



**HAL**  
open science

# MODIFICATIONS DE LA LIAISON PEPTIDIQUE : N-HYDROXY-, N-ACYLOXY- ET N-ALKYLOXY-PEPTIDES

James Lawrence

► **To cite this version:**

James Lawrence. MODIFICATIONS DE LA LIAISON PEPTIDIQUE: N-HYDROXY-, N-ACYLOXY- ET N-ALKYLOXY-PEPTIDES. Autre. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Français. NNT: . tel-00114491

**HAL Id: tel-00114491**

**<https://theses.hal.science/tel-00114491>**

Submitted on 16 Nov 2006

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER

Discipline : **CHIMIE MOLECULAIRE**

Présentée par

James LAWRENCE

Soutenue publiquement le 25 octobre 2006

---

**MODIFICATIONS DE LA LIAISON PEPTIDIQUE :  
N-HYDROXY-, N-ACYLOXY- ET N-ALKYLOXY-  
PEPTIDES**

---

Directeurs de Thèse :  
**Yannick VALLEE**  
**Véronique BLANDIN**

Jury

Dr. Jean-Pierre DUTASTA  
Dr. Régis VANDERESSE  
Dr. Véronique BLANDIN  
Dr. Jacques EINHORN  
Prof. Yannick VALLEE

Rapporteur  
Rapporteur  
Examinateur  
Examinateur  
Examinateur

Thèse préparée au sein du Laboratoire d'Etudes Dynamiques et Structurales de la Sélectivité (LEDSS - Grenoble)

*Je dédie ce manuscrit à mes parents.*

*Ce travail a été réalisé à l'Université Joseph Fourier de Grenoble, au sein du Laboratoire d'Etudes Dynamiques et Structurales de la Sélectivité, dirigé par Monsieur le Professeur Pascal Dumy.*

*Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Yannick Vallée, Président de l'Université Joseph Fourier, pour m'avoir permis de réaliser ma thèse dans son laboratoire (LEDSS1). Je le remercie pour son soutien, sa confiance et ses conseils judicieux.*

*Je tiens particulièrement à remercier Mademoiselle Véronique Blandin pour la qualité de son encadrement, sa rigueur, sa méthodologie et sa très grande disponibilité malgré ses obligations liées à l'Université.*

*J'émet mes plus sincères remerciements au Dr. Jacques Einhorn, Directeur de Recherche au CNRS, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de cette thèse. Je remercie également chaleureusement M. Régis Vanderesse, Directeur de Recherche au CNRS au Laboratoire de Chimie Physique macromoléculaire de Nancy, et M. Jean-Pierre Dutasta, Directeur de Recherche au CNRS à l'Ecole Normale Supérieure de Lyon, pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Un grand merci à Laure Cointeaux pour son aide dans la synthèse des N-acyloxy-peptides.*

*Je remercie vivement Madame Sylvette Beyne, Madame Catherine Fontaine et Madame Béatrice Gennaro pour leur efficacité et leur disponibilité en RMN. Merci à Monsieur André Durif et Monsieur Christian Philouze pour les analyses cristallographiques par diffraction des rayons X. Merci à Yves Gimbert, pour les spectrométries de masse haute résolution.*

*Merci à toutes les personnes que j'ai côtoyées au cours de ces dernières années au sein du LEDSS. Je remercie Madame Nadia Pelloux-Léon, Madame Françoise Riché, Mademoiselle Sandrine Py, Monsieur Jean-Noël Denis, Monsieur Frédérique Minassian, Monsieur Pierre-Yves Chavant pour leur intérêt et leurs bons conseils.*

*Je remercie Mademoiselle Pascale Cividino, Madame Monique Lopez, Madame Pierrette Gaude, Madame Marie-Jeanne Rostaing pour leur gentillesse et leurs aides précieuses.*

*Je n'oublie pas non plus les étudiants avec qui j'ai partagé de bons moments au cours des pauses-café, des pots, des soirées... Merci à Xavier, Fred, Christophe, Jignesh, Ganesh, Vinod, Céline, Emilie et Julie pour leur bonne humeur, leur soutien et je leur souhaite bon courage pour la suite.*

*Enfin, je remercie Stéphanie de m'avoir soutenu lors des moments bas, d'avoir supporté ma mauvaise humeur -voire ma bonne aussi, d'avoir toujours su m'écouter et m'encourager.*

# SOMMAIRE

<b>Introduction</b>	<b>10</b>
<hr/>	
<b>CHAPITRE 1 : Peptides et N-hydroxy-peptides</b>	<b>13</b>
<hr/>	
<b>I. <u>Peptides : structure, nomenclature, synthèse</u></b>	<b>14</b>
1. <u>Structure et nomenclature</u>	14
2. <u>Synthèse peptidique</u>	19
a) <u>Création de la liaison peptidique</u>	19
i. <u>Nécessité d'activer l'extrémité C-terminale</u>	19
ii. <u>Les problèmes d'épimérisations/racémisations</u>	20
iii. <u>Méthodes de couplage</u>	21
iv. <u>Stratégies de synthèse</u>	23
b) <u>Stratégies de protection/déprotection</u>	23
c) <u>Utilisation de supports solides</u>	25
<b>II. <u>Pourquoi les N-hydroxy-peptides ?</u></b>	<b>26</b>
1. <u>Structure et nomenclature des N-hydroxy-peptides</u>	27
2. <u>Propriétés physico-chimiques</u>	28
3. <u>N-hydroxy-peptides biologiquement actifs</u>	30
4. <u>Complexation de métaux</u>	32
<b>III. <u>Synthèses des N-hydroxy-peptides</u></b>	<b>37</b>
1. <u>Rétrosynthèse</u>	38
a) <u>La liaison pseudopeptidique</u>	38
b) <u>Les acides N-hydroxy-<math>\alpha</math>-aminés ou dérivés</u>	39
2. <u>Préparation d'acides N-hydroxy-<math>\alpha</math>-aminés ou dérivés</u>	40
a) <u>Formation de la liaison N-O</u>	40
i. <u>Oxydation</u>	40
ii. <u>Passage par une oxaziridine</u>	41
b) <u>Formation de la Liaison C-N</u>	45
i. <u>Utilisation de malonates</u>	45
ii. <u>Substitution nucléophile du brome</u>	46

iii.	<u>Substitution nucléophile d'un triflate</u>	49
iv.	<u>Substitution nucléophile dans les conditions de Mitsunobu</u>	50
v.	<u>Amination électrophile d'un énolate chiral</u>	52
c)	<u>Formation des liaisons C-C</u>	53
i.	<u>Création de la liaison C-C entre le C<sub>α</sub> et l'acide carboxylique</u>	53
ii.	<u>Création de la liaison C-C entre le C<sub>α</sub> et le résidu</u>	57
d)	<u>Formation de la liaison C-H</u>	61
i.	<u>Réduction de dérivés nitrés</u>	61
ii.	<u>Réduction d'éthers d'oximes et oximes</u>	62
3.	<u>Formation de la liaison pseudopeptidique</u>	68
a)	<u>Formation de la liaison pseudopeptidique avec protection de l'hydroxyle</u>	70
i.	<u>Groupement benzyle</u>	70
ii.	<u>Groupement triméthylsilyle</u>	72
iii.	<u>Limites de cette stratégie</u>	73
b)	<u>Couplage direct</u>	74
4.	<u>Solutions retenues au laboratoire</u>	77
a)	<u>Préparation des N-hydroxy-peptides terminaux</u>	77
b)	<u>Formation de la liaison N-hydroxy-amide</u>	78
i.	<u>Protection <i>in situ</i> sous forme d'éther de triméthylsilyle</u>	78
ii.	<u>N-acylation sélective</u>	78

---

## **CHAPITRE 2 : Présentation du sujet** **80**

---



---

## **CHAPITRE 3 : Préparation de peptides mono- et di-N-hydroxylés** **85**

---

I.	<u>Introduction : choix retenus</u>	86
1.	<u>Schéma de synthèse</u>	86
2.	<u>Choix des acides aminés</u>	89
II.	<u>Préparation des N-hydroxy-tripeptides</u>	91
1.	<u>Synthèse des α-cétoamides</u>	91
a)	<u>Synthèse magnésienne de l'acide 2-céto-3-méthylbutanoïque</u>	92
b)	<u>Préparation des α-cétoamides à partir des α-cétoacides</u>	92

2. <u>Synthèse des <math>\alpha</math>-hydroxyiminoamides</u>	94
3. <u>Synthèse des <i>N</i>-hydroxy-dipeptides terminaux</u>	94
a) <u>Amélioration de la réduction</u>	94
b) <u>Séparation des diastéréoisomères</u>	95
4. <u>Synthèse des <i>N</i>-hydroxy-tripeptides</u>	97
III. <u>Préparation d'hexapeptides comportant deux motifs hydroxamates</u>	98
1. <u>Mise au point sur Ile-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Val-Val-Ala-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Ala-Val</u>	99
a) <u>Préparation du H-Ala-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Ala-Val-OEt</u>	99
b) <u>Préparation de Fmoc-Ile-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Val-Val-OH</u>	100
i. <u>Premier essai de déprotection</u>	100
ii. <u>Deuxième essai de déprotection</u>	100
c) <u>Préparation de Boc-Ile-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Val-Val-Ala-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Ala-Val-OBn</u>	101
i. <u>Premier essai de couplage</u>	101
ii. <u>Synthèse du <i>N,N</i>-dihydroxy-hexapeptide</u>	102
2. <u>Synthèse de Boc-Ile-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Val-Val-Ile-<math>\Psi</math>[CO-N(OH)]-Val-Val-OBn</u>	103
IV. <u>Conclusion</u>	103

---

## CHAPITRE 4 : Acylation des *N*-hydroxy- 105 peptides

---

I. <u>Préparation des <i>N</i>-acyloxy-peptides</u>	107
1. <u>Méthodes d'acylations décrites dans la littérature</u>	107
2. <u>Premiers essais : acétylation</u>	109
3. <u>Diversification des exemples</u>	111
a) <u>Insertion de groupements hydrocarbonés</u>	111
b) <u>Insertion de groupements hétéroatomiques</u>	114
i. <u>Insertion d'un Boc (carboxylation)</u>	114
ii. <u>Diversification avec d'autres groupements hétéroatomiques</u>	115
4. <u>Utilisation d'un espaceur</u>	117

a) <u>Première méthode envisagée</u>	118
b) <u>Deuxième méthode envisagée</u>	120
c) <u>Conclusion</u>	122
II. <u>Préparation de N-aminoacyloxy-peptides</u>	123
1. <u>Introduction</u>	123
2. <u>Premiers essais</u>	123
a) <u>les choix retenus</u>	123
b) <u>Résultats</u>	124
3. <u>Utilisation d'agents de couplage</u>	126
a) <u>Choix des agents de couplage</u>	126
b) <u>Résultats</u>	126
III. <u>Modifications/utilisations/applications des N-acyloxy-peptides</u>	129
1. <u>Introduction</u>	129
2. <u>Modification de la chaîne latérale</u>	129
a) <u>Elongation de la chaîne latérale</u>	129
b) <u>Cas d'une chaîne latérale dipeptidique</u>	130
c) <u>Conclusions-perspectives</u>	132
3. <u>Elongation de la chaîne basale par l'extrémité C terminale</u>	133
4. <u>Elongation de la chaîne basale par l'extrémité N terminale et réarrangement</u>	134
a) <u>Introduction</u>	134
b) <u>Résultats</u>	136
c) <u>Conclusions-perspectives</u>	138
5. <u>Formation d'un dimère par métathèse</u>	139
IV. <u>Conclusion</u>	141

---

## **CHAPITRE 5 : Alkylation des N-hydroxy-peptides**

---

I. <u>Substitution nucléophile sur des halogénures d'alkyle</u>	143
1. <u>Introduction</u>	143

2. <u>Méthodes décrites</u>	144
3. <u>Résultats</u>	145
II. <u>Réaction de Mitsunobu</u>	147
1. <u>Quelques exemples décrits dans la littérature</u>	147
2. <u>Résultats</u>	148
a. <u>Premiers essais</u>	148
b. <u>Optimisation des conditions</u>	149
i. <u>Excès des réactifs utilisés</u>	150
ii. <u>Méthodes d'optimisation trouvées dans la littérature</u>	150
iii. <u>Résultats</u>	152
III. <u>Préparation d'un peptide cyclique</u>	154
1. <u>Premiers essais sur les hexapeptides</u>	154
2. <u>Mise en place d'une nouvelle stratégie</u>	155
3. <u>Résultats</u>	158
IV. <u>Conclusion</u>	160
<b>Conclusion</b>	<b>162</b>
<b>Partie expérimentale</b>	<b>166</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>223</b>

# INTRODUCTION

## **Introduction**

La connaissance et la compréhension des sciences du vivant ainsi que les découvertes fortuites (comme la pénicilline) ou calculées (comme l'imagerie médicale) ont contribué à une vie meilleure pour chaque individu. Le niveau actuel des connaissances autour des constituants du vivant fait appel à toute une panoplie de sciences. Parmi celles-ci, la chimie de synthèse permet de préparer des produits actifs contre de nombreuses maladies, mais également de s'attaquer à la compréhension de l'agencement et des interactions entre elles des « briques » du vivant que sont les sucres, lipides, acides nucléiques, peptides, protéines...

Les rôles des peptides dans les interactions biologiques sont maintenant mieux compris. Le développement de la synthèse peptidique, en particulier la mise au point de techniques automatisées, a permis de disposer de ces molécules afin de les étudier. Les peptides sont des biomolécules dont les éléments de base que sont les acides aminés sont agencés de manière répétitive et reliés entre eux par des liaisons peptidiques. Ces biomolécules sont produites dans la nature comme matériel de régulation des systèmes biologiques ou comme armes offensives que l'on peut retrouver dans le venin de serpent par exemple. Ainsi, face aux différentes agressions dans lesquelles ces molécules sont utilisées, le matériel biologique a mis au point un arsenal pouvant lui permettre de dégrader les peptides exogènes. L'utilisation à des fins thérapeutiques des peptides est donc compromise par la nature même du peptide. Afin d'utiliser le fabuleux potentiel de ces molécules tout en leur conférant une suffisante stabilité face à la machinerie de dégradation du vivant, il est intéressant de développer la

chimie des pseudopeptides. Ces molécules ont des éléments et des structures semblables aux peptides, mais diffèrent néanmoins par certains points structuraux. Ces modifications peuvent toucher les résidus portés par les chaînes peptidiques ou directement la chaîne peptidique, véritable squelette des peptides. Modifier la liaison peptidique, élément répétitif des peptides, peut être une manière de contrer la digestion enzymatique. Si la synthèse des chaînes polypeptidiques est actuellement assez bien connue, apporter des modifications structurales aux peptides peut être difficile, comme nous le verrons par la suite.

Dans ce travail de thèse nous nous sommes intéressés à une modification particulière de la liaison peptidique : l'insertion d'un oxygène dans la liaison N- H. Ce travail de thèse porte également sur la greffe de différents groupements sur cet oxygène.

Ainsi, dans une première partie, nous ferons un certain nombre de rappels bibliographiques sur les peptides et les *N*-hydroxy-peptides, avant de dégager dans une deuxième partie les objectifs. Nous décrirons ensuite les développements de la chimie des *N*-hydroxy-peptides réalisés.

CHAPITRE 1  
Peptides et *N*-hydroxy-peptides

# CHAPITRE 1 :

## Peptides et *N*-hydroxy-peptides

Les *N*-hydroxy-peptides sont des peptides dans lesquels un ou plusieurs atomes d'azote des liaisons peptidiques portent un groupement hydroxyle. Ainsi, avant de parler des *N*-hydroxy-peptides, il sera nécessaire de faire quelques rappels sur les peptides et la synthèse peptidique. Nous expliquerons ensuite les raisons pour lesquelles nous nous sommes intéressés aux *N*-hydroxy-peptides. Enfin, nous établirons les différentes voies de synthèse des *N*-hydroxy-peptides rapportées dans la littérature.

### I. Peptides : structure, nomenclature, synthèse

#### 1. Structure et nomenclature<sup>1</sup>

Les unités de base des peptides sont les acides aminés. Un acide  $\alpha$ -aminé est une molécule comportant une fonction acide carboxylique, une fonction amine et un résidu R, portés par un

---

<sup>1</sup> L. Stryer, J. M. Berg and J. L. Tymoczko, "Biochimie", Flammarion Medecine-Sciences, Flammarion, 5<sup>ème</sup> Ed., 2003.

carbone central. Selon la configuration du carbone stéréogène, on distingue deux séries d'acides aminés, L et D (Figure 1), la série naturelle étant la série L.

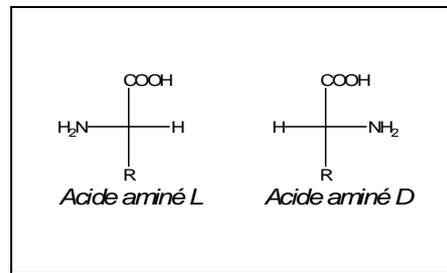
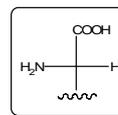


Figure 1

Vingt acides aminés sont dits protéinogéniques. Ils sont les constituants classiques des protéines. Selon la nature de leur résidu, chaque acide aminé a un nom, une abréviation à trois lettres et un symbole à une lettre (Tableau 1). Nous utiliserons dans la suite de ce document l'abréviation à trois lettres.

Acides aminés utilisés dans ce travail:



Résidus							
Nom de l'acide aminé	Glycine	Alanine	Serine	Valine	Leucine	Isoleucine	Phénylalanine
Code à trois lettres	Gly	Ala	Ser	Val	Leu	Ile	Phe
Code à une lettre	G	A	S	V	L	I	F

Tableau 1

La synthèse d'un dipeptide se fait par condensation de deux acides aminés avec perte d'une molécule d'eau (Schéma 1).

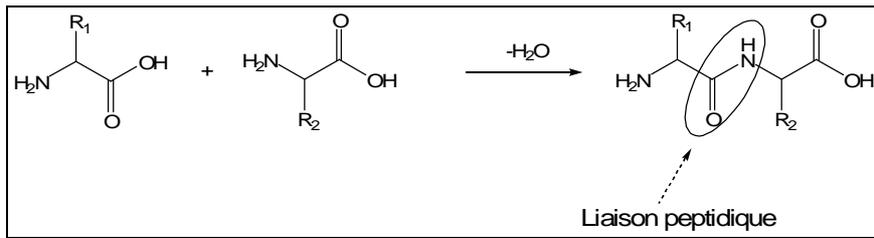


Schéma 1

La liaison amide formée s'appelle la liaison peptidique. Cette liaison C-N présente un fort caractère de double liaison de par la délocalisation du doublet de l'azote, ce qui rigidifie la structure (Schéma 2). D'ailleurs, la longueur de la liaison peptidique (1,32 Å) est comprise entre celle d'une double liaison C=N (1,27 Å) et d'une liaison simple C-N (1,49 Å). La liaison peptidique est dite *cis* si l'hydrogène porté par l'azote est du même côté que l'oxygène du carbonyle et *trans* si l'hydrogène est en opposition avec l'oxygène. Linus Pauling et Robert Corey ont mis en évidence à la fin des années 1930 que l'hydrogène de la liaison peptidique est presque toujours *trans* par rapport à l'oxygène du carbonyle ; l'angle dièdre  $[C_{\alpha}-N-C(O)-C_{\alpha}]$ , noté  $\omega$  est alors égal à 0. La flexibilité structurale de la chaîne peptidique est due à la libre rotation autour des liaisons  $C_{\alpha}-C(O)$  et  $N-C_{\alpha}$ , les angles de rotation correspondants étant notés  $\phi$  et  $\psi$ .

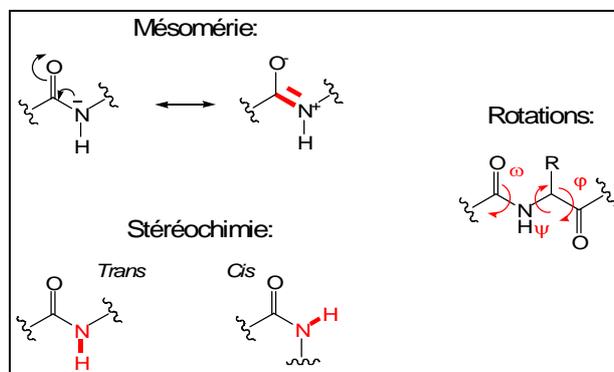


Schéma 2

Le nombre d'acides aminés contenus dans une structure va déterminer sa catégorie : peptide ou protéine. Entre 2 et 80-100 acides aminés, il sera question de peptides. Au dessus de ce nombre d'acides aminés, les molécules seront appelées des protéines. Il existe un sens conventionnel d'écriture des brins peptidiques : dans une écriture horizontale, l'extrémité amine, dite N terminale, se place à la gauche du squelette peptidique et l'extrémité acide carboxylique, dite C terminale, à droite (Figure 2).

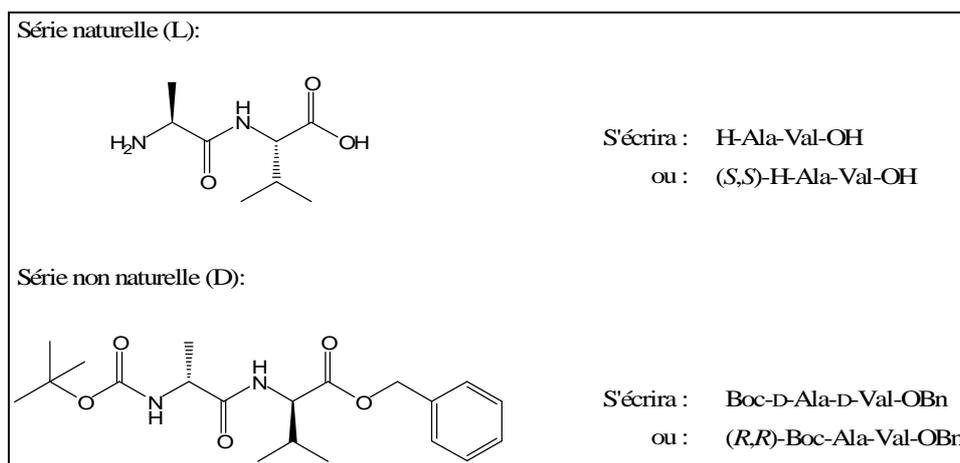


Figure 2

La liaison peptidique est rigide et plane, cependant les protéines et les peptides ont des structures tridimensionnelles. La séquence des acides aminés au sein d'une structure peptidique ou protéique est importante car elle va déterminer leur conformation. En 1951, Pauling et Corey proposèrent deux structures polypeptidiques périodiques : l'hélice  $\alpha$  et le feuillet plissé  $\beta$ . L'hélice  $\alpha$  est une structure en bâtonnet dont la partie interne est constituée par la chaîne polypeptidique et les résidus sont disposés à l'extérieur dans un arrangement hélicoïdal (Figure 3).

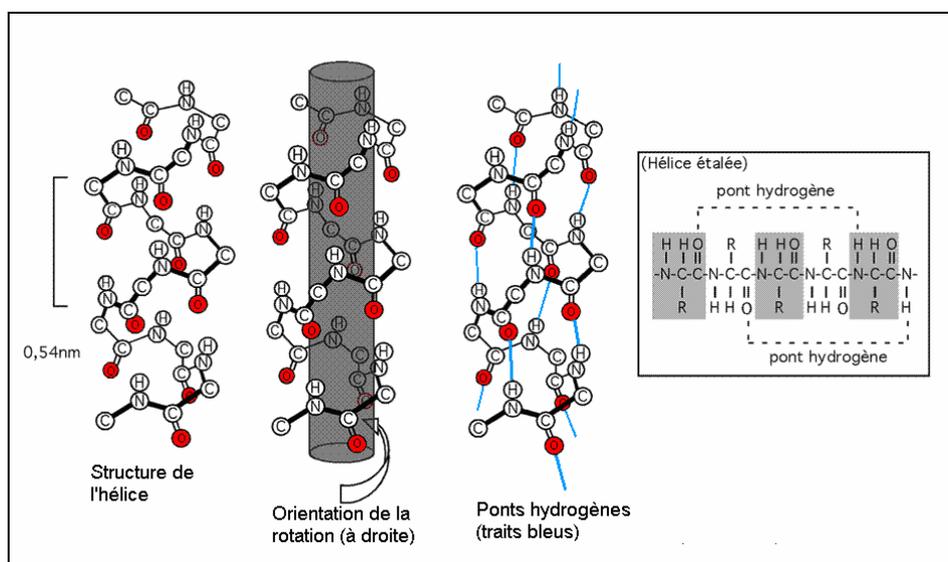


Figure 3<sup>2</sup>

<sup>2</sup> Images extraites de <http://www.callisto.si.usherb.ca/~bcm514/2b.html>, site de l'université de Sherbrooke, consulté le 26 Août 2006.

A la différence de l'hélice  $\alpha$ , la chaîne polypeptidique dans le feuillet plissé  $\beta$  est presque totalement étirée (Figure 4<sup>2</sup>). Autre point différenciant ces deux structures : le feuillet plissé  $\beta$  est stabilisé par liaisons hydrogène entre les NH et les CO de chaînes polypeptidiques différentes tandis que pour l'hélice  $\alpha$ , les liaisons hydrogène s'effectuent entre des groupes NH et CO de la même chaîne polypeptidique.

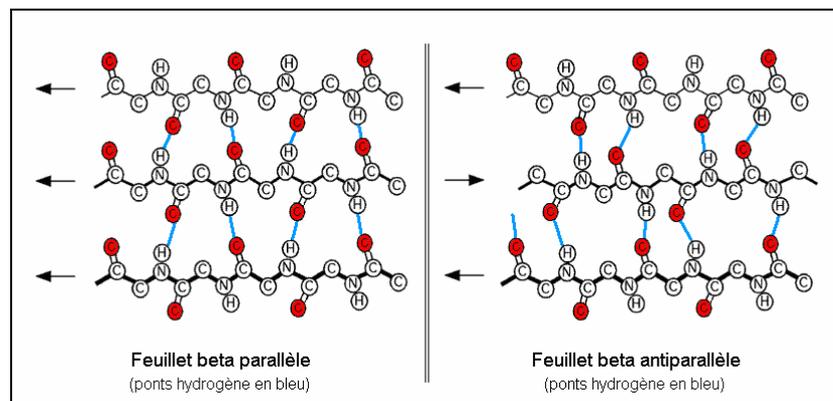


Figure 4<sup>2</sup>

Les chaînes polypeptidiques peuvent former des coudes et ainsi changer de direction (Figure 5<sup>2</sup>). Ce virage est souvent connecté à des brins  $\beta$ , d'où son nom : coude  $\beta$  ( $\beta$  turn en anglais). Dans ces virages, le CO d'un résidu  $n$  d'un polypeptide est lié par liaison hydrogène avec le NH du résidu  $n+3$ .

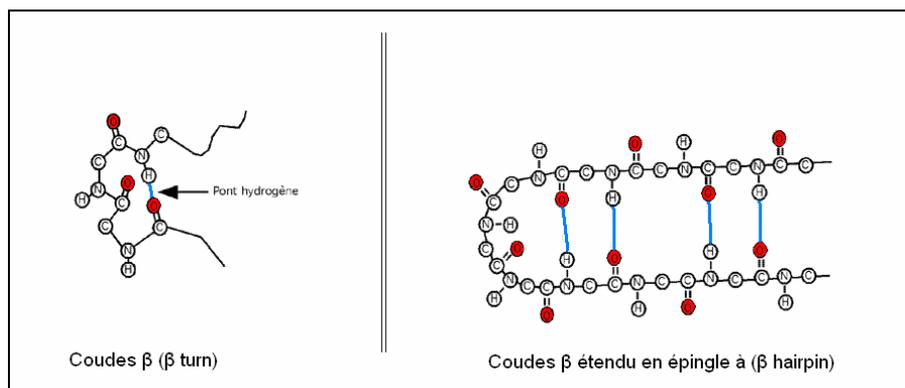


Figure 5<sup>2</sup>

Dans l'étude de l'architecture protéique, il est commode de se référer à quatre niveaux de structures. La structure primaire est la séquence des acides aminés (et la localisation de liaisons disulfures éventuelles). La structure secondaire se réfère aux interactions entre acides aminés proches, tels que le feuillet plissé  $\beta$  ou l'hélice  $\alpha$ . La structure tertiaire se rapporte aux

relations dans l'espace des résidus acides aminés qui sont éloignés dans la chaîne polypeptidique, tels que des interactions par liaisons hydrogène entre les résidus de deux hélices  $\alpha$ , par exemple. Enfin, la structure quaternaire se rapporte à la disposition spatiale et à la nature des interactions lorsqu'une protéine contient plusieurs sous-unités.

Les différentes structures rencontrées localement (hélices  $\alpha$ , coudes  $\beta$ ...) ainsi que leur répartition spatiale dans la protéine sont directement liées à la nature des acides aminés les constituant. Ceci va déterminer les propriétés de la protéine. Ainsi, présenter les acides aminés hydrophiles en surface et hydrophobes à l'intérieur rend la protéine hydrosoluble. La structure tridimensionnelle de la protéine est par ailleurs constitutive de son activité biologique : par exemple la forme du site catalytique d'une enzyme est responsable de sa spécificité envers un substrat.

## **2. Synthèse peptidique**

La synthèse de *N*-hydroxy-peptides faisant appel à quelques unes des méthodes utilisées pour les peptides classiques, nous allons présenter les points importants de la synthèse peptidique. Elle utilise des agents de couplage qui permettent d'activer chimiquement, au niveau de l'extrémité C terminale, l'un des deux brins que l'on veut condenser. Il est donc nécessaire d'adopter des stratégies de protection/déprotection afin d'obtenir les peptides désirés. Enfin, la nature répétitive du processus ainsi que le développement de techniques de synthèse sur phase solide en ont permis l'automatisation.

### **a) Création de la liaison peptidique**

#### **i. Nécessité d'activer l'extrémité C-terminale**

En mettant deux acides aminés ensemble sans activation, l'amine de l'un peut se protoner en présence de l'acide de l'autre, mettant un terme à la condensation (Schéma 3). Ainsi, pour coupler deux fragments peptidiques entre eux, il faut activer l'extrémité C terminale de l'un et permettre ainsi à l'extrémité N terminale du deuxième de faire une attaque nucléophile (Schéma 3).<sup>3</sup>

---

<sup>3</sup> John Jones, "Amino acid and peptide synthesis", second edition, Oxford Chemistry Primers, **2002**, P25.

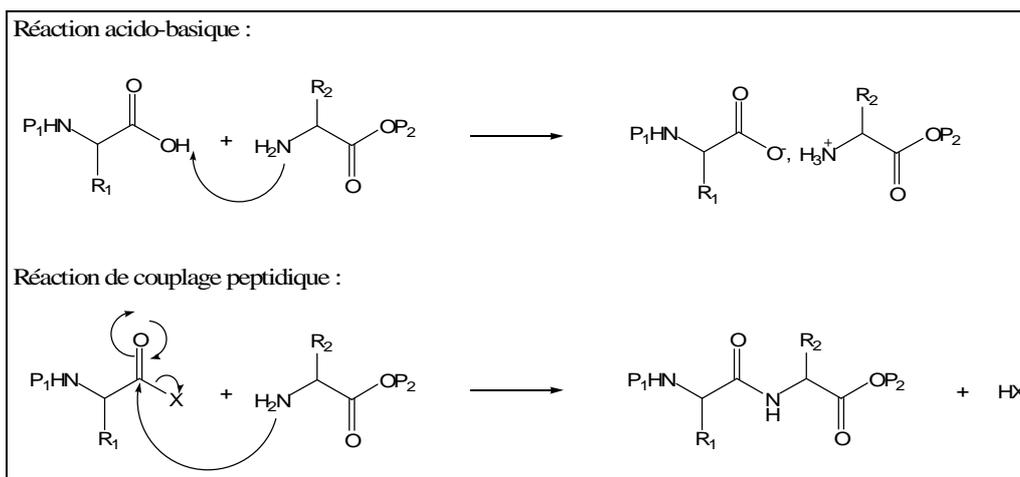


Schéma 3

## ii. Les problèmes d'épimérisation/racémisation

Une des difficultés du couplage peptidique réside dans le fait que l'activation de l'extrémité C terminale du peptide peut entraîner un certain taux d'épimérisation. En effet, l'activation permet la formation d'une oxazolone (Schéma 4).<sup>4</sup> Le proton porté par le carbone asymétrique devient alors plus acide et l'inversion de configuration du carbone  $\alpha$  est facilitée.<sup>5</sup>

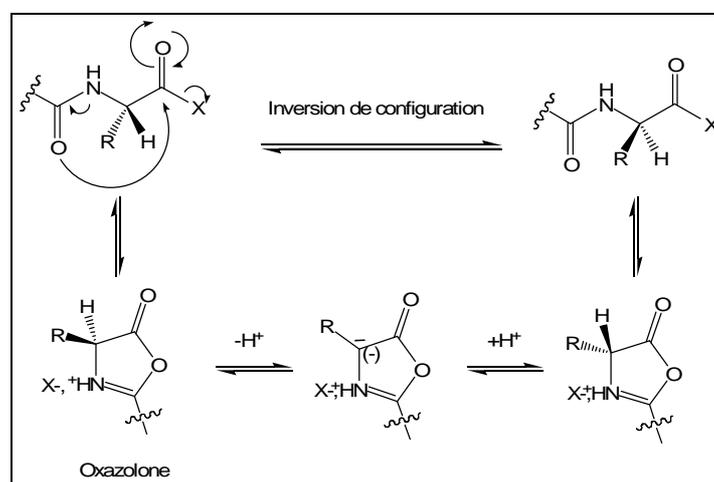


Schéma 4

Il existe plusieurs façons de minimiser cette épimérisation/racémisation. D'abord, il est possible de jouer sur la nature du groupement activant X. Ensuite, changer l'amide pour un

<sup>4</sup> F. Albericio and L. A. Carpino "Coupling reagents and activation." *Methods Enzymol.*, **1997**, 289, 104-126.

<sup>5</sup> John Jones, "Amino acid and peptide synthesis", second edition, Oxford Chemistry Primers, **2002**, P39.

uréthane, moins réactif vis-à-vis de la formation de l'oxazolone, évite la racémisation de l'acide aminé activé.

### iii. Méthodes de couplage

Historiquement, l'extrémité C terminale était activée par formation d'un chlorure d'acyle ou d'un anhydride mixte. L'utilisation de dérivés de type carbodiimide comme agents de couplage a permis de diversifier les techniques d'obtention de peptides. Les carbodiimides sont des activateurs d'acides carboxyliques plus doux que les activateurs utilisés classiquement en chimie organique (chlorure d'acyle, par exemple) et ont permis de diminuer le taux d'épimérisation. Par ailleurs, les agents de couplage qui donnent des urées finales hydrosolubles, comme l'EDCI (Figure 5), rendent les purifications plus simples.<sup>6</sup>

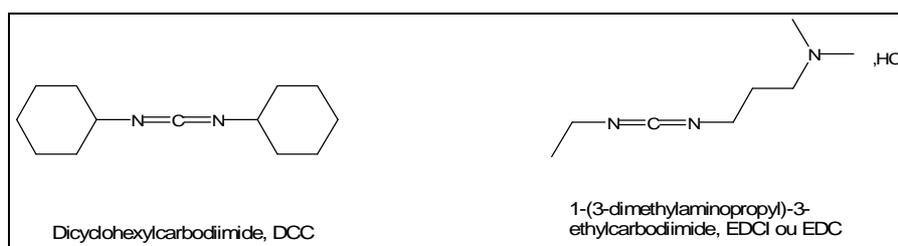


Figure 6

Il existe néanmoins des problèmes liés à l'utilisation de tels agents : des réactions secondaires peuvent avoir lieu. Par exemple, la formation de N-acylurées peut entraîner la chute des rendements, ou encore le passage par la forme anhydride peut provoquer une épimérisation des peptides synthétisés (Schéma 5).

---

<sup>6</sup> J. Sheehan, J. Preston and P. Cruickshank. "A rapid synthesis of oligopeptide derivatives without isolation of intermediates" *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 2492-2493.

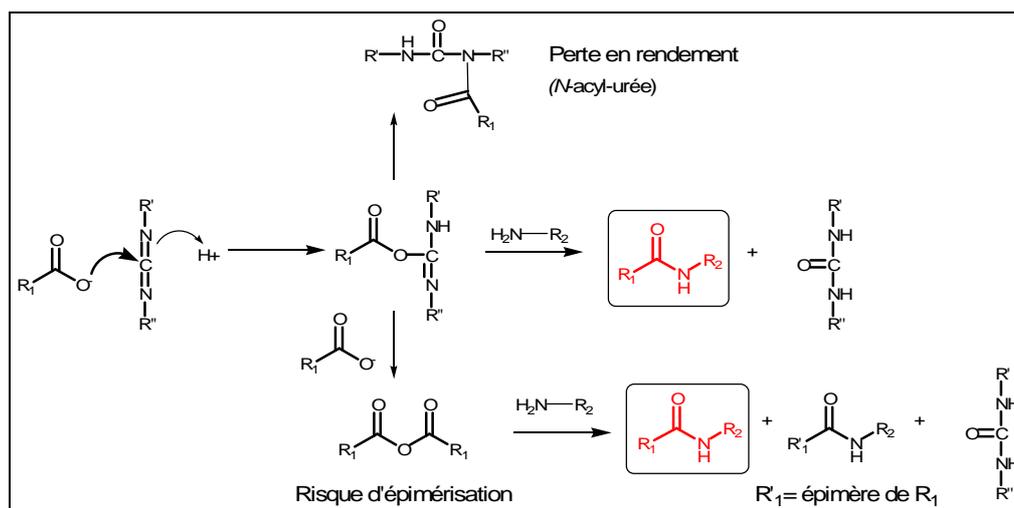


Schéma 5

Le fait de rajouter dans le milieu réactionnel des dérivés de type benzotriazole<sup>7</sup> et azabenzotriazole<sup>8</sup> tels que HOBt ou HOAt (Schéma 6), minimise les réactions secondaires et ainsi augmente l'efficacité du couplage peptidique. L'utilisation des couples DCC/HOBt ou EDCI/HOBt s'est ainsi largement répandue en synthèse peptidique.

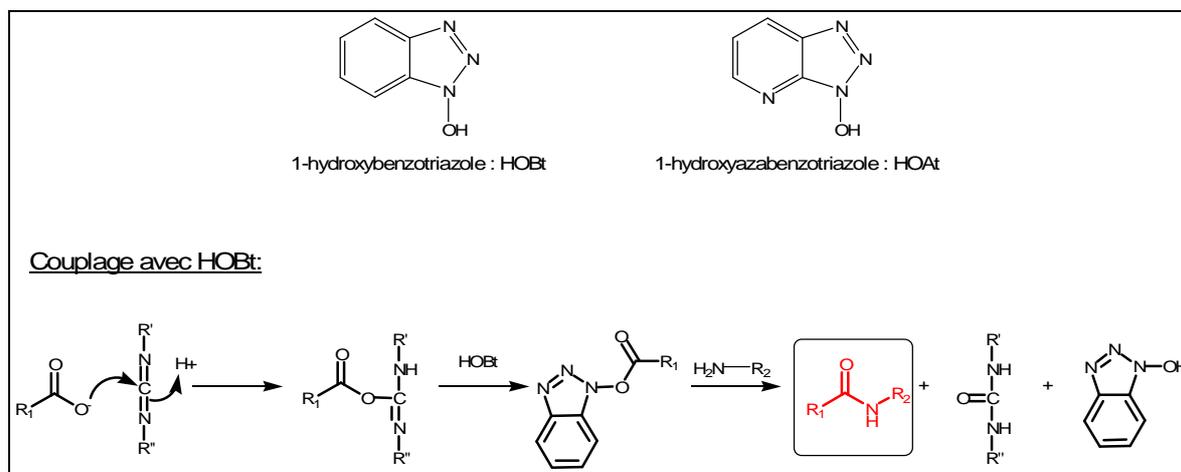


Schéma 6

Cependant, les dérivés carbodiimides s'avèrent peu efficaces dans les cas de couplages peptidique impliquant des groupements encombrants. Le développement d'agents de couplage

<sup>7</sup> G. Windridge and E. Jorgensen. "1-Hydroxybenzotriazole as a Racemization-Suppressing Reagent for the Incorporation of *im*-Benzyl *c*-histidine into Peptides" *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 71, 6318-6319.

<sup>8</sup> L. A. Carpino. "1-Hydroxy-7-azabenzotriazole. An efficient Peptide Coupling Additive" *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4397-4398.

« intégrant l'additif », tels que BOP<sup>9</sup> ou HATU,<sup>8</sup> a permis de réaliser des condensations peptidiques même dans des cas difficiles d'encombrement stérique en préservant la stéréochimie des peptides.<sup>10</sup>

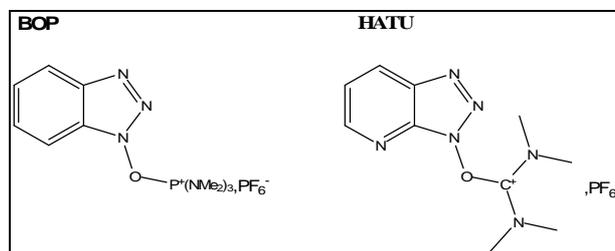


Schéma 7

#### iv. Stratégies de synthèse

Pour synthétiser un peptide, deux stratégies peuvent être envisagées : une élongation « pas à pas » ou un couplage de fragments. L'élongation pas à pas consiste à condenser chaque acide aminé successivement sur la chaîne peptidique de l'extrémité C terminale vers l'extrémité N terminale. L'utilisation d'acides aminés dont les atomes d'azote sont protégés par des groupements uréthanes (Boc ou Fmoc) permet alors de diminuer le taux d'épimérisation.

Le couplage de fragments consiste à synthétiser deux fragments séparément, puis à les coupler l'un à l'autre. Toutefois, avec cette stratégie, le risque d'épimérisation augmente car il ne peut pas y avoir d'uréthane sur la première liaison peptidique en partant de l'acide activé terminal, ce qui facilite la formation de l'oxazolone. Il faut donc utiliser les conditions de couplage potentiellement les moins racémisantes.

#### b) Stratégies de protection/déprotection

Quelle que soit la stratégie de synthèse retenue, une extrémité de chaque fragment peptidique doit rester protégée lors du couplage.<sup>11</sup> Par ailleurs, ce dernier ne doit pas être

<sup>9</sup> B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin et C. Selve. "Réactifs de couplage peptidique IV (1)-l'hexafluorophosphate de benzotriazolyl N-oxotrisdiméthylamino phosphonium (BOP)" *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 14, 1219-1222.

<sup>10</sup> J. M. Humphrey and A. R. Chamberlin. "Chemical synthesis of natural product peptides: coupling methods for the incorporation of noncoded amino acids into peptides" *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 2243-2266.

<sup>11</sup> M. Schelhaas and H. Waldmann. "Protecting groups strategies in organic synthesis" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 2056-2083.

affecté par la présence de fonctions sur les chaînes latérales des acides aminés. Ces fonctions sont donc protégées par des groupes dits permanents ( $GP_{1,2,\dots}$  sur le Schéma 8) et libérés en fin de synthèse.

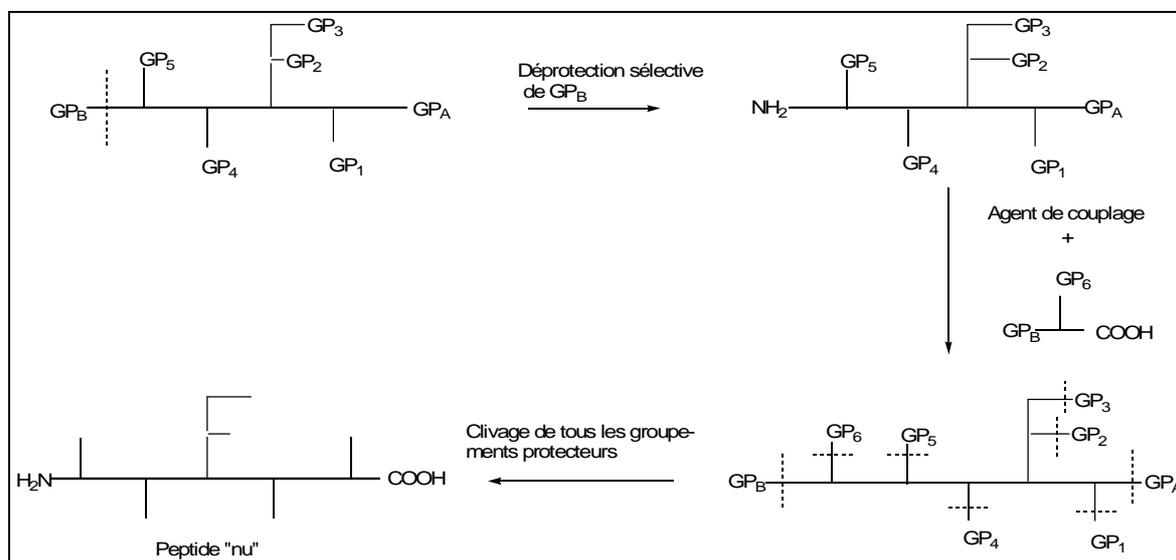


Schéma 8

Les groupements protecteurs aux extrémités du squelette peptidique ( $GP_{A,B,\dots}$  sur le schéma ci-dessus), au contraire, doivent être facilement clivés pour accéder aux amines ou acides carboxyliques terminaux. On parlera donc de groupes temporaires. La Figure 7 présente des groupements permanents ou temporaires utilisés en synthèse peptidique et leur conditions de clivage.

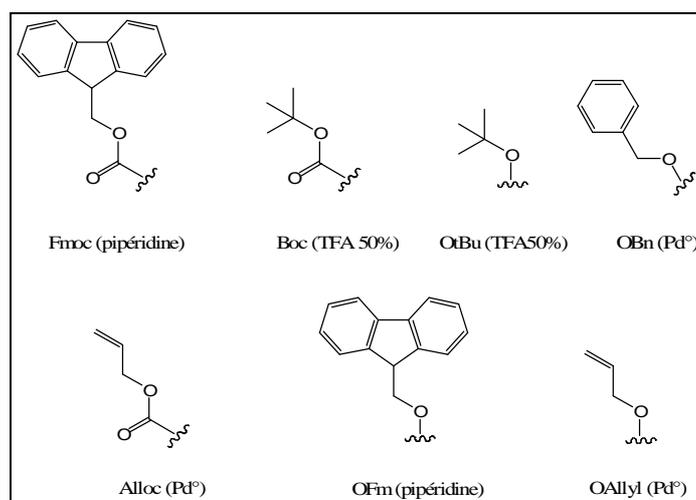


Figure 7

Les extrémités C et N terminales doivent être libérées indépendamment l'une de l'autre. Les stratégies de protection utilisent donc des groupements protecteurs dits orthogonaux : les conditions de déprotection de l'un ne portent pas atteinte à la stabilité de l'autre. Le Tableau 2 regroupe les groupements protecteurs couramment utilisés en synthèse peptidique et leur sensibilité à diverses conditions de déprotection. Ainsi, les groupes Boc et OtBu ne sont pas orthogonaux car ils sont tous les deux clivables en milieu acide.

Extrémités	Groupement	Pipéridine	H <sub>2</sub> , Pd/C	TFA	
N terminale	Fmoc	D	?	-	D : Déprotection
	Boc	-	-	D	? : Selon les cas
C terminale	OtBu	-	-	D	- : pas de réaction
	OBn	-	D	-	

Tableau 2

Les stratégies les plus souvent employées sont Fmoc/OtBu et Boc/OBn, les fonctions des chaînes latérales étant alors protégées en conséquence. Par exemple, dans le cas d'une élongation pas à pas de C vers N en stratégie Fmoc/OtBu, les chaînes latérales doivent être protégées par des groupements stables en milieu basique. Il est à noter que le groupement Fmoc est décrit comme peu sensible aux conditions d'hydrogénolyse utilisées pour cliver un ester benzylique.<sup>12</sup>

### c) Utilisation de supports solides

La synthèse en phase liquide permet de mettre au point les conditions de réaction : agents de couplages, solvant, température. L'inconvénient de la phase liquide est l'obligation à chaque étape d'isoler par des techniques d'extraction puis de purifier les produits obtenus, ce qui alourdit la procédure et est consommateur de temps.

En 1963, Merrifield est le premier à utiliser des résines pour la synthèse de peptides sur support solide.<sup>13</sup> En greffant un premier acide aminé N-protégé sur la résine polymère

<sup>12</sup> T. W. Greene and P. G. M. Wuts. "Protective groups in organic synthesis" 3<sup>rd</sup> Ed., 1999, Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Inc., P729 and P737.

<sup>13</sup> R. B. Merrifield. "Solid phase synthesis. The synthesis of a tetrapeptide" *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, 85, 2149-2154.

(polystyrène réticulé, 1% de divinylbenzène), et en procédant à une élongation pas à pas, il est possible de synthétiser des brins allant jusqu'à une centaine d'acides aminés. L'utilisation d'excès de réactifs à chaque étape est un avantage des supports solides permettant des réactions rapides et complètes.

Après réaction, une simple filtration suivie d'un lavage est suffisante pour éliminer les excès de réactifs avant une nouvelle réaction. Ces différentes étapes peuvent être effectuées par un robot. Les supports solides ont donc permis d'accélérer les temps d'obtention des produits en comparaison aux techniques en phase liquide. L'utilisation automatisée de phases solides est justifiée lorsqu'il faut synthétiser des peptides de tailles conséquentes avec des conditions opératoires pré-établies.

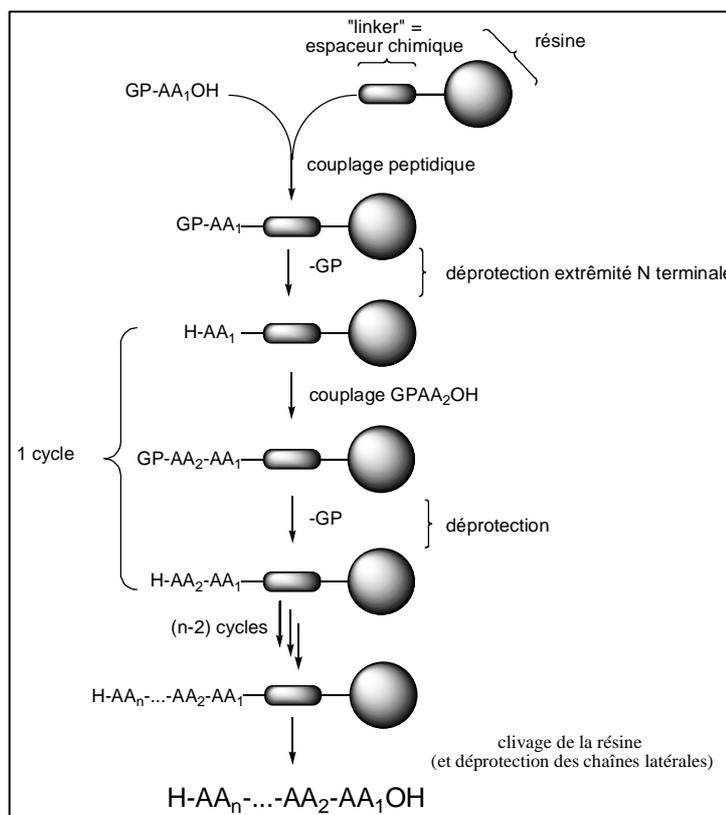


Schéma 9

## II. Pourquoi les N-hydroxy-peptides ?

Les éléments de base des N-hydroxy-peptides sont des acides aminés, dont un au moins est N-hydroxylé. Ces peptides ont des propriétés différentes de leurs homologues non N-hydroxylés, tant au niveau physico-chimique que biologique, ce qui fait leur intérêt.<sup>14</sup>

<sup>14</sup> H. C. J. Ottenheijm and J. D. M. Herscheid. "N-hydroxy- $\alpha$ -amino Acids in Organic Chemistry" *Chem. Rev.*, **1986**, 86, 697-707.

## 1. Structure et nomenclature des N-hydroxy-peptides

L'atome d'azote N-hydroxylé peut être en position terminale (N-hydroxy-peptide terminal) ou incorporée dans le corps du pseudopeptide (Figure 8). Dans ce dernier cas, il sera question de liaison N-hydroxy-amide, encore appelée motif hydroxamate (*vide infra*).

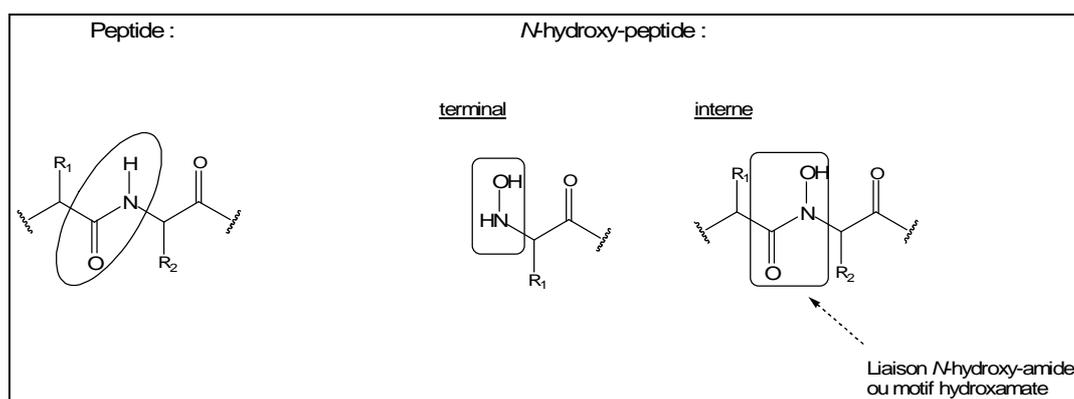


Figure 8

La nomenclature de la chaîne peptidique des N-hydroxy-peptides est la même que pour les peptides. L'ajout de  $\Psi[\text{CO-N(OH)}]$ <sup>15</sup> entre les deux acides aminés reliés par la fonction N-hydroxy-amide permet d'indiquer la présence de la liaison pseudopeptidique.

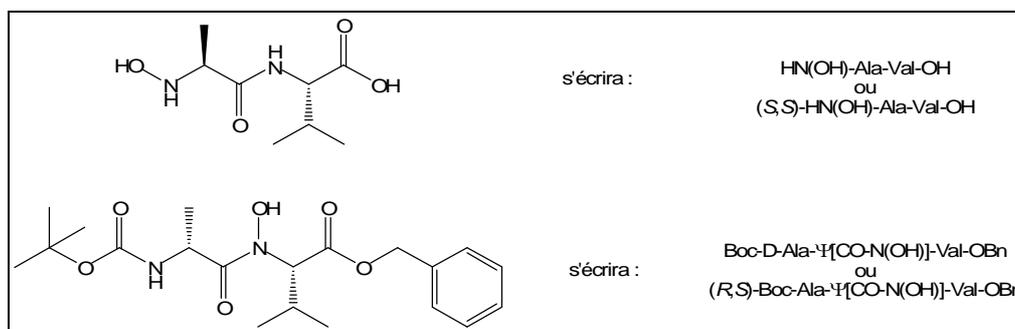


Figure 9

<sup>15</sup> V. Dupont, A. Lecoq, J.-P. Mangeot, A. Aubry, G. Boussard and M. Marraud. "Conformational perturbations Induced by N-Amination and N-Hydroxylation of Peptides" *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 8898-8906.

## 2. Propriétés physico-chimiques

Les valeurs de pKa des acides aminés N-hydroxylés varient sensiblement par rapport à celles des acides aminés naturels : pKa(COOH) ~ 2.2 et pKa(NH<sub>2</sub><sup>+</sup>OH) ~ 5.6 au lieu de 2.3 et 9.2. Le point isoélectrique passe ainsi de pH 5.8 pour les acides aminés naturels à 3.9 pour les acides aminés N-hydroxylés.<sup>14</sup> L'atténuation du caractère basique de l'atome d'azote est liée

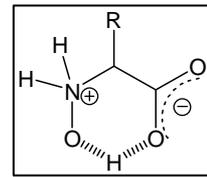


Schéma 10

à l'effet inductif du OH et/ou à la formation d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxylamine et le groupe carboxylate.

Les acides aminés N-hydroxylés sont stables lorsqu'ils sont stockés sous forme solide. En solution ils peuvent subir une réaction de décarboxylation oxydante (Schéma 11). Une autre réaction de dégradation décrite est une dismutation.

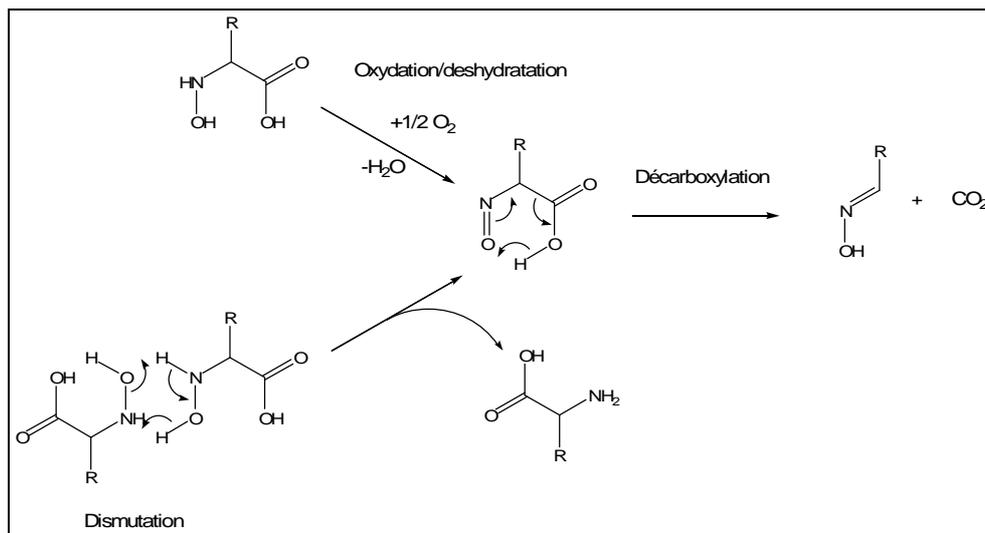


Schéma 11

Par ailleurs, le pKa des amides N-hydroxylés est de 11.<sup>14</sup> Cette acidité relative du proton ainsi que les propriétés complexantes de la base conjuguée (Schéma 12) font que le motif N-hydroxy-amide est le plus souvent appelé, par abus de langage, hydroxamate.

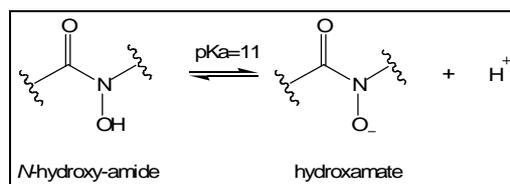


Schéma 12

De même que pour la fonction hydroxylamine terminale, l'introduction du motif hydroxamate dans une structure peptidique induit des variations de propriétés physico-chimiques. Ainsi, l'hydroxyle est source de nouvelles liaisons hydrogène intra- ou intermoléculaires (Figure 10). Si les liaisons sont intramoléculaires, elles auront essentiellement un rôle rigidifiant sur la structure peptidique. L'hydroxyle peut partager son proton avec le carbonyle du motif hydroxamate si celui-ci est *cis*. Dans le cas de l'hydroxamate *trans*, l'hydroxyle peut également créer de nouvelles liaisons hydrogène avec la liaison peptidique voisine.<sup>14</sup> L'équipe de Marraud<sup>15</sup> a cependant montré en 1993 avec des dipeptides que la présence d'atomes d'azote N-hydroxylés avait peu d'influence sur la stéréochimie *cis-trans* des liaisons peptidiques. En revanche, en s'appuyant à la fois sur des données expérimentales et calculées, cette étude a mis en évidence l'existence de liaisons hydrogène entre l'hydroxamate et des groupements carbonyle placés plus loin dans la chaîne, formant ainsi des cycles à 8 ou 11 atomes dans des structures de type  $\gamma$  ou  $\beta$  turn. Les modèles peptidiques que cette équipe utilisait ne permettaient pas d'établir l'existence d'interactions intramoléculaires plus éloignées. Les auteurs ont par ailleurs mis en évidence des interactions intermoléculaires entre l'hydroxamate et le solvant ou d'autres molécules peptidiques, selon la polarité du milieu.

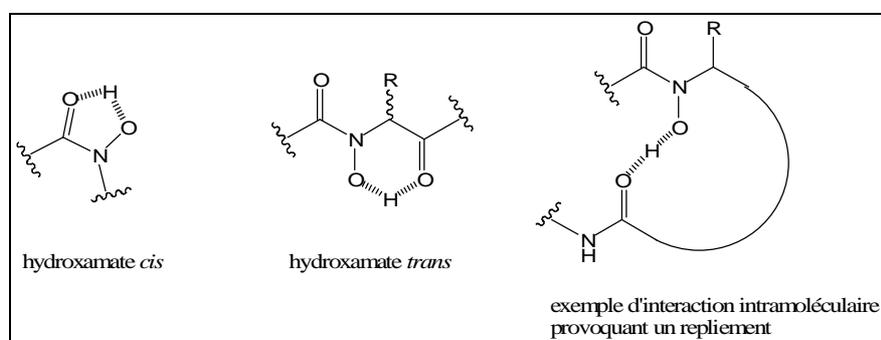


Figure 10

Takeushi et Marshall se sont intéressés également au repliement de molécules peptidiques et pseudopeptidiques.<sup>16</sup> En utilisant des méthodes de calcul de dynamique moléculaire, ils ont mis en avant le rôle d'initiation des phénomènes de repliements (en particulier formation de  $\beta$  turn) que les motifs hydroxamate pouvaient induire dans des molécules pseudopeptidiques.

<sup>16</sup> Y. Takeuchi and G. R. Marshall. "Conformational Analysis of Reverse-Turn Constraints by N-Methylation and N-Hydroxylation of Amide Bonds in Peptides and Non-Peptide Mimetics" *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 5363-5372.

L'existence de liaisons hydrogène différentes apportées par le motif hydroxamate cause des repliements des molécules peptidiques étudiées. La ressemblance de ces repliements avec des structures retrouvées dans le milieu biologique ( $\beta$  turn par exemple) nous interroge : les *N*-hydroxy-peptides sont-ils capables d'interagir avec le domaine du vivant ? Les *N*-hydroxy-peptides peuvent-ils être utilisés à des fins thérapeutiques ?

### 3. *N*-hydroxy-peptides biologiquement actifs

Bianco *et al.* ont étudié la digestion enzymatique de *N*-hydroxy-peptides.<sup>17</sup> Ils ont comparé les résultats à ceux obtenus avec leurs homologues classiques. Ainsi, les *N*-hydroxy-peptides étudiés sont plus résistants aux digestions enzymatiques par la carboxypeptidase Y et l'aminopeptidase M que leurs homologues naturels. Dans un deuxième article, la même équipe s'intéresse à la digestion enzymatique des mêmes *N*-hydroxy-peptides par la  $\alpha$ -chymotrypsine.<sup>18</sup> En revanche, pour cette enzyme, le *N*-hydroxy-peptide SIINFEKL est dégradé plus rapidement que son homologue classique. En s'aidant d'expériences RMN, ils mettent en évidence une interaction intramoléculaire par une liaison hydrogène, qui faciliterait l'hydrolyse par l' $\alpha$ -chymotrypsine. Ils n'identifient pas clairement l'interaction, mais supposent qu'il s'agit d'un échange du proton de l'hydroxamate par la création d'un cycle à 5 ou 6 centres impliquant des hydroxamates *cis* ou *trans* (Figure 10, ci-dessus), fragilisant la liaison pseudopeptidique. Ils notent également que le *N*-benzyloxy-peptide correspondant ne se dégrade pas en présence d' $\alpha$ -chymotrypsine.

Ainsi, un *N*-hydroxy-peptide peut avoir une activité biologique directement liée à la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire apportée par l'hydroxamate. Cette interaction peut également avoir lieu de manière intermoléculaire, entre le substrat et l'enzyme. Ce cas a été observé dans le cadre d'une étude portant sur une protéase responsable du développement du sida.<sup>19</sup> Lors d'une série de tests visant à déterminer les activités inhibitrices de produits synthétiques, un pseudopeptide contenant un motif hydroxamate a

---

<sup>17</sup> A. Bianco, C. Zabel, P. Walden and G. Jung. "N-Hydroxy-amide Analogues of MHC-Class I Peptide Ligands with Nanomolar Binding Affinities" *J. Peptide Sci.*, **1998**, 4, 471-478.

<sup>18</sup> A. Bianco, D. Kaiser and G. Jung. "N-Hydroxy peptides as substrates for  $\alpha$ -chymotrypsin" *J. Peptide Res.*, **1999**, 54, 544-548.

<sup>19</sup> M. Marastoni, M. Bazzaro, S. Salvadori, F. Bortolotti and R. Tomatis. "HIV-1 Protease Inhibitors Containing an N-hydroxyamino Acid Core Structure" *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9, 939-945.

présenté une très bonne activité ( $IC_{50} = 144nM$ ) anti-VIH *in vitro*. La stabilité du complexe protéase-inhibiteur est renforcée par la création d'une liaison hydrogène entre la fonction N-hydroxy-amide du pseudopeptide et la fonction acide carboxylique d'un acide aspartique présent dans le site catalytique de l'enzyme (Figure 11).

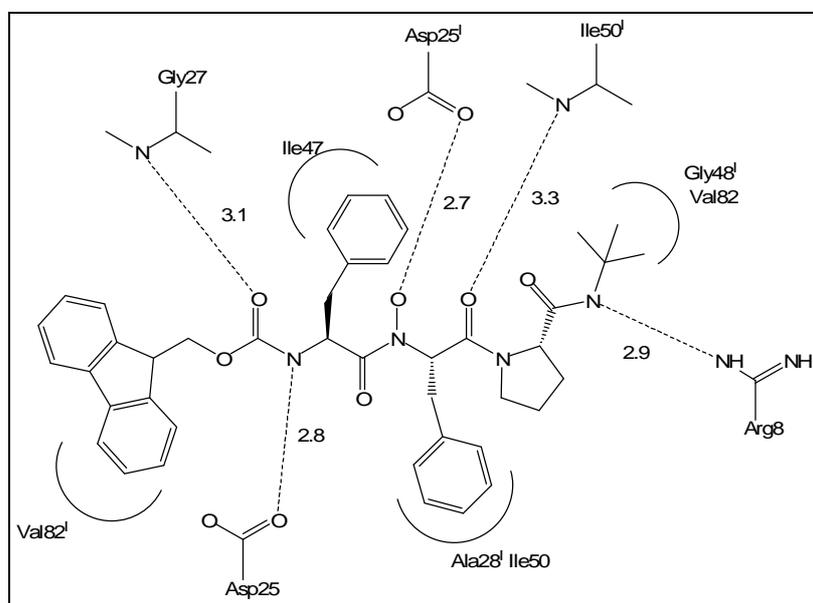


Figure 11

Si cette molécule est très intéressante pour son activité biologique *in vitro*, il semble que son avenir en tant que molécule thérapeutique soit, à première vue, limité car elle franchit très difficilement les membranes des cellules biologiques (dans lesquelles les virus se développent).

