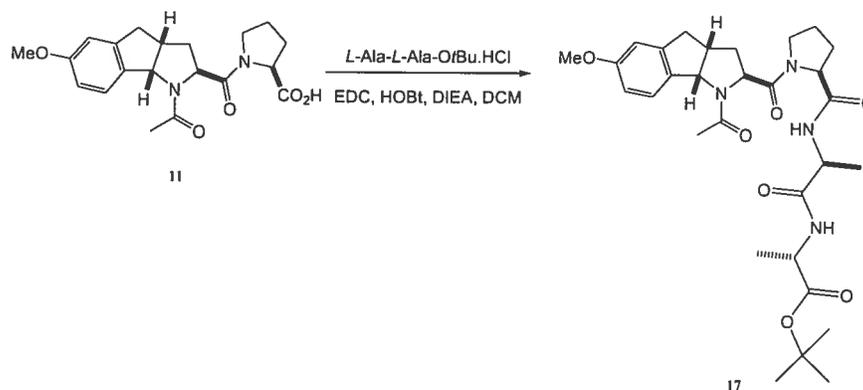
RMN ^1H (CD_2Cl_2 , 600 MHz) pour un mélange environ 1/1.4/1.6 de rotamères majeurs: δ (ppm) : 8.53-8.52 (0.4 H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.62-7.61 (0.25 H, d, $J = 9.2$ Hz), 7.32-7.31 (0.35 H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.30-7.29 (0.4 H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.16-7.15 (0.35 H, d, $J = 6.5$ Hz), 6.95-6.94 (0.25 H, d, $J = 6.0$ Hz), 6.83-6.81 (1.2 H, m), 6.75-6.74 (0.8 H, m), 5.67-5.65 (0.25 H, d, $J = 7.1$ Hz), 5.51-5.50 (0.4 H, d, $J = 7.1$ Hz), 5.48-5.47 (0.35 H, d, $J = 7.1$ Hz), 4.61-4.60 (1 H, d, $J = 9.1$ Hz), 4.57-4.54 (0.6 H, m), 4.53-4.48 (0.5 H, m), 4.45-4.40 (0.35 H, quint, $J = 7.3$ Hz), 4.32-4.29 (0.15 H, m), 4.25-4.24 (0.4 H, d, $J = 8.1$ Hz), 3.82 (2.2 H, s), 3.80 (0.8 H, s), 3.76 (1.5 H, s), 3.74-3.71 (0.5 H, m), 3.59-3.50 (1.4 H, m), 3.55 (0.6 H, m), 3.42-3.37 (0.8 H, m), 3.13-3.03 (1.2 H, m), 2.73-2.69 (1 H, m), 2.53-2.50 (0.5 H, dd, $J = 12.4, 6.3$ Hz), 2.40 (1 H, s), 2.38 (1.25 H, s), 2.32-2.23 (1.25 H, m), 2.19-1.87 (2.4 H, m), 1.94 (1 H, s), 1.86-1.80 (1.2 H, m), 1.77-1.69 (1 H, m), 1.68-1.62 (0.4 H, m), 1.50-1.48 (1.2 H, d, $J = 7.3$ Hz), 1.44-1.42 (0.75 H, d, 7.1 Hz), 1.41-1.40 (1.05 H, d, $J = 7.1$ Hz);

RMN ^{13}C (Pyridine- d_5 , 125 MHz) : δ (ppm) : 174.5, 173.2, 171.3, 170.9, 160.9, (144.5), 143.2, 137.7, 130.4, (127.7), 116.0, (115.9), (113.2), 112.3, (69.6), 69.5, (67.7), 63.2, 61.8, (61.4), (56.9), 56.8, 53.2, 49.5, (49.4), (48.3), 48.2, (43.6), 40.4, 36.8, 36.3, (35.9), (34.5), 30.4, (30.0), 26.3, (25.9), (23.4), 23.2, 17.7, (16.3);

MS (EI) m/e 458 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

HRMS (EI) calc. pour $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_6$ (M+H) 458.22911; obtenu 458.22770.

Synthèse de Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro-*L*-Ala-*L*-Ala-O t Bu (17).



A une solution refroidie à 0 °C de l'esther *tert*-butylique de *L*-alanyl-*L*-alanine (13 mg, 0.06 mmol) dans 5 mL de dichlorométhane, sont ajoutés *Ac-L-TcaP-L-Pro-OH* (19 mg, 0.05 mmol), HOBT (11 mg, 0.08 mmol), EDC (15 mg, 0.08 mmol), et de la diisopropyléthylamine (23 μ L, 0.13 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 40 h à température ambiante. De l'eau (5 mL) est alors ajoutée et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (2 \times 5 mL), une solution saturée de NaCl (1 \times 5 mL), puis est séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide obtenu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH, 85/15). Le produit est obtenu sous forme de solide jaune pâle (19 mg, 68 %);

$[\alpha]_D -110$ (*c* 0.2, CHCl₃);

RMN ¹H (CD₂Cl₂, 600 MHz) pour un mélange environ 1/1.8/3.4 de rotamères majeurs: δ (ppm) : 7.82-7.77 (0.55H, d, *J* = 7.3 Hz), 7.63-7.60 (0.16H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.33-7.30 (0.29H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.30-7.27 (0.55H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.26-7.22 (0.29H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.14-7.10 (0.55H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.03-7.00 (0.16H, d, *J* = 7.1 Hz), 6.84-6.74 (2H, m), 6.70-6.66 (0.29H, d, *J* = 6.6 Hz), 6.57-6.54 (0.16H, d, *J* = 7.1 Hz), 5.67-5.64 (0.16H, d, *J* = 7.5 Hz), 5.55-5.53 (0.55H, d, *J* = 7.5 Hz), 5.48-5.45 (0.29H, d, *J* = 6.6 Hz), 4.69-4.65 (0.55H, d, *J* = 8.8 Hz), 4.62-4.59 (0.16H, dd, *J* = 8.4, 3.5 Hz), 4.59-4.57 (0.29H, d, *J* = 9.6 Hz), 4.57-4.54 (0.29H, d, *J* = 8.3 Hz), 4.42-4.27 (2.71H, m), 3.82 (0.87H, s), 3.80 (1.65H, s), 3.79 (0.48H, s), 3.76-3.72 (0.16H, m), 3.60-3.56 (1.68H, m), 3.55-3.35 (1.16H, m), 3.14-3.08 (1H, dd, *J* = 16.6, 7.5 Hz), 2.75-2.69 (1H, dd, *J* = 16.6, 6.6 Hz), 2.52-2.47 (0.58H, m), 2.44-2.42 (1.65H, s), 2.40-2.38 (0.87H, s), 2.34-2.27 (0.32H, m), 2.17-2.10 (1.1H, m), 2.09-2.00 (2.29H, m), 1.98-1.90 (1.19H, m + s), 1.89-1.80 (0.84H, m), 1.80-1.73 (0.16H, m), 1.49 (1.44H, s), 1.48-1.46 (2.52H, d, *J* = 7.4

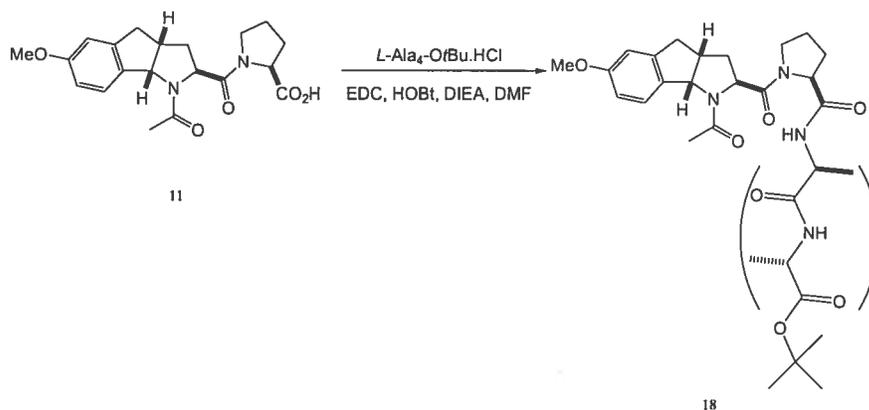
Hz), 1.42-1.40 (0.48H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.40-1.38 (0.48H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.31 (2.61H, s), 1.25 (4.95H, s), 1.23-1.21 (2.52H, d, $J = 7.3$ Hz);

RMN ^{13}C (Pyridine- d_5 , 125 MHz) : δ (ppm) : 173.3, 172.8, 172.4, 171.6, 170.3, (170.1), 160.6, 143.2, 137.4, 128.8, (126.1), 114.1, 110.5, 81.1, (68.2), 68.0, 61.8, 60.7, (60.5), (60.1), (55.5), 55.4, 49.5, (47.4), 47.3, (42.8), 39.8, 36.2, 35.7, (34.0), 30.1, 29.6, (29.3), 28.0, 25.5, (25.3), (23.1), 22.8, (18.9), 18.8, 17.8;

MS (FAB) m/e 593 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 571 $[\text{M} + \text{H}]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_7\text{Na}$ 593.29512; obtenu 593.29260.

Synthèse de Ac-TcaP-L-Pro-L-Ala-L-Ala-L-Ala-L-Ala-OtBu (18).



A une solution refroidie à $0\text{ }^\circ\text{C}$ de l'esther *tert*-butylique de *L*-alanyl-*L*-alanyl-*L*-alanyl-*L*-alanine (15 mg, 0.04 mmol) dans 2 mL de DMF sec, sont ajoutés Ac-*L*-TcaP-*L*-Pro-OH (17 mg, 0.045 mmol), HOBt (10 mg, 0.075 mmol), EDC (15 mg, 0.075 mmol), et de la diisopropyléthylamine (22 μL , 0.125 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à $0\text{ }^\circ\text{C}$ et 48 h à température ambiante. Le DMF est évaporé sous vide et le résidu orange est ensuite dissout dans du dichlorométhane (50 mL). La solution obtenue est lavée successivement avec de l'eau (1 \times 20 mL), une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (2 \times 20 mL), une solution saturée de NaCl (1 \times 20 mL), puis elle est séchée (Na_2SO_4) et évaporée à sec. Le solide obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH, 80/20). Le produit est obtenu sous forme de solide de couleur jaune pâle (16 mg, 44 %).

$[\alpha]_{\text{D}}^{-90}$ (c 0.2, CHCl_3);

RMN ^1H (CD_2Cl_2 , 600 MHz) pour un mélange environ 1/6.5/8.5 de rotamères majeurs: δ (ppm) : 7.62-7.60 (0.06H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.62-7.60 (0.06H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.56-7.54 (0.53H, d, $J = 4.5$ Hz), 7.40 (0.41H, s large), 7.30-7.29 (0.41H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.26-7.25 (0.53H, d, $J = 5.4$ Hz), 7.21-7.19 (0.53H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.12-7.10 (0.41H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.03 (0.18H, m), 6.97-6.96 (0.94H, d, $J = 7.0$ Hz), 6.86-6.76 (2.94H, m), 5.66 (0.06H, d, $J = 7.7$ Hz), 5.56 (0.53H, d, $J = 7.1$ Hz), 5.49-5.47 (0.41H, d, $J = 6.9$ Hz), 4.66-4.64 (0.06H, d, $J = 9.8$ Hz), 4.61-4.59 (0.06H, d, $J = 8.7$ Hz), 4.57-4.55 (0.12H, m), 4.51-4.47 (0.41H, s large), 4.45-4.43 (0.06H, m), 4.40 (0.41H, m), 4.39 (0.41H, m), 4.35-4.33 (0.53H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.30-4.26 (1.94H, m), 4.24-4.21 (0.53H, m), 4.16-4.12 (1.47H, m), 3.82 (1.23H, s), 3.81 (1.59H, s), 3.80 (0.18H, s), 3.74-3.71 (1H, m), 3.61-3.57 (1H, m), 3.49-3.44 (0.59H, m), 3.43-3.38 (0.41H, m), 3.18-3.14 (0.41H, dd, $J = 16.4, 6.6$ Hz), 3.14-3.10 (0.59H, dd, $J = 16.5, 6.9$ Hz), 2.81-2.78 (0.41H, d, $J = 16.4$ Hz), 2.75-2.71 (0.06H, d, $J = 16.5$ Hz), 2.73-2.70 (0.53H, d, $J = 16.5$ Hz), 2.46 (1.59H, s), 2.44 (1.23H, s), 2.36-2.12 (2H, m), 2.07-2.03 (1H, m), 2.02-1.95 (1H, m), 1.93 (0.18H, s), 1.88-1.81 (2H, m), 1.56-1.54 (1.77H, d, $J = 7.3$ Hz), 1.48-1.46 (1.23H, m), 1.48 (3.69H, s), 1.47 (4.77H, s), 1.45-1.43 (1.23H, d, $J = 7.4$ Hz), 1.41-1.39 (1.23H, d, $J = 8.1$ Hz), 1.39-1.38 (1.77H, d, $J = 7.4$ Hz), 1.30 (0.54H, s), 1.23-1.21 (1.77H, d, $J = 7.3$ Hz), 1.20 (1.77H, d, $J = 7.3$ Hz), 1.20-1.19 (1.23H, m);

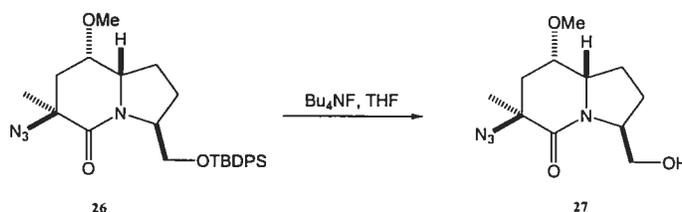
RMN ^{13}C (Pyridine- d_5 , 125 MHz) : δ (ppm) : 173.5, 173.0, 172.9, 172.7, 171.6, 171.0, 170.8, 160.6, 143.3, 137.3, 128.8, 114.1, (111.5), 110.5, 81.1, (68.1), 69.7, 61.7, 60.8, (55.6), 55.5, 50.0, 49.7, 49.5, 49.1, (47.5), 47.4, 36.1, 35.7, (30.0), 29.7, 28.1, 25.5, (23.1), 22.9, 19.0, 18.9, 18.8, 18.6, 17.7;

MS (FAB) m/e 735 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 713 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 657 $[\text{M} - (\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}_2]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{N}_6\text{O}_9$ 713.38740; obtenu 713.38600.

Section expérimentale du chapitre 2
Indolizidinones et peptides correspondants

Synthèse de (3S, 6S, 8S, 9S)-6-Azido-3-hydroxyméthyl-8-méthoxy-6-méthyl-hexahydro-indolizin-5-one (27).



A une solution dans du THF du prolinol bicyclique protégé **26** (50 mg, 0.101 mmol), préparé selon la méthode décrite dans la littérature,⁵⁰ une solution 1M de fluorure de *tert*-butylammonium dans du THF (203 μL , 0.203 mmol) est ajoutée goutte-à-goutte. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 16 h, puis est concentré sous pression réduite. Le résidu est chargé directement sur une colonne de silice pour purification par chromatographie flash (AcOEt / Hexanes, 1/1). Le produit est obtenu sous forme d'huile jaune pâle (21 mg, 81 %). $[\alpha]_{\text{D}} -200$ (*c* 1.0, CHCl_3);

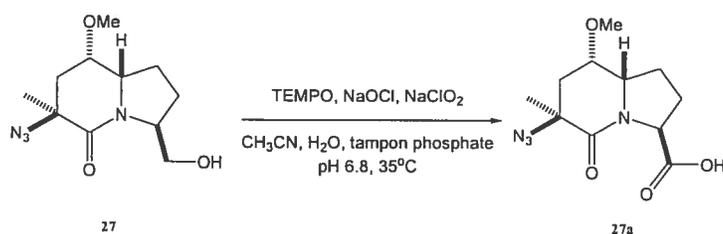
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm): 4.75 (1H, s large), 4.17-4.12 (1H, quad, $J = 8.0$ Hz), 3.72-3.69 (2H, m), 3.61-3.55 (2H, m), 3.36 (3H, s), 2.39-2.35 (1H, dd, $J = 14.8, 3.6$ Hz), 2.17-2.07 (1H, m), 2.04-1.97 (1H, m), 1.85-1.79 (1H, m), 1.77-1.73 (1H, dd, $J = 14.8, 2.0$ Hz), 1.66 (3H, s), 1.48-1.39 (1H, m);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm): 171.4, 73.5, 67.6, 63.5, 63.0, 60.9, 57.3, 37.1, 26.8, 26.4, 24.9;

MS (MAB) *m/e* 254 $[\text{M}]^+$;

HRMS (EI) calc. pour $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ 254.13789; obtenu 234.13597.

Synthèse de l'acide (3S, 6S, 8S, 9S)-6-Azido-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (27a).



A une solution de l'alcool déprotégé **27** (20 mg, 0.079 mmol) dans l'acétonitrile (0.4 mL), un tampon de phosphate de sodium (0.3 mL d'une solution aqueuse 0.67 M de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ tamponnée à pH 6.8 avec de l'hydroxyde de sodium aqueux 2 N) est ajouté et le mélange est agité vigoureusement à température ambiante pendant 5 minutes. Puis TEMPO (1.0 mg, 0.005 mmol), une solution aqueuse de chlorate de sodium (18 mg dissous dans 0.1 mL d'eau, 0.158 mmol) une solution d'eau de javel commerciale, diluée auparavant avec de l'eau (2 μL d'une solution à 5.25 % dilués dans 0.4 mL d'eau, 0.025 mmol), sont ajoutés successivement (**ATTENTION**, à une plus grosse échelle, les réactifs doivent être prudemment ajoutés simultanément). La solution résultante de couleur brune est chauffée sous agitation à 35 °C pendant 24 h, puis refroidie à température ambiante, diluée avec de l'eau (2.0 mL) et le pH est ajusté à pH 8 par l'addition de 5 gouttes d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2 N. La solution est alors refroidie à 0 °C et neutralisée avec une solution aqueuse de sulfite de sodium (64 mg dissous dans 1.21 mL d'eau), puis agitée pendant 30 minutes à 0 °C et lavée avec de l'éther (2 \times 10 mL). Les phases organiques sont jetées et la phase aqueuse est acidifiée (pH 2-3) avec HCl 1N puis extraite avec de l'éther (2 \times 10 mL) et du CH_2Cl_2 (5 \times 10 mL). Les phases organiques combinées sont séchées (Na_2SO_4), filtrées et évaporées à sec. L'acide brut est obtenu sous forme de mousse blanche et est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification (20 mg, 95 %);

$[\alpha]_{\text{D}} -241$ (c 1.0, MeOH);

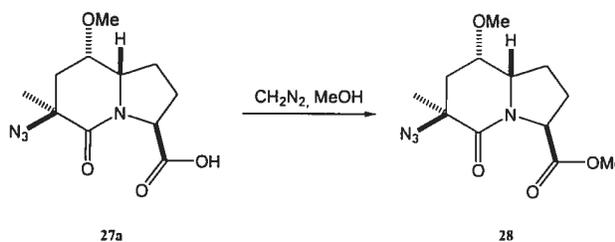
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm): 4.60-4.57 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 3.82-3.80 (1H, m), 3.61-3.58 (1H, m), 3.37 (3H, s), 2.40-2.36 (1H, dd, $J = 14.8, 3.8$ Hz), 2.33-2.27 (2H, m), 2.13-2.03 (1H, m), 2.01-1.98 (1H, m), 1.82-1.78 (1H, dd, $J = 14.8, 2.4$ Hz), 1.69 (3H, s);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (ppm): 176.0, 168.8, 73.7, 62.8, 60.5, 60.7, 57.2, 37.2, 27.8, 27.0, 25.3;

MS (MAB) m/e 268 $[\text{M}]^+$;

HRMS (EI) calc. pour $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_4$ 268.11715; obtenu 268.11722.

Synthèse de (3S, 6S, 8S, 9S)-6-azido-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylate de méthyle (28).



A une solution de l'acide **27a** (20 mg, 0.074 mmol) dans du méthanol sont ajoutés du diazométhane (**ATTENTION**, dégagement de N₂ et risque d'explosion) goutte-à-goutte jusqu'à ce que la réaction soit terminée (la couleur jaune persiste). Le mélange réactionnel est ensuite neutralisé avec de l'acide acétique et est concentré sous pression réduite pour donner le produit désiré sous forme de mousse jaune (21 mg, 100 %);

[α]_D -198 (*c* 1.0, MeOH);

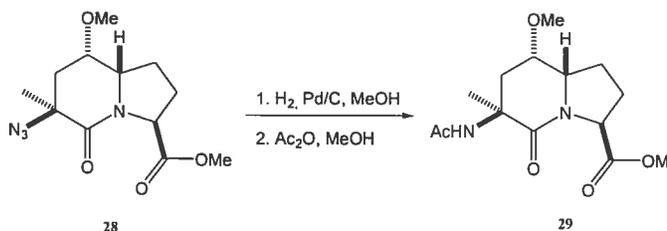
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 4.50-4.47 (1H, t, *J* = 8.2 Hz), 3.93-3.91 (1H, m), 3.75 (3H, s), 3.58 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 3.36 (3H, s), 2.37-2.31 (2H, m), 2.16-2.07 (1H, m), 1.95-1.82 (3H, m), 1.64 (3H, s);

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 172.8, 168.8, 73.7, 62.6, 60.5, 59.1, 57.2, 52.8, 37.5, 28.1, 27.2, 25.1;

MS (MAB) *m/e* 282 [M]⁺;

HRMS (EI) calc. pour C₁₂H₁₈N₄O₄ 282.13280; obtenu 282.13342.

Synthèse de (3S, 6S, 8S, 9S)-6-acétylamino-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylate de méthyle (29).



L'azide **28** (20 mg, 0.071 mmol) est dissous dans du méthanol (2 mL) et est hydrogéné (1 atm.) avec du Pd/C 10 % (10 mg, 10% w/w) pendant 16 h à

température ambiante. Le catalyseur est enlevé par filtration sur de la Celite, puis le solvant est évaporé sous vide pour donner 25 mg (quantitatif) de l'amine sous forme d'une huile jaune. A une solution de l'amine (18 mg, 0.07 mmol) dans du méthanol (500 μ L) est ajouté de l'anhydride acétique (17 μ L, 0.18 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 16 h. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (AcOEt / MeOH, 8/2) pour donner le produit désiré sous forme d'huile jaune (17 mg, 85 %);

$[\alpha]_D -149$ (c 1.0, MeOH);

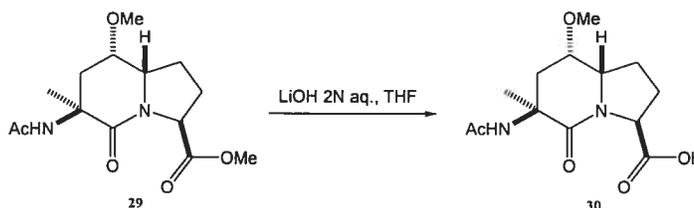
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm): 6.20 (1H, s), 4.43-4.39 (1H, t, $J = 8.1$ Hz), 4.10-4.06 (1H, m), 3.73 (3H, s), 3.59-3.58 (1H, d, $J = 2.8$ Hz), 3.37 (3H, s), 2.66-2.61 (1H, dd, $J = 14.7, 3.3$ Hz), 2.44-2.40 (1H, dd, $J = 14.7, 1.7$ Hz), 2.33-2.30 (1H, m), 2.17-2.12 (1H, s), 1.93 (3H, s), 1.93-1.87 (2H, m), 1.54 (3H, s);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm): 173.0, 171.0, 170.2, 74.1, 62.5, 59.5, 57.0, 55.5, 52.6, 35.6, 27.9, 27.3, 27.0, 23.9;

MS (FAB) m/e 299 $[\text{M}]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_5$ 299.16069; obtenu 299.16108.

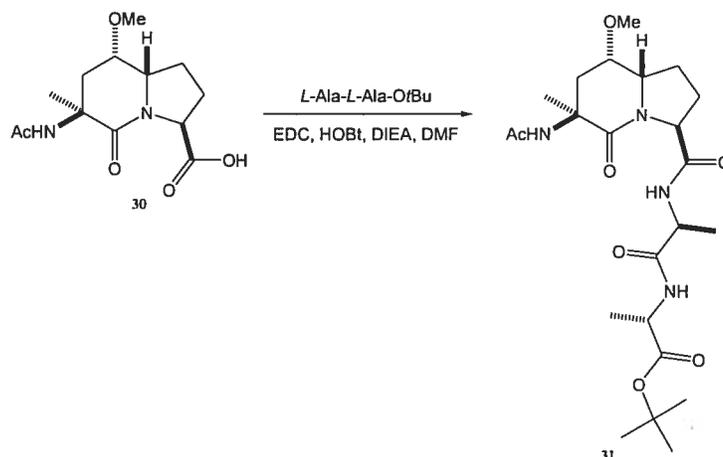
Synthèse de Acide (3S, 6S, 8S, 9S)-6-acétylamino-8-méthoxy-6-méthyl-5-oxo-octahydro-indolizine-3-carboxylique (30).



A une solution de l'ester méthylique **29** (17 mg, 0.057 mmol) dans 500 μ L de THF, à température ambiante, une solution aqueuse 2N de LiOH (60 μ L, 0.114 mmol) est ajoutée goutte-à-goutte et le système biphasique est agité à température ambiante pendant 24 h. Le solvant est évaporé, puis le mélange résultant est dilué avec de l'eau (5 mL) et lavé avec de l'acétate d'éthyle (2×5 mL). Les phases organiques sont jetées et la phase aqueuse est acidifiée à pH 2 avec HCl 2 N. La

solution est alors évaporée à sec et le résidu est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

Synthèse de *L*-BcaP-*L*-Ala-*L*-Ala-*O**t*Bu (**31**).