Les polyoxypeptides A et B (Figure 12) sont deux exemples de N-hydroxy-peptides cycliques présentant des propriétés biologiques intéressantes. Elles sont produites par une bactérie de type *Streptomyces*. En 1999, l'équipe d'Umezawa<sup>20</sup> a isolé, caractérisé, et défini leurs structures. Ces molécules induisent l'apoptose, c'est-à-dire le suicide cellulaire, d'adénocarcinomes pancréatiques humains (cellules cancéreuses). Les structures sont depsipeptidiques (au moins une liaison peptidique est remplacée par une liaison ester) et deux motifs hydroxamate sont présents.

<sup>20</sup> K. Umezawa, K. Nakazawa, Y. Ikeda, H. Naganawa and Shinichi Kondo. "Polyoxypeptins A and B Produced by *Streptomyces*: Apoptosis-inducing Cyclic Depsipeptides Containing the Novel Amino Acid (2*S*,3*R*)-3-Hydroxy-3-methylproline" *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 3034-3038.

En 2001, la même équipe a étudié la biosynthèse de ces molécules en incorporant des acides aminés et des acides carboxyliques à marqueurs isotopiques,<sup>21</sup> mais l'origine des motifs hydroxamate n'a pas encore été élucidée. De plus, aucune étude sur le rôle biologique des motifs hydroxamate présents dans les structures des polyoxypeptines A et B n'a encore été faite et les interactions qu'ils peuvent avoir au sein de la cellule ne sont donc pas encore connues.

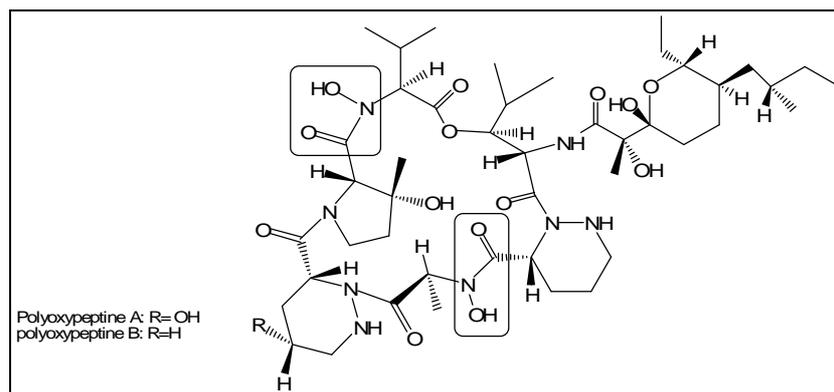


Figure 12

Si le mécanisme d'action des N-hydroxy-peptides n'est pas toujours connu, certaines de leurs propriétés biologiques, impliquant la complexation d'ions métalliques par l'hydroxamate, ont été largement étudiées.

#### 4. Complexation de métaux

Bien que les acides hydroxamiques R-CO-NHOH soient connus depuis 1869 avec la découverte d'acides oxalohydroxamiques par Lossen,<sup>14</sup> peu de recherches ont été effectuées sur ce type de molécule avant les années 1980. Depuis, ces acides faibles, qu'ils soient naturels ou synthétiques, sont devenus l'une des plus grandes familles de bioligands.<sup>22</sup>

<sup>21</sup> K. Umezawa, Y. Ikeda, O. Kawase, H. Naganawa and Shinichi Kondo. "Biosynthesis of Polyoxypeptin A: novel amino acid 3-hydroxy-3-methylproline derived from isoleucine" *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, **2001**, 1550-1553.

<sup>22</sup> C. J. Marmion, D. Griffith and K. B. Nolan. "Hydroxyamic Acids - An Intriguing Family of Enzymes Inhibitors and Biomedical Ligands" *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2004**, 3003-3016.

De par leur affinité pour les ions métalliques, les acides hydroxamiques présentent une grande variété de propriétés pharmaceutiques.<sup>23</sup> Ces produits sont capables d'inhiber une diversité de métalloenzymes incluant les uréases, lipoxygénases, cyclooxygénases, peptides déformylases, métalloprotéinases, en particulier les MMPs (matrix métalloprotéinases). Ces dernières constituent une sous-famille de métalloenzymes à zinc reconnues pour jouer des rôles clés dans les fonctions cellulaires normales en dégradant de nombreux composés d'origine protéique selon le mécanisme indiqué dans le Schéma 13.

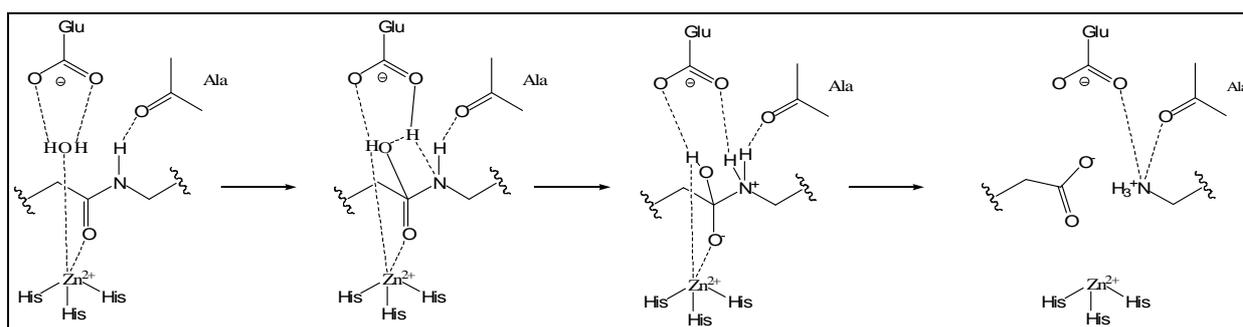


Schéma 13<sup>23</sup>

Le contrôle de l'inhibition des MMPs peut être intéressant dans des dérèglements pouvant apparaître lors de cancers, ou de sclérose en plaque par exemple. L'acide hydroxamique pourrait complexer le zinc de ces enzymes et permettre de les inhiber. Deux exemples d'acides hydroxamiques avec de telles activités ont été mis en évidence : le batimastat<sup>23</sup> et le marimastat<sup>24</sup> (Figure 13). Ces molécules ont des activités anticancéreuses larges et ont fait l'objet d'études jusqu'en phase III.

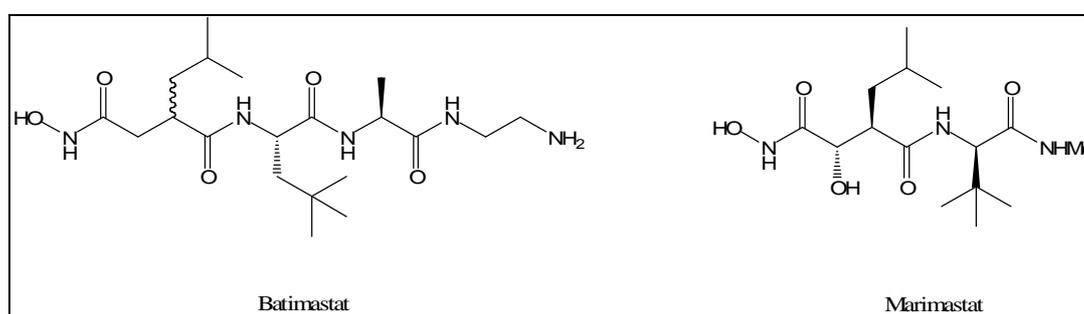


Figure 13

<sup>23</sup> E.M.F. Muri, M.J. Nieto, R.D. Sindelar and J.S. Williamson. "Hydroxamic Acids as Pharmacological Agents" *Curr. Med. Chem.*, **2002**, 9, 1631-1653.

<sup>24</sup> R. J. Davenport and R. J. Watson. "An improved synthesis of the broad spectrum matrix metalloprotease inhibitor marimastat" *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 7983-7986.

La Desferrioxamine B (Desferal®) est un exemple de molécule complexante utilisé dans le domaine médical.<sup>25</sup> Cette molécule est un sidérophore (c'est-à-dire capable de complexer le fer) contenant trois motifs hydroxamate. Le complexe octaédrique formé est très stable, soluble dans l'eau et donc facilement excrété par l'organisme par voie urinaire, par exemple. La Desferrioxamine B présente également des propriétés complexantes avec d'autres ions métalliques tels que l'étain (II), l'aluminium (III), le nickel (II), le zinc (II), le cuivre (II), le plomb (II)... Elle est ainsi utilisée dans les traitements d'intoxications chroniques ou aiguës liées à l'empoisonnement par le fer, l'aluminium et quelques métaux durs. Elle a été utilisée avec du gallium 67 comme agent de contraste en imagerie médicale.

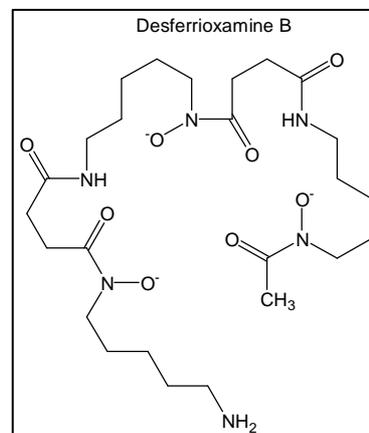


Figure 14

Depuis les années 1980, Akiyama *et al.* ont étudié les *N*-hydroxy-peptides. Si les premières études de ce groupe s'intéressent à la synthèse de ces molécules,<sup>26,27</sup> leurs travaux se sont rapidement portés sur la complexation de métaux par des *N*-hydroxy-peptides.<sup>28</sup> Ainsi, Hara et Akiyama ont récemment synthétisé des *N*-hydroxy-peptides dérivés de la  $\beta$ -alanine qu'ils ont reliés à un azote (Figure 15),<sup>29</sup> formant ainsi des ligands hydroxamates tripodes monotopiques (1 seul hydroxamate sur une branche) et ditopiques (2 hydroxamates sur une branche).

<sup>25</sup> T. Kiss and E. Farkas. "Metal-binding Ability of Desferrioxamine B." *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, **1998**, 32, 385-403.

<sup>26</sup> K. Shimizu, M. Hasegawa and M. Akiyama. "*N*-hydroxy amides. I. Synthesis of *N*-Benzyloxy and *N*-hydroxy Peptides via Polymerization of *N*-Benzyloxy DL- $\alpha$ -amino Acid *N*-Carboxy anhydrides" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1984**, 57, 495-499.

<sup>27</sup> K. Shimizu, K. Nakayama and M. Akiyama. "*N*-hydroxy amides. II. *N*-Benzyloxy and *N*-hydroxy succinimide Esters and Synthesis of a Hexapeptide Having an alternating *N*-Hydroxy Amide-Amide Sequence" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1984**, 57, 2456-2462.

<sup>28</sup> M. Akiyama, K. Iesaki, A. Katoh and K. Shimizu. "*N*-Hydroxy amides. Part 5. Synthesis and properties of *N*-hydroxy peptides having Leucine enkephalin Sequences", *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1986, 851-855.

<sup>29</sup> Y. Hara and M. Akiyama. "An Iron Reservoir Model Based on Ferrichrome : Irons(III)-Binding and Metal(III)-Exchange Properties of Tripodal Monotopic and Ditopic Hydroxamate Ligands with an L-Alanyl-L-alanyl-*N*-hydroxy- $\beta$ -alanyl Sequence" *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 7247-7256.

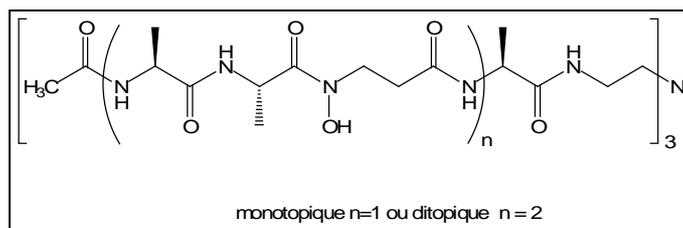


Figure 15

Les auteurs ont ensuite étudié la formation de complexes entre ces molécules et du gallium, du fer, de l'indium et de l'aluminium. Ils ont pu mettre en évidence que ces métaux permettaient d'organiser les structures. Ainsi pour un ligand tripode ditopique en présence de fer (III), ils proposent le complexe présenté dans la Figure 16.

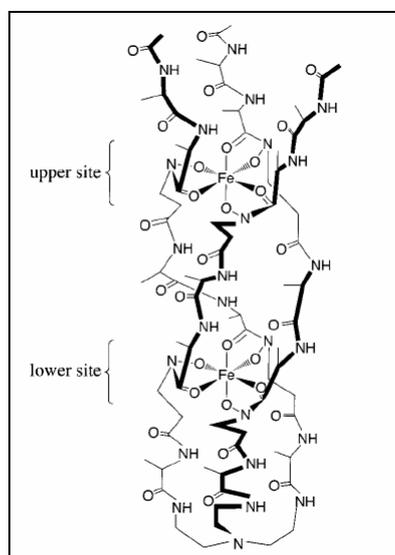


Figure 16<sup>29</sup>

L'objectif des travaux de Hara et Akiyama était d'étudier les processus de séquestration et de stockage du fer grâce à des récepteurs artificiels. En revanche, ceux de Marshall<sup>30</sup> visaient à utiliser des métaux pour préorganiser des structures peptidiques à des fins de reconnaissance moléculaire (Schéma 14).

<sup>30</sup> Y. Ye, M. Liu, J. L.-K. Kao and G. Marshall. "Peptide-Bond Modification for Metal Coordination: Peptides Containing two Hydroxamate Groups" *Biopolymers (Pept. Sci.)*, **2003**, 71, 489-515.

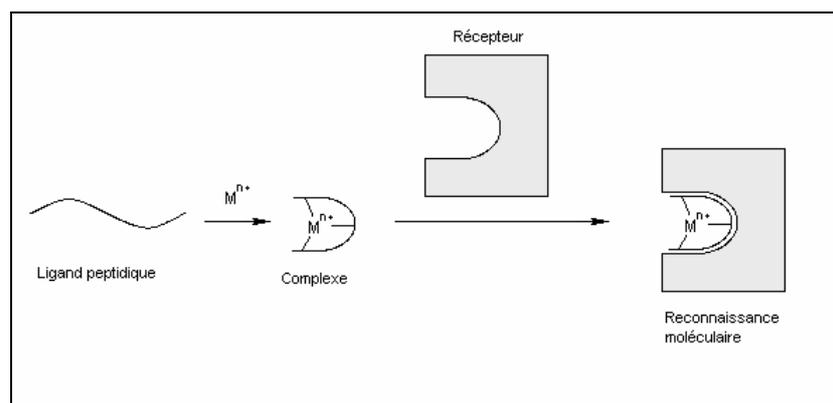


Schéma 14

Lors de leur étude, ils ont préparé des *N,N'*-dihydroxy-peptides, établi des méthodes d'analyse de leurs propriétés complexantes vis-à-vis de différents métaux, cherché à élucider la structure tridimensionnelle des complexes. La différence de nature des ions métalliques mis dans le milieu peut engendrer des différences subtiles de conformation pour une même molécule gabarit. Ces changements de conformation peuvent être employés par la suite pour comprendre et optimiser la complémentarité des interactions entre ligand et enzyme (ou récepteur).

Un tel concept a fait l'objet d'autres études, mais faisant intervenir des éléments complexants sur les chaînes latérales des acides aminés<sup>31</sup> ou en bout de chaîne peptidique.<sup>32</sup> En se concentrant sur la préorganisation du peptide par une complexation entre les groupements hydroxamate placés dans le cœur du peptide et les ions métalliques, l'équipe de Marshall laisse les chaînes latérales libres d'interagir avec le ou les sites ciblés. Cette équipe ajoute ainsi un facteur supplémentaire d'optimisation de la reconnaissance de ce type de molécule par une enzyme ou un récepteur. Ainsi, une série de molécules incorporant deux motifs hydroxamate a été synthétisée, variant la nature de l'acide  $\alpha$ -aminé *N*-hydroxylé (glycine, alanine, phénylalanine), l'espacement entre les deux motifs complexants et leur nature (hydroxamate interne ou acide hydroxamique). Le Tableau 3 recense quelques exemples de molécules synthétisées.

<sup>31</sup> M. J. Kelso, H. N. Hoang, T. G. Appleton and D. P. Fairlie. "The First Solution Structure of a Single  $\alpha$ -Helical Turn. A Pentapeptide  $\alpha$ -Helix stabilized by a Metal Clip" *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 10488-10489.

<sup>32</sup> M. Albrecht, P. Stortz, M. Engeser and C. Schalley. "Solid-Phase Synthesis of a Double 4-Pyridinyl Terminated Leu-Ala-Leu Tripeptide and Macrocyclization by Palladium (II) Coordination" *Synlett.*, **2004**, *15*, 2821-2823.

Molécule	Séquence
P1	H-Val- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Gly-Ala-Leu-NHOH
P2	H-Val- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Ala-Ala-Leu-NHOH
P3	H-Val- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Phe-Ala-Leu-NHOH
P5	H-(Leu- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Phe-Ala) <sub>2</sub> -OH
P7	H-(Leu- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Phe-Ala-Pro) <sub>2</sub> -OH
P8	Cydo-(Leu- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Phe-Ala-Pro) <sub>2</sub>
P9	H-Leu- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Phe-Ala-Pro-Leu-NHOH

Tableau 3

Les résultats montrent en particulier que la nature des complexes obtenus dépend de la longueur de l'espaceur. Ainsi, dans le cas du fer, trois acides aminés entre le premier acide aminé *N*-hydroxylé et le second hydroxamate sont nécessaires à l'obtention d'un complexe métal-ligand 1:1. Avec des espacements plus courts, une coordination intermoléculaire est favorisée (Schéma 15).

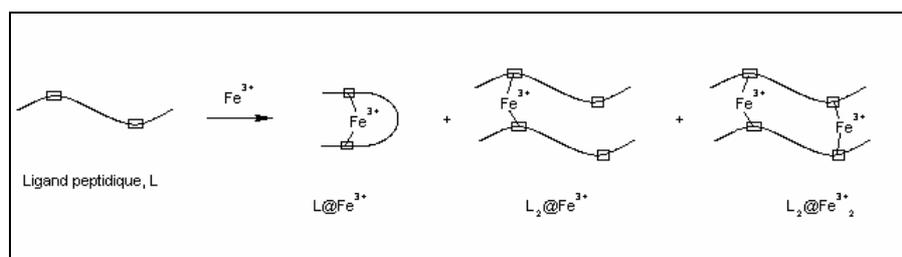


Schéma 15

Cette étude aura permis de dégager certains paramètres cruciaux permettant l'utilisation d'un métal pour rigidifier une structure peptidique. Pour obtenir une bibliothèque de complexes métal-peptide, il sera nécessaire de faire varier la nature des résidus et donc de synthétiser de nouveaux *N*-hydroxy-peptides.

### III. Synthèses des *N*-hydroxy-peptides

Nous avons vu que la présence d'un groupement hydroxyle sur au moins un azote d'un acide aminé modifie les propriétés d'un peptide. Même si quelques propriétés intéressantes ont déjà été mises en avant, le potentiel des *N*-hydroxy-peptides en termes d'applications n'a pas encore été bien élucidé. Ceci s'explique par les difficultés rencontrées lors de la synthèse de ces molécules. Si la structure des *N*-hydroxy-peptides est très proche de celle des peptides,

les méthodes de synthèse de la partie N-hydroxylée sont plus complexes que pour les peptides classiques. Les N-hydroxy-peptides ont donc attiré particulièrement l'attention des chimistes organiciens depuis plus d'une vingtaine d'années.<sup>14</sup>

## 1. Rétrosynthèse

### a) La liaison pseudopeptidique

La synthèse de N-hydroxy-peptides à partir du peptide correspondant n'est intéressante que si l'on parvient à modifier sélectivement en hydroxamate une ou plusieurs liaisons peptidiques choisies. Or, aucune oxydation sélective de liaison peptidique directement sur le peptide n'a été rapportée dans la littérature.<sup>33</sup> Ainsi, dans l'état actuel des connaissances, pour obtenir un N-hydroxy-peptide, il faut passer par un couplage sélectif de l'azote d'un acide N-hydroxy- $\alpha$ -aminé ou d'un N-hydroxy-peptide terminal avec l'extrémité acide d'un peptide ou d'un acide aminé comme il est indiqué dans le Schéma 16. Sans groupement protecteur sur l'oxygène, une O-acylation est possible. Il faut donc soit trouver des conditions de N-acylation sélective, soit protéger le groupe hydroxyle. Dans ce dernier cas, il faudra que le groupement protecteur soit clivable pour redonner l'hydroxamate après couplage.

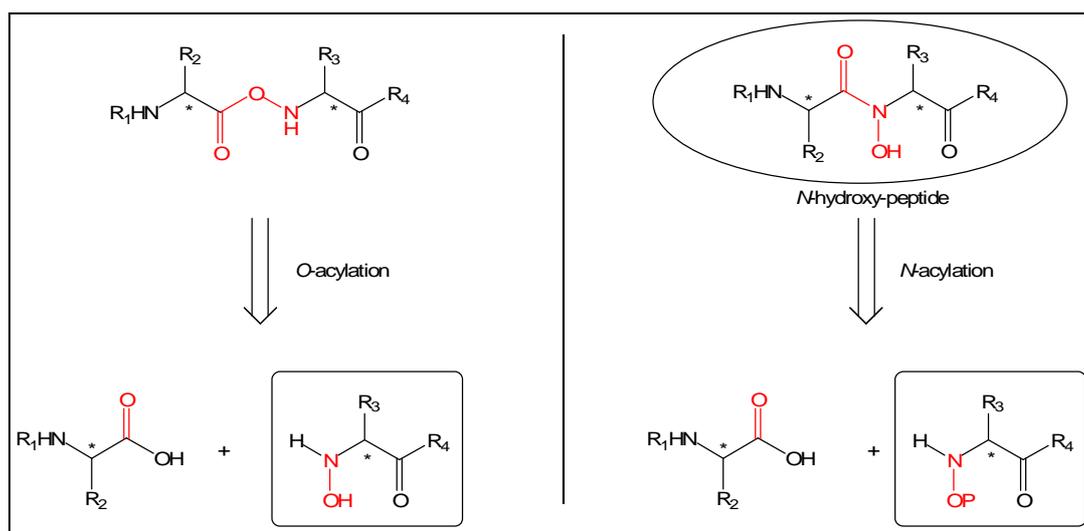


Schéma 16

<sup>33</sup> M. Marraud and R. Vanderesse. Houben-Weyl, "Methods of Organic chemistry", 4<sup>th</sup> ed., Vol E22c; M. Goodman, Ed.; Thieme: Stuttgart, 2003.

Avant de pouvoir effectuer le couplage sélectif sur l'azote, il faut être capable d'obtenir l'acide aminé ou le peptide *N*-hydroxylé en position terminale. Nous allons donc explorer les techniques diverses décrites dans la littérature pour accéder à ces *N*-hydroxylamines.

### b) Les acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés ou dérivés

Indifféremment du fait qu'il s'agisse d'un acide aminé ou d'un peptide, les réactions décrites dans la littérature permettant d'obtenir les *N*-hydroxylamines à partir de molécules commerciales ou d'accès simple peuvent être classées selon la nature de la liaison formée (Figure 17). La classification qui en découle permet de mieux comparer les méthodes entre elles. En particulier, nous regarderons la facilité d'accès, la possibilité de contrôler la stéréochimie des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés et si la molécule est facilement utilisable pour l'étape suivante qui est la *N*-acylation.

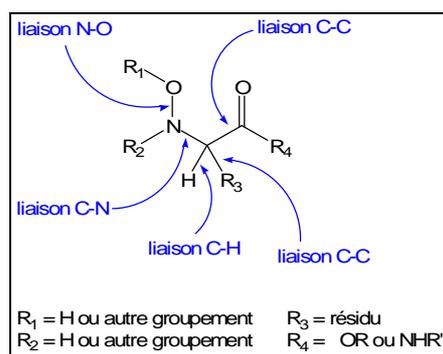


Figure 17

Intuitivement, la création de la liaison N-O à partir d'acides aminés ou de peptides équivalents semble être la méthode la plus directe. Devant les difficultés liées à cette méthode, la formation de la liaison C-N(O) paraît être une alternative intéressante tandis que la création d'une des deux liaisons C-C permet d'accéder à des résidus naturels ou non. Enfin, la création de la liaison C-H semble allier flexibilité et efficacité.

## 2. Préparation d'acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés ou dérivés

Comme nous l'avant vu précédemment, nous allons étudier successivement la formation des liaisons N-O, C-N, C-C et C-H.

### a) Formation de la liaison N-O

#### i. Oxydation

Obtenir des acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés à partir des acides  $\alpha$ -aminés est à priori la méthode la plus simple mais la suroxydation des N-hydroxylamines produites complique les choses.

L'équipe de Danishefsky a découvert au début des années 1990 une technique d'oxydation d'amines primaires en hydroxylamines en utilisant du diméthylidioxirane à basse température. Elle permet d'obtenir des esters N-hydroxy- $\alpha$ -aminés énantiopurs avec d'assez bons rendements (Schéma 17).<sup>34</sup>

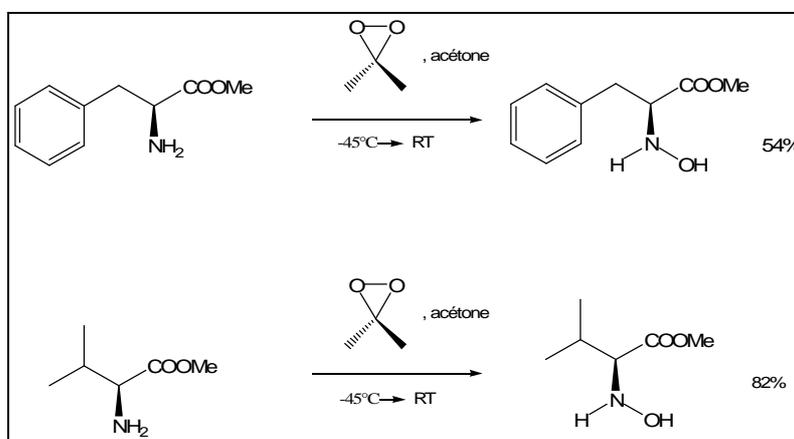


Schéma 17

L'équipe de Curci a appliqué cette oxydation aux acides aminés à l'extrémité N terminale protégée par un groupement Boc et a amélioré la technique.<sup>35</sup> Les membres de cette équipe

<sup>34</sup> M. D. Wittman, R. L. Halcomb and S. J. Danishefsky. "On the Conversion of Biologically Interesting Amines to Hydroxylamines" *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 1981-1983.

<sup>35</sup> A. Detomaso and R. Curci. "Oxydation of natural targets by dioxiranes. Part4: A novel approach to the synthesis of N-hydroxyamino acids using dioxiranes" *Tetrahedron. Lett.*, **2001**, 42, 755-758.

ont ainsi pu obtenir sans racémisation les acides *N*-hydroxy-aminés dérivés, entre autres, de la valine et de la leucine (Schéma 18).

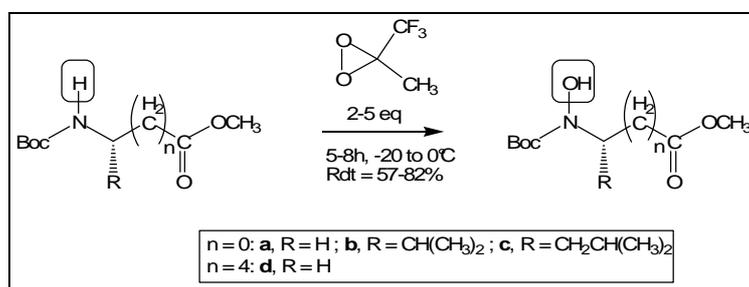


Schéma 18

Néanmoins, l'utilisation de dioxirane conduit à des réactions secondaires d'oxydation très gênantes (Schéma 19). Ainsi, lors de l'essai d'oxydation de la leucine, la chaîne latérale hydrocarbonée s'est oxydée et le produit a alors subi une réaction de cyclisation intramoléculaire.

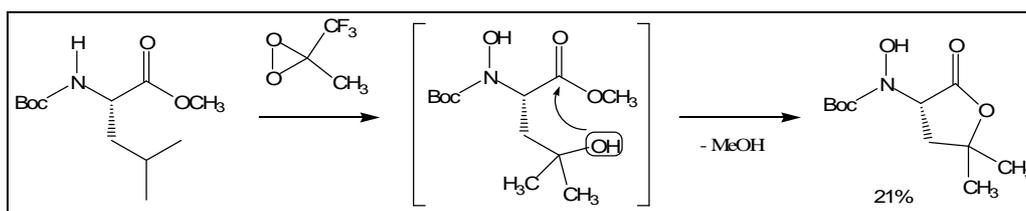


Schéma 19

Devant les difficultés rencontrées lors d'une oxydation directe, des alternatives ont dû être trouvées. L'une d'elles est le passage par les oxaziridines.

## ii. Passage par une oxaziridine

L'oxydation d'une imine en oxaziridine a permis de varier les conditions d'oxydation car l'oxaziridine risque moins de se suroxyder qu'un acide *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminé dans ces conditions. Ainsi, en se basant sur les travaux d'Emmons,<sup>36</sup> Polonski et Chimiak ont synthétisé à partir d'acides aminés ou d'esters aminés des séries D et L les hydroxylamines correspondantes avec des rendements de 25 à 47% (Schéma 20).<sup>37</sup>

<sup>36</sup> W.D. Emmons. "The preparation and properties of Oxaziranes" *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 5739-5754.

<sup>37</sup> T. Polonski and A. Chimiak. "Oxydation of amino acids esters into *N*-hydroxyamino acid derivatives" *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 28, 2453-2456.

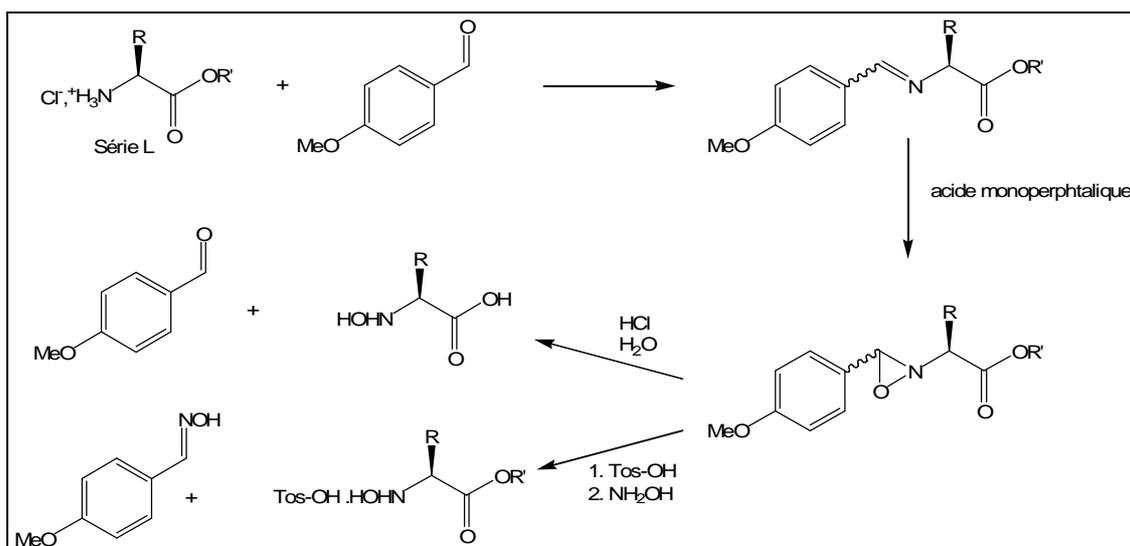


Schéma 20

La méthode a été reprise par Grundke une dizaine d'années plus tard<sup>38</sup> et améliorée. A partir des chlorures d'acides  $\alpha$ -aminés de la série L et du *p*-méthoxybenzaldéhyde, l'imine est obtenue quantitativement. L'oxydation de ces imines par un équivalent de *m*CPBA (acide méta-chloroperbenzoïque) dans le dichlorométhane à -15°C donne les oxaziridines correspondantes avec des rendements proches du quantitatif. La rupture de la liaison C-O de l'oxaziridine est réalisée dans le méthanol avec un équivalent de chlorhydrate d'hydroxylamine. Après neutralisation avec NaHCO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O, les auteurs obtiennent les esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés voulus avec des rendements entre 34 et 70% (Schéma 21).

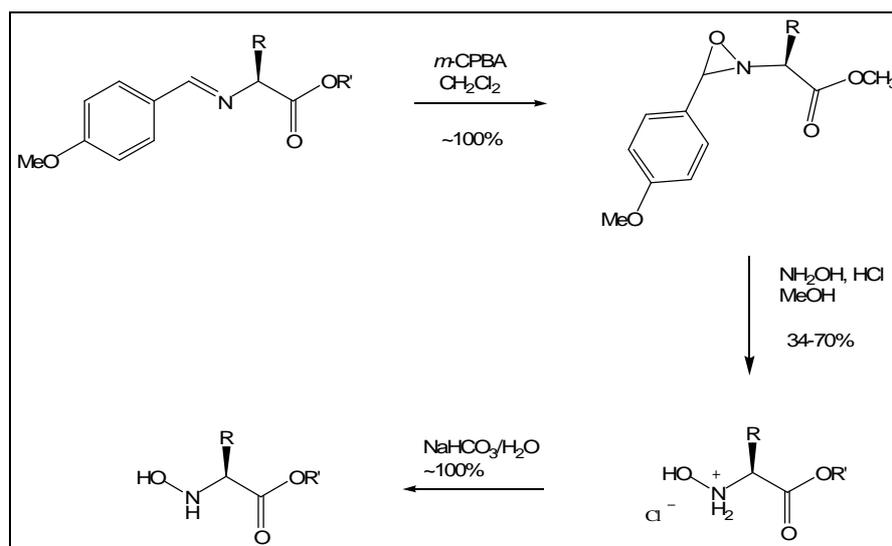


Schéma 21

<sup>38</sup>G. Grundke, W. Keese and M. Rimpler. "Optically Active *N*-Hydroxy- $\alpha$ -L-Amino Acid Methyl Esters: An Improved and Simplified Synthesis." *Synthesis*, **1987**, 1115-1116.

Feenstra *et al.* ont voulu augmenter ces rendements et avoir accès aux deux énantiomères des acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés, grâce à la résolution enzymatique de mélanges racémiques d'amides  $\alpha$ -aminés.<sup>39</sup> L'hydrolyse des racémiques en présence d'une aminopeptidase isolée de *Pseudomonas Putida* conduit aux acides L et laisse les amides D intacts. D'une part, les acides aminés L permettent d'accéder à des amides N-hydroxy- $\alpha$ -L-aminés en passant par les imidazolidinones correspondantes (Schéma 22). D'autre part, les amides  $\alpha$ -D-aminés sont utilisés dans des conditions décrites par Grundke et donnent les amides N-hydroxy- $\alpha$ -D-aminés correspondants (Schéma 22).

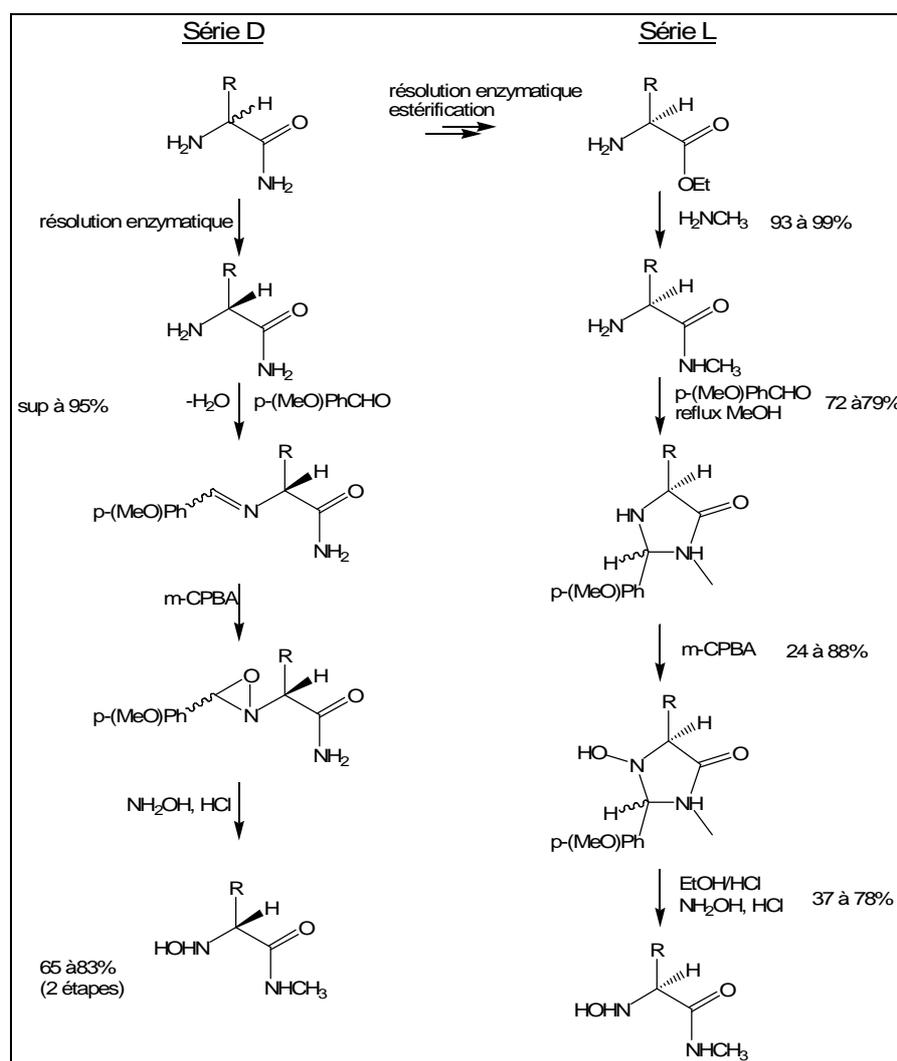
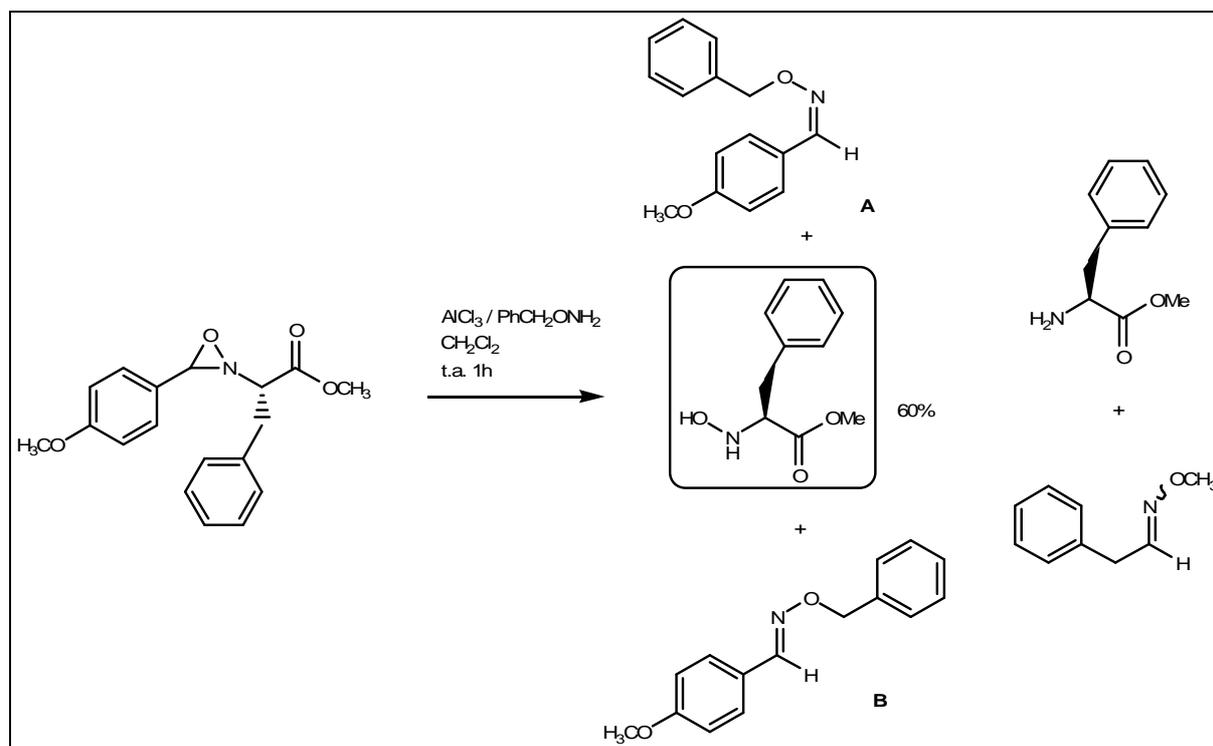


Schéma 22

<sup>39</sup> R.W. Feenstra, E.H.M. Stokkingreef, A.M. Reichwein, W.B.H. Lousberg and H.C.J. Ottenheijm. "Oxidative Preparation of Optically Active N-hydroxy- $\alpha$ -amino Acids Amides." *Tetrahedron*, **1990**, 46 (5), 1745-1756.

Très récemment, Di Gioia *et al.* se sont intéressés aux conditions d'ouverture du cycle de l'oxaziridine.<sup>40</sup> En utilisant  $\text{AlCl}_3$  comme acide de Lewis dans des conditions rigoureusement anhydres, ils se sont aperçus que des nucléophiles attaquaient exclusivement le carbone de l'oxaziridine. Ils ont ainsi obtenu des esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés (Schéma 23).



Afin d'éviter des réactions de dismutation (Schéma 11) lors de la purification sur colonne de silice ou alumine (perte d'une quinzaine de pourcents de produit), ils ont piégé les esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés avec du triflate de triisopropylsilyle. De cette manière, ils accèdent avec des rendements allant de 88 à 94% aux esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés protégés (Schéma 24).

<sup>40</sup> M. L. Di Gioia, A. Leggio, A. Le Pera, A. Liguori and C. Siciliano. "Optically Pure *N*-Hydroxy-*O*-triisopropylsilyl- $\alpha$ -L-amino Acid Methyl Esters from  $\text{AlCl}_3$ -Assisted Ring Opening of Chiral Oxaziridine by Nitrogen containing Nucleophiles" *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 10494-10501.

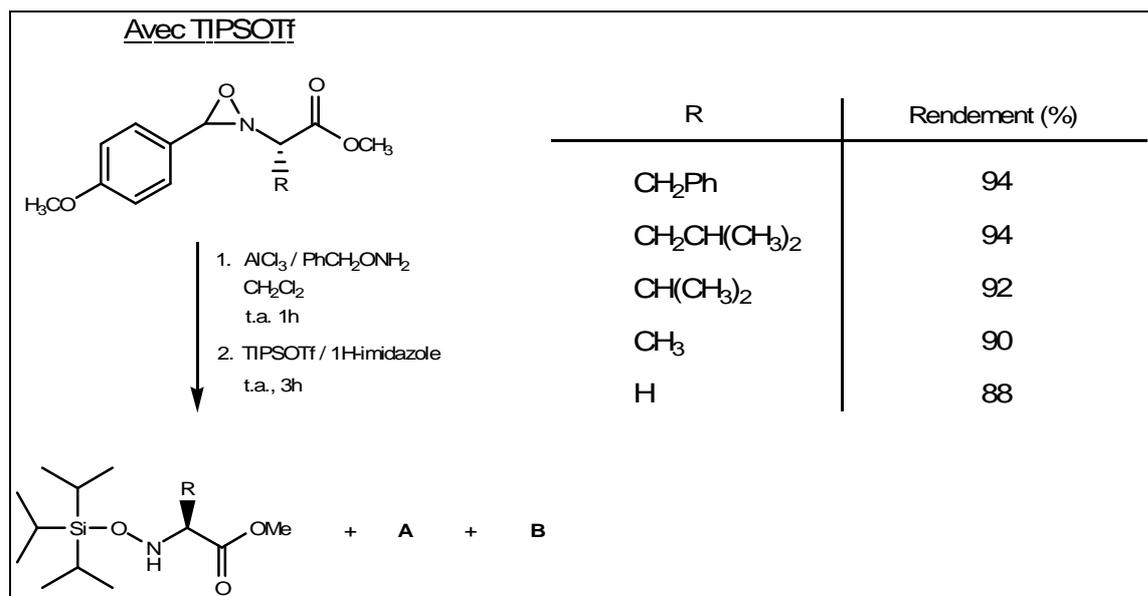


Schéma 24

Les débuts difficiles des oxydations d'acides- $\alpha$ -aminés en acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés ont poussé les chimistes à trouver des alternatives synthétiques à leur obtention, à commencer par la formation de la liaison C-N.

### b) Formation de la liaison C-N

Nous allons commencer par étudier un exemple impliquant un malonate dans lequel la forte acidité du proton en  $\alpha$  a permis de créer la liaison C-N. Comme nous allons le voir par la suite, la méthode de création de la liaison C-N passe souvent par une substitution nucléophile (SN) de groupements partants liés au carbone  $\alpha$  des précurseurs d'acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés. Les substitutions sur des acides ou esters  $\alpha$ -bromés, méthodes encore utilisées récemment par certains groupes, ont donné de bons résultats d'obtention. Nous verrons aussi les substitutions sur des  $\alpha$ -hydroxy-esters, via la formation de triflates ou par une réaction de Mitsunobu, qui ont apporté certains avantages en comparaison à ces premières méthodes.

#### i. Utilisation de malonates

Dès 1958, Neelakantan et Hartung adaptent une technique antérieure pour obtenir des

acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés.<sup>41</sup> Pour cela, ils utilisent des diesters maloniques substitués sur le carbone  $\alpha$  par le résidu de l'acide *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminé voulu et les traitent avec de l'oxide nitrique en présence d'éthoxyde de sodium dans l'éthanol. Le sel de sodium de l'acide isonitramino est saponifié et décarboxylé. Puis, après traitement à l'acide chlorhydrique et à l'hydroxylamine, ils obtiennent l'acide *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminé désiré avec des rendements allant de 45 à 65%.

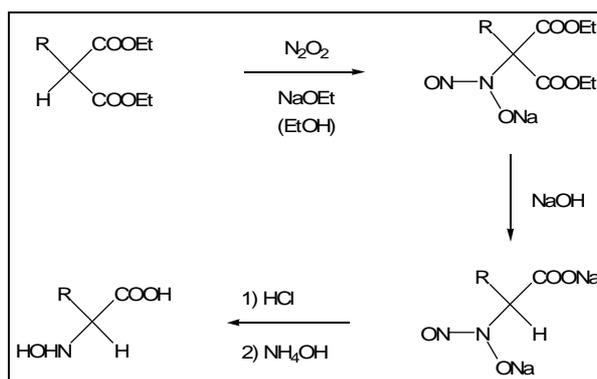


Schéma 25

Aucun autre exemple utilisant ces conditions n'a été trouvé dans la littérature. L'avantage de cette méthode est la rapidité avec laquelle des *N*-hydroxy-amino acides sont obtenus à partir d'un réactif courant. Les désavantages sont les conditions dures utilisées, ce qui limite la nature du groupement R, l'impossibilité de contrôler la stéréochimie du *N*-hydroxy-amino acide et les rendements moyens obtenus (vraisemblablement liés au fait que c'est un acide et non un ester, impliquant une dégradation du produit).

## ii. Substitution nucléophile d'un brome

En 1967, Buehler et Brown décrivent une réaction de substitution d'esters  $\alpha$ -bromés avec un aldoxime et obtiennent les nitrones correspondantes avec des rendements allant de 54 à 91% (Schéma 26).<sup>42</sup> Ils hydrolysent ensuite en milieu acide ces nitrones, ce qui leur fournit les acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés avec des rendements allant de 45 à 74%. Il faut noter les conditions dures utilisées lors de cette hydrolyse avec de l'acide chlorhydrique aqueux chauffé à plus de 100°C, ce qui rend cette réaction peu attrayante.

<sup>41</sup> L. Neelakantan and W. H. Hartung. " $\alpha$ -Hydroxylamino Nitriles and  $\alpha$ -Hydroxylamino Acids" *J. Org. Chem.*, **1958**, 23, 964-967.

<sup>42</sup> E. Buehler and G. B. Brown. "A General Synthesis of *N*-hydroxy-amino Acids" *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 265-267.

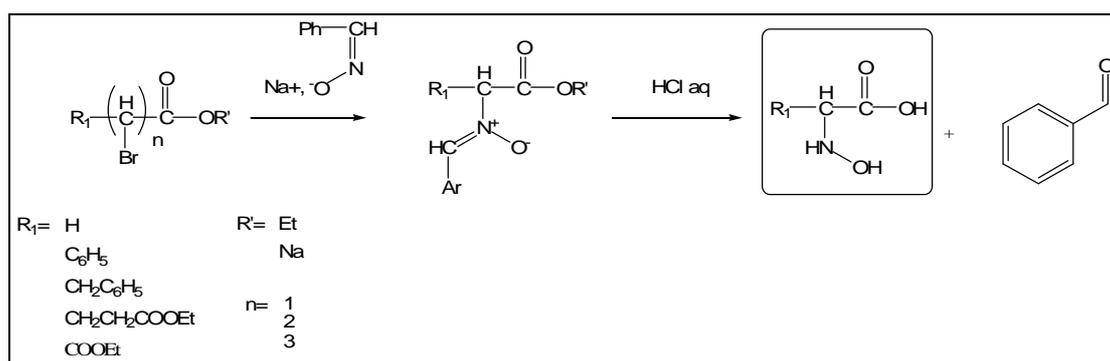


Schéma 26

En 1976, Polonski et Chimiak décrivent une méthode très similaire à celle de Buehler et Brown mais changent les conditions drastiques d'hydrolyse à l'HCl aqueux.<sup>43</sup> Ainsi, ils mettent au point deux techniques d'hydroxylaminolyse en passant par la nitronne correspondante, leur permettant d'isoler des esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés ou leurs sels avec des rendements variant de 76 à 92 % pour l'étape d'hydroxylaminolyse (Schéma 27). Il est à noter qu'aucune indication sur la stéréochimie des produits n'est donnée.

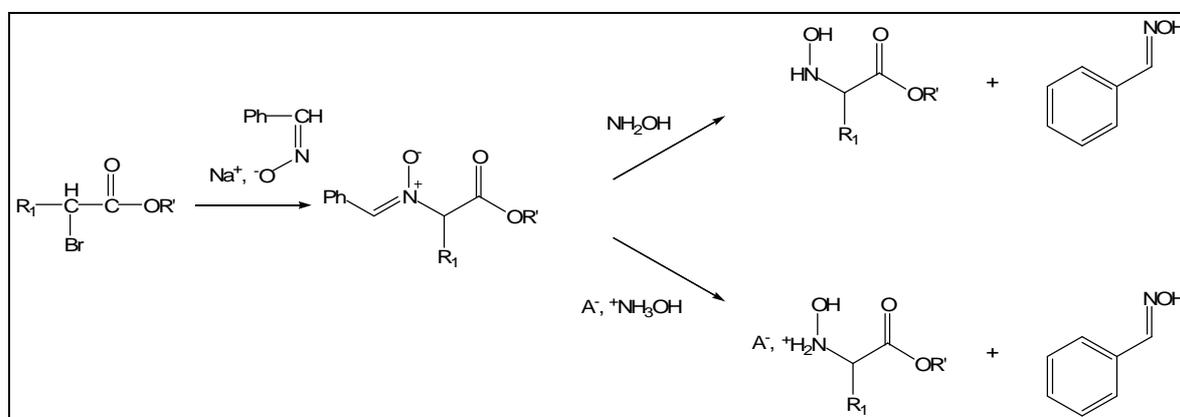


Schéma 27

Parallèlement à la préparation des *N*-hydroxy-amino acides (et dérivés) par la formation d'une nitronne, plusieurs équipes se sont intéressées à une substitution directe du brome. Ainsi, Kolasa et Chimiak étudient en 1974 la préparation de *N*-hydroxy-peptides et synthétisent pour

<sup>43</sup> T. Polonski and A. Chimiak. "Nitronnes as intermediates in the synthesis of *N*-Hydroxyamino Acid Esters" *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 2092-2095.

cela des acides *N*-alkoxy-aminés.<sup>44</sup> L'utilisation d'alkylhydroxylamine leur permet de protéger l'hydroxyle lors de la substitution du brome sur le carbone  $\alpha$  de l'ester. Ainsi, ils préparent des *N*-alkoxy-amino esters avec des rendements compris entre 15 et 100 % (Schéma 28).

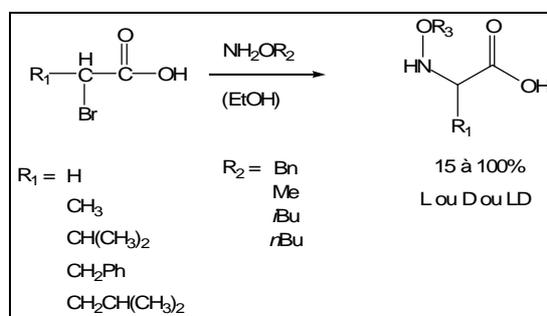


Schéma 28

Cette méthode de synthèse des acides *N*-benzyloxy- $\alpha$ -aminés a été reprise récemment pour synthétiser des *N*-hydroxy-peptides inhibant la protéase du HIV.<sup>19</sup> Les *N*-benzyloxy-glycine, *N*-benzyloxy-L et D-phenylalanine sont préparés à partir des  $\alpha$ -bromo-acides correspondants avec des rendements de 45 à 65%. Ces acides *N*-benzyloxy- $\alpha$ -aminés sont alors intégrés dans une synthèse peptidique sur phase solide pour obtenir les produits voulus.

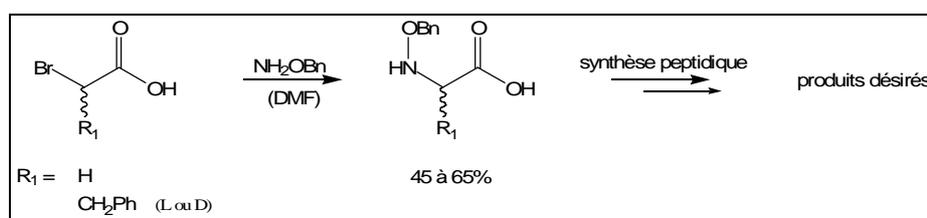


Schéma 29

Les esters  $\alpha$ -bromés substitués sont difficiles à obtenir de manière énantiopure ce qui limite la méthode (sauf pour les dérivés de la glycine<sup>30</sup>) même si quelques exemples dans la littérature existent, comme nous l'avons vu.

<sup>44</sup> T. Kolasa and A. Chimiak. “*O*-protected derivatives of *N*-hydroxyamino acids” *Tetrahedron*, **1974**, 30, 3591-3595.

### iii. Substitution nucléophile d'un triflate

Contrairement aux  $\alpha$ -bromo-esters, les  $\alpha$ -hydroxy-esters énantiopurs sont aisément accessibles. Il était donc tentant de les utiliser, mais une activation de l'alcool est alors nécessaire. Des tosylates et des mésylates comme activateurs ont été essayés mais une racémisation avait lieu.<sup>45</sup> Feenstra *et al.* ont synthétisé des triflates *in situ* à partir des alcools correspondants.<sup>46</sup> L'addition d'hydroxylamine *O*-benzylée en présence de lutidine comme base permet d'accéder alors aux dérivés d'acides *N*-benzyloxy- $\alpha$ -aminés voulus (Schéma 30).

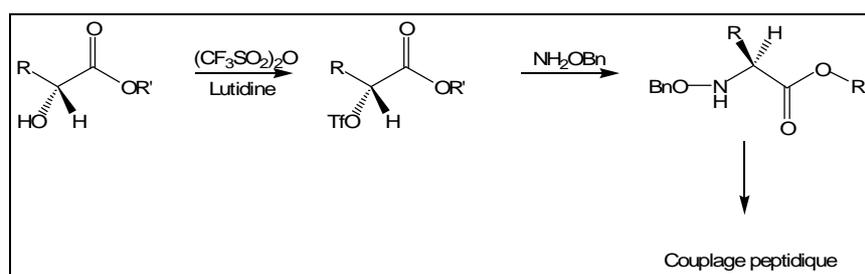


Schéma 30

Plusieurs acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés ont été obtenus avec de bons rendements chimiques et optiques (Tableau 4).

Configuration	R'	R	Rendement (%)	
			Chimique	optique
R	Et	CH <sub>3</sub>	89	100
R	Me	CH <sub>2</sub> Ph	84	100
R	Me	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	78	100
R	Me	CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub>	88	95
S	Me	Ph	88	76

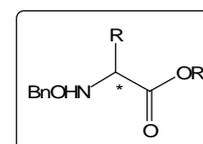


Tableau 4

Lorsque ces travaux ont été effectués, seuls les esters  $\alpha$ -hydroxylés de configuration *S* étaient commerciaux. Pour obtenir les acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés *L*, il fallait partir des esters  $\alpha$ -hydroxylés de configuration *R*. Pour cela Feenstra *et al.* ont mis en place une méthode de

<sup>45</sup> R.W. Feenstra, E.H.M. Stokkingreef, R.J.F. Nivard and H.C.J. Ottenheijm. "Interconversion of (R) and (S)-*O*-benzyl- $\alpha$ -hydroxylamino acid esters of high optical purity." *Tetrahedron*, **1988**, 44 (17), 5583-5595.

<sup>46</sup> R.W. Feenstra, E.H.M. Stokkingreef, R.J.F. Nivard and H.C.J. Ottenheijm. « An efficient synthesis of *N*-hydroxy- $\alpha$ -amino acid derivatives of high optical purity. » *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 1215-1218.

synthèse de ces esters.<sup>45</sup> A partir des esters  $\alpha$ -hydroxylés de configuration *S*, le triflate correspondant est mis en présence de DMF. Une hydrolyse et une alcoololyse acide donnent l'ester  $\alpha$ -hydroxylé de configuration *R* (Schéma 31).

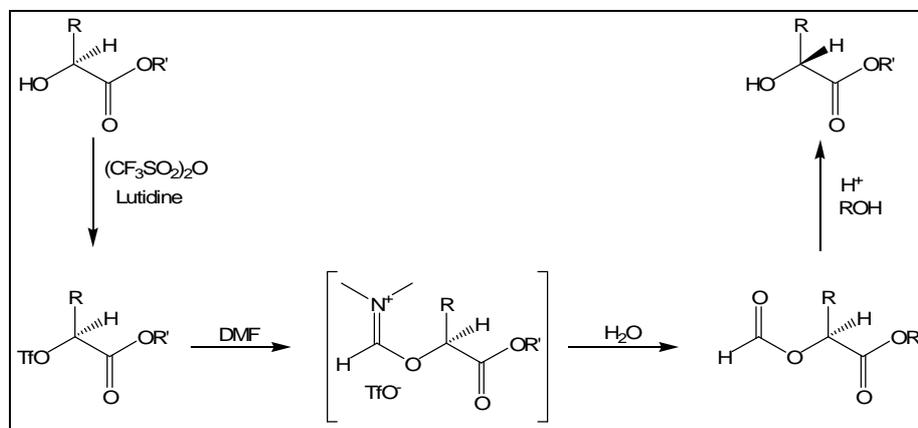


Schéma 31

L'utilisation des triflates dérivés des esters  $\alpha$ -hydroxylés est plus commode que celle des  $\alpha$ -bromo-esters pour obtenir des *N*-hydroxy-amino acides, car les esters  $\alpha$ -hydroxylés énantiopurs sont plus facilement accessibles.

Parallèlement aux synthèses utilisant les triflates, plusieurs équipes ont mis au point des synthèses d'acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés en utilisant la réaction de Mitsunobu.

#### iv. Substitution nucléophile dans les conditions de Mitsunobu

La réaction de Mitsunobu est une réaction douce permettant l'accès à de nombreuses fonctions à partir d'alcools primaires, secondaires ou tertiaires avec une inversion de configuration (Schéma 32).<sup>47</sup>

<sup>47</sup> O. Mitsunobu. "The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in synthesis and Transformation of Natural Products" *Synthesis*, **1981**, 1-28

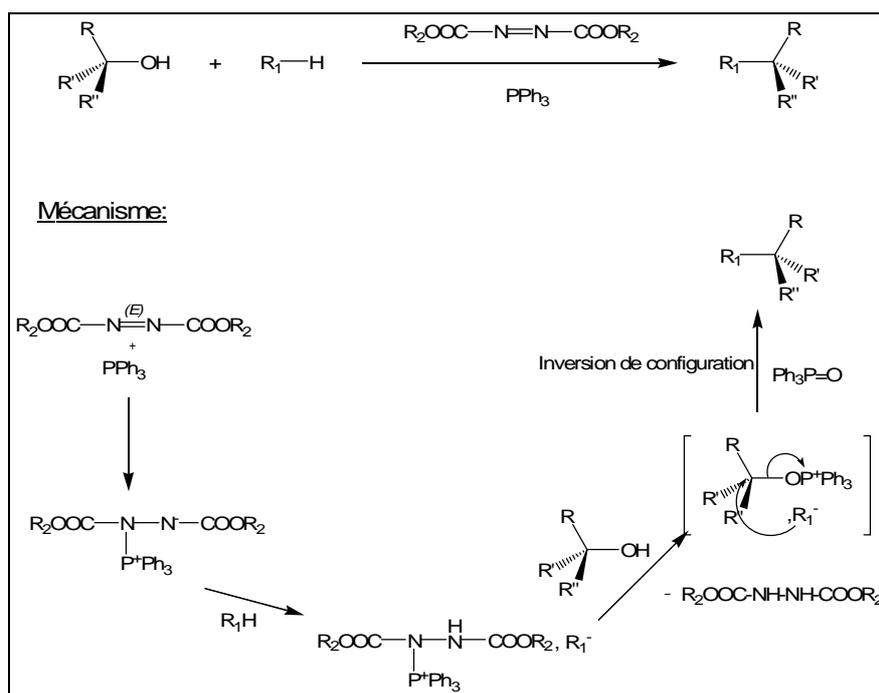


Schéma 32

L'application de la réaction de Mitsunobu à des esters  $\alpha$ -hydroxylés afin d'obtenir des hydroxamates a été essayée une première fois par l'équipe de Miller<sup>48</sup> qui s'est rapidement heurtée à la baisse des rendements du produit voulu au profit de produits secondaires (Schéma 33). Ces problèmes sont essentiellement liés à l'utilisation du réactif de Mitsunobu en excès.

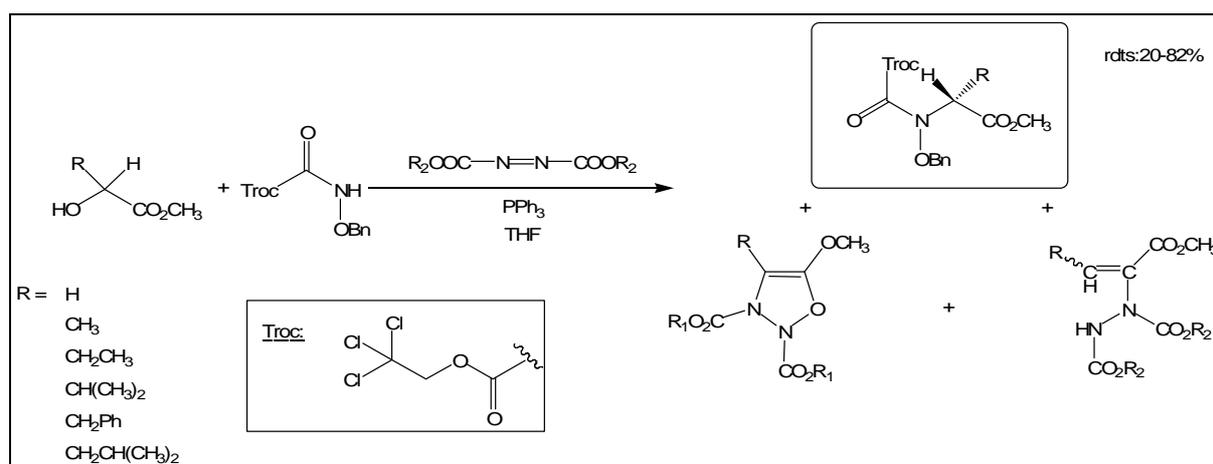


Schéma 33

<sup>48</sup> T. Kolasa and M. J. Miller. "Reactions of  $\alpha$ -Hydroxy Carbonyl Compounds with Azodicarboxylates and Triphenylphosphine: Synthesis of  $\alpha$ -N-Hydroxy Amino Acid derivatives." *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 4978-4984.

L'équipe de Hanessian a amélioré cette méthode en remplaçant les groupements protecteurs de l'hydroxylamine, augmentant ainsi les rendements (62 à 91%).<sup>49</sup> En synthétisant des acides aminés *N*-hydroxylés, *N* et *O* substitués, grâce à la réaction de Mitsunobu, ils ont montré qu'il était possible de conserver de bons excès énantiomériques (82 à 96%) avec cette méthode (Schéma 34).

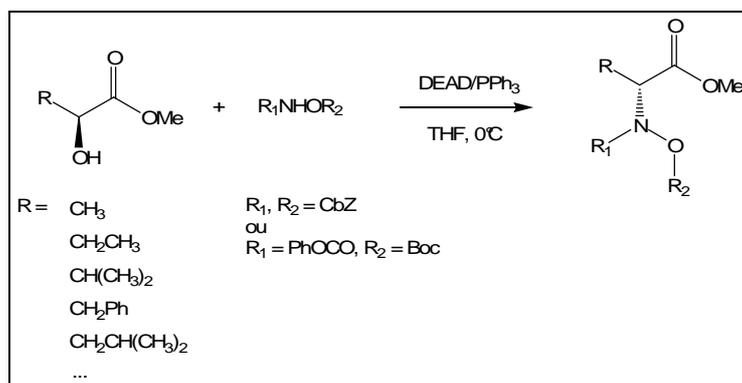


Schéma 34

Si les essais de contrôle de la stéréochimie ont été encourageants, il faut noter que les conditions de déprotection, sans rupture de la liaison N-O, de l'azote des hydroxylamines synthétisées ne sont pas encore décrites. D'autres essais de contrôle de la stéréochimie appliquée à la synthèse d'acides aminés *N*-hydroxylés ont été décrits au début des années 1990 en utilisant une copule chirale.