A une solution refroidie de *L*-Ala-*L*-Ala-*O**t*Bu (9 mg, 0.042 mmol) dans 500 μ L de DMF, l'acide **30** (10 mg, 0.035 mmol), HOBT (7 mg, 0.053 mmol), EDC (10 mg, 0.053 mmol), et de la diisopropyléthylamine (18 μ L, 0.106 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 48 h à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dissous dans du dichlorométhane (2 mL). De l'eau (2 mL) est alors ajoutée et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (2 \times 2 mL) et une solution aqueuse saturée de NaCl (1 \times 2 mL), puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide obtenu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt puis AcOEt / MeOH, 4/1). Le produit désiré est obtenu sous forme de solide blanc (7 mg, 41 %);

$[\alpha]_{\text{D}} -102$ (*c* 0.2, MeOH);

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7.52-7.50 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 7.48-7.46 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 6.18 (1H, s), 4.53-4.48 (1H, quint, *J* = 7.4 Hz), 4.47-4.36 (1H, quint, *J* = 8.9 Hz), 4.35-4.31 (1H, quint, *J* = 7.3 Hz), 4.04-3.99 (1H, m), 3.61 (1H, d, *J* = 3.2 Hz), 3.38 (3H, s), 2.56-2.49 (1H, dt, *J* = 12.6, 7.7 Hz), 2.37-2.33 (1H,

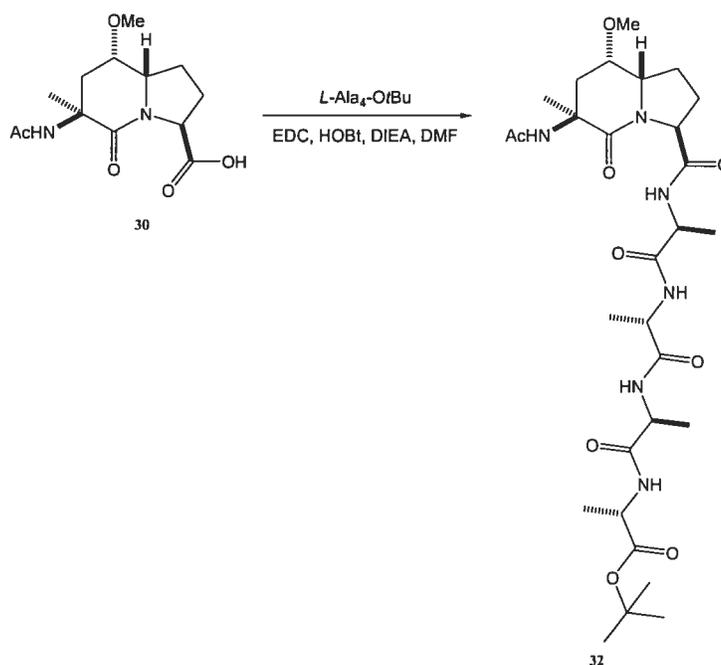
dd, $J = 14.2, 2.1$ Hz), 2.31-2.27 (1H, dd, $J = 14.2, 3.4$ Hz), 2.16-2.10 (1H, m), 1.91 (3H, s), 1.95-1.80 (3H, m), 1.51 (3H, s), 1.44 (9H, s), 1.42 (3H, d, $J = 6.1$ Hz), 1.35 (3H, d, $J = 7.2$ Hz);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (ppm): 172.9, 172.0, 171.3, 171.0, 170.9, 81.6, 73.9, 63.2, 61.9, 57.3, 54.9, 49.2, 48.9, 36.4, 28.7, 28.3, 27.3, 27.0, 23.5, 17.8, 17.4;

MS (FAB) m/e 483 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_7$ 483.28187; obtenu 483.28038.

Synthèse de *L*-BcaP-*L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*O**t*Bu (32).



A une solution refroidie de *L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*Ot*Bu (16 mg, 0.042 mmol) dans 500 μL de DMF, l'acide 30 (10 mg, 0.035 mmol), HOBT (7 mg, 0.053 mmol), EDC (10 mg, 0.053 mmol), et de la diisopropyléthylamine (18 μL , 0.106 mmol) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 48 h à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dissous dans du dichlorométhane (2 mL). De l'eau (2 mL) est alors ajoutée et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 (2 \times 2 mL) et une solution aqueuse saturée de NaCl (1 \times 2

mL), puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide obtenu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH, 4/1). Le produit désiré est obtenu sous forme de cire jaune (7 mg, 32 %);

[α]_D -65 (*c* 0.7, MeOH);

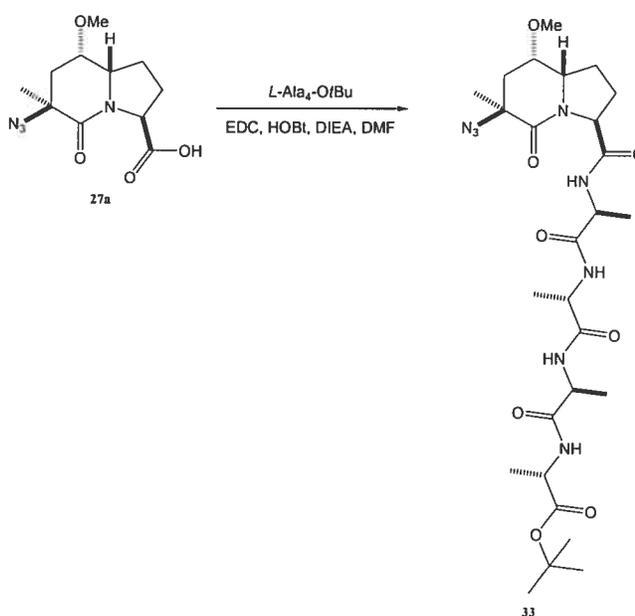
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7.66 (1H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.62 (1H, d, *J* = 6.7 Hz), 7.25 (1H, s), 7.11 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 7.03 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 4.43-4.41 (1H, quint, *J* = 7.7 Hz), 4.35-4.30 (2H, m), 4.30-4.27 (1H, t, *J* = 8.2 Hz), 4.18-4.16 (1H, quint, *J* = 7.2 Hz), 4.07-4.05 (1H, m), 3.63 (1H, s large), 3.37 (3H, s), 2.54-2.50 (1H, m), 2.36-2.28 (2H, m), 2.16-2.14 (1H, m), 1.96 (3H, s), 1.98-1.94 (1H, m), 1.84-1.82 (1H, m), 1.50 (3H, s), 1.44 (3H, d, *J* = 7.4 Hz), 1.43 (9H, s), 1.42 (3H, d, *J* = 8.0 Hz), 1.40 (3H, d, *J* = 7.3 Hz), 1.38 (3H, d, *J* = 7.2 Hz);

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 174.0, 173.4, 172.8, 172.1, 171.8, 171.7, 170.8, 81.2, 73.1, 63.0, 61.8, 56.7, 54.2, 50.9, 49.7, 49.0, 48.8, 36.1, 28.4, 27.8, 26.7, 26.3, 22.8, 17.3, 17.1, 16.6, 16.1;

MS (FAB) *m/e* 647 [M+Na]⁺, 625 [M+H]⁺;

HRMS (FAB) calc. pour C₂₉H₄₉N₆O₉ 625.35610; obtenu 625.35623.

Synthèse de Azide-*L*-BcaP-*L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*O*tBu (33).



A une solution refroidie de *L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*L*-Ala-*O**t*Bu (17 mg, 0.045 mmol) dans 500 μ L de DMF, sont ajoutés l'acide (10 mg, 0.037 mmol), HOBt (8 mg, 0.056 mmol), EDC (11 mg, 0.056 mmol), et de la diisopropyléthylamine (26 μ L, 0.149 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 48 h à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dissous dans du dichlorométhane (2 mL). De l'eau (2 mL) est alors ajoutée et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (2 \times 2 mL) et une solution aqueuse saturée de NaCl (1 \times 2 mL), puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide obtenu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH, 9/1). Le produit désiré est obtenu sous forme de mousse jaune (11 mg, 50 %);

$[\alpha]_D -155$ (*c* 0.25, MeOH);

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7.46 (1H, d, *J* = 6.6 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.00 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 6.54 (1H, d, *J* = 5.2 Hz), 4.54-4.50 (1H, quint, *J* = 7.5 Hz), 4.39-4.31 (3H, m), 4.25-4.16 (1H, dq, *J* = 8.1, 7.0 Hz), 4.00-3.93 (1H, m), 3.61-3.60 (1H, m), 3.37 (3H, s), 2.47-2.42 (2H, m), 2.22-2.07 (1H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.87-1.83 (1H, dd, *J* = 15.1, 2.1 Hz), 1.66 (3H, s), 1.49 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.46 (9H, s), 1.44 (3H, d, *J* = 7.5 Hz), 1.43 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.39 (3H, d, *J* = 7.5 Hz);

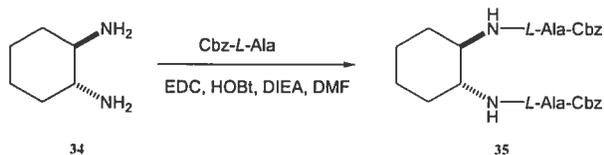
RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 173.1, 172.7, 172.4, 172.2, 172.1, 171.5, 81.8, 73.4, 63.9, 62.5, 60.6, 57.3, 51.3, 50.6, 49.3, 49.2, 37.7, 28.3, 28.1, 27.2, 24.7, 18.2, 17.7, 17.6, 17.2;

MS (FAB) *m/e* 609 [M+H]⁺;

HRMS (FAB) calc. pour C₂₇H₄₅N₈O₈ 609.33603; obtenu 609.33549.

Section expérimentale du chapitre 3
Diaminocyclohexane et peptides correspondants

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (35).



A une solution refroidie à 0°C de diaminocyclohexane (200 mg, 1.75 mmol) dans 50 mL de DMF, sont ajoutés Cbz-*L*-alanine (938 mg, 4.20 mmol), HOBt (711 mg, 5.26 mmol), EDC (1.01 g, 5.26 mmol), et la diisopropyléthylamine (1.83 mL, 6 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 36 h à température ambiante. La DMF est évaporée sous pression réduite et le résidu est dissous dans 50 mL de dichlorométhane. H₂O (50 mL) est alors ajouté à la solution et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃, une solution aqueuse de HCl 1 N, une solution saturée de NaCl, puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (750 mg, 82 %).

[α]_D +2 (*c* 1.0, MeOH);

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7.25 (m, 10H), 6.94 (s large, 2H), 6.13 (d, 2H, *J* = 7.7 Hz), 5.12-5.09 (d, 2H, *J* = 12.3 Hz), 4.91-4.88 (d, 2H, *J* = 12.3 Hz), 4.17-4.13 (m, 2H), 3.68 (s large, 2H), 1.94 (s large, 2H), 1.68 (s large, 2H), 1.28-1.23 (m, 10H);

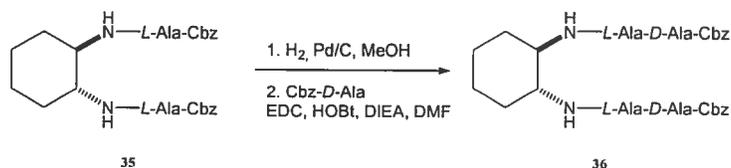
RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 173.6, 156.8, 136.7, 128.8, 128.4, 67.3, 53.8, 51.0, 32.5, 25.1, 18.5;

MS (FAB) *m/e* 525 [M+H]⁺;

HRMS (FAB) calc. pour C₂₈H₃₇N₄O₆ 525.27131; obtenu 525.27366.

FTIR : ν (cm⁻¹) : 3421, 3325, 1708, 1678, 1524, 1509

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (36).



(1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (500 mg, 0.95 mmol) est dissous dans du méthanol (10 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (50 mg, 10% w/w) pendant 16 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est évaporé sous vide pour donner 232 mg (95 %) de diamine sous forme de solide blanc.

A une solution refroidie à 0 °C de diamine brute (200 mg, 0.78 mmol) dans 25 mL de DMF, sont ajoutés Cbz-*D*-alanine (417 mg, 1.87 mmol), HOBt (316 mg, 2.34 mmol), EDC (449 mg, 2.34 mmol), et la diisopropyléthylamine (815 µL, 6 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 36 h à température ambiante. La DMF est évaporée sous pression réduite et le résidu est dissous dans 50 mL de dichlorométhane. H₂O (50 mL) est alors ajouté à la solution et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃, une solution aqueuse de HCl 1 N, une solution saturée de NaCl, puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide brun ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH 9/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (344 mg, 66 %).

$[\alpha]_D^{25}$ -14 (*c* 0.5, MeOH);

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7.32 (m, 12H), 6.95 (s large, 2H), 6.09-6.06 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz), 5.14-5.10 (d, 2H, *J* = 12.2 Hz), 5.05-5.01 (d, 2H, *J* = 12.2 Hz), 4.41-4.30 (m, 4H), 3.57 (s large, 2H), 1.94 (s large, 2H), 1.70 (s large, 2H), 1.40-1.24 (m, 16H);

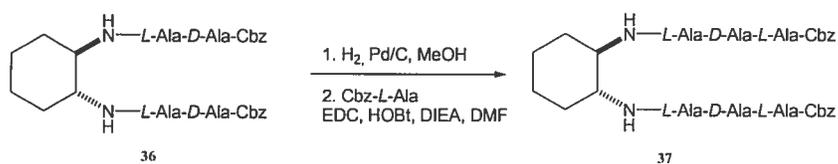
RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 173.5, 172.9, 156.8, 136.5, 128.9, 128.6, 67.4, 54.2, 50.9, 32.2, 25.0, 18.9, 17.9;

MS (FAB) *m/e* 667 [M+H]⁺;

HRMS (FAB) calc. pour C₃₄H₄₇N₆O₈ 667.34553; obtenu 667.34590.

FTIR : ν (cm⁻¹) : 3425, 3334, 1713, 1669, 1524, 1508

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-*L*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (37).



(1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (250 mg, 0.37 mmol) est dissous dans du méthanol (5 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (25 mg, 10% w/w) pendant 16 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est évaporé sous vide pour donner 150 mg (quantitatif) de diamine sous forme de solide blanc.

A une solution refroidie à 0 °C de diamine brute (150 mg, 0.37 mmol) dans 10 mL de DMF, Cbz-*L*-alanine (201 mg, 0.90 mmol), HOBt (153 mg, 1.13 mmol), EDC (217 mg, 1.13 mmol), et la diisopropyléthylamine (394 µL, 6 équiv) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 36 h à température ambiante. La DMF est évaporée sous pression réduite et le résidu est dissous dans 20 mL de dichlorométhane. H₂O (20 mL) est alors ajouté à la solution et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃, une solution aqueuse de HCl 1 N, une solution saturée de NaCl, puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide brun ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH 9/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (72 mg, 24 %).

$[\alpha]_D -3$ (*c* 0.5, MeOH);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm): 7.70 (s large, 2H), 7.36-7.28 (m, 12H), 6.65 (s large, 2H), 5.24-5.20 (d, 2H, *J* = 12.1 Hz), 5.15-5.12 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 5.08-5.04 (d, 2H, *J* = 12.1 Hz), 4.67-4.63 (m, 2H), 4.43-4.40 (m, 2H), 4.32-4.28 (m, 2H), 3.51 (s large, 2H), 1.81-1.78 (m, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.35 (d, 6H, *J* = 6.7 Hz), 1.24-1.22 (m, 16H);

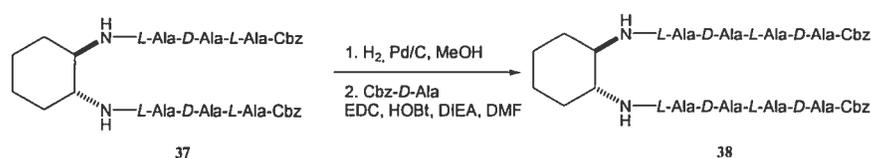
RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 173.7, 173.4, 172.7, 156.9, 136.5, 128.9, 128.8, 128.7, 67.6, 53.4, 50.7, 49.0, 32.5, 25.0, 18.4, 17.9;

MS (FAB) *m/e* 810 [M+H]⁺;

HRMS (FAB) calc. pour C₄₀H₅₇N₈O₁₀ 809.41976; obtenu 809.42151.

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3414, 3314, 1714, 1670, 1539, 1507

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-*L*-Ala-*D*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (38)



(1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-*L*-Ala-*D*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (680 mg, 0.84 mmol) est dissous dans du méthanol (20 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (70 mg, 10% w/w) pendant 16 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est évaporé sous vide pour donner 450 mg (quantitatif) de diamine sous forme de solide blanc.

A une solution refroidie à 0 °C de diamine brute (450 mg, 0.84 mmol) dans 20 mL de DMF, sont ajoutés Cbz-*D*-alanine (450 mg, 2.01 mmol), HOBt (340 mg, 2.52 mmol), EDC (483 mg, 2.52 mmol), et la diisopropyléthylamine (878 μL , 6 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 60 h à température ambiante. La DMF est évaporée sous pression réduite et le résidu est dissous dans 50 mL de mélange 9/1 dichlorométhane / méthanol. H₂O (50 mL) est alors ajouté à la solution et les phases sont séparées. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃, une solution aqueuse de HCl 1 N, une solution saturée de NaCl, puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH 4/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (380 mg, 48 %).

$[\alpha]_{\text{D}} -24$ (*c* 0.125, MeOH);

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7.64 (s large, 2H), 7.34-7.31 (m, 12H), 7.22 (s large, 2H), 6.84 (s large, 2H), 6.23 (d, 2H, *J* = 6.0 Hz), 5.16-5.13 (d, 2H, *J* = 12.2 Hz), 5.08-5.05 (d, 2H, *J* = 12.2 Hz), 4.55-4.40 (m, 8H), 3.66 (m, 2H), 1.77-1.75 (m, 2H), 1.69-1.66 (m, 2H), 1.36-1.15 (m, 28H);

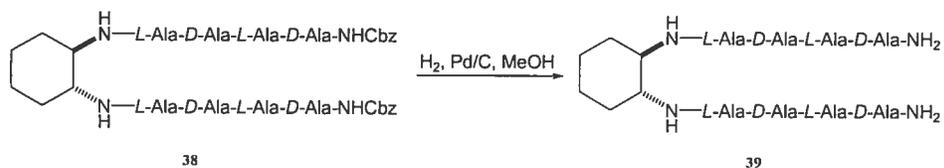
RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz): δ (ppm): 174.8, 173.9, 173.8, 173.6, 157.4, 137.2, 128.5, 128.0, 127.7, 66.6, 52.9, 51.3, 50.0, 49.8, 49.7, 31.9, 28.2, 27.0, 24.7, 17.1, 16.7, 16.4, 16.3;

MS (FAB) m/e 951 $[\text{M}]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{46}\text{H}_{67}\text{N}_{10}\text{O}_{12}$ 951.49399; obtenu 951.49100.

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3306, 1662, 1530.

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-*L*-Ala-*D*-Ala)-diaminocyclohexane (39).



(1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-*L*-Ala-*D*-Ala-Cbz)-diaminocyclohexane (300 mg, 0.31 mmol) est dissous dans du méthanol (10 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (30 mg, 10% w/w) pendant 24 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le filtrat est concentré sous vide pour donner 225 mg (94 %) de diamine sous forme de solide blanc. Le produit brut est utilisé dans les étapes suivantes sans aucune purification.

$[\alpha]_{\text{D}}^{-9}$ (c 0.55, MeOH);

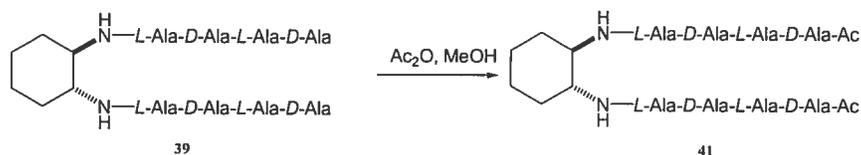
RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ (ppm): 4.32-4.18 (m, 6H), 3.67 (s large, 2H), 3.47-3.40 (t apparent, 2H, $J = 6.8$ Hz), 1.92 (s large, 2H), 1.74 (s large, 2H), 1.37-1.25 (m, 28H);

RMN ^{13}C (CD_3OD , 75 MHz): δ (ppm): 177.4, 174.1, 173.7 (2), 53.1, 50.2, 49.8, 49.7, 49.5, 32.0, 24.8, 20.2, 17.2, 16.9, 16.4;

MS (FAB) m/e 705 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 683 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{30}\text{H}_{55}\text{N}_{10}\text{O}_8$ 683.42043; obtenu 683.42077.

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-*L*-Ala-*D*-Ala-*Ac*)-diaminocyclohexane (41).



A une solution de la diamine **39** (10 mg, 0.015 mmol) dans du méthanol (500 μL) est ajouté de l'anhydride acétique (10 μL , 0.076 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 48 h. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le résidu est trituré avec de l'éther puis le solide est filtré et séché sous vide. Le produit désiré est obtenu sous forme de solide blanc (10 mg, 91 %).

$[\alpha]_{\text{D}}^{-8}$ (*c* 0.1, MeOH);

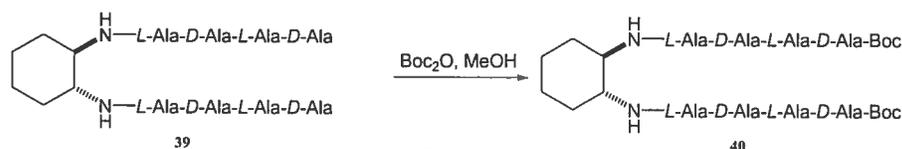
RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz): δ (ppm): 4.31-4.26 (m, 8H), 3.74-3.71 (m, 2H), 1.99 (s, 6H), 1.91 (s large, 2H), 1.74 (s large, 2H), 1.40-1.35 (m, 28H);

RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz): δ (ppm): 174.5, 173.9, 173.8, 173.6, 172.3, 52.9, 50.1, 49.9, 49.8, 49.7, 31.9, 21.4, 17.1, 16.7, 16.5, 16.4;

MS (FAB) *m/e* 790 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 768 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3302, 1656, 1541, 1523.

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ala-*D*-Ala-*L*-Ala-*D*-Ala-*Boc*)-diaminocyclohexane (40).



A une solution de la diamine **39** (15 mg, 0.022 mmol) dans du méthanol (1 mL) est ajouté Boc_2O (19 mg, 0.088 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 60 h. Le solvant est évaporé sous pression réduite

et le résidu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / MeOH 9/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (11 mg, 58 %).

$[\alpha]_D -5$ (c 0.55, MeOH);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm): 7.63 (s large, 2H), 7.49 (s large, 2H), 7.23 (s large, 2H), 7.11 (s large, 2H), 5.79 (s large, 2H), 4.53-4.43 (m, 6H), 4.24-4.22 (m, 2H), 3.67 (m, 2H), 1.92 (s large, 2H), 1.75 (s large, 2H), 1.46 (s, 18H), 1.49-1.25 (m, 28H);

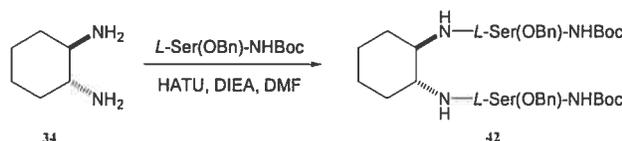
RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz): δ (ppm): 175.0, 173.9, 173.8, 173.7, 156.7, 79.5, 53.0, 50.9, 50.1, 49.9, 49.5, 31.9, 27.7, 24.7, 17.1, 17.0, 16.6, 16.4;

MS (FAB) m/e 905 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 882 $[\text{M}]^+$, 782 $[\text{M}-\text{Boc}]^+$, 683 $[\text{M}-2\text{Boc}]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{40}\text{H}_{71}\text{N}_{10}\text{O}_{12}$ 883.52529; obtenu 883.52250 ;

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3309, 1664, 1534, 1509.

Synthèse de *(1R, 2R)*-*N,N'*-bis(*L*-Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (42).



A une solution refroidie à 0 °C de *(1R, 2R)*-diaminocyclohexane (300 mg, 2.63 mmol) dans 13 mL de DMF, sont ajoutés Boc-*L*-sérine(OBn) (1.86 g, 6.31 mmol), HATU (2.40 g, 6.31 mmol) et la diisopropyléthylamine (2.20 mL, 4.8 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 60 h à température ambiante. H_2O (50 mL) et EtOAc (50 mL) sont alors ajoutés à la solution et les phases sont séparées. La phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de NaHCO_3 et une solution saturée de NaCl , puis séchée (Na_2SO_4) et évaporée à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / Hexanes 1/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (1.70 g, 96 %).

$[\alpha]_D +6$ (c 1.0, CHCl_3);

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm): 7.24-7.19 (m, 10H), 6.75 (d, 2H, $J = 6.3$ Hz), 5.45 (s large, 2H), 4.49-4.46 (d, 2H, $J = 12.1$ Hz), 4.41-4.38 (d, 2H, $J = 12.1$

(Hz), 4.20 (s large, 2H), 3.75 (s large, 2H), 3.59 (s large, 2H), 3.52-3.48 (dd, 2H, $J = 9.3, 5.4$ Hz) 1.92 (s large, 2H), 1.65 (d apparent, 2H, $J = 7.6$ Hz), 1.37 (s, 18H), 1.25-1.22 (m, 4H);

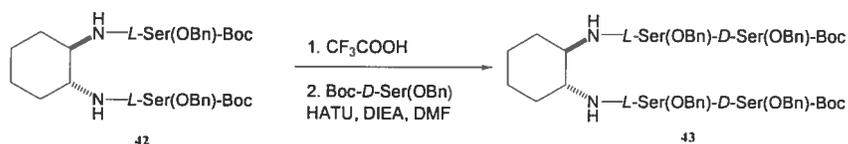
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm): 170.9, 156.0, 138.0, 128.7, 128.5, 128.1, 127.9, 80.3, 69.8, 54.4, 54.1, 32.3, 28.6, 24.9;

MS (FAB) m/e 669 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 569 $[\text{M}-\text{Boc}]^+$, 469 $[\text{M}-2\text{Boc}]^+$;

HRMS (FAB) calc. pour $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{N}_4\text{O}_8$ 669.38634; obtenu 669.38370 ;

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3416, 1710, 1668, 1528, 1496.

Synthèse de (1*R*, 2*R*)- $\text{N}_2\text{N}'$ -bis(*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (43).



A une solution de la diamine protégée **42** (1.6 g, 2.39 mmol) dans 10 mL de dichlorométhane est ajouté de l'acide trifluoroacétique en excès (10 mL) et la solution ainsi obtenue est agitée à température ambiante pendant 2 h. Les solvants sont alors évaporés sous pression réduite et le résidu obtenu est co-évaporé avec du toluène, puis séché sous vide pendant la nuit. Le solide obtenu (1.4 g, quantitatif) est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

A une solution refroidie à 0 °C de la diamine (1.4 g, 2.39 mmol) dans 12 mL de DMF, sont ajoutés N-Boc-*D*-serine(OBn) (1.69 g, 5.74 mmol), HATU (2.18 g, 5.74 mmol) et la diisopropyléthylamine (2.00 mL, 4.8 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 16 h à température ambiante. H_2O (50 mL) et EtOAc (50 mL) sont alors ajoutés à la solution et les phases sont séparées. La phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de NaHCO_3 et une solution saturée de NaCl , puis séchée (Na_2SO_4) et évaporée à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / Hexanes 3/2) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (2.21 g, 91 %).

$[\alpha]_{\text{D}} -46$ (c 1.0, CHCl_3);

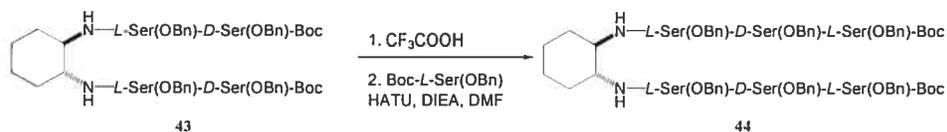
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm): 7.32-7.20 (m, 22H), 6.73 (s large, 2H), 6.18 (s large, 2H), 4.71 (s large, 2H), 4.55-4.39 (m, 6H), 3.98-3.92 (m, 4H), 3.64-3.61 (m, 4H), 3.52 (s large, 2H), 1.86 (s large, 2H), 1.59 (s large, 2H), 1.45 (s, 18H), 1.07 (s large, 4H);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm): 171.0, 170.3, 156.3, 138.1, 137.9, 128.9, 128.8, 128.1, 127.9, 80.5, 73.6, 72.9, 70.7, 68.3, 55.3, 54.2, 32.0, 28.8, 24.8;

MS (FAB) m/e 1023 $[\text{M}]^+$, 923 $[\text{M}-\text{Boc}]^+$, 823 $[\text{M}-2\text{Boc}]^+$;

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3334, 1668, 1538, 1497.

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-*L*-Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (44).



A une solution de la diamine protégée **43** (1.5 g, 1.47 mmol) dans 10 mL de dichlorométhane est ajouté de l'acide trifluoroacétique en excès (10 mL) et la solution ainsi obtenue est agitée à température ambiante pendant 2 h. Les solvants sont alors évaporés sous pression réduite et le résidu obtenu est co-évaporé avec du toluène, puis séché sous vide pendant la nuit. Le solide obtenu (1.4 g, quantitatif) est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

A une solution refroidie à 0 °C de la diamine (1.4 g, 1.47 mmol) dans 8.5 mL de DMF, sont ajoutés Boc-*L*-serine(OBn) (1.04 g, 3.53 mmol), HATU (1.34 g, 3.53 mmol) et la diisopropyléthylamine (1.54 mL, 6 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 96 h à température ambiante. H_2O (50 mL) et EtOAc (50 mL) sont alors ajoutés à la solution et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite avec deux portions de EtOAc. Les phases organiques combinées sont lavées successivement avec une solution saturée de NaHCO_3 et une solution saturée de NaCl , puis séchées (Na_2SO_4) et évaporées à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / Hexanes 2/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (1.56 g, 77 %).

$[\alpha]_D -7.5$ (c 1.0, CHCl_3);

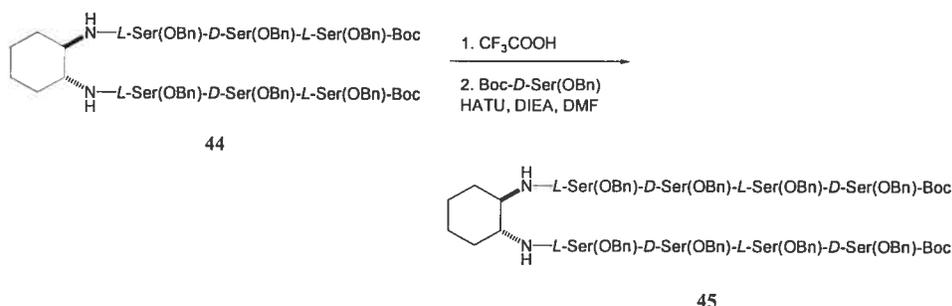
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm): 7.57 (s large, 2H), 7.41 (d, 2H, $J = 6.9$ Hz), 7.28-7.22 (m, 30H), 5.72 (d, 2H, $J = 6.9$ Hz), 4.76-4.74 (m, 2H), 4.63-4.60 (m, 2H), 4.51-4.38 (m, 14H), 3.83-3.79 (m, 6H), 3.62-3.52 (m, 8H), 1.89 (d apparent, 2H, $J = 9.6$ Hz), 1.61-1.58 (m, 2H), 1.43 (s, 18H), 1.16-1.10 (m, 4H);

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm): 171.3, 170.3, 170.2, 155.9, 138.0, 128.8, 128.6, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 80.3, 73.5, 73.3, 70.4, 69.9, 69.2, 54.4, 54.2, 53.9, 53.0, 32.0, 28.7, 24.9;

MS (FAB) m/e 1377 $[\text{M}]^+$, 1277 $[\text{M}-\text{Boc}]^+$, 1177 $[\text{M}-2\text{Boc}]^+$;

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3332, 1666, 1496.

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane (45).



A une solution de la diamine protégée **44** (500 mg, 0.36 mmol) dans 5 mL de dichlorométhane est ajouté de l'acide trifluoroacétique en excès (5 mL) et la solution ainsi obtenue est agitée à température ambiante pendant 5 h. Les solvants sont alors évaporés sous pression réduite et le résidu obtenu est co-évaporé avec du toluène, puis séché sous vide pendant la nuit. Le solide obtenu (500 mg, quantitatif) est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

A une solution refroidie à 0 °C de la diamine (500 mg, 0.36 mmol) dans 3 mL de DMF, sont ajoutés Boc-*D*-serine(OBn) (257 mg, 0.87 mmol), HATU (331 mg, 0.87 mmol) et la diisopropyléthylamine (380 μL , 6 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 24 h à température ambiante. La DMF est évaporée sous pression réduite et le résidu est dissous dans de l'acétate d'éthyle (50 mL).

La solution est lavée successivement avec de l'eau, une solution saturée de NaHCO₃ et une solution saturée de NaCl, puis séchée (Na₂SO₄) et évaporée à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / Hexanes 3/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (560 mg, 89 %).

$[\alpha]_D -2$ (c 0.9, CHCl₃);

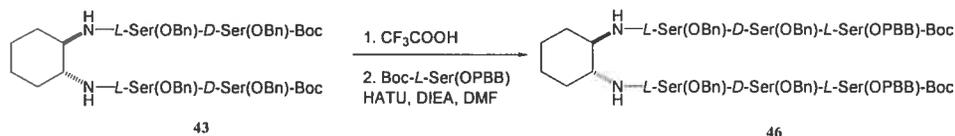
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm): 7.69 (s large, 2H), 7.56 (s large, 2H), 7.27-7.23 (m, 40H), 7.15 (s large, 2H), 6.90 (s large, 2H), 5.70 (s large, 2H), 4.77 (s large, 2H), 4.66-4.55 (m, 4H), 4.48-4.37 (m, 18H), 3.80-3.78 (m, 8H), 3.62-3.60 (m, 10H), 1.86 (s large, 2H), 1.59 (s large, 2H), 1.41 (s, 18H), 1.15-1.10 (m, 4H);

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 171.0, 170.7, 170.3, 170.2, 156.1, 138.1, 138.0 (2), 137.9, 128.8, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 80.6, 73.5, 73.2, 70.2, 69.7, 69.5, 69.1, 54.8, 53.9, 53.5, 53.1, 32.1, 28.7, 24.9;

MS (FAB) m/e 1754 [M+Na]⁺, 1732 [M]⁺, 1632 [M-Boc]⁺, 1532 [M-2Boc]⁺;

FTIR : ν (cm⁻¹) : 3327, 1667, 1497.

Synthèse de (1*R*, 2*R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-*L*-Ser(OPBB)-Boc)-diaminocyclohexane (46).



A une solution de la diamine protégée **43** (100 mg, 0.098 mmol) dans 1 mL de dichlorométhane est ajouté de l'acide trifluoroacétique en excès (1 mL) et la solution ainsi obtenue est agitée à température ambiante pendant 2 h. Les solvants sont alors évaporés sous pression réduite et le résidu obtenu est co-évaporé avec du toluène, puis séché sous vide pendant la nuit. Le solide obtenu (90 mg, quantitatif) est utilisé dans l'étape suivante sans aucune autre purification.

A une solution refroidie à 0 °C de la diamine (0.098 mmol) dans 1 mL de DMF, sont ajoutés Boc-*L*-serine(OPBB) (110 mg, 0.293 mmol), HATU (111 mg, 0.293 mmol) et la diisopropyléthylamine (102 μ L, 6 équiv). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0 °C et 48 h à température ambiante. H₂O (10 mL) et EtOAc (10 mL) sont alors ajoutés à la solution et les phases sont séparées. La phase

aqueuse est extraite avec deux portions de EtOAc. Les phases organiques combinées sont lavées successivement avec une solution saturée de NaHCO₃ et une solution saturée de NaCl, puis séchées (Na₂SO₄) et évaporées à sec. Le solide ainsi obtenu est purifié via chromatographie flash sur gel de silice (AcOEt / Hexanes 2/1) pour donner le produit désiré sous forme de solide blanc (76 mg, 51 %).

$[\alpha]_{\text{D}} -5$ (*c* 0.5, CHCl₃);

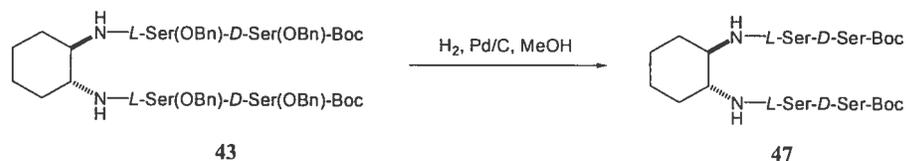
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm): 7.55 (d, 2H, *J* = 6.2 Hz), 7.41 (d, 4H, *J* = 8.3 Hz), 7.36 (s, 2H), 7.33-7.25 (m, 20H), 7.15 (d, 4H, *J* = 8.3 Hz), 6.79 (d, 2H, *J* = 6.3 Hz), 5.71 (d, 2H, *J* = 6.8 Hz), 4.77-4.71 (m, 2H), 4.64-4.58 (m, 2H), 4.49-4.36 (m, 14H), 3.84-3.76 (m, 6H), 3.61-3.53 (m, 8H), 1.90-1.87 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 2H), 1.43 (s, 18H), 1.22-1.13 (m, 4H);

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm): 171.3, 170.3 (2), 155.9, 137.9, 137.1, 131.9, 129.7, 128.8, 128.2, 128.1, 127.9, 122.0, 80.5, 73.5, 73.3, 72.7, 70.5, 69.9, 69.1, 54.4, 54.2, 53.9, 53.0, 32.1, 28.7, 24.9;

MS (FAB) *m/e* 1536 [M+H]⁺, 1535 [M]⁺, 1435 [M-Boc]⁺;

FTIR : ν (cm⁻¹) : 3334, 1669, 1537.

Synthèse de (*1R, 2R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser-*D*-Ser-Boc)-diaminocyclohexane (**47**).



(*1R, 2R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane **43** (100 mg, 0.098 mmol) est dissous dans du méthanol (10 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (40 mg, 40% w/w) pendant 16 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est évaporé sous vide pour donner 60 mg (94 %) de produit désiré sous forme de solide blanc.

$[\alpha]_{\text{D}} -6$ (*c* 0.5, MeOH);

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ (ppm): 4.41 (t apparent, 2H, *J* = 6.9 Hz), 4.19-4.17 (m, 2H), 3.99-3.95 (dd, 2H, *J* = 11.0, 4.6 Hz), 3.90-3.86 (dd, 2H, *J* = 11.0,

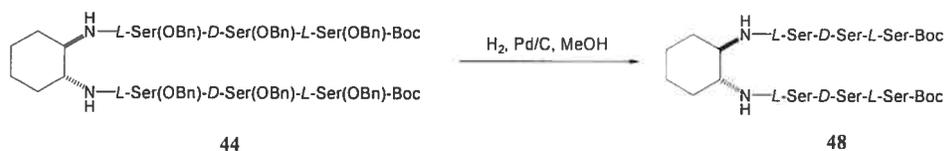
4.5 Hz), 3.78-3.75 (m, 4H), 3.64 (s large, 2H), 1.90-1.88 (d apparent, 2H, $J = 10.8$ Hz), 1.74-1.72 (d apparent, 2H, $J = 5.9$ Hz), 1.48 (s, 18H), 1.44-1.29 (m, 4H);

RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz): δ (ppm): 172.7, 170.8, 156.8, 80.0, 62.5, 61.5, 57.5, 55.7, 53.3, 31.9, 27.7, 24.7;

MS (FAB) m/e 685 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 663 $[\text{M}]^+$, 563 $[\text{M}-\text{Boc}]^+$, 463 $[\text{M}-2\text{Boc}]^+$;

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3341, 1678, 1650, 1550, 1509.

Synthèse de (*1R, 2R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser-*D*-Ser-*L*-Ser-Boc)-diaminocyclohexane (48).



(*1R, 2R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-*L*-Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane **44** (50 mg, 0.036 mmol) est dissous dans du méthanol (10 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (25 mg, 50% w/w) pendant 20 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est évaporé sous vide pour donner 30 mg (quantitatif) de produit désiré sous forme de solide blanc.

$[\alpha]_{\text{D}} -3$ (c 1.45, MeOH);

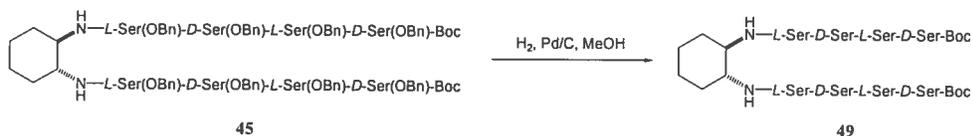
RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz): δ (ppm): 4.44-4.42 (t apparent, 2H, $J = 4.4$ Hz), 4.40-4.38 (t apparent, 2H, $J = 4.5$ Hz), 4.25-4.22 (t apparent, 2H, $J = 4.4$ Hz), 3.96-3.73 (m, 12H), 3.68 (s large, 2H), 1.92 (m, 2H), 1.75 (s large, 2H), 1.47 (s, 18H), 1.44-1.34 (m, 4H);

RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz): δ (ppm): 173.7, 172.7, 171.8, 157.8, 81.0, 63.5, 62.8, 62.6, 58.1, 57.3, 57.0, 54.3, 32.9, 28.7, 25.7;

MS (FAB) m/e 837 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

FTIR : ν (cm^{-1}) : 3306, 1660, 1640, 1530, 1505.

Synthèse de (*1R, 2R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser-*D*-Ser-*L*-Ser-*D*-Ser-Boc)-diaminocyclohexane (**49**).



(*1R, 2R*)-*N,N'*-bis(*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-*L*-Ser(OBn)-*D*-Ser(OBn)-Boc)-diaminocyclohexane **45** (50 mg, 0.029 mmol) est dissous dans du méthanol (10 mL) et hydrogéné (1 atm.) sur du Pd/C 10% (25 mg, 50% w/w) pendant 20 h à température ambiante. Après séparation du catalyseur par filtration sur Celite, le solvant est évaporé sous vide pour donner 29 mg (quantitatif) de produit désiré sous forme de solide blanc.

$[\alpha]_{\text{D}} +1$ (*c* 1.25, MeOH);

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ (ppm): 4.49-4.47 (t apparent, 2H, *J* = 4.9 Hz), 4.44-4.42 (t apparent, 2H, *J* = 4.4 Hz), 4.41-4.39 (t apparent, 2H, *J* = 4.5 Hz), 4.21-4.20 (t apparent, 2H, *J* = 4.8 Hz), 3.97-3.91 (m, 6H), 3.87-3.75 (m, 10H), 3.66-3.64 (m, 2H), 1.92 (m, 2H), 1.75 (s large, 2H), 1.47 (s, 18H), 1.33-1.29 (m, 4H);

RMN ¹³C (CD₃OD, 100 MHz): δ (ppm): 174.0, 172.9, 172.7, 171.8, 157.9, 81.0, 63.3, 62.9, 62.6, 58.2, 57.4, 57.2, 57.1, 54.3, 32.9, 28.7, 25.7;

MS (FAB) *m/e* 1033 [M+Na]⁺, 1012 [M+H]⁺;

FTIR : ν (cm⁻¹) : 3324, 1660, 1640, 1538.

Références bibliographiques

-
- ¹ Venkatraman J., Shankaramma S.C., Balaram P., "Design of folded peptides", *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3131
- ² IUPAC-IUB, "Abbreviations and Symbols for the Description of the Conformation of Polypeptide Chains. Tentative Rules", *Biochemistry* **1970**, *9*, 3471
- ³ Ramachandran G.N., Ramakrishnan C., Sasisekaran V., "Stereochemistry of Polypeptide Chain Configurations", *J. Mol. Biol.* **1963**, *7*, 95
- ⁴ Bolin K.A., Millhauser G.L., " α and 3_{10} : The Split Personality of Polypeptide Helices", *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 1027
- ⁵ Vinci V., "Sintesi di Nuovi Peptidomimetici", Thèse de doctorat, Università degli Studi di Pavia, **2003**
- ⁶ Robinson J.A., "The Design, Synthesis and Conformation of Some New β -Hairpin Mimetics: Novel Reagents for Drug and Vaccine Discovery", *Synlett* **2000**, *4*, 429
- ⁷ Yao S., Smith-White M.A., Potter E.K., Norton R.S., "Stabilization of the Helical Structure of Y2-Selective Analogues of Neuropeptide Y by Lactam Bridges", *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2310
- ⁸ Kaiser E.T., Kézdy F.J., "Amphiphilic Secondary Structure: Design of Peptide Hormones", *Science* **1984**, *223*, 249
- ⁹ Andrews M.J.I., Tabor A.B., "Forming Stable Helical Peptides Using Natural and Artificial Amino Acids", *Tetrahedron* **1999**, *55*, 11711 et références citées par les auteurs
- ¹⁰ Pour une revue détaillée sur les peptides antibiotiques, voir : Hancock R.E.W., "Peptide antibiotics", *Lancet* **1997**, *349*, 418
- ¹¹ (a) Zasloff M., "Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 5449. (b) Boman H.G., "Peptide Antibiotics and their Role in Innate Immunity", *Annu. Rev. Immunol.* **1995**, *13*, 61
- ¹² (a) Ghadiri M.R., Granja J.R., Buehler L.K., "Artificial transmembrane ion channels from self-assembling peptide nanotubes", *Nature* **1994**, *369*, 301. (b) Fernandez-Lopez S., Kim H.-S., Choi, E.C., Delgado M., Granja J.R., Khasanov A., Kraehenbuehl K., Long G., Weinberger D.A., Wilcoxon K.M., Ghadiri M.R., "Antibacterial agents based on the cyclic D,L- α -peptide architecture", *Nature* **2001**, *412*, 452 (c) Khazanovich N., Granja J.R., McRee D.E., Milligan R.A.,

Ghadiri M.R., "Nanoscale Tubular Ensembles with Specified Internal Diameters. Design of a Self-Assembled Nanotube with a 13-Å pore", *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6011. (d) Granja J.R., Ghadiri M.R., "Channel-Mediated Transport of Glucose across Lipid Bilayers", *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10785. (e) Sánchez-Quesada J., Kim H.S., Ghadiri M.R., "A Synthetic Pore-Mediated Transmembrane Transport of Glutamic Acid", *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2503

¹³ (a) Dyson H.J., Wright P.E., "Defining Solution Conformations of Small Linear Peptides", *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1991**, *20*, 519. (b) Schneider J.P., Kelly J.W., "Templates That Induce α -Helical, β -Sheet, and Loop Conformations", *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2169. (c) Hill D.J., Mio M.J., Prince R.B., Hughes T.S., Moore J.S., "A Field Guide to Foldamers", *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893

¹⁴ (a) Kemp D.S., Boyd J.G., Muendel C.C., "The helical s constant for alanine in water derived from template-nucleated helices", *Nature* **1991**, *352*, 451. (b) Kemp D.S., Curran T.P., Davis W.M., Boyd J.G., Muendel C.C., "Studies of N-Terminal Templates for α -Helix Formation. Synthesis and Conformational Analysis of (2*S*,5*S*,8*S*,11*S*)-1-Acetyl-1,4-diaza-3-keto-5-carboxy-10-thiatricyclo[2.8.1.0^{4,8}]-tridecane (Ac-Hel-OH)", *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6672. (c) Maison W., Arce E., Renold P., Kennedy R.J., Kemp D.S., "Optimal N-Caps for N-Terminal Helical Templates: Effects of Changes in H-Bonding Efficiency and Charge", *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10245

¹⁵ (a) Lewis A., Ryan M.D., Gani D., "Design, construction and properties of peptide N-terminal cap templates devised to initiate α -helices. Part 1. Caps derived from *N*-(4-chlorobutyryl)-(2*S*)-Pro-(2*S*)-Pro-(2*S*)-Ala-OMe and *N*-[(2*S*)-2-chloropropionyl]-(2*S*)-Pro-(2*S*)-Pro-(2*S*,4*S*)-4-hydroxyPro-OMe", *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 3767. (b) Lewis A., Wilkie J., Rutherford T.J., Gani D., "Design, construction and properties of peptide N-terminal cap templates devised to initiate α -helices. Part 2. Caps derived from *N*-[(2*S*)-2-chloropropionyl]-(2*S*)-Pro-(2*S*)-Pro-(2*S*,4*S*)-4-thioPro-OMe", *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 3777. (c) Lewis A., Rutherford T.J., Wilkie J., Jenn T., Gani D., "Design, construction and properties of peptide N-terminal cap templates devised to initiate α -helices. Part 3. Caps derived from *N*-[(2*S*)-2-chloropropionyl]-(2*S*)-Pro-(2*R*)-Ala-(2*S*,4*S*)-4-thioPro-OMe", *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 3795

¹⁶ Cabezas E., Satterthwait A.C., "The Hydrogen Bond Mimic Approach: Solid-Phase Synthesis of a Peptide Stabilized as an α -Helix with a Hydrazone Link", *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3862-3875

¹⁷ Austin R.E., Maplestone R.A., Sefler A.M., Liu K., Hruzewicz W.N., Liu C.W., Cho H.S., Wemmer D.E., Bartlett P.A., "A Template for Stabilization of a Peptide α -Helix: Synthesis and Evaluation of Conformational Effects by Circular Dichroism and NMR", *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6461

¹⁸ Blackwell H.E., Sadowsky J.D., Howard R.J., Sampson J.N., Chao J.A., Steinmetz W.E., O'Leary D.J., Grubbs R.H., "Ring-Closing Metathesis of

Olefinic Peptides: Design, Synthesis, and Structural Characterization of Macrocyclic Helical Peptides”, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5291

¹⁹ Ghadiri M.R., Choi C., “Secondary structure nucleation in peptides. Transition metal ion stabilized α -helices”, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1630

²⁰ (a) Kelso M.J., Hoang H.N., Appleton T.G., Fairlie, D. P., “The First Solution Structure of a Single α -Helical Turn. A Pentapeptide α -Helix Stabilized by a Metal Clip”, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10488. (b) Shepherd N.E., Abbenante G., Fairlie D.P., “Consecutive Cyclic Pentapeptide Modules Form Short α -Helices that are Very Stable to Water and Denaturants”, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2687. (c) Kelso M.J., Beyer R.L., Hoang H.N., Lakdawala A.S., Snyder J.P., Oliver W.V., Robertson T.A., Appleton T.G., Fairlie D.P., “ α -Turn Mimetics: Short Peptide α -Helices Composed of Cyclic Metallopentapeptide Modules”, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4828

²¹ Pour une revue détaillée sur les peptides β , voir : Cheng R.P., Gellman S.H., DeGrado W.F., “ β -Peptides: From Structure to Function”, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219

²² Hanessian S., Luo X., Schaum R., Michnick S., “Design of Secondary Structures in Unnatural Peptides: Stable Helical γ -Tetra-, Hexa-, and Octapeptides and Consequences of α -Substitution”, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569

²³ (a) Toniolo C., Benedetti E., “The polypeptide 3_{10} -helix”, *Trends Biochem. Sci.* **1991**, *16*, 350. (b) Di Blasio B., Pavone V., Saviano M., Lombardi A., Nistri F., Pedone C., Benedetti E., Crisma M., Anzolin M., Toniolo C., “Structural Characterization of the β -Bend Ribbon Spiral: Crystallographic Analysis of Two Long (L-Pro-Aib) $_n$ Sequential Peptides”, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6273

²⁴ (a) Tsang K.Y., Diaz H., Graciani N., Kelly J.W., “Hydrophobic Cluster Formation Is Necessary for Dibenzofuran-Based Amino Acids to Function as β -Sheet Nucleators”, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3988. (b) Nesloney C.L., Kelly J.W., “Synthesis and Hydrogen Bonding Capabilities of Biphenyl-Based Amino Acids Designed To Nucleate β -Sheet Structure”, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3127. (c) Schneider J.P., Kelly J.W., “Synthesis and Efficacy of Square Planar Copper Complexes Designed to Nucleate β -Sheet Structure”, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2533

²⁵ Kemp D.S., Li Z.Q., “2-Amino-2'-carboxydiphenylacetylenes as β -turn mimetics. Synthesis and conformational properties”, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4175

²⁶ Nowick J. S., “Chemical Models of Protein β -Sheets”, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 287

²⁷ Rosenthal-Aizman K., Svensson G., Uden A., “Self-Assembling Peptide Nanotubes from Enantiomeric Pairs of Cyclic Peptides with Alternating D and L Amino Acid Residues”, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3372

-
- ²⁸ (a) Clark T.D., Buehler L.K., Ghadiri M.R., "Self-Assembling Cyclic β^3 -Peptide Nanotubes as Artificial Transmembrane Ion Channels", *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 651. (b) Seebach D., Matthews J.L., Meden A., Wessels T., Baerlocher C., McCusker L.B., "15. Cyclo- β -peptides: Structure and Tubular Stacking of Cyclic Tetramers of 3-Aminobutanoic Acid as Determined from Powder Diffraction Data", *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 173
- ²⁹ Amorin M., Castedo L., Granja J.R., "New Cyclic Peptide Assemblies with Hydrophobic Cavities: The Structural and Thermodynamic Basis of a New Class of Peptide Nanotubes", *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844
- ³⁰ Pour une revue sur la spectroscopie CD, voir: Johnson W.C., "Protein Secondary Structure and Circular Dichroism : A Practical Guide", *Proteins* **1990**, *7*, 205
- ³¹ Chen Y.-H., Yang J.T., Chau K.H., "Determination of the helix and β -form of proteins in aqueous solution by circular dichroism ", *Biochemistry* **1974**, *13*, 3350
- ³² Toniolo C. Polese A., Formaggio F., Crisma M., Kamphuis J., "Circular Dichroism Spectrum of a Peptide 3_{10} -Helix ", *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2744
- ³³ Miyazawa T., Blout E.R., "The Infrared Spectra of Polypeptides in Various Conformations: Amide I and II Bands", *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 712
- ³⁴ Voir par exemple : Haque T.S., Little J.C., Gellman S.H., "'Mirror image" reverse turns promote β -hairpin formation ", *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4105
- ³⁵ Wüthrich K., Billeter M., Braun W., "Polypeptide Secondary Structure Determination by Nuclear Magnetic Resonance Observation of Short Proton-Proton Distance", *J. Mol. Biol.* **1984**, *180*, 715
- ³⁶ Pardi A., Billeter M., Wüthrich K., "Calibration of the Angular Dependence of the Amide Proton- C^α Proton Coupling Constants, $^3J_{HN\alpha}$, in a Globular Protein", *J. Mol. Biol.* **1984**, *180*, 741
- ³⁷ (a) Wishart D.S., Sykes B.D., Richards F.M., "Relationship between Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shift and Protein Secondary Structure", *J. Mol. Biol.* **1991**, *222*, 311. (b) Wishart D.S., Sykes B.D., Richards F.M., "The Chemical Shift Index: A Fast and Simple Method for the Assignment of Protein Secondary Structure through NMR Spectroscopy", *Biochemistry* **1992**, *31*, 1647
- ³⁸ (a) Baxter N.J., Williamson M.P., "Temperature dependence of 1H chemical shifts in proteins", *J. Biomol. NMR.* **1997**, *9*, 359. (b) Gellman S.H., Dado G.P., Liang G.-B., Adams B.R., "Conformation-directing effects of a single intramolecular amide-amide hydrogen bond: variable-temperature NMR and IR studies on a homologous diamide series", *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1164. (c) Stevens E.S., Sugawara N., Bonora G.M., Toniolo C., "Conformational analysis

of linear peptides. 3. Temperature dependence of NH chemical shifts in chloroform", *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7048

³⁹ (a) Pitner T.P., Urry D.W., "Proton magnetic resonance studies in trifluoroethanol. Solvent mixtures as a means of delineating peptide protons", *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 1399. (b) Iqbal M., Balaram P., "The 3_{10} helical conformation of the amino terminal decapeptide of suzukacillin. 270 MHz hydrogen-1 NMR evidence for eight intramolecular hydrogen bonds", *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5548