#### v. Amination électrophile d'un énolate chirale

Oppolzer et Tamura se sont aidés de sultames pour induire et contrôler la configuration du carbone  $\alpha$  d'acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés.<sup>50</sup> Utiliser les deux sultames énantiomères, facilement accessibles, permet de synthétiser les deux séries d'acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés. Le sultame est introduit comme copule chirale sur le carbonyle de l'acide activé. La liaison C-N est ensuite créée diastéréosélectivement grâce au 1-chloro-1-nitrosocyclohexane qui est hydrolysé en groupement NHOH. Ainsi, Oppolzer et Tamura ont obtenu certains acides *N*-

<sup>49</sup> S. Hanessian and R.Y. Yang. "Synthesis of *N*-hydroxy  $\alpha$ -Amino Acids from  $\alpha$ -Hydroxy Acids with High Enantiomeric Purity." *Synlett*, **1995**, 633-634.

<sup>50</sup> W. Oppolzer and O. Tamura. "Asymmetric synthesis of  $\alpha$ -amino acids and  $\alpha$ -*N*-hydroxyamino acids via electrophilic amination of bornanesultam-derived enolates with 1-chloro-1-nitrosocyclohexane." *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31 (7), 991-994.

hydroxy- $\alpha$ -aminés de la série D (Schéma 35) avec de bons excès énantiomériques (82,6% étant le plus faible, pour la *N*-hydroxy- $\alpha$ -phényl-glycine).

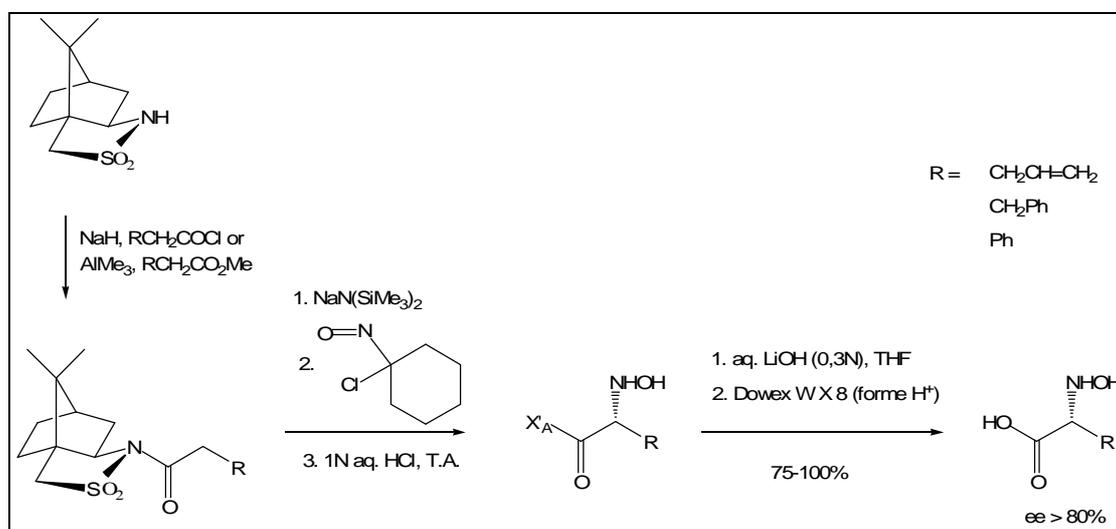


Schéma 35

Les conditions basiques pour retirer la copule chirale sont un léger inconvénient de cette méthode. S'il n'existe pas d'autre exemple utilisant un sultame pour créer la liaison C-N, ces copules chirales ont permis dans plusieurs exemples de créer la liaison C-C diastéréosélectivement, ce que nous verrons un peu plus loin.

### c) Formation des liaisons C-C

Les oximes et les nitrones sont des précurseurs commodes à la préparation des *N*-hydroxy-peptides. Les insaturations qu'elles présentent permettent une formation des deux types de liaisons C-C. Nous allons voir comment il est possible à partir de ces composés et de préparer des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés (et dérivés) en créant les liaisons C-C.

#### i. Création de la liaison C-C entre le $\text{C}_\alpha$ et l'acide carboxylique

- Oximes

La création de liaison C-C par addition de cyanures sur des oximes est connue depuis longtemps.<sup>41</sup> Neelakantan et Hartung ont mis au point trois techniques permettant d'obtenir des nitriles *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés précurseurs des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés correspondants.

La première méthode utilise l'addition du cyanure d'hydrogène anhydre sur des oximes et permet de récupérer les produits avec des rendements allant de 60 à 67% (Schéma 36).

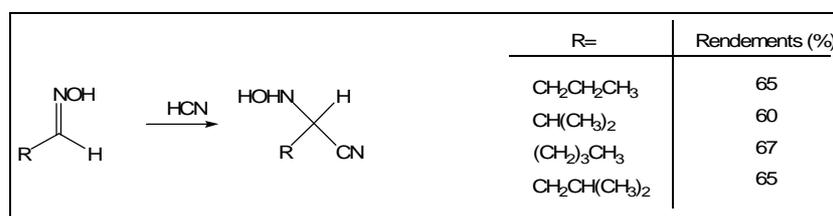


Schéma 36

La deuxième méthode est une adaptation de la réaction de Strecker. Des aldéhydes et des cétones sont mis en solution aqueuse avec de l'hydroxylamine, puis du cyanure de sodium. Les rendements varient de 42 à 98% (Schéma 37). En revanche les auteurs notent que cette réaction n'a pas permis de récupérer les produits voulus avec le benzaldéhyde, le phénylacétaldéhyde, l'hydrocinnamaldéhyde et l'acétophénone.

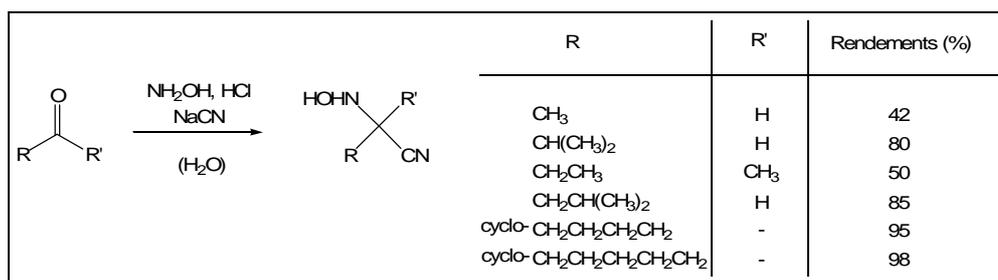


Schéma 37

La troisième technique fait appel à l'oxime, au bisulfite de sodium et au cyanure de sodium. Aucune réaction n'est observée entre l'oxime et le cyanure de sodium si le bisulfite est absent. L'ajout de bisulfite permet la formation d'un produit intermédiaire via l'addition de sulfite sur l'oxime (Schéma 38). Les nitriles N-hydroxy- $\alpha$ -aminés sont obtenus avec des rendements allant de 35 à 95%.

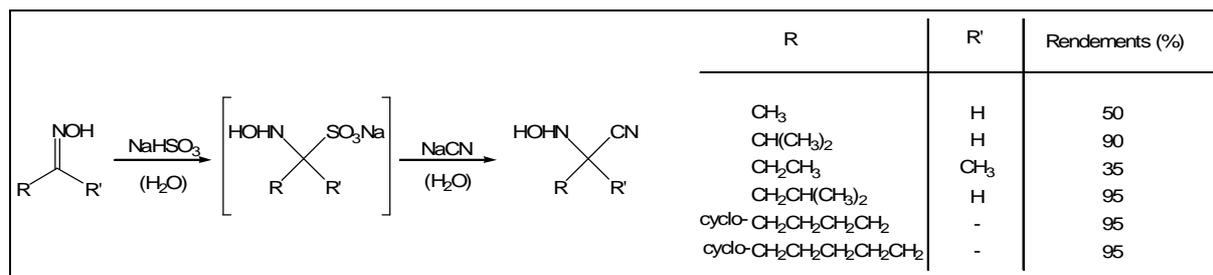


Schéma 38

L'hydrolyse des nitriles *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés à l'acide chlorhydrique dans l'eau permet de récupérer les acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés avec des rendements allant de 40 à 65% sur les exemples présentés (Schéma 39).

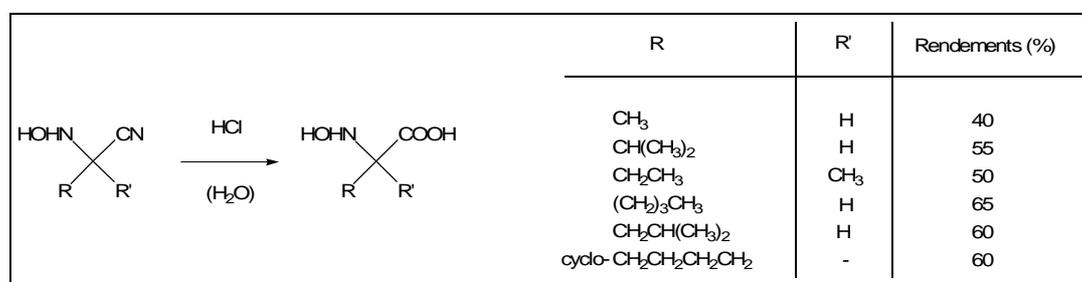


Schéma 39

Si l'addition du groupement nitrile se fait relativement bien, les conditions dures d'hydrolyse des groupements nitriles en acides ont limité le développement de cette méthode. Les études plus récentes utilisant des nitrones ont permis d'obtenir avec des rendements comparables des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés.

- Nitrones

En partant d'amines secondaires surtout cycliques, Murahashi et Shiota ont synthétisé des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés racémiques directement par une addition nucléophile de cyanure de potassium sur la nitronne formée in situ, avec des rendements de 72 à 90%, ce qui est comparable à la méthode précédente utilisant les oximes.<sup>51</sup> L'hydrolyse de ces nitriles a permis d'obtenir des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés secondaires (doublement substitués au niveau de l'azote) cycliques avec des rendements de 86 à 93% (Schéma 40). Il faut noter que

<sup>51</sup> S.I. Murahashi and T. Shiota. "Short-Step Synthesis of Amino Acids and *N*-Hydroxyamino Acids from Amines" *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 6469-6472.

les conditions d'hydrolyse dans ce cas sont plus douce (HCl 4N) que celles de Neelakantan et Hartung (HCl concentré).

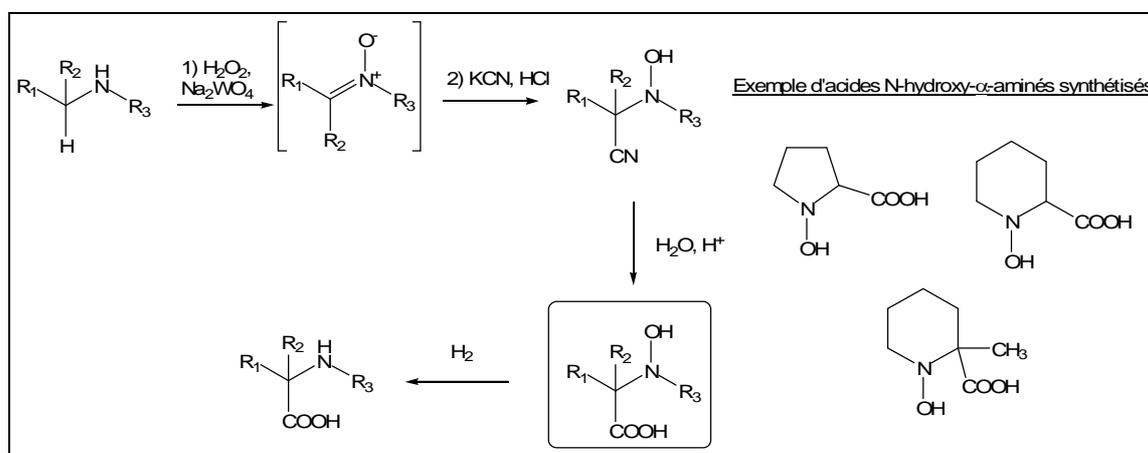


Schéma 40

La formation d'acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés dont l'hydroxylamine est inscrite dans un cycle, permet leur insertion en bout de chaîne peptidique mais pas dans le « cœur » du peptide par une liaison pseudo-peptidique CO-N(OH). Les auteurs n'ont pas développé dans cet article la méthode pour des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés non cycliques.

Merino *et al.* utilisent une nitrosonium chirale correspondant au synthon « cation glycinate » sur lequel ils additionnent diastéréosélectivement un groupement alcyne.<sup>52</sup> Le trichlorure de ruthénium et le périodate de sodium sont utilisés pour oxyder ce groupement propargyle en acide. Enfin, l'ajout de diazométhane permet d'obtenir l'ester. Il est cependant à noter qu'il n'est pas encore rapporté dans la littérature une méthode permettant de cliver le groupement benzyle sur l'azote sans toucher la liaison N-O.

<sup>52</sup> P. Merino and S. Franco. "Asymmetric Addition Reactions of Lithium (Trimethylsilyl)acetylide with Chiral  $\alpha$ -Amino Nitrones. Synthesis of Diastereomerically Pure N-Hydroxy- $\alpha$ -amino Acids" *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 5627-5630.

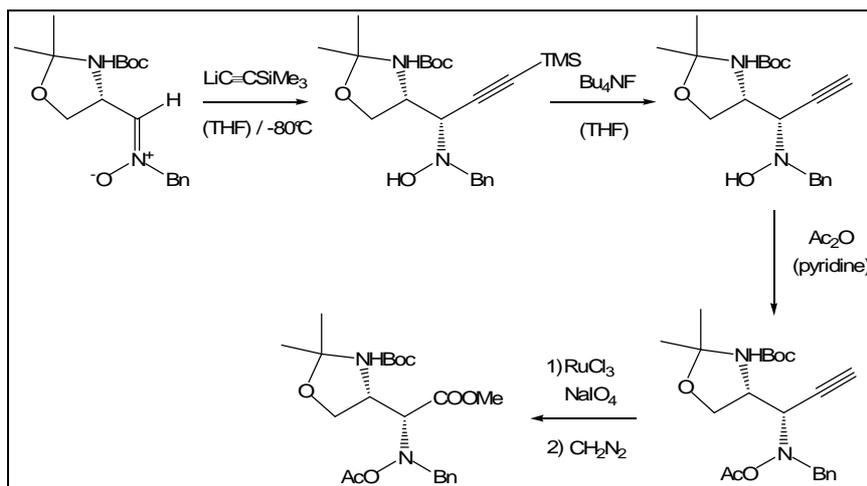


Schéma 41

ii. Création de la liaison C-C entre le C $\alpha$  et le résidu

• Oximes

A la fin des années 1980,<sup>53</sup> l'équipe de Miller s'est penché sur la création de la liaison C-C d'acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés à partir d'éthers d'oximes. Pour cela, les membres de cette équipe ont essayé d'ajouter les résidus R d'acides aminés à l'aide d'organométalliques. Si les essais d'organomagnésiens et d'organozinciques n'ont pas donné les résultats voulus, les organolithiens ont permis d'accéder à des acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés protégés au niveau de l'oxygène de l'hydroxylamine avec des rendements variant de 63 à 80%. Ainsi, les auteurs ont montré que l'addition se faisait uniquement sur la double liaison C=N lorsque le carbonyle est fortement désactivé comme dans le cas du carboxylate et de l'amide.

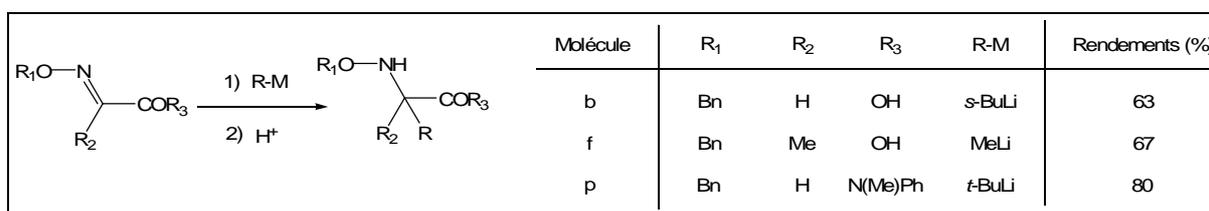


Schéma 42

Les auteurs ont alors testé différentes méthodes d'induction en greffant des groupements chiraux au niveau de l'éther d'oxime ou de l'amide. Lorsque des inductions asymétriques sont observées, les excès diastéréomériques varient de 20 à 47% (Schéma 43).

<sup>53</sup> a) T. Kolasa, S. Sharma and M. J. Miller. "Reactions of organometallics with oximes. Synthesis of  $\alpha$ -*N*-hydroxy amino acids" *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28 (42), 4973-4976. b) T. Kolasa, S. Sharma and M. J. Miller. " $\alpha$ -*N*-Hydroxyamino Acid derivatives" *Tetrahedron*, **1988**, 44 (17), 5431-5440.

Induction par un éther d'oxime		R*	R-M	Rendement (%)	Excès diastéréomérique (%)
		(±) CH(Me)Ph	<i>n</i> -BuLi	70	0
		(±) CH(Me)Ph	<i>t</i> -BuLi	69	30-40
		(±) THP	<i>n</i> -BuLi	30	30
		( <i>R</i> )-CHPh(CH <sub>2</sub> OMe)	<i>n</i> -BuLi	33	33

Induction par un amide		R*	R'	R-M	Rendement (%)	Excès diastéréomérique (%)
		( <i>D</i> )-NHCH(Me)Ph	H	<i>n</i> -BuLi	79	0
		( <i>D</i> )-NHCH(Me)Ph	H	<i>t</i> -BuLi	79	47
		( <i>R,S</i> )-NHCH(Me)CH(OR')Ph	CH <sub>3</sub>	<i>t</i> -BuLi	68	33
		( <i>S</i> )-NHCH( <i>i</i> Pr)COOH	H	<i>n</i> -BuLi	53	20

Schéma 43

Les inductions sur ces exemples donnent des excès faibles, mais par la suite plusieurs travaux reprennent les sultames comme copules chirales lors d'additions diastéréosélectives sur des oximes. En 1996, Hanessian et Yang ont mis en réaction des bromures d'allyle en présence de zinc avec une telle oxime (Schéma 44) avec des rendements allant de 88 à 99% et des rapports diastéréomériques allant de 84:16 à 99:1.<sup>54</sup>

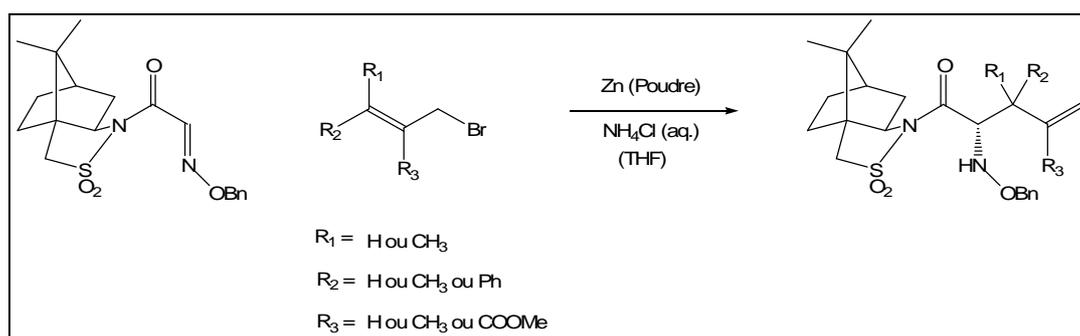


Schéma 44

<sup>54</sup> S. Hanessian and R.-Y. Yang. "The Asymmetric Synthesis of Allylglycine and Other Unnatural  $\alpha$ -Amino Acids via Zinc-Mediated allylation of Oximes in Aqueous Media" *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (30), 5273-5276.

Miyabe *et al.* ont ensuite additionné de manière radicalaire et diastéréosélective différents groupements sur la même oxime.<sup>55</sup> Ils ont fait varier les différents paramètres de leur réaction, afin de déterminer les conditions optimales de l'addition (Schéma 45).

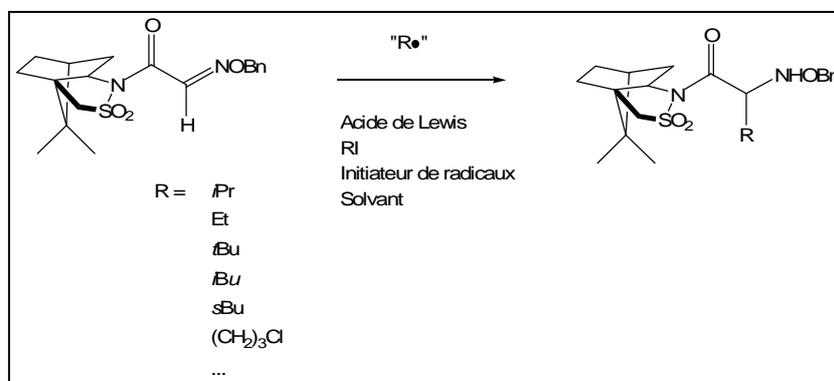


Schéma 45

Miyabe *et al.* se sont également intéressés à l'addition diastéréosélective de groupements allyles sur cette oxime à l'aide d'iodure d'indium et de palladium (Schéma 46) avec des excès diastéréomériques variant de 60 à 95%.<sup>56</sup>

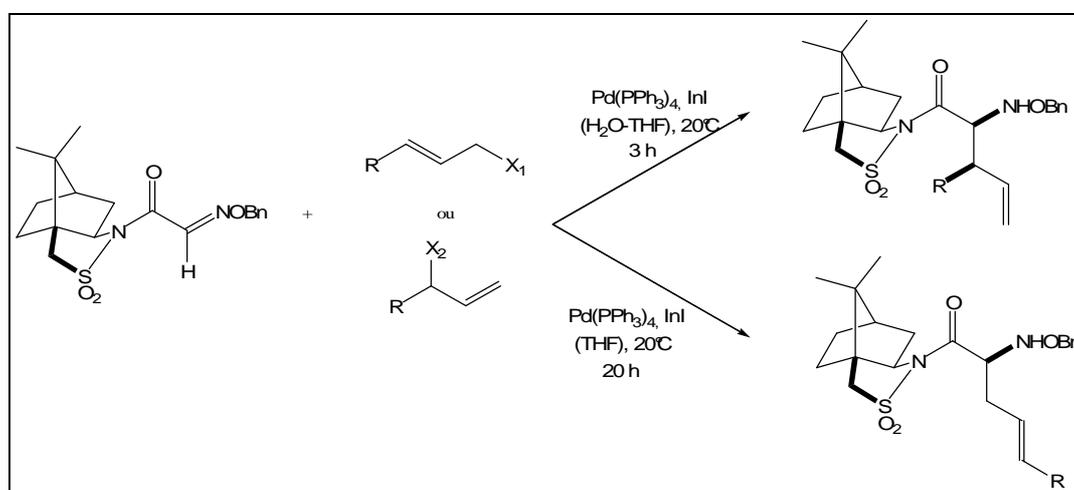


Schéma 46

Avoir une copule chirale facilement clivable après addition d'organométallique semble être une voie d'accès aux acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés et leurs dérivés. L'inconvénient est la difficulté de cliver la copule sans risque pour le reste de la molécule.

<sup>55</sup> H. Miyabe, C. Ushiro, M. Ueda, K. Yamakawa and T. Naito. "Asymmetric Synthesis of  $\alpha$ -Amino Acids Based on Carbon Radical Addition to Glyoxylic Oxime Ether" *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 176-185.

<sup>56</sup> H. Miyabe, Y. Yamaoka, T. Naito and Y. Takemoto. "Regioselectivity in Palladium-Indium Iodide -Mediated Allylation Reaction of Glyoxylic Oxime Ether and N-Sulfonylimine" *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 6745-6751.

• Nitrones

Merino *et al.* utilisent une nitrone chirale correspondant au synthon « cation glycinate » et deux acides de Lewis différents (le dibromure de zinc et le chlorure de diéthylaluminium) pour introduire de manière diastéréosélective le résidu R par l'utilisation d'un organomagnésien.<sup>57</sup> Ils obtiennent ainsi des dérivés d'acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés de la série L ou de la série D (Schéma 47). Le contrôle de la diastéréosélectivité se fait en fonction de la nature de l'acide de Lewis.<sup>58</sup> Ainsi un acide de Lewis de type  $\text{Et}_2\text{AlCl}$  permet d'obtenir l'isomère *Anti* et  $\text{ZnBr}_2$ , le *Syn*. Comme indiqué précédemment, il n'est pas possible de cliver le groupement benzyle sur l'azote sans toucher la liaison N-O.

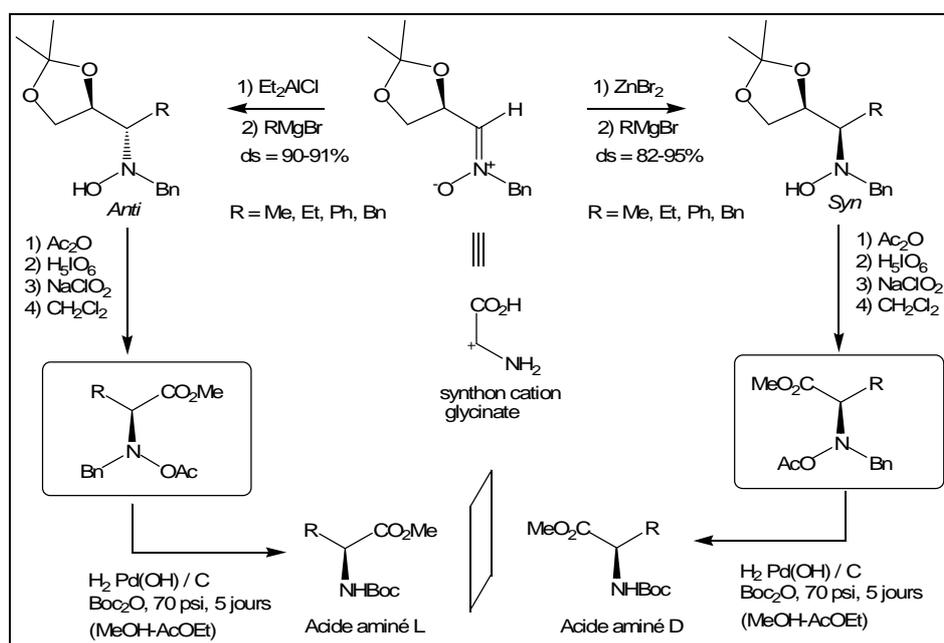


Schéma 47

Nous avons vu dans les exemples précédents que l'utilisation de nitrones et d'oximes permet d'envisager via la formation des liaisons C-C une synthèse diastéréosélective de dérivés d'acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés. Cependant, il existe des difficultés d'ordre synthétique comme le clivage des copules chirales qui limitent actuellement ces voies d'accès aux acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés.

Une autre manière permettant d'obtenir des acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés tout en contrôlant leur stéréochimie se trouve dans la formation de la liaison C-H.

<sup>57</sup> P. Merino, E. Castillo, S. Franco, F. L. Merchán and T. Tejero. "Enantiodivergent Approach to D- and L-Secondary N-Hydroxy- $\alpha$ -amino Acids by Using N-Benzyl-2,3-O-isopropylidene-D-glyceraldehyde Nitron as an Effective N-Hydroxyglycine Cation Equivalent" *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 2371-2374.

<sup>58</sup> P. Merino. "New developments in nucleophilic additions to nitrones" *C. R. Chimie*, **2005**, 8, 775-788.

### d) Formation de liaison C-H

La formation de la liaison C-H implique généralement l'utilisation de dérivés borés qui permettent d'arrêter la réduction à l'hydroxylamine, sans aller jusqu'à l'amine. Toutefois, il existe au moins un exemple n'utilisant pas de bore pour obtenir l'hydroxylamine par réduction. Nous allons d'abord voir cette méthode.

#### i. Réduction de dérivés nitrés

L'équipe de Rajappa a étudié la réduction de dérivés nitrés en hydroxylamines appliquée à la synthèse de pseudopeptides cycliques.<sup>59</sup> Ainsi, cette équipe a mis au point une technique de réduction utilisant du zinc en phase aqueuse. Deux équipes différentes avaient précédemment montré qu'il était difficile de s'arrêter à l'hydroxylamine à partir de dérivés nitrés.<sup>60</sup> L'équipe de Rajappa a néanmoins obtenu les pseudocyclopeptides correspondants avec des rendements allant de 40 à 85% (Schéma 48). Il est cependant à noter qu'aucun contrôle de la diastéréosélectivité n'est rapporté dans cet article.

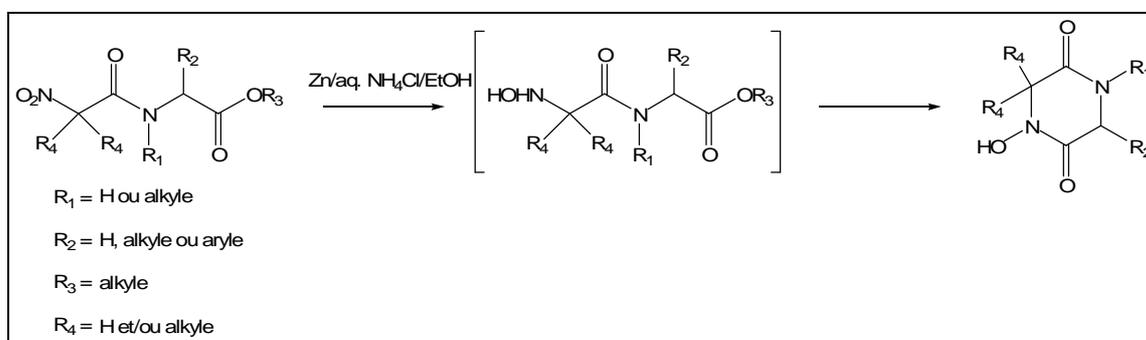


Schéma 48

Les auteurs invoquent la difficulté pour contrôler la réduction afin que celle-ci s'arrête à l'hydroxylamine, c'est pourquoi l'utilisation de dérivés borés a été particulièrement étudiée car elle permet une réduction douce s'arrêtant à l'hydroxylamine.

<sup>59</sup> P. Chittari, V. R. Jadhav, K. N. Ganesh and S. Rajappa. "Synthesis and metal complexation of chiral 3-mono- or 3,3-bis-allyl-2-hydroxypyrrrolopyrazine-1,4-diones" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1998**, 1319-1324.

<sup>60</sup> a) H. Feuer, R. S. Bartlett, B. F. Vincent, Jr. and R. S. Anderson. "Diborane Reduction of Nitro Salts. A New synthesis of N-Monosubstituted Hydroxylamines" *J. Org. Chem.*, **1965**, 30, 2880-2882. b) G. W. Kabalka and L. H. M. Guindi "Selected reductions of conjugated nitroalkenes" *Tetrahedron*, **1990**, 46 (21), 7443-7457.

ii. Réduction d'éthers d'oximes et d'oximes

La réduction des oximes et celle des éthers d'oximes sont souvent menées en parallèle dans les articles que nous allons voir. Ces réductions impliquent l'utilisation de dérivés borés. Nous verrons d'abord les réactifs de type diborane ou  $BH_3$ -THF (complexe borane-tétrahydrofurane) qui sont utilisés pour réduire des oximes simples en hydroxylamines. Ensuite nous examinerons les exemples de réduction permettant d'accéder aux N-hydroxy- $\alpha$ -amino-acides ou à leurs dérivés. Pour cela, nous étudierons les exemples avec le cyanoborohydrure de sodium et les dérivés de type borane-amine.

• **Diborane et  $BH_3$ -THF**

En 1965, Feuer *et al.* rapportent une technique de réduction d'alkyles et d'aryles oximes en hydroxylamines en utilisant du diborane dans le THF avec des rendements de 50 à 91%.<sup>61</sup>

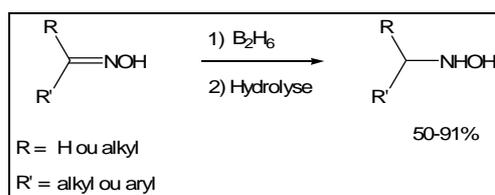


Schéma 49

Un mécanisme est proposé dans cet article (Schéma 50). Les auteurs se basent sur le suivi de la consommation d'hydrure par analyse élémentaire et sur des analyses infra-rouges et RMN  $^1H$ . Trois étapes sont proposées pour la réduction des oximes. La première étape est l'addition de borane sur le groupement OH de l'oxime, ce qui libère une molécule d'hydrogène. La deuxième étape est l'addition d'un deuxième équivalent de borane sur l'azote de l'oxime, ce qui conduit à la réduction de la double liaison. La troisième étape est l'hydrolyse de cet intermédiaire.

<sup>61</sup> H. Feuer, B. F. Vincent, Jr. and R. S. Bartlett. "The Reduction of Oximes with Diborane. A new Synthesis of N-Monosubstituted Hydroxylamines" *J. Org. Chem.*, **1965**, 30 (9), 2877-2879.

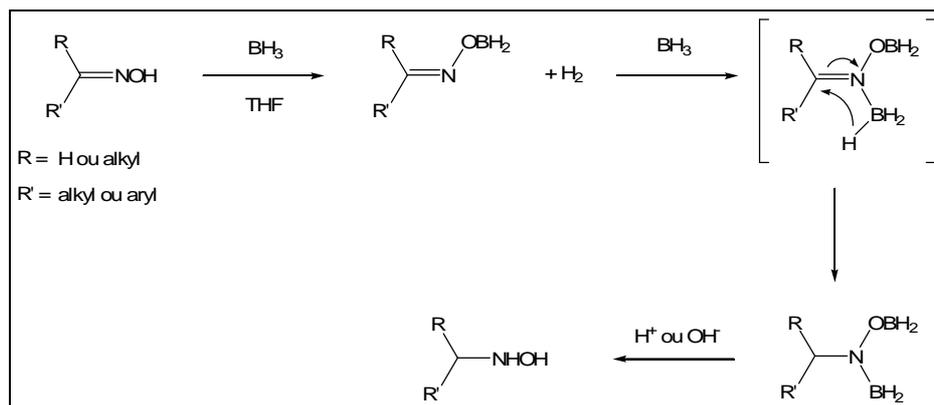


Schéma 50

Des essais ont été réalisés pour réduire des éthers d'oximes avec ce type de réactif, mais la liaison N-O est coupée et l'on obtient l'amine et l'alcool correspondants. Par ailleurs, aucun exemple utilisant ce type de borane n'a été trouvé pour la réduction d'oximes en acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés ou leurs dérivés.

Nous allons donc d'abord voir les méthodes de réduction d'oximes et éthers d'oxime rapportées avec du cyanoborohydrure de sodium.

- $\text{NaBH}_3\text{CN}$

En 1982, Jahngen et Rossomando utilisent le cyanoborohydrure de sodium pour réduire l'acide  $\alpha$ -hydroxyimino-acétique en *N*-hydroxy-glycine, ce qui leur permet d'accéder à la hadacidine (Schéma 51).<sup>62</sup> Le rendement de la réduction est de 77%. Cette réduction permet d'obtenir un premier acide *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminé. Dans cet exemple, nous pouvons voir la chimiosélectivité du cyanoborohydrure de sodium qui ne réduit pas l'acide.

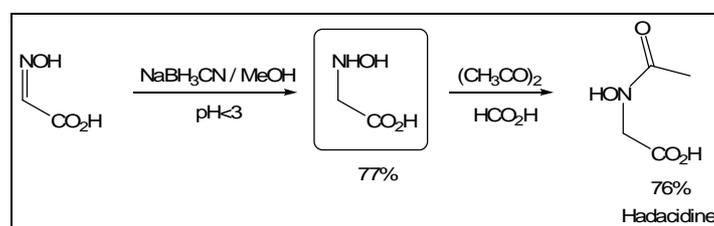


Schéma 51

<sup>62</sup> E. G. E. Jahngen, Jr. and E. F. Rossomando. "The synthesis of hadacidin: sodium cyanoborohydride reduction of  $\alpha$ -oximinic acids" *Synth. Commun.*, **1982**, 12 (8), 601-606.

En 1994, Zimmer *et al.* réduisent des triméthylsiloxy-4H-1,2-oxazines avec du cyanoborohydrure de sodium en présence d'acide acétique et obtiennent avec des rendements allant de 31 à 80% les 3,4,5,6-tetrahydro-2H-1,2-oxazines correspondantes.<sup>63</sup> Dans le cas des esters éthyliques, en particulier, une légère diastéréosélectivité a été rapporté (de 73:27 à 70:30 en *cis:trans*).

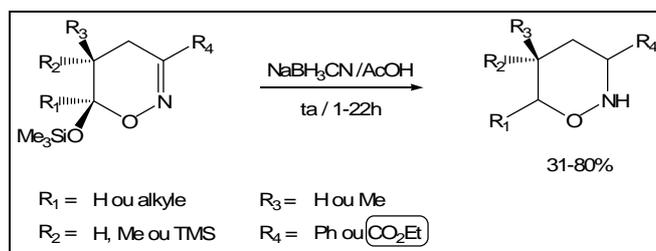


Schéma 52

Avec le cyanoborohydrure de sodium, nous n'avons pas trouvé d'autres exemples de réduction en hydroxylamines (ou éthers d'hydroxylamines) à partir d'oximes (ou d'éthers d'oximes) avec un groupement en  $\alpha$ .

- Boranes-amines

Kikugawa et Kawase ont rapporté dès 1977 une technique utilisant le complexe borane-pyridine pour la réduction d'oximes en hydroxylamines avec des rendements de 74 à 92% (Schéma 53).<sup>64</sup> Surtout, les auteurs notent que ce réactif de réduction n'a pas la capacité de réduire les hydroxylamines, ce qui limite les réactions secondaires. Aucune diastéréosélectivité n'a été rapportée.

<sup>63</sup> R. Zimmer, T. Arnold, K. Homann and H. -U. Reissig. "An Efficient and Simple Synthesis of 3,4,5,6,-Tetrahydro-2H-1,2-oxazines by Sodium Cyanoborohydride Reduction of 5,6-Dihydro-4H-1,2-oxazines" *Synthesis*, **1994**, 1050-1056.

<sup>64</sup> Y. Kikugawa and M. Kawase. "Selective reduction of oximes with pyridine-borane" *Chem. Letters*, **1977**, 1279-1280.

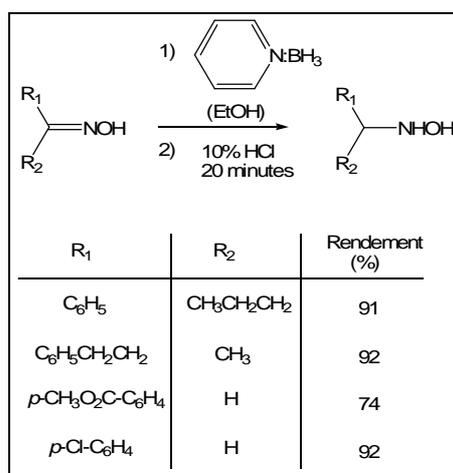


Schéma 53

En 1978, ces complexes ont été utilisés par Herscheid et Ottenheijm pour réduire des oximes ou éthers d'oximes en esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés avec des rendements allant de 47 à 95% (Schéma 54).<sup>65</sup> La même équipe a publié en 1980 un travail similaire décrivant des conditions de réduction avec le complexe borane-pyridine permettant d'accéder à des *N*-hydroxy-pipérazines.<sup>66</sup> Plus tard, les auteurs ont présenté des résultats comparatifs de réduction entre le complexe borane-pyridine et le complexe borane-triméthylamine. Ils ont ainsi réduit par deux méthodes les oximes ou éthers d'oximes en esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés avec des rendements pouvant être quantitatifs (Schéma 54).<sup>67</sup> Des conditions très acides sont cependant nécessaires pour activer ces oximes.

<sup>65</sup> J. D. M. Herscheid and H. C. J. Ottenheijm. "A practical synthesis of *N*-hydroxy- $\alpha$ -amino acid esters" *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 51, 5143-5144.

<sup>66</sup> J. D. M. Herscheid, R. J. F. Nivard, M. W. Tijhuis, H. P. H. Scholten and H. C. J. Ottenheijm. " $\alpha$ -Functionalized Amino Acid Derivatives. A synthetic Approach of Possible Biogenetic Importance" *J. Org. Chem.*, **1980**, 45 (10), 1881-1885.

<sup>67</sup> M. W. Tijhuis, J. D. M. Herscheid and H. C. J. Ottenheijm. "A practical Synthesis of *N*-Hydroxy- $\alpha$ -amino Acid Derivatives" *Synthesis*, **1980**, 891.

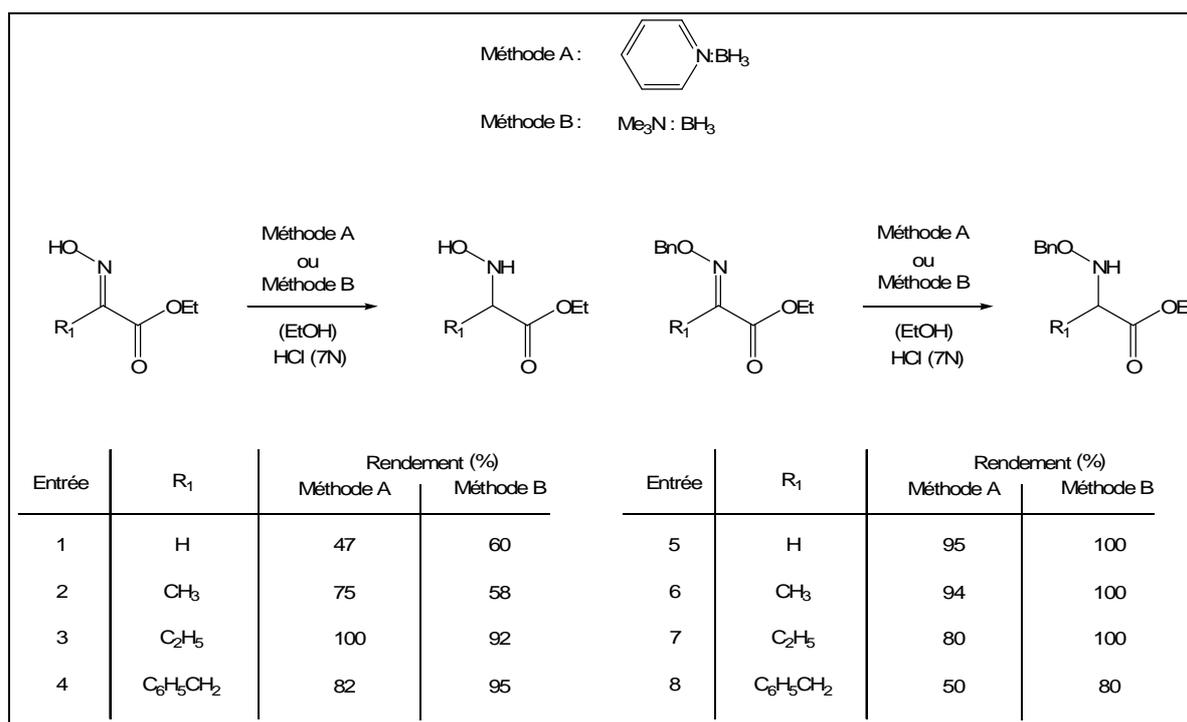


Schéma 54

Ils expliquent que la réactivité du borane-pyridine peut être atténuée lorsque les oximes sont en  $\alpha$  d'une fonction amide (Schéma 55). Ainsi, dans le cas où le groupement R<sub>1</sub> est petit (entrées 1, 2, 5 et 6), la méthode avec le borane-pyridine fonctionne très bien. En revanche, dans les cas de groupements R<sub>1</sub> encombrants (entrées 3, 4, 7 et 8), le complexe borane-triméthylamine donne de meilleurs résultats (rendements pouvant aller jusqu'à 94%). Les auteurs supposent que le complexe borane-triméthylamine est plus stable dans ces conditions très acides que le complexe borane-pyridine.

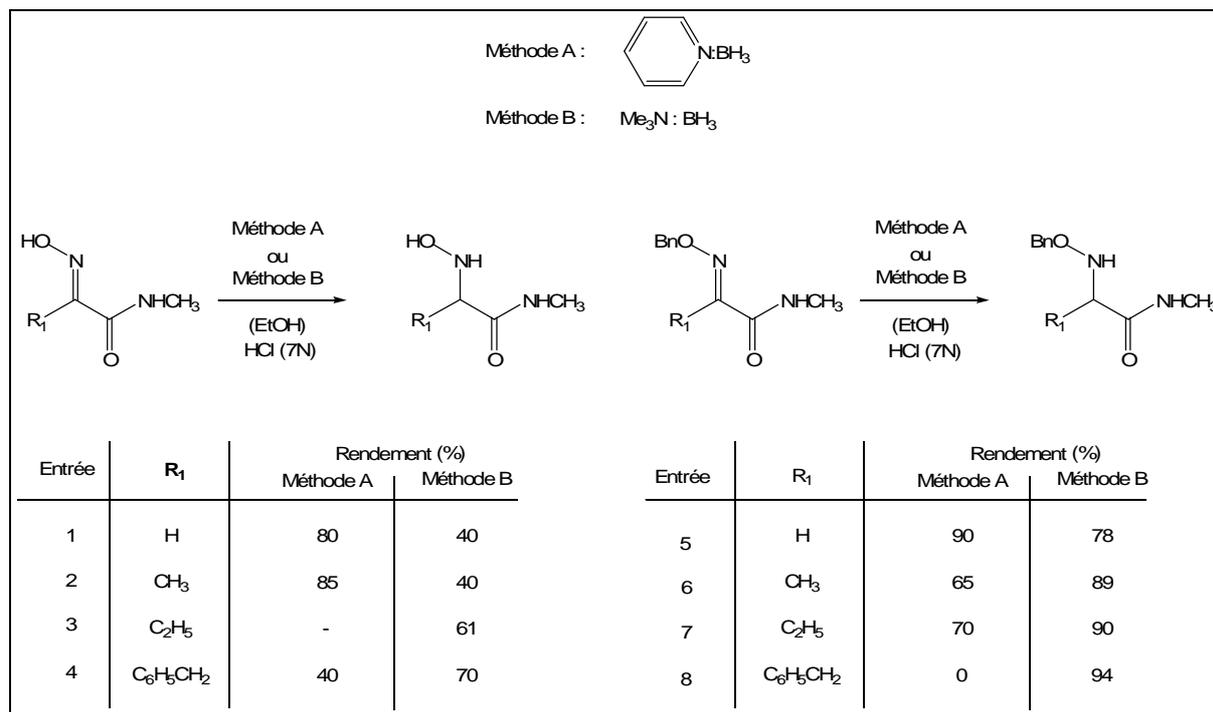


Schéma 55

L'obtention directe d'amides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés en utilisant  $\text{BH}_3:\text{NMe}_3$  n'est pas systématique. En effet en 1982, la même équipe s'est intéressée à la synthèse de dioxopipérazines substituées par des indoles.<sup>68</sup> Lors de ce travail, les auteurs n'ont pas réussi à réduire les oximes en  $\alpha$  d'un amide (Schéma 56). En revanche, ils ont pu obtenir les hydroxylamines en réduisant dans un premier temps les esters correspondants avec les conditions décrites ci-dessus puis en les aminolysant en amides, prouvant ainsi la flexibilité de leur méthode. Les rendements sont cependant moyens.

<sup>68</sup> H. O.J. Ottenheim, R. Plate, J. H. Noordik and J. D. M. Herscheid. "*N*-Hydroxytryptophan in the Synthesis of Natural Products Containing Oxidized Dioxopiperazines. An Approach to the Neoechinulin and Sporidesmin Series" *J. Org. Chem.*, **1982**, *47*, 2147-2154.

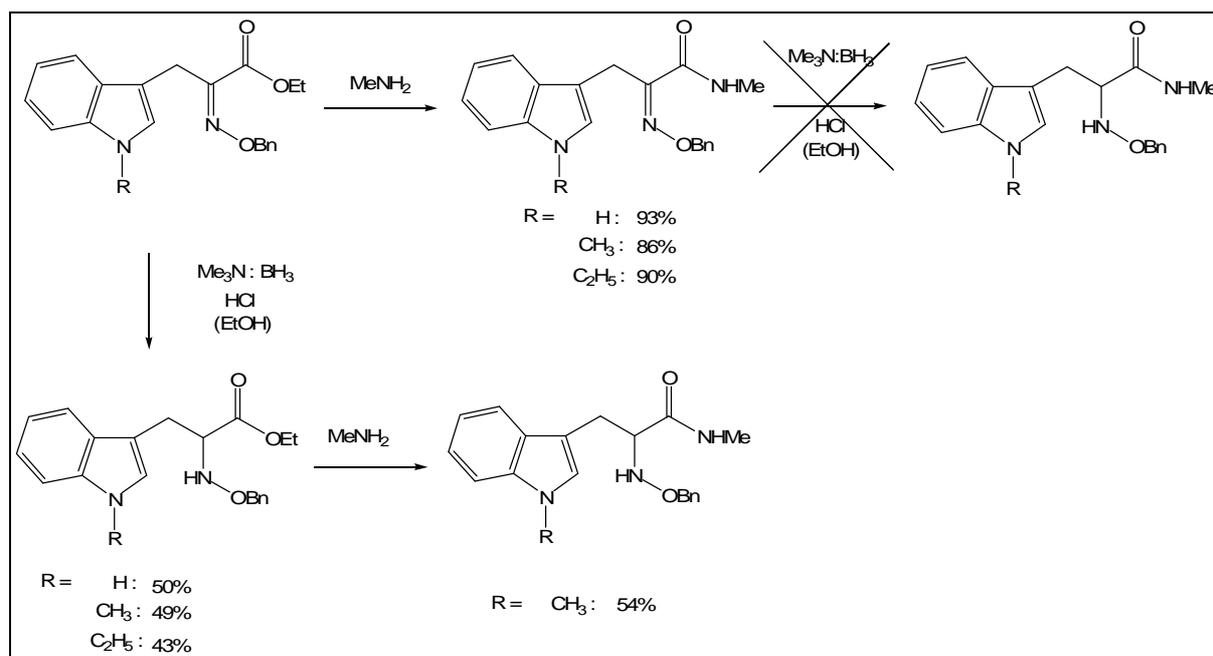


Schéma 56

Lors de cette étude bibliographique, nous avons vu la progression de l'utilisation de dérivés borés pour la réduction d'oximes en hydroxylamines. Il est nécessaire de travailler en milieu acide pour réduire les  $\alpha$ -hydroxyimino-acides ou dérivés (esters, amides). Ceci implique de travailler avec des réducteurs adéquats, le complexe borane-triméthylamine étant particulièrement bien adapté.

Nous avons vu les techniques d'obtention d'acides ou d'esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés. Nous allons maintenant voir les techniques pour créer la liaison pseudopeptidique CO-N(OH).

### 3. Formation de la liaison pseudopeptidique

Nous avons vu plus haut dans ce chapitre traitant de la synthèse des *N*-hydroxy-peptides que la formation de la liaison CO-N(OH) se faisait en deux étapes. La première est la synthèse des acides ou esters *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés et la deuxième est la formation de la liaison pseudopeptidique CO-N(OH) (Schéma 57).

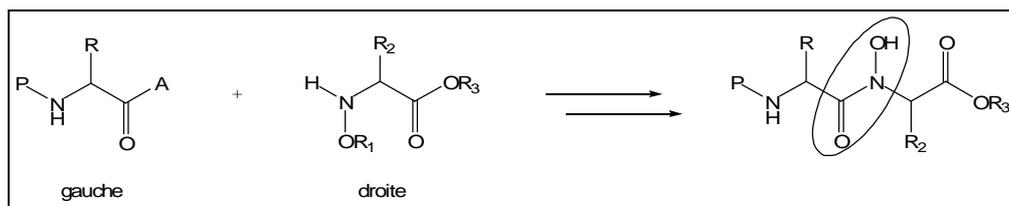


Schéma 57

Pour obtenir des *N*-hydroxy-peptides, il faut dans tous les cas activer l'extrémité C terminale de la partie peptidique de gauche. Cette activation passe par des techniques classiques déjà décrites ci-dessus. Par ailleurs, il faut une *N*-acylation de l'acide *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminé. Or, comme il a été rapporté en 1958 par Jencks,<sup>69</sup> l'acylation de *N*-hydroxylamines peut conduire à des produits *O*-acylés ou *N*-acylés selon la nature de l'agent acylant. Jencks s'est donc intéressé au mécanisme de l'acylation des *N*-hydroxylamines.<sup>70</sup> Après avoir fait des études en milieu aqueux, il dégage trois cas de figure expliquant cette réactivité. Dans les conditions opératoires du cas 1, c'est l'espèce zwitterionique qui attaque. Dans le cas 2, l'oxygène attaque de par son électronégativité supérieure à celle de l'azote. Dans le cas 3, Jencks explique que l'azote peut agir comme meilleur accepteur de proton que l'eau dans l'état de transition (Schéma 58).

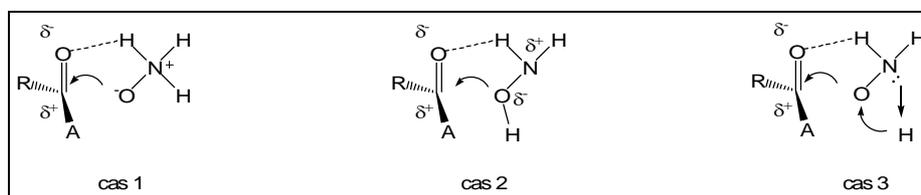


Schéma 58

Afin de former la liaison peptidique, une stratégie de protection-déprotection pour ne pas former les molécules *O*-acylées a été mise en place et utilisée par certains groupes. Nous allons voir quelques exemples utilisant cette stratégie dans une première partie. Dans une deuxième partie, nous verrons quelques exemples de *N*-acylation sélective, sans groupement protecteur sur l'oxygène.

<sup>69</sup> W. Jencks. "The Reaction of Hydroxylamine with Activated Acyl Groups. I. Formation of *O*-Acylhydroxylamine" *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 4581-4584.

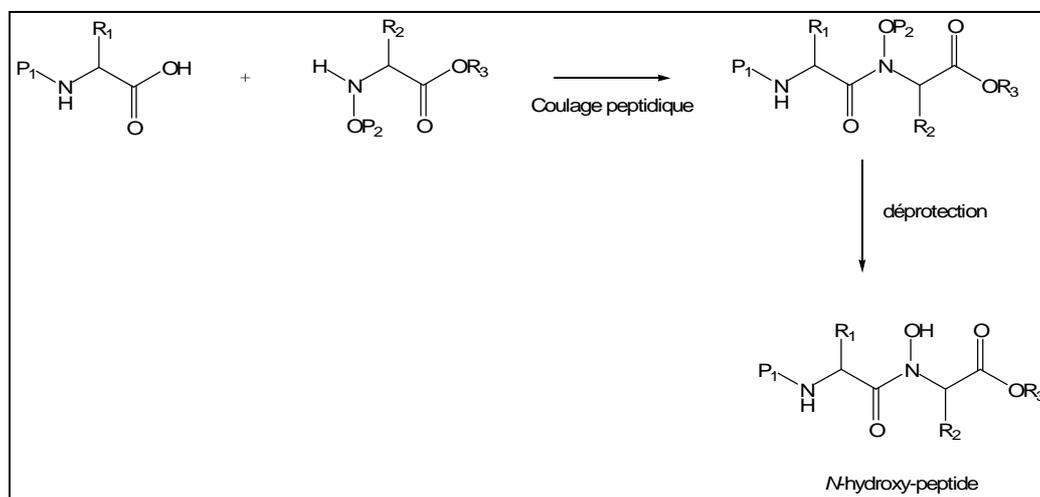
<sup>70</sup> W. Jencks. "The Reaction of Hydroxylamine with Activated Acyl Groups. II. Mechanism of the Reaction" *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 4585-4589.

a) Formation de la liaison pseudopeptidique avec protection de l'hydroxyle

La protection de l'hydroxyle de l'hydroxylamine utilise essentiellement deux groupements protecteurs : les groupes benzyle et triméthylsilyle. Nous allons voir des exemples de synthèse utilisant ces techniques. Nous verrons aussi que la protection de l'hydroxyle implique une limitation synthétique.

i. Groupement benzyle

Nous avons vu qu'en 1974, Kolasa et Chimiak s'étaient intéressés à la synthèse de N-hydroxy-peptides.<sup>44</sup> Dans leur stratégie de synthèse, ils cherchaient d'une part à protéger l'oxygène pour substituer un brome sur le carbone en  $\alpha$  de l'ester et d'autre part à acyler sélectivement l'azote pour enfin déprotéger l'hydroxyle du N-hydroxy-peptide. Leur choix de groupement protecteur se porte rapidement sur le groupement benzyle, qui peut être clivé facilement avec du trifluoroacétate de bore. Ils obtiennent de cette façon des acides N-hydroxy- $\alpha$ -aminés avec des rendements de 75% sur l'étape de déprotection (Schéma 59).



En 1977, les mêmes auteurs reprennent leurs travaux et se concentrent sur les étapes d'acylation de l'ester et de la déprotection du groupement N-OP<sub>2</sub> en N-OH.<sup>71</sup> En particulier, un groupement phtalyle ou un benzyloxycarbonyle (Cbz) comme groupement protecteur P<sub>1</sub> de l'azote de la glycine et une activation de l'acide en passant par le chlorure d'acyle ou

<sup>71</sup> T. Kolasa and A. Chimiak. "Unambiguous Synthesis of N-hydroxy-peptides" *Tetrahedron*, **1977**, 33, 3285-3288.

l'anhydride mixte ont permis des couplages sur des esters méthylique et tert-butyle de la N-benzyloxy-alanine avec des rendements allant de 60 à 80%. L'utilisation d'agents de couplages, tel que le dicyclohexylcarbodiimide (DCC), a permis d'accéder aux mêmes produits mais avec des rendements moindres (20 à 30%). Les auteurs invoquent deux raisons pour cette baisse des rendements. La première est une baisse de la basicité (et de la nucléophilie) de l'atome d'azote par rapport à NH<sub>2</sub>. La deuxième est une augmentation de l'encombrement stérique générée par le groupement benzyle. Ensuite, Kolasa et Chimiak proposent deux méthodes de clivage de l'éther benzylique pour libérer le N-hydroxy-peptide. La première par hydrogénolyse en présence de catalyseur au palladium et la deuxième, précédemment décrite, par l'utilisation de trifluoroacétate de bore. Les rendements de ces étapes de déprotection ne sont pas indiqués.

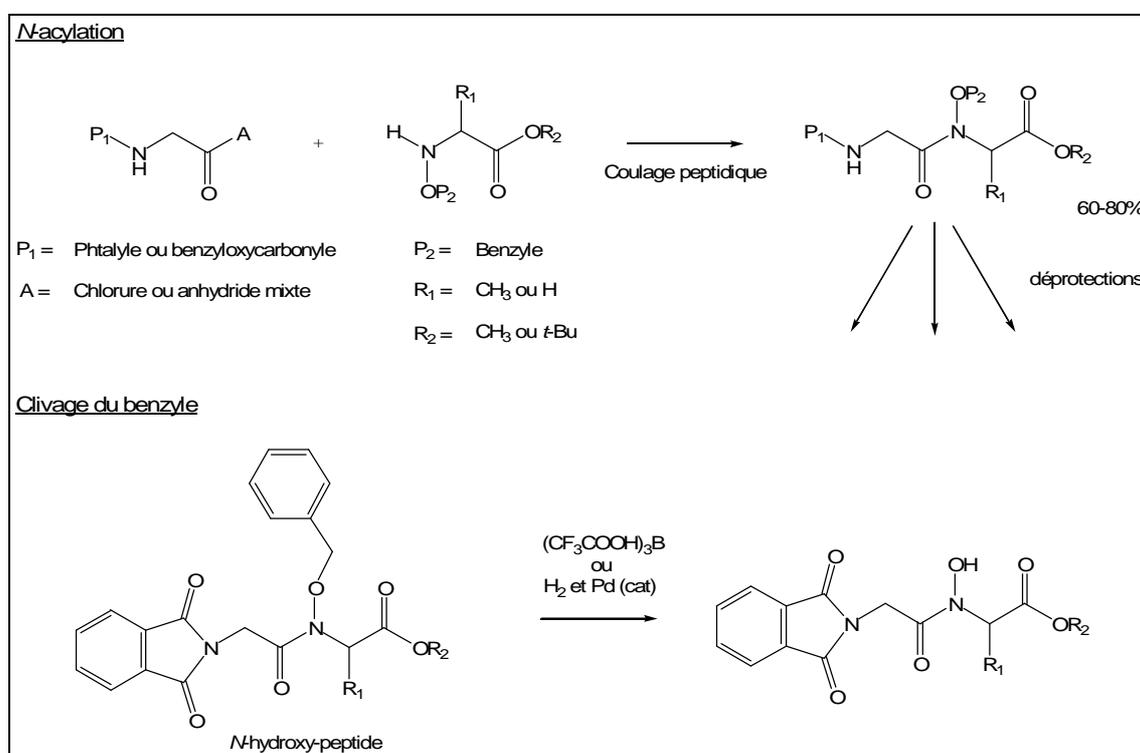


Schéma 60

En 1989, Young et Tamburini synthétisent un N-hydroxy-peptide dans le but d'étudier l'activité d'une peptidase impliquée dans la bioactivation post-traductionnelle (ou maturation) en utilisant un intermédiaire de la N-hydroxy-glycine.<sup>72</sup> Pour cela, ils préparent la N-benzyloxy-glycine qu'ils couplent à un dipeptide précédemment synthétisé avec un rendement

<sup>72</sup> S. D. Young and P. P. Tamburini. "Enzymatic Peptidyl  $\alpha$ -Amidation Proceeds through Formation of an  $\alpha$ -Hydroxyglycine Intermediate" *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 1933-1934.

de 70%. Le benzyle protégeant l'oxygène permet ainsi une N-acylation et son clivage se fait avec du trifluoracétate de bore (Schéma 61).

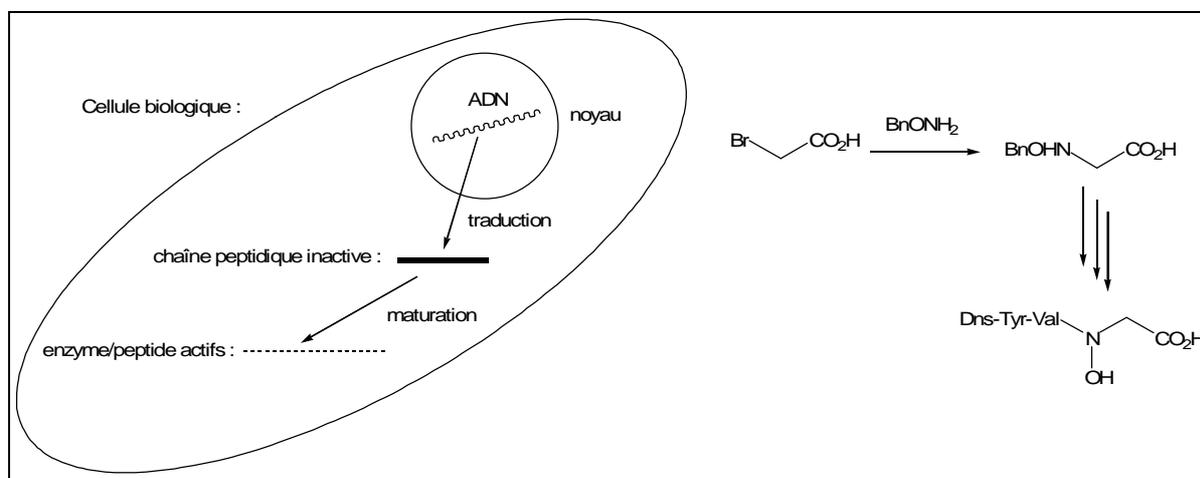


Schéma 61

## ii. Groupement triméthylsilyle

En 1987, Nakonieczna et Chimiak ont utilisé comme groupement protecteur le groupe triméthylsilyle pour synthétiser des N-hydroxy-carboxamides.<sup>73</sup> Les auteurs rapportent une synthèse impliquant l'étape de protection de l'hydroxylamine, le couplage peptidique et la déprotection avec des rendements allant de 60 à 86% (Schéma 62) à partir d'un anhydride mixte.

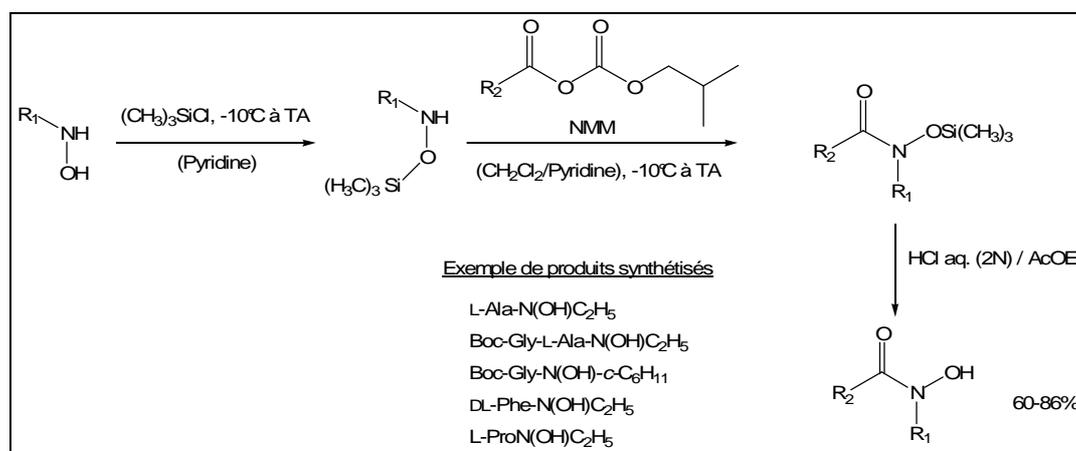


Schéma 62

<sup>73</sup> L. Nakonieczna and A. Chimiak. "A New Synthesis of N-hydroxyamides Using Trimethylsilyl Protection" *Synthesis*, **1987**, 418-420.

En 1997, Jin et Kim ont synthétisé des inhibiteurs de l'endopeptidase thermolysine.<sup>74</sup> Pour cela, ils ont préparé des esters de *N*-acyl-*N*-hydroxy-leucines pour étudier leur potentiel d'inhibition sur ces enzymes. Pour obtenir ces molécules, ils ont traité les *N*-hydroxy-leucines par du chlorure de triméthylsilyle en présence de 2,6-lutidine, puis les ont *N*-acylées avec les chlorures d'acyles voulus. Un traitement par de l'eau leur a permis de récupérer les esters de *N*-acyl-*N*-hydroxy-leucines avec des rendements supérieurs à 85% (Schéma 63).

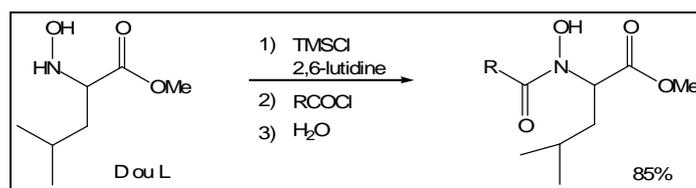


Schéma 63

Nous avons vu que protéger l'oxygène de l'acide *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminé permet spécifiquement une *N*-acylation. Il existe néanmoins des limites à cette stratégie. Nous allons les développer maintenant.