⁴⁰ Stern A., Gibbons W.A., Craig L.C., "A Conformational Analysis of Gramicidin S-A by Nuclear Magnetic Resonance", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1968**, *61*, 734

⁴¹ Von Heijne G., "Proline Kinks in Transmembrane α -Helices", *J. Mol. Biol.* **1991**, *218*, 499

⁴² Venkatachalapathi Y.V., Balaram P., "An incipient 3_{10} helix in Piv-Pro-Pro-Ala-NHMe as a model for peptide folding", *Nature* **1979**, *281*, 23

⁴³ (a) Eberhardt E.S., Loh S.N., Hinck A.P., Raines R.T., "Solvent effects on the energetics of prolyl peptide bond isomerization", *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5437. (b) Eberhardt E.S., Panasik Jr N., Raines R.T., "Inductive Effects on the Energetics of Prolyl Peptide Bond Isomerization: Implications for Collagen Folding and Stability", *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12261. (c) Breznik M., Grdadolnik S.G., Giester G., Leban I., Kikelj D., "Influence of Chirality of the Preceding Acyl Moiety on the *cis/trans* Ratio of the Proline Peptide Bond", *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7044

⁴⁴ Cox C., Lectka T., "Solvent Effects on the Barrier to Rotation in Carbamates", *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2426

⁴⁵ (a) Beausoleil E., Lubell W.D., "Steric Effects on the Amide Isomer Equilibrium of Prolyl Peptides. Synthesis and Conformational Analysis of *N*-Acetyl-5-*tert*-butylproline *N'*-Methylamides", *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12902. (b) Beausoleil E., Sharma R., Michnick S.W., Lubell W.D., "Alkyl 3-Position Substituents Retard the Isomerization of Prolyl and Hydroxyprolyl Amides in Water", *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6572

⁴⁶ Hanessian S., Papeo G., Angiolini M., Fettis K., Beretta M., Munro A., "Synthesis of Functionally Diverse and Conformationally Constrained Polycyclic Analogues of Proline and Prolinol", *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7204

⁴⁷ (a) Oliveira D.F., Miranda P.C.M.L., Correia C.R.D., "Efficient and Expeditious Protocols for the Synthesis of Racemic and Enantiomerically Pure Endocyclic Enecarbamates from *N*-Acyl Lactams and *N*-Acyl Pyrrolidines", *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6646 et references citées par les auteurs. (b) Li H., Sakamoto T., Kato M., Kikugawa Y., "A Convenient *N*-Protection of Pyroglutamate Derivatives", *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 4045

- ⁴⁸ (a) Ezquerro J., Pedregal J., Rubbio A., Yruretagoyena B., Escribano A., Sanchez-Ferrando F., "Stereoselective reactions of lithium enolates derived from N-Boc protected pyroglutamic esters", *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8665. (b) Thottathil J.K., Moniot J.L., Mueller R.H., Wong M.K.Y., Kissick T.P., "Conversion of L-pyroglutamic acid to 4-alkyl-substituted L-prolines. The synthesis of trans-4-cyclohexyl-L-proline", *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3140
- ⁴⁹ Zhao M., Li J., Mano E., Song Z., Tschäen D.M., Grabowski E.J.J., Reider P.J., "Oxidation of Primary Alcohols to Carboxylic Acids with Sodium Chlorite Catalyzed by TEMPO and Bleach", *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2564
- ⁵⁰ Hanessian S., Papeo G., Fettis K., Therrien E., Phan Viet M.T., "Synthesis of 3_{10} Helix-inducing Constrained Analogues of L-Proline", *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4891
- ⁵¹ (a) Madison V., Schellman J., "Location of Proline derivatives in conformational space. I. Conformational calculations; Optical activity and NMR experiments", *Biopolymers* **1970**, *9*, 511. (b) Higashijima T., Tasumi M., Miyazawa T., "¹H Nuclear Magnetic Resonance Studies of N-Acetyl-L-Proline N-Methylamide. Molecular Conformations, Hydrogen Bondings, and Thermodynamic Quantities in Various Solvents", *Biopolymers* **1977**, *16*, 1259.
- ⁵² Duan, G.; Smith, V. H., Jr.; Weaver, D. F., "Characterization of Aromatic-Amide (Side-Chain) Interactions in Proteins through Systematic ab Initio Calculations and Data Mining Analyses", *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 4521
- ⁵³ (a) Kessler H., "Conformation and Biological Activity of Cyclic Peptides", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 512 et references citées par l'auteur. (b) Venkatachalapathi Y.V., Venkataram Prasad B.V., Balaram P., "Conformational analysis of small disulfide loops. Spectroscopic and theoretical studies on a synthetic cyclic tetrapeptide containing cystine", *Biochemistry* **1982**, *21*, 5502. (c) Siemion I.Z., Wieland T., Pook K.-H., "Influence of the Distance of the Proline Carbonyl from the β and γ Carbon on the ¹³C Chemical Shifts", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 702
- ⁵⁴ Liang G.B., Riro C.J., Gellman S.H., "Thermodynamic analysis of β -turn formation in Pro-Ala, Pro-Gly, and Pro-Val model peptides in methylene chloride", *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4440
- ⁵⁵ (a) Hanessian S., McNaughton-Smith G., Lombart H.-G., Lubell W.D., "Design and Synthesis of Conformationally Constrained Amino Acids as Versatile Scaffolds and Peptide Mimetics", *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789. (b) Gillespie P., Cicariello J., Olson G.L., "Conformational Analysis of Dipeptide Mimetics", *Biopolymers (Peptide Sci.)* **1997**, *43*, 191
- ⁵⁶ Voir par exemple: Belvisi L., Gennari C., Mielgo A., Potenza D., Scolastico C., "Conformational Preferences of Peptides Containing Reverse-Turn Mimetic

Bicyclic Lactams: Inverse γ -Turns versus Type-II' β -Turns – Insights into β -Hairpin Stability”, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 389

⁵⁷ Hanessian S., Sailes H., Munro A., Therrien E., “Synthesis of Diversely Functionalized Indolizidinones and Related Bicyclic Lactams Using Intramolecular Grubbs Olefin Metathesis and Dieckmann Condensation”, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7219 et références citées par les auteurs

⁵⁸ Evans D.A., Britton T.C., Ellman J.A., Dorow R.L., “The Asymmetric Synthesis of α -Amino Acids. Electrophilic Azidation of Chiral Imide Enolates, a Practical Approach to the Synthesis of (*R*)- and (*S*)- α -Azido Carboxylic Acids”, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4011

⁵⁹ Bong D.T., Clark T.D., Granja J.R., Ghadiri M.R., “Self-assembling Organic Nanotubes”, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 988 et références citées par les auteurs

⁶⁰ (a) Urry D.W., “The Gramicidin A Transmembrane Channel: A proposed $\pi_{(L,D)}$ Helix”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1971**, *68*, 672. (b) Urry D.W., Goodall M.C., Glickson J.D., Mayers D.F., “The Gramicidin A Transmembrane Channel: Characteristics of Head-to-Head Dimerized $\pi_{(L,D)}$ Helices”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1971**, *68*, 1907. (c) Wallace B.A., “Gramicidin A Adopts Distinctly Different Conformations in Membranes and in Organic Solvents”, *Biopolymers* **1983**, *22*, 397. (d) Wallace B.A., Ravikumar K., “The Gramicidin Pore: Crystal Structure of a Cesium Complex”, *Science* **1988**, *241*, 182. (e) Langs D.A., “Three-Dimensional Structure at 0.86Å of the Uncomplexed Form of the Transmembrane Ion Channel Peptide Gramicidin A”, *Science* **1988**, *241*, 188

⁶¹ Hotchkiss R.D., Dubos R.J., “The Isolation of Bactericidal Substances from Cultures of *Bacillus Brevis*”, *J. Biol. Chem.* **1941**, *141*, 155

⁶² Rosenthal-Aizman K., Svensson G., Undén A., “Self-Assembling Peptide Nanotubes from Enantiomeric Pairs of Cyclic Peptides with Alternating D and L Amino Acid Residues”, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3372

⁶³ Seebach D., Matthews J.L., Meden A., Wessels T., Baerlocher C., McCusker L.B., “Cyclo- β -peptides: Structure and Tubular Stacking of Cyclic Tetramers of 3-Aminobutanoic Acid as Determined from Powder Diffraction Data”, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 173

⁶⁴ Amorin M., Castedo L., Granja J.R., “New Cyclic Peptide Assemblies with Hydrophobic Cavities: The Structural and Thermodynamic Basis of a new Class of Peptide Nanotubes”, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844

⁶⁵ Gauthier D., Baillargeon P., Drouin M., Dory Y.L., “Self-Assembly of Cyclic Peptides into Nanotubes and Then into Highly Anisotropic Crystalline Materials”, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 4635

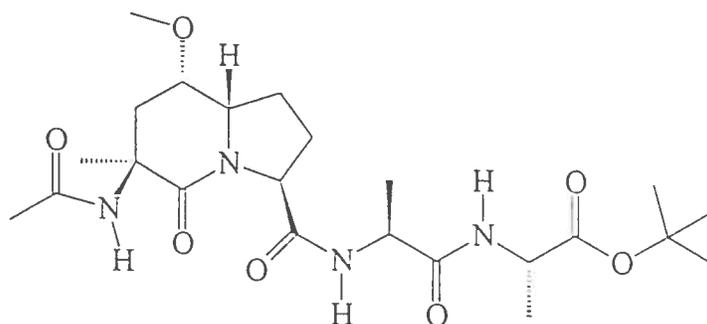
-
- ⁶⁶ Semetey V., Didierjean C., Briand J.-P., Aubry A., Guichard G., "Self-Assembling Organic Nanotubes from Enantiopure Cyclo-N,N'-Linked Oligoureas: Design, Synthesis, and Crystal Structure", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 1895
- ⁶⁷ Hanabusa K., Yamada M., Kimura M., Shirai H., "Prominent Gelation and Chiral Aggregation of Alkylamides Derived from *trans*-1,2-Diaminocyclohexane", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1949
- ⁶⁸ Larrow J.F., Jacobsen E.N., Gao Y., Hong Y., Nie X., Zepp C.M., "A Practical Method for the Large-Scale Preparation of [N,N'-Bis(3,5-di-*tert*butylsalicylidene)-1,2-cyclohexanediaminato(2-)] manganese(III) chloride, a Highly Enantioselective Epoxidation Catalyst", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1939
- ⁶⁹ Still W.C., Kahn M., Mitra A., "Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution", *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923
- ⁷⁰ Krois D., "Investigation on intermolecular forces between bile pigments and polar model compounds mimicking the chromophore - protein interactions in biliproteins", *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8855
- ⁷¹ Hofmann K., Haas W., Smithers M.J., Zanetti G., "Studies on Polypeptides. XXXI. Synthetic Peptides Related to the N-Terminus of Bovine Pancreatic Ribonuclease (Positions 12-20)", *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 631

CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF
C23 H38 N4 O7 COMPOUND (HAN362)

Monday, July 14, 2003

Equipe Hanessian

Département de chimie, Université de Montréal,
C.P. 6128, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec, H3C 3J7 (Canada)



Structure solved and refined in the laboratory of X-ray diffraction
Université de Montréal by Dr. Michel Simard.

Table 1. Crystal data and structure refinement for C₂₃ H₃₈ N₄ O₇.

Identification code	HAN362	
Empirical formula	C ₂₃ H ₃₈ N ₄ O ₇	
Formula weight	482.57	
Temperature	220(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	
Unit cell dimensions	a = 11.2344(2) Å	$\alpha = 90^\circ$
	b = 15.2024(3) Å	$\beta = 90^\circ$
	c = 15.7980(3) Å	$\gamma = 90^\circ$
Volume	2698.14(9) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.188 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.728 mm ⁻¹	
F(000)	1040	
Crystal size	0.61 x 0.36 x 0.08 mm	
Theta range for data collection	4.04 to 73.05°	
Index ranges	-13 ≤ h ≤ 13, -17 ≤ k ≤ 13, -19 ≤ l ≤ 19	
Reflections collected	21978	
Independent reflections	5170 [R _{int} = 0.058]	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.9600 and 0.5100	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	5170 / 0 / 315	
Goodness-of-fit on F ²	0.949	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0507, wR ₂ = 0.1226	
R indices (all data)	R ₁ = 0.0638, wR ₂ = 0.1285	

Absolute structure parameter	0.6(2)
Largest diff. peak and hole	0.264 and -0.253 e/Å ³

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for C23 H38 N4 O7.

U_{eq} is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

	x	y	z	U_{eq}
O(1)	8664(2)	3335(1)	881(1)	40(1)
O(2)	11567(2)	3441(1)	1175(1)	44(1)
O(3)	9629(2)	4084(1)	-1681(1)	47(1)
O(4)	8772(2)	882(1)	851(1)	58(1)
O(5)	9840(2)	1425(1)	3359(1)	50(1)
O(6)	7018(2)	1871(1)	2988(1)	52(1)
O(7)	7384(2)	2424(1)	4285(1)	44(1)
N(1)	9744(2)	2858(1)	-222(1)	35(1)
N(2)	10454(2)	4667(1)	1038(1)	40(1)
N(3)	10347(2)	1762(1)	1119(1)	38(1)
N(4)	9266(2)	2525(1)	2505(1)	38(1)
C(2)	9406(2)	3484(2)	326(2)	33(1)
C(3)	9936(2)	4407(2)	224(2)	36(1)
C(4)	10894(2)	4479(2)	-473(2)	41(1)
C(5)	10688(2)	3876(2)	-1229(2)	39(1)
C(6)	10615(2)	2938(2)	-917(2)	39(1)
C(7)	10175(3)	2236(2)	-1521(2)	52(1)
C(8)	9793(3)	1493(2)	-929(2)	52(1)
C(9)	9211(2)	1977(2)	-181(2)	38(1)
C(10)	9409(2)	1500(2)	651(2)	40(1)
C(11)	10580(2)	1378(2)	1941(2)	43(1)
C(12)	9845(2)	1774(2)	2658(2)	37(1)
C(13)	8587(2)	2925(2)	3189(2)	39(1)
C(14)	7573(2)	2331(2)	3464(2)	38(1)
C(15)	6474(2)	1901(2)	4731(2)	48(1)
C(16)	6724(3)	2130(3)	5650(2)	76(1)
C(17)	5257(3)	2201(3)	4459(2)	65(1)
C(18)	6681(4)	938(2)	4574(2)	74(1)
C(19)	8891(3)	5029(2)	52(2)	48(1)
C(20)	11254(2)	4167(2)	1441(2)	39(1)
C(21)	11753(3)	4537(2)	2254(2)	50(1)
C(22)	9785(3)	4758(2)	-2277(2)	65(1)
C(23)	11894(3)	1448(2)	2162(2)	64(1)
C(24)	8117(3)	3820(2)	2915(2)	57(1)

Table 3. Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for C23 H38 N4 O7.

	x	y	z	U_{eq}
H(2)	10234	5162	1266	48
H(3)	10819	2168	925	45
H(4)	9293	2769	2007	46
H(4A)	10923	5088	-673	49
H(4B)	11672	4341	-225	49
H(5)	11375	3928	-1618	47
H(6)	11408	2761	-701	47
H(7A)	10810	2044	-1903	62
H(7B)	9501	2450	-1857	62
H(8A)	10482	1148	-741	62
H(8B)	9223	1100	-1207	62
H(9)	8345	2025	-286	46
H(11)	10379	745	1907	51
H(13)	9126	3012	3678	47
H(16A)	7529	1954	5795	114
H(16B)	6164	1824	6013	114
H(16C)	6640	2760	5730	114
H(17A)	5180	2828	4558	97
H(17B)	4656	1889	4782	97
H(17C)	5150	2080	3861	97
H(18A)	6412	787	4009	111
H(18B)	6242	595	4987	111
H(18C)	7524	810	4625	111
H(19A)	8307	4972	501	73
H(19B)	8527	4879	-486	73
H(19C)	9178	5630	31	73
H(21A)	11250	4362	2724	75
H(21B)	11778	5173	2219	75
H(21C)	12551	4311	2342	75
H(22A)	9919	5311	-1985	98
H(22B)	9078	4806	-2626	98
H(22C)	10467	4625	-2631	98
H(23A)	12359	1125	1748	95
H(23B)	12029	1204	2720	95
H(23C)	12132	2062	2156	95
H(24A)	8780	4203	2779	85
H(24B)	7655	4076	3371	85
H(24C)	7616	3750	2419	85

Table 4. Anisotropic parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for C23 H38 N4 O7.

The anisotropic displacement factor exponent takes the form:

$$-2 \pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
O(1)	43(1)	42(1)	35(1)	0(1)	9(1)	1(1)
O(2)	44(1)	38(1)	50(1)	-2(1)	-3(1)	0(1)
O(3)	44(1)	58(1)	39(1)	9(1)	-2(1)	-9(1)
O(4)	64(1)	47(1)	62(1)	5(1)	2(1)	-25(1)
O(5)	66(1)	43(1)	40(1)	12(1)	-4(1)	-1(1)
O(6)	53(1)	65(1)	37(1)	-3(1)	-3(1)	-14(1)
O(7)	46(1)	55(1)	30(1)	-1(1)	5(1)	-3(1)
N(1)	38(1)	35(1)	31(1)	-4(1)	4(1)	-5(1)
N(2)	48(1)	33(1)	39(1)	-7(1)	-3(1)	1(1)
N(3)	37(1)	34(1)	41(1)	0(1)	5(1)	-3(1)
N(4)	41(1)	39(1)	35(1)	7(1)	7(1)	3(1)
C(2)	30(1)	37(1)	32(1)	-4(1)	-1(1)	1(1)
C(3)	42(1)	33(1)	34(1)	-3(1)	-3(1)	0(1)
C(4)	40(1)	41(2)	40(2)	4(1)	-1(1)	-8(1)
C(5)	33(1)	49(2)	35(1)	2(1)	3(1)	-9(1)
C(6)	38(1)	46(2)	34(1)	-4(1)	6(1)	-2(1)
C(7)	65(2)	51(2)	40(2)	-12(1)	14(1)	-7(1)
C(8)	71(2)	41(2)	44(2)	-14(1)	10(1)	-9(1)
C(9)	42(1)	34(2)	38(1)	-6(1)	2(1)	-8(1)
C(10)	43(1)	34(2)	42(1)	-3(1)	8(1)	-4(1)
C(11)	47(2)	30(2)	51(2)	4(1)	3(1)	3(1)
C(12)	37(1)	34(1)	40(1)	6(1)	-3(1)	-3(1)
C(13)	42(1)	46(2)	30(1)	-3(1)	1(1)	-3(1)
C(14)	39(1)	45(2)	29(1)	2(1)	1(1)	3(1)
C(15)	41(2)	61(2)	40(2)	9(1)	14(1)	6(1)
C(16)	68(2)	122(3)	37(2)	6(2)	18(2)	1(2)
C(17)	43(2)	84(3)	68(2)	6(2)	6(2)	11(2)
C(18)	89(3)	54(2)	79(2)	26(2)	20(2)	8(2)
C(19)	58(2)	40(2)	48(2)	2(1)	-7(1)	5(1)
C(20)	42(1)	37(2)	39(1)	-2(1)	1(1)	-7(1)
C(21)	56(2)	55(2)	39(2)	-4(1)	-6(1)	-1(1)
C(22)	57(2)	78(2)	59(2)	20(2)	1(2)	0(2)
C(23)	45(2)	77(2)	68(2)	16(2)	-1(2)	15(2)
C(24)	67(2)	41(2)	63(2)	-3(1)	19(2)	1(1)

Table 5. Bond lengths [Å] and angles [°] for C23 H38 N4 O7

O(1)-C(2)	1.232(3)	O(1)-C(2)-C(3)	120.5(2)
O(2)-C(20)	1.233(3)	N(1)-C(2)-C(3)	118.2(2)
O(3)-C(22)	1.403(3)	N(2)-C(3)-C(2)	108.0(2)
O(3)-C(5)	1.424(3)	N(2)-C(3)-C(19)	107.1(2)
O(4)-C(10)	1.222(3)	C(2)-C(3)-C(19)	106.6(2)
O(5)-C(12)	1.229(3)	N(2)-C(3)-C(4)	109.3(2)
O(6)-C(14)	1.202(3)	C(2)-C(3)-C(4)	114.2(2)
O(7)-C(14)	1.321(3)	C(19)-C(3)-C(4)	111.3(2)
O(7)-C(15)	1.475(3)	C(5)-C(4)-C(3)	114.2(2)
N(1)-C(2)	1.341(3)	O(3)-C(5)-C(6)	109.2(2)
N(1)-C(9)	1.469(3)	O(3)-C(5)-C(4)	112.8(2)
N(1)-C(6)	1.476(3)	C(6)-C(5)-C(4)	108.7(2)
N(2)-C(20)	1.338(3)	N(1)-C(6)-C(5)	110.8(2)
N(2)-C(3)	1.465(3)	N(1)-C(6)-C(7)	101.2(2)
N(3)-C(10)	1.347(3)	C(5)-C(6)-C(7)	118.5(2)
N(3)-C(11)	1.448(3)	C(6)-C(7)-C(8)	103.1(2)
N(4)-C(12)	1.335(3)	C(7)-C(8)-C(9)	103.6(2)
N(4)-C(13)	1.457(3)	N(1)-C(9)-C(10)	114.5(2)
C(2)-C(3)	1.532(4)	N(1)-C(9)-C(8)	103.3(2)
C(3)-C(19)	1.533(4)	C(10)-C(9)-C(8)	112.0(2)
C(3)-C(4)	1.544(3)	O(4)-C(10)-N(3)	122.9(3)
C(4)-C(5)	1.523(4)	O(4)-C(10)-C(9)	120.3(2)
C(5)-C(6)	1.511(4)	N(3)-C(10)-C(9)	116.7(2)
C(6)-C(7)	1.515(4)	N(3)-C(11)-C(23)	110.6(2)
C(7)-C(8)	1.529(4)	N(3)-C(11)-C(12)	114.1(2)
C(8)-C(9)	1.537(3)	C(23)-C(11)-C(12)	109.2(2)
C(9)-C(10)	1.518(4)	O(5)-C(12)-N(4)	122.0(2)
C(11)-C(23)	1.521(4)	O(5)-C(12)-C(11)	120.1(2)
C(11)-C(12)	1.525(4)	N(4)-C(12)-C(11)	117.8(2)
C(13)-C(14)	1.518(4)	N(4)-C(13)-C(14)	110.9(2)
C(13)-C(24)	1.522(4)	N(4)-C(13)-C(24)	110.1(2)
C(15)-C(18)	1.503(5)	C(14)-C(13)-C(24)	110.7(2)
C(15)-C(17)	1.504(4)	O(6)-C(14)-O(7)	126.4(3)
C(15)-C(16)	1.520(4)	O(6)-C(14)-C(13)	123.8(2)
C(20)-C(21)	1.510(4)	O(7)-C(14)-C(13)	109.7(2)
C(22)-O(3)-C(5)	113.2(2)	O(7)-C(15)-C(18)	109.8(2)
C(14)-O(7)-C(15)	121.5(2)	O(7)-C(15)-C(17)	109.3(2)
C(2)-N(1)-C(9)	120.3(2)	C(18)-C(15)-C(17)	112.9(3)
C(2)-N(1)-C(6)	127.5(2)	O(7)-C(15)-C(16)	101.8(2)
C(9)-N(1)-C(6)	112.18(19)	C(18)-C(15)-C(16)	110.7(3)
C(20)-N(2)-C(3)	122.1(2)	C(17)-C(15)-C(16)	111.8(3)
C(10)-N(3)-C(11)	121.0(2)	O(2)-C(20)-N(2)	122.5(2)
C(12)-N(4)-C(13)	118.5(2)	O(2)-C(20)-C(21)	121.2(3)
O(1)-C(2)-N(1)	121.3(2)	N(2)-C(20)-C(21)	116.3(2)

Table 6. Torsion angles [$^{\circ}$] for C23 H38 N4 O7.

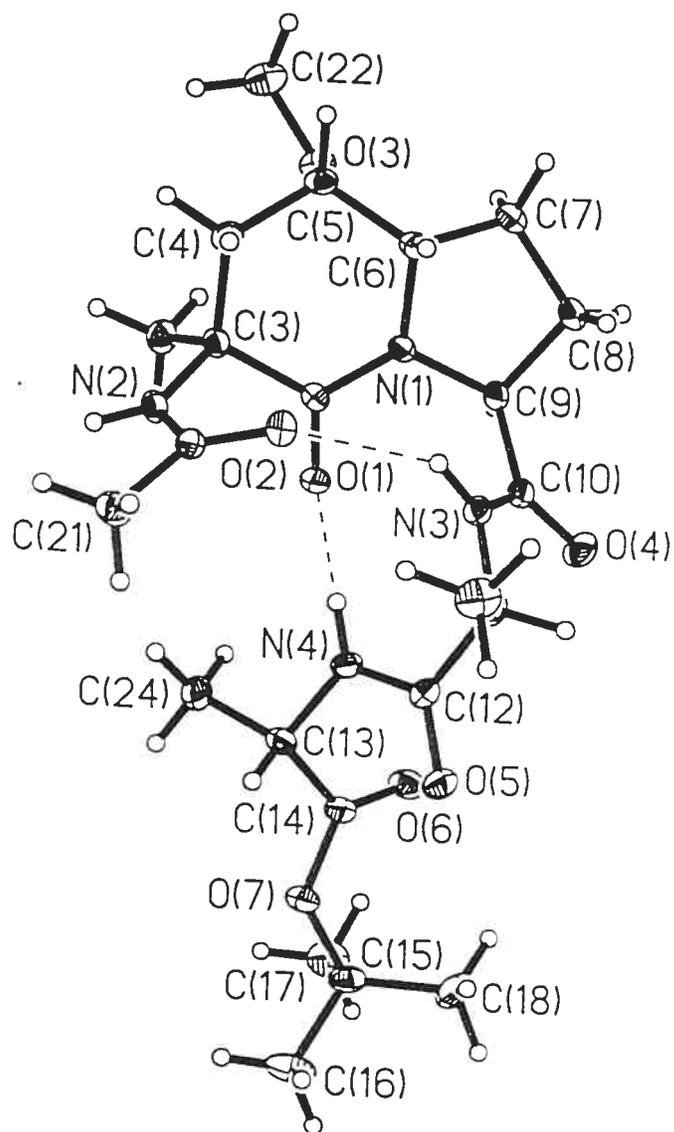
C(9)-N(1)-C(2)-O(1)	1.3(4)	C(2)-N(1)-C(9)-C(8)	177.5(2)
C(6)-N(1)-C(2)-O(1)	180.0(2)	C(6)-N(1)-C(9)-C(8)	-1.4(3)
C(9)-N(1)-C(2)-C(3)	-176.6(2)	C(7)-C(8)-C(9)-N(1)	-23.2(3)
C(6)-N(1)-C(2)-C(3)	2.1(4)	C(7)-C(8)-C(9)-C(10)	-146.8(2)
C(20)-N(2)-C(3)-C(2)	54.1(3)	C(11)-N(3)-C(10)-O(4)	-6.5(4)
C(20)-N(2)-C(3)-C(19)	168.6(2)	C(11)-N(3)-C(10)-C(9)	177.0(2)
C(20)-N(2)-C(3)-C(4)	-70.7(3)	N(1)-C(9)-C(10)-O(4)	160.7(2)
O(1)-C(2)-C(3)-N(2)	55.5(3)	C(8)-C(9)-C(10)-O(4)	-82.2(3)
N(1)-C(2)-C(3)-N(2)	-126.6(2)	N(1)-C(9)-C(10)-N(3)	-22.7(3)
O(1)-C(2)-C(3)-C(19)	-59.2(3)	C(8)-C(9)-C(10)-N(3)	94.4(3)
N(1)-C(2)-C(3)-C(19)	118.7(2)	C(10)-N(3)-C(11)-C(23)	154.4(3)
O(1)-C(2)-C(3)-C(4)	177.4(2)	C(10)-N(3)-C(11)-C(12)	-82.0(3)
N(1)-C(2)-C(3)-C(4)	-4.7(3)	C(13)-N(4)-C(12)-O(5)	-1.5(4)
N(2)-C(3)-C(4)-C(5)	154.2(2)	C(13)-N(4)-C(12)-C(11)	-178.3(2)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	33.1(3)	N(3)-C(11)-C(12)-O(5)	169.9(2)
C(19)-C(3)-C(4)-C(5)	-87.7(3)	C(23)-C(11)-C(12)-O(5)	-65.7(3)
C(22)-O(3)-C(5)-C(6)	-154.9(2)	N(3)-C(11)-C(12)-N(4)	-13.2(3)
C(22)-O(3)-C(5)-C(4)	84.2(3)	C(23)-C(11)-C(12)-N(4)	111.2(3)
C(3)-C(4)-C(5)-O(3)	64.1(3)	C(12)-N(4)-C(13)-C(14)	-63.6(3)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	-57.1(3)	C(12)-N(4)-C(13)-C(24)	173.6(2)
C(2)-N(1)-C(6)-C(5)	-26.9(3)	C(15)-O(7)-C(14)-O(6)	4.3(4)
C(9)-N(1)-C(6)-C(5)	151.8(2)	C(15)-O(7)-C(14)-C(13)	-177.9(2)
C(2)-N(1)-C(6)-C(7)	-153.4(3)	N(4)-C(13)-C(14)-O(6)	-35.1(4)
C(9)-N(1)-C(6)-C(7)	25.3(3)	C(24)-C(13)-C(14)-O(6)	87.4(3)
O(3)-C(5)-C(6)-N(1)	-71.5(3)	N(4)-C(13)-C(14)-O(7)	147.0(2)
C(4)-C(5)-C(6)-N(1)	51.9(3)	C(24)-C(13)-C(14)-O(7)	-90.5(3)
O(3)-C(5)-C(6)-C(7)	44.8(3)	C(14)-O(7)-C(15)-C(18)	54.3(3)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	168.1(2)	C(14)-O(7)-C(15)-C(17)	-70.1(3)
N(1)-C(6)-C(7)-C(8)	-38.7(3)	C(14)-O(7)-C(15)-C(16)	171.5(3)
C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	-160.0(2)	C(3)-N(2)-C(20)-O(2)	-3.3(4)
C(6)-C(7)-C(8)-C(9)	39.0(3)	C(3)-N(2)-C(20)-C(21)	177.3(2)
C(2)-N(1)-C(9)-C(10)	-60.5(3)		
C(6)-N(1)-C(9)-C(10)	120.6(2)		

Table 7. Bond lengths [\AA] and angles [$^\circ$] related to the hydrogen bonding for C23 H38 N4 O7.

D-H	..A	d(D-H)	d(H..A)	d(D..A)	<DHA
N(2)-H(2)	O(5)#1	0.87	2.01	2.856(3)	163.6
N(3)-H(3)	O(2)	0.87	2.15	2.899(3)	144.4
N(4)-H(4)	O(1)	0.87	2.1	2.924(3)	158.3

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $-x+2, y+1/2, -z+1/2$



ORTEP view of the C₂₃ H₃₈ N₄ O₇ compound with the numbering scheme adopted. Ellipsoids drawn at 30% probability level. Hydrogens represented by sphere of arbitrary size.

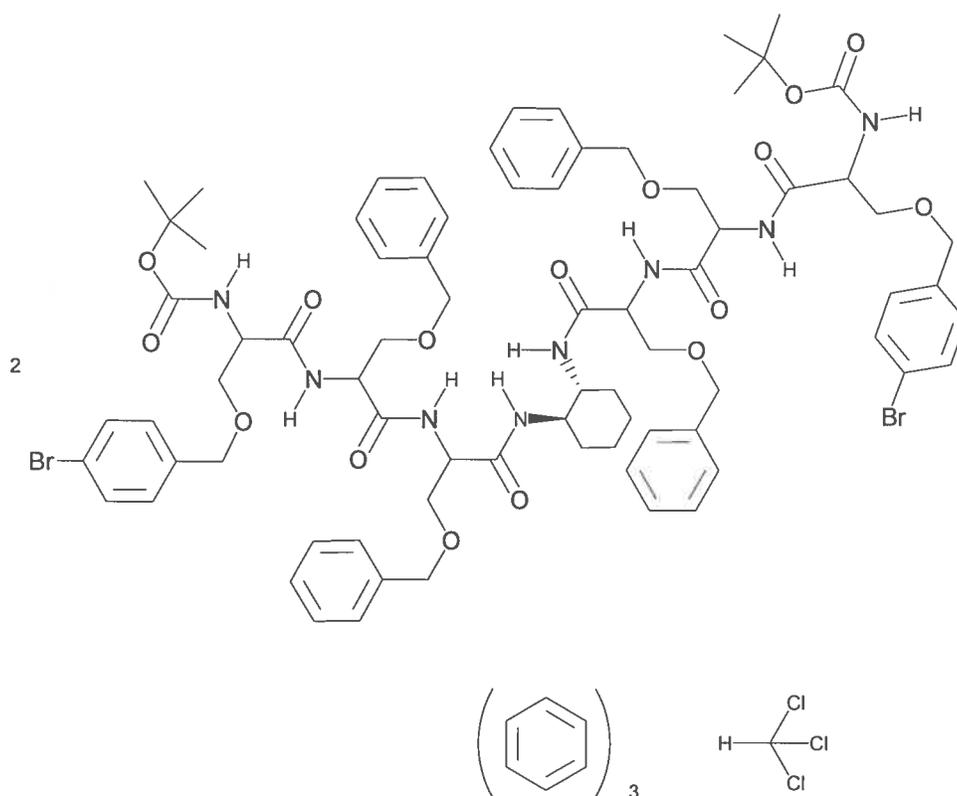
REFERENCES

- Flack, H.D. (1983). *Acta Cryst.* A39, 876-881.
- International Tables for Crystallography (1992). Vol. C. Tables 4.2.6.8 and 6.1.1.4, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- SAINT (1999) Release 6.06; Integration Software for Single Crystal Data. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- Sheldrick, G.M. (1996). SADABS, Bruker Area Detector Absorption Corrections. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- Sheldrick, G.M. (1997). SHELXS97, Program for the Solution of Crystal Structures. Univ. of Gottingen, Germany.
- Sheldrick, G.M. (1997). SHELXL97, Program for the Refinement of Crystal Structures. Univ. of Gottingen, Germany.
- SHELXTL (1997) Release 5.10; The Complete Software Package for Single Crystal Structure Determination. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- SMART (1999) Release 5.059; Bruker Molecular Analysis Research Tool. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- Spek, A.L. (2000). PLATON, Molecular Geometry Program, 2000 version. University of Utrecht, Utrecht, Holland.
- XPREP (1997) Release 5.10; X-ray data Preparation and Reciprocal space Exploration Program. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.

CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF
C171 H207 Br4 Cl3 N16 O32 COMPOUND
(Han398)

Equipe Hanessian

Département de chimie, Université de Montréal,
C.P. 6128, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec, H3C 3J7 (Canada)



Structure solved and refined in the laboratory of X-ray diffraction Université de Montréal by Dr. Thierry Maris.

X-ray crystallographic data were obtained from a single crystal sample which was mounted on a loop fiber. Data were collected at 100 K on a Bruker three circle platform diffractometer equipped with a 4K Charged-Coupled Device (CCD) Area Detector, a montel 200 multi-layer optic and a FR591 6KW rotating anode generator (CuK α) loading on a 100 micron focal spot. The crystal-to-detector distance was 5.102 cm, and the data collection was carried out in 512 x 512 pixel mode, utilizing 4 x 4 pixel binning. The initial unit cell parameters were determined by a least-squares fit of the angular setting of strong reflections, collected by a 9.0 degree scan in 30 frames over four different parts of the reciprocal space (120 frames total). One complete sphere of data was collected, to better than 0.83 Å resolution. Upon completion of the data collection, the first 101 frames were recollected in order to improve the decay correction analysis.

This sample despite the specimen size did not diffract too much and the data appear truncated at low resolution. The structure was solved using direct methods with SIR2002 (Burla et al., 2003) which found two symmetry-independent molecules in the asymmetric unit. Several full-matrix least squares / difference Fourier cycles were performed which located the remainder of the non-hydrogen atoms. Least-square refinements on F^2 were performed using Shelxl-97 (Sheldrick, 1997). Hydrogen atoms were refined using a riding model with fixed thermal parameters. Some difficulties were experienced in the refinement procedure mostly due to apparent disorder of some methoxymethyl-benzene arms in the second molecule in conjunction with solvent disorder (see below). 1205 similarity restraints on distances and geometry were added to the model to assist in the refinement of these groups. Some of these were well behaved, but others had great thermal motion.

In the course of the refinement, two benzene and one CHCl₃ molecules were located by fourrier difference map and were found no too much disordered in the crystal lattice. A third benzene molecule appeared disordered to such extent that few difference peaks were visible. The data were then treated with the Squeeze/Bypass method (van der Sluis & Spek, 1990) implemented in Platon (Spek, 2000) to substract the effects of this disordered solvent molecule and to optimise the structural characterisation of the ordered part of the structure. Only the 2 benzene and the CHCl₃ molecules were kept in the final refinement.

Table 1. Crystal data and structure refinement for C₁₇₁ H₂₀₇ Br₄ Cl₃ N₁₆ O₃₂.

Identification code	Han398
Empirical formula	C ₁₇₁ H ₂₀₇ Br ₄ Cl ₃ N ₁₆ O ₃₂
Formula weight	3424.52
Temperature	100(2) K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	Orthorhombic
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Unit cell dimensions	a = 18.146(3) Å α = 90° b = 26.468(3) Å β = 90° c = 35.413(3) Å γ = 90°
Volume	17008(4) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.337 Mg/m ³
Absorption coefficient	2.209 mm ⁻¹
F(000)	7168
Crystal size	0.12 x 0.08 x 0.05 mm
Theta range for data collection	2.08 to 68.05°
Index ranges	-21 ≤ h ≤ 21, -28 ≤ k ≤ 29, -41 ≤ l ≤ 42
Reflections collected	167546
Independent reflections	28888 [R _{int} = 0.055]
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.9000 and 0.7800
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	28888 / 1205 / 1886
Goodness-of-fit on F ²	1.107
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0888, wR ₂ = 0.2119
R indices (all data)	R ₁ = 0.0937, wR ₂ = 0.2133
Absolute structure parameter	0.20 (10)

Largest diff. peak and hole

0.493 and $-0.325 \text{ e}/\text{\AA}^3$ **Table 2.** Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for C171 H207 Br4 Cl3 N16 O32.

U_{eq} is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

	x	y	z	U_{eq}
Molecule 1				
C(1)	4701(4)	365(3)	1724(2)	85(2)
C(2)	4539(3)	933(3)	1750(2)	87(2)
C(3)	5032(5)	1214(4)	1477(3)	123(3)
C(4)	5790(6)	1089(5)	1563(4)	147(4)
C(5)	5963(5)	546(4)	1509(3)	124(3)
C(6)	5481(4)	265(4)	1787(2)	114(3)
N(10)	3721(3)	1029(2)	1701(1)	72(1)
C(10)	3427(4)	1449(3)	1797(2)	72(2)
O(10)	3765(2)	1803(2)	1952(1)	83(1)
C(11)	2598(3)	1518(2)	1701(1)	61(1)
C(110)	2240(3)	1905(3)	1963(2)	75(2)
O(110)	1540(2)	1966(2)	1820(1)	89(1)
C(111)	1044(3)	2237(3)	2051(2)	129(3)
C(112)	263(3)	2202(3)	1913(2)	179(6)
C(113)	-205(5)	1847(3)	2074(2)	199(7)
C(114)	-928(4)	1804(4)	1948(3)	300(16)
C(115)	-1183(4)	2117(5)	1662(3)	198(7)
C(116)	-716(6)	2473(4)	1500(2)	184(6)
C(117)	7(5)	2515(3)	1626(2)	220(8)
N(11)	2183(3)	1056(2)	1695(1)	65(1)
C(12)	1985(3)	812(2)	1376(1)	61(1)
O(12)	2279(2)	910(2)	1069(1)	65(1)
C(13)	1407(3)	414(2)	1417(1)	59(1)
C(130)	641(3)	677(2)	1415(1)	67(2)
O(130)	564(2)	911(2)	1063(1)	69(1)
C(131)	-194(4)	1116(2)	1017(2)	77(2)
C(132)	-728(2)	687(2)	953(1)	78(2)
C(133)	-615(2)	348(2)	659(1)	85(2)
C(134)	-1121(3)	-37(2)	594(1)	98(2)
C(135)	-1739(3)	-83(2)	824(2)	133(3)
C(136)	-1852(3)	256(3)	1117(2)	124(3)
C(137)	-1347(3)	641(2)	1182(1)	134(4)
N(14)	1478(2)	30(2)	1134(1)	54(1)
C(14)	1554(3)	-437(3)	1222(1)	62(2)
O(14)	1611(2)	-616(1)	1537(1)	65(1)
C(15)	1579(3)	-813(2)	871(1)	59(1)
C(150)	788(3)	-929(2)	737(1)	64(1)
O(150)	383(3)	-1206(2)	1008(1)	102(2)
C(151)	-84(7)	-991(4)	1224(3)	154(4)
C(152)	-581(4)	-1417(2)	1411(2)	121(3)
C(153)	-257(3)	-1852(3)	1555(2)	155(4)
C(154)	-682(4)	-2202(2)	1750(2)	150(4)
C(155)	-1431(4)	-2117(2)	1802(2)	117(3)
C(156)	-1755(3)	-1682(3)	1658(2)	128(3)
C(157)	-1330(4)	-1332(2)	1462(2)	143(3)
Br(1)	-2073(1)	-2594(1)	2005(1)	138(1)

N(16)	1990(3)	-1253(2)	986(1)	69(1)
C(16)	2293(3)	-1562(2)	736(2)	74(2)
O(16)	2296(2)	-1503(2)	397(1)	72(1)
O(17)	2649(3)	-1937(2)	917(1)	101(2)
C(170)	3010(4)	-2370(3)	708(2)	173(6)
C(171)	3676(5)	-2148(4)	493(3)	168(5)
C(172)	2519(5)	-2647(4)	441(2)	138(4)
C(173)	3255(5)	-2718(4)	1034(2)	164(5)
N(20)	4254(3)	67(2)	1997(1)	74(1)
C(20)	3580(4)	-132(3)	1908(1)	76(2)
O(20)	3276(2)	-39(2)	1605(1)	67(1)
C(21)	3261(4)	-493(3)	2192(1)	81(2)
C(210)	3472(4)	-1025(3)	2119(3)	129(3)
O(210)	4224(4)	-1053(2)	2164(2)	150(3)
C(211)	4512(6)	-1547(3)	2195(4)	197(6)
C(212)	5257(5)	-1555(3)	2380(3)	186(6)
C(213)	5662(6)	-1110(3)	2397(3)	186(6)
C(214)	6360(6)	-1109(4)	2559(4)	286(12)
C(215)	6652(5)	-1554(5)	2705(4)	358(19)
C(216)	6247(6)	-1999(4)	2689(3)	218(9)
C(217)	5550(6)	-2000(3)	2526(3)	230(8)
N(21)	2471(3)	-441(2)	2189(1)	73(1)
C(22)	2059(4)	-399(3)	2508(1)	80(2)
O(22)	2397(3)	-413(3)	2820(1)	161(3)
C(23)	1274(4)	-330(2)	2492(1)	73(2)
C(230)	792(5)	-781(5)	2543(3)	174(6)
O(230)	1064(4)	-1050(4)	2845(2)	210(4)
C(231)	589(5)	-1433(3)	2983(3)	228(9)
C(232)	-188(4)	-1242(4)	3028(3)	319(18)
C(233)	-382(4)	-1008(5)	3365(3)	256(11)
C(234)	-1116(5)	-891(4)	3437(3)	286(12)
C(235)	-1654(4)	-1007(4)	3172(3)	178(6)
C(236)	-1460(5)	-1241(5)	2835(3)	316(15)
C(237)	-727(6)	-1359(4)	2763(2)	239(9)
N(24)	1097(2)	97(2)	2739(1)	69(1)
C(24)	1147(3)	575(3)	2623(1)	64(2)
O(24)	1179(2)	687(2)	2283(1)	75(1)
C(25)	1221(3)	979(3)	2930(1)	71(2)
C(250)	2037(3)	1005(3)	3052(1)	79(2)
O(250)	2486(2)	1040(2)	2740(1)	74(1)
C(251)	3239(2)	939(2)	2814(1)	83(2)
C(252)	3598(2)	1330(1)	3061(1)	73(2)
C(253)	3780(3)	1796(2)	2906(1)	93(2)
C(254)	4067(3)	2175(1)	3133(1)	114(3)
C(255)	4173(3)	2089(2)	3517(1)	106(2)
C(256)	3991(3)	1623(2)	3672(1)	86(2)
C(257)	3704(2)	1243(1)	3444(1)	78(2)
Br(2)	4564(1)	2599(1)	3823(1)	158(1)
N(26)	753(3)	904(3)	3244(1)	93(2)
C(26)	89(4)	1138(5)	3240(2)	127(4)
O(26)	-156(4)	1385(3)	3027(1)	156(3)
O(27)	-303(3)	919(3)	3560(1)	144(3)
C(270)	-1063(4)	996(4)	3628(2)	171(6)
C(271)	-1551(6)	908(5)	3277(3)	214(7)
C(272)	-1088(6)	1536(3)	3746(3)	146(4)
C(273)	-1290(5)	645(4)	3956(2)	142(4)

Molecule 2

C(100)	13343(4)	8478(3)	9363(2)	95(2)
C(101)	12560(5)	8426(3)	9320(2)	103(2)
C(102)	12313(6)	7885(3)	9398(2)	116(3)

C(103)	12717(5)	7492(3)	9145(2)	117(3)
C(104)	13541(7)	7587(5)	9202(3)	151(5)
C(105)	13787(5)	8126(4)	9114(2)	113(3)
N(30)	13577(2)	9028(2)	9288(1)	55(1)
C(30)	14204(5)	9239(3)	9395(2)	96(3)
O(30)	14687(3)	8982(2)	9595(1)	102(2)
C(31)	14392(3)	9740(2)	9274(1)	66(2)
C(310)	14916(3)	10057(2)	9538(1)	76(2)
O(310)	15162(3)	10470(2)	9339(1)	138(2)
C(311)	15280(5)	10912(3)	9553(2)	146(4)
C(312)	15795(4)	10839(3)	9881(2)	147(4)
C(313)	15706(4)	11146(3)	10197(2)	181(5)
C(314)	16154(5)	11076(3)	10512(2)	156(4)
C(315)	16689(5)	10700(3)	10510(2)	149(4)
C(316)	16777(5)	10394(3)	10194(2)	189(5)
C(317)	16329(4)	10463(3)	9879(2)	167(5)
N(32)	13723(3)	10081(2)	9218(1)	85(2)
C(32)	13447(4)	10201(3)	8878(1)	82(2)
O(32)	13681(2)	10016(2)	8580(1)	90(1)
C(33)	12913(5)	10604(3)	8875(2)	95(2)
C(330)	13265(5)	11152(4)	8820(2)	142(4)
O(330)	12740(7)	11521(3)	8778(2)	293(9)
C(331)	12362(6)	11675(3)	9106(3)	241(9)
C(332)	12588(5)	12196(2)	9234(2)	129(4)
C(333)	12293(5)	12615(3)	9053(3)	227(8)
C(334)	12535(5)	13097(3)	9151(3)	188(6)
C(335)	13108(5)	13155(3)	9408(3)	175(6)
C(336)	13441(5)	12733(4)	9566(2)	190(7)
C(337)	13199(4)	12252(3)	9468(2)	141(4)
N(34)	12353(3)	10540(2)	8593(1)	72(1)
C(34)	11657(5)	10510(2)	8665(1)	76(2)
O(34)	11387(2)	10524(2)	8983(1)	83(1)
C(35)	11154(4)	10441(3)	8325(2)	87(2)
C(350)	10956(7)	10937(3)	8152(3)	165(5)
O(350)	10586(5)	11260(3)	8385(2)	190(4)
C(351)	10906(8)	11731(4)	8469(3)	610(50)
C(352)	11082(5)	12051(2)	8125(3)	294(13)
C(353)	11824(5)	12068(3)	8029(3)	244(11)
C(354)	12114(4)	12498(3)	7859(3)	233(9)
C(355)	11662(4)	12910(3)	7786(3)	258(11)
C(356)	10920(4)	12893(3)	7882(3)	241(10)
C(357)	10630(4)	12464(3)	8052(3)	195(6)
Br(3)	12083(2)	13471(1)	7552(1)	286(1)
N(36)	10532(3)	10131(3)	8417(1)	92(2)
C(36)	10172(4)	9872(3)	8159(2)	95(2)
O(36)	10270(2)	9883(2)	7833(1)	100(2)
O(37)	9630(3)	9595(3)	8346(1)	116(2)
C(370)	9084(4)	9277(3)	8125(2)	135(4)
C(371)	8597(5)	9645(4)	7895(2)	156(4)
C(372)	9430(4)	8895(3)	7872(2)	123(3)
C(373)	8635(4)	9023(3)	8443(2)	111(3)
N(40)	12157(3)	8765(2)	9555(1)	83(2)
C(40)	11850(3)	9218(3)	9437(2)	75(2)
O(40)	12050(2)	9416(2)	9129(1)	69(1)
C(41)	11326(3)	9462(2)	9694(1)	66(2)
C(410)	10527(3)	9381(2)	9553(2)	75(2)
O(142)	10394(2)	8870(2)	9535(1)	92(1)
C(411)	9687(3)	8733(3)	9406(2)	132(3)
C(412)	9086(3)	8813(2)	9691(2)	97(3)
C(413)	9164(3)	8603(2)	10049(2)	99(2)
C(414)	8578(5)	8623(3)	10302(2)	149(4)
C(415)	7918(4)	8852(3)	10199(2)	156(5)

C(416)	7841(3)	9062(3)	9841(2)	148(4)
C(417)	8427(3)	9042(3)	9588(2)	138(3)
N(42)	11469(2)	10020(2)	9699(1)	63(1)
C(42)	11486(3)	10290(2)	10024(1)	61(1)
O(42)	11371(2)	10074(1)	10332(1)	65(1)
C(43)	11652(4)	10833(2)	10000(1)	67(2)
C(430)	11020(3)	11127(2)	10124(2)	76(2)
O(430)	10375(2)	10953(2)	9966(1)	94(1)
C(431)	10206(4)	11158(3)	9609(2)	125(3)
C(432)	9525(3)	10932(2)	9435(2)	161(5)
C(433)	8937(4)	10797(3)	9666(1)	147(4)
C(434)	8309(4)	10582(4)	9509(2)	298(14)
C(435)	8269(4)	10501(4)	9122(2)	206(7)
C(436)	8857(4)	10636(3)	8891(2)	136(3)
C(437)	9485(3)	10851(3)	9048(2)	142(4)
N(44)	12297(3)	10919(2)	10221(1)	69(1)
C(44)	12979(4)	10835(3)	10093(2)	80(2)
O(44)	13120(2)	10747(2)	9771(1)	101(2)
C(45)	13614(4)	10838(3)	10391(1)	89(2)
C(450)	13654(4)	10318(2)	10584(1)	97(2)
O(450)	13685(2)	9937(2)	10319(1)	103(2)
C(451)	13695(3)	9444(2)	10477(2)	106(3)
C(452)	14405(2)	9341(2)	10682(1)	93(2)
C(453)	14391(3)	9174(2)	11054(1)	100(2)
C(454)	15048(3)	9087(2)	11247(1)	104(2)
C(455)	15720(3)	9168(3)	11068(2)	109(3)
C(456)	15733(3)	9336(4)	10696(2)	203(7)
C(457)	15078(3)	9422(3)	10503(1)	147(4)
Br(4)	16615(1)	9041(1)	11314(1)	161(1)
N(46)	13539(3)	11236(3)	10664(1)	101(2)
C(46)	13809(5)	11709(4)	10601(2)	109(3)
O(46)	14152(4)	11820(3)	10322(2)	142(2)
O(47)	13621(4)	12023(2)	10900(1)	132(2)
C(470)	13884(4)	12548(3)	10898(2)	147(4)
C(471)	13548(5)	12728(3)	11275(2)	121(3)
C(472)	14705(4)	12565(4)	10918(3)	164(4)
C(473)	13586(5)	12852(4)	10560(2)	157(4)

Benzene 1

C(501)	5466(6)	2393(3)	9739(3)	201(7)
C(502)	5452(4)	2617(3)	9383(3)	136(3)
C(503)	6096(6)	2814(3)	9229(2)	151(4)
C(504)	6755(5)	2788(4)	9429(4)	203(7)
C(505)	6769(6)	2564(4)	9784(3)	225(9)
C(506)	6125(8)	2368(4)	9938(2)	177(6)

Benzene 2

C(507)	7090(5)	-48(6)	7173(3)	176(5)
C(508)	6740(9)	-479(4)	7309(3)	237(10)
C(509)	5976(9)	-509(4)	7306(3)	221(9)
C(510)	5560(5)	-108(5)	7168(3)	380(20)
C(511)	5910(8)	323(4)	7033(4)	295(14)
C(512)	6674(8)	353(5)	7035(4)	258(11)

CHCl₃

C(520)	9532(6)	2152(4)	4768(4)	156(5)
Cl(21)	9385(4)	2574(3)	4491(2)	283(3)
Cl(22)	8714(3)	1726(2)	4811(2)	266(3)
Cl(23)	9436(3)	2464(2)	5229(1)	247(2)



Table 3. Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for C171 H207 Br4 Cl3 N16 O32.