### iii. Limites de cette stratégie

Comme on peut l'imaginer, elles sont liées à des problèmes stériques. Ainsi, en 1984, l'équipe d'Akiyama a cherché à synthétiser des *N*-hydroxy-hexapeptides avec deux motifs hydroxamate afin d'étudier leur complexation avec du fer.<sup>75</sup> En reprenant les travaux de Kolasa et Chimiak, les auteurs ont observé que les couplages d'acides aminés comportant des résidus stériquement encombrants avec des *N*-benzyloxy-dipeptides terminaux se faisaient difficilement (Schéma 64). Ainsi, la meilleure façon rapportée pour effectuer leurs couplages est d'activer l'acide par un chlorure d'acyle et d'utiliser ce chlorure d'acyle en excès ou de répéter l'acylation.

<sup>74</sup> Y. Jin and D. H. Kim. "D-Stereospecificity in the inhibition of thermolysin by *N*-acyl-*N*-hydroxy- $\alpha$ -amino acid esters" *Tetrahedron Asymm.*, **1997**, 8 (22), 3699-3702.

<sup>75</sup> K. Shimizu, K. Nakayama and M. Akiyama. "*N*-Hydroxy Amides. II. *N*-Benzyloxy  $\alpha$ -Amino Acid *N*-Hydroxy-succinimide Esters and Synthesis of a Hexapeptide Having an Alternating *N*-Hydroxy Amide-Amide Sequence" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1984**, 57, 2456-2462.

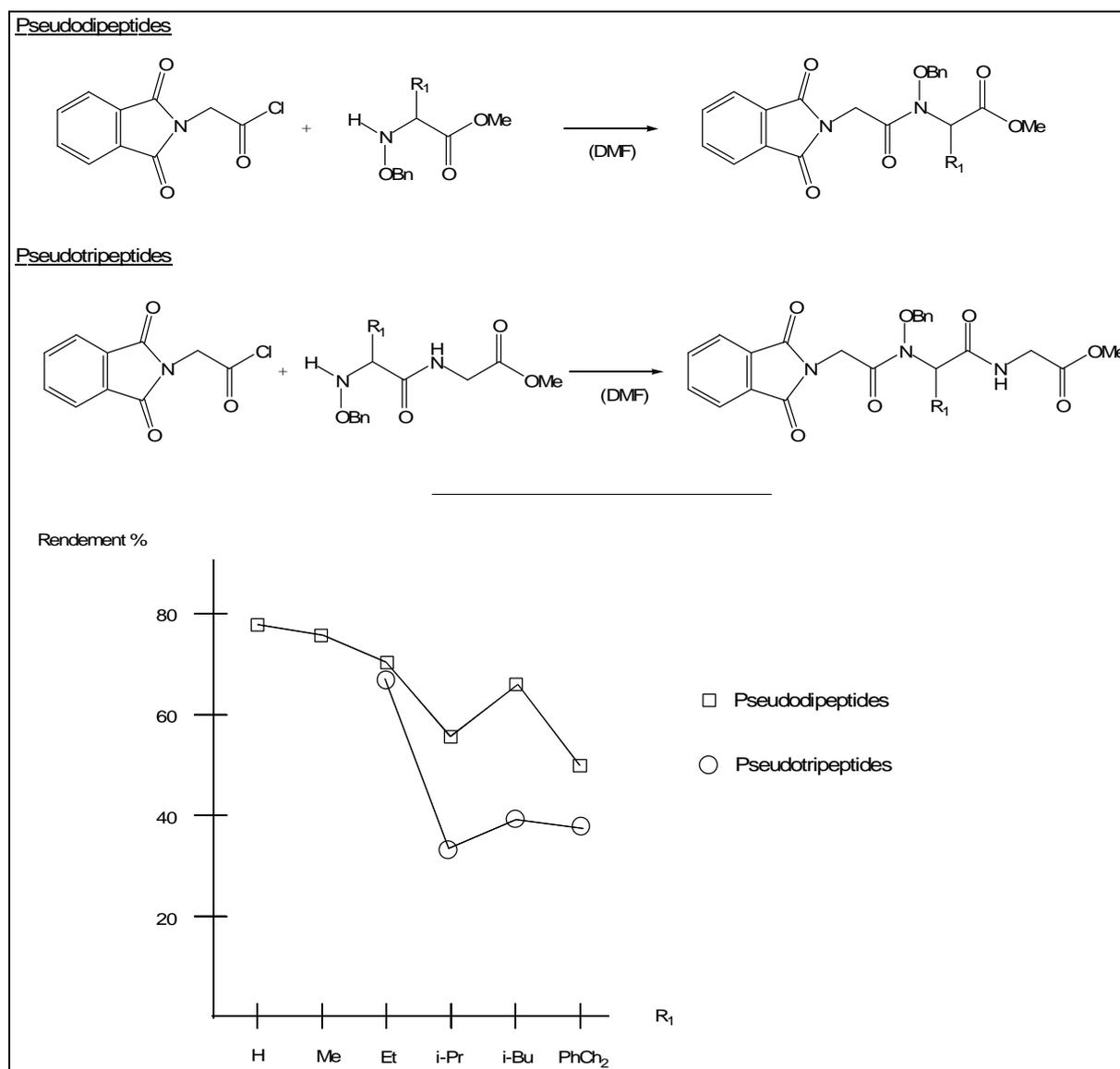


Schéma 64

Les limitations d'ordre synthétique liées à l'encombrement stérique produit par un groupement benzyle greffé sur l'hydroxylamine font qu'il est particulièrement intéressant de mettre au point des techniques de *N*-acylation d'acides *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés non protégés au niveau de leur groupement hydroxyle.

### b) Couplage direct

Plusieurs raisons ont poussé à la formation de la liaison pseudo-peptidique CO-N(OH) directement à partir de l'acide *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminé sans groupement protecteur. La première

est bien sûr une question de rapidité d'accès. Ainsi, en diminuant le nombre de manipulations par rapport à une stratégie de protection-déprotection, et si l'étape de couplage est correctement optimisée, le rendement devrait être égal ou meilleur pour un gain de temps certain. L'autre raison est, comme nous l'avons vu précédemment, une question de réactivité. Un groupement protecteur sur l'oxygène, de par l'encombrement stérique qu'il implique, limite la taille des groupements acylants. Comme nous allons le voir, plusieurs articles font état de ce type de couplage appliqué à la synthèse de *N*-hydroxy-peptides.

En 1968, Neunhoeffer *et al.* réalisent un couplage direct sur la *N*-hydroxy-glycine (Schéma 65) en utilisant le chlorure d'acyle et du bicarbonate de sodium comme base.<sup>76</sup> Ils disent n'observer pratiquement que de la *N*-acylation et récupèrent le *N*-hydroxy-dipeptide avec un rendement de 58%.

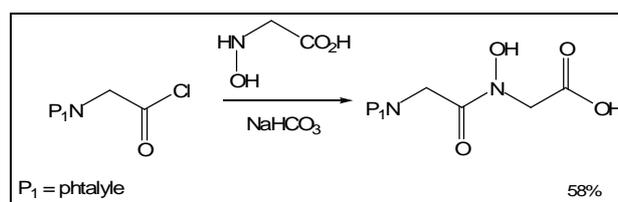


Schéma 65

Chimiak et Polonski étendent cette méthode à d'autres acides aminés avec des rendements compris entre 40 et 65%, en utilisant des esters *tert*-butyliques *N*-hydroxy- $\alpha$ -aminés.<sup>77</sup> Les auteurs décrivent une deuxième méthode utilisant des ortho-*N*-nitrophénylsulfenyl *N*-carboxy anhydrides avec un rendement de 70% (Schéma 66).

<sup>76</sup> O. Neunhoeffer, G. Lehmann, D. Haberer and G. Steinle. "The hydroxylamino lysis of *N*-substituted phthalimide, a method for the preparation of peptides and *N*-hydroxypeptides" *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 712, 208-213.

<sup>77</sup> A. Chimiak and T. Polonski. "The use of *o*-nitrophenylsulfenyl-*N*-carboxyanhydrides in *N*-hydroxypeptides synthesis" *J. Prakt. Chem.*, **1980**, 322, 669-673.

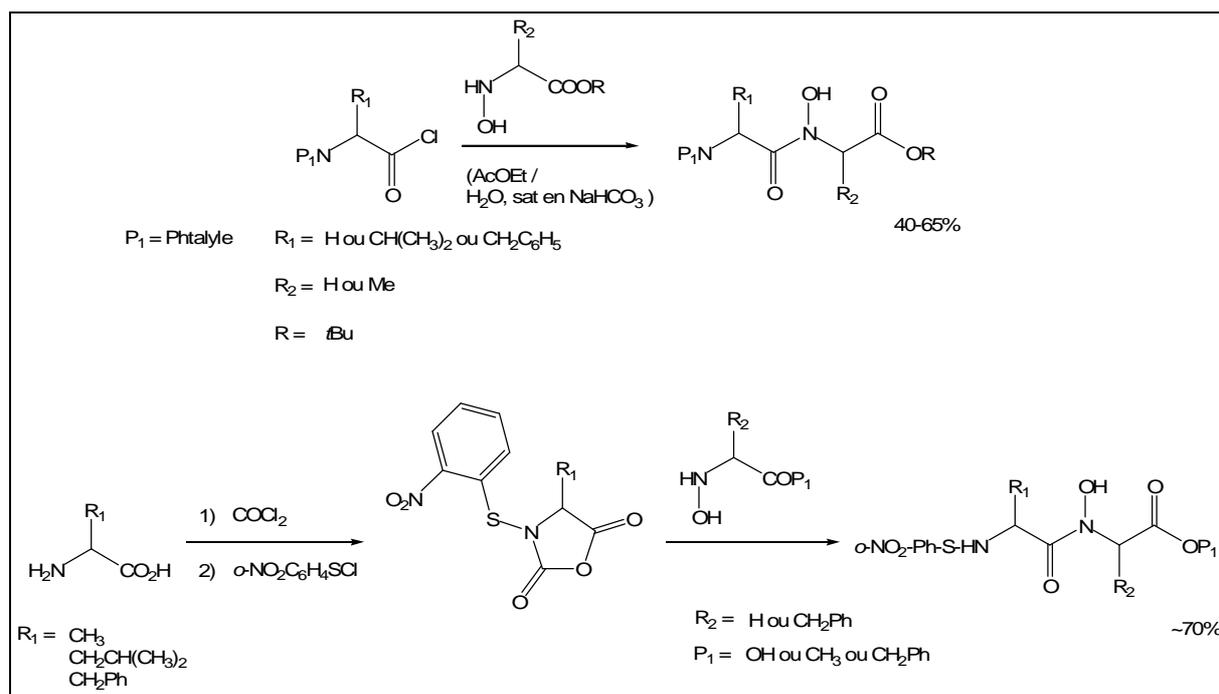


Schéma 66

En 1997, le couplage utilisant le bicarbonate de sodium a été repris par Hu et Miller pour *N*-acyler un ester *N*-hydroxy- $\delta$ -aminé par un chlorure de palmitoyle avec un rendement de 71% pour deux étapes de la synthèse (Schéma 67).<sup>78</sup>

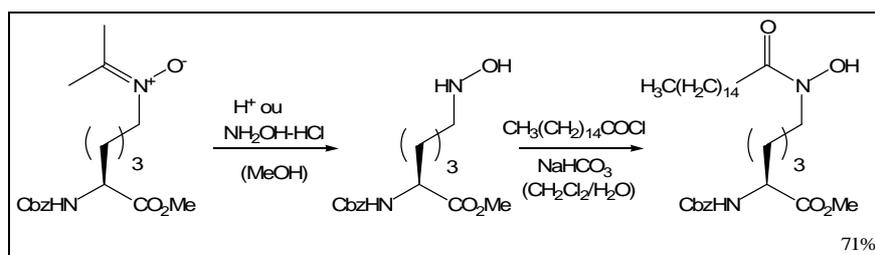


Schéma 67

Nous avons vu les méthodes mises au point par les différents groupes pour accéder aux *N*-hydroxy-peptides. Nous allons maintenant nous intéresser à la méthode adoptée au laboratoire.

<sup>78</sup> J. Hu and M. J. Miller. "Total Synthesis of a Mycobactin S, a Siderophore and Growth Promoter of *Mycobacterium Smegatis*, and Determination of its Growth Inhibitory Activity against *Mycobacterium tuberculosis*" *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 3462-3468.

## 4. Solutions retenues au laboratoire

L'étude des *N*-hydroxy-peptides au laboratoire se voulait essentiellement exploratoire, aucune cible spécifique n'ayant été prédéterminée. Dans cette optique, nous allons voir les solutions retenues.<sup>79</sup>

### a) Préparation des *N*-hydroxy-peptides terminaux

La réduction d'oximes de cétones en *N*-hydroxylamines donne deux isomères (énantiomères ou diastéréoisomères si un centre stéréogénique est présent) d'une même molécule. Or, des dipeptides sur lesquels deux centres asymétriques sont présents permettent d'envisager la séparation des diastéréoisomères. Ainsi, une synthèse de *N*-hydroxy-dipeptides terminaux par réduction des oximes correspondantes peut être une méthode rapide (Schéma 68) pour accéder à une petite librairie de molécules. Ainsi et en 3 étapes, plusieurs dipeptides ont été synthétisés avec des rendements allant jusqu'à 93% sur l'étape de réduction. Les diastéréoisomères sont obtenus dans des proportions 1:1. Ils sont généralement facilement séparés par chromatographie liquide.

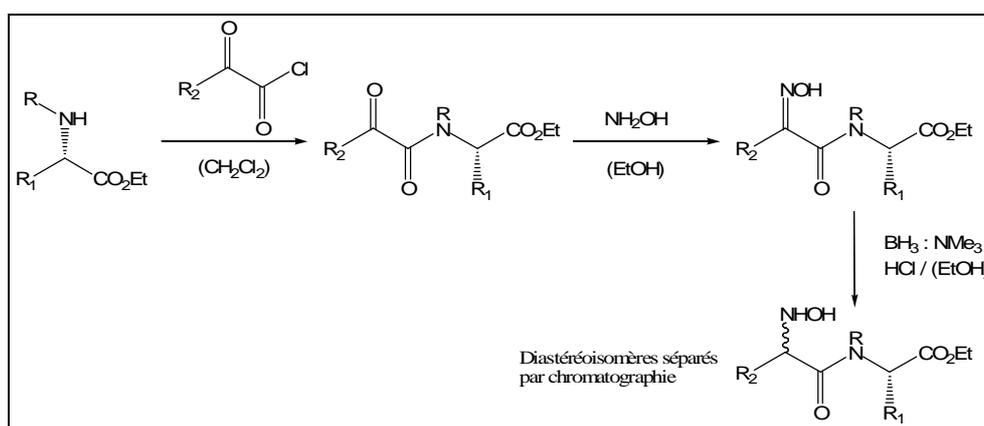


Schéma 68

Le couplage sélectif sur l'azote pour créer la liaison *N*-hydroxy-amide a ensuite été étudié.

<sup>79</sup> P. Maire, V. Blandin, M. Lopez and Y. Vallée. "Straightforward Synthesis of *N*-Hydroxy Peptides" *Synlett*, **2003**, 5, 671-674.

## b) Formation de la liaison N-hydroxy-amide

Deux méthodes ont été appliquées au laboratoire pour former cette liaison N-hydroxy-amide. La première passe par l'éther de triméthylsilyle.

### i. Protection *in situ* sous forme d'éther de triméthylsilyle

Pour éviter une O-acylation, une première méthode a été envisagée par protection temporaire de l'hydroxylamine par un éther de triméthylsilyle. Une série de tripeptides a ainsi été synthétisée avec des rendements allant de 25 à 70% (Schéma 69).

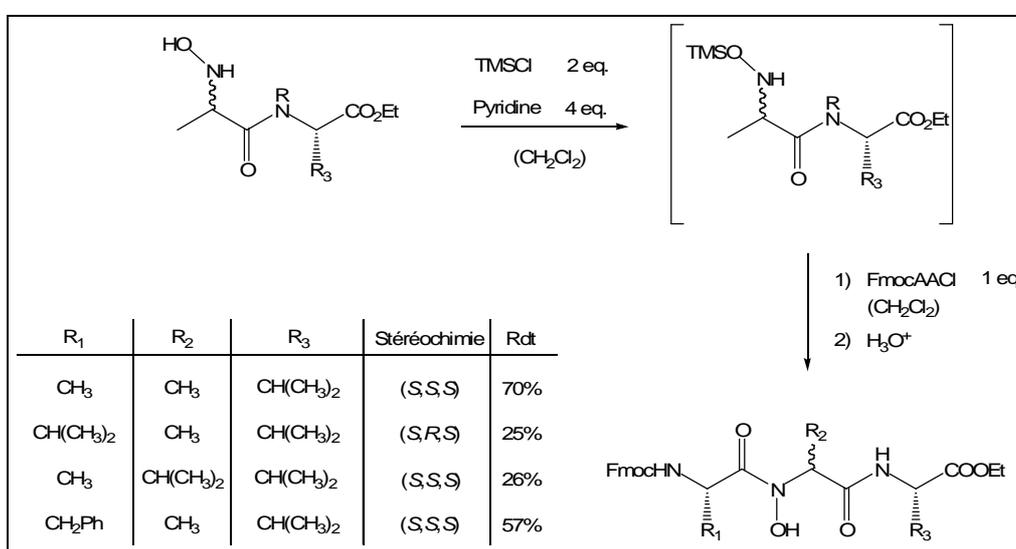


Schéma 69

Comme prévu, cette méthode a rapidement montré ses limites avec des acides aminés aux résidus encombrants.

### ii. N-acylation sélective

Lorsque les acides aminés portent des résidus encombrants, la N-acylation de l'hydroxylamine se fait difficilement si un groupement est greffé sur l'hydroxyle. La solution est de partir du N-hydroxy-dipeptide en trouvant des conditions opératoires limitant la O-acylation. Le premier essai utilisant le Fmoc-Ala-Cl en présence de pyridine a donné un

mélange 65:35 de produits *N*-acylé et *O*-acylé. La pyridine a alors été remplacée par du bicarbonate de sodium solide dans le dichlorométhane. Cette méthode se rapproche de celle utilisée par Chimiak et Polonski qui ont synthétisés des *N*-hydroxy-peptides en milieu liquide biphasique (AcOEt/ H<sub>2</sub>O saturée en NaHCO<sub>3</sub>).<sup>77</sup> Dans les conditions établies au laboratoire, plusieurs *N*-hydroxy-tripeptides ont été synthétisés avec des rendements allant de 73 à 82% (Schéma 70).

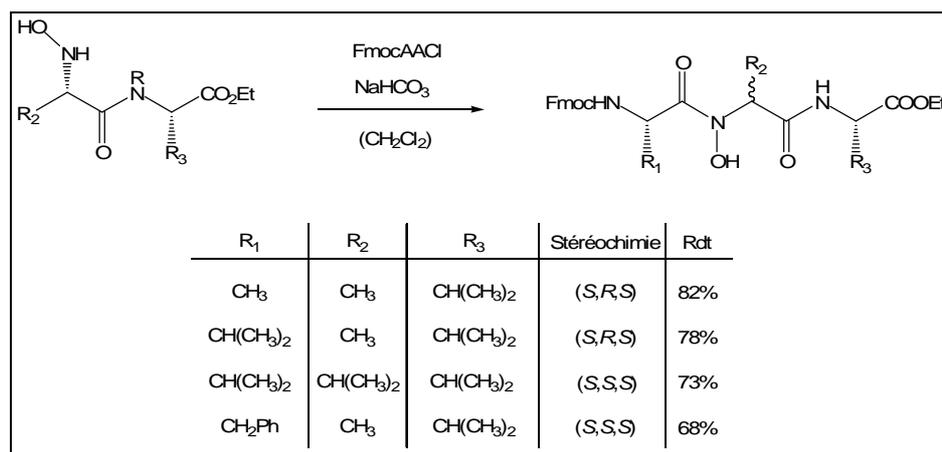


Schéma 70

Nous avons vu au travers de cette première partie bibliographique qu'il n'existe pas de méthodes générales de synthèse de *N*-hydroxy-peptides dans la littérature. Celle qui a été mise au point dans notre laboratoire s'est efforcée d'élargir leur synthèse vers des peptides présentant des groupements encombrants. Cette méthode de synthèse a été le point de départ d'un projet d'étude que nous allons détailler dans le chapitre 2.

## CHAPITRE 2

### Présentation du sujet

## CHAPITRE 2 :

### Présentation du sujet

Nous avons vu dans le chapitre précédent plusieurs applications des *N*-hydroxy-peptides, telles que la synthèse de *N,N'*-dihydroxy-peptides par les équipes de Marshall<sup>30</sup> et Akiyama<sup>29</sup> pour étudier des phénomènes de complexation entre les motif hydroxamate et des ions métalliques. Nous avons également vu que le remplacement d'une liaison peptidique par un hydroxamate peut amener de nouvelles activités biologiques (liées aux changements de conformation ou à la variation de sensibilité vis-à-vis de la digestion enzymatique, par exemple).<sup>17,18</sup>

Ainsi, notre projet de recherche s'est orienté dans deux directions. Le premier objectif, traité dans le chapitre 3, a pour but la synthèse de peptides présentant plusieurs motifs hydroxamate en utilisant et adaptant la méthode de synthèse des *N*-hydroxy-peptides mise au point au laboratoire (Figure 18).

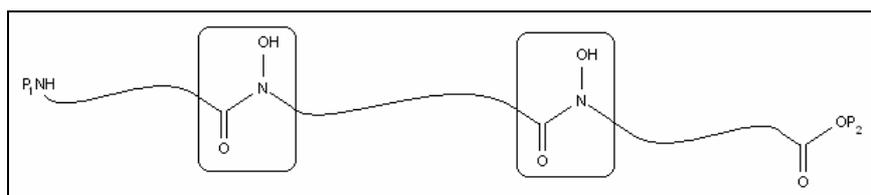


Figure 18

Le deuxième objectif, traité dans les chapitres 4 et 5, est d'utiliser le motif hydroxamate comme point d'accroche de groupements supplémentaires en substituant l'oxygène du groupe hydroxyle pour induire de nouvelles propriétés par rapport aux homologues classiques ou *N*-hydroxylés. L'intérêt de créer de nouvelles liaisons pseudo-peptidiques est double : proposer de nouvelles molécules à des fins de criblage pharmaceutique et déterminer les relations structure-activité permettant de comprendre des phénomènes de régulation biologique.<sup>80</sup>

Un exemple qui nous a inspiré est rapporté dans la littérature par l'équipe de Mobashery.<sup>81</sup> Les auteurs proposent un prototype d'inhibition irréversible de la cathepsine B, enzyme impliquée dans les phénomènes d'amplification de l'invasion et de la formation de métastases de tumeurs. Un mécanisme d'inhibition de la cathepsine par l'acide hydroxamique *O*-acylé est également présenté (Figure 19), montrant l'importance du *N*-acyloxy-amide dans l'activité.

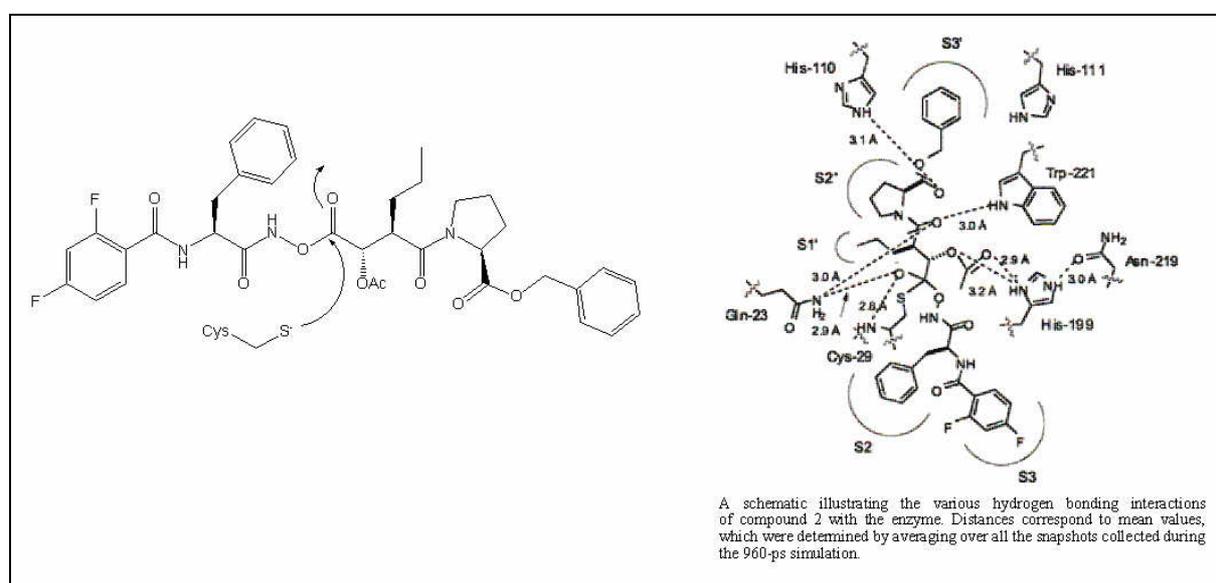


Figure 19<sup>81</sup>

Un autre moyen d'induire une activité biologique intéressante est de créer des structures peptidiques figées entraînant une plus grande affinité et/ou une meilleure modulation de l'activité biologique par rapport à des structures aux libertés de conformation plus grandes. Ainsi, Giovanni *et al.* ont synthétisé dans ce but des structures peptidiques cycliques et

<sup>80</sup> M. D. Fletcher and M. M. Campbell. "Partially Modified Retro-inverso Peptides: Development, Synthesis, and Conformational Behavior" *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 763-795.

<sup>81</sup> I. T. Lim, S. O. Meroueh, M. Lee, M. J. Heeg and S. Mobashery, "Strategy in Inhibition of Cathepsin B, A Target in Tumor Invasion and Metastasis" *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 10271–10277.

bicycliques en utilisant une réaction de métathèse intramoléculaire.<sup>82</sup> Par ailleurs, l'équipe d'Arora a proposé un petit peptide présentant une structure en hélice  $\alpha$  dont la synthèse utilise également une réaction de métathèse intramoléculaire.<sup>83</sup> Ces deux exemples mettent en jeu des acides aminés non naturels, présentant une insaturation.

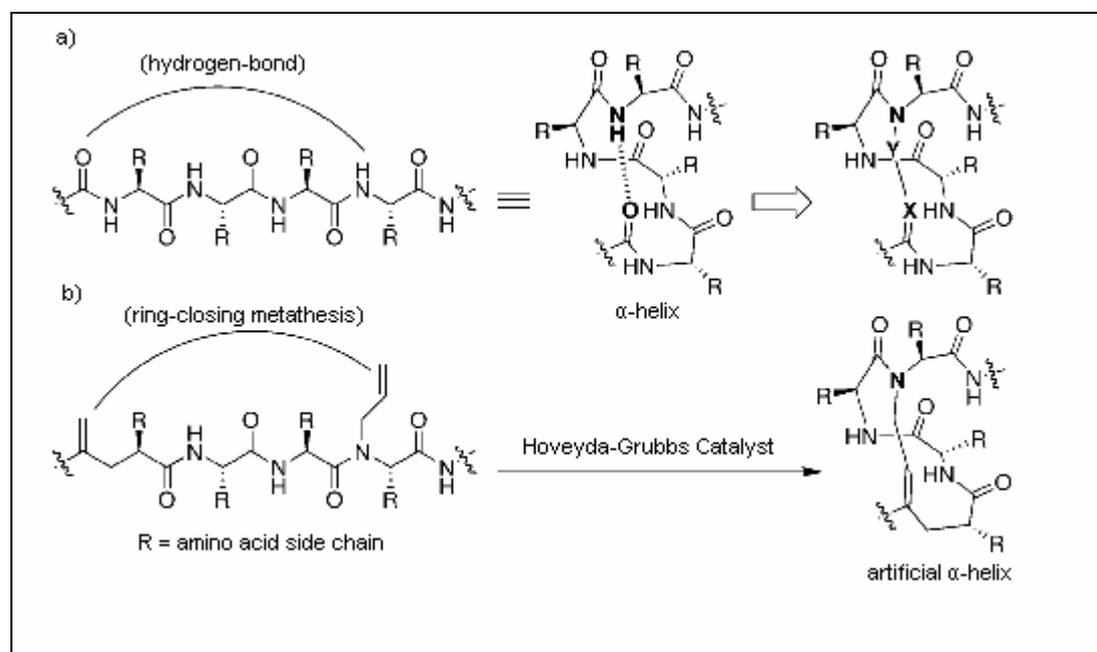


Schéma 71<sup>83</sup>

Les *N*-hydroxy-peptides nous sont apparus naturellement comme de très bons candidats en tant que produits de départ pour de semblables applications. Ainsi, le chapitre 4 traitera de l'acylation de *N*-hydroxy-peptides. En particulier, nous voulions savoir s'il était possible de greffer un acide aminé sur la liaison *N*-hydroxy-peptidique et d'allonger cette nouvelle chaîne dans des conditions classiques de couplage peptidique (Schéma 72).

<sup>82</sup> J. Giovannoni, C. Didierjean, P. Durand, M. Marraud, A. Aubry, P. Renaut, J. Martinez and M. Amblard. "Synthesis and Structure of Symmetrical Bicyclic Hexapeptides Bridged by Metathesis Reaction" *Org. Lett.*, **2004**, 6, 3449-3452.

<sup>83</sup> R. N. Chapman,, G. Dimartino and P. S. Arora. "A Highly Stable  $\alpha$ -Helix Constrained by a Main-Chain Hydrogen-Bond Surrogate" *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 12252-12253.

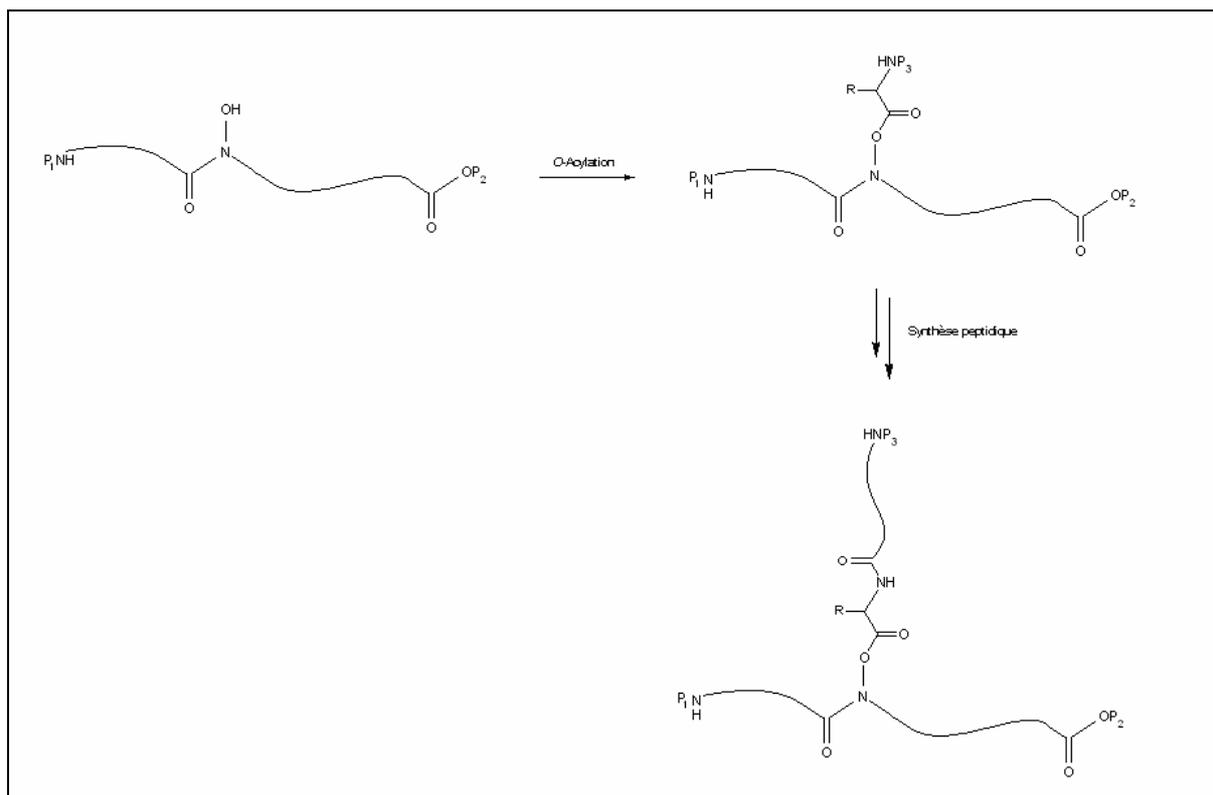


Schéma 72

Le chapitre 5 décrira une méthode d'alkylation de *N*-hydroxy-peptides puis de *N,N'*-dihydroxy-peptides dans le but de greffer des groupements insaturés et de contraindre ces structures en les cyclisant par une réaction de métathèse intramoléculaire. Nous avons également envisagé l'introduction de deux substituants différents sur les structures présentant deux motifs hydroxamate.

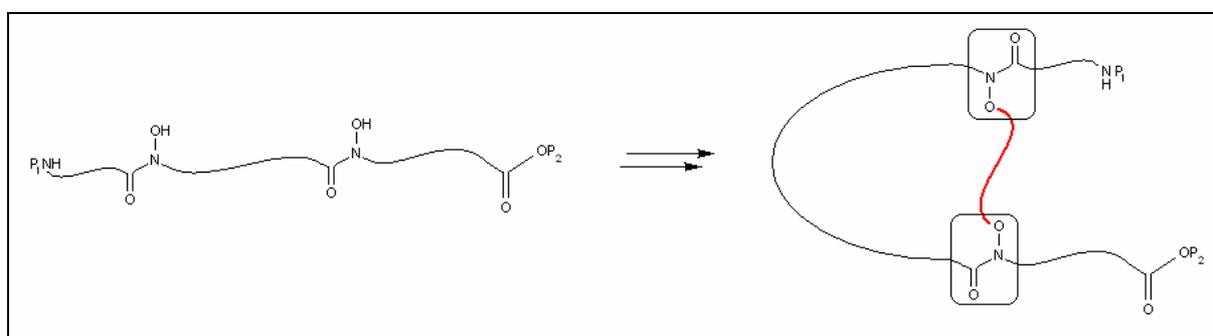


Schéma 73

Pour commencer nous allons voir la synthèse *N,N'*-dihydroxy-peptides.

## CHAPITRE 3

### Préparation de peptides mono- et di-*N*-hydroxylés

## CHAPITRE 3 :

# Préparation de peptides mono- et di-*N*-hydroxylés

### I. Introduction : choix retenus

#### 1. Schéma de synthèse

Comme nous l'avons déjà vu, une première synthèse de *N*-hydroxy-tripeptides avait été mise au point (Schéma 74).<sup>79</sup> Il semblait normal d'utiliser dans un premier temps ces structures pour la synthèse de peptides *N,N'*-dihydroxylés en leur appliquant le même schéma de synthèse. Cette étude avait déjà été réalisée au laboratoire.

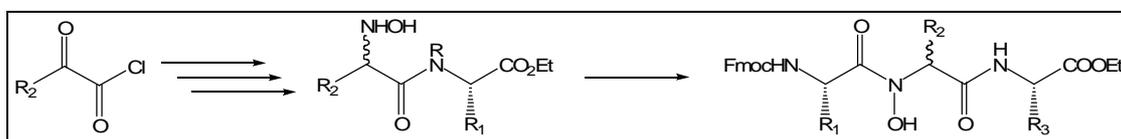


Schéma 74

La présence de l'ester éthylique sur les tripeptides synthétisés ne permettant pas d'accroître la chaîne peptidique par l'extrémité C terminale, l'élongation devait se faire par l'extrémité N terminale. Former le cétoamide, puis l'oxime qui est elle-même réduite en *N*-hydroxylamine, permet d'obtenir deux diastéréoisomères de *N*-hydroxy-térapeptide (Schéma

75). Les diastéréoisomères se sont avérés inséparables, mais la diastéréosélectivité semblait meilleure que lors de la formation de *N*-hydroxy-dipeptides. Ce résultat est à rapprocher des travaux de Kise *et al.*<sup>84</sup> Ces derniers ont montré qu'une chaîne peptidique longue pouvait favoriser la diastéréosélectivité de la réduction.

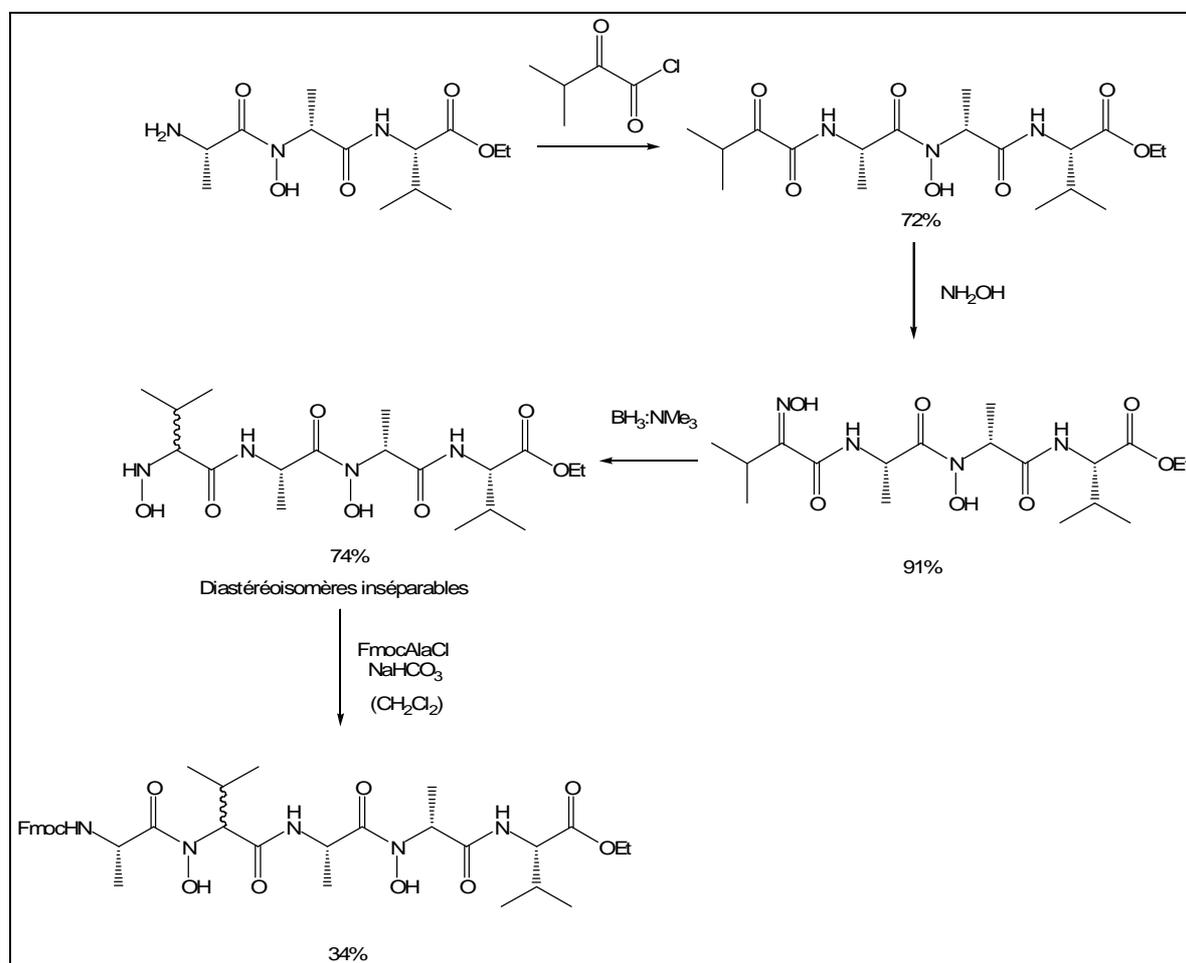


Schéma 75

Au final, cette voie de synthèse a été abandonnée car la synthèse linéaire impliquait une perte élevée de produit énantio pur. De plus, l'étape suivante permettant d'obtenir le *N,N'*-dihydroxy-pentapeptide, présentait un rendement faible (34%). Une synthèse convergente à partir de deux *N*-hydroxy-tripeptides (pouvant être différents) semblait être une méthode plus efficace (Schéma 76).

<sup>84</sup> N. Kise, S. Takaoka, M. Yamauchi and N. Ueda. "Stereo selective reduction of *N*-hydroxy- $\alpha$ -iminocarbonyl-oligopeptide methyl esters with Zn-*M*sOH" *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (41), 7297-7300.

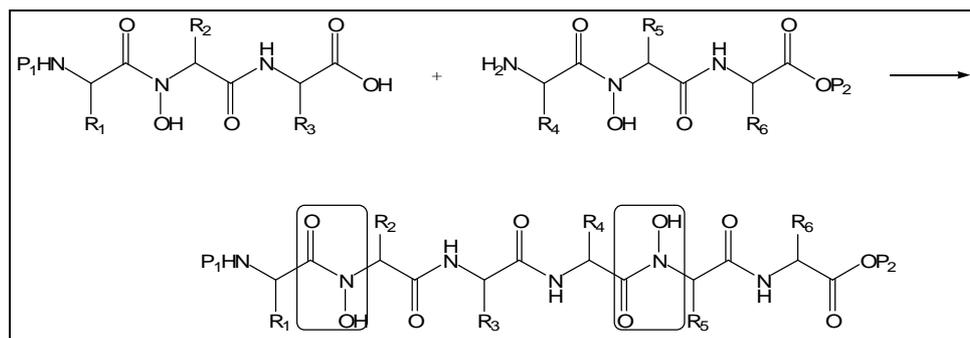


Schéma 76

Le problème de cette approche est l'ester éthylique protégeant l'extrémité C terminale, difficilement clivable. Le couplage sur l'hydroxylamine se faisant avec un chlorure d'acide aminé dont l'azote est protégé par un Fmoc, une stratégie Fmoc/OtBu semblait logique de par l'orthogonalité des groupements protecteurs. Le choix du laboratoire a cependant été d'utiliser un ester benzyle.

En effet, l'ester OtBu supporte difficilement les fortes acidités. Lors de la réduction de l'oxime en hydroxylamine, la forte quantité d'acide chlorhydrique dans le milieu risque de déprotéger l'extrémité C terminale.<sup>12</sup> Il est à noter que les conditions de déprotection de benzyle en présence de Fmoc (et inversement) sont décrites : la littérature semble indiquer qu'il n'y a pas de problème d'orthogonalité.<sup>12</sup>

Toutes ces raisons ont fait qu'une stratégie Fmoc/OBn a été choisie pour la synthèse des *N*-hydroxy-peptides.

Le nouveau schéma de synthèse (Schéma 77) va nécessiter d'adapter les étapes décrites. Ainsi, utiliser l'éthanol lors de la formation de l'oxime ou lors de l'étape de réduction de n'était plus possible à cause des risques de transestérification. Par ailleurs, le groupement benzyle change la solubilité des produits. Il a donc fallu adapter de nouvelles conditions de réaction. De même, lors de l'étape de réduction de l'oxime, les diastéréoisomères étaient difficilement séparables et nous avons dû trouver de nouvelles conditions de séparation. Enfin, il restait à vérifier que la *N*-acylation finale était bien sélective.

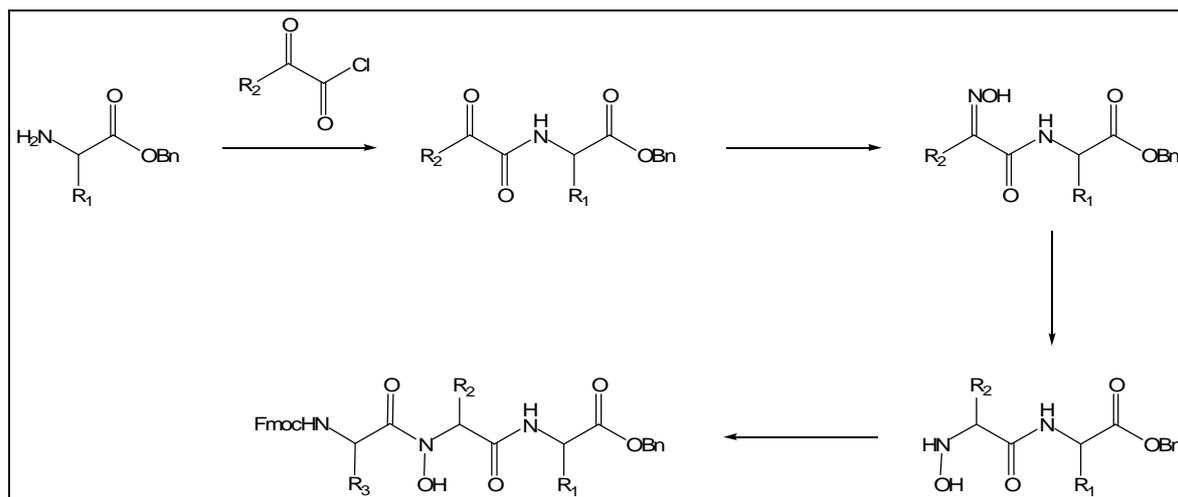


Schéma 77

Le problème des protections des extrémités résolu, il fallait déterminer les résidus d'acides aminés à utiliser.

## 2. Choix des acides aminés

Pour permettre des purifications plus faciles, nous avons choisi de mettre des groupements lipophiles sur la chaîne polypeptidique. Un projet annexe dont le but était de synthétiser l'halolitoraline C (Figure 20),<sup>85</sup> a aidé à déterminer ces résidus. L'halolitoraline C est un térapeptide cyclique dont les acides aminés sont l'isoleucine, la valine et la leucine. Ces acides aminés ont donc été repris pour les nouvelles synthèses de *N*-hydroxy-peptides. A ce stade, l'alanine, moins encombrée, a également été retenue. La phénylalanine a été rajoutée à cette liste pour voir l'effet des résidus aromatiques.

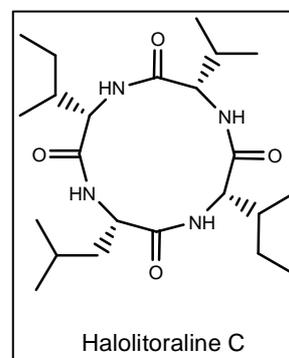


Figure 20

Nous allons maintenant voir les raisons qui ont motivé les choix de positionnement des différents acides aminés dans la chaîne tripeptidique (Figure 21).

<sup>85</sup> L. Yang, R.-X. Tan, Q. Wang, W.-Y. Huang and Y.-X. Yin. "Antifungal cyclopeptides from *Holbacillus litoralis* YS3106 of marine origin" *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 6545-6548.

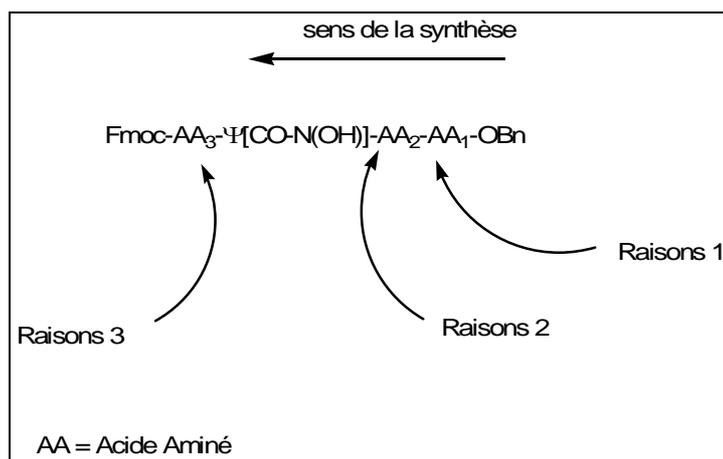


Figure 21

- **Acide aminé 1 :**

Le sens de la synthèse se faisant de l'extrémité C terminale vers la N terminale, le premier acide aminé va avoir une influence sur les propriétés physico-chimiques des molécules. Ainsi, dès les premières étapes de la synthèse, il est intéressant d'avoir des propriétés hydrophobes assez marquées, pour être sûr que les molécules passent bien dans la phase organique dans les traitements de lavage-extraction. C'est pourquoi l'acide aminé AA<sub>1</sub> sera une valine, leucine, isoleucine ou phénylalanine. De plus, les esters benzyliques de ces acides aminés sont tous commerciaux.

- **Acide aminé 2 :**

Dans le schéma de synthèse, le deuxième acide aminé est directement issu du chlorure d' $\alpha$ -cétoacide correspondant.

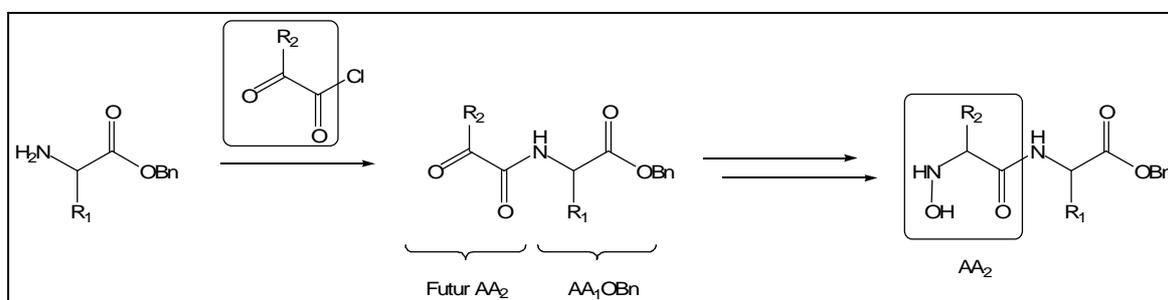


Schéma 78

L'acide pyruvique étant commercial, former le chlorure d'acyle pyruvique pour obtenir l'alanine comme deuxième acide aminé est pratique. Le chlorure de 2-céto-3-méthylbutanoyle

est également facilement accessible. En effet à partir de l'oxalate de diéthyle il est possible, par une réaction de Grignard, d'obtenir un précurseur de *N*-hydroxy-valine, présentant donc une chaîne latérale encombrée (Schéma 75).

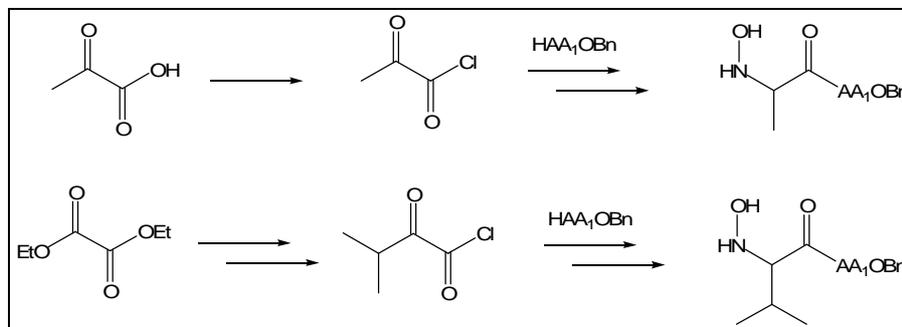


Schéma 79

- **Acide aminé 3 :**

Le troisième acide aminé peut reprendre les 5 acides aminés décrits plus haut car ils sont tous commerciaux avec le Fmoc comme groupement protecteur. Il est néanmoins plus intéressant de mettre des acides aminés avec des résidus encombrants pour mettre en avant cet avantage lié à notre méthode de couplage.

Dans un premier temps nous verrons les synthèses de *N*-hydroxy-tripeptides, puis dans un deuxième temps nous utiliserons ces tripeptides pour synthétiser des *N,N'*-dihydroxy-hexapeptides.

## II. Préparation des *N*-hydroxy-tripeptides

### 1. Synthèse des $\alpha$ -cétoamides

La synthèse des  $\alpha$ -cétoamides nécessite d'abord la préparation des  $\alpha$ -cétoacides correspondants, s'ils ne sont pas commerciaux.

a) Synthèse magnésienne de l'acide 2-céto-3-méthylbutanoïque

L'acide 2-céto-3-méthylbutanoïque (ou acide diméthylpyruvique) est obtenu à partir d'oxalate de diéthyle par addition de chlorure d'isopropylmagnésium suivie d'une saponification avec des rendements de 71% et 64% respectivement pour les deux étapes (Schéma 80). La première réaction est décrite et étudiée dans la littérature.<sup>86</sup>

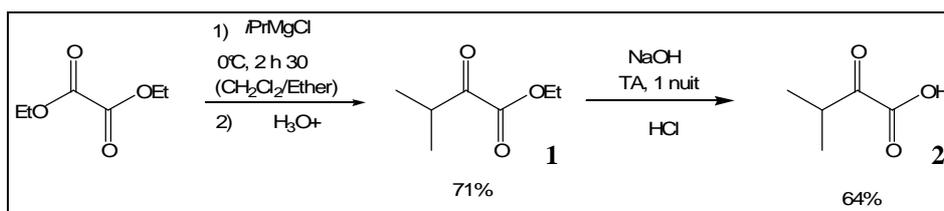


Schéma 80

Il faut alors coupler ces  $\alpha$ -cétoacides à l'acide aminé  $AA_1$  pour former l' $\alpha$ -cétoamide

b) Préparation des  $\alpha$ -cétoamides à partir des  $\alpha$ -cétoacides

La première méthode utilisée faisait appel au chlorure de l'acide 2-céto-3-méthylbutanoïque. Ce composé est préparé par action de l' $\alpha,\alpha$ -dichlorométhyl-méthyl-éther sur l'acide correspondant à température ambiante, puis la réaction est laissée deux heures à 50°C.<sup>87</sup> Il est ensuite directement mis en réaction avec l'ester benzylique de l'acide aminé, puis la réaction est laissée une nuit à température ambiante (Schéma 81). La *N*-méthylmorpholine (NMM) est utilisée comme base car elle est facilement éliminable par un lavage à l'eau.<sup>88</sup> Les rendements plus faibles obtenus pour les composés **3b** et **3c** s'expliquent par l'obtention de plusieurs produits secondaires que nous n'avons pas pu identifier.

<sup>86</sup> Christian Fizet. "Synthèse de la diméthyl-4,4-dihydrofuranedione-2,3" *Helvetica Chimica Acta*, **1982**, 65 (7), 2024-2028.

<sup>87</sup> a) H. C. J. Ottenheijm and J. H. M. De Man. "Synthesis of  $\alpha$ -Keto Acid Chlorides" *Synthesis*, 1975, 163-164.  
b) H. C. J. Ottenheijm and M. W. Tjihuis. "Acid chlorides from  $\alpha$ -Keto Acids with  $\alpha,\alpha$ -dichloromethyl methyl ether : pyruvoyl chloride" *Org. Synth.*, **1983**, 61, 1-4.

<sup>88</sup> J.-S. Yao and Y.-S. Wu. "Synthesis of chiral depsipeptide building block via asymmetric hydrosilylation" *Synth. Commun.*, **2002**, 32 (4), 535-556.

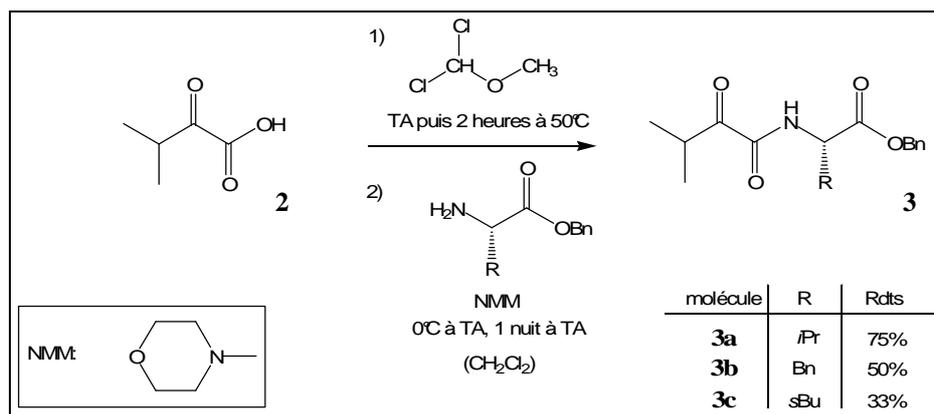


Schéma 81

Cette méthode pour activer les  $\alpha$ -cétoacides peut être critiquable car l' $\alpha,\alpha$ -dichlorométhyl-méthyl-éther est relativement toxique.<sup>89</sup> Nous avons donc cherché à remplacer cette méthode, en particulier pour la synthèse de tripeptides servant de produits de départ dans les chapitres suivants. La réactivité des  $\alpha$ -cétoacides étant particulière,<sup>87</sup> les rendements des techniques classiques d'activation sont peu satisfaisants. Nous nous sommes tournés alors vers les agents de couplage.<sup>90</sup>

Nous avons choisi l'EDCI comme agent de couplage car l'urée obtenue est facilement éliminable par simple lavage (Figure 22). Le choix de la base s'est porté sur la diisopropyléthylamine (DiPEA) pour éviter l'attaque nucléophile sur le carbonyle activé. Le dichlorométhane a été choisi classiquement comme solvant de réaction. Après quatre heures à température ambiante, nous avons obtenu l' $\alpha$ -cétoamide **3a** avec un rendement de 92%.

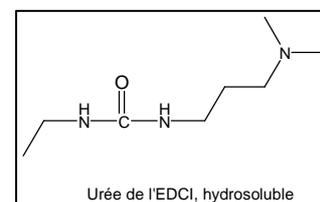


Figure 22



Schéma 82

<sup>89</sup> M. A. Berliner and K. Belecki. "Simple, Rapid Procedure for the Synthesis of Chloromethyl Methyl Ether and Other Chloro Alkyl Ethers" *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 9618-9621.

<sup>90</sup> T. Munegumi and K. Harada. "Asymmetric Catalytic Hydrogenation of Oximes and Benzylimino Derivatives of Chiral Pyruvamides" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1988**, *61*, 1425-1427.

## 2. Synthèse des $\alpha$ -hydroxyiminoamides

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, cette réaction se fait généralement dans l'éthanol, mais pour éviter la transestérification de l'ester benzylique lors de la formation des oximes, il a fallu changer l'éthanol par du THF et se placer en présence d'acétate de sodium. L'acétate de sodium agit comme base et permet ainsi la solubilisation de l'hydroxylamine.

Pour obtenir les  $\alpha$ -hydroxyiminoamides, les cétoamides sont mis en présence d'hydroxylamine et d'acétate de sodium puis le mélange est porté à reflux pendant 12 à 18 heures selon les produits (Schéma 83). La nature du premier acide aminé n'influe pas sur le rendement de la réaction (85 à 89%).

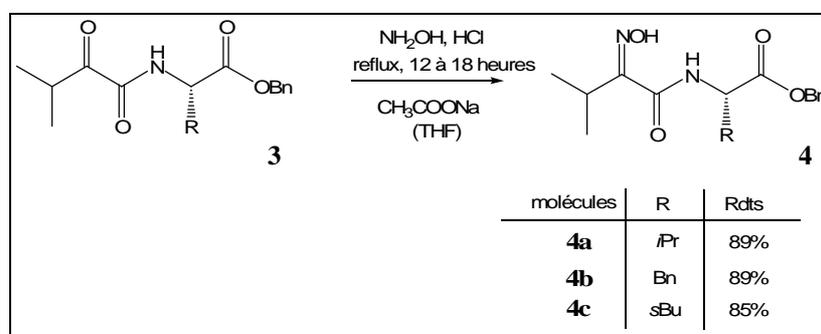


Schéma 83

Les oximes *Z* et *E* peuvent être séparées par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant AcOEt/Pentane 9:1 à 1:1) mais, l'étape suivante consistant en la réduction de l'oxime en hydroxylamine, la séparation de ces isomères n'est pas nécessaire.

## 3. Synthèse des *N*-hydroxy-dipeptides terminaux

### a) Amélioration de la réduction

La réduction des oximes en *N*-hydroxy-peptides se faisait également dans l'éthanol, en présence de borane-triméthylamine et d'acide chlorhydrique. Pour éviter une transestérification, nous avons d'abord changé l'éthanol par de l'éther. Toutefois, lors des essais de réduction, nous nous sommes rendus compte que certaines oximes, en particulier celles qui présentaient des phénylalanines, étaient peu solubles dans ce solvant. C'est

pourquoi par la suite nous avons réalisé la réduction des oximes dans le dichlorométhane. Le rendement est par ailleurs amélioré (Entrée 2 comparée à Entrée 1).

L'acide chlorhydrique est produit par action d'acide sulfurique concentré sur le chlorure d'ammonium. Nous avons préféré le chlorure d'ammonium au chlorure de sodium car avec ce dernier la libération de HCl est plus violente et dure moins longtemps qu'avec NH<sub>4</sub>Cl. Un renvoi à gaz permet de faire barboter l'acide chlorhydrique fraîchement formé dans la solution. Les rendements des entrées 3 et 4 ne sont pas optimisés.

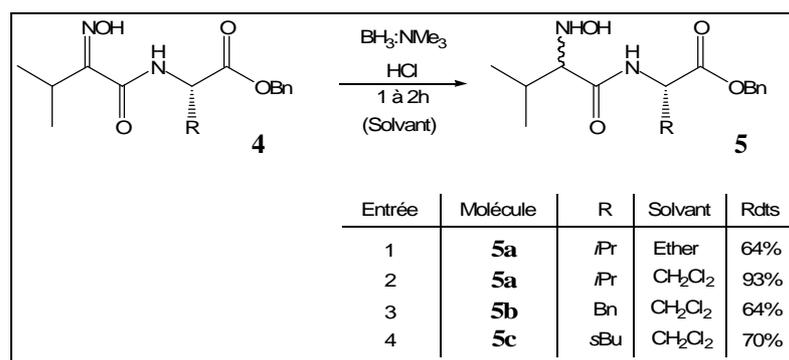


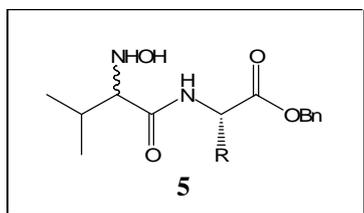
Schéma 84

Les réductions des oximes en *N*-hydroxy-dipeptides se faisant correctement, il nous restait à séparer les diastéréoisomères.

### b) Séparation des diastéréoisomères

Cette purification permet de récupérer des peptides avec des configurations distinctes. Les rendements en diastéréoisomères isolés sont regroupés dans le Tableau 5. Nous avons eu quelques difficultés lors de la séparation de certains des diastéréoisomères des *N*-hydroxy-dipeptides, en particulier dans le cas des molécules **5c**. Les molécules **5a** étaient les plus faciles à purifier. De manière générale, la méthode est limitée à la préparation de quantités inférieures à 300 mg (dans le meilleur des cas) de *N*-hydroxy-peptides. Pour une étude qui se veut essentiellement exploratoire, cette méthode est tout à fait justifiée. Certes les diastéréoisomères ne sont pas toujours très faciles à séparer, mais elle permet de préparer une diversité de dipeptides. Ainsi, cette difficulté nous a obligé à améliorer les techniques de

séparation et nous avons mis au point une technique de cristallisation complémentaire à la séparation de diastéréoisomères sur un des exemples que nous avons le plus souvent utilisé.



R	( <i>S,S</i> )	molécule	mélange ( <i>S,S</i> )+( <i>R,S</i> )	( <i>R,S</i> )	molécule
<i>i</i> Pr	24%	<b>5a<sub>1</sub></b>	30%	39%	<b>5a<sub>2</sub></b>
Bn	24%	<b>5b<sub>1</sub></b>	28%	12%	<b>5b<sub>2</sub></b>
<i>s</i> Bu	8%	<b>5c<sub>1</sub></b>	46%	16%	<b>5c<sub>2</sub></b>

Rendements après colonne

Tableau 5

La chromatographie sur gel de silice des diastéréoisomères **5a** donne un mélange enrichi en diastéréoisomère (*R,S*). Ce mélange enrichi laissé dans un mélange dichlorométhane-cyclohexane pendant plusieurs jours à température ambiante ou quelques heures à faibles températures (-10°C à 0°C), permet la cristallisation sous forme d'un solide blanc du diastéréoisomère (*R,S*). De plus, sous cette forme, il ne s'est pas dégradé à l'échelle de temps de la thèse (stocké dans le réfrigérateur (6°C)) contrairement à son homologue (*S,S*) qui est sous la forme d'une huile. Ce dipeptide est intéressant car il présente deux acides aminés avec des résidus encombrants. En revanche, sa stéréochimie (*R,S*) n'est pas idéale car elle est non naturelle. Dans la suite du travail, l'obtention et la séparation facilitée des diastéroisomères de ce dipeptide nous ont poussés à privilégier l'utilisation de tripeptides se finissant en ValVal-OBn.

Pour identifier les diastéréoisomères, les *N*-hydroxy-peptides sont réduits en amines, soit par l'iodure de samarium,<sup>91</sup> soit par le nickel de Raney. Les deux dipeptides obtenus sont comparés avec des échantillons (*S,S*) préparés par couplage d'acides aminés commerciaux de la série L.

Nous arrivons maintenant à l'étape clé de la synthèse des *N*-hydroxy-peptides au laboratoire : le couplage sélectif d'acides aminés activés sur l'azote de *N*-hydroxy-dipeptides.

<sup>91</sup> D. P. Curran, X. Gu, W. Zhang and P. Dowd. "On the Mechanism of the Intramolecular Samarium Barbier Reaction. Probes for Formation of Radical and Organosamarium Intermediates" *Tetrahedron*, **1997**, 53, 9023-9042.

#### 4. Synthèse des *N*-hydroxy-tripeptides

La technique mise au point au laboratoire (Schéma 85) permet un couplage sélectif sur l'azote et permet d'insérer des acides aminés avec des substituants encombrants.

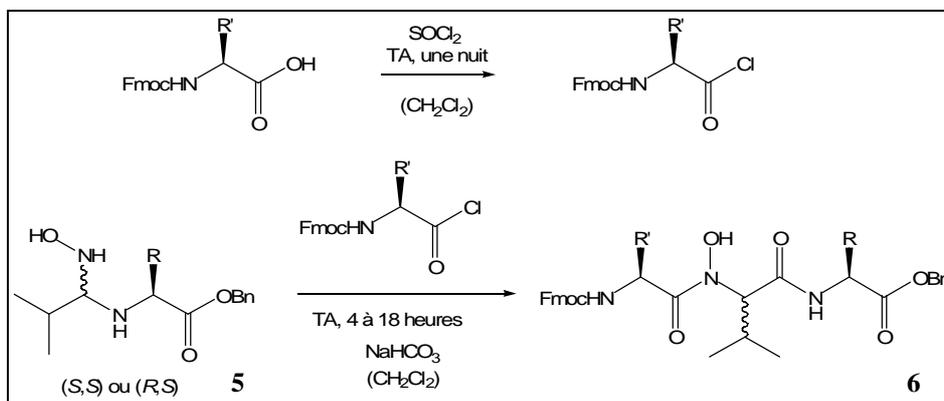
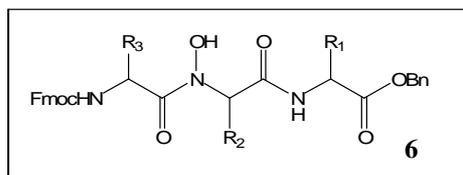


Schéma 85

De cette manière nous avons préparé plusieurs nouveaux *N*-hydroxy-tripeptides (Tableau 6). Dans tous les cas, les conversions, suivies par CCM, sont totales. Cependant, nous avons quelques exemples avec des rendements plus faibles que les autres. Dans le cas de (*S,S,S*)-Fmoc-Ala-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-OBn (**6a**), le rendement moyen s'explique sans doute par des problèmes de purification. Les produits **6f** et **6e** sont très peu solubles dans le milieu réactionnel et la formation de produits secondaires, que nous n'avons pas pu caractériser, a limité leur rendement.



Molécule	R <sub>3</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>1</sub>	Configuration	Rendement du couplage
<b>6a</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	( <i>S,S,S</i> )	42%
<b>6b</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	( <i>S,R,S</i> )	86%
<b>6c</b>	CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	( <i>S,S,S</i> )	81%
<b>6d</b>	CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	( <i>S,R,S</i> )	76%
<b>6e</b>	CH <sub>2</sub> Ph	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	( <i>S,S,S</i> )	22%
<b>6f</b>	CH <sub>2</sub> Ph	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> Ph	( <i>S,S,S</i> )	49%

Tableau 6

La synthèse peptidique en phase liquide a la réputation d'être difficile car les purifications des peptides sont souvent « épineuses ». Lors de la synthèse de certains de ces *N*-hydroxy-tripeptides, nous avons en effet constaté des difficultés pour récupérer proprement les produits avec juste une purification sur colonne de gel de silice. Ainsi, dans certains cas nous avons dû employer des purifications complémentaires par cristallisation, parfois difficiles comme pour la molécule **6a**. Les cristaux obtenus étaient trop petits ou trop fins pour une détermination de structure par rayons X.

Nous venons de voir la préparation des *N*-hydroxy-tripeptides avec des groupements protecteurs clivables au niveau des extrémités C et N terminales. Nous allons maintenant voir leur utilisation dans la synthèse de deux hexapeptides présentant deux motifs hydroxamate.

### III. Préparation d'hexapeptides comportant deux motifs hydroxamate

Le choix de la séquence du premier hexapeptide étudié est directement issu des premiers résultats d'obtention de tripeptides. Nous avons synthétisé un premier tripeptide avec une extrémité OBn. Nous avons également présent au laboratoire un tripeptide se finissant par OEt sur l'extrémité C terminale. Cela nous a permis de synthétiser un premier hexapeptide dont la séquence est décrite ci-dessous (Figure 23)

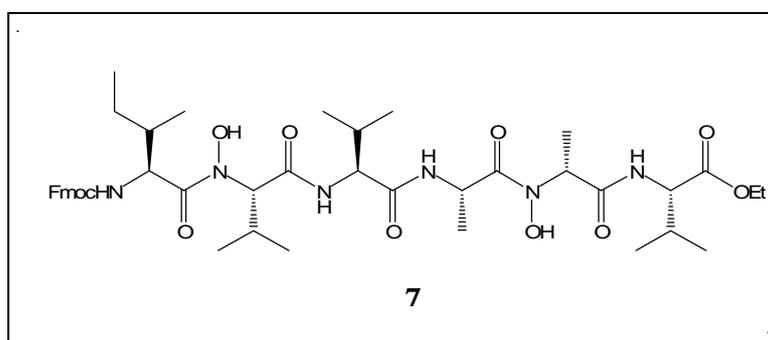


Figure 23

Nous nous sommes ensuite concentrés sur la synthèse d'un autre hexapeptide mais avec une extrémité C terminale benzylée. Le plus simple était de partir du tripeptide précédemment

obtenu et de le faire réagir sur lui même. Ainsi, nous avons voulu synthétiser l'hexapeptide présentant deux fois la même séquence (Figure 24).

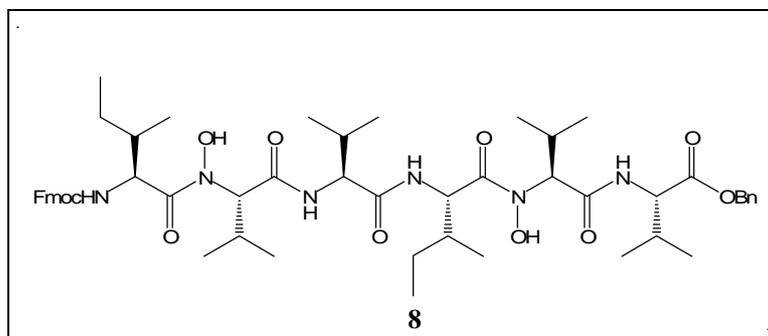


Figure 24

### 1. Mise au point sur la séquence Ile-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-Ala-Ψ[CO-N(OH)]-Ala-Val

Tout d'abord, nous aborderons la préparation des deux tripeptides ayant des extrémités déprotégées, puis nous verrons leur couplage pour obtenir un premier exemple d'hexapeptide.

#### a) Préparation du H-Ala-Ψ[CO-N(OH)]-Ala-Val-OEt

Le *N*-hydroxy-tripeptide **9** (dont la synthèse est décrite dans le chapitre 1<sup>79</sup>) possède un groupement Fmoc protégeant l'amine terminale. Pour cliver ce groupement protecteur, nous avons choisi d'utiliser la pipéridine dans le THF. Après une heure de réaction à température ambiante, nous avons obtenu quantitativement le tripeptide **10** avec l'extrémité N terminale déprotégée (Schéma 86).

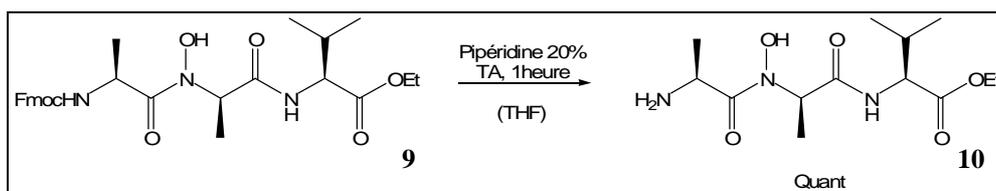


Schéma 86

b) Préparation de Fmoc-Ile-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-OH

i. Premier essai de déprotection

La déprotection du groupement benzyle du *N*-hydroxy-tripeptide **6d** a été effectuée par hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon à température ambiante pendant 45 minutes dans l'éthanol. Bien que cette déprotection ne présente théoriquement pas de problème d'orthogonalité,<sup>12</sup> nous avons obtenu le produit attendu **11** avec un rendement moyen de 46% car le Fmoc ne résiste pas à ces conditions et l'amine est partiellement déprotégée (Schéma 87).

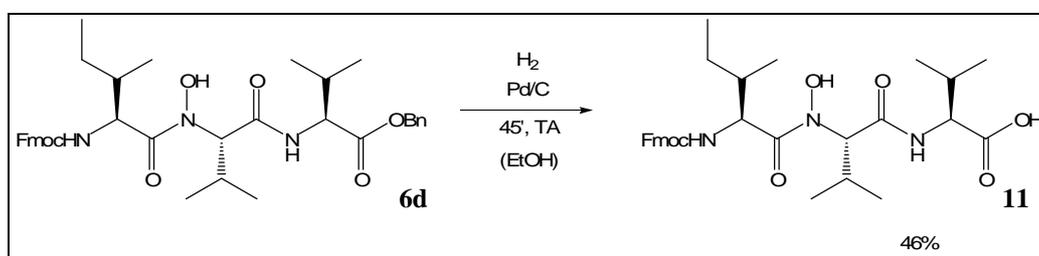


Schéma 87

Pour remédier à ce problème de déprotection de l'extrémité N terminale, nous avons envisagé un remplacement du groupement Fmoc par un autre groupement protecteur.

ii. Deuxième essai de déprotection

Les groupements Boc et OBn étant orthogonaux, nous avons remplacé le Fmoc par un Boc. Pour cela, l'extrémité N terminale du peptide **6d** est tout d'abord déprotégée par la pipéridine, puis Boc<sub>2</sub>O est ajouté au tripeptide en présence de triéthylamine. L'hydrogénolyse avec du palladium sur charbon de ce nouveau tripeptide permet d'accéder avec un rendement de 77% sur les trois étapes au tripeptide **14** dont l'extrémité C terminale est déprotégée (Schéma 88).

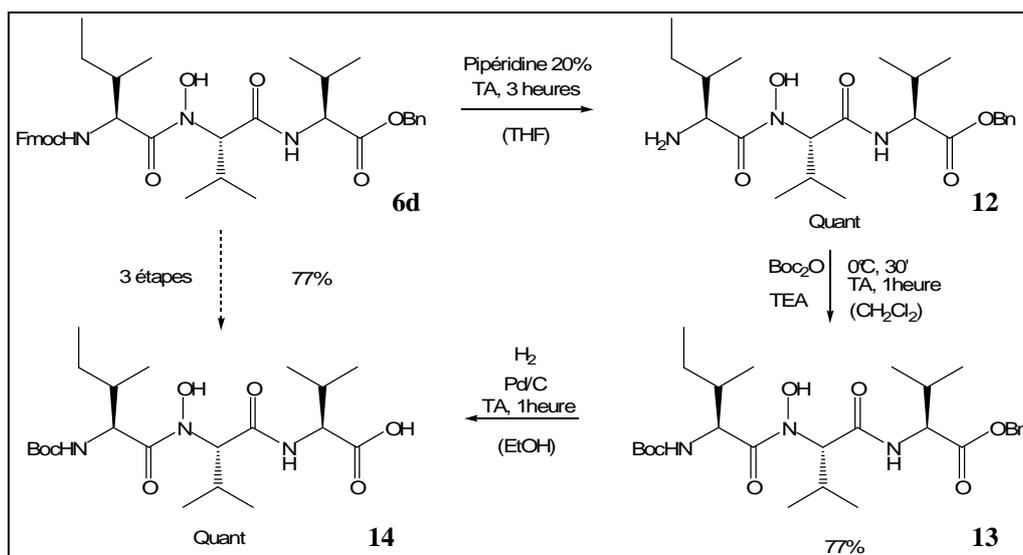


Schéma 88

Nous avons maintenant les tripeptides **10** et **12** avec leurs extrémités N terminales nues et le tripeptide **14** avec son extrémité C terminale nue. Il ne restait plus qu'à les coupler pour former le *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide.

c) Préparation de Boc-Ile-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-Ala-Ψ[CO-N(OH)]-Ala-Val-OEt

i. Premier essai de couplage

Avant de synthétiser un *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide, nous avons voulu vérifier la faisabilité d'un couplage peptidique sur l'azote terminal. Pour cela, nous avons préparé un *N*-hydroxy-térapeptide à partir du *N*-hydroxy-tripeptide **10** dans des conditions classiques de couplage, avec EDCI et HOBt. Cela nous a permis d'obtenir un nouvel exemple de *N*-hydroxy-peptide avec un rendement de 78% (Schéma 89).

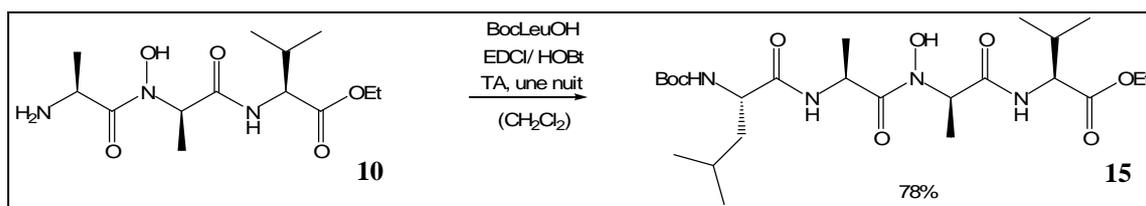


Schéma 89

L'agent de couplage utilisé nous a permis d'allonger la chaîne peptidique sans interaction visible avec l'hydroxamate. Il nous restait à l'appliquer à la synthèse d'un *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide.

## ii. Synthèse du *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide

L'utilisation de HOBt et EDCI nous a permis d'obtenir le *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide **16** avec un rendement de 71% en une heure à température ambiante (Schéma 90).

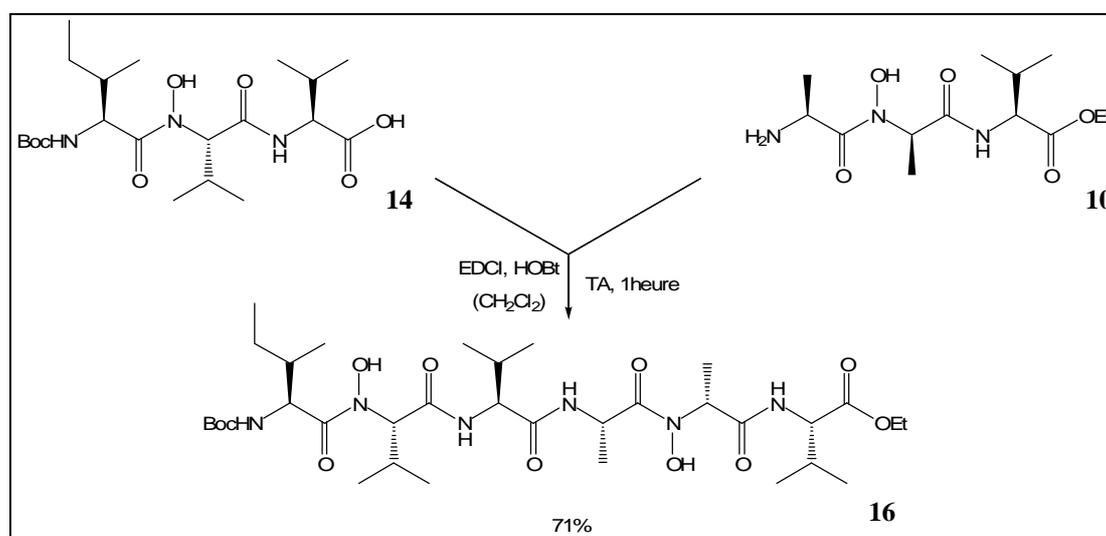


Schéma 90

Ainsi, nous avons atteint notre objectif initial qui était la synthèse d'un *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide.

Lors de notre premier essai, nous avons mal évalué la faible orthogonalité des groupements Fmoc/OBn. Nous avons donc dû changer le Fmoc pour un Boc. Ainsi, nous avons été obligés d'allonger la séquence réactionnelle de deux étapes supplémentaires. Nous pouvons néanmoins comparer le rendement d'obtention de ce tripeptide : 77 % en trois étapes pour obtenir un tripeptide Boc/OH et 46% en une étape pour obtenir un tripeptide Fmoc/OH directement à partir du tripeptide de départ.

Pour comparer plus rigoureusement ces résultats, il aurait été possible dans un premier temps de coupler le peptide **11** obtenu avec 46% de rendement avec le peptide **14**. Dans un deuxième temps, la déprotection des extrémités N terminales des deux hexapeptides (Boc et Fmoc) aurait conduit à la même molécule et aurait permis une réelle comparaison des stratégies.

## 2. Synthèse de Boc-Ile-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-Ile-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-OBn

Nous avons repris les conditions établies précédemment pour la synthèse d'un deuxième hexapeptide présentant cette fois-ci une protection de l'extrémité C terminale clivable, ce qui permet d'envisager son utilisation vers d'autres applications, comme son insertion entre deux fragments peptidiques et l'étude de l'influence des motifs hydroxamates sur le repliement, par exemple.

Nous sommes partis du tripeptide **6d** et nous avons appliqué la stratégie mise au point précédemment. Les déprotections des extrémités C et N terminales étant déjà décrites ci-dessus, nous présenterons seulement le couplage des fragments *N*-hydroxy-tripeptidiques **12** et **14** entre eux. Nous avons ainsi obtenu avec un rendement de 81 % sur l'étape de couplage le *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide **17** avec ses deux extrémités clivables (Schéma 91).

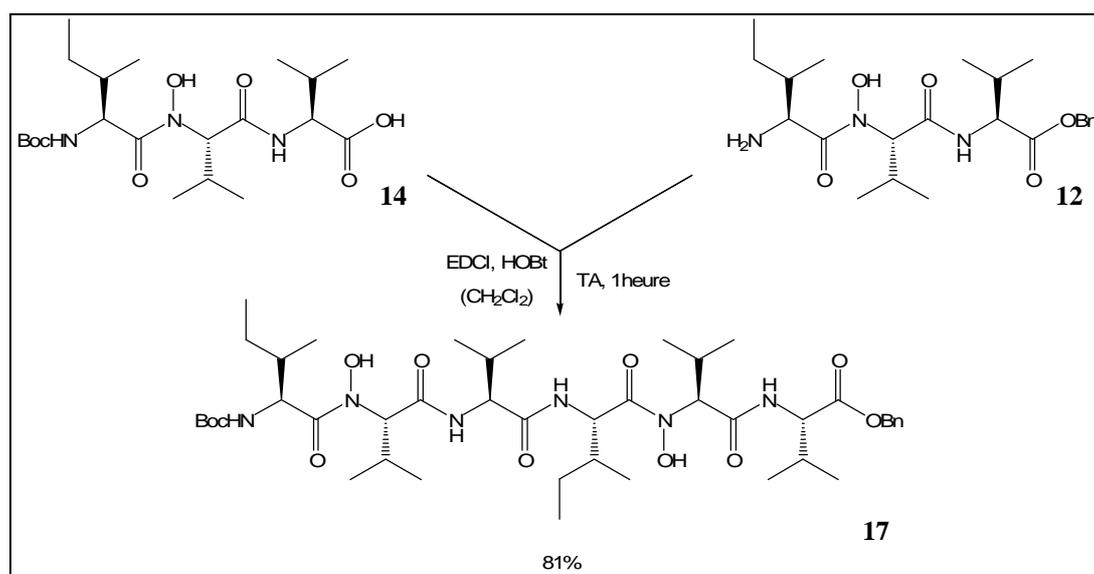


Schéma 91

## IV. Conclusion

Lors de cette première partie de résultats, nous avons développé la synthèse de *N*-hydroxy-peptides et nous avons ainsi obtenu six *N*-hydroxy-dipeptides, six *N*-hydroxy-tripeptides, un *N*-hydroxy-tétrapeptide et deux *N,N'*-dihydroxy-hexapeptides. Nous avons

rencontré quelques difficultés d'ordre synthétique comme les problèmes d'orthogonalité de groupements protecteurs. La séparation des diastéréoisomères nous a également préoccupés quelque peu lors de ce travail. En revanche, le développement de la chimie liée aux *N*-hydroxy-peptides nous a donné de nouveaux modèles pseudopeptidiques présentant deux motifs CO-N(OH). Ainsi, à partir de ces *N*-hydroxy-peptides, nous avons voulu créer de nouvelles structures pseudopeptidiques en utilisant l'hydroxyle comme point de départ pour l'insertion de fragments variés dans la molécule. Nous allons maintenant aborder ces points dans les chapitres 4 et 5.

CHAPITRE 4  
Acylation des *N*-hydroxy-peptides

## CHAPITRE 4 :

### Acylation des N-hydroxy-peptides

Dans les chapitres 1 et 2, nous avons vu l'intérêt de modifier la liaison peptidique. Greffer de nouveaux substituants sur le groupement hydroxyle du motif hydroxamate pourrait entraîner des variations des propriétés par rapport aux homologues classiques ou N-hydroxylés. Ainsi, la liaison N-acyloxy-peptidique pourrait induire des changements de conformation de la structure peptidique, des changements de sensibilité vis-à-vis de la digestion enzymatique<sup>17,18</sup> ou permettre l'apport de nouvelles activités biologiques.<sup>81</sup> Nous avons donc étudié les conditions d'obtention de N-acyloxy-peptides et les avons appliquées à la préparation de molécules potentiellement intéressantes en vue d'applications biologiques, en particulier des N-aminoacyloxy-peptides (Schéma 92). Enfin, nous verrons quelles modifications peuvent subir les N-acyloxy-peptides et les perspectives qui en découlent.

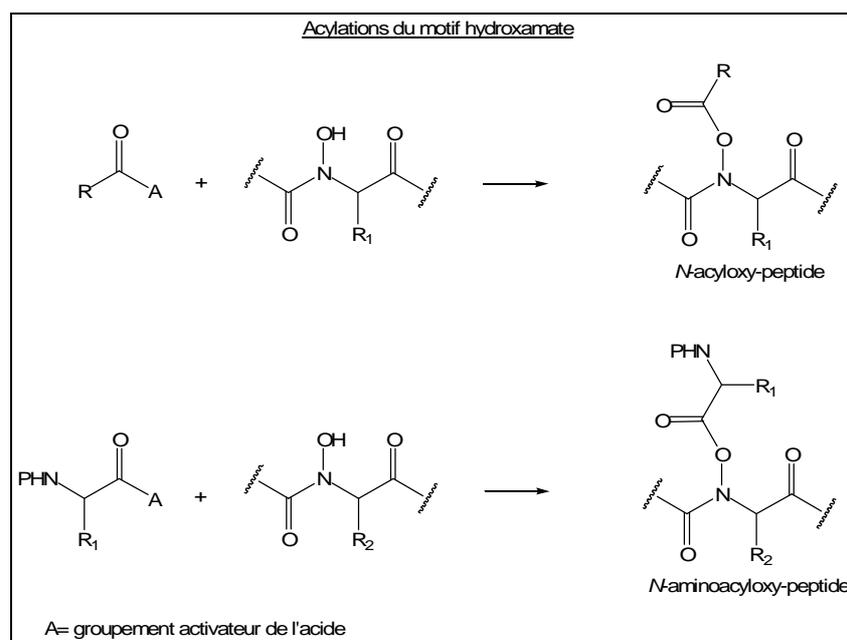


Schéma 92

## I. Préparation des *N*-acyloxy-peptides

### 1. Méthodes d'acylations décrites dans la littérature

Aucune méthode générale d'accès aux *N*-acyloxy-peptides n'est décrite dans la littérature. Cependant quelques articles permettent d'envisager une telle acylation du motif hydroxamate de nos pseudopeptides.

La première méthode dont nous allons parler n'est pas à strictement parlée une acylation, puisqu'il s'agit de la formation d'un carbonate.<sup>92</sup> L'auteur propose plusieurs méthodes pour modifier l'un des deux motifs hydroxamate d'un antibiotique de nature depsipeptidique, utilisant du benzylchloroformate et de la triéthylamine en présence ou non de 4-diméthylaminopyridine (DMAP)<sup>93</sup> dans le dichlorométhane. Il obtient des rendements de 74 et 80% respectivement (Schéma 93).

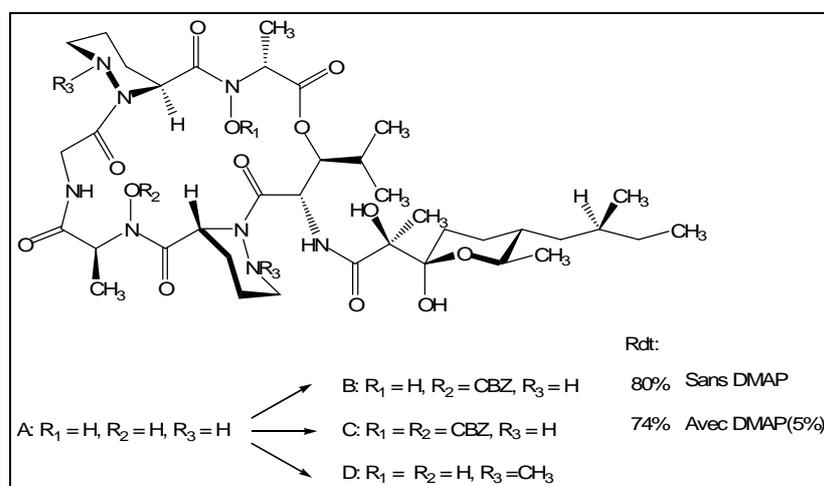


Schéma 93

<sup>92</sup> I. E. Kopka. "Selective semisynthetic modification of L-156,602, a novel cyclic hexadepsipeptide antibiotic" *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 4711-4714.

<sup>93</sup> A. Hassner and V. Alexanian. "Direct room temperature esterification of carboxylic acids" *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 46, 4475-4478.

L'exemple présenté sur le Schéma 94 est une acylation d'un acide hydroxamique, mais sur une structure non peptidique.<sup>94</sup> Dans le but d'étudier des réactions radicalaires à partir de *O*-acyloximes et d'acides *O*-acyl-hydroxamiques, les auteurs insèrent des groupements benzoyle sur l'hydroxyle. Pour cela, ils utilisent le chlorure d'acyle avec comme base la pyridine. Ils obtiennent les acides *O*-acyl-hydroxamiques avec des rendements de 60% à 86% (Schéma 94).

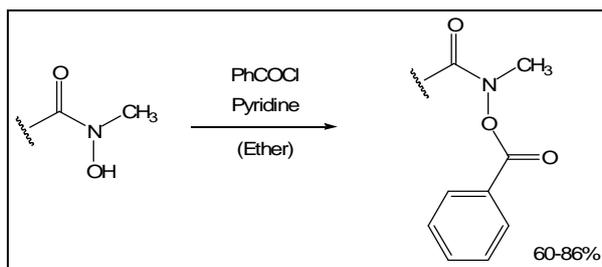


Schéma 94

Clark *et al.* ont également acylé des motifs hydroxamate en utilisant des chlorures d'acyles dans le dichlorométhane et comme base de la triéthylamine avec des rendements entre 29% et 94%. Ils ont ensuite étudié une migration du groupement acyle (Schéma 95).<sup>95</sup>

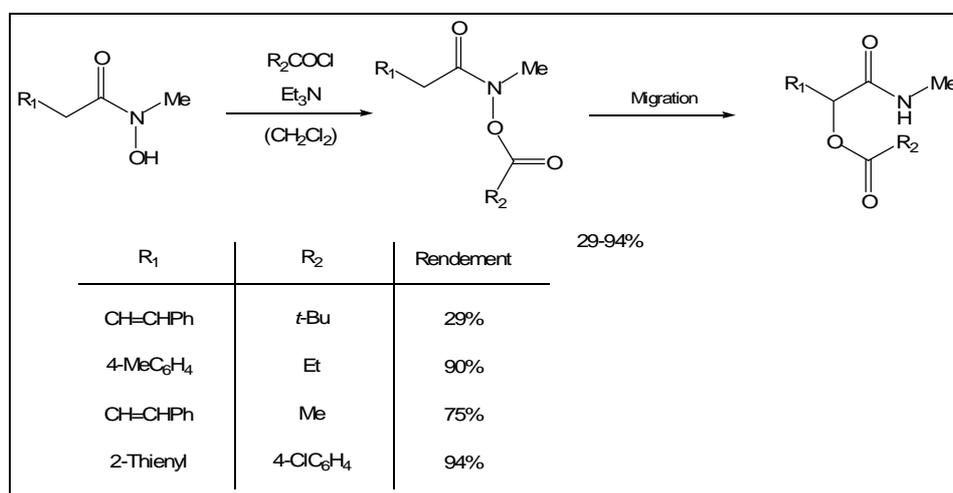


Schéma 95

<sup>94</sup> J. Boivin, A.-C. Callier-Dublanchet, B. Quiclet-Sire, A.-M. Schiano and S. Z. Zard. "Iminyl, Amidyl, and Carbamyl Radicals from *O*-Benzoyl Oximes and *O*-Benzoyl Hydroxamic Acid Derivatives" *Tetrahedron*, **1995**, 51 (23), 6517-6528.

<sup>95</sup> A. J. Clark, Y. S. S. Al-Faiyz, M. J. Broadhurst, D. Patel and J. L. Peacock. "Base catalysed rearrangement of *N*-alkyl-*O*-acyl hydroxamic acids: synthesis of 2-acyloxamides" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 1117-1127.

De l'anhydride acétique a été utilisé pour acétyler un acide hydroxamique aromatique.<sup>96</sup> Plusieurs modes opératoires sont rapportés pour l'acétylation. Le plus efficace consiste à utiliser l'anhydride acétique en présence de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Le rendement est de seulement 12%, ce qui est bien trop faible pour que la généralisation de cette méthode à des hydroxamates complexe soit envisageable. Cette méthode est néanmoins acceptable quand le produit de départ est peu cher, comme l'acide salicylique. Lorsque les produits à acétyler coûtent chers comme nos pseudopeptides, l'utilisation de cette méthode devient plus problématique. La deuxième méthode se fait dans l'anhydride à 80°C sans aucun rendement rapporté.

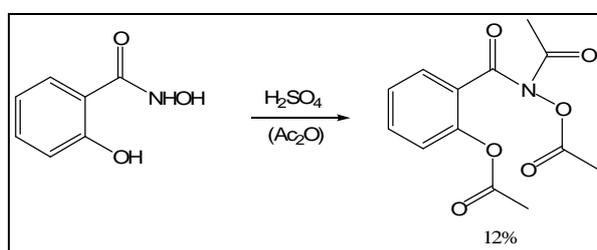


Schéma 96

De ces quelques exemples, nous avons retenu qu'il fallait utiliser un acide activé sous forme d'anhydride ou de chlorure d'acide en conditions acides ou basiques. Les molécules pseudopeptidiques à acyler nécessitent des conditions douces excluant l'utilisation d'acide sulfurique, par exemple. De plus, la majorité des produits dont nous allons nous servir ont une extrémité N terminale protégée par un Fmoc ne résistant pas à l'utilisation de bases telles que la triéthylamine, la DMAP ou la *N*-méthylmorpholine.<sup>97</sup> Ainsi, dans un premier temps, nous nous sommes tournés vers l'utilisation de pyridine comme base, relativement inerte par rapport au Fmoc.

## 2. Premiers essais : acétylation

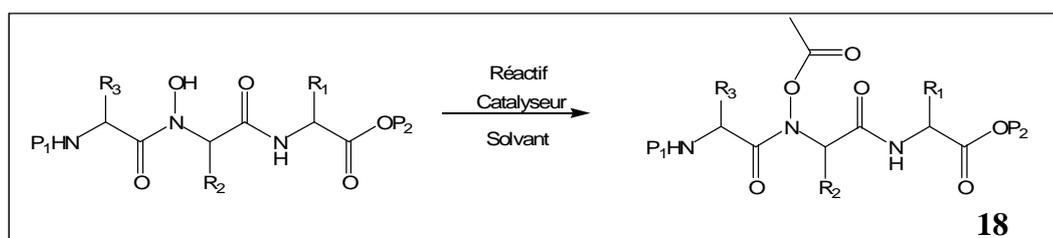
Nous avons à disposition les *N*-hydroxy-peptides préparés pour la synthèse des hexapeptides (chapitre 3). Ainsi, les premiers *N*-hydroxy-peptides que nous avons cherché à

<sup>96</sup> C. M. Dooley, M. Devocelle, B. McLoughlin, K. B. Nolan, D. J. Fitzgerald and C. T. Sharkey. "A Novel Family of Hydroxamate-Based Acylating Inhibitors of Cyclooxygenase" *Mol. Pharmacol.*, **2003**, 63, 450-455.

<sup>97</sup> T. W. Greene and P. G. M. Wuts. "Protective groups in organic synthesis" 3<sup>rd</sup> Ed., **1999**, Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Inc., P507 and P737.

acyler étaient le (*S,S,S*)-Boc-Ile-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-OBn (**13**) et (*S,S,S*)-Fmoc-Ile-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-OBn (**6c**). L'isomère (*S,R,S*) **6d** de ce dernier étant facilement accessible en grosses quantités, nous l'avons également testé.

Nous avons essayé plusieurs méthodes d'acétylation dont les résultats sont présentés dans le Tableau 7.



Entrée	N-hydroxy-peptide	Réactifs	Catalyseur	Solvant	Rendement	Molécule
1	<b>6d</b>	AcCl 1.7 eq Pyridine 2 eq	-	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	71%	<b>18a</b>
2	<b>6d</b>	Ac <sub>2</sub> O 2 eq	-	Pyridine	86%	<b>18a</b>
3	<b>6c</b>	Ac <sub>2</sub> O 2 eq	-	Pyridine	94%	<b>18b</b>
4	<b>13</b>	Ac <sub>2</sub> O 2 eq	-	Pyridine	99%	<b>18c</b>
5	<b>6d</b>	Ac <sub>2</sub> O 138 eq	I <sub>2</sub>	Ac <sub>2</sub> O	90%	<b>18a</b>
6	<b>6d</b>	Ac <sub>2</sub> O 1 à 5 eq	I <sub>2</sub>	Cyclohexane ou THF ou CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0%	-

Tableau 7

Nous avons commencé par acétyler le peptide **6d** en utilisant le chlorure d'acétyle dans le dichlorométhane avec 2 équivalents de pyridine comme base (Entrée 1), en vérifiant préalablement que le groupement Fmoc du *N*-hydroxy-peptide résistait à la pyridine. Ainsi, avec 1,7 équivalents de chlorure d'acétyle, nous avons obtenu en une nuit le *N*-hydroxy-peptide **18a** avec un rendement de 71%.

Nous avons ensuite testé l'emploi de l'anhydride acétique dans les mêmes conditions, mais la réaction est alors lente même en augmentant la quantité d'anhydride (temps de réaction supérieur à 24 heures). En revanche, dans la pyridine comme solvant, avec 2 équivalents d'anhydride, après une nuit de réaction à température ambiante, nous obtenons le produit acylé **18a** avec un rendement de 86% (Entrée 2). Nous avons également obtenu de cette façon les *N*-acétyloxy-peptides **18b** et **18c** (Entrées 3 et 4). Les rendements sont corrects avec cette technique d'acétylation, mais l'utilisation de pyridine est critiquable (pK<sub>b</sub> = 9,13).

En effet l'utilisation de bases en excès est à éviter en chimie peptidique car elle peut provoquer une épimérisation des peptides. Même si, nous n'avons pas observé ce phénomène dans nos différents essais.

Phukan propose plusieurs acylations catalysées par l'iode avec l'anhydride comme solvant, avec des rendements pouvant être quasi-quantitatifs.<sup>98</sup> Nous avons appliqué cette méthode à l'un de nos *N*-hydroxy-peptides avec un rendement de 90% (Entrée 5). Cette technique est intéressante pour l'insertion de groupements simples, mais son application à l'insertion de molécules plus complexes pose problème. Il faut en effet que l'anhydride soit liquide pour être utilisé en gros excès comme solvant. Nous avons donc cherché à diminuer la quantité d'anhydride et trouver un solvant à cette réaction, mais sans succès (Entrée 6). Nous avons récupéré le *N*-hydroxy-peptide de départ.

En résumé, différentes techniques ont été utilisées conduisant aux produits acétylés avec de bons rendements. De ces essais préliminaires, deux méthodes ont été retenues : celle au chlorure d'acétyle avec une base et celle à l'anhydride dans la pyridine. Par la suite, nous avons greffé des groupements plus élaborés sur les *N*-hydroxy-peptides en utilisant ces deux méthodes ou en développant d'autres.

### 3. Diversification des exemples

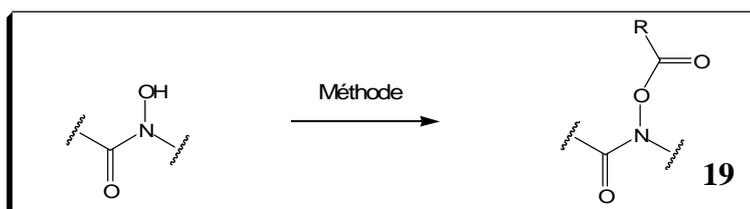
Nous avons diversifié les acylations en insérant d'abord des groupements hydrocarbonés, puis des groupements hétéroatomiques, sur différents *N*-hydroxy-peptides.

#### a) Insertion de groupements hydrocarbonés

Les résultats sont regroupés dans le Tableau 8.

---

<sup>98</sup> P. Phukan. "Iodine as an extremely powerful catalyst for the acetylation of alcohols under solvent-free conditions" *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4785-4787.



Entrée	<i>N</i> -hydroxy-peptide	Groupe-ment acyle	Méthode	Rendement	Molécule
1	<b>6d</b>		A	99%	<b>19a</b>
2	<b>6c</b>	"	A	97%	<b>19b</b>
3	<b>6b</b>	"	A	80%	<b>19c</b>
4	<b>6d</b>		A	87%	<b>19d</b>
5	<b>6c</b>	"	A	15%	<b>19e</b>
6	<b>6b</b>		B	90%	<b>19f</b>
7	<b>6b</b>		C	93%	<b>19g</b>
8	<b>6b</b>		C	93%	<b>19h</b>
9	<b>6b</b>	"	B	83%	<b>19h</b>
10	<b>15</b>	"	C	99%	<b>19i</b>
11	<b>9</b>	"	D	60%	<b>19j</b>

Méthode A : 2 équivalents d'anhydride dans la pyridine pendant une nuit.

Méthode B : chlorure d'acyle, DIPEA dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pendant une nuit.

Méthode C : formation de l'anhydride avec DCC dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Filtrat mis avec le tripeptide et après évaporation du solvant reprise de la méthode A.

Méthode D : BOP, DIPEA, dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Tableau 8<sup>99</sup>

Dans un premier temps, nous avons repris les *N*-hydroxy-peptides **6c** et **6d** comme modèles d'études. Ainsi, nous leur avons greffé des groupements propionyle et pivaloyle (Entrées 1, 2, 4 et 5). Dans le cas des groupements pivaloyle, nous avons rencontré des difficultés certainement dues à l'encombrement stérique. Nous avons dû laisser les réactions évoluer pendant 3 semaines pour obtenir les produits **19d** et **19e** désirés. La réaction sur l'isomère **6c** est encore plus lente : même au bout de 3 semaines de réaction, le produit **19e** est récupéré avec 15% de rendement seulement contre 87% avec l'autre isomère. Même dans ces

<sup>99</sup> Les différentes méthodes d'acylation seront notées méthodes A,B...S tout au long de ce chapitre.

cas où les *N*-hydroxy-peptides restent aussi longtemps dans la pyridine, nous n'avons pas remarqué d'épimérisation.

Nous avons également travaillé avec des pseudopeptides moins encombrés, en particulier avec le *N*-hydroxy-peptide (*S,R,S*)-Fmoc-Ala-Ψ[CO-N(OH)]-Val-Val-OBn (**6b**) présentant une alanine à la place de l'isoleucine. Dans ce cas, le produit attendu **19c** est obtenu avec un rendement de 80%.

Le branchement d'une chaîne grasse palmitoyle a été réalisé en utilisant la méthode du chlorure d'acyle (Entrée 6, méthode B). A cette occasion, nous avons testé l'emploi de diisopropyléthylamine (DiPEA ou DIEA) comme base car elle est très peu nucléophile et ne risque pas de réagir avec le chlorure d'acyle.<sup>100</sup> La purification du produit **19f** a été problématique car même après des conditions classiques de traitement (lavage-extraction) et de purification (chromatographie sur gel de silice), les spectres RMN du proton révèlent toujours la présence d'un deuxième composé qui doit être l'acide palmitoïque. Nous avons contourné ce problème en ajoutant 10% de carbonate de sodium au gel de silice<sup>†</sup> avec un éluant aprotique (mélange AcOEt/Pentane). Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> peut donc retenir l'acide palmitoïque. Nous avons par la suite appliqué cette méthode plusieurs fois dans des cas difficiles de purification et avons remarqué une meilleure pureté des produits isolés. Nous avons obtenu le produit **19f** avec un rendement de 90%. De par la nature lipophile de la chaîne latérale, ce produit pourrait avoir des caractéristiques lui permettant de s'insérer dans une bicouche membranaire, voire de la traverser. En effet, préférant les solvants polaires, les peptides passent très difficilement ces barrières, ce qui limite leurs actions au sein des cellules.

Nous sommes ensuite passés à l'introduction d'un groupement insaturé (Entrée 7). Insérer un tel groupement était intéressant pour pouvoir par la suite cycliser un *N,N'*-dihydroxy-peptide en utilisant une réaction de métathèse (chapitre 5). L'anhydride de l'acide pent-4-énoïque est obtenu par action du DCC sur l'acide correspondant dans le dichlorométhane (méthode C). L'urée de la DCC étant insoluble dans le dichlorométhane, elle est éliminée par filtration. Le filtrat contenant l'anhydride est ainsi directement ajouté au tripeptide. Après évaporation, le dichlorométhane est remplacé par la pyridine avant l'ajout du pseudopeptide. Le *N*-acyloxy-peptide **19g** est obtenu avec un rendement de 93%. Nous avons essayé de purifier le produit sans éliminer au préalable cette urée de la DCC, mais celle-ci n'a pas pu être séparée du *N*-acyloxy-peptide.

---

<sup>100</sup> D. L. Comins and A. H. Abdullah. "Synthesis of 1-Acyl-1,4-dihydropyridines via Copper Hydride Reduction of 1-Acylpyridinium Salts" *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 3392-3394.

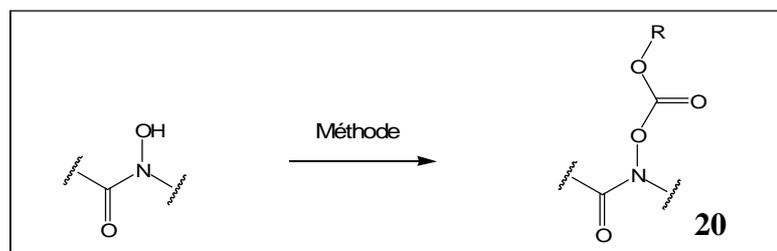
<sup>†</sup> La silice de la colonne chromatographique traitée par la triéthylamine ne permet pas de récupérer le produit propre.

Nous avons également étudié l'insertion de groupements aromatiques. L'insertion d'un benzoyle a été efficace sur plusieurs *N*-hydroxy-peptides par différentes méthodes. A partir de l'acide benzoïque et du pseudopeptide **6b**, nous avons tout d'abord appliqué la méthode C (Entrée 8). Nous avons obtenu le produit **19h** avec un rendement de 93%. Nous avons ensuite testé le chlorure de benzoyle avec la DiPEA, ce qui a permis d'obtenir le produit **19h** avec un rendement de 83% (Entrée 9). Nous avons également essayé l'acylation du *N*-hydroxy-tétrapeptide **15** par un groupement benzoyle et nous avons obtenu quantitativement le produit acylé **19i** (Entrée 10). Comme nous étions intéressés par l'utilisation d'agents de couplage pour additionner de manière plus douce des groupements sur le motif hydroxamate (en particulier des acides aminés, *vide infra*), nous avons utilisé le BOP pour greffer un benzoyle. Le rendement est alors de 60% (Entrée 11).

## b) Insertion de groupements hétéroatomiques

### i. Insertion d'un Boc (carboxylation)

Nous avons utilisé la méthode des anhydrides pour insérer un groupement Boc sur le motif hydroxamate. Les résultats sont présentés dans le Tableau 9.



Entrée	<i>N</i> -hydroxy-peptide	Groupe ment carbonate	Méthode	Rendement	Molécule
1	<b>6c</b>		A	82%	<b>20a</b>
2	<b>6d</b>	"	A	99%	<b>20b</b>
3	<b>12</b>	"	E	88%	<b>20d</b>

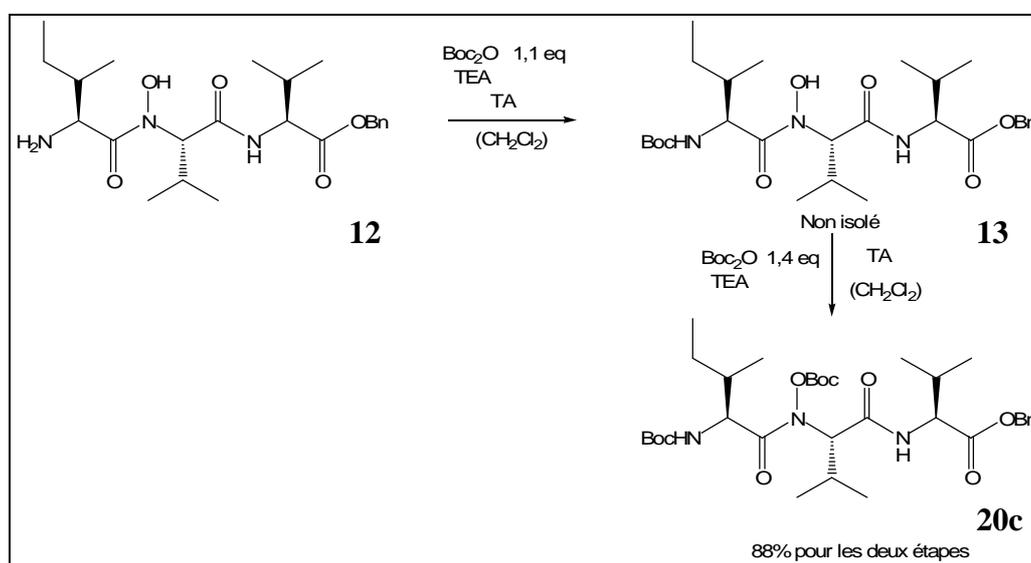
Méthode A: 2 équivalents d'anhydride dans la pyridine pendant une nuit.

Méthode E: 2,4 équivalents d'anhydride, triéthylamine dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pendant 8 heures.

Tableau 9

Nous avons inséré un groupement Boc sur les molécules **6c** et **6d** (Entrées 1 et 2) d'abord pour comparer les résultats avec les molécules **19e** et **19d**. En effet, l'insertion du *tert*-butyle a été difficile sur ces *N*-hydroxy-peptides et avec le Boc, nous éloignons le *tert*-butyle d'un atome d'oxygène tout en permettant une protection de l'hydroxyle. Nous avons obtenu avec de très bons rendements les molécules **20a** et **20b** pour des temps de réaction n'excédant pas une nuit.

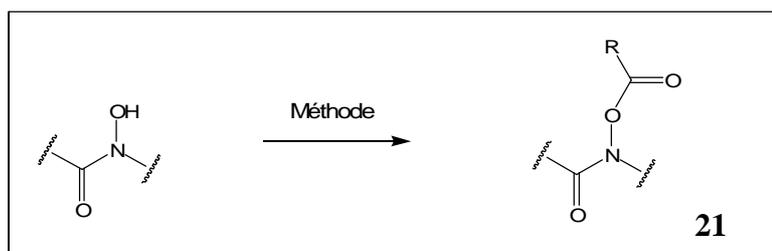
Nous avons par ailleurs inséré dans une même étape, un Boc sur l'amine terminale du *N*-hydroxy-peptide **12** puis un Boc sur le motif hydroxamate de la molécule **13** (Entrée 3). Ainsi, en suivant la réaction par plaque CCM, le produit **13** est clairement obtenu seul jusqu'à 1,1 équivalent de  $\text{Boc}_2\text{O}$ . En ajoutant alors 1,4 équivalents d'anhydride, nous avons obtenu la molécule **20c** avec un rendement de 88% pour les deux étapes après purification (Schéma 97).



Il faut noter que lors de la formation de **20c**, il n'y a pas passage par une molécule à l'extrémité N terminale nue et à l'hydroxyle du motif hydroxamate substitué par un Boc.

## ii. Diversification avec d'autres groupements hétéroatomiques

Les résultats sont regroupés dans le Tableau 10.



Entrée	<i>N</i> -hydroxy-peptide	Groupe acyle	Méthode	Rendement	Molécule
1	<b>6d</b>		A	Produit instable	<b>21a</b>
2	<b>6c</b>	"	A	Produit instable	<b>21b</b>
3	<b>6b</b>	"	A	Produit instable	<b>21c</b>
4	<b>6b</b>		C	-	-
5	<b>6b</b>		B	-	-
6	<b>6b</b>		B	-	-

Méthode A: 2 équivalents d'anhydride dans la pyridine pendant une nuit.

Méthode B: chlorure d'acyle, DIPEA dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pendant une nuit.

Méthode C: formation de l'anhydride avec DCC dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Filtrat mis avec le tripeptide et après évaporation du solvant reprise de la méthode A.

Tableau 10

Nous avons d'abord testé les conditions pour l'ajout de groupements fluorés (entrées 1,2 et 3). Il est intéressant d'introduire du fluor, à la réactivité particulière, dans nos molécules prouvant ainsi la flexibilité de notre méthodologie de synthèse. De plus, remplacer un hydrogène par un fluor dans le groupement acyle permettrait de comparer différents *N*-acyloxy-peptides lors d'applications biologiques. L'anhydride trifluoroacétique étant commercial, nous avons appliqué notre méthode anhydride/pyridine sur le *N*-hydroxy-tripeptide **6d**. La RMN du mélange réactionnel semble indiquer que le produit voulu se forme avec une très bonne conversion, mais il est accompagné de produits issus de la réaction de Friedel et Craft sur la pyridine. Après purification, nous obtenons un mélange de produits que nous supposons être le tripeptide de départ et le produit voulu. Nous avons testé les mêmes conditions réactionnelles avec deux autres *N*-hydroxy-peptides, **6b** et **6c** mais les résultats

sont identiques. Il semble donc que les produits *O*-trifluoroacétylés ne sont pas stables et se dégradent rapidement pour redonner le *N*-hydroxy-tripeptide de départ.

Nous avons ensuite étudié le greffage des groupements hétéroaromatiques. Avec l'acide picolinique (entrée 4), en appliquant les conditions de formation de l'anhydride avec le DCC comme décrit précédemment avec le benzoyle, aucune conversion n'est observée et nous récupérons seulement les réactifs de départ. On peut se demander si l'anhydride se forme. Cependant, nous observons bien la précipitation de l'urée de la DCC. De plus, la RMN du proton du mélange réactionnel après ajout de *N*-hydroxy-peptide dans la pyridine montre la présence de l'acide picolinique ou d'un dérivé.

Les indoles sont des molécules connues pour leurs activités biologiques très intéressantes. Greffer un fragment peptidique sur un indole permettrait peut-être d'obtenir des molécules ayant des caractéristiques et des propriétés (biologiques surtout) de l'un et de l'autre. Nous étions en possession au laboratoire de deux « candidats » indoliques potentiels. Ces deux indoles étant sous formes de chlorures d'acyles, nous pouvions espérer les greffer sur l'hydroxamate. Dans les deux cas (entrées 5 et 6) aucune réaction n'a eu lieu et seul le *N*-hydroxy-tripeptide de départ a été récupéré. Pour vérifier que nous avons bien les chlorures d'acyle, de ces deux dérivés indoliques, nous les avons fait réagir avec de la diéthylamine et avons obtenu les amides attendus. Nous supposons qu'un encombrement stérique pourrait être la raison de ce résultat qui reste cependant peu compréhensible.

#### 4. Utilisation d'un espaceur

L'utilisation d'un espaceur permettrait d'éloigner les groupements encombrants. L'idée est de greffer d'abord un lien chimique, puis de lui greffer la molécule voulue. (Schéma 98).

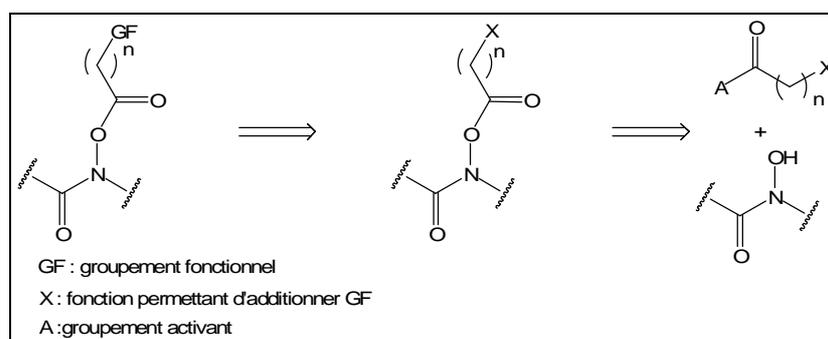


Schéma 98

L'anhydride succinique dont l'ouverture de cycle permettrait de découvrir une fonction acide carboxylique sur laquelle nous pourrions travailler, nous a semblé être une bonne solution.

a) Première méthode envisagée

Nous ne sommes pas parvenus à isoler le *N*-acyloxy-peptide **22** (Schéma 99). En effet, il nous a fallu employer 12 équivalents d'anhydride succinique pour que la conversion contrôlée par RMN soit totale, mais lorsque nous avons voulu purifier et isoler le produit, il s'est dégradé. Ainsi, nous avons récupéré après chromatographie un mélange de produit attendu et de *N*-hydroxy-tripeptide de départ. Il est probable que le cycle succinique se referme, libérant le *N*-hydroxy-peptide.

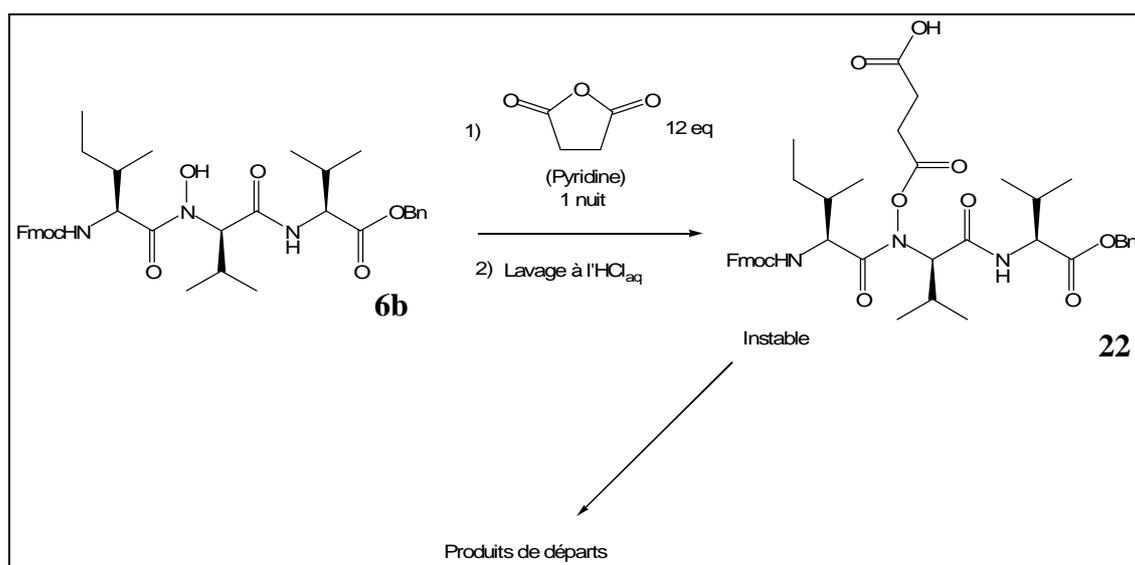


Schéma 99

Nous avons alors envisagé une activation directement sur l'acide **22** ouvert non purifié par action de chlorure d'oxalyle, empêchant ainsi le cycle succinique de se refermer. Par ailleurs, nous nous sommes confronté à la nature du nucléophile à additionner (Schéma 100). En effet, un nucléophile assez fort peut aussi bien réagir avec le carbonyle rattaché à l'hydroxamate (voie 1) qu'avec le chlorure d'acyle terminal (voie 2).

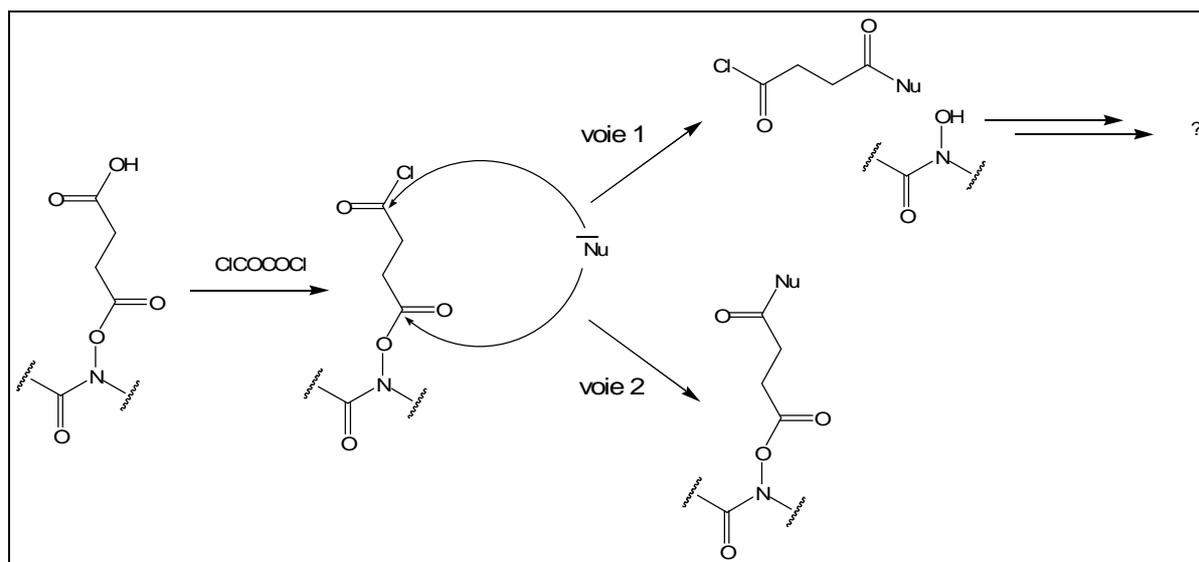


Schéma 100

L'utilisation d'un sucre comme nucléophile semblait donc tentante. En plus de la nature hybride glyco-peptidique intéressante de la molécule obtenue, l'oxygène de la position anomérique présente un caractère nucléophile modéré ce qui nous permettrait d'espérer une attaque sélective sur le chlorure d'acyle. Nous avons donc fait réagir le tripeptide **6d** avec l'anhydride succinique. Après un lavage à l'acide chlorhydrique concentré, permettant d'éliminer l'anhydride en excès, nous avons traité le produit intermédiaire avec un large excès de chlorure d'oxalyle puis avec du glucose benzylé. Le rendement de la réaction est faible. Les deux anomères sont isolés par chromatographie avec des rendements de 7% chacun sur les trois étapes (rendement totale = 14%).

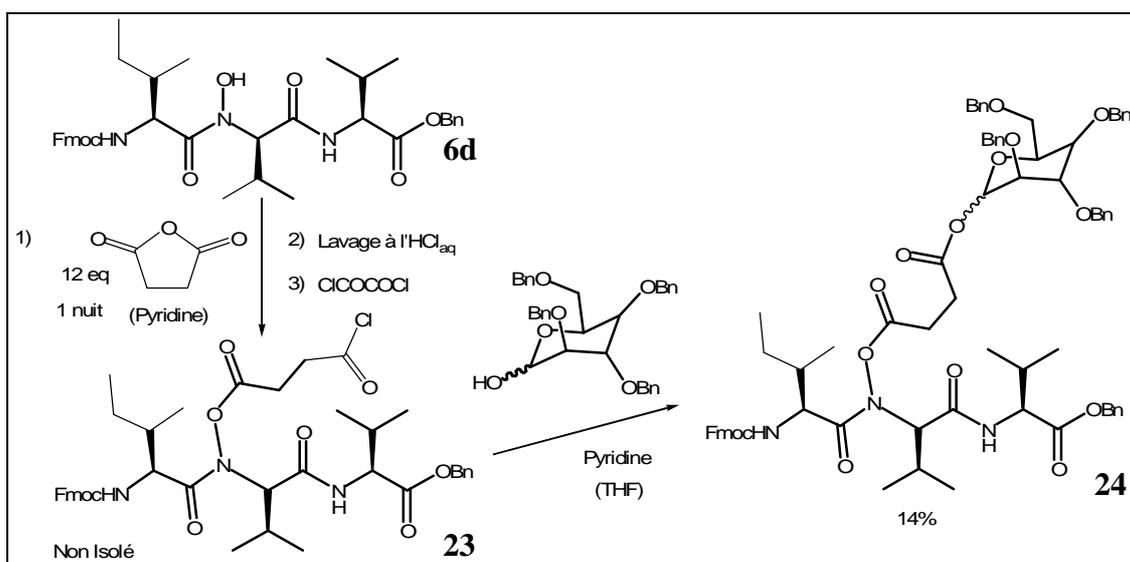


Schéma 101

b) Deuxième méthode envisagée

L'anhydride succinique a l'avantage de présenter une fonction acide carboxylique cachée. Les problèmes qui sont apparus lors du premier essai étaient l'instabilité du produit ouvert, mais également les problèmes de régiosélectivité entre les deux carbonyles de l'espaceur. Nous avons alors choisi d'insérer directement l'ensemble espaceur-groupement fonctionnel (Schéma 102).

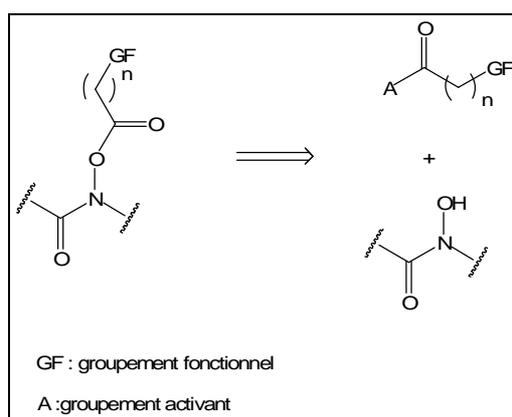


Schéma 102

Nous avons tout d'abord testé cette méthode sur un modèle. L'équipe de Bhaduri a condensé la diéthylamine sur l'anhydride succinique avec un rendement de 90%.<sup>101</sup> Nous avons reproduit la réaction au laboratoire avec un rendement de 70% (Schéma 103).

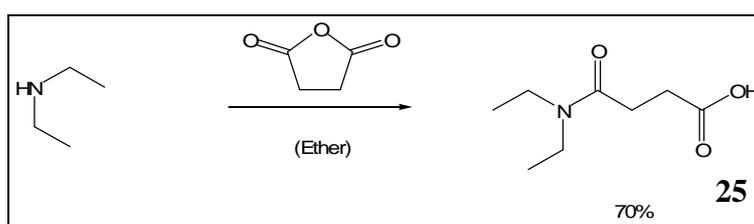


Schéma 103

Nous avons ensuite utilisé du BOP pour coupler le pseudopeptide **6b** et le composé **25** (Schéma 104). Nous avons ainsi obtenu le N-acyloxy-peptide **26** avec 57% de rendement.

<sup>101</sup> D. De, M. Seth, S. Chandra and A. P. Bhaduri. "Reversal of chloroquine resistance: synthesis and biological evaluation of substituted alkanolamines and diamino-butananes" *Ind. J. Chem., (section B: Org. Chem. Inc. Med. Chem.)*, **1989**, 28 B, 146-149.

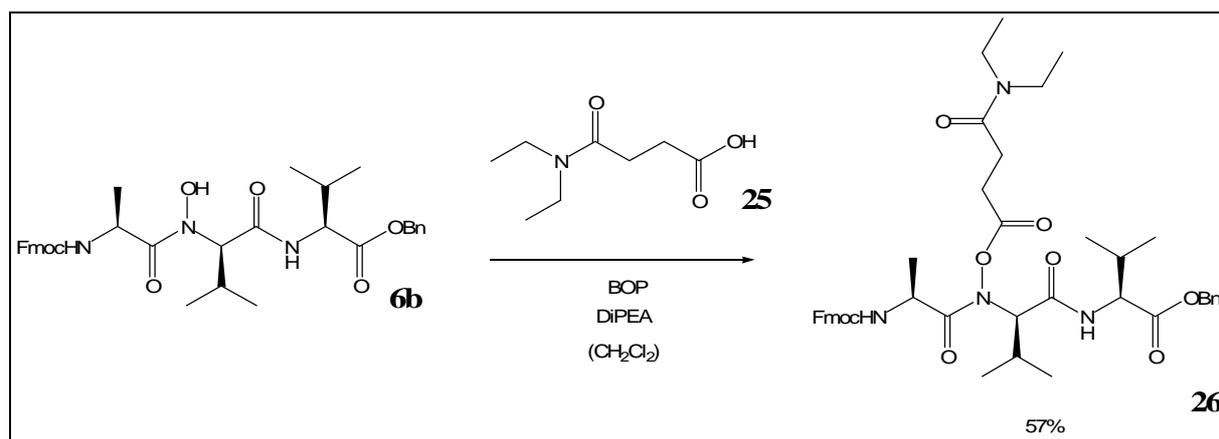


Schéma 104

Ce premier essai encourageant nous a poussé à utiliser une molécule plus complexe que la diéthylamine. Nous avons fait réagir un aza-éther couronne sur l'anhydride succinique dans du dichlorométhane en présence de triéthylamine comme base et nous avons obtenu la molécule **27** avec un rendement de 80% (Schéma 105).

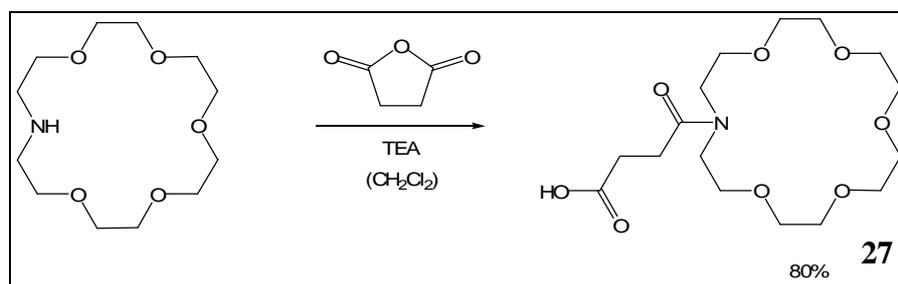


Schéma 105

Le couplage, dans les mêmes conditions que précédemment, avec le tripeptide **6b** a permis d'obtenir la molécule **28** voulue avec un rendement de 41% (Schéma 106). Une dégradation de l'éther couronne lors de la purification sur la colonne de silice a été décelée entraînant une baisse de rendement mais la liaison « ester » n'est pas touchée.