	x	y	z	U_{eq}
Molecule 1				
H(1)	4572	249	1464	102
H(2)	4675	1045	2011	104
H(3A)	4914	1115	1215	148
H(3B)	4954	1583	1503	148
H(4A)	5894	1183	1829	176
H(4B)	6118	1293	1400	176
H(5A)	6490	480	1561	149
H(5B)	5851	441	1247	149
H(6A)	5574	-102	1762	136
H(6B)	5615	367	2047	136
H(10)	3441	790	1604	86
H(11)	2574	1662	1440	73
H(11A)	2223	1777	2226	90
H(11B)	2515	2228	1959	90
H(11C)	1194	2596	2059	155
H(11D)	1070	2103	2312	155
H(113)	-30	1633	2270	239
H(114)	-1248	1561	2058	359
H(115)	-1678	2088	1576	238
H(116)	-891	2687	1304	221
H(117)	327	2758	1516	264
H(11)	2050	924	1913	78
H(13)	1475	250	1669	71
H(13A)	244	425	1453	80
H(13B)	612	931	1620	80
H(13C)	-208	1350	799	92
H(13D)	-336	1306	1246	92
H(133)	-193	379	502	102
H(134)	-1043	-269	393	118
H(135)	-2084	-346	779	160
H(136)	-2274	225	1274	149
H(137)	-1424	873	1383	160
H(14)	1469	116	894	65
H(15)	1851	-644	660	71
H(15A)	529	-608	683	77
H(15B)	810	-1125	499	77
H(15C)	-395	-755	1077	185
H(15D)	174	-796	1423	185
H(153)	255	-1910	1520	186
H(154)	-460	-2499	1849	180
H(156)	-2267	-1624	1693	154
H(157)	-1552	-1035	1364	171
H(16)	2041	-1319	1228	83
H(17A)	3536	-2080	230	253
H(17B)	4085	-2390	498	253
H(17C)	3831	-1832	613	253
H(17D)	2021	-2667	547	208
H(17E)	2711	-2989	401	208
H(17F)	2502	-2468	199	208
H(17G)	3672	-2565	1166	246

H(17H)	3403	-3047	931	246
H(17I)	2844	-2765	1210	246
H(20)	4430	17	2226	89
H(21)	3446	-397	2448	97
H(21A)	3220	-1253	2299	155
H(21B)	3332	-1124	1859	155
H(21C)	4551	-1697	1940	237
H(21D)	4167	-1757	2344	237
H(213)	5463	-806	2297	223
H(214)	6637	-805	2570	343
H(215)	7129	-1553	2816	430
H(216)	6447	-2302	2789	262
H(217)	5273	-2304	2515	276
H(21)	2243	-437	1969	87
H(23)	1171	-208	2230	88
H(23A)	278	-674	2593	208
H(23B)	798	-992	2312	208
H(23C)	773	-1555	3229	273
H(23D)	592	-1721	2805	273
H(233)	-14	-929	3546	307
H(234)	-1249	-731	3667	343
H(235)	-2156	-927	3221	214
H(236)	-1828	-1321	2654	379
H(237)	-594	-1519	2532	287
H(24)	954	36	2972	83
H(25)	1090	1312	2814	85
H(25A)	2114	1302	3217	95
H(25B)	2165	698	3198	95
H(25C)	3508	921	2571	100
H(25D)	3280	605	2938	100
H(253)	3707	1854	2643	111
H(254)	4191	2493	3027	137
H(256)	4064	1564	3934	104
H(257)	3580	925	3551	93
H(26)	888	712	3435	112
H(27A)	-1273	998	3049	321
H(27B)	-1993	1119	3294	321
H(27C)	-1695	552	3264	321
H(27D)	-971	1562	4016	218
H(27E)	-1582	1672	3700	218
H(27F)	-727	1730	3600	218
H(27G)	-1268	292	3871	212
H(27H)	-1793	725	4035	212
H(27I)	-952	693	4168	212

Molecule 2

H(100)	13466	8397	9631	114
H(101)	12435	8507	9052	124
H(10A)	11776	7858	9355	140
H(10B)	12408	7803	9667	140
H(10C)	12586	7143	9221	140
H(10D)	12580	7539	8876	140
H(10E)	13669	7509	9467	182
H(10F)	13821	7351	9039	182
H(10G)	14320	8165	9167	135
H(10H)	13699	8205	8844	135
H(30)	13265	9219	9163	66
H(31)	14644	9708	9024	79
H(31A)	14644	10168	9766	91
H(31B)	15339	9847	9619	91
H(31C)	14800	11034	9650	176

H(31D)	15483	11177	9386	176
H(313)	15340	11402	10198	217
H(314)	16094	11285	10728	187
H(315)	16994	10652	10725	178
H(316)	17143	10138	10193	227
H(317)	16388	10254	9664	201
H(32)	13507	10206	9419	102
H(33)	12661	10601	9126	114
H(33A)	13574	11232	9043	170
H(33B)	13588	11149	8595	170
H(33C)	12460	11430	9311	289
H(33D)	11825	11673	9055	289
H(333)	11930	12573	8862	273
H(334)	12307	13386	9043	226
H(335)	13272	13484	9475	210
H(336)	13832	12773	9742	228
H(337)	13452	11963	9560	170
H(34)	12493	10520	8356	87
H(35)	11445	10252	8131	104
H(35A)	11414	11104	8066	198
H(35B)	10648	10873	7926	198
H(35C)	11366	11673	8612	728
H(35D)	10566	11923	8634	728
H(353)	12133	11786	8079	293
H(354)	12621	12509	7793	280
H(356)	10611	13175	7832	289
H(357)	10123	12452	8118	235
H(36)	10387	10114	8654	110
H(37A)	8250	9814	8065	235
H(37B)	8323	9455	7703	235
H(37C)	8910	9898	7772	235
H(37D)	9697	9067	7668	184
H(37E)	9046	8679	7762	184
H(37F)	9774	8686	8017	184
H(37G)	8953	8791	8584	167
H(37H)	8224	8834	8332	167
H(37I)	8442	9283	8614	167
H(40)	12098	8680	9794	100
H(41)	11382	9320	9954	79
H(41A)	10174	9544	9728	90
H(41B)	10464	9535	9300	90
H(41C)	9693	8372	9332	158
H(41D)	9571	8933	9177	158
H(413)	9614	8447	10120	119
H(414)	8629	8480	10547	178
H(415)	7520	8865	10373	187
H(416)	7390	9218	9770	178
H(417)	8376	9185	9344	165
H(42)	11544	10177	9483	75
H(43)	11761	10920	9731	81
H(43A)	10983	11109	10402	92
H(43B)	11093	11485	10053	92
H(43C)	10628	11101	9437	150
H(43D)	10135	11527	9634	150
H(433)	8965	10852	9931	177
H(434)	7907	10490	9667	358
H(435)	7839	10354	9015	248
H(436)	8829	10581	8627	163
H(437)	9887	10943	8891	171
H(44)	12243	11034	10452	82
H(45)	14088	10893	10253	107
H(45A)	14096	10303	10747	116

H(45B)	13214	10271	10746	116
H(45C)	13630	9192	10273	127
H(45D)	13277	9408	10655	127
H(453)	13933	9118	11176	120
H(454)	15037	8973	11501	124
H(456)	16191	9392	10573	243
H(457)	15089	9535	10249	177
H(46)	13311	11172	10879	122
H(47A)	13079	12900	11226	182
H(47B)	13889	12962	11399	182
H(47C)	13462	12436	11440	182
H(47D)	14883	12286	11076	246
H(47E)	14862	12887	11028	246
H(47F)	14911	12532	10663	246
H(47G)	13267	12636	10406	235
H(47H)	13999	12973	10406	235
H(47I)	13303	13142	10653	235

Benzene 1

H(501)	5028	2258	9844	241
H(502)	5003	2636	9246	164
H(503)	6087	2967	8987	182
H(504)	7194	2923	9323	243
H(505)	7218	2545	9922	270
H(506)	6135	2215	10181	212

Benzene 2

H(507)	7612	-27	7175	212
H(508)	7024	-752	7403	285
H(509)	5737	-803	7399	265
H(510)	5038	-128	7167	458
H(511)	5626	597	6939	354
H(512)	6913	648	6943	310

CHCl₃

H(520)	10012	1973	4730	188
--------	-------	------	------	-----

Table 4. Anisotropic parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for C171 H207 Br4 Cl3 N16 O32.

The anisotropic displacement factor exponent takes the form:

$$-2 \pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
Molecule 1						
C(1)	71(4)	123(6)	61(3)	23(3)	22(3)	-1(4)
C(2)	65(4)	124(6)	73(4)	3(4)	-5(3)	11(4)
C(3)	116(7)	140(7)	113(6)	-17(5)	43(5)	-38(6)
C(4)	104(8)	158(10)	179(10)	-21(8)	23(7)	-5(7)
C(5)	82(5)	136(8)	154(8)	32(6)	22(5)	-11(5)
C(6)	85(5)	169(8)	87(5)	12(5)	1(4)	28(5)
N(10)	79(3)	96(4)	41(2)	-7(2)	-5(2)	-12(3)
C(10)	76(4)	93(5)	47(3)	7(3)	10(3)	-2(4)
O(10)	89(3)	100(3)	60(2)	-7(2)	-4(2)	-41(3)
C(11)	71(4)	69(4)	42(2)	2(2)	2(2)	-4(3)
C(110)	77(4)	93(4)	56(3)	-12(3)	-8(3)	10(3)
O(110)	92(3)	98(3)	77(2)	6(2)	13(3)	3(3)
C(111)	111(7)	152(8)	125(6)	-38(6)	33(6)	23(6)
C(112)	175(11)	289(16)	72(5)	-35(7)	-43(6)	124(11)
C(113)	169(12)	330(20)	94(7)	-25(9)	29(7)	-75(13)
C(114)	176(15)	500(40)	226(18)	-250(20)	-59(13)	75(19)
C(115)	200(15)	217(16)	179(14)	-95(13)	2(12)	9(13)
C(116)	236(16)	185(13)	131(9)	-16(9)	-41(11)	50(12)
C(117)	212(15)	300(20)	151(10)	97(12)	-7(10)	68(15)
N(11)	105(4)	59(3)	30(2)	-1(2)	1(2)	-11(3)
C(12)	71(3)	81(4)	30(2)	-6(2)	-16(2)	5(3)
O(12)	78(2)	89(3)	29(2)	-1(2)	4(2)	-14(2)
C(13)	72(4)	81(4)	23(2)	-7(2)	8(2)	7(3)
C(130)	77(4)	85(4)	39(2)	-1(2)	11(3)	-5(3)
O(130)	78(3)	84(3)	45(2)	3(2)	0(2)	12(2)
C(131)	84(4)	80(4)	67(3)	10(3)	10(3)	8(4)
C(132)	64(4)	110(5)	58(3)	18(3)	-7(3)	1(4)
C(133)	114(5)	99(5)	42(3)	-3(3)	9(3)	-27(4)
C(134)	90(5)	115(6)	90(4)	-9(4)	6(4)	-20(5)
C(135)	118(7)	183(9)	99(5)	-7(6)	46(5)	-20(7)
C(136)	80(5)	187(9)	106(6)	-16(6)	19(5)	-3(6)
C(137)	84(6)	234(12)	83(5)	-33(6)	13(4)	3(7)
N(14)	72(3)	61(3)	30(2)	-7(2)	1(2)	-13(2)
C(14)	58(3)	101(5)	28(2)	-16(3)	4(2)	1(3)
O(14)	90(3)	79(2)	26(1)	6(1)	-3(2)	-6(2)
C(15)	65(3)	88(4)	24(2)	-3(2)	4(2)	-3(3)
C(150)	63(3)	79(4)	50(3)	-3(3)	-5(2)	-22(3)
O(150)	80(3)	133(4)	91(3)	49(3)	19(3)	-11(3)
C(151)	177(10)	128(8)	158(9)	-14(7)	71(8)	-21(7)
C(152)	135(8)	117(7)	111(6)	26(5)	38(6)	39(6)
C(153)	77(6)	212(13)	177(10)	-13(9)	-4(6)	-32(7)
C(154)	143(9)	223(12)	86(5)	43(6)	-11(6)	0(9)
C(155)	105(6)	172(9)	73(4)	27(5)	5(4)	-47(6)
C(156)	179(10)	79(5)	127(6)	39(5)	34(7)	15(6)
C(157)	107(7)	168(10)	153(8)	7(7)	17(6)	19(7)
Br(1)	127(1)	161(1)	126(1)	51(1)	31(1)	-32(1)
N(16)	70(3)	90(3)	47(2)	-3(2)	8(2)	13(3)

C(16)	67(4)	77(4)	77(4)	-1(3)	-15(3)	8(3)
O(16)	81(3)	95(3)	40(2)	7(2)	4(2)	19(2)
O(17)	143(4)	100(3)	59(2)	17(2)	12(3)	52(3)
C(170)	208(11)	192(10)	120(7)	86(7)	119(8)	146(10)
C(171)	158(10)	147(9)	200(11)	77(8)	65(9)	61(8)
C(172)	210(11)	128(7)	76(5)	-19(5)	11(6)	33(7)
C(173)	153(9)	147(9)	193(10)	80(8)	54(8)	77(7)
N(20)	86(4)	88(3)	48(2)	9(2)	8(2)	-4(3)
C(20)	93(5)	106(5)	29(2)	1(3)	26(3)	9(4)
O(20)	71(2)	96(3)	34(2)	7(2)	7(2)	1(2)
C(21)	97(5)	106(5)	40(3)	20(3)	11(3)	14(4)
C(210)	135(8)	123(8)	129(7)	13(6)	56(6)	-15(7)
O(210)	209(8)	110(5)	132(5)	20(4)	48(5)	29(5)
C(211)	297(19)	121(9)	175(11)	-41(8)	-48(12)	61(11)
C(212)	238(17)	183(13)	138(9)	43(9)	-7(10)	95(13)
C(213)	259(18)	163(11)	137(9)	42(9)	37(10)	63(12)
C(214)	233(19)	210(16)	420(30)	166(19)	-45(19)	66(14)
C(215)	230(20)	510(50)	330(30)	130(40)	40(20)	130(30)
C(216)	290(20)	186(14)	177(12)	22(10)	-95(14)	63(14)
C(217)	216(16)	209(15)	266(18)	67(14)	-83(15)	45(13)
N(21)	79(3)	119(4)	20(2)	-7(2)	7(2)	-6(3)
C(22)	82(4)	116(5)	41(3)	8(3)	-14(3)	-34(4)
O(22)	98(4)	368(10)	19(2)	-33(3)	-8(2)	44(5)
C(23)	82(4)	100(5)	37(2)	-11(3)	-12(3)	-23(4)
C(230)	87(6)	263(15)	171(9)	123(10)	-63(6)	-43(8)
O(230)	187(8)	235(11)	208(9)	-67(8)	15(7)	-58(8)
C(231)	278(19)	124(9)	281(18)	85(11)	-131(17)	-84(12)
C(232)	220(20)	430(40)	300(30)	170(30)	-130(20)	-180(30)
C(233)	171(15)	430(30)	169(13)	41(18)	-22(12)	-31(18)
C(234)	163(12)	340(20)	360(20)	-250(20)	54(14)	80(13)
C(235)	181(12)	196(13)	158(10)	8(9)	-48(9)	-75(11)
C(236)	270(30)	410(40)	260(20)	-10(20)	-30(20)	180(30)
C(237)	320(30)	221(16)	178(13)	71(12)	-79(16)	-22(17)
N(24)	55(3)	118(4)	36(2)	3(2)	-4(2)	-6(3)
C(24)	49(3)	124(5)	21(2)	-5(3)	2(2)	-19(3)
O(24)	77(3)	116(3)	32(2)	4(2)	-3(2)	-11(2)
C(25)	57(3)	122(5)	34(2)	-9(3)	4(2)	1(3)
C(250)	66(4)	135(5)	37(2)	-19(3)	-17(3)	-23(4)
O(250)	74(3)	100(3)	47(2)	1(2)	-2(2)	-13(2)
C(251)	63(4)	117(5)	69(3)	-5(4)	3(3)	3(4)
C(252)	61(4)	95(5)	64(3)	4(3)	-4(3)	-3(3)
C(253)	89(5)	120(6)	70(4)	28(4)	-49(4)	-19(4)
C(254)	94(5)	108(6)	141(7)	65(5)	-49(5)	-13(4)
C(255)	82(5)	108(6)	128(6)	-12(5)	-44(5)	-26(4)
C(256)	78(4)	123(6)	58(3)	18(4)	-21(3)	-4(4)
C(257)	68(4)	111(5)	53(3)	5(3)	-16(3)	8(4)
Br(2)	189(1)	144(1)	141(1)	1(1)	-71(1)	-63(1)
N(26)	68(3)	169(6)	42(2)	-13(3)	0(2)	34(4)
C(26)	72(5)	245(11)	63(4)	-22(6)	-11(4)	47(6)
O(26)	141(5)	267(8)	60(3)	16(4)	-3(3)	137(6)
O(27)	76(3)	312(9)	44(2)	-14(3)	11(2)	65(4)
C(270)	97(6)	358(19)	58(4)	47(7)	12(4)	80(9)
C(271)	126(9)	330(20)	184(11)	-54(13)	-73(9)	21(11)
C(272)	139(8)	124(7)	173(9)	48(7)	-13(7)	65(7)
C(273)	104(6)	190(10)	131(7)	21(7)	28(6)	44(7)

Molecule 2

C(100)	81(5)	150(7)	55(3)	16(4)	1(3)	28(5)
C(101)	113(6)	127(7)	70(4)	9(4)	17(4)	30(5)
C(102)	163(8)	117(7)	70(4)	3(4)	23(5)	18(6)
C(103)	137(8)	110(6)	103(5)	0(4)	9(5)	63(6)

C(104)	188(11)	158(10)	109(6)	-9(6)	-13(6)	118(9)
C(105)	112(6)	169(9)	57(3)	-9(4)	7(4)	56(6)
N(30)	52(3)	57(3)	56(2)	-2(2)	-5(2)	18(2)
C(30)	105(6)	136(7)	48(3)	-6(4)	22(4)	48(6)
O(30)	114(4)	125(4)	67(2)	-3(2)	-27(2)	58(3)
C(31)	76(4)	84(4)	38(2)	-12(3)	11(3)	-37(3)
C(310)	83(4)	98(5)	45(3)	22(3)	-4(3)	-55(4)
O(310)	103(4)	198(7)	113(4)	12(4)	-26(3)	-70(4)
C(311)	117(7)	201(12)	121(7)	32(8)	-9(6)	-48(8)
C(312)	71(5)	191(11)	178(10)	-90(9)	-3(6)	3(6)
C(313)	161(11)	190(12)	192(12)	-16(10)	31(10)	-88(10)
C(314)	152(9)	189(12)	125(7)	-32(7)	-39(7)	-21(9)
C(315)	156(9)	131(8)	159(9)	-42(7)	-41(7)	73(7)
C(316)	183(13)	145(10)	241(16)	20(11)	-14(12)	7(9)
C(317)	159(11)	237(14)	105(7)	-12(8)	1(7)	-60(11)
N(32)	71(3)	153(5)	30(2)	-6(2)	12(2)	-26(3)
C(32)	81(4)	133(6)	32(3)	-9(3)	13(3)	-35(4)
O(32)	67(2)	166(4)	36(2)	-20(2)	0(2)	-7(3)
C(33)	127(6)	106(5)	51(3)	-5(3)	35(4)	-38(5)
C(330)	206(11)	133(8)	87(5)	2(5)	38(6)	-78(8)
O(330)	590(30)	123(6)	168(7)	34(6)	222(12)	-18(10)
C(331)	350(20)	131(10)	240(15)	26(10)	179(17)	22(12)
C(332)	203(11)	61(5)	122(7)	-3(5)	53(7)	-23(6)
C(333)	340(20)	174(13)	165(11)	-37(11)	91(13)	-76(16)
C(334)	170(12)	145(11)	250(16)	47(11)	16(12)	21(9)
C(335)	129(9)	147(10)	251(15)	-114(11)	-30(9)	-7(8)
C(336)	279(17)	145(10)	147(8)	-102(8)	67(10)	-83(11)
C(337)	119(8)	175(11)	131(8)	39(7)	46(6)	1(7)
N(34)	98(4)	86(3)	33(2)	5(2)	18(3)	12(3)
C(34)	123(6)	70(4)	34(3)	12(2)	18(3)	18(4)
O(34)	102(3)	107(3)	39(2)	-4(2)	20(2)	1(3)
C(35)	97(5)	122(6)	43(3)	5(3)	6(3)	34(5)
C(350)	199(12)	158(10)	138(8)	71(8)	3(8)	2(9)
O(350)	229(9)	192(8)	148(6)	-12(6)	57(6)	32(7)
C(351)	1170(120)	170(18)	480(50)	60(20)	600(70)	80(40)
C(352)	450(40)	149(15)	280(20)	-101(16)	-20(20)	51(19)
C(353)	140(11)	270(20)	320(20)	173(18)	62(12)	59(11)
C(354)	247(15)	206(13)	246(14)	129(12)	104(12)	179(13)
C(355)	340(20)	176(12)	256(15)	146(12)	182(16)	184(14)
C(356)	350(20)	144(10)	228(13)	97(9)	205(14)	171(12)
C(357)	305(17)	58(6)	223(12)	36(7)	88(12)	7(8)
Br(3)	339(3)	144(1)	373(3)	-35(2)	-64(3)	-64(2)
N(36)	72(4)	158(6)	45(2)	9(3)	-2(3)	9(4)
C(36)	67(4)	157(7)	60(4)	10(4)	3(3)	27(4)
O(36)	71(3)	179(5)	49(2)	10(3)	2(2)	7(3)
O(37)	68(3)	220(6)	61(2)	3(3)	10(2)	-9(3)
C(370)	57(4)	263(12)	84(5)	-27(6)	-10(4)	1(6)
C(371)	120(7)	234(12)	115(6)	-56(7)	-53(6)	66(8)
C(372)	103(6)	168(8)	97(5)	-25(5)	6(5)	-38(6)
C(373)	91(5)	123(6)	119(6)	17(5)	20(4)	-36(5)
N(40)	108(4)	100(4)	41(2)	4(2)	25(3)	17(3)
C(40)	73(4)	105(5)	48(3)	-1(3)	10(3)	0(4)
O(40)	80(3)	97(3)	31(2)	2(2)	8(2)	4(2)
C(41)	75(4)	74(4)	48(3)	5(2)	15(3)	-8(3)
C(410)	63(4)	93(5)	68(3)	-1(3)	8(3)	-3(3)
O(142)	84(3)	92(3)	99(3)	-34(3)	17(2)	-11(3)
C(411)	136(8)	141(8)	117(6)	-62(6)	28(6)	-58(6)
C(412)	65(4)	101(5)	125(6)	-54(5)	32(4)	-43(4)
C(413)	114(6)	97(5)	87(5)	-17(4)	17(5)	-19(4)
C(414)	215(13)	126(8)	104(6)	-10(5)	49(8)	-53(8)
C(415)	107(7)	174(11)	186(12)	-61(9)	50(8)	-23(7)
C(416)	119(8)	185(11)	140(8)	-10(8)	2(7)	51(8)

C(417)	164(9)	176(10)	74(4)	5(5)	18(6)	15(8)
N(42)	72(3)	87(3)	29(2)	2(2)	2(2)	-11(3)
C(42)	56(3)	100(5)	27(2)	0(2)	2(2)	1(3)
O(42)	88(3)	81(2)	25(1)	-4(2)	7(2)	0(2)
C(43)	91(4)	65(4)	46(3)	5(2)	9(3)	-18(3)
C(430)	87(5)	80(4)	63(3)	11(3)	0(3)	3(4)
O(430)	98(3)	92(3)	94(3)	26(3)	8(3)	21(3)
C(431)	159(9)	132(7)	84(5)	12(5)	41(5)	34(6)
C(432)	115(7)	141(8)	227(12)	112(9)	-92(8)	-37(6)
C(433)	173(10)	159(9)	111(6)	33(6)	18(7)	-63(8)
C(434)	188(14)	500(30)	207(15)	178(19)	-46(12)	-185(19)
C(435)	119(10)	308(19)	192(12)	-6(13)	-68(10)	-51(11)
C(436)	108(7)	165(9)	136(7)	-11(7)	10(6)	52(7)
C(437)	102(7)	186(10)	138(7)	-1(7)	-12(6)	87(7)
N(44)	71(3)	99(4)	35(2)	-1(2)	-5(2)	-18(3)
C(44)	76(4)	114(5)	49(3)	-9(3)	-8(3)	-38(4)
O(44)	84(3)	197(5)	21(2)	2(2)	5(2)	-31(3)
C(45)	73(4)	158(7)	37(3)	0(3)	8(3)	-34(4)
C(450)	90(5)	166(7)	34(3)	-10(4)	12(3)	-10(5)
O(450)	86(3)	180(5)	43(2)	-30(3)	7(2)	-35(3)
C(451)	70(5)	170(8)	78(4)	-20(5)	10(4)	-36(5)
C(452)	71(4)	146(7)	61(3)	-14(4)	12(3)	-2(4)
C(453)	83(5)	155(7)	61(4)	-14(4)	26(3)	-16(5)
C(454)	98(6)	133(7)	79(4)	-4(4)	6(4)	9(5)
C(455)	76(5)	162(8)	89(5)	13(5)	6(4)	2(5)
C(456)	79(6)	410(20)	122(7)	50(10)	43(6)	30(9)
C(457)	66(5)	310(14)	67(4)	40(6)	4(4)	7(6)
Br(4)	91(1)	221(1)	171(1)	35(1)	-14(1)	21(1)
N(46)	112(4)	158(5)	34(2)	-11(3)	15(3)	-83(4)
C(46)	95(5)	181(9)	51(4)	16(5)	-9(4)	-22(6)
O(46)	164(6)	189(6)	74(3)	49(3)	5(3)	-50(5)
O(47)	182(6)	144(5)	69(3)	14(3)	-5(3)	-88(5)
C(470)	178(9)	155(9)	108(6)	57(6)	-69(6)	-105(8)
C(471)	172(8)	87(5)	104(5)	-11(4)	26(5)	-71(6)
C(472)	152(10)	146(9)	194(10)	13(8)	-39(8)	-79(8)
C(473)	134(8)	165(9)	172(9)	69(8)	-38(7)	-33(7)

Benzene 1

C(501)	169(12)	173(11)	260(16)	97(12)	107(13)	54(10)
C(502)	128(8)	137(8)	144(8)	-24(7)	-7(7)	-21(7)
C(503)	180(11)	123(8)	151(9)	35(7)	25(9)	52(8)
C(504)	157(11)	185(13)	267(18)	-106(13)	-68(12)	23(10)
C(505)	280(20)	239(18)	156(12)	-15(12)	-59(14)	116(17)
C(506)	187(13)	196(13)	147(10)	26(9)	-50(10)	37(12)

Benzene 2

C(507)	202(13)	212(14)	115(7)	37(8)	-17(8)	54(12)
C(508)	320(20)	184(14)	213(15)	39(12)	-165(18)	-21(16)
C(509)	300(20)	206(15)	159(11)	89(11)	-87(15)	-18(15)
C(510)	191(16)	650(60)	300(30)	-330(40)	-20(20)	70(30)
C(511)	300(30)	179(16)	400(30)	80(20)	20(30)	46(18)
C(512)	188(15)	360(30)	227(17)	110(19)	5(14)	-94(19)

CHCl₃

C(520)	148(9)	139(8)	182(10)	-40(8)	-31(8)	100(8)
Cl(21)	301(7)	311(7)	238(5)	5(5)	44(5)	-12(6)
Cl(22)	225(5)	307(6)	265(5)	-65(4)	-27(4)	-90(5)
Cl(23)	262(5)	242(5)	237(4)	68(4)	-51(4)	-88(4)