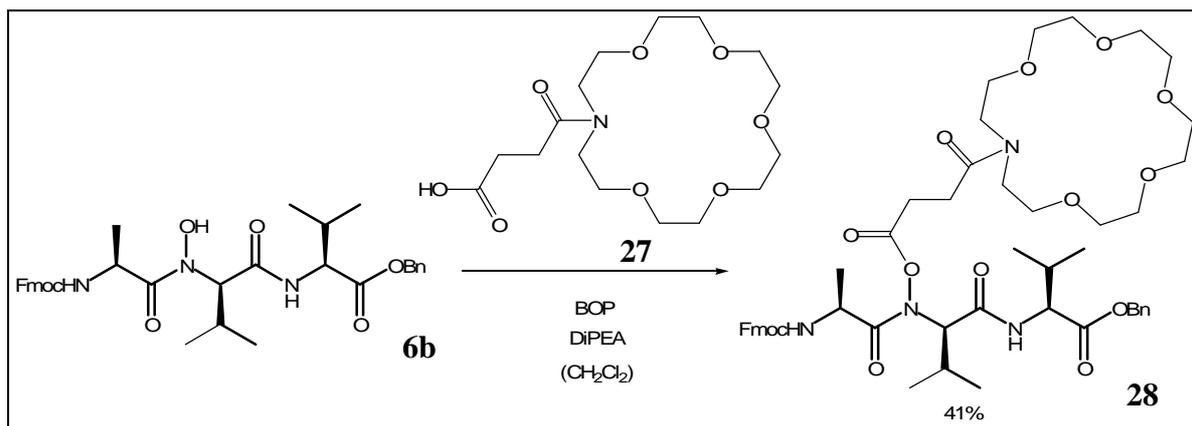


Schéma 106

Nous n'avons pas eu l'occasion d'étudier les propriétés complexantes de cette molécule. Nous pensons néanmoins qu'elle pourrait avoir des propriétés tensio-actives en présence de certains ions métalliques (comme le sodium peut-être). En effet, la partie peptidique de la molécule possède des groupements assez lipophiles, tandis que l'éther couronne doit permettre de localiser l'ion métallique. Si ce caractère amphiphile est prouvé, ceci pourrait être une technique pour passer les bicouche lipidique de membranes biologiques comme certains exemples rapportés dans la littérature tendent à le montrer.<sup>102</sup>

### c) Conclusion

En utilisant l'anhydride succinique, nous avons réussi à préparer un *N*-acyloxy-peptide présentant un motif cryptant sur la chaîne latérale. Pour étendre cette méthodologie à d'autres motifs (vers les sucres par exemple), il serait peut être plus sage d'envisager un autre type de lien que l'acyloxy (alkyloxy par exemple) ou bien un autre espaceur que l'anhydride succinique (un  $\omega$ -bromoacide par exemple).

Nous allons maintenant étudier l'insertion sur des *N*-hydroxy-peptides d'autres chaînes latérales fonctionnalisées : les acides aminés.

<sup>102</sup> S. Pathirana and W. C. Neely. "Interaction of Valinomycin and Stearic Acid in Monolayers" *Langmuir*, **1992**, 8, 1984-1987.

## II. Préparation de *N*-aminoacyloxy-peptides

### 1. Introduction

La préparation de pseudopeptides constitués de deux chaînes peptidiques reliées entre elles par le motif hydroxamate peut apporter de nouvelles propriétés à cette classe de molécules.

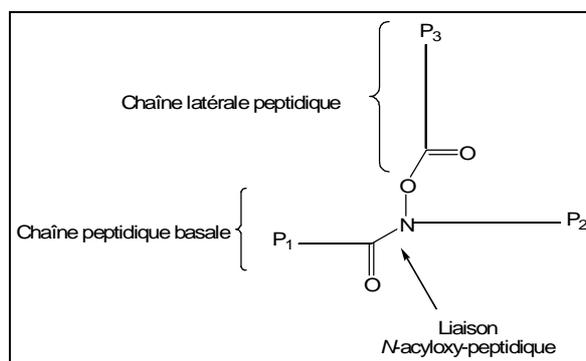


Figure 25

### 2. Premiers essais

#### a) les choix retenus (Figure 26)

Nous avons opté pour une stratégie pas à pas pour la synthèse d'une chaîne latérale peptidique sur le motif hydroxamate. Nous avons commencé notre étude en essayant de greffer un acide aminé sur le motif hydroxamate. Nous avons envisagé différentes méthodes pour insérer un acide aminé ou un fragment peptidique sur l'hydroxyle, en utilisant des anhydrides symétriques, des anhydrides mixtes, des *N*-carboxyanhydrides, des chlorures d'acyles mais aussi des méthodes avec des agents de couplage. Pour tester ces méthodes nous avons d'abord travaillé avec la glycine, un acide aminé simple sans centre stéréogène.

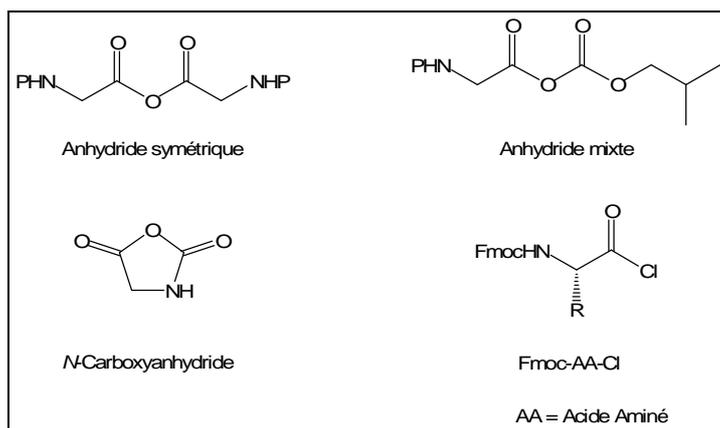


Figure 26

## b) Résultats

L'ensemble des résultats est rapporté dans le Tableau 11.

Les essais avec l'anhydride symétrique de la Boc-glycine<sup>103</sup> dans la pyridine (Entrées 1 et 2) ont permis d'obtenir les produits **29a** et **29b** avec des rendements de 88% et 85%.<sup>†</sup> Comme l'anhydride symétrique entraîne l'utilisation de deux équivalents d'acide aminé, nous l'avons ensuite remplacé par un anhydride mixte (Entrée 3), mais nous n'avons pas observé la formation de nouveaux produits.

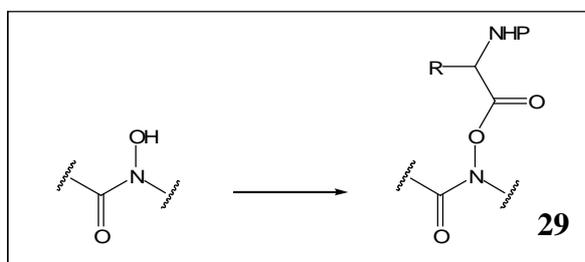
Dans la littérature, nous avons trouvé des conditions utilisant les anhydrides mixtes avec de la *N*-méthylmorpholine (NMM) comme base dans le dichlorométhane.<sup>73</sup> Nous avons testé cette base sur nos *N*-hydroxy-peptides et avons remarqué un début de déprotection de l'amine à partir de 1 équivalent de NMM ajouté. Vraisemblablement cette base vient d'abord déprotoner l'hydroxamate, puis ensuite seulement, clive le groupement Fmoc de l'amine. Nous avons donc essayé l'ajout d'anhydride mixte avec un équivalent de NMM (Entrée 4) et avons obtenu le produit acylé voulu avec un rendement estimé par RMN du proton de 15% en mélange avec le *N*-hydroxy-peptide de départ. Nous n'avons pas réussi à séparer les produits et les résultats de ce couplage n'ont pas pu être améliorés.

Nous avons alors testé les conditions utilisant un *N*-carboxyanhydride (*N*-CA) (Entrée 5). Dans la littérature, il est rapporté que l'inconvénient de cette réaction est la polymérisation du

<sup>†</sup> Un essai avec l'anhydride isolé par cristallisation conduit à un rendement de 75% pour **29b**.

<sup>103</sup> D. Yamashiro. "Preparation and properties of some crystalline symmetrical anhydrides of *N*<sup>α</sup>-tert.-butyloxycarbonyl-amino acids" *Int. J. Peptide Protein Res.*, **1987**, 30, 9-12.

N-CA dans le mélange.<sup>104</sup> Avec cette méthode, il n'a pas été possible d'insérer une glycine sur l'hydroxyle, vraisemblablement parce que l'hydroxamate n'est pas assez nucléophile. Enfin nous avons testé différents chlorures d'acyles (Entrées 6 et 7), mais aucun acide aminé n'a pu être greffé de cette manière.



Entrée	Tripeptide	Groupe-ment amino-acyle	Méthode	Rendement	Molécule
1	6c		C	85%	29a
2	6b	"	C	88%	29b
3	"	"	F	-	
4	"	"	G	15%*	29b
5	"		H	-	
6	"		I	-	
7	6d		I	-	

Méthode C\* : 4 eq AA, 2 eq DCC, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Filtrat mis avec le tripeptide, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) remplacé par (pyridine)  
 Nouvelles méthodes:  
 Méthode F : Anhydride mixte, (pyridine)  
 Méthode G : Anhydride mixte, 1 équivalent de NMM, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  
 Méthode H : N-carboxyanhydride, (pyridine)  
 Méthode I : Fmoc-AAcI, 1,3 eq pyridine, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

\*Rendement estimé par RMN

Tableau 11

De ces essais, il ressort que la seule méthode qui semble permettre une insertion d'un acide aminé sur le motif hydroxamate est l'utilisation d'anhydride symétrique dans la pyridine. Comme nous avons obtenu ces anhydrides par action de dicyclocarbodiimide

<sup>104</sup> W. D. Fuller, M. Goodman, F. R. Naider and Y.-F. Zhu. "Urethane-Protected  $\alpha$ -Amino Acid N-Carboxyanhydrides and Peptide Synthesis" *Biopolymers (Pept. Sci.)*, **1996**, 40, 183-205.

(DCC), nous avons voulu essayer des méthodes impliquant directement des agents de couplage sans passer par l'anhydride isolé.

### 3. Utilisation d'agents de couplage

#### a) Choix des agents de couplage (Figure 27)

Notre premier choix s'est porté sur le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) qui nous avait préalablement permis d'obtenir les anhydrides symétriques. L'EDCI est également un agent de couplage de type carbodiimide, dont l'urée est hydrosoluble.<sup>6</sup> Un agent de type phosphonium comme le BOP dont les résultats de couplage en synthèse de peptides sont connus pour être bons, devait être essayé.<sup>9</sup> Enfin, nous voulions également tester un agent de couplage de type aminium/uronium comme le HATU.<sup>10</sup>

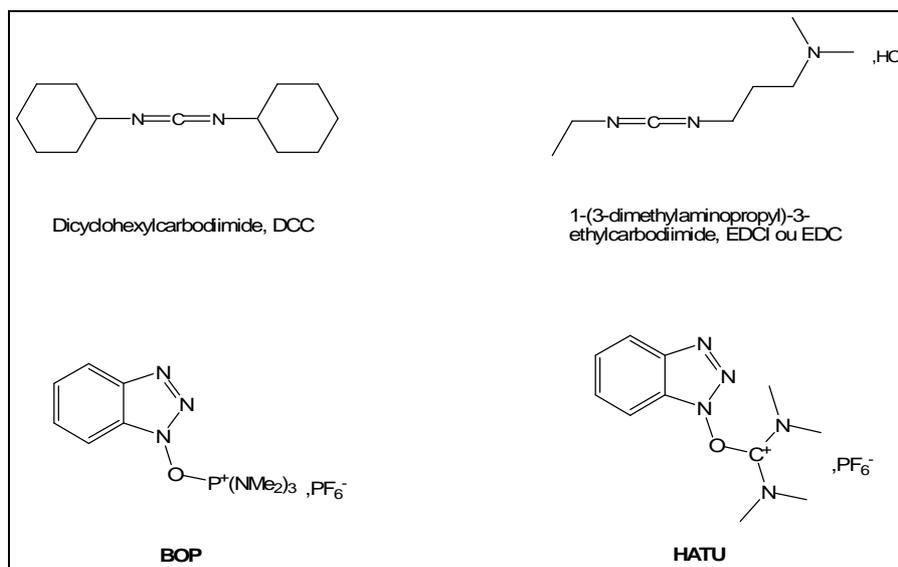
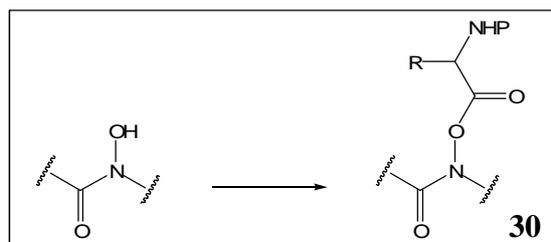


Figure 27

#### b) Résultats

L'ensemble des résultats est rapporté dans le Tableau 12.



Entrée	Tripeptide	Groupe aminoacyle	Méthode	Rendement	Molécule
1	<b>6b</b>		J K D	75%* 69% 74%	<b>29b**</b>
2	<b>9</b>	"	D	-	
3	"		D	-	
4	(S,R,S)- Boc-Ala-γ[CO-N(OH)]-Ala- Val-OEt	"	D	-	
5	<b>9</b>		D	88%	<b>30a</b>
6	"		D L	61% 72%	<b>30b</b>
7	"		D L	86% 56%	<b>30c</b>
8	(R,S)- Fmoc-Gly-γ[CO-N(OH)]-Ala- Leu-OEt	"	D L	69% 84%	<b>30d</b>
9	<b>9</b>		D L	67% 77%	<b>30e</b>
10	"		D	-	

Méthode J : 1,7 eq AA, 1,8 eq DCC, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), une nuit à température ambiante

Méthode K : 2,5 eq AA, 3,6 eq EDCl, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), une nuit à température ambiante

Méthode D : 1,1 eq AA, 1,1 eq BOP, 2 eq DIPEA, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

Méthode L : 1,1 eq AA, 1,1eq HATU, 3 eq DIPEA, (DMF), 5heures à température ambiante

\* Rendement estimé par RMN

\*\* Voir tableau précédent pour numérotation

**Tableau 12**

Nos premiers essais avec le DCC nous ont permis d'insérer la glycine sur l'hydroxamate, mais nous n'avons pas réussi à purifier le produit **29b** correctement (Entrée 1). Nous rapportons un rendement estimé par RMN du proton à 75%.

Nous avons ensuite essayé l'EDCI dont l'urée est éliminable par simple lavage aqueux. L'insertion de la glycine s'est faite correctement et après purification nous obtenons le produit **29b** avec un rendement de 69% (Entrée 1, méthode K).

Notre premier essai de couplage avec le BOP a permis de récupérer le produit **29b** avec un rendement de 74% (Entrée 1, méthode D).

Pour des raisons de facilité d'accès et comme nous voulions ajouter des acides aminés avec des résidus pouvant être assez encombrants nous avons alors changé de *N*-hydroxy-tripeptide, préférant le *N*-hydroxy-tripeptide **9** à la molécule **6b**. Nos tentatives pour insérer un acide aminé de type glycine avec le BOP (Entrée 2) ont été infructueuses et nous avons récupéré les molécules de départ. Le fait de changer le groupement protecteur Fmoc par un Boc n'a pas amélioré le résultat (Entrées 3 et 4).

En revanche, il a été possible d'insérer une  $\beta$ -alanine (Entrée 5), acide aminé avec un méthylène supplémentaire que la glycine, nous permettant de récupérer le produit **30a** avec un rendement de 88%. Nous n'avons pas de raison qui puisse expliquer pourquoi une glycine ne peut pas être insérée au niveau du motif hydroxamate de ce *N*-hydroxy-tripeptide alors qu'il est possible de lui ajouter une  $\beta$ -alanine.

Les agents de couplage nous ont permis d'introduire divers acides aminés. Les insertions se sont faites avec des groupements Fmoc ou Boc avec des rendements similaires (Entrées 6 et 7). Il a été observé que les couplages se font mieux avec HATU, sauf dans le cas **30c** (entrée 7) et pour nos essais d'insertion de phénylalanine, infructueux (Entrée 10).

Lors de ce travail, nous avons réussi à greffer plusieurs groupements fonctionnalisés ou non sur le motif hydroxamate. Si les groupements hydrocarbonés n'ont pas posé de problèmes, les groupements comportant des hétéroatomes n'ont pas toujours donné de bon résultats de couplage. Ainsi, nous avons essayé de développer une méthode permettant de greffer une grande diversité de groupements fonctionnels sur les *N*-hydroxy-peptides en utilisant un espaceur. Insérer des acides aminés s'est révélé particulièrement délicat, mais nous avons atteint cet objectif en utilisant des agents de couplage.

Nous allons maintenant passer aux modifications qu'il est possible de réaliser sur les *N*-acyloxy-peptides et à quelques applications.

### III. Modifications/utilisations/applications des *N*-acyloxy-peptides

Nous allons voir dans une première partie les modifications que peuvent subir les *N*-acyloxy-peptides, en particulier ceux présentant une chaîne latérale de type acide aminé. Nous verrons dans une deuxième partie la formation d'une molécule « dimère » grâce à une réaction de métathèse sur les *N*-acyloxy-peptides insaturés.

#### 1. Introduction

L'utilisation des molécules de type *N*-acyloxy- ou *N*-aminoacyloxy-peptide passe par une meilleure connaissance de leur réactivité chimique. Aussi, nous nous sommes demandés s'il était possible d'allonger la chaîne peptidique latérale par une stratégie de synthèse pas à pas. Nous avons également voulu savoir s'il était possible d'allonger la chaîne basale (Figure 28).

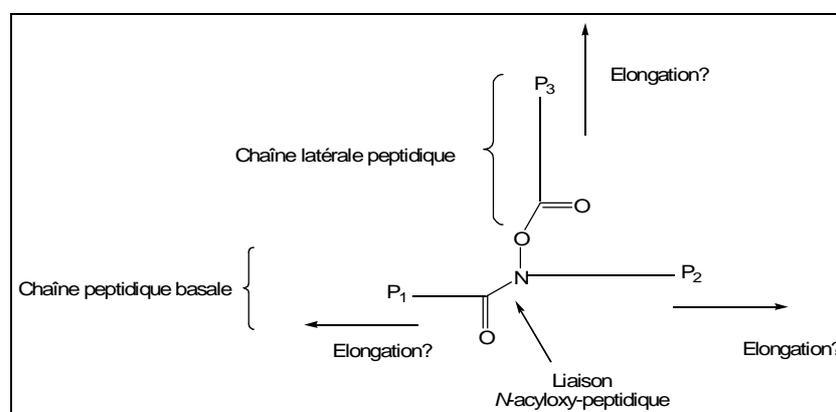


Figure 28

#### 2. Modification de la chaîne latérale

##### a) Elongation de la chaîne latérale

Nous avons testé sur une de nos molécules une méthodologie classique de déprotection-couplage peptidique. Ainsi, pour cliver le groupement Boc porté par la glycine de la chaîne

latérale de la molécule **29a**, cette dernière a été traitée par de l'acide trifluoroacétique pur (Schéma 107). Des conditions classiques de couplage (EDCI/HOBt, DiPEA) ont été appliquées pour additionner le deuxième acide aminé. Le produit **31** a été isolé avec un rendement de 72%.

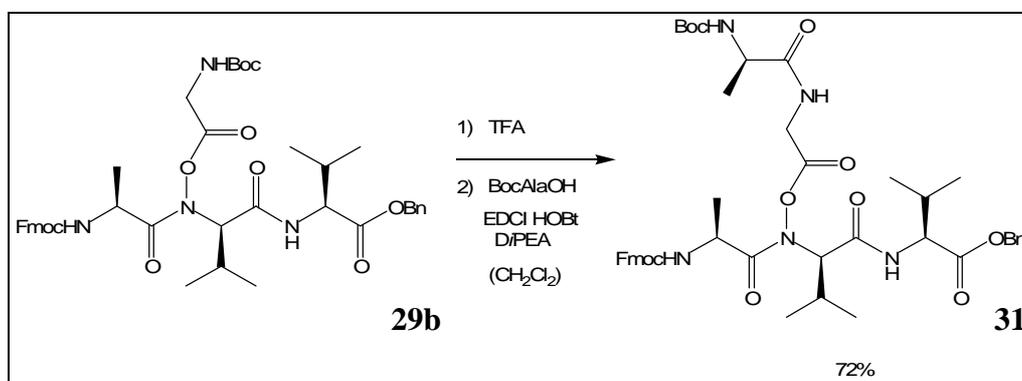


Schéma 107

### b) Cas d'une chaîne latérale dipeptidique

Poursuivant la démarche « pas à pas », nous avons ensuite testé le clivage du groupe *N*-Boc. L'amine libre attendue n'est pas stable. Elle conduit à une cyclisation libérant le *N*-hydroxy-peptide **6b** avec un rendement de 72%. Le dipeptide cyclique **32** observé par RMN dans le mélange réactionnel brut, n'a pas été isolé : soit celui-ci se dégrade, soit il reste accroché sur la colonne de gel de silice. (Schéma 108).

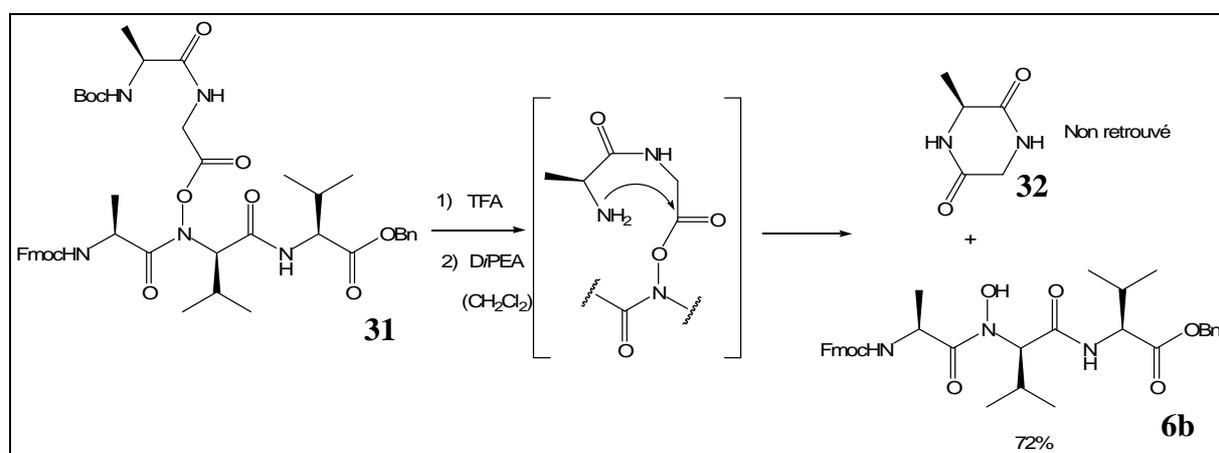


Schéma 108

Si cette cyclisation semble condamner la stratégie pas à pas, elle permet d'envisager de nouvelles applications biologiques. Elle pourrait en effet être utilisée dans une stratégie de type prodrogue. Plusieurs équipes ont déjà travaillé sur des stratégies similaires,<sup>105</sup> en particulier avec des brins dipeptidiques produisant des dicétopipérazines.<sup>106</sup> Le principe est de cliver via une enzyme un groupement protégeant un nucléophile, ce qui provoque une cyclisation intramoléculaire, relargant le médicament actif.

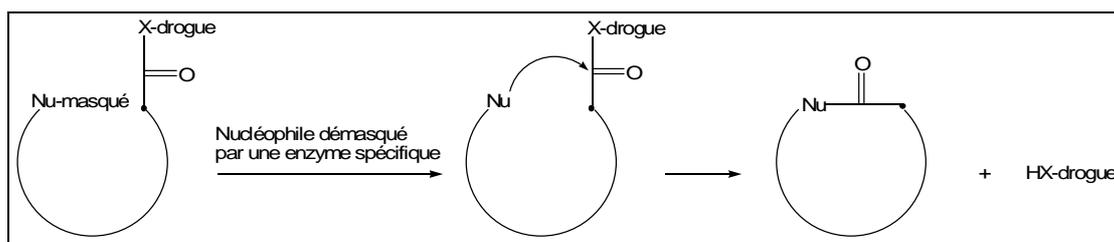


Schéma 109

Ainsi, en utilisant le même type de réarrangement, Santos *et al.* ont montré sur un modèle simple dérivé du paracétamol, que la molécule avant réarrangement était moins cytotoxique que le paracétamol seul (Schéma 110).<sup>107</sup> Ils ont également étudié la cinétique de cyclisation de la dicétopipérazine en milieux tamponnés et en particulier à pH physiologique. En traitant des souris avec les sels d'acide trifluoroacétique de trois de leurs molécules, ils ont mis en évidence qu'avec ces molécules le relargage du paracétamol était plus lent, ce qui diminuait sa cytotoxicité.

<sup>105</sup> D. Shan, M. G. Nicolaou, R. T. Borchardt and B Wang. "Prodrug Strategies Based on Intramolecular cyclization Reactions" *J. Pharm. Sci.*, **1997**, 86, 765-767.

<sup>106</sup> C. Goolcharran and R. T. Borchardt. "Kinetics of Diketopiperazine Formation using Model Peptides" *J. Pharm. Sci.*, **1998**, 87, 283-288.

<sup>107</sup> C. Santos, M. L. Mateus, A. P. dos Santos, R. Moreira, E. de Oliveira and P. Gomes. "Cyclization-activated prodrugs. Synthesis, reactivity and toxicity of dipeptide esters of paracetamol" *Bioorg. Med. Chem Lett.*, **2005**, 15, 1595-1598.

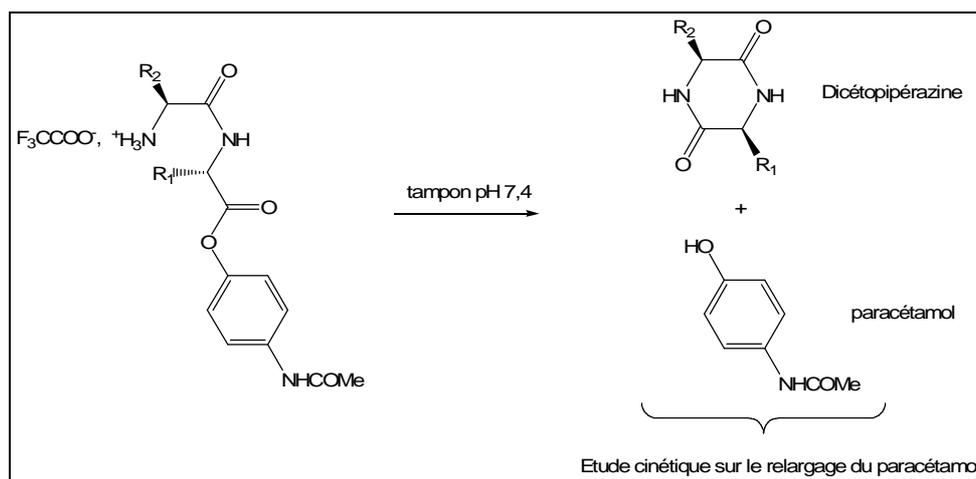


Schéma 110

En provoquant une libération de paracétamol par un processus enzymatique spécifique, la libération locale de cet anti-inflammatoire est possible. Ce type de stratégie évite une injection de grandes quantités de produits actifs allant interagir avec d'autres sites biologiques, au niveau du foie en particulier, en provoquant des effets secondaires néfastes.

Il est possible d'envisager une stratégie similaire pour les *N*-hydroxy-peptides. En jouant sur la nature du groupement à cliver en bout de chaîne latérale, il serait possible de libérer le *N*-hydroxy-peptide dans une région particulière d'un organisme. Bien entendu, ceci est vrai si, comme dans le cas étudié par Santos, la molécule avant réarrangement est inerte ailleurs dans l'organisme.

### c) Conclusions-perspectives

Il n'est plus possible d'envisager une élongation pas à pas pour les premières étapes d'élongation de la chaîne latérale. Il serait plus judicieux de coupler un fragment de quelques acides aminés sur le premier acide aminé greffé sur l'hydroxamate. A partir d'une certaine longueur, une élongation de la chaîne latérale peptidique par une stratégie pas à pas devrait être possible car la cyclisation est plus difficile.

L'élongation de la chaîne latérale peptidique et ses difficultés entrevues, nous avons étudié les réactivités des extrémités N et C terminales de la chaîne basale.

### 3. Elongation de la chaîne basale par l'extrémité C terminale

Nous avons vu que l'élongation de la chaîne peptidique basale peut se faire dans deux directions. Nous allons d'abord aborder le cas de l'élongation de l'extrémité C terminale.

L'élongation a été vérifiée sur le *N*-acétyloxy-peptide **18c** protégé en Boc/OBn. Nous avons donc commencé par cliver le groupement benzyle par hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon (Schéma 111) et nous avons obtenu le produit **33** avec un rendement de 91%. Nous l'avons couplé dans des conditions classiques (EDCI, HOBT, DiPEA) à une phénylalanine pour obtenir le produit **34** avec un rendement de 74%.

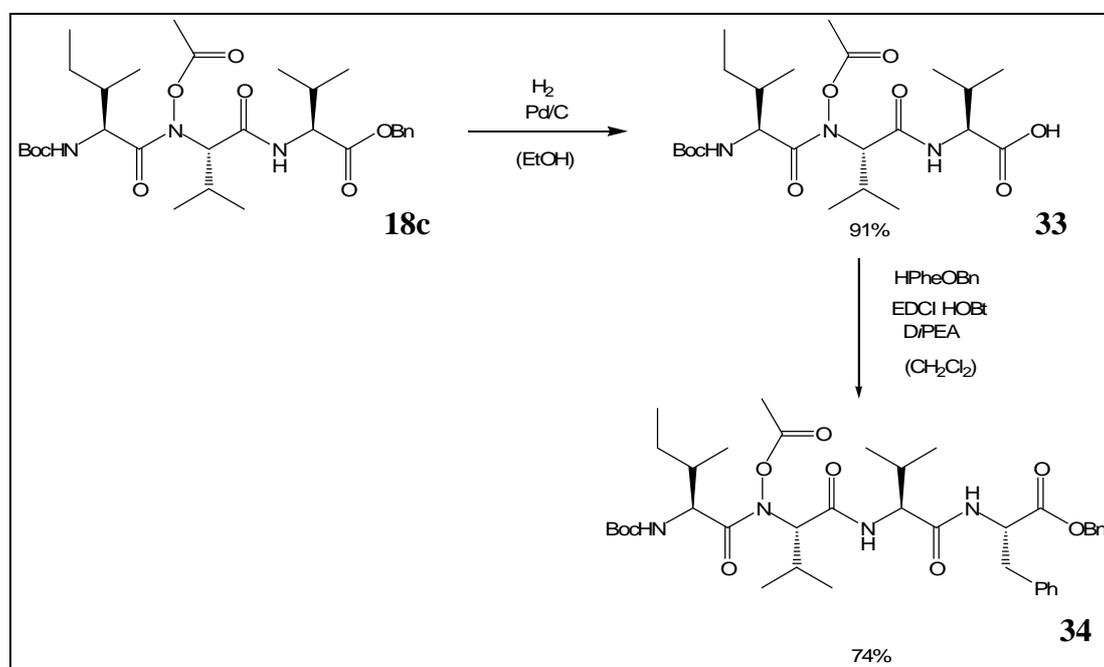


Schéma 111

Nous allons à présent nous intéresser à la réactivité de l'extrémité N terminale de la chaîne basale.

## 4. Elongation de la chaîne basale par l'extrémité N terminale et réarrangement

### a) Introduction

Un réarrangement sur des molécules proches des nôtres faisant intervenir un état de transition à 6 centres lorsque l'amine en  $\beta$  de la liaison pseudopeptidique est déprotégée, a été rapporté dans la littérature (Schéma 112).<sup>108</sup> Ce type de réarrangement, même s'il semble limiter l'élongation de l'extrémité N terminale, peut avoir des applications tant au niveau synthétique que biologique comme nous allons le voir.

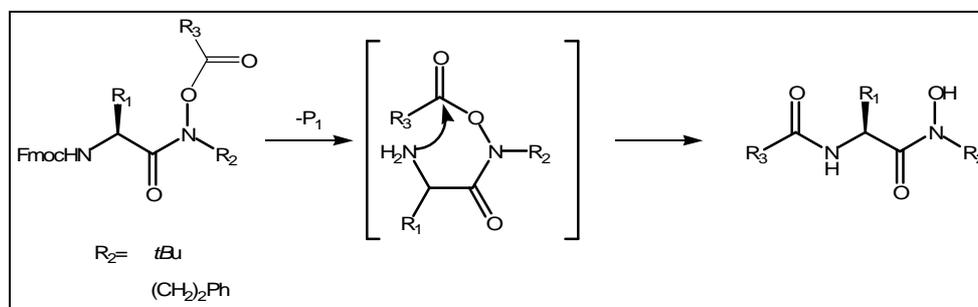


Schéma 112

Un réarrangement similaire a été utilisé par plusieurs équipes pour synthétiser un fragment peptidique, le peptide  $\beta$ -amyloïde ( $A\beta$ ) 1-42, difficile à obtenir par les techniques classiques de synthèse.<sup>109, 110</sup> Le fragment peptidique en question comprend deux sérines. Dans la stratégie de synthèse pas à pas, les acides aminés suivants les sérines sont couplés sur l'hydroxyle de la chaîne latérale de la sérine et non pas sur l'amine. Il est alors possible de synthétiser le reste de la chaîne peptidique sans difficulté. Dans une étape finale, les auteurs établissent des conditions permettant une migration O $\rightarrow$ N dont l'état de transition fait intervenir 5 centres (Schéma 113), leur permettant d'obtenir le peptide voulu.

<sup>108</sup> a) R. Braslau, J. R. Axon and B. Lee. Synthesis of N-hydroxy Peptides: Chemical ligation of O-Acyl Hydroxamic Acids" *Org. Lett.*, **2000**, 2, 1399-1401. b) L. Wang and O. Phanstiel IV. "Synthesis of N-(Hydroxy)thioamide-Containing Peptides" *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 1442-1447.

<sup>109</sup> L. A. Carpino, E. Krause, C. Dan Sferdean, M. Schüman, H. Fabian, M. Bienert and M. Beyermann. "Synthesis of "difficult" peptide sequences: application of a depsipeptide technique to the Jung-Redemann 10- and 26-mers and the amyloid peptide  $A\beta$ (1-42)" *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 7519-7523.

<sup>110</sup> Y. Sohma, Y. Hayashi, M. Kimura, Y. Chiyomori, A. Tanigushi, M. Sasaki, T. Kimura and Y. Kiso. "The "O-Acyl isopeptide method" for the synthesis of difficult sequence-containing peptides: application to the synthesis of Alzheimer's disease-related amyloid  $\beta$  peptide ( $A\beta$ )1-42" *J. Peptide Sci.*, **2005**, 11, 441-451.

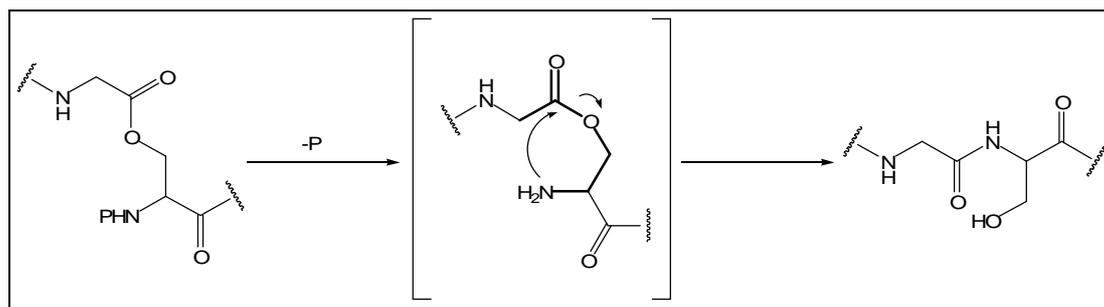


Schéma 113

Dos Santos *et al.* synthétisent également le peptide  $\beta$ -amyloïde ( $A\beta$ ) 1-42, sous ses formes *O*-acylées avec deux groupements protecteurs orthogonaux (acide-basique, photo-clivable et enzymatiquement-clivable) au niveau des amines des deux sérines.<sup>111</sup> En clivant sélectivement l'un ou l'autre de ces groupements protecteurs, les molécules pseudopeptidiques passent d'une forme soluble non définie à des molécules peptidiques aux conformations bien établies (hélices  $\alpha$ , feuillets  $\beta$ ...). Ils mettent ainsi en évidence l'influence de petits segments peptidiques sur la conformation du reste de la molécule et montrent l'intérêt de contrôler ce genre de phénomène pour une application éventuelle de type prodrogue.

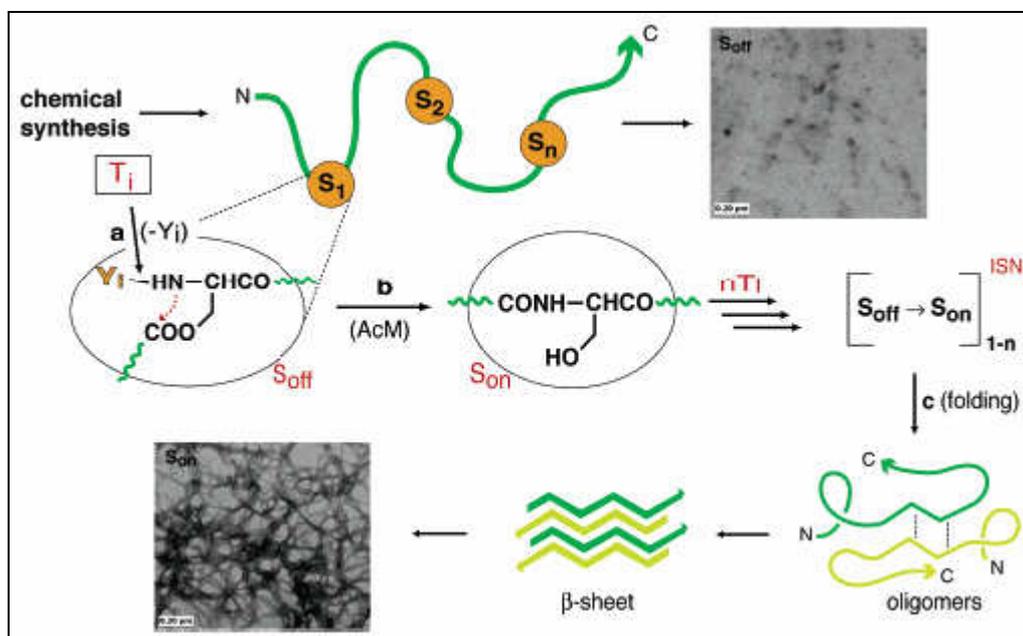


Schéma 114<sup>111</sup>

<sup>111</sup> S. Dos Santos, A. Chandravarkar, B. Mandal, R. Mimna, K. Murat, L. Saucède, P. Tella, G. Tuchscherer and M. Mutter, "Switch-Peptides: Controlling Self-Assembly of Amyloid  $\beta$ -Derived Peptides *in vitro* by Consecutive Triggering of Acyl Migrations" *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 11888–11889.

Ces exemples récents de réarrangements avec des dérivés de type sérine ont montré l'intérêt qu'il y avait à mettre au point des méthodes de migration avec des molécules peptidiques. L'application de cette stratégie avec des *N*-acyloxy-peptides permettrait de l'élargir à d'autres acides aminés que la sérine. En modifiant à volonté le squelette peptidique, cela permettrait de bloquer ainsi la naissance de conformations peptidiques (feuillettes, hélices...) qui empêchent actuellement la synthèse de longues chaînes peptidiques par les techniques classiques.

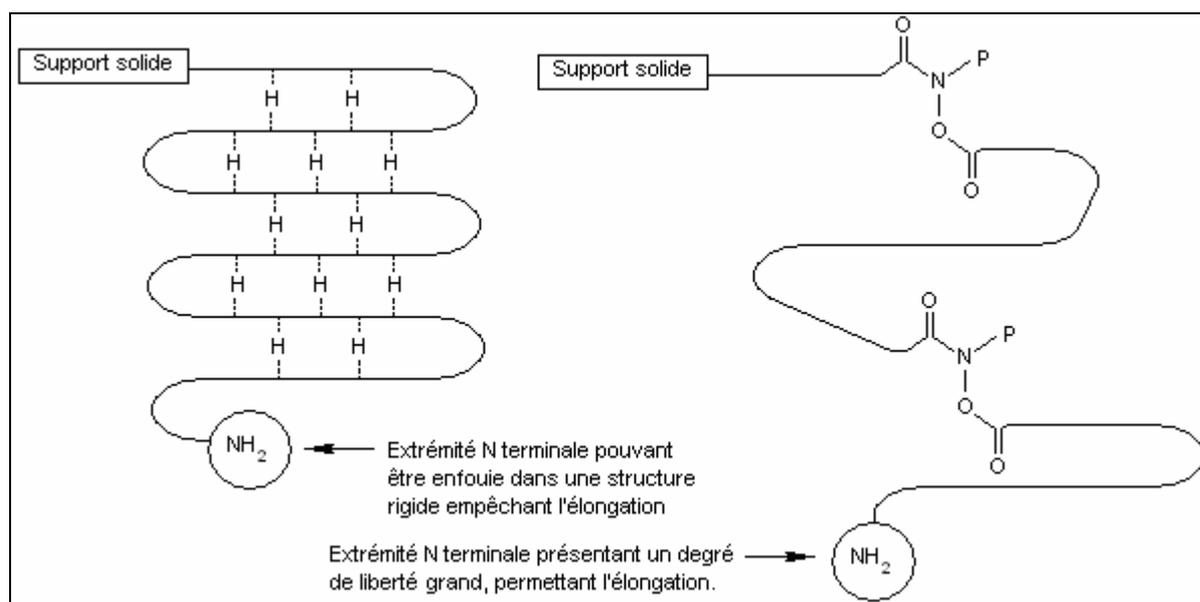
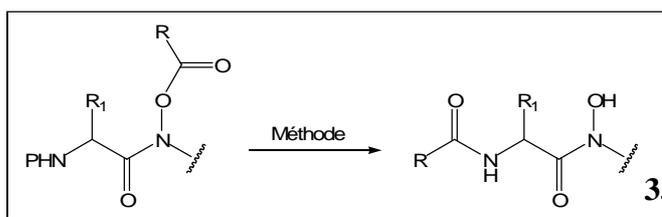


Figure 29

## b) Résultats

L'ensemble des résultats est rapporté dans le Tableau 13.

Nous avons dans un premier temps voulu déprotégé l'amine terminale du *N*-acétyloxy-peptide **18a** dans des conditions classiques (pipéridine, solution à 20% dans le THF) utilisées au laboratoire (Entrée 1). Nous n'avons pas obtenu le produit désiré mais la molécule sans le groupement Fmoc et sans l'acétyle avec un rendement de 91%. Nous avons donc cherché d'autres conditions pour cliver le Fmoc sélectivement. En appliquant celles décrites par l'équipe de Phanstiel<sup>108</sup> aux molécules **19c** et **19h**, nous avons constaté la migration du groupement acyle avec un rendement de 71% pour la **19c** et 79% pour la **19h** (Entrée 2 et 3).



Entrée	<i>N</i> -acyloxy-peptides	Méthode	Rendement	Produit réarrangé
1	<b>18a</b>	M	-	-
2	<b>19c</b>	N	71%	<b>35a</b>
3	<b>19h</b>	N	79%	<b>35b</b>
4	<b>29b</b>	N	-	-
	"	O	-	-
	"	P	-	-
	"	Q	-	-
5	<b>30e</b>	N	71%	<b>15*</b>
6	<b>18c</b>	R	92%	<b>35c</b>
7	"	S	99%	<b>35d</b>
8	<b>34</b>	R	71%	<b>35e</b>

Méthode M : Pipéridine (20%), (THF), 1h.

 Méthode N: NHEt<sub>2</sub> (6 équivalents), (THF), 3h

 Méthode O: NHEt<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 3h

 Méthode P: NEt<sub>3</sub>, (THF), 1 nuit

 Méthode Q: NH<sub>3</sub>, (THF), 1h

 Méthode R: 1) TFA 2) Mélange biphasique de (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O), NaHCO<sub>3</sub> (1M), 1h puis une nuit

 Méthode S: 1) TFA 2) (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 1h

\* déjà obtenu par couplage classique (chapitre 3)

Tableau 13

En revanche une attaque nucléophile sur le groupement acyle a été observée pour le *N*-aminoacyloxy-tripeptide **29b** donnant l'amide Boc-gly-NEt<sub>2</sub> et le *N*-hydroxy-tripeptide **6b** (Entrée 4). Nous avons essayé d'autres conditions mais nous n'avons jamais réussi à cliver sélectivement le Fmoc sans retirer la glycine.

Le pseudopeptide **30e**, présentant une chaîne latérale plus encombrée, a conduit au produit réarrangé **15\*** avec un rendement de 71% lorsqu'il est traité dans les conditions de Phanstiel (Entrée 5).

Nous avons ensuite étudié le cas d'un *N*-acyloxy-peptide protégé par un autre groupement que le Fmoc. Ainsi, nous avons établi un exemple de migration par clivage avec l'acide trifluoroacétique d'un groupement Boc (Entrée 6). Un milieu légèrement basique biphasique permet d'obtenir la molécule réarrangée **35c** avec un rendement de 92%. Nous avons également appliqué cette méthode avec le térapeptide **34** (Entrée 8), obtenant ainsi le produit réarrangé **35e** avec un rendement de 71%. Ce résultat un peu faible par rapport au produit **35c** s'explique par des difficultés de purification.

Nous avons été surpris qu'il ne soit en fait pas nécessaire de passer en milieu basique pour observer ce réarrangement (Entrée 7). En effet, en évaporant l'acide trifluoroacétique, puis en

ajoutant simplement du dichlorométhane, le produit réarrangé **35d** est obtenu quantitativement. Ceci explique pourquoi nous n'avons pas réussi à coupler un acide aminé sur l'extrémité N terminale du *N*-acétyloxy-tripeptide **18c** (Schéma 115).

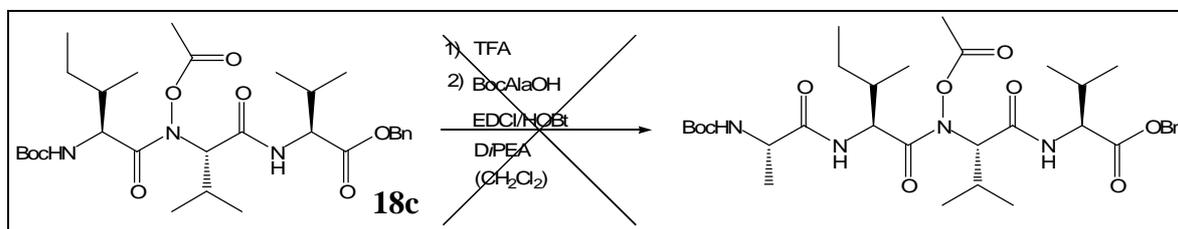


Schéma 115

Lorsque le fragment *N*-acyloxy-aminé est en deuxième position, on observe le réarrangement. Que se passe-t-il si ce fragment est en position plus lointaine ?

Nous avons essayé une élongation de l'extrémité N terminale du *N*-acyloxy-térapeptide **19i** pour lequel l'acide *N*-acyloxy-aminé est en troisième position. Le groupement Boc terminal a été clivé par l'acide trifluoroacétique, puis des conditions de couplage classiques ont été appliquées. Nous avons choisi la phénylalanine comme acide aminé à coupler par commodité d'interprétation analytique. Le *N*-acyloxy-pentapeptide **36** a ainsi été obtenu avec un rendement de 74% et aucun produit réarrangé n'a été observé.

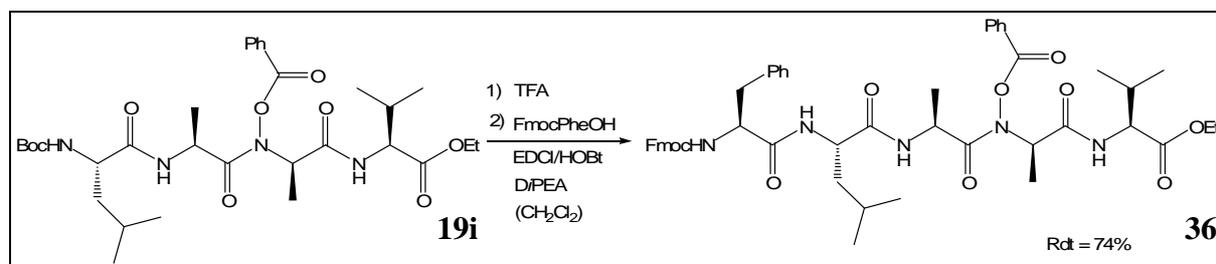


Schéma 116

### c) Conclusions-perspectives

Il est possible de faire croître les *N*-aminoacyloxy-peptides dans les trois directions. Cependant lors de ces essais d'élongation des chaînes peptidiques latérale et basale, nous avons mis en évidence deux types de réarrangements, dont l'un était précédemment décrit

dans la littérature sur des molécules plus simples. Il serait intéressant d'approfondir les applications biologiques possibles de ces réarrangements.

## 5. Formation d'un « dimère » par métathèse

La réaction de métathèse est une méthode permettant de coupler des oléfines entre elles (Schéma 117). Nous avons testé la préparation par cette méthode d'un dimère<sup>†</sup> du pseudopeptide **19g**. Les conclusions qui émergeront de cette partie (choix du catalyseur, conditions expérimentales...) seront utilisées au chapitre 5.

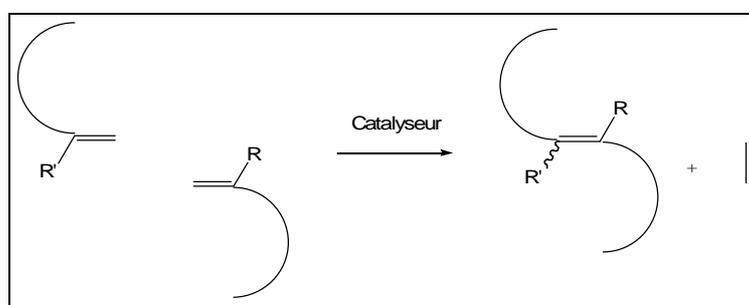


Schéma 117

Plusieurs catalyseurs existent pour la réaction de métathèse. La facilité d'utilisation des réactifs de Grubbs (Figure 30) ainsi que leur tolérance vis-à-vis des fonctions présentes sur les molécules en font les catalyseurs les plus communément utilisés.<sup>112</sup> Le catalyseur de Schrock est également un réactif utilisé pour cette réaction, dont la tolérance fonctionnelle est importante, mais dont la manipulation est peu aisée. Nous avons donc travaillé avec les catalyseurs de Grubbs.

<sup>112</sup> a) M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee and R. H. Grubbs. "Synthesis and Activity of a New Generation of Ruthenium-Based Olefin Metathesis Catalysts Coordinated with 1,3-Dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidene ligands" *Org. Lett.*, **1999**, *1*, 953-956. b) J. P. Morgan and R. H. Grubbs "In Situ Preparation of a Highly Active N-Heterocyclic Carbene-Coordinated olefin Metathesis Catalyst" *Org. Lett.*, **2000**, *2*, 3153-3155.

<sup>†</sup> Il ne s'agit pas strictement d'un dimère puisque deux groupes méthylènes sont perdus.

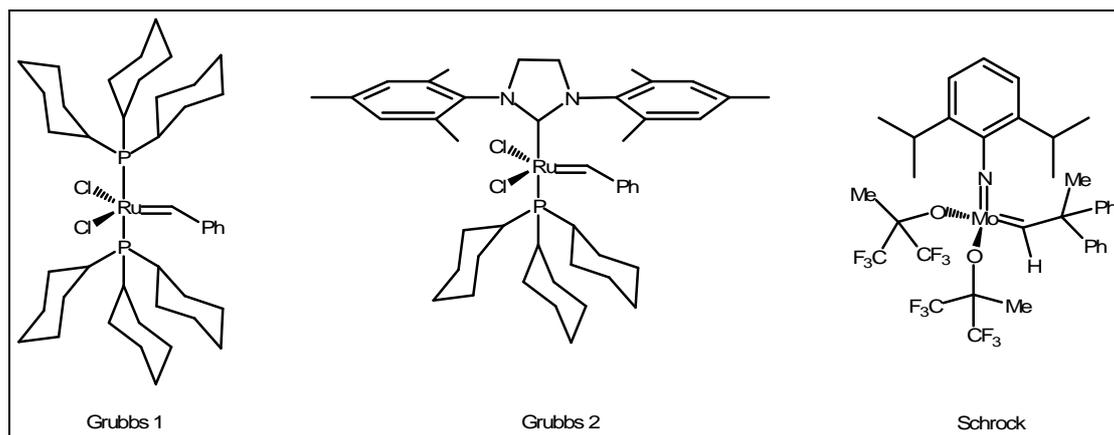


Figure 30

Le réactif de Grubbs 1, réputé moins tolérant vis-à-vis des fonctions amine que le Grubbs 2, est beaucoup moins cher. Il n'a malheureusement pas permis la dimérisation du *N*-acyloxy-peptide **19g**, seul le produit de départ a été récupéré lors de ces premiers essais. De meilleurs résultats ont été obtenus avec le réactif de Grubbs 2 (Schéma 118). A température ambiante, un rendement de 50% a été obtenu avec 10% mol/mol de catalyseur. Un mélange équimolaire d'isomères (*Z* et *E*) a été isolé après purification. Les isomères n'ont pas pu être séparés. La présence d'éléments de symétrie dans les molécules empêche la lecture de constantes de couplage, ce qui aurait pu permettre d'identifier clairement les isomères.

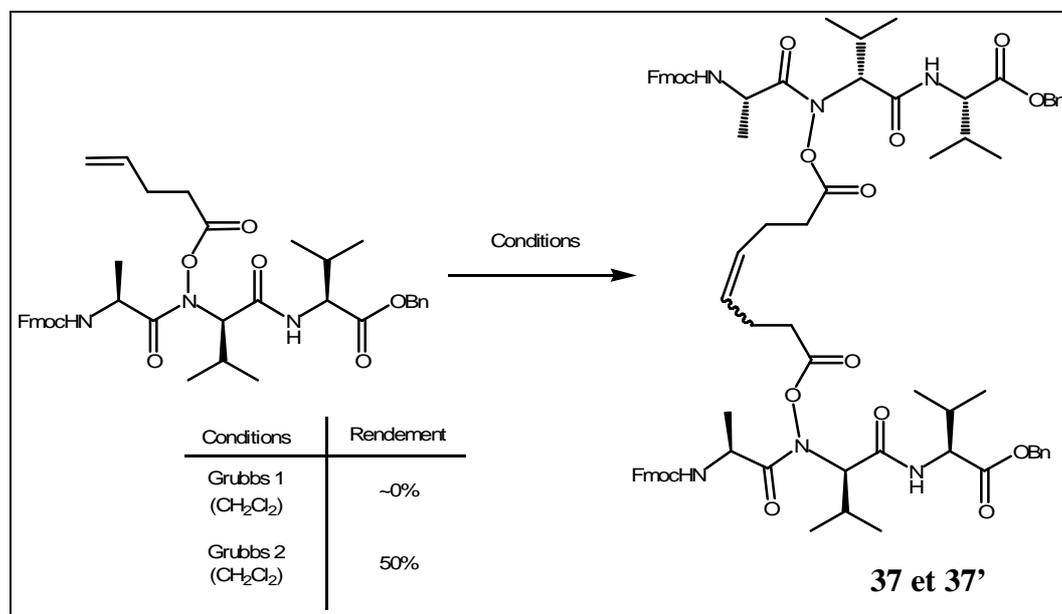


Schéma 118

## IV. Conclusion

Lors de ces travaux sur les réactions d'acylation, nous avons synthétisé plusieurs *N*-acyloxy-peptides par différentes méthodes. Dans un premier temps, nous avons rencontré des difficultés à greffer certains groupements fonctionnalisés. Nous avons contourné ce problème en proposant une méthode intégrant un espaceur. Nous avons également mis au point des techniques pour greffer un acide aminé, point de départ de la construction d'une chaîne latérale peptidique. Les modifications de ces structures nous ont permis de découvrir un nouveau réarrangement potentiellement intéressant en biologie dans une méthodologie de type prodrogue. Enfin, nous avons synthétisé par une réaction de métathèse un exemple de dimère pseudopeptidique.

Ces études ont mis en évidence la labilité de la liaison *N*-acyloxy-peptidique. Aussi, nous avons cherché à développer une liaison plus robuste. Nous nous sommes tournés vers l'alkylation de *N*-hydroxy-peptides.

CHAPITRE 5  
Alkylation des *N*-hydroxy-peptides

## CHAPITRE 5 :

### Alkylation des *N*-hydroxy-peptides

Dans le chapitre 4 nous avons vu que la liaison -NO-CO- est relativement fragile lorsqu'un nucléophile est présent dans le milieu. Une alkylation de l'hydroxamate des *N*-hydroxy-peptides permettrait de créer une liaison plus résistante. Nous avons donc voulu synthétiser une petite bibliothèque de *N*-alkyloxy-peptides en greffant différents groupements alkyles sur le motif hydroxamate. Par ailleurs, nous souhaitons synthétiser un *N,N'*-dihydroxy-peptide dont les NO seraient reliés entre eux par un pont hydrocarboné. Pour cela, nous avons envisagé une réaction de métathèse intramoléculaire. Nous avons par conséquent surtout cherché à introduire des groupements insaturés sur nos *N*-hydroxy-peptides.

#### I. Substitution nucléophile sur des halogénures d'alkyle

##### 1. Introduction

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, il existe des techniques pour obtenir des acides aminés – ou dérivés – *N*-alkyloxylés, en particulier *N*-benzyloxylés. La préparation de *N*-alkyloxy-peptides par cette voie d'accès a tout de suite été écartée car le couplage d'acides aminés contenant des résidus encombrants devient difficile en présence d'un groupement sur l'oxygène. De plus, en partant de *N*-hydroxy-peptides, une méthode d'alkylation de l'hydroxamate permet d'accéder rapidement à des exemples variés. Ainsi, les méthodes de *N*-

acylation de *O*-alkyl-hydroxylamines, comme celle utilisée par Kim *et al.*, n'ont pas été retenues (Schéma 119).<sup>113</sup>

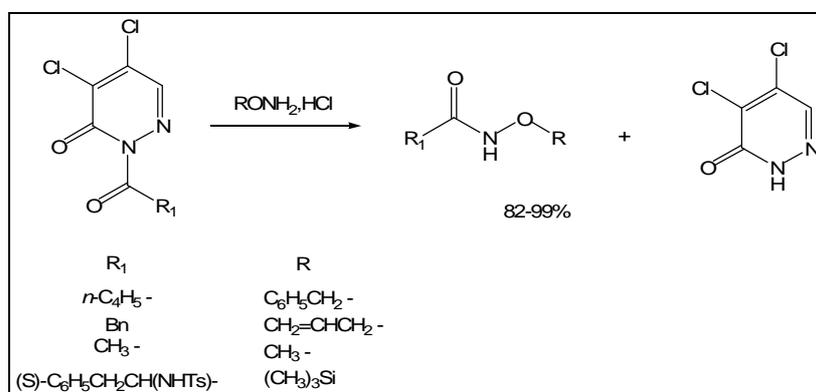


Schéma 119

Nous nous sommes donc intéressés à la réaction de l'hydroxamate sur des halogénures d'alkyles dont certains exemples étaient décrits dans la littérature.

## 2. Méthodes décrites dans la littérature

Deux exemples d'alkylation de motifs hydroxamate utilisant l'iodure de méthyle avec des rendements quantitatifs ont été rapportés par da Costa *et al.* (réaction A sur le Schéma 120)<sup>114</sup> et Papaioannou *et al.* (réaction B sur le Schéma 120).<sup>115</sup>

<sup>113</sup> J.-J. Kim, Y.-D. Park, S.-D. Cho, H.-K. Kim, Y.-J. Kang, S.-G. Lee, J. R. Falck, M. Shiro and Y.-J. Yoon. "Preparation of *O*-Alkylhydroxamic Acids using 2-Acylpyridazin-3(2H)-ones in Water" *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2004**, 25, 1273-1276.

<sup>114</sup> M. R. G. da Costa, M. J. M. Curto, S. G. Davies, J. Sanders and F. C. Teixeira. "Synthesis of (R)-{η<sup>6</sup>[*O*-methyl-*N*-(α-methylbenzyl)hydroxyamino]-benzene} chromium tricarbonyl via nucleophilic aromatic substitution of (η<sup>6</sup>-fluorobenzene) chromium tricarbonyl" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 2850-2855.

<sup>115</sup> D. Papaioannou, K. Barlos, G. W. Francis, T. Brekke, D. W. Aksnes and K. Maartmann-Moe. "Reinvestigation of the Base-Induced Ring Closure of Methylsulfonium Salts of *N*-Trityl-(S)-methioninehydroxamide and Derivatives" *Act. Chem. Scand.*, **1990**, 44, 189-194.

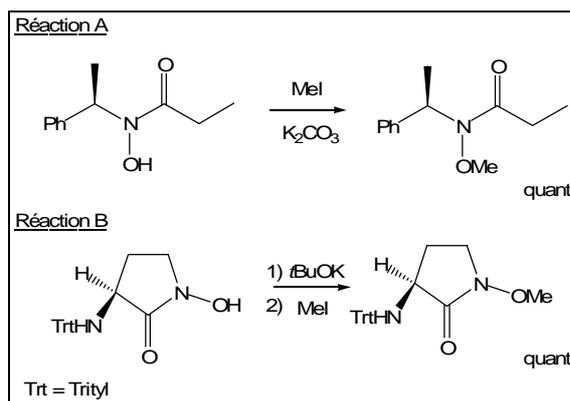


Schéma 120

Un autre exemple d'alkylation de l'hydroxamate a été trouvé. Il s'agit d'une insertion d'un groupement protecteur  $\beta$ -(trimethylsilyl)éthoxyméthyle faite par l'équipe de Miller avec un rendement supérieur à 96% (Schéma 121).<sup>116</sup>

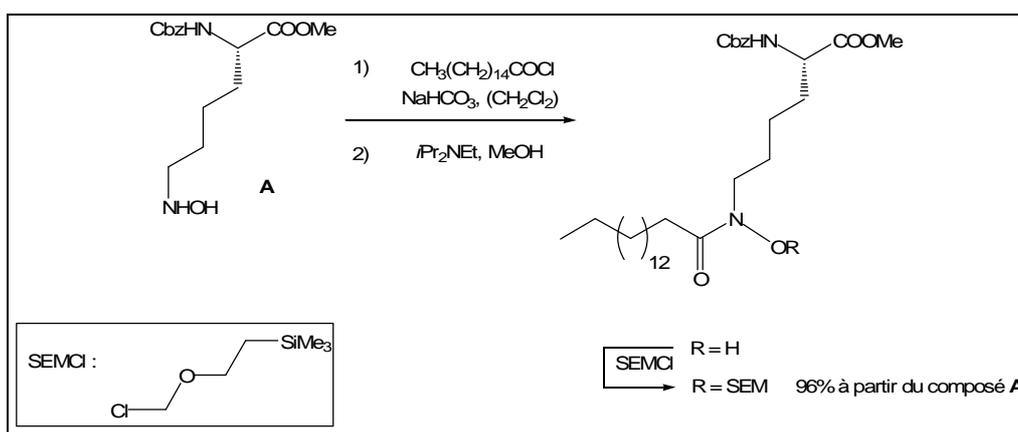


Schéma 121

Ces exemples d'alkylation du motif hydroxamate décrits avec de très bons rendements promettaient une alkylation de *N*-hydroxy-peptides sans difficulté. Nous allons maintenant voir les résultats des premiers essais faits au laboratoire.

### 3. Résultats

Des essais d'alkylation du motif hydroxamate avaient été préalablement réalisés dans notre équipe (Schéma 122). Le tripeptide Boc-Gly- $\Psi$ [CO-N(OH)]-Gly-Gly-OEt n'a pas pu

<sup>116</sup> Y. Xu and M. J. Miller. "Total synthesis of Mycobactin analogues as Potent Antimycobacterial Agents Using a Minimal protecting Groups Strategy" *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 4314-4322.

être alkylé avec du bromure de benzyle en présence de 1,8-diazabicyclo-(5.4.0)-undec-7-ene (DBU) comme base, ni avec l'iodure d'éthyle en présence d'hydrure de sodium comme base : le produit voulu n'a pas été isolé.

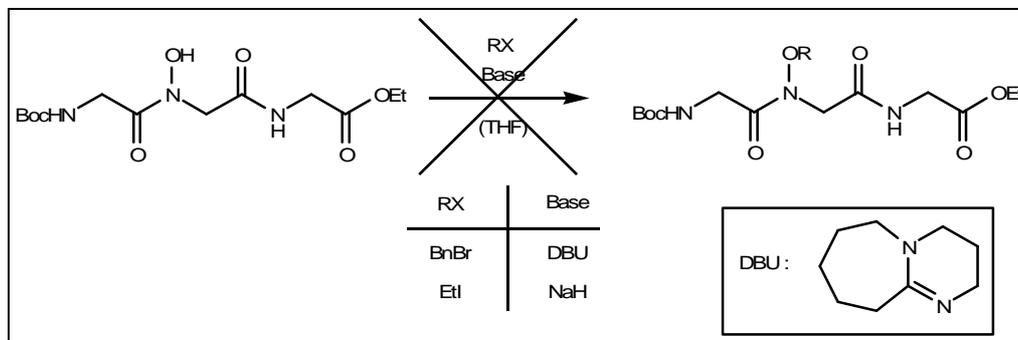


Schéma 122

Toutefois, ce *N*-hydroxy-tripeptide est uniquement constitué de glycine. Il est donc particulièrement polaire et les purifications sont difficiles. Pour cette raison, nous avons utilisé un autre *N*-hydroxy-tripeptide pour les exemples ultérieurs.

Comme nous voulions obtenir des *N*-alkyloxy-peptides présentant des insaturations, nous avons essayé de greffer un groupement allyle en utilisant le bromure d'allyle. En présence de différentes bases comme la pyridine, le carbonate de potassium, l'hydrure de sodium, aucune réaction n'a été observée et seul le *N*-hydroxy-tripeptide de départ a été récupéré (Schéma 123).

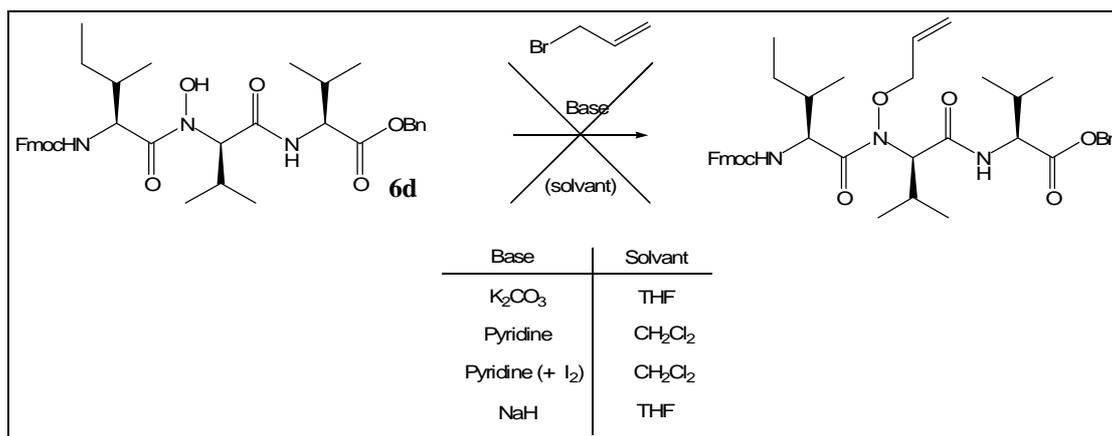


Schéma 123

Nous avons donc cherché une solution en changeant le type de réaction et nous avons opté pour la réaction de Mitsunobu.