Table 5. Bond lengths [Å] and angles [°] for C171 H207 Br4 Cl3 N16 O32

Molecule 1

C(1)-C(6)	1.457(10)	C(170)-C(172)	1.492(8)
C(1)-N(20)	1.487(7)	C(170)-C(173)	1.543(7)
C(1)-C(2)	1.535(11)	C(170)-C(171)	1.545(7)
C(2)-C(3)	1.512(10)	N(20)-C(20)	1.368(8)
C(2)-N(10)	1.516(8)	C(20)-O(20)	1.233(6)
C(3)-C(4)	1.447(14)	C(20)-C(21)	1.503(8)
C(4)-C(5)	1.483(13)	C(21)-N(21)	1.441(8)
C(5)-C(6)	1.510(11)	C(21)-C(210)	1.481(10)
N(10)-C(10)	1.279(8)	C(210)-O(210)	1.377(4)
C(10)-O(10)	1.248(7)	O(210)-C(211)	1.413(5)
C(10)-C(11)	1.553(9)	C(211)-C(212)	1.504(5)
C(11)-N(11)	1.436(7)	C(212)-C(213)	1.39
C(11)-C(110)	1.527(8)	C(212)-C(217)	1.39
C(110)-O(110)	1.378(4)	C(213)-C(214)	1.39
O(110)-C(111)	1.412(4)	C(214)-C(215)	1.39
C(111)-C(112)	1.503(4)	C(215)-C(216)	1.39
C(112)-C(113)	1.39	C(216)-C(217)	1.39
C(112)-C(117)	1.39	N(21)-C(22)	1.360(7)
C(113)-C(114)	1.39	C(22)-O(22)	1.265(6)
C(114)-C(115)	1.39	C(22)-C(23)	1.437(9)
C(115)-C(116)	1.39	C(23)-N(24)	1.463(8)
C(116)-C(117)	1.39	C(23)-C(230)	1.489(11)
N(11)-C(12)	1.352(6)	C(230)-O(230)	1.376(4)
C(12)-O(12)	1.239(6)	O(230)-C(231)	1.417(5)
C(12)-C(13)	1.493(8)	C(231)-C(232)	1.506(5)
C(13)-N(14)	1.434(6)	C(232)-C(233)	1.39
C(13)-C(130)	1.555(8)	C(232)-C(237)	1.39
C(130)-O(130)	1.399(6)	C(233)-C(234)	1.39
O(130)-C(131)	1.488(7)	C(234)-C(235)	1.39
C(131)-C(132)	1.510(8)	C(235)-C(236)	1.39
C(132)-C(133)	1.39	C(236)-C(237)	1.39
C(132)-C(137)	1.39	N(24)-C(24)	1.334(8)
C(133)-C(134)	1.39	C(24)-O(24)	1.239(6)
C(134)-C(135)	1.39	C(24)-C(25)	1.531(8)
C(135)-C(136)	1.39	C(25)-N(26)	1.414(7)
C(136)-C(137)	1.39	C(25)-C(250)	1.544(7)
N(14)-C(14)	1.282(7)	C(250)-O(250)	1.375(4)
C(14)-O(14)	1.216(6)	O(250)-C(251)	1.417(4)
C(14)-C(15)	1.592(7)	C(251)-C(252)	1.503(4)
C(15)-N(16)	1.442(7)	C(252)-C(253)	1.39
C(15)-C(150)	1.544(7)	C(252)-C(257)	1.39
C(150)-O(150)	1.415(6)	C(253)-C(254)	1.39
O(150)-C(151)	1.276(11)	C(254)-C(255)	1.39
C(151)-C(152)	1.588(11)	C(255)-C(256)	1.39
C(152)-C(153)	1.39	C(255)-Br(2)	1.872(3)
C(152)-C(157)	1.39	C(256)-C(257)	1.39
C(153)-C(154)	1.39	N(26)-C(26)	1.354(10)
C(154)-C(155)	1.39	C(26)-O(26)	1.094(10)
C(155)-C(156)	1.39	C(26)-O(27)	1.458(11)
C(155)-Br(1)	1.863(5)	O(27)-C(270)	1.415(8)
C(156)-C(157)	1.39	C(270)-C(272)	1.491(8)
N(16)-C(16)	1.324(7)	C(270)-C(273)	1.541(7)
C(16)-O(16)	1.211(7)	C(270)-C(271)	1.546(7)
C(16)-O(17)	1.347(7)	O(17)-C(170)	1.513(8)

C(6)-C(1)-N(20)	109.6(6)	C(156)-C(155)-C(154)	120
C(6)-C(1)-C(2)	110.8(7)	C(156)-C(155)-BR1	116.0(4)
N(20)-C(1)-C(2)	112.1(5)	C(154)-C(155)-BR1	123.6(4)
C(3)-C(2)-N(10)	115.1(6)	C(155)-C(156)-C(157)	120
C(3)-C(2)-C(1)	109.3(6)	C(156)-C(157)-C(152)	120
N(10)-C(2)-C(1)	110.2(6)	C(16)-N(16)-C(15)	121.6(4)
C(4)-C(3)-C(2)	108.4(9)	O(16)-C(16)-N(16)	125.9(6)
C(3)-C(4)-C(5)	113.2(9)	O(16)-C(16)-O(17)	124.4(6)
C(4)-C(5)-C(6)	105.7(9)	N(16)-C(16)-O(17)	109.6(5)
C(1)-C(6)-C(5)	112.0(7)	C(16)-O(17)-C(170)	122.2(5)
C(10)-N(10)-C(2)	121.6(6)	C(172)-C(170)-O(17)	115.1(6)
O(10)-C(10)-N(10)	124.4(6)	C(172)-C(170)-C(173)	110.5(6)
O(10)-C(10)-C(11)	119.0(6)	O(17)-C(170)-C(173)	102.2(5)
N(10)-C(10)-C(11)	116.6(6)	C(172)-C(170)-C(171)	110.0(6)
N(11)-C(11)-C(110)	110.9(5)	O(17)-C(170)-C(171)	107.0(7)
N(11)-C(11)-C(10)	114.2(5)	C(173)-C(170)-C(171)	111.8(6)
C(110)-C(11)-C(10)	110.9(4)	C(20)-N(20)-C(1)	122.8(5)
O(110)-C(110)-C(11)	104.3(4)	O(20)-C(20)-N(20)	121.6(5)
C(110)-O(110)-C(111)	115.7(4)	O(20)-C(20)-C(21)	122.6(6)
O(110)-C(111)-C(112)	112.4(5)	N(20)-C(20)-C(21)	115.8(5)
C(113)-C(112)-C(117)	120	N(21)-C(21)-C(210)	110.2(6)
C(113)-C(112)-C(111)	118.9(4)	N(21)-C(21)-C(20)	108.5(5)
C(117)-C(112)-C(111)	121.1(4)	C(210)-C(21)-C(20)	112.9(5)
C(112)-C(113)-C(114)	120	O(210)-C(210)-C(21)	106.6(7)
C(113)-C(114)-C(115)	120	C(210)-O(210)-C(211)	115.2(5)
C(116)-C(115)-C(114)	120	O(210)-C(211)-C(212)	112.3(5)
C(115)-C(116)-C(117)	120	C(213)-C(212)-C(217)	120
C(116)-C(117)-C(112)	120	C(213)-C(212)-C(211)	118.8(4)
C(12)-N(11)-C(11)	123.9(4)	C(217)-C(212)-C(211)	121.2(4)
O(12)-C(12)-N(11)	121.3(5)	C(214)-C(213)-C(212)	120
O(12)-C(12)-C(13)	122.4(4)	C(213)-C(214)-C(215)	120
N(11)-C(12)-C(13)	116.3(4)	C(216)-C(215)-C(214)	120
N(14)-C(13)-C(12)	111.6(4)	C(215)-C(216)-C(217)	120
N(14)-C(13)-C(130)	113.2(4)	C(216)-C(217)-C(212)	120
C(12)-C(13)-C(130)	108.2(5)	C(22)-N(21)-C(21)	123.3(4)
O(130)-C(130)-C(13)	106.9(4)	O(22)-C(22)-N(21)	117.2(6)
C(130)-O(130)-C(131)	110.5(4)	O(22)-C(22)-C(23)	121.2(5)
O(130)-C(131)-C(132)	109.7(5)	N(21)-C(22)-C(23)	121.5(5)
C(133)-C(132)-C(137)	120	C(22)-C(23)-N(24)	106.9(5)
C(133)-C(132)-C(131)	120.2(4)	C(22)-C(23)-C(230)	118.4(7)
C(137)-C(132)-C(131)	119.7(4)	N(24)-C(23)-C(230)	114.7(7)
C(132)-C(133)-C(134)	120	O(230)-C(230)-C(23)	107.4(7)
C(133)-C(134)-C(135)	120	C(230)-O(230)-C(231)	114.8(5)
C(136)-C(135)-C(134)	120	O(230)-C(231)-C(232)	111.5(5)
C(135)-C(136)-C(137)	120	C(233)-C(232)-C(237)	120
C(136)-C(137)-C(132)	120	C(233)-C(232)-C(231)	118.6(4)
C(14)-N(14)-C(13)	121.5(4)	C(237)-C(232)-C(231)	120.8(4)
O(14)-C(14)-N(14)	127.4(5)	C(232)-C(233)-C(234)	120
O(14)-C(14)-C(15)	118.1(6)	C(235)-C(234)-C(233)	120
N(14)-C(14)-C(15)	114.5(4)	C(234)-C(235)-C(236)	120
N(16)-C(15)-C(150)	114.0(5)	C(237)-C(236)-C(235)	120
N(16)-C(15)-C(14)	107.4(4)	C(236)-C(237)-C(232)	120
C(150)-C(15)-C(14)	109.8(4)	C(24)-N(24)-C(23)	122.3(4)
O(150)-C(150)-C(15)	112.1(4)	O(24)-C(24)-N(24)	121.9(5)
C(151)-O(150)-C(150)	121.4(7)	O(24)-C(24)-C(25)	121.2(6)
O(150)-C(151)-C(152)	108.0(8)	N(24)-C(24)-C(25)	116.7(4)
C(153)-C(152)-C(157)	120	N(26)-C(25)-C(24)	114.1(5)
C(153)-C(152)-C(151)	120.0(7)	N(26)-C(25)-C(250)	111.2(4)
C(157)-C(152)-C(151)	119.7(7)	C(24)-C(25)-C(250)	108.3(5)
C(152)-C(153)-C(154)	120	O(250)-C(250)-C(25)	110.3(3)
C(153)-C(154)-C(155)	120	C(250)-O(250)-C(251)	114.2(3)

O(250)-C(251)-C(252)	113.3(4)	C(254)-C(253)-C(252)	120
C(253)-C(252)-C(257)	120	C(256)-C(257)-C(252)	120
C(253)-C(252)-C(251)	118.8(3)	C(253)-C(254)-C(255)	120
C(257)-C(252)-C(251)	121.0(3)	C(256)-C(255)-C(254)	120
C(254)-C(255)-BR2	120.0(3)	C(256)-C(255)-BR2	120.0(3)
C(255)-C(256)-C(257)	120		

Molecule 2

C(100)-C(101)	1.435(11)	C(350)-O(350)	1.367(4)
C(100)-C(105)	1.515(10)	O(350)-C(351)	1.406(5)
C(100)-N(30)	1.539(10)	C(351)-C(352)	1.517(5)
C(101)-N(40)	1.425(9)	C(352)-C(353)	1.39
C(101)-C(102)	1.528(12)	C(352)-C(357)	1.39
C(102)-C(103)	1.556(10)	C(353)-C(354)	1.39
C(103)-C(104)	1.531(15)	C(354)-C(355)	1.39
C(104)-C(105)	1.528(15)	C(355)-C(356)	1.39
N(30)-C(30)	1.323(10)	C(355)-Br(3)	1.862(6)
C(30)-O(30)	1.316(8)	C(356)-C(357)	1.39
C(30)-C(31)	1.434(10)	N(36)-C(36)	1.316(9)
C(31)-N(32)	1.527(9)	C(36)-O(36)	1.170(7)
C(31)-C(310)	1.575(7)	C(36)-O(37)	1.395(9)
C(310)-O(310)	1.377(4)	O(37)-C(370)	1.517(9)
O(310)-C(311)	1.411(5)	C(370)-C(372)	1.492(8)
C(311)-C(312)	1.503(5)	C(370)-C(373)	1.545(7)
C(312)-C(317)	1.387(3)	C(370)-C(371)	1.545(7)
C(312)-C(313)	1.391(3)	N(40)-C(40)	1.388(8)
C(313)-C(314)	1.393(3)	C(40)-O(40)	1.261(6)
C(314)-C(315)	1.390(3)	C(40)-C(41)	1.467(8)
C(315)-C(316)	1.390(4)	C(41)-N(42)	1.499(7)
C(316)-C(317)	1.393(3)	C(41)-C(410)	1.548(8)
N(32)-C(32)	1.339(8)	C(410)-O(142)	1.377(4)
C(32)-O(32)	1.238(7)	O(142)-C(411)	1.410(5)
C(32)-C(33)	1.441(11)	C(411)-C(412)	1.503(5)
C(33)-N(34)	1.432(9)	C(412)-C(417)	1.388(3)
C(33)-C(330)	1.597(12)	C(412)-C(413)	1.391(3)
C(330)-O(330)	1.373(5)	C(413)-C(414)	1.392(3)
O(330)-C(331)	1.411(5)	C(414)-C(415)	1.391(4)
C(331)-C(332)	1.508(5)	C(415)-C(416)	1.390(4)
C(332)-C(333)	1.389(3)	C(416)-C(417)	1.392(3)
C(332)-C(337)	1.392(3)	N(42)-C(42)	1.356(6)
C(333)-C(334)	1.393(4)	C(42)-O(42)	1.248(5)
C(334)-C(335)	1.391(4)	C(42)-C(43)	1.472(8)
C(26)-N(26)-C(25)	117.5(6)	C(43)-N(44)	1.428(7)
O(26)-C(26)-N(26)	129.9(8)	C(43)-C(430)	1.453(9)
O(26)-C(26)-O(27)	125.1(7)	C(430)-O(430)	1.375(4)
N(26)-C(26)-O(27)	104.1(8)	O(430)-C(431)	1.412(4)
C(270)-O(27)-C(26)	123.5(6)	C(431)-C(432)	1.503(4)
O(27)-C(270)-C(272)	102.4(8)	C(432)-C(433)	1.39
O(27)-C(270)-C(273)	107.6(6)	C(432)-C(437)	1.39
C(272)-C(270)-C(273)	111.1(6)	C(433)-C(434)	1.39
O(27)-C(270)-C(271)	113.4(7)	C(434)-C(435)	1.39
C(272)-C(270)-C(271)	110.6(6)	C(435)-C(436)	1.39
C(273)-C(270)-C(271)	111.3(6)	C(436)-C(437)	1.39
C(335)-C(336)	1.388(4)	N(44)-C(44)	1.336(8)
C(336)-C(337)	1.390(3)	C(44)-O(44)	1.191(6)
N(34)-C(34)	1.291(8)	C(44)-C(45)	1.561(9)
C(34)-O(34)	1.227(6)	C(45)-N(46)	1.436(9)
C(34)-C(35)	1.523(9)	C(45)-C(450)	1.539(10)
C(35)-N(36)	1.432(9)	C(450)-O(450)	1.381(4)
C(35)-C(350)	1.491(11)	O(450)-C(451)	1.420(4)

C(451)-C(452)	1.504(5)	C(456)-C(457)	1.390(3)
C(452)-C(453)	1.390(3)	N(46)-C(46)	1.364(11)
C(452)-C(457)	1.391(3)	C(46)-O(47)	1.387(10)
C(453)-C(454)	1.392(3)	O(47)-C(470)	1.468(9)
C(454)-C(455)	1.392(3)	C(470)-C(472)	1.493(8)
C(455)-C(456)	1.390(3)	C(470)-C(473)	1.540(7)
C(455)-Br(4)	1.874(5)	C(470)-C(471)	1.545(7)
C(101)-C(100)-C(105)	114.0(7)	N(36)-C(35)-C(34)	111.1(5)
C(101)-C(100)-N(30)	110.2(6)	C(350)-C(35)-C(34)	111.4(7)
C(105)-C(100)-N(30)	109.5(6)	O(350)-C(350)-C(35)	114.9(8)
N(40)-C(101)-C(100)	112.7(7)	C(350)-O(350)-C(351)	118.6(6)
N(40)-C(101)-C(102)	109.5(6)	O(350)-C(351)-C(352)	114.3(6)
C(100)-C(101)-C(102)	111.1(7)	C(353)-C(352)-C(357)	120
C(101)-C(102)-C(103)	112.6(7)	C(353)-C(352)-C(351)	114.8(5)
C(104)-C(103)-C(102)	105.9(8)	C(357)-C(352)-C(351)	117.6(5)
C(105)-C(104)-C(103)	114.3(7)	C(354)-C(353)-C(352)	120
C(100)-C(105)-C(104)	107.5(7)	C(353)-C(354)-C(355)	120
C(30)-N(30)-C(100)	126.1(5)	C(356)-C(355)-C(354)	120
O(30)-C(30)-N(30)	120.5(8)	C(356)-C(355)-BR3	122.2(4)
O(30)-C(30)-C(31)	118.6(8)	C(354)-C(355)-BR3	117.8(4)
N(30)-C(30)-C(31)	120.8(6)	C(355)-C(356)-C(357)	120
C(30)-C(31)-N(32)	113.3(5)	C(356)-C(357)-C(352)	120
C(30)-C(31)-C(310)	117.2(5)	C(36)-N(36)-C(35)	122.1(5)
N(32)-C(31)-C(310)	104.0(5)	O(36)-C(36)-N(36)	126.6(8)
O(310)-C(310)-C(31)	108.3(4)	O(36)-C(36)-O(37)	126.2(8)
C(310)-O(310)-C(311)	115.6(5)	N(36)-C(36)-O(37)	107.2(5)
O(310)-C(311)-C(312)	113.8(4)	C(36)-O(37)-C(370)	120.4(5)
C(317)-C(312)-C(313)	120.2(4)	C(372)-C(370)-O(37)	114.4(6)
C(317)-C(312)-C(311)	121.5(4)	C(372)-C(370)-C(373)	111.4(6)
C(313)-C(312)-C(311)	118.3(4)	O(37)-C(370)-C(371)	102.1(5)
C(312)-C(313)-C(314)	120.0(4)	C(372)-C(370)-C(371)	110.6(5)
C(315)-C(314)-C(313)	119.9(4)	O(37)-C(370)-C(371)	107.3(7)
C(314)-C(315)-C(316)	120.1(4)	C(373)-C(370)-C(371)	110.8(6)
C(315)-C(316)-C(317)	120.0(4)	C(40)-N(40)-C(101)	124.9(5)
C(312)-C(317)-C(316)	119.9(4)	O(40)-C(40)-N(40)	120.3(5)
C(32)-N(32)-C(31)	123.7(5)	O(40)-C(40)-C(41)	122.8(6)
O(32)-C(32)-N(32)	122.9(8)	N(40)-C(40)-C(41)	116.9(5)
O(32)-C(32)-C(33)	121.0(6)	C(40)-C(41)-N(42)	109.1(5)
N(32)-C(32)-C(33)	115.8(6)	C(40)-C(41)-C(410)	110.3(5)
N(34)-C(33)-C(32)	113.4(5)	N(42)-C(41)-C(410)	107.5(5)
N(34)-C(33)-C(330)	107.9(7)	O(142)-C(410)-C(41)	108.3(5)
C(32)-C(33)-C(330)	113.8(7)	C(410)-O(142)-C(411)	115.2(5)
O(330)-C(330)-C(33)	112.5(7)	O(142)-C(411)-C(412)	113.8(4)
C(330)-O(330)-C(331)	116.8(6)	C(417)-C(412)-C(413)	120.1(3)
O(330)-C(331)-C(332)	112.3(5)	C(417)-C(412)-C(411)	120.6(4)
C(333)-C(332)-C(337)	119.7(4)	C(413)-C(412)-C(411)	118.9(4)
C(333)-C(332)-C(331)	119.1(5)	C(412)-C(413)-C(414)	119.6(4)
C(337)-C(332)-C(331)	119.6(5)	C(415)-C(414)-C(413)	120.2(4)
C(332)-C(333)-C(334)	119.7(4)	C(416)-C(415)-C(414)	120.1(4)
C(335)-C(334)-C(333)	120.0(4)	C(415)-C(416)-C(417)	119.5(4)
C(336)-C(335)-C(334)	120.0(4)	C(412)-C(417)-C(416)	120.4(4)
C(335)-C(336)-C(337)	119.9(4)	C(42)-N(42)-C(41)	122.2(4)
C(336)-C(337)-C(332)	119.9(4)	O(42)-C(42)-N(42)	119.7(5)
C(34)-N(34)-C(33)	124.4(5)	O(42)-C(42)-C(43)	122.2(4)
O(34)-C(34)-N(34)	124.6(6)	N(42)-C(42)-C(43)	118.0(4)
O(34)-C(34)-C(35)	119.3(7)	N(44)-C(43)-C(430)	113.3(4)
N(34)-C(34)-C(35)	116.0(5)	N(44)-C(43)-C(42)	106.9(5)
N(36)-C(35)-C(350)	114.1(7)	C(430)-C(43)-C(42)	110.1(5)
C(46)-O(46)	1.206(9)	O(430)-C(430)-C(43)	111.7(5)

C(430)-O(430)-C(431)	114.9(4)	O(47)-C(470)-C(473)	112.6(6)
O(430)-C(431)-C(432)	113.1(4)	C(453)-C(452)-C(457)	119.7(3)
C(433)-C(432)-C(437)	120	C(453)-C(452)-C(451)	120.0(4)
C(433)-C(432)-C(431)	119.5(4)	C(457)-C(452)-C(451)	120.3(4)
C(437)-C(432)-C(431)	120.5(4)	C(452)-C(453)-C(454)	120.1(4)
C(434)-C(433)-C(432)	120	C(455)-C(454)-C(453)	120.1(4)
C(433)-C(434)-C(435)	120	C(456)-C(455)-C(454)	119.7(4)
C(436)-C(435)-C(434)	120	C(456)-C(455)-BR4	118.9(4)
C(435)-C(436)-C(437)	120	C(454)-C(455)-BR4	121.4(4)
C(436)-C(437)-C(432)	120	C(457)-C(456)-C(455)	120.1(4)
C(456)-C(457)-C(452)	120.2(4)	C(44)-N(44)-C(43)	123.2(4)
C(46)-N(46)-C(45)	121.9(5)	O(44)-C(44)-N(44)	123.8(5)
O(46)-C(46)-N(46)	123.0(9)	O(44)-C(44)-C(45)	119.2(6)
O(46)-C(46)-O(47)	127.2(9)	N(44)-C(44)-C(45)	117.0(5)
N(46)-C(46)-O(47)	109.8(6)	N(46)-C(45)-C(450)	111.0(4)
C(472)-C(470)-C(471)	110.2(5)	N(46)-C(45)-C(44)	112.9(6)
C(473)-C(470)-C(471)	111.8(6)	C(450)-C(45)-C(44)	109.3(5)
C(472)-C(470)-C(473)	111.8(6)	O(450)-C(450)-C(45)	110.6(4)
O(47)-C(470)-C(471)	99.2(5)	C(450)-O(450)-C(451)	113.7(4)
O(47)-C(470)-C(472)	110.6(7)	O(450)-C(451)-C(452)	111.6(4)
C(46)-O(47)-C(470)	119.0(6)		

Benzene 1

C(501)-C(506)	1.390(4)	C(506)-C(501)-C(502)	119.8(4)
C(501)-C(502)	1.391(4)	C(501)-C(502)-C(503)	119.9(4)
C(502)-C(503)	1.391(4)	C(504)-C(503)-C(502)	120.3(4)
C(503)-C(504)	1.390(4)	C(503)-C(504)-C(505)	119.9(5)
C(504)-C(505)	1.390(4)	C(506)-C(505)-C(504)	119.8(5)
C(505)-C(506)	1.390(4)	C(501)-C(506)-C(505)	120.4(5)

Benzene 2

C(507)-C(508)	1.39	C(508)-C(507)-C(512)	120
C(507)-C(512)	1.39	C(509)-C(508)-C(507)	120
C(508)-C(509)	1.39	C(508)-C(509)-C(510)	120
C(509)-C(510)	1.39	C(509)-C(510)-C(511)	120
C(510)-C(511)	1.39	C(512)-C(511)-C(510)	120
C(511)-C(512)	1.39	C(511)-C(512)-C(507)	120

CHCl₃

C(520)-Cl(21)	1.512(12)	CL21-C(520)-CL23	103.1(6)
C(520)-Cl(23)	1.837(12)	CL21-C(520)-CL22	111.0(7)
C(520)-Cl(22)	1.869(15)	CL23-C(520)-CL22	97.1(7)

Table 6. Torsion angles [$^{\circ}$] for C171 H207 Br4 Cl3 N16 O32.

Molecule 1

C(6)-C(1)-C(2)-C(3)	54.9(8)	O(150)-C(151)-C(152)-C(153)	44.60(11)
N(20)-C(1)-C(2)-C(3)	177.7(6)	O(150)-C(151)-C(152)-C(157)	-141.6(8)
C(6)-C(1)-C(2)-N(10)	-177.6(5)	C(151)-C(152)-C(153)-C(154)	173.8(7)
N(20)-C(1)-C(2)-N(10)	-54.9(7)	C(153)-C(154)-C(155)-BR1	172.1(5)
N(10)-C(2)-C(3)-C(4)	179.2(8)	BR1-C(155)-C(156)-C(157)	-172.7(4)
C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	-56.2(9)	C(151)-C(152)-C(157)-C(156)	-173.8(7)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	63.10(11)	C(150)-C(15)-N(16)-C(16)	78.4(6)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	-62.50(12)	C(14)-C(15)-N(16)-C(16)	-159.7(5)
N(20)-C(1)-C(6)-C(5)	178.3(7)	C(15)-N(16)-C(16)-O(16)	3.8(1)
C(2)-C(1)-C(6)-C(5)	-57.5(9)	C(15)-N(16)-C(16)-O(17)	179.3(5)
C(4)-C(5)-C(6)-C(1)	58.80(11)	O(16)-C(16)-O(17)-C(170)	-8.5(1)
C(3)-C(2)-N(10)-C(10)	-72.5(8)	N(16)-C(16)-O(17)-C(170)	175.9(6)
C(1)-C(2)-N(10)-C(10)	163.4(5)	C(16)-O(17)-C(170)-C(172)	-54.0(8)
C(2)-N(10)-C(10)-O(10)	-3.2(8)	C(16)-O(17)-C(170)-C(173)	-173.8(6)
C(2)-N(10)-C(10)-C(11)	174.8(4)	C(16)-O(17)-C(170)-C(171)	68.6(8)
O(10)-C(10)-C(11)-N(11)	-152.2(4)	C(6)-C(1)-N(20)-C(20)	-145.4(7)
N(10)-C(10)-C(11)-N(11)	29.7(6)	C(2)-C(1)-N(20)-C(20)	91.2(7)
O(10)-C(10)-C(11)-C(110)	-26.1(7)	C(1)-N(20)-C(20)-O(20)	-6.3(9)
N(10)-C(10)-C(11)-C(110)	155.8(5)	C(1)-N(20)-C(20)-C(21)	170.1(6)
N(11)-C(11)-C(110)-O(110)	-58.3(6)	O(20)-C(20)-C(21)-N(21)	-36.6(8)
C(10)-C(11)-C(110)-O(110)	173.7(5)	N(20)-C(20)-C(21)-N(21)	147.0(5)
C(11)-C(110)-O(110)-C(111)	168.9(6)	O(20)-C(20)-C(21)-C(210)	85.8(8)
C(110)-O(110)-C(111)-C(112)	-168.9(6)	N(20)-C(20)-C(21)-C(210)	-90.5(7)
O(110)-C(111)-C(112)-C(113)	97.1(7)	N(21)-C(21)-C(210)-O(210)	-174.0(6)
O(110)-C(111)-C(112)-C(117)	-82.4(8)	C(20)-C(21)-C(210)-O(210)	64.5(9)
C(111)-C(112)-C(113)-C(114)	-179.4(6)	C(21)-C(210)-O(210)-C(211)	165.6(8)
C(111)-C(112)-C(117)-C(116)	179.4(6)	C(210)-O(210)-C(211)-C(212)	-159.2(9)
C(110)-C(11)-N(11)-C(12)	131.9(5)	O(210)-C(211)-C(212)-C(213)	-18.5(1)
C(10)-C(11)-N(11)-C(12)	-102.0(6)	O(210)-C(211)-C(212)-C(217)	162.9(8)
C(11)-N(11)-C(12)-O(12)	15.8(8)	C(211)-C(212)-C(213)-C(214)	-178.6(1)
C(11)-N(11)-C(12)-C(13)	-165.5(5)	C(211)-C(212)-C(217)-C(216)	178.6(1)
O(12)-C(12)-C(13)-N(14)	26.5(7)	C(210)-C(21)-N(21)-C(22)	103.0(7)
N(11)-C(12)-C(13)-N(14)	-152.2(5)	C(20)-C(21)-N(21)-C(22)	-133.0(6)
O(12)-C(12)-C(13)-C(130)	-98.6(5)	C(21)-N(21)-C(22)-O(22)	-0.9(1)
N(11)-C(12)-C(13)-C(130)	82.6(5)	C(21)-N(21)-C(22)-C(23)	177.8(6)
N(14)-C(13)-C(130)-O(130)	-61.8(6)	O(22)-C(22)-C(23)-N(24)	48.3(9)
C(12)-C(13)-C(130)-O(130)	62.5(5)	N(21)-C(22)-C(23)-N(24)	-130.3(6)
C(13)-C(130)-O(130)-C(131)	172.7(4)	O(22)-C(22)-C(23)-C(230)	-83.1(1)
C(130)-O(130)-C(131)-C(132)	-73.4(5)	N(21)-C(22)-C(23)-C(230)	98.3(9)
O(130)-C(131)-C(132)-C(133)	-55.6(5)	C(22)-C(23)-C(230)-O(230)	45.2(1)
O(130)-C(131)-C(132)-C(137)	126.3(4)	N(24)-C(23)-C(230)-O(230)	-82.6(1)
C(131)-C(132)-C(133)-C(134)	-178.1(5)	C(23)-C(230)-O(230)-C(231)	167.7(8)
C(131)-C(132)-C(137)-C(136)	178.1(5)	C(230)-O(230)-C(231)-C(232)	-46.8(1)
C(12)-C(13)-N(14)-C(14)	123.3(5)	O(230)-C(231)-C(232)-C(233)	-86.8(1)
C(130)-C(13)-N(14)-C(14)	-114.3(5)	O(230)-C(231)-C(232)-C(237)	102.1(1)
C(13)-N(14)-C(14)-O(14)	-3.7(9)	C(231)-C(232)-C(233)-C(234)	-171.2(9)
C(13)-N(14)-C(14)-C(15)	176.8(4)	C(231)-C(232)-C(237)-C(236)	171.0(9)
O(14)-C(14)-C(15)-N(16)	-25.8(7)	C(22)-C(23)-N(24)-C(24)	83.6(6)
N(14)-C(14)-C(15)-N(16)	153.8(5)	C(230)-C(23)-N(24)-C(24)	-143.0(6)
O(14)-C(14)-C(15)-C(150)	98.7(6)	C(23)-N(24)-C(24)-O(24)	16.7(8)
N(14)-C(14)-C(15)-C(150)	-81.7(6)	C(23)-N(24)-C(24)-C(25)	-158.7(5)
N(16)-C(15)-C(150)-O(150)	54.2(6)	O(24)-C(24)-C(25)-N(26)	141.9(5)
C(14)-C(15)-C(150)-O(150)	-66.4(6)	N(24)-C(24)-C(25)-N(26)	-42.6(7)
C(15)-C(150)-O(150)-C(151)	100.8(9)	O(24)-C(24)-C(25)-C(250)	-93.7(6)
C(150)-O(150)-C(151)-C(152)	165.1(6)	N(24)-C(24)-C(25)-C(250)	81.7(6)

N(26)-C(25)-C(250)-O(250)	175.5(6)	C(24)-C(25)-N(26)-C(26)	-93.3(9)
C(24)-C(25)-C(250)-O(250)	49.4(7)	C(250)-C(25)-N(26)-C(26)	143.9(8)
C(25)-C(250)-O(250)-C(251)	-165.0(5)	C(25)-N(26)-C(26)-O(26)	0.20(17)
C(250)-O(250)-C(251)-C(252)	-67.1(6)	C(25)-N(26)-C(26)-O(27)	170.2(6)
O(250)-C(251)-C(252)-C(253)	-75.4(5)	O(26)-C(26)-O(27)-C(270)	0.90(16)
O(250)-C(251)-C(252)-C(257)	100.3(4)	N(26)-C(26)-O(27)-C(270)	-169.8(8)
C(251)-C(252)-C(253)-C(254)	175.7(4)	C(26)-O(27)-C(270)-C(272)	-70.6(9)
C(253)-C(254)-C(255)-BR2	179.7(4)	C(26)-O(27)-C(270)-C(273)	172.2(8)
BR2-C(255)-C(256)-C(257)	-179.7(4)	C(26)-O(27)-C(270)-C(271)	48.6(1)
C(251)-C(252)-C(257)-C(256)	-175.6(4)		

Molecule 2

C(105)-C(100)-C(101)-N(40)	-179.5(6)	C(337)-C(332)-C(333)-C(334)	-10.2(1)
N(30)-C(100)-C(101)-N(40)	-55.9(7)	C(331)-C(332)-C(333)-C(334)	-175.7(6)
C(105)-C(100)-C(101)-C(102)	57.2(8)	C(332)-C(333)-C(334)-C(335)	5.1(7)
N(30)-C(100)-C(101)-C(102)	-179.2(5)	C(333)-C(334)-C(335)-C(336)	-0.01(15)
N(40)-C(101)-C(102)-C(103)	178.7(7)	C(334)-C(335)-C(336)-C(337)	0.0(3)
C(100)-C(101)-C(102)-C(103)	-56.1(9)	C(335)-C(336)-C(337)-C(332)	-5.2(8)
C(101)-C(102)-C(103)-C(104)	54.0(1)	C(333)-C(332)-C(337)-C(336)	10.30(14)
C(102)-C(103)-C(104)-C(105)	-56.6(9)	C(331)-C(332)-C(337)-C(336)	175.6(6)
C(101)-C(100)-C(105)-C(104)	-56.7(9)	C(32)-C(33)-N(34)-C(34)	120.7(7)
N(30)-C(100)-C(105)-C(104)	179.3(6)	C(330)-C(33)-N(34)-C(34)	-112.3(7)
C(103)-C(104)-C(105)-C(100)	57.5(9)	C(33)-N(34)-C(34)-O(34)	-1.1(1)
C(101)-C(100)-N(30)-C(30)	161.2(5)	C(33)-N(34)-C(34)-C(35)	-179.9(6)
C(105)-C(100)-N(30)-C(30)	-72.6(7)	O(34)-C(34)-C(35)-N(36)	-33.1(8)
C(100)-N(30)-C(30)-O(30)	-2.3(8)	N(34)-C(34)-C(35)-N(36)	145.7(6)
C(100)-N(30)-C(30)-C(31)	173.3(5)	O(34)-C(34)-C(35)-C(350)	95.2(8)
O(30)-C(30)-C(31)-N(32)	-152.7(5)	N(34)-C(34)-C(35)-C(350)	-85.9(8)
N(30)-C(30)-C(31)-N(32)	31.5(7)	N(36)-C(35)-C(350)-O(350)	65.9(1)
O(30)-C(30)-C(31)-C(310)	-31.5(8)	C(34)-C(35)-C(350)-O(350)	-60.8(1)
N(30)-C(30)-C(31)-C(310)	152.8(5)	C(35)-C(350)-O(350)-C(351)	119.5(1)
C(30)-C(31)-C(310)-O(310)	166.7(6)	C(350)-O(350)-C(351)-C(352)	56.9(1)
N(32)-C(31)-C(310)-O(310)	-67.3(6)	O(350)-C(351)-C(352)-C(353)	-104.3(1)
C(31)-C(310)-O(310)-C(311)	146.8(6)	O(350)-C(351)-C(352)-C(357)	106.0(1)
C(310)-O(310)-C(311)-C(312)	55.2(9)	C(351)-C(352)-C(353)-C(354)	-149.0(8)
O(310)-C(311)-C(312)-C(317)	26.0(9)	C(353)-C(354)-C(355)-BR3	-179.2(8)
O(310)-C(311)-C(312)-C(313)	-151.4(6)	BR3-C(355)-C(356)-C(357)	179.2(8)
C(317)-C(312)-C(313)-C(314)	0.04(14)	C(351)-C(352)-C(357)-C(356)	148.1(8)
C(311)-C(312)-C(313)-C(314)	177.5(7)	C(350)-C(35)-N(36)-C(36)	77.9(9)
C(312)-C(313)-C(314)-C(315)	-0.01(15)	C(34)-C(35)-N(36)-C(36)	-155.2(6)
C(313)-C(314)-C(315)-C(316)	0.1(3)	C(35)-N(36)-C(36)-O(36)	-5.40(12)
C(314)-C(315)-C(316)-C(317)	-0.1(4)	C(35)-N(36)-C(36)-O(37)	177.0(6)
C(313)-C(312)-C(317)-C(316)	-0.1(3)	O(36)-C(36)-O(37)-C(370)	-1.40(11)
C(311)-C(312)-C(317)-C(316)	-177.5(8)	N(36)-C(36)-O(37)-C(370)	176.3(6)
C(315)-C(316)-C(317)-C(312)	0.2(4)	C(36)-O(37)-C(370)-C(372)	56.4(9)
C(30)-C(31)-N(32)-C(32)	-103.5(6)	C(36)-O(37)-C(370)-C(373)	176.8(6)
C(310)-C(31)-N(32)-C(32)	128.1(6)	C(36)-O(37)-C(370)-C(371)	-66.6(8)
C(31)-N(32)-C(32)-O(32)	5.1(1)	C(100)-C(101)-N(40)-C(40)	99.6(8)
C(31)-N(32)-C(32)-C(33)	-168.0(5)	C(102)-C(101)-N(40)-C(40)	-136.2(7)
O(32)-C(32)-C(33)-N(34)	40.3(8)	C(101)-N(40)-C(40)-O(40)	-16.0(1)
N(32)-C(32)-C(33)-N(34)	-146.4(5)	C(101)-N(40)-C(40)-C(41)	167.2(7)
O(32)-C(32)-C(33)-C(330)	-83.5(8)	O(40)-C(40)-C(41)-N(42)	-38.2(7)
N(32)-C(32)-C(33)-C(330)	89.8(7)	N(40)-C(40)-C(41)-N(42)	138.5(5)
N(34)-C(33)-C(330)-O(330)	46.7(8)	O(40)-C(40)-C(41)-C(410)	79.7(7)
C(32)-C(33)-C(330)-O(330)	173.5(6)	N(40)-C(40)-C(41)-C(410)	-103.7(6)
C(33)-C(330)-O(330)-C(331)	75.6(9)	C(40)-C(41)-C(410)-O(142)	59.3(6)
C(330)-O(330)-C(331)-C(332)	108.2(1)	N(42)-C(41)-C(410)-O(142)	178.1(4)
O(330)-C(331)-C(332)-C(337)	79.4(1)	C(41)-C(410)-O(142)-C(411)	-179.2(4)
O(330)-C(331)-C(332)-C(333)	-86.0(1)	C(410)-O(142)-C(411)-C(412)	-75.0(7)

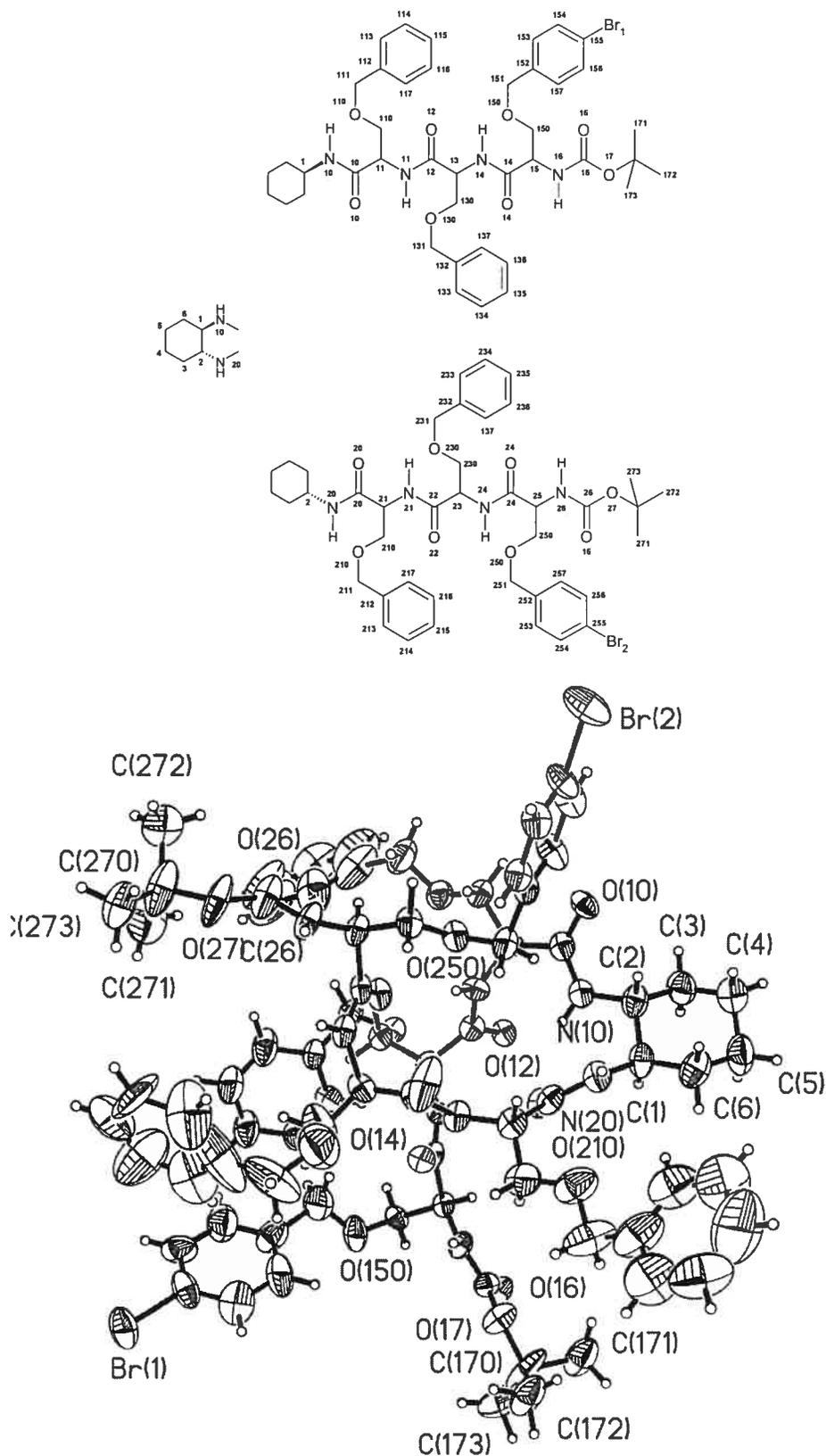
O(142)-C(411)-C(412)-C(417)	134.5(6)	O(44)-C(44)-C(45)-N(46)	140.3(6)
O(142)-C(411)-C(412)-C(413)	-53.0(8)	N(44)-C(44)-C(45)-N(46)	-41.4(8)
C(417)-C(412)-C(413)-C(414)	0.02(14)	O(44)-C(44)-C(45)-C(450)	-95.7(7)
C(411)-C(412)-C(413)-C(414)	-172.6(5)	N(44)-C(44)-C(45)-C(450)	82.7(7)
C(412)-C(413)-C(414)-C(415)	-0.02(14)	N(46)-C(45)-C(450)-O(450)	176.7(5)
C(413)-C(414)-C(415)-C(416)	0.1(3)	C(44)-C(45)-C(450)-O(450)	51.5(7)
C(414)-C(415)-C(416)-C(417)	-0.1(4)	C(45)-C(450)-O(450)-C(451)	-177.7(5)
C(413)-C(412)-C(417)-C(416)	-0.1(3)	C(450)-O(450)-C(451)-C(452)	-68.7(6)
C(411)-C(412)-C(417)-C(416)	172.4(5)	O(450)-C(451)-C(452)-C(453)	126.8(5)
C(415)-C(416)-C(417)-C(412)	0.1(4)	O(450)-C(451)-C(452)-C(457)	-51.9(6)
C(40)-C(41)-N(42)-C(42)	-135.5(5)	C(457)-C(452)-C(453)-C(454)	0.04(14)
C(410)-C(41)-N(42)-C(42)	104.9(5)	C(451)-C(452)-C(453)-C(454)	-178.7(5)
C(41)-N(42)-C(42)-O(42)	-0.9(8)	C(452)-C(453)-C(454)-C(455)	0.00(14)
C(41)-N(42)-C(42)-C(43)	178.3(5)	C(453)-C(454)-C(455)-C(456)	0.0(3)
O(42)-C(42)-C(43)-N(44)	58.4(7)	C(453)-C(454)-C(455)-BR4	-178.4(5)
N(42)-C(42)-C(43)-N(44)	-120.8(5)	C(454)-C(455)-C(456)-C(457)	-0.1(4)
O(42)-C(42)-C(43)-C(430)	-65.1(7)	BR4-C(455)-C(456)-C(457)	178.4(5)
N(42)-C(42)-C(43)-C(430)	115.7(5)	C(455)-C(456)-C(457)-C(452)	0.2(4)
N(44)-C(43)-C(430)-O(430)	-165.9(4)	C(453)-C(452)-C(457)-C(456)	-0.1(3)
C(42)-C(43)-C(430)-O(430)	-46.3(6)	C(451)-C(452)-C(457)-C(456)	178.6(6)
C(43)-C(430)-O(430)-C(431)	-86.6(6)	C(450)-C(45)-N(46)-C(46)	150.2(7)
C(430)-O(430)-C(431)-C(432)	176.0(6)	C(44)-C(45)-N(46)-C(46)	-86.7(8)
O(430)-C(431)-C(432)-C(433)	35.5(8)	C(45)-N(46)-C(46)-O(46)	-3.00(12)
O(430)-C(431)-C(432)-C(437)	-143.7(5)	C(45)-N(46)-C(46)-O(47)	176.3(6)
C(431)-C(432)-C(433)-C(434)	-179.2(7)	O(46)-C(46)-O(47)-C(470)	-3.20(12)
C(431)-C(432)-C(437)-C(436)	179.2(7)	N(46)-C(46)-O(47)-C(470)	177.5(6)
C(430)-C(43)-N(44)-C(44)	-156.7(6)	C(46)-O(47)-C(470)-C(472)	-63.7(8)
C(42)-C(43)-N(44)-C(44)	81.8(6)	C(46)-O(47)-C(470)-C(473)	62.2(1)
C(43)-N(44)-C(44)-O(44)	10.7(1)	C(46)-O(47)-C(470)-C(471)	-179.4(7)
C(43)-N(44)-C(44)-C(45)	-167.6(6)		

Table 7. Bond lengths [Å] and angles [°] related to the hydrogen bonding for C171 H207 Br4 C13 N16 O32.

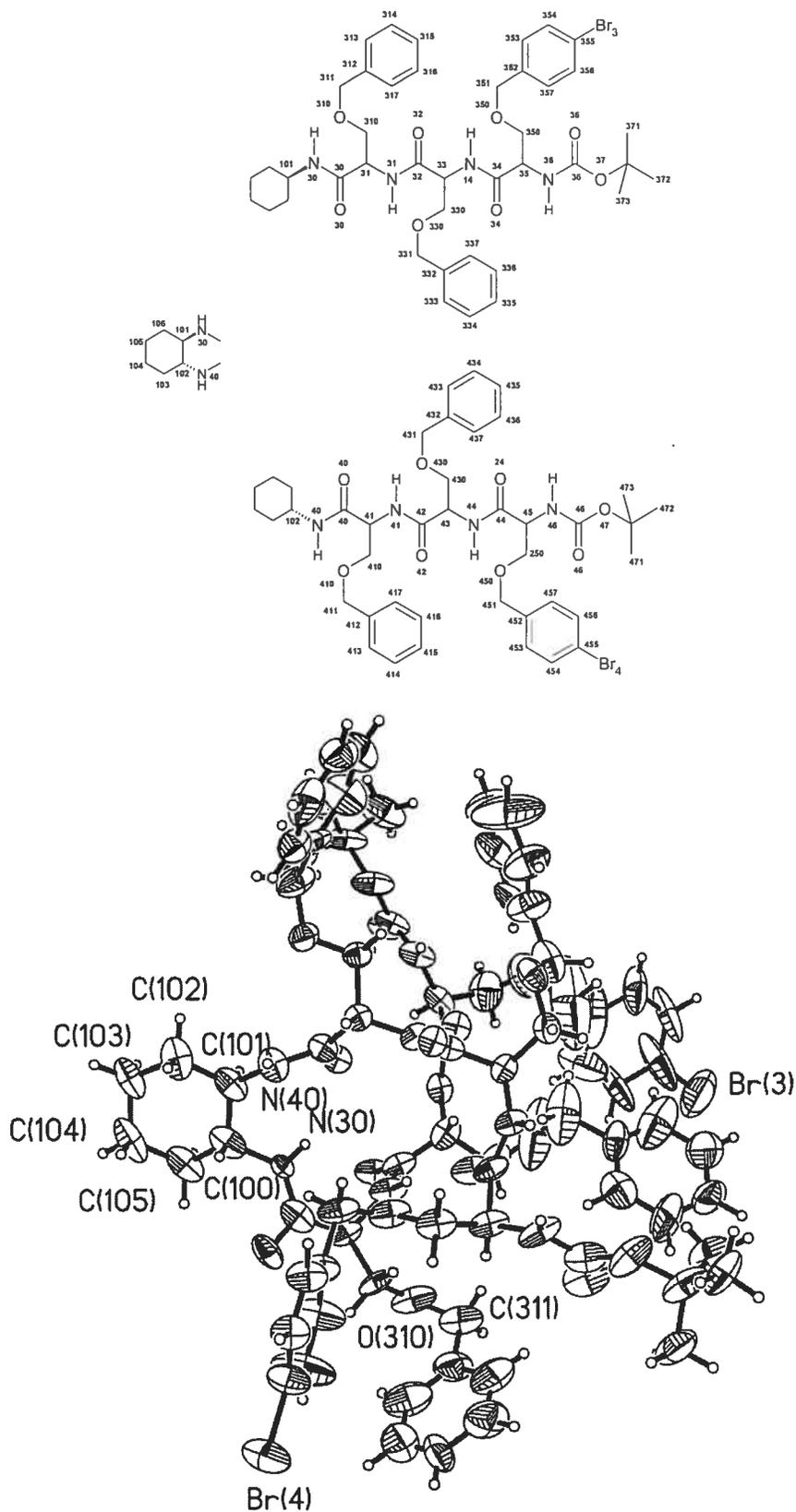
D-H	..A	d(D-H)	d(H..A)	d(D..A)	<DHA
N(10)-H(10)	O(20)	0.88	2.21	2.958(7)	142.1
N(11)-H(11)	O(24)	0.88	2.15	2.934(5)	148.5
N(14)-H(14)	O(42)#1	0.88	2	2.849(4)	161.2
N(20)-H(20)	O(36)#2	0.88	2.23	3.086(6)	162.9
N(21)-H(21)	O(14)	0.88	1.97	2.824(5)	162.9
N(24)-H(24)	O(32)#2	0.88	2.26	3.023(5)	145
N(26)-H(26)	O(32)#2	0.88	2.14	2.899(8)	143.7
N(30)-H(30)	O(40)	0.88	2.27	3.009(6)	141.7
N(32)-H(32)	O(44)	0.88	2.02	2.855(7)	157.1
N(34)-H(34)	O(22)#3	0.88	1.93	2.796(5)	168.1
N(40)-H(40)	O(16)#4	0.88	2.22	3.073(5)	163.6
N(42)-H(42)	O(34)	0.88	2.02	2.870(5)	162.9
N(44)-H(44)	O(12)#4	0.88	2.21	3.003(5)	150.1
N(46)-H(46)	O(12)#4	0.88	2.11	2.831(6)	139

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $x-1, y-1, z-1$	#2 $-x+3/2, -y+1, z-1/2$
#3 $-x+3/2, -y+1, z+1/2$	#4 $x+1, y+1, z+1$



ORTEP view of the first symmetry independent molecule of the C₁₇₂ H₂₀₇ Br₄ Cl₃ N₁₆ O₃₂ compound with the numbering scheme adopted. Ellipsoids drawn at 30% probability level. Hydrogens represented by sphere of arbitrary size.



ORTEP view of the second symmetry independent molecule of the C₁₇₂ H₂₀₇ Br₄ Cl₃ N₁₆ O₃₂ compound with the numbering scheme adopted. Ellipsoids drawn at 30% probability level. Hydrogens represented by sphere of arbitrary size.

REFERENCES

- Burla, M. C., Carrozzini, B., Cascarano, G. L., De Caro, L., Giacovazzo, C. & Polidori, G. (2003). *Acta Cryst* A59, 245-249.
- Flack, H.D. (1983). *Acta Cryst.* A39, 876-881.
- Flack, H.D. and Schwarzenbach, D. (1988). *Acta Cryst.* A44, 499-506.
- International Tables for Crystallography (1992). Vol. C. Tables 4.2.6.8 and 6.1.1.4, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- SAINT (1999) Release 6.06; Integration Software for Single Crystal Data. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- Sheldrick, G.M. (1996). SADABS, Bruker Area Detector Absorption Corrections. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- Sheldrick, G.M. (1997). SHELXL97, Program for the Refinement of Crystal Structures. Univ. of Gottingen, Germany.
- SHELXTL (1997) Release 5.10; The Complete Software Package for Single Crystal Structure Determination. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- SMART (1999) Release 5.059; Bruker Molecular Analysis Research Tool. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.
- Spek, A.L. (2000). PLATON, Molecular Geometry Program, 2000 version. University of Utrecht, Utrecht, Holland.
- Van der Sluis, P., Spek, A. L. (1990), *Acta Cryst* A46, 194-201.
- XPREP (1997) Release 5.10; X-ray data Preparation and Reciprocal space Exploration Program. Bruker AXS Inc., Madison, WI 53719-1173.