## II. Réaction de Mitsunobu

### 1. Quelques exemples décrits dans la littérature

Un premier exemple d'alkylation de motifs hydroxamate par la méthode de Mitsunobu, rapporté par Shi, a permis de préparer des 1,2-benzisoxazolin-3-ones *N*-substituées avec des rendements allant de 78 à 92% (Schéma 124).<sup>117</sup>

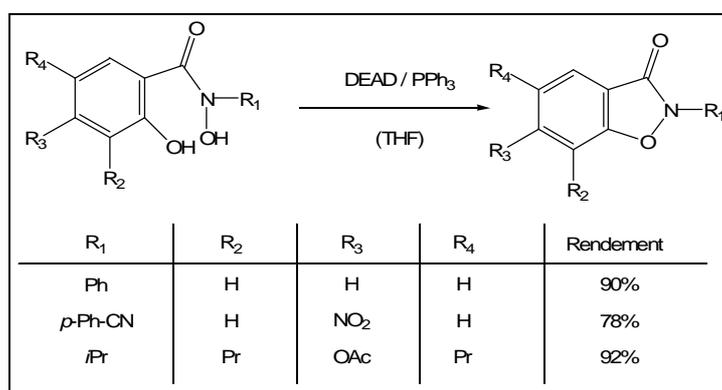


Schéma 124

Ishikawa *et al.* ont également utilisé les conditions de Mitsunobu pour alkyler des *N*-benzyl-hydroxamates avec des rendements élevés (Schéma 125). Ceci leur a permis d'étudier la réaction de Diels Alder intramoléculaire, le motif éther d'hydroxamate servant de connecteur temporaire.<sup>118</sup>

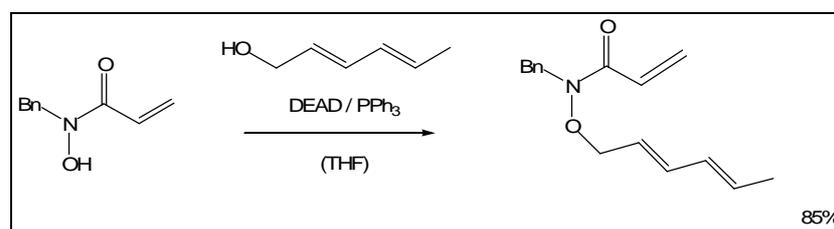


Schéma 125

<sup>117</sup> G.-Q. Shi. "The first general synthesis of *N*-substituted 1,2-benzisoxazolin-3-ones" *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 2295-2298.

<sup>118</sup> T. Ishikawa, M. R. Kadoya, T. Morimoto, N. Miyake, M. Izawa and S. Saito. "Intramolecular Diels-Alder Reactions Employing Hydroxamate Tethers: The First Examples and Promising Prospects" *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 4607-4608.

Enfin, Miyata *et al.* se sont intéressés à l'alkylation de *N*-benzyl-hydroxamate en vue de synthétiser des  $\beta$ -amino acides (Schéma 126). Ils rapportent des rendements de 80-81% mais ne précisent pas le solvant utilisé.<sup>119</sup>

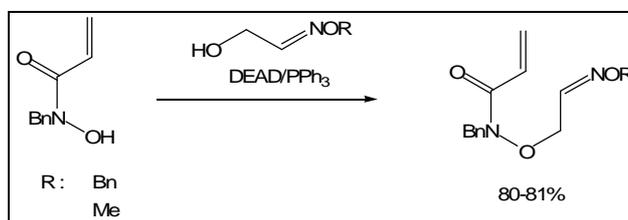


Schéma 126

Ces exemples semblent montrer que dans les conditions douces de Mitsunobu, l'alkylation de motifs hydroxamate se fait avec des rendements élevés. Nous avons donc appliqué cette réaction à nos *N*-hydroxy-peptides.

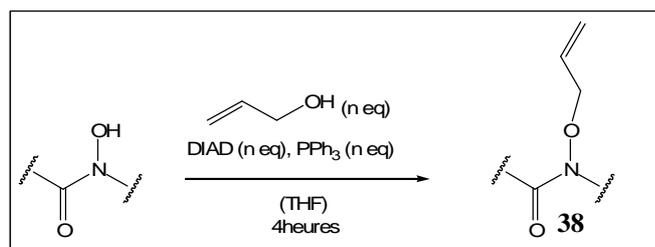
## 2. Résultats

### a. Premiers essais

Plusieurs réactifs de Mitsunobu existent. Nous avons en premier lieu choisi le diisopropyl-azodicarboxylate (DIAD). Pour que la réaction de Mitsunobu puisse avoir lieu, il faut que le réactif soit mis en présence de triphénylphosphine. Nous avons toujours utilisé des quantités équimolaires de triphénylphosphine, de réactif de Mitsunobu et d'alcool.

Les résultats sont regroupés dans le Tableau 14

<sup>119</sup> O. Miyata, M. Namba, M. Ueda and T. Naito. "A novel synthesis of amino-1,2-oxazinones as a versatile synthon for  $\beta$ -amino acid derivatives" *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 1274-1276.



Entrée	<i>N</i> -hydroxy-peptide	Nombre d'équivalents $n$	Rendement	Molécule
1	<b>6d</b>	1,1	44%	<b>38a</b>
2	<b>6e</b>	1,2	49%	<b>38b</b>
3	<b>6b</b>	1,2	Purification problématique	<b>38c</b>

Tableau 14

Le premier essai (Entrée 1) a été réalisé sur le *N*-hydroxy-tripeptide **6d** avec 1.1 équivalents de DIAD dans les conditions classiques décrites par Mitsunobu. La purification, très délicate à cause du dérivé de l'hydrazine (DIAD+H<sub>2</sub>, Figure 31), a permis de récupérer le produit **38a** avec un rendement de 44%. 38% du pseudotriptide de départ ont également été récupérés.

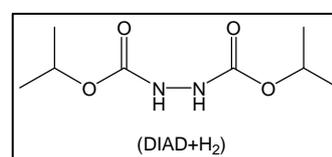


Figure 31

Dans le cas du tripeptide **6e** (Entrée 2), le produit **38b** a été isolé avec un rendement de 49% (1.2 équivalents de réactif de Mitsunobu). Le *N*-hydroxy-tripeptide **6e** n'ayant pas réagi a également été récupéré mais avec du réactif de Mitsunobu réduit (DIAD+H<sub>2</sub>), ce qui n'a pas permis de déterminer exactement son pourcentage (environ 20 à 30% en se basant sur l'analyse RMN <sup>1</sup>H du mélange).

Pour le *N*-hydroxy tripeptide **6b** (Entrée 3), si l'analyse par RMN <sup>1</sup>H du mélange réactionnel brut semble indiquer que l'alkylation a eu lieu, aucune méthode de purification n'a permis de récupérer le produit propre.

Avec les conditions utilisées jusqu'ici, la conversion est incomplète et les purifications sont rendues difficiles par la présence de (DIAD+H<sub>2</sub>). Nous nous sommes donc concentrés sur l'optimisation des conditions d'alkylation de ces *N*-hydroxy-tripeptides.

### b. Optimisation des conditions

Les rendements de l'alkylation ne semblant pas liés à la nature du tripeptide, nous avons dans un premier temps augmenté les quantités de réactifs.

i. Excès des réactifs utilisés

Le suivi des réactions par chromatographie sur couche mince est difficile. Tous les réactifs, exceptée la triphénylphosphine (ou plutôt l'oxyde formé), trainent plus ou moins ensemble sur un cinquième de la longueur de la plaque. Plusieurs conditions d'élution ont été essayées pour résoudre ce problème, sans succès. L'avancement de la réaction est donc difficile à déterminer et c'est pourquoi nous n'avons pas ajouté de réactif au fur et à mesure. Ainsi, la solution a été de fixer arbitrairement les quantités de réactifs. Un premier essai a été effectué sur le tripeptide **6d**, qui avait donné des résultats encourageants avec 1,1 équivalents, en utilisant un excès (5 équivalents) de réactifs (Schéma 127). L'analyse par RMN du proton du mélange réactionnel brut semble indiquer que la réaction a bien lieu, mais les essais de purification n'ont pas permis d'isoler le pseudopeptide alkylé, qui est toujours accompagné de (DIAD+H<sub>2</sub>).

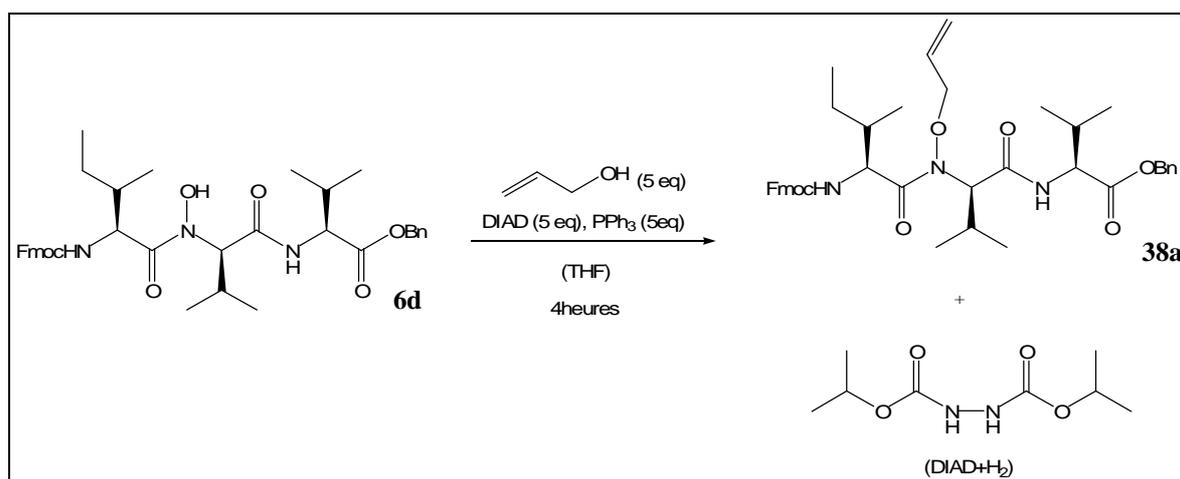


Schéma 127

Un essai utilisant moins de réactifs (2.5 équivalents) a conduit aux mêmes résultats. Comme nous avons déjà eu un problème de purification pour le produit **38c**, nous nous sommes intéressés aux variations de la technique de Mitsunobu permettant d'éliminer les produits secondaires en fin de manipulation.

ii. Méthodes d'optimisation trouvées dans la littérature

Les optimisations peuvent porter sur les deux réactifs utilisés dans cette réaction, c'est-à-dire la triphénylphosphine et l'azodicarboxylate. Nous ne traiterons ici que de l'azodicarboxylate, n'ayant pas eu de problème pour éliminer l'oxyde de triphénylphosphine.

Une méthode permettant d'éliminer l'azodicarboxylate réduit est de former un produit qui précipite dans le milieu.<sup>120</sup> Ainsi, le bis(5-norborn-2-ylméthyl)azodicarboxylate réduit (DNAD+H<sub>2</sub>) polymérise par catalyse au ruthénium et s'élimine facilement. Le problème général de cette méthode est l'accès au DNAD qui n'est pas commercial (Schéma 128). Ainsi, quatre étapes de synthèse sont nécessaires pour l'obtenir, ce qui limite quelque peu la méthode. Dans notre cas précis, en présence d'un groupement insaturé polymérisable, cette méthode ne convient pas.

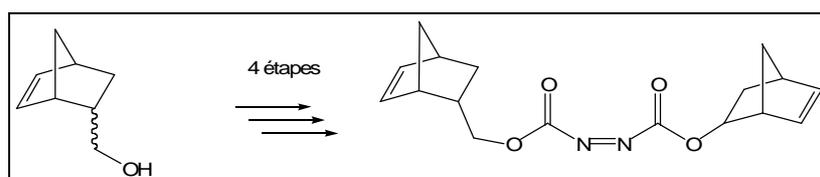


Schéma 128

Un réactif commercial gagnant en popularité est le di-*tert*-butyl-azodicarboxylate (DBAD).<sup>120</sup> Le réactif réduit (DBAD+H<sub>2</sub>) se décompose en milieu acide (TFA) en composés volatiles ou éliminables par lavage (hydrazine).<sup>121</sup>



Schéma 129

Enfin, le diméthyl-azodicarboxylate (DMAD) a été utilisé par Stachulski pour alkyler des oximes.<sup>122</sup> Le DMAD réduit (DMAD+H<sub>2</sub>) a l'avantage d'être hydrosoluble et ainsi, un lavage permet de l'éliminer.

<sup>120</sup> R. Dembinski. "Recent Advances in the Mitsunobu Reaction: Modified Reagents and the Quest for Chromatography-Free Separation" *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 2763-2772.

<sup>121</sup> J. C. Pelletier and S. Kincaid. "Mitsunobu reaction modifications allowing product isolation without chromatography: application to a small parallel library" *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 797-800.

<sup>122</sup> A. V. Stachulski. "Synthesis of *O*-Vinyl Oximes and Derived Penicillins using Organoselenium Intermediates" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1991**, 12, 3065-3070.

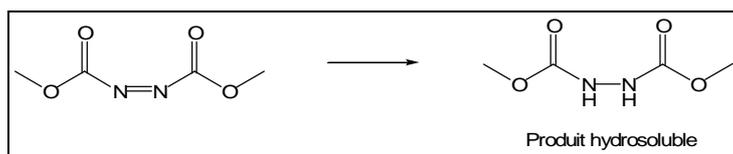


Schéma 130

Nous nous sommes donc naturellement tournés vers l'utilisation de diméthyl-azodicarboxylate (DMAD) dont le traitement était plus simple que pour le DBAD.

### iii. Résultats

Avec le DMAD, l'avancement de la réaction peut être suivi par CCM en réalisant un lavage du prélèvement à analyser. En reprenant les conditions de départ de l'allylation (1,2 équivalents), nous avons constaté que la conversion n'était pas totale et 2.5 équivalents de réactifs sont en fait nécessaires pour un temps de réaction d'environ quatre heures. Même si la purification n'est pas toujours des plus aisées, elle est grandement facilitée par l'élimination par lavage de la majorité du réactif de Mitsunobu réduit (DMAD+H<sub>2</sub>). Ainsi, nous avons récupéré 69% de produit **38c**, l'exemple précédent le plus difficile à purifier (Schéma 131). Le N-hydroxy-tripeptide de départ n'a pas été isolé.

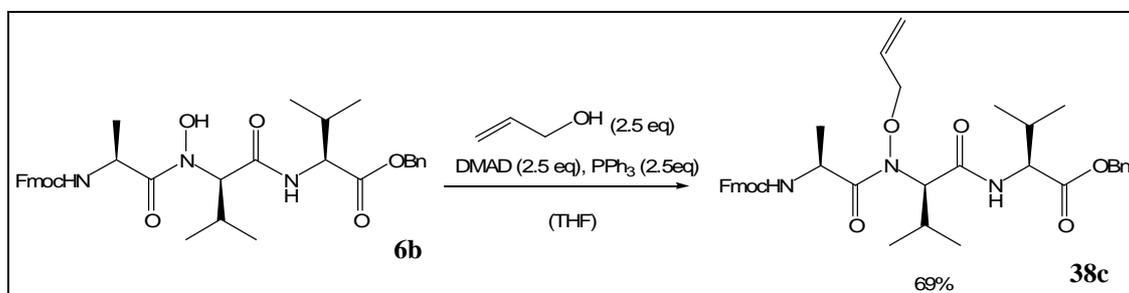
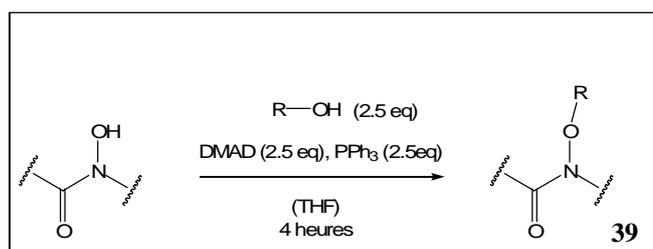


Schéma 131

Ce résultat encourageant nous a poussés à essayer cette réaction sur d'autres tripeptides (Tableau 15).



Entrée	<i>N</i> -hydroxy-peptide	R-OH	Rendement	Molécule
1	<b>6b</b>	Alcool allylique	69%	<b>38c</b>
2	<b>6c</b>	"	47%	<b>39a</b>
3	<b>9</b>	"	85%	<b>39b</b>
4	<b>13</b>	"	75%	<b>39c</b>
5	<b>9</b>	Butanol	57%	<b>39d</b>
6	<b>6a</b>	Alcool homoallylique	45%	<b>39e</b>
7	<b>6b</b>	"	44%	<b>39f</b>

Tableau 15

Plusieurs exemples ont été réalisés avec l'alcool allylique. Les conditions mises au point ont donné de bons résultats. La seule exception concerne l'entrée 2. Dans ce cas la purification s'est révélée difficile et le rendement a chuté.

Pour diversifier les types d'exemples, nous avons fait une alkylation avec du *n*-butanol (Entrée 5). Nous avons récupéré le produit **39d** avec un rendement de 57%. Le faible rendement s'explique par une conversion non totale. En effet 27% de produit de départ a été récupéré.

Nous avons également inséré un groupement homoallyle sur les molécules **6a** (Entrée 6) et **6b** (Entrée 7). La réaction d'alkylation elle-même n'a pas posé de problème. En revanche, les purifications des produits **39e** et **39f** sont plus délicates que pour les exemples d'alkylations précédents, les produits **39e** et **39f** traînent sur la colonne et sont accompagnés de traces de (DMAD+H<sub>2</sub>), ce qui explique les rendement moyens (45% et 44%) obtenus.

Les conditions d'alkylation étant mises au point, nous sommes passés à leur application pour la préparation d'un peptide cyclique.

### III. Préparation d'un peptide cyclique

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 2, l'objectif était de préparer des *N*-alkyloxy-peptides cycliques. En variant la longueur des chaînes hydrocarbonées, il serait possible de synthétiser des cycles de différentes tailles. Dans ce but, il devient intéressant de pouvoir mettre deux groupements différents sur les deux motifs hydroxamate d'un *N,N'*-dihydroxy-peptide (Schéma 132). Nous avons commencé l'étude avec les dérivés homoallyliques.

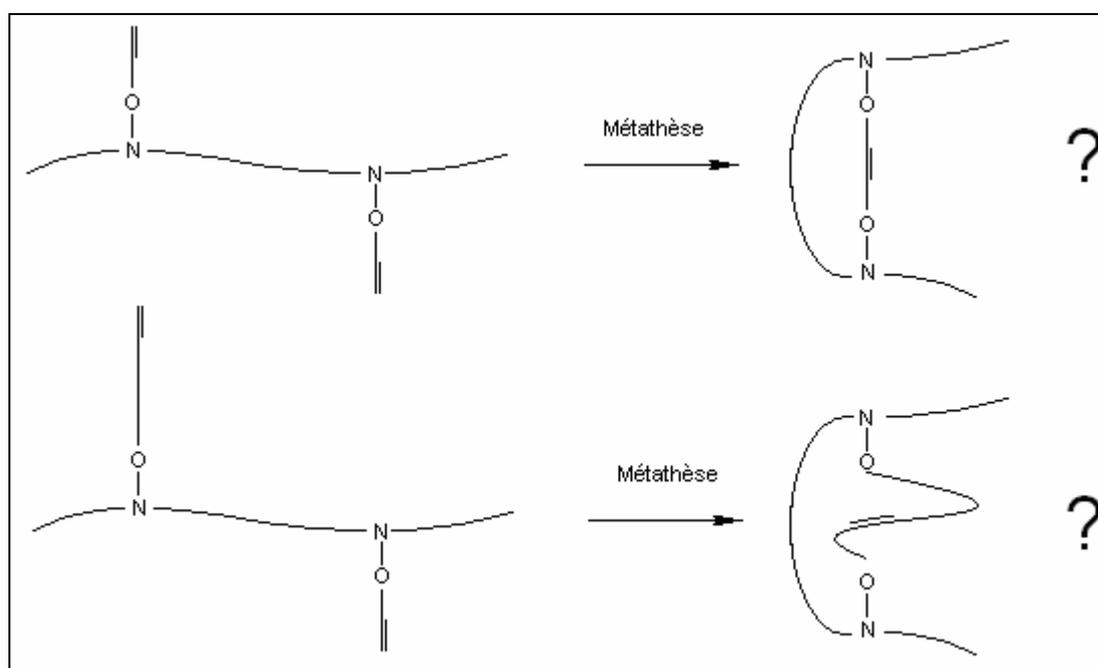


Schéma 132

#### 1. Premiers essais sur les hexapeptides

Dans ces essais, nous avons voulu alkyler deux motifs hydroxamate simultanément. Nous avons d'abord directement appliqué la réaction de Mitsunobu sur le *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide **16** (Schéma 133). Malgré l'utilisation du DMAD, par RMN du proton nous avons constaté, après purification, la présence d'un équivalent de DMAD réduit ( $\text{DMAD} + \text{H}_2$ ) avec le pseudopeptide **40a**. Lors de cet essai, une conversion totale a été observée. Nous supposons des interactions de type liaisons hydrogène entre le pseudopeptide et le ( $\text{DMAD} + \text{H}_2$ ), avec éventuellement un repliement de la molécule peptidique isolant le DMAD

réduit. Tout ceci expliquerait qu'un lavage à l'eau ne puisse pas éliminer ce produit secondaire. Toutefois, le rendement a été évalué entre 75 et 80%.

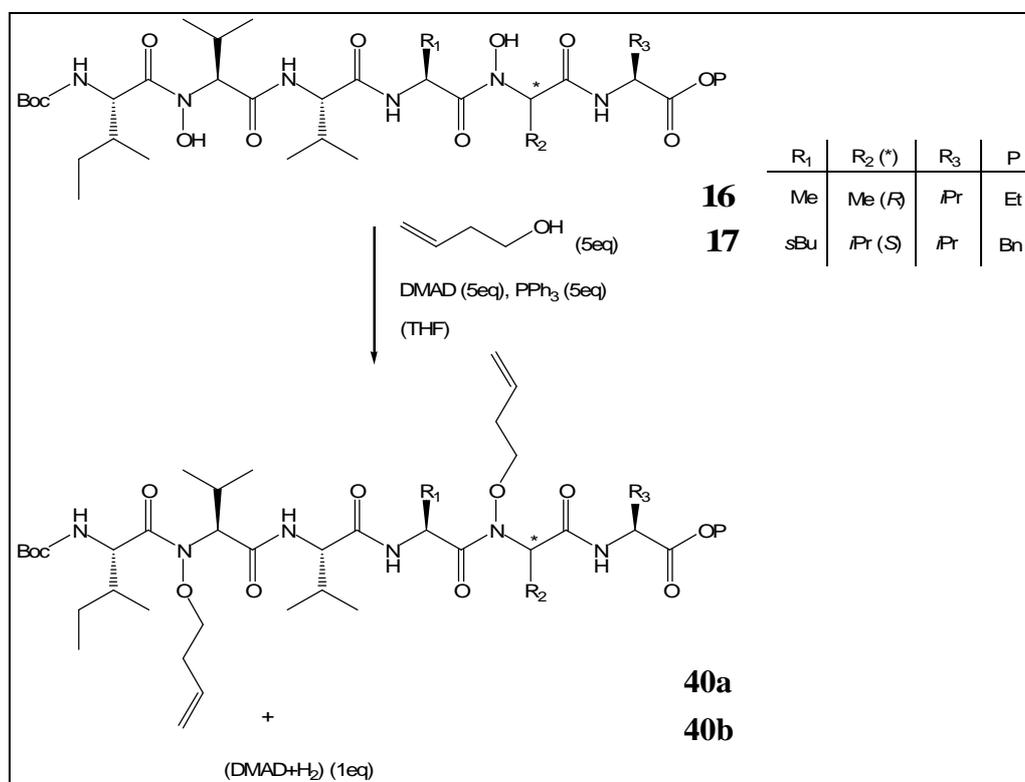


Schéma 133

Nous avons donc testé avec le *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide **17** afin de voir si l'augmentation du nombre de résidus encombrants (Ile ou Val) pouvait modifier les interactions avec le (DMAD+H<sub>2</sub>). Comme dans le cas précédent, la conversion est totale, mais les essais de purification n'ont pas permis d'éliminer l'équivalent de (DMAD+H<sub>2</sub>) présent avec le pseudopeptide **40b** (Schéma 133). De la même manière que précédemment, nous avons estimé le rendement entre 70 et 75%.

Le problème étant l'inclusion de (DMAD+H<sub>2</sub>) dans la molécule hexapeptidique dialkylée, nous avons donc eu à repenser la stratégie de synthèse à adopter.

## 2. Mise en place d'une nouvelle stratégie

Pour éviter les problèmes rencontrés lors des purifications des *N,N'*-dialkyloxy-hexapeptide **40a** et **40b**, nous pouvions changer de réactif de Mitsunobu et essayer le DBAD

ou coupler deux *N*-alkyloxy-tripeptides précédemment obtenus. Nous avons préféré la deuxième solution. Les raisons du choix de cette méthodologie sont doubles : bien sûr éviter les problèmes liés à la purification des *N,N'*-dialkoxy-hexapeptides, mais aussi être capables d'obtenir des chaînes alkyles de nature différente sur un même pseudo-peptide. Ainsi, nous avons établi une nouvelle stratégie de synthèse présentée dans le Schéma 134.

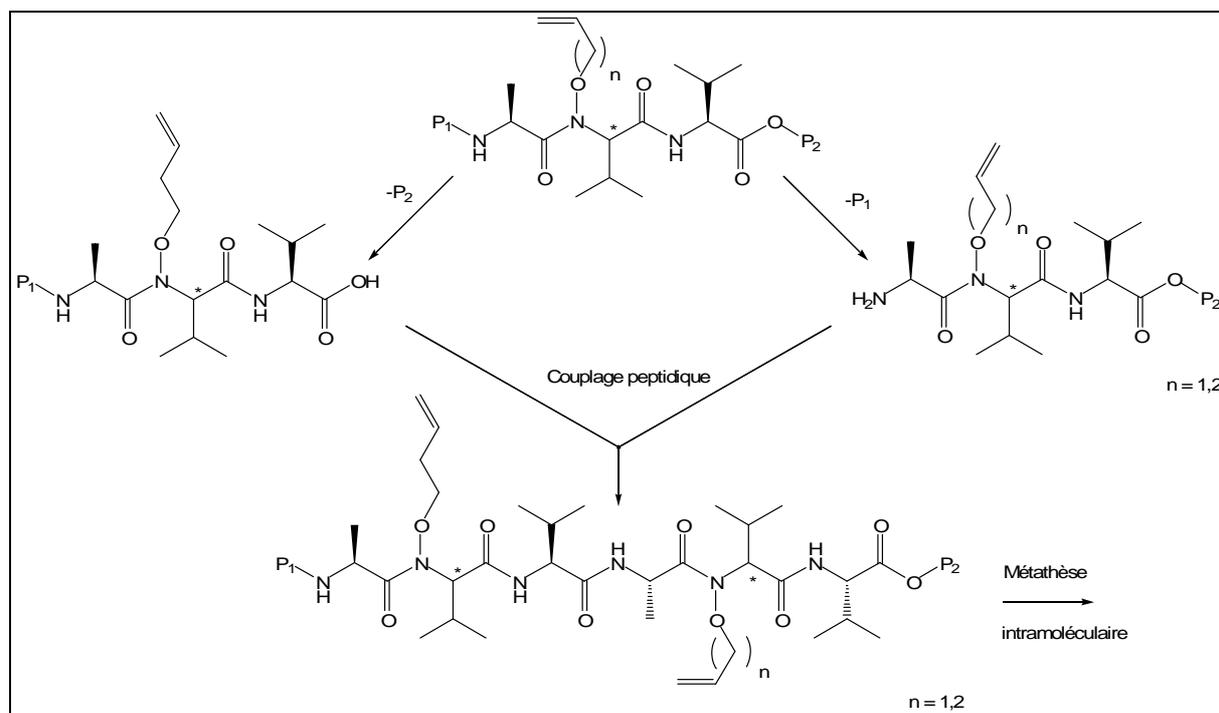


Schéma 134

Pour faciliter l'interprétation des spectres, nous avons choisi un pseudo-peptide le plus simple possible c'est-à-dire présentant la séquence « Ala-Val-Val ». Nous voulions également un exemple de *N,N'*-dialkoxy-hexapeptide avec uniquement des acides aminés de la série L. Nous avons donc choisi en premier lieu le pseudotripeptide **39e**.

Pour synthétiser un deuxième *N,N'*-dialkoxy-hexapeptide avec des chaînes alkyles de nature différente, nous avons choisi les molécules **38c** et **39f**.

Si le couplage de deux *N*-alkyloxy-tripeptides entre eux ne nous semblait pas poser de problème, la déprotection des extrémités N terminale et C terminale, avec les groupements protecteurs (Fmoc/OBn) que nous avons choisis, était moins évidente. Enlever, en présence d'un alcène, le groupement Fmoc par de la pipéridine ou de la diéthylamine ne devait pas poser de problème. En revanche, l'extrémité C terminale est protégée sous forme d'ester benzylique. Comme nous l'avons vu au chapitre 3, il est possible d'échanger le groupement

Fmoc par un groupement Boc pour effectuer efficacement l'hydrogénolyse de l'ester benzylique d'un *N*-hydroxy-tripeptide. Toutefois, réaliser cette hydrogénolyse sans réduire la double liaison du groupement homoallyle semblait difficile. Nos recherches bibliographiques nous ont permis de trouver deux méthodes alternatives à la débenzylation par hydrogénolyse. Les deux méthodes mettaient en jeu des molécules non peptidiques. La première utilisait du carbonate de potassium dans le THF hydraté<sup>123</sup> et la deuxième, du trichlorure de bore dans le dichlorométhane.<sup>124</sup> La deuxième étant appliquée à des molécules de type ester et amide, nous avons voulu d'abord l'essayer sur un modèle dipeptidique présent au laboratoire. Nous avons constaté sur le produit brut la disparition totale du benzyle (Schéma 135).

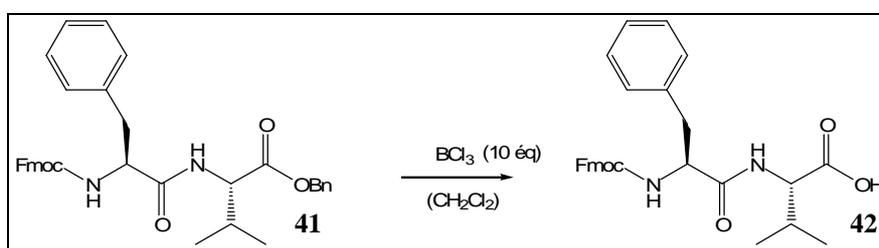


Schéma 135

Nous avons donc entrepris l'étude complète sur les *N*-alkyloxy-tripeptides **38c**, **39e**, **39f**, (Schéma 136).

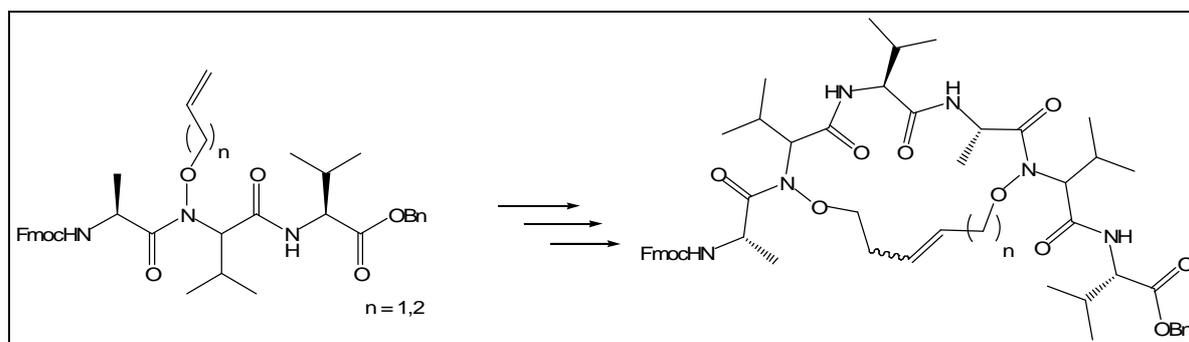


Schéma 136

<sup>123</sup> W. F. Huffman, R. F. Hall, J. A. Grant and K. G. Holden. "Nuclear Analogues of  $\beta$ -Lactam Antibiotics. 4. Total Synthesis of Bisnorisopenicillins from Antibacterially Active Monocyclic  $\beta$ -Lactam Precursors" *J. Med. Chem.*, **1978**, *21*, 413-415.

<sup>124</sup> U. Schmidt, M. Kroner and H. Griesser. "Total Synthesis of the Didemmins; IV. Synthesis of the Peptolide Ring and Construction of the Side Chain" *Synthesis*, **1991**, 294-300.

### 3. Résultats

Nous avons obtenu les produits **43a** et **43b** avec des rendements de 42% (non optimisé) et 62% respectivement (Schéma 137).

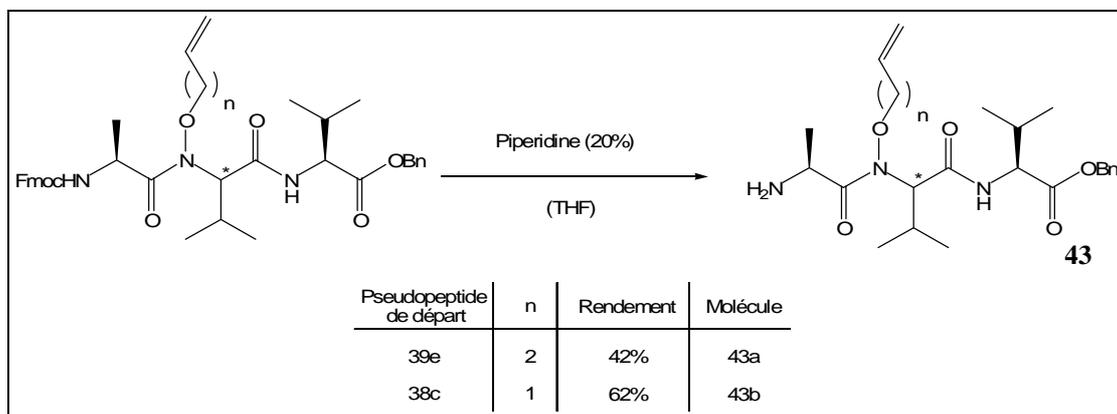


Schéma 137

La déprotection au trichlorure de bore nous a permis d'obtenir les produits **44a** et **44b** avec des rendements (non optimisés) de 80 et 40% (Schéma 138). La spectroscopie de masse n'a pas montré la présence d'adduits de bore avec ces molécules.

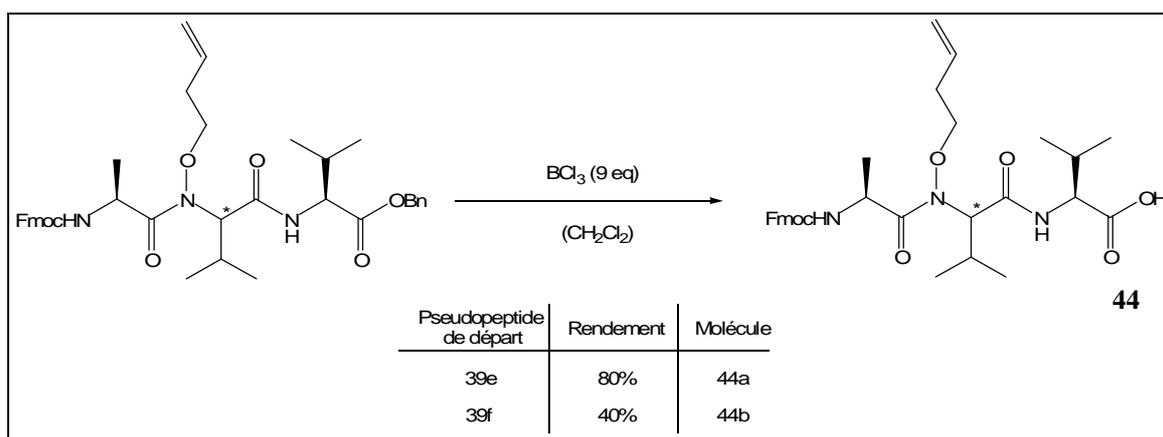


Schéma 138

Le couplage peptidique entre les *N*-alkoxy-tripeptides s'est fait dans les conditions habituelles en présence d'EDCI et HOBt dans le dichlorométhane. Les deux *N,N'*-dialkoxy-

hexapeptide **45a** et **45b** ont ainsi été obtenus avec des rendements de 65% et 71% (Schéma 139).

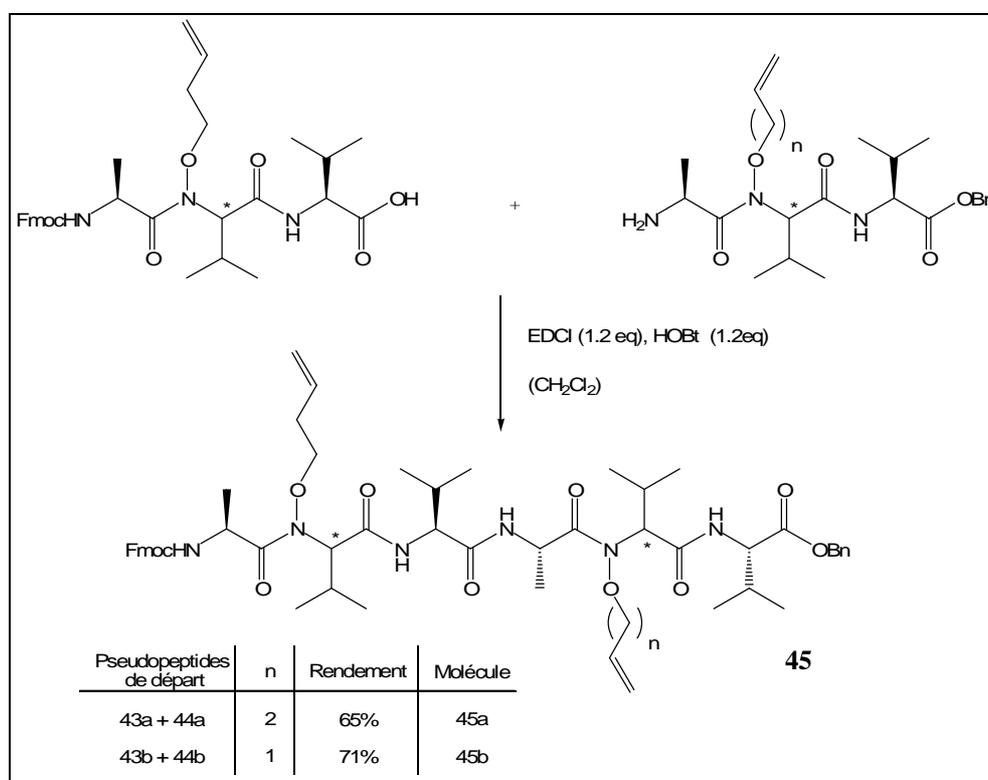


Schéma 139

Enfin, il nous restait à tester la deuxième étape de la synthèse : la réaction de métathèse intramoléculaire (Schéma 140). Les conditions de métathèse ont été mises au point lors de la synthèse de dimères d'un *N*-acyloxy-peptide (voir chapitre 4). Nous avons donc repris cette méthode mais dans des conditions de dilution assez fortes ( $C = 1.26 \text{ mmol.L}^{-1}$  (**45a**) et  $0.51 \text{ mmol.L}^{-1}$  (**45b**)) pour éviter la formation de dimères. 10% de catalyseur de Grubbs 2 ont été ajoutés au *N,N'*-dialkyloxy-hexapeptide **45a** dans le dichlorométhane. Pour une conversion totale, suivie par CCM, il a fallu rajouter du catalyseur. Ainsi 20% ont été nécessaires pour récupérer 71% en masse de produits après purification par chromatographie sur gel de silice. Lors de l'analyse du produit par RMN, nous avons remarqué la présence de deux produits, dans des proportions approximatives de 8:2 après purification. Nous avons attribué ces produits aux isomères *E* et *Z* du peptide cyclique **46a**. Aucune condition d'élution sur plaque CCM n'a permis de séparer ces deux produits. Aucune constante de couplage n'ayant pu être calculée à partir de ce spectre RMN, nous n'avons pas pu définir la nature *E* ou *Z* de la double liaison créée pour le produit majoritaire.

La réaction de métathèse a également été appliquée au *N,N'*-dialkoxy-hexapeptide **45b** avec succès. Il n'a pas été nécessaire de rajouter du catalyseur et ainsi seuls 10% de catalyseur de Grubbs de seconde génération ont été suffisants pour récupérer avec 84% de rendement un seul produit cyclique **41b**. L'analyse du spectre RMN du proton a révélé une constante de couplage de 15,9 Hz, indiquant que la double liaison créée doit être de configuration *E*.

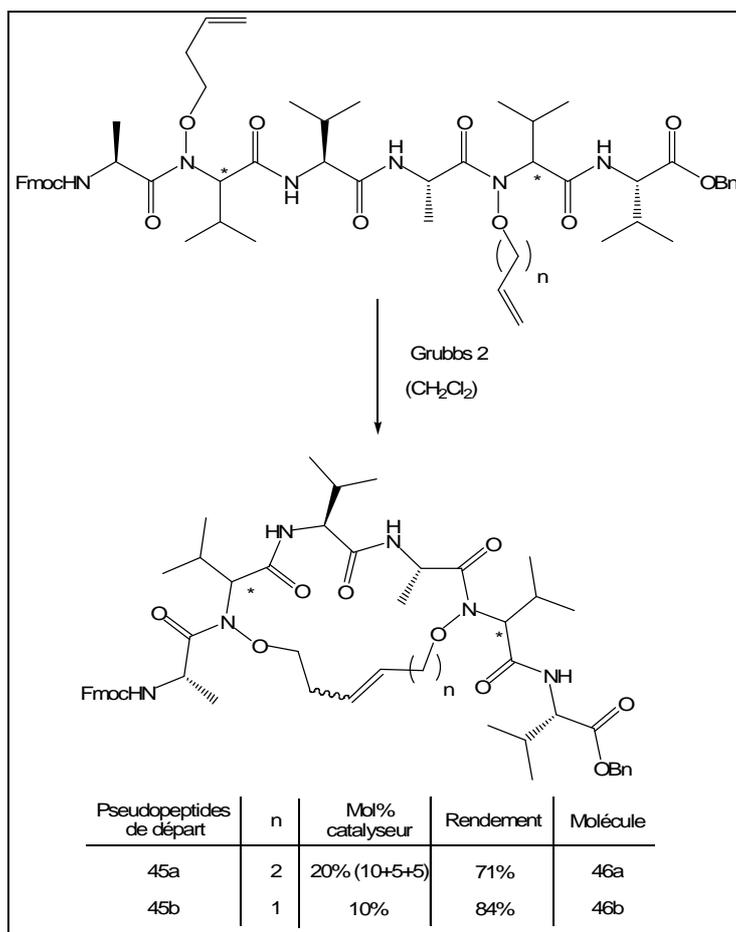


Schéma 140

#### IV. Conclusion

Nous avons établi des conditions d'alkylation permettant de préparer des *N*-alkyloxy-tripeptides et en particulier des pseudo-peptides comportant un groupement insaturé sur le motif hydroxamate. Il a ainsi été possible de synthétiser deux *N,N'*-dialkoxy-hexapeptides. La stratégie mise au point a permis en particulier de synthétiser un pseudo-peptide comportant un groupement alkyle différent sur chaque motif hydroxamate. Lors de cette étude, nous avons

également rencontré quelques problèmes pour séparer les *N*-alkyloxy-peptides des produits secondaires issus du réactif azodicarboxylate. Il serait de ce fait intéressant de voir l'effet du di-*tert*-butyl-azodicarboxylate sur ces réactions. Enfin, grâce au catalyseur de Grubbs de seconde génération, nous avons synthétisé deux macrocycles peptidiques dont il nous reste à déterminer les caractéristiques physico-chimiques.

## CONCLUSION

## Conclusion

Remplacer une liaison peptidique par un motif hydroxamate permet d'accéder à des molécules pseudopeptidiques avec de nouvelles propriétés. Pour des raisons de difficulté synthétique, la chimie des *N*-hydroxy-peptides était cependant peu développée jusqu'ici, en comparaison à la chimie peptidique classique.

Lors de ce travail de thèse, nous avons développé la synthèse de *N*-hydroxy-peptides. La liaison peptidique est formée par *N*-acylation sélective d'un *N*-hydroxy-dipeptide terminal issu de la réduction de l'oxime correspondante. Dans ces conditions, les acides aminés de part et d'autre de l'hydroxamate peuvent comporter des résidus encombrés. Les pseudotriptides obtenus sont facilement incorporables dans une séquence peptidique plus longue. Ainsi, nous avons préparé des pseudopeptides présentant plusieurs motifs hydroxamate et avons diversifié la nature des acides aminés impliqués.

Nous avons ensuite introduit plusieurs types de substituants sur le groupement hydroxyle des motifs hydroxamate, le but étant de proposer de nouveaux pseudopeptides conservant, comme les *N*-hydroxy-peptides, des séquences d'acides aminés protéinogéniques.

Nous avons commencé par acyler l'oxygène par des méthodes usuelles, ce qui donne accès à des *N*-acyloxy-peptides simples. L'introduction, directement sur le motif hydroxamate, de certains fragments moléculaires plus élaborés n'a pas été possible. L'utilisation d'un espaceur a permis de contourner ce problème.

Nous avons par ailleurs réussi à greffer des acides aminés sur le motif hydroxamate et avons montré qu'il était possible d'allonger les deux chaînes peptidiques. Lors de cette étude, nous avons également mis en évidence des réarrangements pouvant servir à la synthèse de longs fragments peptidiques ou à des applications d'ordre pharmaceutique. Enfin, l'application d'une réaction de métathèse sur des *N*-acyloxy-peptides présentant une insaturation a permis d'obtenir un dimère peptidique.

Une alkylation dans des conditions de Mitsunobu du motif hydroxamate a permis d'insérer des groupements insaturés reliés au fragment peptidique par une liaison plus solide que la liaison (N)O-C(O). La mise au point de cette alkylation s'est révélée difficile pour des questions de purification. Ce problème a été résolu en adaptant des conditions de réaction permettant d'éliminer plus facilement les produits secondaires.

La formation d'hexapeptides cycliques comportant deux motifs hydroxamate reliés entre eux par un pont hydrocarboné a été étudiée selon deux approches. Une dialkylation simultanée des deux groupements hydroxyle du *N,N'*-dihydroxy-hexapeptide n'a pas permis d'isoler proprement un pseudopeptide bis insaturé. Il a donc été nécessaire de le former par couplage peptidique entre les deux *N*-alkyloxy-tripeptides correspondants. Lorsque les pseudopeptides bis insaturés sont soumis à des conditions de métathèse, les cycles à 17 ou 18 atomes correspondants sont formés avec de bons rendements. Ceci est donc très encourageant quant à la possibilité d'utiliser le motif hydroxamate pour imposer des contraintes conformationnelles au peptide sans avoir à synthétiser des acides aminés insaturés.

Dans un premier temps, la réaction d'alkylation qui permet d'obtenir des *N*-alkyloxy-tripeptides mériterait d'être approfondie pour pouvoir l'adapter à des séquences plus longues ou plus complexes (plusieurs motifs hydroxamate). Inversement, il serait possible d'insérer dans un brin peptidique des tripeptides *N*-alkyloxylés comportant des substituants différents, ou à la fois des tripeptides *N*-alkyloxylés et des tripeptides *N*-acyloxylés. Ceci pourrait conférer des propriétés complémentaires à la molécule, en conjuguant par exemple un substituant à chaîne grasse et un sucre. Enfin, la formation d'autres liaisons (N)O-X pourrait être envisagée, par exemple une liaison (N)O-Si.

De manière générale, les propriétés physico-chimiques et biologiques de ces pseudopeptides devraient être étudiées. Une première étape pourrait être de déterminer leur stabilité vis-à-vis de la digestion enzymatique en comparant les résultats obtenus avec ceux de Bianco et Jung.<sup>17,18</sup> En effet, comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, ces derniers avaient remarqué qu'un seul de leurs *N*-hydroxy-peptides était dégradé par cette enzyme plus rapidement que son homologue naturel, les autres *N*-hydroxy-peptides étant plus stables. Ils avaient alors émis l'hypothèse que dans ce pseudopeptide une liaison hydrogène intramoléculaire permettait une hydrolyse plus rapide en fragilisant la liaison N-O. Ainsi, il serait intéressant de tester la dégradation enzymatique de nos molécules et de voir s'il y a un intérêt à greffer un groupement sur l'hydroxamate pour les rendre plus robustes dans un milieu biologique.

Enfin, il serait intéressant d'appliquer la migration de *O*- vers *N*- du groupement acyle décrite dans le chapitre 4 pour la préparation de séquences peptidiques dont la synthèse est réputée difficile.<sup>109,110,111</sup> Nous avons également mentionné dans ce travail le fait que les réarrangements observés pourraient être utilisés dans la conception de prodrogues. La mise en œuvre d'une telle stratégie nécessiterait évidemment la recherche et la synthèse de molécules-cibles appropriées.

## PARTIE EXPERIMENTALE

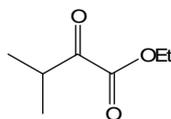
## PARTIE EXPERIMENTALE

### a) General procedures

All non-aqueous reactions were performed using oven-dried glassware under an atmosphere of argon. Standard inert atmosphere techniques were used in handling all air and moisture sensitive reagents.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and EtOH were freshly distilled from  $\text{CaH}_2$ . THF and diethyl ether were freshly distilled from sodium benzophenone ketyl. Unless otherwise stated, reagents were purchased from chemical companies and used without prior purification. Triethylamine and diethylamine were freshly distilled from  $\text{CaH}_2$ . Pyridine was distilled from  $\text{CaH}_2$  and kept over KOH pellets. For chromatographic purification, reagent grade solvents were used as received. Reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) using aluminum-backed silica gel plates (Merck, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>). TLC spots were viewed under ultraviolet light and by heating the plate after treatment with a staining solution of  $\text{KMnO}_4$  (300 mL water, 3 g  $\text{KMnO}_4$ , 20 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 0.3 g KOH), or ninhydrine (200 mL EtOH, 1 g ninhydrine), or TTC (for *N*-hydroxylamines; 100 mL EtOH, 0.5 g 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride). Product purification by flash chromatography was performed using Macherey Nagel Silica Gel 60M (230-400 mesh). Melting points were determined with a Büchi B-540 apparatus and are given uncorrected. Optical rotations were measured on a Perkin Elmer 341 polarimeter; the corresponding concentration is reported in  $\text{g}/100\text{cm}^3$ . Infrared (IR) spectra were obtained either from neat films, from a thin film of a dichloromethane solution of the compound on sodium chloride discs, or from a dispersion of the compound in a KBr plate. IR spectra were recorded on a Nicolet Impact-400 FT-IR spectrometer and the data are reported as absorption maxima in  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$  NMR (200 or 300 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz) spectra were run on either a Bruker AC200 or Advance300 spectrometer, and obtained from  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta_{\text{C}}$  77.2 ppm; standard for  $^1\text{H}$  spectra: tetramethylsilane  $\delta_{\text{H}}$  0.0 ppm). Multiplicities are reported as follows: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, h = heptuplet, m = multiplet, dd = doublet of doublet, dt = doublet of triplet, dq = doublet of quadruplet, br = broad; coupling constants  $J$  and  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  (for AB spin system) are reported in Hz. Mass spectra (LRMS) were recorded on a Bruker Esquire 3000 plus (ESI) or a ThermoFinnigan PolarisQ EI/CI ion-trap spectrometer (DCI; ammonia-isobutane 62:38). Exact mass spectra (HRMS) were recorded at the "Service Central d'Analyses du CNRS", Vernaison, France, or at the "Centre Régional

de Mesures Physiques de l'Ouest", Rennes, France. Elemental analyses were performed at the "Service Central d'Analyses du CNRS", Vernaison, France.

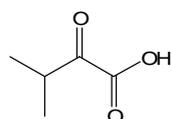
b) Synthesis of  $\alpha$ -keto-ester **1** and  $\alpha$ -keto-acid **2**



**2-keto-3-methylbutyric acid ethyl ester (1)**

Isopropyl magnesium chloride was prepared by slowly adding a solution of isopropyl chloride (25.9 ml, 283 mmol) in ether (20 mL) to activated magnesium (7.1 g, 296 mmol) at room temperature. After addition, the reaction was heated at 40-50°C for 1h30 and then cooled to room temperature.

The isopropyl magnesium chloride was then very slowly (approximately 2 hours) added on a drip to a stirred and cooled solution (-10° C to 0° C) of diethyloxalate (41.3 g, 283 mmole) in a 1:1 mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Ether (50 mL). Once the isopropyl magnesium chloride was added, the solution was stirred for 30 min at 0° C. A 4N solution of HCl<sub>aq</sub> (100 mL) was prepared and added to the reaction at low temperature (0 to +10° C). The organic phase was separated and the aqueous phase was re-extracted twice with ether (50 ml). The organic phases were united, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and filtrated. Evaporation of the solvent gave 42 g of crude material of **1** as a yellow oil which was used without any further purification.  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 4.40-4.20 (2H, m, CH<sub>2</sub> -OEt), 3.20 (1H, h, *J* 7.0, CH<sub>iPr</sub>), 1.40-1.25 (3H, m, CH<sub>3</sub> -OEt), 1.11 (6H, d, *J* 7.0, CH<sub>3</sub> <sub>iPr</sub>).

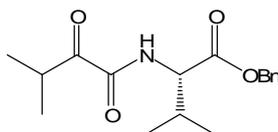


**2-keto-3-methylbutric acid (2)**

35 ml of water were added to the oily residue of **1** and vigorously mixed. The emulsion was then cooled between 0°C and +10° C and 25 ml of NaOH<sub>aq</sub> 30% were added. The mixture was stirred overnight at room temperature. Concentrated HCl<sub>aq</sub> was then added until the pH was lowered to 1. The solution was then extracted three times with 30 ml of ether. The organic phases were united, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated and evaporated. Distillation of the oily residue (60°C, 16 mm Hg) gave 14.8 g (128 mmole, 45% yield for 3 steps) of product **2** as a colourless oil.  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.97

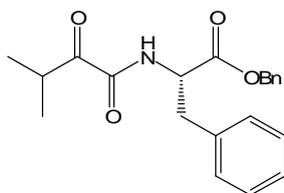
(1H, br, COOH), 3.43 (1H, h,  $J$  7.0, CH<sub>iPr</sub>), 1.21 (6H, d,  $J$  7.0, CH<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 199.1 (CO), 161.7 (COOH), 36.1 (CH<sub>iPr</sub>), 17.3 (CH<sub>3</sub>). IR: 3268, 2979, 2941, 1734, 1465, 1402, 1324, 1039.

### c) Synthesis of $\alpha$ -keto-amides 3



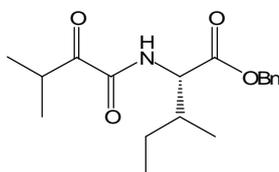
#### **(2S)-3-Methyl-2-(3-methyl-2-oxo-butrylamino)-butyric acid benzyl ester (3a)**

A solution of 3-methyl-2-oxo-butryric acid (2.40 g, 20.1 mmol; prepared from diethyl oxalate and isopropylmagnesium chloride)<sup>1</sup> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (27 mL) was cooled to 0°C and  $\alpha,\alpha$ -dichloromethylmethylether (1.83 mL, 2.32 g, 20.1 mmol) was slowly added<sup>2</sup> The solution was stirred for 15 minutes at 0°C, 45 minutes at room temperature and 1.5h at 50°C. The resulting solution of acyl chloride was cooled to room temperature, then added at 0°C to a solution of L-valine benzylester *p*-toluenesulfonate salt (7.62 g, 20.1 mmol) and NMM (*N*-methylmorpholine; 4.84 mL, 4.45 g, 44 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL). The mixture was stirred for 15 minutes at 0°C, then overnight at room temperature. The solution was washed with brine and the organic layer dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Removal of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) of the oily residue gave **3a** (4.16 g, 13.6 mmol, 68%) as a colourless oil.  $R_f$  0.34 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).  $[\alpha]_D^{25} +2.1^\circ$  ( $c$  2.79 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.48-7.27 (6H, m, CH<sub>ar</sub>, NH), 5.18 (2H, ABq,  $J$  12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  14.9, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.54 (1H, dd,  $J$  4.9 and 9.2, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val), 3.58 (1H, h,  $J$  6.9, CH<sup>iPr</sup>), 2.33-2.16 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val), 1.16 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub><sup>iPr</sup>), 1.13 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub><sup>iPr</sup>), 0.93 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val), 0.89 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 201.7, 171.0, 159.9 (C=O), 135.3 (C<sub>ar</sub>), 128.8, 128.7, 128.6 (CH<sub>ar</sub>), 67.4 (CH<sub>2</sub>-OBn), 57.4 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val), 34.4 (CH<sup>iPr</sup>), 31.6 (CH<sub>iPr</sub> Val), 19.2, 17.9, 17.8, 17.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3404, 2969, 1742, 1689, 1514, 1147, 752, 698. LRMS (ESI +)  $m/z$ : 306.1 (M+H)<sup>+</sup>, 328.1 (M+Na)<sup>+</sup>, 344.0 (M+K)<sup>+</sup>. Anal.: found, C66.83; H7.72; N4.60. C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub> requires C66.86; H7.59; N4.59%.



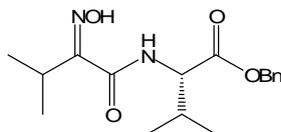
**(2S)-2-(3-Methyl-2-oxo-butyrylamino)-3-phenyl-propionic acid benzyl ester (3b)**

The title compound was prepared as described for **3a** using L-phenylalanine benzylester *p*-toluenesulfonate salt (6.49 g, 15.2 mmol) and was obtained as a colourless oil (4.16 g, 13.7 mmol, 50%).  $R_f$  0.61 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).  $[\alpha]_D^{25}$   $-0.9^\circ$  ( $c$  1.14 in  $\text{CHCl}_3$ ).  $\delta_{\text{H}}$  (200 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28-7.21 (9H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.02 (2H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ , NH), 5.15 (2H, ABq,  $J$  12.0,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  8.0,  $\text{CH}_2$ -OBn), 4.87 (1H, dt,  $J$  6.2 and 8.2,  $\text{CH}_{\alpha}$  Phe), 3.52 (1H, h,  $J$  6.9,  $\text{CH}^{\text{iPr}}$ ), 3.14 (2H, ABX,  $^3J$  6.2,  $^2J$  13.9,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  12.3,  $\text{CH}_2$  Phe), 1.10 (3H, d,  $J$  7.2,  $\text{CH}_3$ ), 1.09 (3H, d,  $J$  6.9,  $\text{CH}_3$ ).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 201.5, 170.6, 159.5 (C=O), 135.4, 135.1 ( $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 129.4, 128.9, 128.8 (2 peaks), 128.7, 127.4 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 67.6 ( $\text{CH}_2$ -OBn), 53.4 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Phe), 38.1 ( $\text{CH}_2$  Phe), 34.3 ( $\text{CH}^{\text{iPr}}$ ), 17.8, 17.7 ( $\text{CH}_3$ ). IR: 3394, 2969, 1744, 1688, 1519, 1175. LRMS (DCI)  $m/z$ : 354.1 (M+H) $^+$ , 371.8 (M+NH $_4$ ) $^+$ . HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 376.1523;  $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{Na}^+$  requires 376.1525.

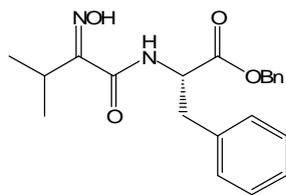


**(2S,3S)-3-Methyl-2-(3-methyl-2-oxo-butyrylamino)-pentanoic acid benzyl ester (3c)**

The title compound was prepared as described for **3a** using L-isoleucine benzylester *p*-toluenesulfonate salt (7.87 g, 20.1 mmol) and was obtained as a slightly yellow oil (2.11 g, 6.6 mmol, 33%).  $R_f$  0.56 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).  $[\alpha]_D^{25}$   $+3.6^\circ$  ( $c$  2.94 in  $\text{CHCl}_3$ ).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 7.40-7.25 (6H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ , NH), 5.18 (2H, ABq,  $J$  12.2,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  18.5,  $\text{CH}_2$ -OBn), 4.58 (1H, dd,  $J$  4.9 and 9.1,  $\text{CH}_{\alpha}$  Ile), 3.55 (1H, h,  $J$  6.9,  $\text{CH}^{\text{iPr}}$ ), 2.00-1.95 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{sBu}}$  Ile), 1.45-1.30 (1H, m,  $\text{CHH}$  Ile), 1.25-1.05 (1H, m,  $\text{CHH}$  Ile), 1.14 (3H, d,  $J$  6.9,  $\text{CH}_3^{\text{iPr}}$ ), 1.13 (3H, d,  $J$  6.9,  $\text{CH}_3^{\text{iPr}}$ ), 0.90 (3H, d,  $J$  7.0,  $\text{CH}_3$  Ile), 0.88 (3H, t,  $J$  7.5,  $\text{CH}_3$  Ile).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 201.8, 171.0, 159.8 (C=O), 135.4 ( $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 128.8, 128.7, 128.6 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 67.4 ( $\text{CH}_2$ -OBn), 56.8 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Ile), 38.2 ( $\text{CH}^{\text{iPr}}$ ), 34.4 ( $\text{CH}_{\text{sBu}}$  Ile), 25.2 ( $\text{CH}_2$  Ile), 17.9, 17.8 ( $\text{CH}_3^{\text{iPr}}$ ), 15.7, 11.7 ( $\text{CH}_3$  Ile). IR: 3399, 2970, 1740, 1720, 1685, 1516, 1146, 911, 734. LRMS (DCI)  $m/z$ : 320.2 (M+H) $^+$ , 336.7 (M+NH $_4$ ) $^+$ . HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 342.1677;  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{Na}^+$  requires 342.1681.

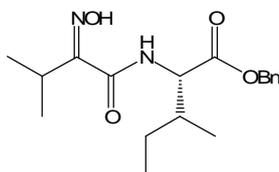
d) Synthesis of  $\alpha$ -hydroxyimino-amides 4**(2S)-2-(2-Hydroxyimino-3-methyl-butyrylamino)-3-methyl-butyric acid benzyl ester (4a)**

To a solution of **3a** (1.93 g, 6.3 mmol) in THF (30 mL) was added hydroxylamine hydrochloride (0.91 g, 13.1 mmol) and NaOAc $\cdot$ 3H<sub>2</sub>O (1.23 g, 9.0 mmol). The mixture was stirred for 18h at reflux. The suspension was then filtered and the solvent evaporated under reduced pressure. Flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) gave **4a** (1.80 g, 5.6 mmol, 89%) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.26 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).  $[\alpha]_D^{25} +4.1^\circ$  (*c* 2.99 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.50-7.23 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.17 (1H, d, *J* 8.9, NH), 5.19 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  25.4, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.63 (1H, dd, *J* 4.9 and 8.9, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val), 3.45 (1H, h, *J* 7.0, CH<sup>i</sup>Pr), 2.30-2.15 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val), 1.26 (3H, d, *J* 7.0, CH<sub>3</sub><sup>i</sup>Pr), 1.24 (3H, d, *J* 7.1, CH<sub>3</sub><sup>i</sup>Pr), 0.93 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val), 0.88 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.7, 163.8 (C=O), 159.1 (C=N), 135.4 (C<sub>ar</sub>), 128.8, 128.7, 128.6 (CH<sub>ar</sub>), 67.5 (CH<sub>2</sub>-OBn), 57.2 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val), 31.5 (CH<sup>i</sup>Pr), 25.6 (CH<sub>iPr</sub> Val), 19.2, 18.7, 18.5, 18.0 (CH<sub>3</sub>). IR: 3333, 2966, 1739, 1659, 1520, 1194, 1003, 698. LRMS (DCI) *m/z*: 321.0 (M+H)<sup>+</sup>, 337.7 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 343.1640; C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> requires 343.1634.

**(2S)-2-(2-Hydroxyimino-3-methyl-butyrylamino)-3-phenyl-propionic acid benzylester (4b)**

The title compound was prepared as described for **4a** using **3b** (2.48 g, 7.3 mmol) and, after flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 4:1), was obtained as a colourless oil (2.30 g, 6.2 mmol, 89%). *R<sub>f</sub>* 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).  $[\alpha]_D^{25} -0.9^\circ$  (*c* 1.03 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.64 (s, 1H, NOH), 7.37-7.17 (m, 11H, CH<sub>ar</sub>, NH), 5.13 (2H, ABq, *J* 12.3,  $\delta_A$ - $\delta_B$  15.9, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.92 (1H, dt, *J* 4.1 and 6.1, CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe), 3.44 (1H, h, *J* 7.1, CH<sup>i</sup>Pr), 3.11 (2H, ABX, <sup>3</sup>*J* 5.7, <sup>2</sup>*J* 13.5,  $\delta_A$ - $\delta_B$  13.6, CH<sub>2</sub> Phe), 1.23 (3H, d, *J* 7.1, CH<sub>3</sub>), 1.22 (3H, d, *J* 7.1, CH<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 171.9, 163.5 (C=O), 158.5 (C=N), 135.8, 135.1 (C<sub>ar</sub>), 129.4, 128.6 (2 peaks), 127.2 (CH<sub>ar</sub>), 67.5 (CH<sub>2</sub>-OBn), 53.4 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe), 38.1 (CH<sub>2</sub>

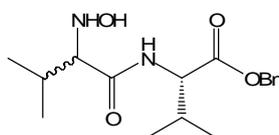
Phe), 25.5 (CH<sup>i</sup>Pr), 18.5 (CH<sub>3</sub>). IR: 3330, 2965, 1741, 1660, 1516, 1192, 1003, 740, 699. LRMS (DCI) *m/z*: 368.9 (M+H)<sup>+</sup>, 386.1 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +): found, 391.1634; C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> requires 391.1634.



**(2*S*,3*S*)-2-(2-Hydroxyimino-3-methyl-butyrylamino)-3-methyl-pentanoic acid benzylester (4c)**

The title compound was prepared as described for **4a** using **3c** (0.94 g, 2.9 mmol) and, after flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 4:1), was obtained as a colourless oil (0.84 g, 2.5 mmol, 85%). *R<sub>f</sub>* 0.12 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +7.9° (*c* 3.40 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300MHz; CDCl<sub>3</sub>) 9.34 (1H, s, NOH), 7.39-7.16 (6H, m, CH<sub>ar</sub>, NH), 5.09 (2H, ABq, *J* 12.2, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 33.6, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.62 (1H, dd, *J* 4.7 and 9.1, CH<sub>α</sub> Ile), 3.37 (1H, h, *J* 7.0, CH<sup>i</sup>Pr), 1.92-1.79 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile), 1.41-1.23 (1H, m, CHH Ile), 1.18 (3H, d, *J* 7.2, CH<sub>3</sub><sup>i</sup>Pr), 1.15 (3H, d, *J* 7.0, CH<sub>3</sub><sup>i</sup>Pr), 1.10-0.99 (1H, m, CHH Ile), 0.82 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ile), 0.77 (3H, t, *J* 7.4, CH<sub>3</sub> Ile). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.1, 164.2 (C=O), 158.6 (C=N), 135.2 (C<sub>ar</sub>), 128.7 (2 peaks), 128.5, 128.4 (CH<sub>ar</sub>), 67.5 (CH<sub>2</sub>-OBn), 56.5 (CH<sub>α</sub> Ile), 37.9 (CH<sub>sBu</sub> Ile), 25.6 (CH<sup>i</sup>Pr), 25.3 (CH<sub>2</sub> Ile), 18.7, 18.3 (CH<sub>3</sub><sup>i</sup>Pr), 15.7, 11.6 (CH<sub>3</sub> Ile). IR: 3334, 2966, 1739, 1662, 1516, 1192, 1003, 738, 698. LRMS (DCI) *m/z*: 335.1 (M+H)<sup>+</sup>, 351.7 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 357.1794; C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> requires 357.1790.

**e) Synthesis of *N*-hydroxy-amino esters 5**



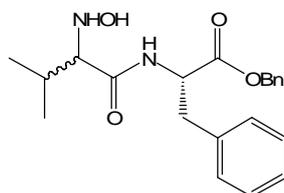
**(*S,S*)- and (*R,S*)-HN(OH)-Val<sub>1</sub>-Val<sub>2</sub>-OBn (5a)**

To a solution of **4a** (700 mg, 2.2 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (35 mL) at room temperature was added BH<sub>3</sub>:NMe<sub>3</sub> (320 mg, 4.00 mmol). HCl<sub>g</sub> (prepared from H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and NH<sub>4</sub>Cl) was bubbled through the mixture for 2h. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 g) and MeOH (1 mL) were then added and the suspension was stirred overnight. Removal of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 98:2) of the residue allowed isolation as pale

yellow oils, of, first, pure (*S,S*)-**5a** (166 mg, 0.51 mmol, 23%), second, a circa 1:1 mixture<sup>30</sup> of (*S,S*)- and (*R,S*)-**5a** (211 mg, 0.65 mmol, 30%), and third, (*R,S*)-**5a** (271 mg, 0.84 mmol, 38%). The latest could be crystallized into a white solid from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / cyclohexane.

(*S,S*)-**5a**<sub>1</sub>: *R*<sub>f</sub> 0.25 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +22.5^{\circ}$  (*c* 2.82 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.40-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.04 (1H, d, *J* 9.4, NH), 5.14 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  19.1, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.71 (1H, dd, *J* 4.5 and 9.4, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 3.33 (1H, d, *J* 6.4, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>1</sub>), 2.20-2.30 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>1</sub>), 2.00-1.87 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 0.99 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub>), 0.98 (3H, d, *J* 7.2, CH<sub>3</sub>), 0.95 (3H, d, *J* 7.0, CH<sub>3</sub>), 0.84 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.0, 172.8 (C=O), 135.3 (C<sub>ar</sub>), 128.8, 128.7, 128.5 (CH<sub>ar</sub>), 73.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>1</sub>), 67.5 (CH<sub>2</sub>-OBn), 56.8 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>1</sub>), 19.6, 19.4 (2 peaks), 17.5 (CH<sub>3</sub>). IR: 3377, 2965, 1739, 1655, 1524, 1193, 752, 698. LRMS (DCI) *m/z*: 323.0 (M+H)<sup>+</sup>, 339.8 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. Anal.: found, C63.0; H8.3; N8.9. C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> requires C63.3; H8.1; N8.7%.

(*R,S*)-**5a**<sub>2</sub>: Mp: 84°C. *R*<sub>f</sub> 0.20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +7.1^{\circ}$  (*c* 3.21 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.37-7.32 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.82 (1H, d, *J* 8.8, NH), 5.17 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  26.8, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.67 (1H, dd, *J* 4.7 and 8.8, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 3.31 (1H, d, *J* 6.4, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>1</sub>), 2.30-2.16 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>1</sub>), 2.06-1.92 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 0.99 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub>), 0.96 (3H, d, *J* 6.3, CH<sub>3</sub>), 0.94 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub>), 0.84 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.7, 172.1 (C=O), 135.5 (C<sub>ar</sub>), 128.8, 128.6 (2 peaks) (CH<sub>ar</sub>), 72.4 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>1</sub>), 67.3 (CH<sub>2</sub>-OBn), 57.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 31.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>1</sub>), 19.8, 19.3, 19.0, 18.0 (CH<sub>3</sub>). IR: 3362, 2965, 1717, 1675, 1535, 1281, 1006, 743. LRMS (DCI) *m/z*: 322.9 (M+H)<sup>+</sup>, 339.7 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 345.1788; C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> requires 345.1790.



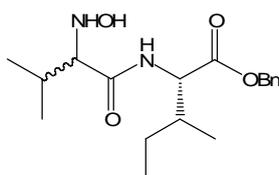
### (*S,S*)- and (*R,S*)-HN(OH)-Val-Phe-OBn (**5b**)

The title compounds were prepared as described for **5a** starting from **4b** (674 mg, 1.8 mmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 99.75:0.25 to 96:4) allowed isolation of, first, pure (*S,S*)-**5b** (white solid, 163 mg, 0.4 mmol, 24%), second, a circa 1:1 mixture of (*S,S*)- and (*R,S*)-**5b** (189 mg, 0.5 mmol, 28%), and third, (*R,S*)-**5b** (350 mg) with an impurity. The last

fraction was recrystallized in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / cyclohexane to give 80 mg (0.2 mmol, 12%) of (*R,S*)-**5b** as a white solid.

(*S,S*)-**5b<sub>1</sub>**: Mp: 103.5°C. *R<sub>f</sub>* 0.32 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} -0.3^\circ$  (*c* 1.00 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.40-7.03 (m, 10H, CH<sub>ar</sub>), 6.85 (1H, d, *J* 8.9, NH), 5.16 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  18.3, CH<sub>2</sub>-OBn), 5.06 (1H, m, CH<sub>α</sub> Phe), 3.26 (1H, d, *J* 6.8, CH<sub>α</sub> Val), 3.13 (2H, ABX, <sup>3</sup>*J* 6.2, <sup>2</sup>*J* 14.1,  $\delta_A$ - $\delta_B$  14.6, CH<sub>2</sub> Phe), 1.90-1.70 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val), 0.88 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val), 0.87 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.4, 172.3 (C=O), 135.9, 135.1 (C<sub>ar</sub>), 129.7, 129.5, 129.4, 129.2, 128.8, 128.7 (2 peaks), 128.6, 127.2, 127.1 (CH<sub>ar</sub>), 72.8 (CH<sub>α</sub> Val), 67.6 (CH<sub>2</sub>-OBn), 52.6 (CH<sub>α</sub> Phe), 38.1 (CH<sub>2</sub> Phe), 29.1 (CH<sub>iPr</sub> Val), 19.5, 19.2 (CH<sub>3</sub> Val). IR: 3302, 2966, 1738, 1667, 1525, 1448, 1184, 739, 691. LRMS (DCI) *m/z*: 370.9 (M+H)<sup>+</sup>, 387.8 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +): found, 393.1792; C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> requires 393.1790.

(*R,S*)-**5b<sub>2</sub>**: Mp: 119-120°C. *R<sub>f</sub>* 0.24 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} -0.17^\circ$  (*c* 1.07 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.40-7.05 (10H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.80 (1H, d, *J* 7.9, NH), 5.18 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  18.7, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.97 (1H, dt, *J* 6.5 and 7.9, CH<sub>α</sub> Phe), 3.22 (1H, d, *J* 5.8, CH<sub>α</sub> Val), 3.17 (2H, ABX, <sup>3</sup>*J* 6.4, <sup>2</sup>*J* 14.0,  $\delta_A$ - $\delta_B$  38.5, CH<sub>2</sub> Phe), 2.00-1.80 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val), 0.92 (3H, d, *J* 6.3, CH<sub>3</sub> Val), 0.89 (3H, d, *J* 6.3, CH<sub>3</sub> Val).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.1, 171.7 (C=O), 136.3, 135.3 (C<sub>ar</sub>), 129.4, 128.8, 127.4 (CH<sub>ar</sub>), 72.4 (CH<sub>α</sub> Val), 67.5 (CH<sub>2</sub>-OBn), 52.8 (CH<sub>α</sub> Phe), 37.9 (CH<sub>2</sub> Phe), 29.2 (CH<sub>iPr</sub> Val), 19.6, 18.9 (CH<sub>3</sub> Val). IR: 3308, 2951, 1728, 1644, 1539, 1280, 753. LRMS (DCI): 371.1 (M+H)<sup>+</sup>, 387.8 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>.



#### (*S,S*)- and (*R,S*)-HN(OH)-Val-Ile-OBn (**5c**)

The title compounds were prepared as described for **5a** starting from **4c** (500 mg, 1.5 mmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 99.75:0.25 to 96:4) of the residue allowed isolation of, first, pure (*S,S*)-**5c** (yellow oil, 41 mg, 0.12 mmol, 8%), second, a circa 1:1 mixture of (*S,S*)- and (*R,S*)-**5c** (233 mg, 0.69 mmol, 46%), and third, pure (*R,S*)-**5c** (yellow oil, 84 mg, 0.25 mmol, 17%).

(*S,S*)- **5c<sub>1</sub>**: *R<sub>f</sub>* 0.22 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.25-7.45 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.02 (1H, d, *J* 9.5, NH), 5.17 (2H, ABq, *J* 12.0,  $\delta_A$ - $\delta_B$  24.6, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.75 (1H, dd, *J* 4.5 and 9.5, CH<sub>α</sub> Ile), 3.33

(1H, d,  $J$  6.5, CH $_{\alpha}$  Val), 2.10-1.85 (2H, m, CH $_{iPr}$  Val, CH $_{sBu}$  Ile), 1.50-1.20 (1H, m, CHH Ile), 1.20-1.00 (1H, m, CHH Ile), 0.99 (3H, d,  $J$  7.2, CH $_3$ ), 0.97 (3H, d,  $J$  6.9, CH $_3$ ), 0.93 (3H, d,  $J$  6.9, CH $_3$ ), 0.86 (3H, t,  $J$  7.4, CH $_3$  Ile).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl $_3$ ) 173.1, 172.8 (C=O), 135.3 (C $_{ar}$ ), 128.8, 128.7, 128.6, 128.5 (CH $_{ar}$ ), 73.0 (CH $_{\alpha}$  Val), 67.5 (CH $_2$  -OBn), 56.3 (CH $_{\alpha}$  Ile), 37.7 (CH $_2$  Ile), 29.2 (CH $_{iPr}$  Val), 25.0 (CH $_{sBu}$  Ile), 19.6, 19.3, 16.0, 11.7 (CH $_3$ ). IR: 3299, 2964, 1739, 1666, 1518, 1456, 1190, 1146, 996, 698.

(*R,S*)- **5c** $_2$ :  $R_f$  0.15 (CH $_2$ Cl $_2$ -MeOH 95:5).  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl $_3$ ) 7.38-7.30 (5H, m, CH $_{ar}$ ), 6.95 (1H, d,  $J$  8.6, NH), 5.16 (2H, ABq,  $J$  12.3,  $\delta_A$ - $\delta_B$  20.6, CH $_2$  -OBn), 4.72 (1H, dd,  $J$  4.8 and 8.6, CH $_{\alpha}$  Ile), 3.31 (1H, d,  $J$  6.2, CH $_{\alpha}$  Val), 2.10-1.85 (2H, m, CH $_{iPr}$  Val, CH $_{sBu}$  Ile), 1.50-1.30 (1H, m, CHH Ile), 1.30-1.00 (1H, m, CHH Ile), 0.96 (3H, d,  $J$  6.9, CH $_3$ ), 0.95 (3H, d,  $J$  6.9, CH $_3$ ), 0.90 (3H, d,  $J$  6.9, CH $_3$ ), 0.87 (3H, t,  $J$  7.4, CH $_3$  Ile).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl $_3$ ) 172.7, 172.1 (C=O), 135.4 (C $_{ar}$ ), 128.7, 128.6, 128.5 (CH $_{ar}$ ), 72.3 (CH $_{\alpha}$  Val), 67.2 (CH $_2$  -OBn), 56.5 (CH $_{\alpha}$  Ile), 38.0 (CH $_2$  Ile), 29.2 (CH $_{iPr}$  Val), 25.3 (CH $_{sBu}$  Ile), 19.7, 19.1, 15.7, 11.7 (CH $_3$ ). IR: 3319, 2964, 1738, 1666, 1462, 1188, 1002, 698.

#### f) Assignment of configuration for compounds 5

##### **Reduction of N–O bond for benzyl ester derivatives**

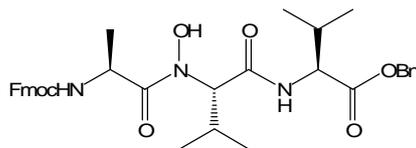
To a solution of *N*-hydroxy dipeptide **5a,b,c** (single diastereomer; 150  $\mu$ mol) in THF (1 mL) was added a 0.1M solution of SmI $_2$  in THF (3.8 mL). The mixture was stirred at room temperature for 1.5h. A saturated aqueous solution of Na $_2$ S $_2$ O $_3$  (10 mL) was added. The suspension was filtered over Celite® 535 and the filtrate dried over Na $_2$ SO $_4$ . Removal of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography gave pure dipeptide H-AA $_1$ -AA $_2$ -OBn.

##### **Comparison with authentic (*S,S*)-H-AA $_1$ -AA $_2$ -OR samples**

Authentic (*S,S*) samples are prepared by DCC- or EDCI-mediated coupling of L-Fmoc-AA $_1$ -OH with L-H-AA $_2$ -OR followed by piperidine-induced cleavage of the Fmoc group.

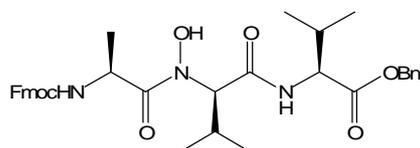
Roughly equimolar amounts of authentic (*S,S*) dipeptide and unknown diastereomer were mixed in CDCl $_3$  and  $^1$ H and  $^{13}$ C NMR spectra were recorded. Matching (respectively mismatching) of the signals indicated the configuration of the diastereomer was (*S,S*) (respectively (*R,S*)).

#### g) Synthesis of *N*-hydroxy-peptides 6, 9, 10, 12 and 13



**(*S,S,S*)-Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**6a**)**

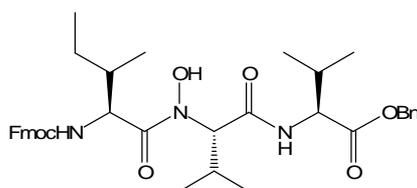
To a solution of **5a<sub>1</sub>** (185.8 mg, 576 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) at room temperature, were added NaHCO<sub>3</sub> (60 mg, 715 μmol) and Fmoc-Ala-Cl (220 mg, 667 μmol). The mixture was stirred overnight. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 98:2) gave **6a** (149 mg, 241 μmol, 42% yield) as a white solid which can be recrystallized from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/cyclohexane. Mp: 112-113°C. *R<sub>f</sub>* 0.44 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +19.8 (*c* 1.50 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.73 (1H, s, NOH), 8.47 (1H, d, *J* 9.1, NH Val<sub>3</sub>), 7.73 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.67-7.60 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.15 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.54 (1H, d, *J* 9.1, NH Ala<sub>1</sub>), 5.30-5.20 (1H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 5.16 (2H, ABq, *J* 12.0, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 56.2, CH<sub>2</sub>-OBn), 5.13-5.02 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.74 (1H, dd, *J* 4.5 and 9.2, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.42-4.15 (3H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.50-2.33 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.25-2.12 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.29 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 0.99 (6H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.84 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.73 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.2 (C=O Val<sub>2</sub>), 172.6 (C=O Ala<sub>1</sub>), 171.7 (C=O Val<sub>3</sub>), 156.2 (C=O Fmoc), 144.2, 144.1, 141.4 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.1 (C<sub>ar</sub>-OBn), 128.8, 128.7 (2 peaks), 127.8, 127.1, 125.5, 125.4, 120.0 (CH<sub>ar</sub>), 67.6, 67.1 (CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc), 63.3 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 56.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 47.1 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 32.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.6 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.9, 19.1, 18.9, 18.1, 17.5 (CH<sub>3</sub>). IR: 3378, 3299, 2964, 2929, 2875, 1724, 1634, 1524, 1451, 1241, 1194, 758, 741. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 638.2836; C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>Na requires 638.2842.



**(*S,R,S*)-Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**6b**)**

The title compound was prepared as described for **6a** using **5a<sub>2</sub>** (235 mg, 728 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) followed by recrystallization from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-cyclohexane gave **6b** (379 mg, 626 μmol, 86% yield) as a white solid which can be recrystallized from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/cyclohexane. Mp: 184-185°C. *R<sub>f</sub>* 0.39 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +7.8°

(*c* 1.00 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.6 (1H, s, NOH), 7.75 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.59 (2H, dd, *J* 7.0, 7.0, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.40-7.20 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.86 (1H, d, *J* 8.2, NH Val<sub>3</sub>), 5.95 (1H, d, *J* 8.2, NH Ala<sub>1</sub>), 5.12 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  22.8, CH<sub>2</sub> -OBn), 5.05-4.97 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>), 4.78 (1H, d, *J* 9.6, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 4.55 (1H, dd, *J* 4.6 and 8.2, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 4.36-4.17 (3H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.60-2.40 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.43 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.04 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.98 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.90 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.85 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 175.8, 172.9, 171.6 (C=O), 156.0 (C=O Fmoc), 144.2, 144.0, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.2 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.8, 128.7, 127.8, 127.2, 125.4, 124.8, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.6, 67.2 (CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc), 63.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 57.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 47.6 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 31.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.7, 19.3, 19.2, 18.8, 18.0 (CH<sub>3</sub>). IR: 3248, 3068, 2964, 1744, 1697, 1663, 1610, 1551, 1105, 758, 739. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 616.3028; C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> requires 616.3023.

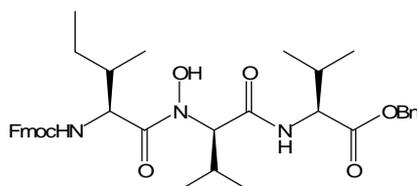


**(*S,S,S*)-Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (6c)**

The title compound was prepared as described for **6a** using **5a<sub>1</sub>** (215 mg, 666 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 95:5) followed by recrystallization from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-cyclohexane gave **6c** (353 mg, 0.54 mmol, 81% yield) as a white solid.

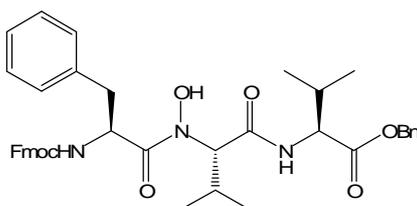
Mp: 160-161 °C. *R<sub>f</sub>* 0.41 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -18.28° (*c* 1.02 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{H}}$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.73-8.39 (2H, m, NH Val<sub>3</sub>, NOH), 7.72 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.64 (2H, d, *J* 7.3, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.10 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.55 (1H, d, *J* 9.7, NH Ile<sub>1</sub>), 5.30-5.20 (2H, m, CHH -OBn, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 5.10-4.95 (2H, m, CHH -OBn, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 4.75 (1H, dd, *J* 4.7 and 8.8, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 4.52-4.07 (3H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.50-2.29 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.26-2.06 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.92-1.73 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.55-1.37 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.20-0.70 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.3, 171.9, 171.7 (C=O), 156.8 (C=O Fmoc), 144.2 (2 peaks), 141.4 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.1 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7, 128.6, 128.4, 127.7, 127.0, 125.3, 120.0 (CH<sub>ar</sub>), 67.5, 67.0 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 63.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 56.6 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 55.3 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 37.6 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 32.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.6 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.5 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.9, 19.1, 18.8,

17.6 (CH<sub>3</sub> Val), 15.5, 11.4 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3386, 3302, 2964, 1719, 1629, 1522, 1236, 740. LRMS (DCI) *m/z*: 675.7 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 680.3311; C<sub>38</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>Na<sup>+</sup> requires 680.3312.



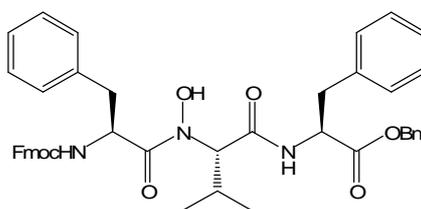
**(*S,R,S*)-Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (6d)**

The title compound was prepared as described for **6a** using **5a<sub>2</sub>** (50 mg, 0.155 mmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 98.5:1.5 to 98:2) followed by recrystallization from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-cyclohexane gave **6d** (77 mg, 0.117 mmol, 76%) as a white solid. Mp: 164°C. *R<sub>f</sub>* 0.61 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +19.7 (*c* 1.20 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.57 (1H, s, NOH), 7.73 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.57 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.44-7.18 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.03 (1H, d, *J* 7.8, NH Val<sub>3</sub>), 5.83 (1H, d, *J* 9.6, NH Ile<sub>1</sub>), 5.05 (2H, ABq, *J* 12.2, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 28.8, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.98-4.85 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 4.86 (1H, d, *J* 9.6, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 4.54 (1H, dd, *J* 4.8 and 7.8, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.44-4.32 (1H, m, CHH Fmoc), 4.26-4.11 (2H, m, CH Fmoc, CHH Fmoc), 2.62-2.34 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.26-2.07 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 2.04-1.80 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.63-1.37 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.30-0.70 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 172.1, 171.6 (C=O), 156.9 (C=O Fmoc), 144.2, 144.0, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.2 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7, 128.6 (2 peaks), 127.8, 127.2, 125.4, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.5, 67.3 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 63.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.7 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.8 (CH<sub>α</sub>Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 37.4 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.1 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.7, 19.4, 19.1, 18.1 (CH<sub>3</sub> Val), 16.1, 11.6 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3319, 2964, 1735, 1701, 1655, 1611, 1534, 1249, 740. LRMS (ESI +) *m/z*: 658.2 (M+H)<sup>+</sup>, 680.3 (M+Na)<sup>+</sup>, 696.2 (M+K)<sup>+</sup>. Anal.: found, C69.2; H7.3; N6.4. C<sub>38</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> requires C69.4; H7.2; N6.4%.



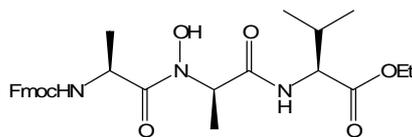
**(*S,S,S*)-Fmoc-Phe<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (6e)**

The title compound was prepared as described for **6a** using **5a<sub>1</sub>** (239 mg, 741  $\mu$ mol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 90:10) followed by recrystallization from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/cyclohexane gave **6e** (112.7 mg, 163  $\mu$ mol, 22% yield) as a white solid. Mp: 160-161°C.  $R_f$  0.41 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$  -18.28° (*c* 1.02 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.61 (1H, br, NOH), 8.46 (1H, d, *J* 8.3, NH Val<sub>3</sub>), 7.71 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.62-7.45 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.40-7.10 (14H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.53 (1H, d, *J* 9.4, NH Phe<sub>1</sub>), 5.40-5.20 (2H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe<sub>1</sub>, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 5.15 (2H, ABq, *J* 9.8,  $\delta_A$ - $\delta_B$  55.7, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.72 (1H, dd, *J* 4.9 and 8.7, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 4.45-4.25 (1H, m, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.25-4.00 (2H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 3.16-3.05 (1H, m, CH<sub>2</sub> Phe<sub>1</sub>), 2.86-2.73 (1H, m, CH<sub>2</sub> Phe<sub>1</sub>), 2.46-2.32 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.21-2.06 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.00-0.80 (12H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.5, 171.7, 171.5 (C=O), 156.3 (C=O Fmoc), 144.1 (2 peaks), 141.4 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 136.8 (C<sub>ar</sub> Phe), 135.2 (C<sub>ar</sub> -OBn), 129.5, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6 (2 peaks), 128.1, 127.9, 127.8, 125.5, 125.3, 125.2, 120.1 (2 peaks) (CH<sub>ar</sub>), 67.5, 67.2 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 64.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 57.2 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 52.5 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 38.2 (CH<sub>2</sub> Phe<sub>1</sub>), 31.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.8, 19.1, 19.0, 17.9 (CH<sub>3</sub> Val).



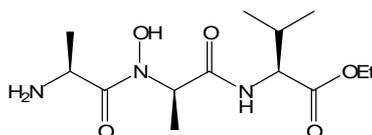
**(S,S,S)-Fmoc-Phe<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Phe<sub>3</sub>-OBn (**6f**)**

The title compound was prepared as described for **6a** using **5b<sub>1</sub>** (76 mg, 205  $\mu$ mol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 99:1) followed by recrystallization from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/cyclohexane gave **6f** (74 mg, 100  $\mu$ mol, 49% yield) as a white solid.  $R_f$  0.36 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $\delta_H$  (300 MHz; DMSO) 9.82 (1H, s, NOH), 8.48 (1H, d, *J* 6.5, NH Phe), 7.87 (2H, d, *J* 7.0, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.69-7.60 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.53 (1H, d, *J* 9.5, NH Phe), 7.43-7.05 (19H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.01 (2H, ABq, *J* 12.7,  $\delta_A$ - $\delta_B$  11.7, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.93-4.80 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe), 4.62 (1H, d, *J* 9.7, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 4.55-4.43 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe), 3.20-3.10 (1H, CHH Phe), 3.05-2.75 (2H, m, CH<sub>2</sub> Phe), 2.78-2.62 (1H, CHH Phe), 2.37-2.22 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 0.86 (6H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; DMSO) 172.8, 171.9, 170.4 (C=O), 156.6 (C=O Fmoc), 144.7, 144.6, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 139.3, 137.6 (C<sub>ar</sub> Phe), 136.5 (C<sub>ar</sub> -OBn), 130.4, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8 (2 peaks), 128.5, 128.2, 127.9, 127.4, 126.2, 120.9 (CH<sub>ar</sub>), 66.9, 66.6 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 64.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 55.8, 54.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe), 47.4 (CH Fmoc), 37.5 (CH<sub>2</sub> Phe), 28.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 20.2, 19.7 (CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>).



**(S,R,S)-Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (9)**

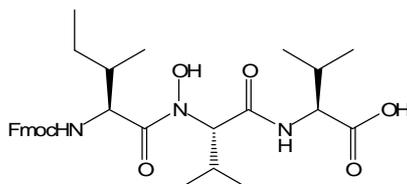
The title compound was prepared as described for **6a** using (*R,S*)-HN(OH)-Ala-Val-OEt (408 mg, 1.756 mmol) and Fmoc-Ala-Cl (608 mg, 1.844 mmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 1:1) gave **9** (698 mg, 1.328 mmol, 76%) as a white solid. Mp: 173°C.  $R_f$  0.38 (pentane-EtOAc 1:1).  $[\alpha]_D^{25} +28.6$  ( $c$  1.00 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.46 (1H, br s, NOH), 7.75 (2H, d,  $J$  7.6, CH<sub>ar</sub>), 7.59 (2H, d,  $J$  7.4, CH<sub>ar</sub>), 7.39 (2H, dd,  $J$  7.4 and 7.4, CH<sub>ar</sub>), 7.30 (2H, dd,  $J$  7.4 and 7.4, CH<sub>ar</sub>), 6.84 (1H, d,  $J$  9.1, NH Val<sub>3</sub>), 5.82 (1H, d,  $J$  7.6, NH Ala<sub>1</sub>), 5.32 (1H, q,  $J$  7.0, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.99 (1H, dq,  $J$  6.8 and 7.6, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.52 (1H, dd,  $J$  4.8 and 9.1, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.35-4.31 (2H, m, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.22-4.12 (3H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> -OEt), 2.20 (1H, dh,  $J$  4.8 and 6.9, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.49 (3H, d,  $J$  7.0, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>), 1.41 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.23 (3H, t,  $J$  7.2, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.93 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.87 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 173.6 (C=O Ala<sub>1</sub>), 173.3 (C=O Val<sub>3</sub>), 171.8 (C=O Ala<sub>2</sub>), 156.4 (C=O Fmoc), 144.0, 141.4 (C<sub>ar</sub>), 127.9, 127.2, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.4 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 62.1 (CH<sub>2</sub> -OEt), 57.7 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 54.5 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 47.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH Fmoc), 30.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 19.2, 17.8 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 17.6 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> -OEt), 13.7 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3302, 2965, 1739, 1708, 1670, 1618, 1540, 1251, 740. LRMS (DCI)  $m/z$ : 542.8 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. Anal.: found, C64.2; H6.7; N8.0. C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> requires C64.0; H6.7; N8.0%.



**(S,R,S)-H-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (10)**

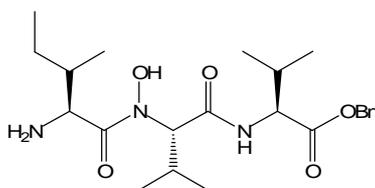
To a solution of **9** (123 mg, 0.234 mmol) in THF (5 mL) at room temperature was added piperidine (1 mL). The mixture was stirred for 3h. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 9:1 to 8:2) followed by crystallization from pentane gave **10** (70 mg, 0.231 mmol, 99%) as a white solid. Mp: 84°C.  $R_f$  0.17 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 8:2).  $[\alpha]_D^{25} +49.0$  ( $c$  1.00 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.50 (1H, d,  $J$  8.6, NH Val<sub>3</sub>), 5.50-4.50 (3H, br+q (5.07),  $J$  7.0, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.50 (1H, dd,  $J$  8.6, 6.5, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.27-4.09 (3H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>2</sub> -OEt), 2.36-2.19 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.38 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Ala), 1.31 (3H, d,  $J$  7.0, CH<sub>3</sub> Ala), 1.29 (3H, t,  $J$  7.2, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.97 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.96 (3H, d,

*J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 176.6, 173.3, 170.8 (C=O), 61.4 (CH<sub>2</sub> -OEt), 58.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>2</sub>), 55.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 47.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>), 30.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 21.2 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 19.4, 18.4 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> -OEt), 13.5 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3363, 3264, 2984, 1743, 1682, 1636, 1579, 1151. LRMS (DCI) *m/z*: 303.7 (M)<sup>+</sup>, 304.9 (M+H)<sup>+</sup>. Anal.: found, C51.5; H8.0; N13.4. C<sub>13</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> requires C51.5; H8.3; N13.8%.



**(*S,S,S*)-Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OH (11)**

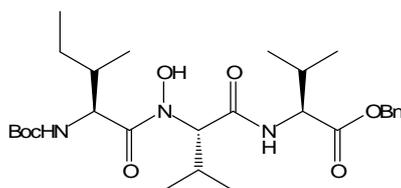
Palladium on activated carbon (50 mg, 10% w/w) was added to **6c** (200 mg, 304  $\mu$ mol) in 6 ml ethanol. Hydrogen was then bubbled through this solution for 1 hour. The suspension was then filtrated and the solvent was evaporated. Flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5) gave **11** (80 mg, 141  $\mu$ mol, 46% yield) as a white solid.  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.77 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.62 (2H, d, *J* 6.9, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.32 (4H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 6.09 (1H, d, *J* 9.3, NH Ile<sub>1</sub>), 4.84 (1H, dt, *J* 6.5 and 9.6, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 4.69 (1H, d, *J* 10.3, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 4.41 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 4.23 (3H, dt, *J* 5.8 and 6.9, CH/CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.39 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.21 (1H, dd, *J* 12.3 and 6.5, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.86 (1H, m, CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.51 (1H, m, CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 0.95 (18H, m, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, Val<sub>2</sub>, Val<sub>3</sub>).



**(*S,S,S*)-H-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (12)**

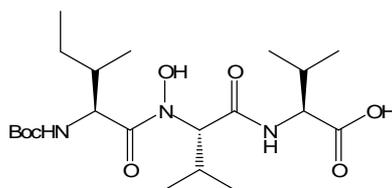
To a solution of **6c** (203 mg, 309  $\mu$ mol) in THF (7 mL) at room temperature was added piperidine (1.5 mL). The mixture was stirred for 3h. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 1:1, EtOAc, then CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 90:10) gave **12** (113 mg, 0.26 mmol, 84%) as a pale yellow solid. Mp: 116°C. *R<sub>f</sub>* 0.10 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$  -11.7° (*c* 1.00 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.83 (1H, d, *J* 8.9, NH Val<sub>3</sub>), 7.40-7.30 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.16 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  34.1, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.90 (1H, d, *J* 10.5, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 4.60 (1H, dd, *J* 5.3 and 8.9, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 3.87 (1H, d, *J* 6.3, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 2.50-2.35 (1H, m, CH<sub>iPr</sub>

Val<sub>2</sub>), 2.25-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.75-1.60 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.60-1.45 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.20-1.05 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 0.98 (3H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.97 (3H, d, *J* 6.6, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.90 (3H, d, *J* 7.0, CH<sub>3</sub>), 0.88 (3H, d, *J* 7.4, CH<sub>3</sub>), 0.84-0.78 (6H, m, CH<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 175.0, 172.7, 171.4 (C=O), 135.4 (C<sub>ar</sub>), 128.7 (CH<sub>ar</sub>), 67.2 (CH<sub>2</sub> -OBn), 64.6 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 57.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 56.0 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 38.1 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 27.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 24.2 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.8, 19.2, 17.8, 16.0, 11.4 (CH<sub>3</sub>). IR: 3289, 3192, 2953, 1738, 1667, 1615, 1563, 1182, 704. LRMS (DCI) *m/z*: 436.1 (M+H)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 436.2811; C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> requires 436.2811.



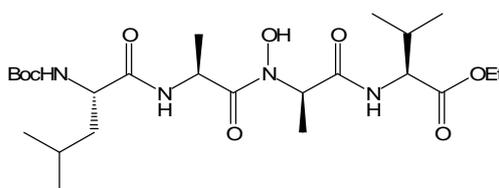
**(*S,S,S*)-Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**13**)**

A solution of **12** (102 mg, 234  $\mu$ mol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) was cooled to 0°C. Di-tert-butyl dicarbonate (66 mg, 293  $\mu$ mol) and triethylamine (38.0  $\mu$ L, 270  $\mu$ mol) were added. The solution was stirred for 30 min at 0°C and for 1h at room temperature. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 then 1:1) gave **13** (113 mg, 211  $\mu$ mol, 90%) as a white solid. Mp: 169°C. *R<sub>f</sub>* 0.52 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$  -25.0° (*c* 1.14 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.59 (1H, s, NOH), 8.07 (1H, d, *J* 9.1, NH Val<sub>3</sub>), 7.40-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.75 (1H, d, *J* 9.7, NH Ile<sub>1</sub>), 5.16 (2H, ABq, *J* 12.1,  $\delta_A$ - $\delta_B$  33.5, CH<sub>2</sub> -OBn), 5.11 (1H, d, *J* 10.4, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 4.80 (1H, dd, *J* 8.7 and 9.7, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 4.65 (1H, dd, *J* 5.1 and 9.1, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 2.50-2.30 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.25-2.05 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.85-1.65 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.60-1.45 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.42 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.20-1.05 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 0.96 (6H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.87 (3H, d, *J* 7.8, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>), 0.85 (3H, d, *J* 7.3, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.81 (3H, t, *J* 7.6, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>), 0.76 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.7 (C=O Val 2), 172.1 (C=O Ile 1), 171.6 (C=O Val 3), 156.5 (C=O Boc), 135.4 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7 (2 peaks) (CH<sub>ar</sub>), 79.4 (C<sub>q</sub> Boc), 67.3 (CH<sub>2</sub> -OBn), 63.3 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 56.8 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 54.4 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 36.9 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.7 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.7 (2 peaks) (CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 19.1, 17.7 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 15.4, 11.2 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3388, 3303, 2964, 1748, 1716, 1626, 1522, 1178, 752. LRMS (DCI +) *m/z*: 536.8 (M+H)<sup>+</sup>, 553.0 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 558.3163; C<sub>28</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>Na<sup>+</sup> requires 558.3155.



**(S,S,S)-Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OH (14)**

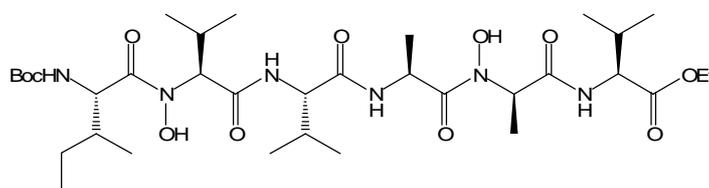
Palladium on activated carbon (55 mg, 10% w/w) was added to **13** (60 mg, 112 μmol) in ethanol (5 ml). Hydrogen was bubbled through this solution for 1 hour. The suspension was then filtrated and the solvent was evaporated. Flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 90:10) gave **11** (50 mg, 112 μmol, 99% yield) as orange oil.  $R_f$  0.23 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 90:10).  $[\alpha]_D^{25}$  -52.4° (*c* 1.04 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.53 (1H, d, *J* 5.6, NH Val<sub>3</sub>), 5.38 (1H, d, *J* 10.4, NH Ile<sub>1</sub>), 4.92 (1H, d, *J* 9.2, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 4.75 (1H, dd, *J* 8.5 and 8.5, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 4.67-4.51 (1H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 2.55-2.32 (5H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.31-2.13 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.90-1.74 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.63-1.37 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.42 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.20-0.80 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3iPr</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 180.7 (COOH Val<sub>3</sub>), 172.0 (C=O Ile<sub>1</sub>, C=O Val<sub>2</sub>), 156.6 (C=O Boc), 80.2 (C<sub>q</sub> Boc), 64.3 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.1 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 54.5 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 36.8 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.7 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.5 (CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 19.1, 17.8 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 15.7, 11.3 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3298, 2966, 2933, 2877, 1720, 1662, 1630, 1526, 1467, 1392, 1368, 1172. LRMS (DCI +) *m/z*: 445.7 (M)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 468.2684; C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>Na requires 468.2686.



**Boc-Leu<sub>1</sub>-Ala<sub>2</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-D-Ala<sub>3</sub>-Val<sub>4</sub>-OEt (15)**

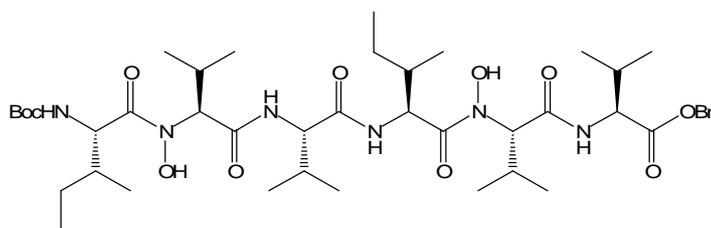
To a mixture of **10** (27 mg, 90 μmol), Boc-Leu-OH (24 mg, 94 μmol) and HOBt (12 mg, 108 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) at room temperature, was added EDCI (21 mg, 94 μmol). The mixture was stirred overnight at room temperature. The solution was washed with brine and the organic layer dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **15** (37 mg, 71 μmol, 78% yield) as a white solid.  $R_f$  0.21 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$  +5.7° (*c* 0.86 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.6 (1H, s, NOH), 7.35-7.22 (1H, m, NH Ala<sub>2</sub>), 7.10-6.95 (1H, m, NH Val<sub>4</sub>), 5.40 -5.25 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>3</sub>), 5.15-4.95 (2H, m, NH Leu<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.41 (1H, dd, *J* 5.4 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>4</sub>), 4.30-4.20 (1H, m, CH<sub>α</sub> Leu<sub>1</sub>), 4.20-4.05 (2H, m, CH<sub>2</sub> -OEt), 2.20-2.06 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>4</sub>), 1.65-1.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>

Leu<sub>1</sub>), 1.43 (3H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Ala<sub>3</sub>), 1.38 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.29 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>), 1.23-1.15 (4H, m, CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.89 (3H, d, *J* 6.1, CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 0.86 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 0.82 (6H, d, *J* 5.8, CH<sub>3</sub> Leu<sub>1</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.7, 172.4 (C=O), 155.8 (C=O Boc), 80.0 (C<sub>q</sub> Boc), 61.8 (CH<sub>2</sub> -OEt), 57.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>4</sub>), 54.0 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>3</sub>), 53.0 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Leu<sub>1</sub>), 45.9 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>2</sub>), 42.4 (CH<sub>2</sub> Leu<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>4</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub> Boc), 24.8 (CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>1</sub>), 23.0 (CH<sub>3</sub> Leu<sub>1</sub>), 22.4 (CH<sub>3</sub> Leu<sub>1</sub>), 19.2 (CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 18.2 (CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 17.9 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>), 14.7 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> -OEt). IR: 3310, 2964, 2929, 1736, 1670, 1630, 1528, 1170, 1025. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 539.3046; C<sub>24</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Na requires 539.3057.



**Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Ala<sub>4</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-D-Ala<sub>5</sub>-Val<sub>6</sub>-OEt (16)**

The title compound was prepared as described for **15** using **10** (27.3 mg, 90  $\mu$ mol) and **14** (42 mg, 90  $\mu$ mol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **16** (49 mg, 67  $\mu$ mol, 71% yield) as a yellow oil. *R<sub>f</sub>* 0.31 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $\delta_H$  (300 MHz; 0.45 mL CDCl<sub>3</sub> + 0.1 mL MeOD) 7.80-7.65 (2H, m, NH Ala<sub>4</sub>, NH Val<sub>3</sub> or <sub>6</sub>), 7.45-7.30 (1H, m, NH Val<sub>3</sub> or <sub>6</sub>), 5.70-5.60 (1H, m, NH Ile<sub>1</sub>), 5.10-4.90 (2H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>5</sub>, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>4</sub>), 4.75-4.65 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>3</sub>), 4.62-4.57 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 4.42-4.32 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub> or <sub>6</sub>), 4.25-4.10 (3H, m, CH<sub>2</sub> -OEt, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub> or <sub>6</sub>), 2.47-2.30 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.26-2.12 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub> or <sub>6</sub>), 2.12-1.98 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub> or <sub>6</sub>), 1.85-1.72 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.48-1.40 (13H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Boc, CH<sub>3</sub> Ala<sub>5</sub>), 1.36 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 1.29 (3H, d, *J* 7.2, CH<sub>3</sub> -OEt), 1.18-1.03 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 0.99-0.80 (24H, m, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>6</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; 0.45 mL CDCl<sub>3</sub> + 0.1 mL MeOD) 175.5, 174.7, 174.1, 173.5, 172.6 (C=O), 158.4 (C=O Boc), 81.7 (C<sub>q</sub> Boc), 66.6 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 63.1 (CH<sub>2</sub> -OEt), 60.0, 59.5, 56.9 (CH <sub>$\alpha$</sub> ), 47.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 40.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>4</sub>), 38.7 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 32.7, 32.3 (CH<sub>iPr</sub>), 29.8 (CH<sub>3</sub> Boc), 29.1 (CH<sub>iPr</sub>), 26.0 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.9, 20.7, 20.6, 20.5, 19.7, 19.5, 17.1, 15.7, 12.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3300, 2967, 2936, 2876, 2463, 2417, 1654, 1635, 1525, 1453, 1392, 1368, 1301, 1172. LRMS (DCI) *m/z*: 748.8 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>.



### Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Ile<sub>4</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>5</sub>-Val<sub>6</sub>-OBn (17)

The title compound was prepared as described for **15** using **12** (44.7 mg, 102.6 μmol) and **14** (35.4 mg, 79.5 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 95:5) gave **16** (55.7 mg, 64.5 μmol, 81% yield) as a yellow oil.  $R_f$  0.44 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +15.6^\circ$  ( $c$  2.4 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 9.0-8.1 (4H, br, NH Ile<sub>1</sub>, NH Val<sub>3</sub>, NH Ile<sub>4</sub>, NH Val<sub>6</sub>), 7.45-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.50-5.00 (5H, m, CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub> or 4, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub> or 5, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub> or 6), 5.00-4.75 (2H, br, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub> or 4, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub> or 5), 4.75-4.50 (1H, br, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub> or 6), 2.60-2.31 (2H, br, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub> and 5), 2.30-2.08 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub> and 6), 2.00-1.69 (2H, br, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub> and 4), 1.40 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.69-1.00 (3H, m, CHH Ile, CH<sub>2</sub> Ile<sub>4</sub>), 1.00-0.55 (37H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub> and 4, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub> and 5, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub> and 6).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.1-171.5 (br, C=O), 156.6 (C=O Boc), 135.5 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7, 128.6 (CH<sub>ar</sub>), 78.8 (C<sub>q</sub> Boc), 67.4 (CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub> and 5), 64.0-62.0 (br), 56.9, 54.3, 52.4 (CH), 37.8, 37.5 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub> and 4), 32.1, 30.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub> and 6), 29.9 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub> or 4), 28.6 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub> and 5), 25.1 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub> or 4), 19.3, 19.0, 18.1, 17.9, 17.4, 15.9, 15.2, 14.3, 12.1, 11.3 (CH<sub>3</sub>). IR: 3288, 3091, 2964, 2933, 2876, 1719, 1623, 1544, 1464, 1390, 1175, 697, 652. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 885.5306; C<sub>44</sub>H<sub>74</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>Na requires 885.5313.

### h) Synthesis of *O*-acylated-*N*-hydroxy-peptides 18, 19, 29 and 30

#### Typical procedure for method A:

To a solution of tripeptide (70 μmol) in pyridine (4 mL) at room temperature was added the anhydride (140 to 210 μmol). The reaction was monitored by TLC. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel) allowed isolation of pure *O*-acylated-*N*-hydroxy-peptide.

#### Typical procedure for method B:

To a solution of tripeptide (70 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) at room temperature were added DIEA (diisopropylethylamine; 77 μmol) and the acyl chloride (77 μmol). The mixture was stirred overnight. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel) allowed isolation of pure *O*-acylated-*N*-hydroxy-peptide.

**Typical procedure for method C:**

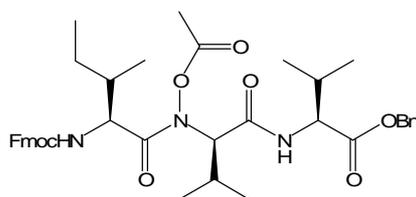
To a solution of acid (200  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.5 mL) at room temperature was added DCC (400  $\mu\text{mol}$ ). The mixture was stirred for 2h and the resulting suspension was directly filtered onto the tripeptide (50  $\mu\text{mol}$ ). The solvent was evaporated, the residue taken up in pyridine (1.5 mL) and the mixture stirred overnight. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel) allowed isolation of pure *O*-acylated-*N*-hydroxy-peptide.

**Typical procedure for method D:**

To a solution of tripeptide (50  $\mu\text{mol}$ ) and acid (55  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL) at room temperature was added BOP (55  $\mu\text{mol}$ ), then DIEA (110  $\mu\text{mol}$ ). The reaction was monitored by TLC. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel) allowed isolation of pure *O*-acylated-*N*-hydroxy-peptide.

**Typical procedure for method L:**

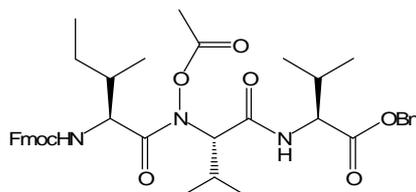
To a solution of tripeptide (50  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (2 mL) at room temperature was added the acid (55  $\mu\text{mol}$ ), then HATU (55  $\mu\text{mol}$ ) and DIEA (160  $\mu\text{mol}$ ). The mixture was stirred for 5h, then taken up in  $\text{Et}_2\text{O}$  and washed several times with a 5% aqueous solution of LiCl. The organic layer was dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel) allowed isolation of pure *O*-acylated-*N*-hydroxy-peptide.



**Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OAc)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (18a)**

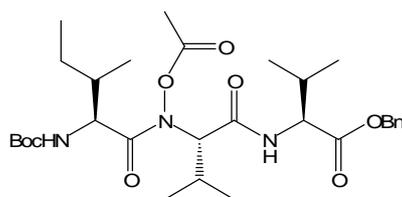
The title compound was prepared from **6d** and acetic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; colourless oil, 86% yield.  $R_f$  0.65 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +15.6^\circ$  ( $c$  2.40 in  $\text{CHCl}_3$ ).  $\delta_H$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 7.74 (2H, d,  $J$  7.4,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.55 (2H, dd,  $J$  7.4 and 7.7,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.40-7.15 (10H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ , NH Val<sub>3</sub>), 5.40 (1H, d,  $J$  9.9, NH Ile<sub>1</sub>), 5.05 (2H, br s,  $\text{CH}_2$  -OBn), 4.50 (1H, dd,  $J$  4.7 and 8.3,  $\text{CH}_\alpha$  Val<sub>3</sub>), 4.44-4.11 (5H, m,  $\text{CH}_\alpha$  Ile<sub>1</sub>,  $\text{CH}_\alpha$  Val<sub>2</sub>, CH Fmoc,  $\text{CH}_2$  Fmoc), 2.50-2.35 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>2</sub>), 2.25-2.06 (4H, m+s (2.20),  $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>3</sub>,  $\text{CH}_3$  Ac), 1.90-1.70 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{sBu}}$  Ile<sub>1</sub>), 1.57-1.41 (1H, m,  $\text{CHH}$  Ile<sub>1</sub>), 1.16-0.76 (19H, m,  $\text{CHH}$  Ile<sub>1</sub>,  $\text{CH}_3$  Ile<sub>1</sub>,  $\text{CH}_3$  Val<sub>2</sub>,  $\text{CH}_3$  Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 172.9, 171.5 (C=O Ile<sub>1</sub>, C=O Val<sub>2</sub>), 168.8 (C=O Ac), 168.1 (C=O Val<sub>3</sub>), 156.3 (C=O Fmoc), 144.2, 143.9, 141.5, 141.4 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  Fmoc), 135.6 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  -OBn), 128.6, 128.4, 127.8, 127.2, 125.3, 120.1 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 67.2, 67.0 ( $\text{CH}_2$  Fmoc,  $\text{CH}_\alpha$  Val<sub>2</sub>,  $\text{CH}_2$  -OBn), 57.5

(CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 37.9 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 26.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.1 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.8, 19.4, 19.2 (CH<sub>3</sub>), 18.3 (CH<sub>3</sub> Ac), 17.7, 15.9 (CH<sub>3</sub>), 11.4 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3339, 2966, 1807, 1721, 1661, 1531, 1148, 741. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 700.3591; C<sub>40</sub>H<sub>50</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> requires 700.3598.



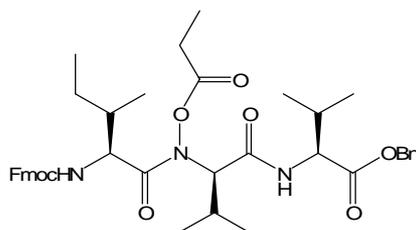
**Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OAc)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (18b)**

The title compound was prepared from **6c** and acetic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 99:1 then 95:5; colourless oil, 94% yield. *R<sub>f</sub>* 0.61 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -41.9° (*c* 1.12 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.56 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.20 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.35 (1H, d, *J* 9.9, NH Ile<sub>1</sub>), 5.11 (2H, ABq, *J* 12.2, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 26.2, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.55 (1H, dd, *J* 7.7, 4.2, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.45-4.10 (5H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.65-2.50 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.32-2.11 (4H, m+s (2.23), CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Ac), 1.95-1.80 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.60-1.45 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.20-0.70 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.5 (C=O Ile<sub>1</sub>), 171.8 (C=O Val<sub>3</sub>), 169.2, 168.0 (C=O), 156.3 (C=O Fmoc), 144.0, 143.9, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7, 128.5, 127.9, 127.3, 125.2, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.2, 67.1 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.4 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 36.8 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.0 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.0, 19.5, 19.0 (CH<sub>3</sub> Val), 18.6 (CH<sub>3</sub> Ac), 17.8 (CH<sub>3</sub> Val), 16.1, 11.3 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3338, 2966, 1805, 1722, 1652, 1524, 1148, 758. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 722.3417; C<sub>40</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 722.3417.



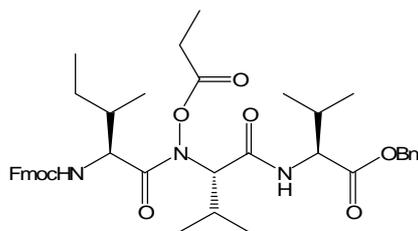
**Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OAc)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (18c)**

The title compound was prepared from **13** and acetic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 98:2; colourless oil, 99% yield. *R<sub>f</sub>* 0.64 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} -76.3^\circ$  (*c* 1.60 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.55-7.24 (6H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.16 (2H, ABq, *J* 12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  26.2, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.96 (1H, d, *J* 9.3, NH Ile<sub>1</sub>), 4.54 (1H, dd, *J* 4.2 and 7.8, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.25 (1H, dd, *J* 8.7 and 9.3, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 4.18-3.97 (1H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 2.67-2.46 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.38-2.11 (4H, m+s (2.26), CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Ac), 2.00-1.73 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.67-1.34 (10H, m+s (1.41), CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Boc), 1.26-0.77 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.7 (C=O Ile<sub>1</sub>), 172.0 (C=O Val<sub>3</sub>), 169.6 (C=O Ac), 168.1 (C=O Val<sub>2</sub>), 155.7 (C=O Boc), 135.9 (C<sub>ar</sub>-OBn), 128.9, 128.7 (CH<sub>ar</sub>), 80.1 (C<sub>q</sub> Boc), 67.2 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-OBn), 57.7 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.0 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 36.9 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.2 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.6 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.2 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.4, 19.6, 19.2 (CH<sub>3</sub> Val), 18.8 (CH<sub>3</sub> Ac), 18.0 (CH<sub>3</sub> Val), 16.3, 11.5 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3341, 2967, 1806, 1716, 1656, 1518, 1367, 1175, 752, 698. LRMS (DCI +) *m/z*: 595.7 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 600.3264; C<sub>30</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 600.3261.



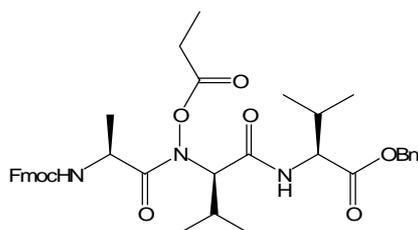
### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**19a**)

The title compound was prepared from **6d** and propionic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; colourless oil, 99% yield. *R<sub>f</sub>* 0.67 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +24.4^\circ$  (*c* 0.6 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.58-7.50 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.40-7.20 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.40 (1H, d, *J* 9.6, NH Ile<sub>1</sub>), 5.06 (2H, br s, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.50 (1H, dd, *J* 4.9 and 8.5, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.44-4.09 (5H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.54-2.39 (3H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.19-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.81-1.63 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.54-1.40 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.21 (3H, t, *J* 7.5, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.15-0.80 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.0, 172.3, 171.5, 168.1 (C=O), 156.3 (C=O Fmoc), 144.2, 143.9, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub>-OBn), 129.0, 128.6, 128.4, 127.9, 127.3, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.1, 67.0 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 38.0 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 26.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 25.3 (-COCH<sub>2</sub>-), 24.2 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.8, 19.4, 19.2, 17.8, 15.8 (CH<sub>3</sub>), 11.4 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>), 8.8 (-COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR: 3339, 2964, 1805, 1721, 1661, 1528, 1239, 741. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 714.3746; C<sub>41</sub>H<sub>52</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> requires 714.3754.



### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (19b)

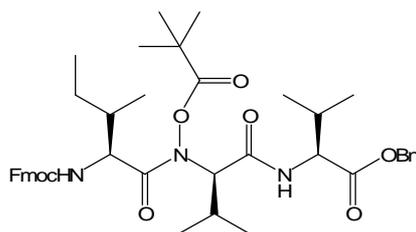
The title compound was prepared from **6c** and propionic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5; colourless oil, 97% yield.  $R_f$  0.65 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$   $-36.5^\circ$  ( $c$  1.73 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d,  $J$  7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.56 (2H, d,  $J$  7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.44-7.20 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.36 (1H, d,  $J$  10.1, NH Ile<sub>1</sub>), 5.10 (2H, ABq,  $J$  12.3,  $\delta_A$ - $\delta_B$  23.9, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.54 (1H, dd,  $J$  4.5 and 8.1, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.45-4.05 (5H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.63-2.45 (3H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.25-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.90-1.80 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.60-1.45 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.23 (3H, t,  $J$  7.2, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.20-0.70 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.7 (2 peaks), 171.8, 168.0 (C=O), 156.3 (C=O Fmoc), 144.0, 143.9, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub> -OBn), 129.3, 128.7, 128.5, 127.9, 127.2, 125.2, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.2 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 67.0 (2 peaks) (CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 36.8 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 25.4 (-COCH<sub>2</sub>-), 23.9 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.0, 19.5, 19.0, 17.8 (CH<sub>3</sub> Val), 16.1 (CH<sub>3</sub>), 11.2 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>), 8.8 (-COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR: 3338, 2964, 1800, 1723, 1654, 1525, 1236, 741. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 736.3566; C<sub>41</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 736.3574.



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (19c)

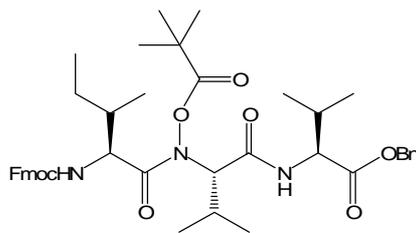
The title compound was prepared from **6b** and propionic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-acetone 99:1 to 90:10; colourless oil, 80% yield.  $R_f$  0.66 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$   $+26.8^\circ$  ( $c$  1.58 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (2H, d,  $J$  7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.57 (2H, dd,  $J$  7.3 and 7.3, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.40-7.22 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.21-7.12 (1H, br s, NH Val<sub>3</sub>), 5.70 (1H, d,  $J$  7.2, NH Ala<sub>1</sub>), 5.13 (2H, ABq,  $J$  12.3,  $\delta_A$ - $\delta_B$  11.4, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.52 (1H, dd,  $J$  4.9 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.50-4.27 (4H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.27-4.15 (1H, m, CH Fmoc), 2.60-2.40

(3H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.25-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.36 (3H, d, *J* 6.0, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.21 (3H, t, *J* 7.4, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.99 (6H, d, *J* 6.1, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.91 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.86 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.4, 172.3, 171.4, 167.9 (C=O), 155.5 (C=O Fmoc), 144.1, 143.9, 141.4 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.6, 128.4, 127.8, 127.2, 125.3, 125.2, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.2 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 67.1 (2 peaks) (CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.7 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 31.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 25.3 (-COCH<sub>2</sub>-), 19.7, 19.1, 19.0, 17.8 (CH<sub>3</sub>), 8.7 (-COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR: 3338, 2966, 1802, 1724, 1664, 1529, 1451, 1245, 1060, 740. LRMS (DCI) *m/z*: 689.1 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 672.3292; C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> requires 672.3285.



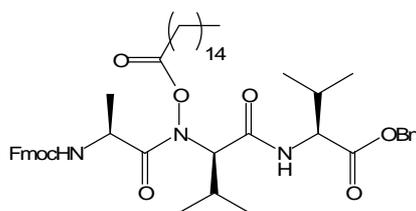
#### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO<sup>t</sup>Bu)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (19d)

The title compound was prepared from **6d** and trimethylacetic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 99.75:0.25 to 95:5; colourless oil, 87% yield. *R<sub>f</sub>* 0.71 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +31.3° (*c* 3.08 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.73 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.57 (1H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.51 (1H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.43-7.14 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.47 (1H, d, *J* 9.1, NH Ile<sub>1</sub>), 5.07 (2H, ABq, *J* 12.1, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 26.9, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.48 (1H, dd, *J* 4.7 and 7.7, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.43-4.03 (5H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.53-2.37 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.23-2.09 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.89-1.60 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.59-1.41 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.34 (9H, s, CH<sub>3</sub> <sup>t</sup>Bu), 1.16-0.70 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 175.7, 173.1, 171.4, 167.9 (C=O), 156.2 (C=O Fmoc), 144.2, 143.9, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.8 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.6, 128.4, 127.8, 127.2, 125.4, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.1, 66.9 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 38.6, 38.4 (C <sup>t</sup>Bu, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 31.6 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.2, 27.0 (CH<sub>3</sub> <sup>t</sup>Bu), 26.1 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 24.1 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.9, 19.4, 19.2, 17.8, 15.7 (CH<sub>3</sub>), 11.4 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3342, 2966, 1795, 1732, 1661, 1520, 1228, 740. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 742.4061; C<sub>43</sub>H<sub>56</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> requires 742.4067.



### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO<sup>t</sup>Bu)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (19e)

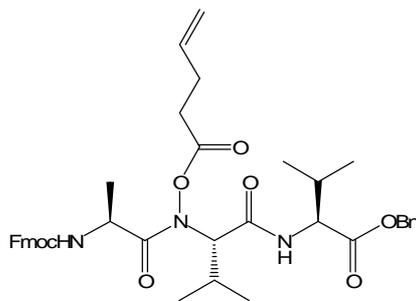
The title compound was prepared from **6c** and trimethylacetic anhydride using method A. Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; colourless oil, 15% yield.  $R_f$  0.66 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$   $-38.8^\circ$  ( $c$  2.46 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (2H, d,  $J$  7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.56 (2H, d,  $J$  6.8, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.15 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.42 (1H, d,  $J$  9.1, NH Ile<sub>1</sub>), 5.12 (2H, ABq,  $J$  11.9,  $\delta_A$ - $\delta_B$  21.9, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.69-4.46 (1H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.45-4.25 (3H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.24-4.00 (2H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH Fmoc), 2.55-2.40 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.25-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.90-1.70 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.64-1.48 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.36 (9H, s, CH<sub>3</sub> <sup>t</sup>Bu), 1.16-0.80 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 176.3, 172.6, 171.8, 167.5 (C=O), 156.2 (C=O Fmoc), 144.1, 143.9, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.8, 128.7, 128.6, 128.4, 127.9, 127.2, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.2, 67.0 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.3 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 38.6 (C <sup>t</sup>Bu), 37.1 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.6 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 27.0 (CH<sub>3</sub> <sup>t</sup>Bu), 23.7 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.2 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.4, 19.1, 19.0, 17.8 (CH<sub>3</sub> Val), 16.0, 11.2 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3345, 2964, 1793, 1724, 1691, 1651, 1524, 1236, 1065, 741. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 764.3894; C<sub>43</sub>H<sub>55</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 764.3887.



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CH<sub>3</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (19f)

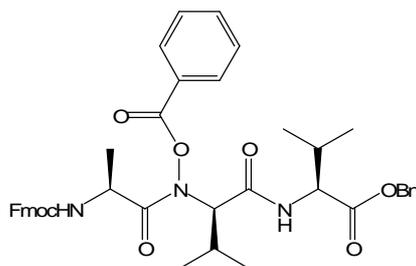
The title compound was prepared from **6b** and palmitoyl chloride using method C. Eluent for flash chromatography (using a mixture of silica gel and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10%)): pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; colourless oil, 90% yield.  $R_f$  0.71 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$   $+24.4^\circ$  ( $c$  1.64 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.68 (2H, d,  $J$  7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.51 (2H, dd,  $J$  7.4 and 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.37-7.18 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.14-7.00 (1H, m, NH Val<sub>3</sub>), 5.58 (1H, d,  $J$  7.2, NH Ala<sub>1</sub>), 5.06 (2H, ABq,  $J$  12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  12.6, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.44 (1H, dd,  $J$  4.9 and 8.5, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.41-4.19 (4H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>,

CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.18-4.06 (1H, m, CH Fmoc), 2.52-2.30 (3H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> α palmitoyl), 2.17-2.02 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.70-1.51 (2H, m, CH<sub>2</sub> β<sub>palmitoyl</sub>), 1.28 (3H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.24-1.13 (24H, m, CH<sub>2</sub> palmitoyl), 0.91 (6H, d, *J* 6.4, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.84 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.79 (3H, d, *J* 7.6, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.5, 171.7, 171.5, 167.9 (C=O), 155.5 (C=O Fmoc), 144.1, 144.0, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub>-OBn), 128.7, 128.5, 127.9, 127.3, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.2, 67.1 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-OBn), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.8 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 32.1 (CH<sub>2</sub> palmitoyl), 31.8 (CH<sub>2</sub> palmitoyl), 31.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 29.9, 29.8 (x3), 29.6, 29.5, 29.3, 29.2 (CH<sub>2</sub> palmitoyl), 26.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.5, 22.9 (CH<sub>2</sub> palmitoyl), 19.8, 19.3, 19.2, 19.0, 17.8 (CH<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> palmitoyl). IR: 3334, 2962, 1803, 1725, 1664, 1529, 1452, 1243, 1070, 740. LRMS (DCI) *m/z*: 871.6 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 876.5136; C<sub>51</sub>H<sub>71</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 876.5139.



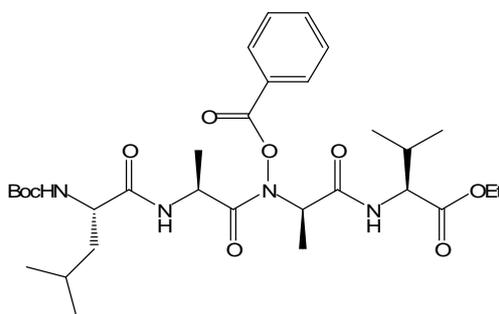
**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (19g)**

The title compound was prepared from **6b** and 4-pentenoic acid using method B. Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; colourless oil, 93%. *R<sub>f</sub>* 0.73 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +12.9° (*c* 1.87 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.58 (2H, dd, *J* 7.3 and 7.3, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.25 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.95-5.72 (1H, m, -CH=CH<sub>2</sub>), 5.69 (1H, d, *J* 7.7, NH Ala<sub>1</sub>), 5.20-4.95 (4H, m, CH<sub>2</sub>-OBn, -CH=CH<sub>2</sub>), 4.51 (1H, dd, *J* 5.0 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.49-4.25 (4H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.24-4.16 (1H, m, CH Fmoc), 2.65-2.35 (5H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 2.25-2.00 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.34 (3H, d, *J* 6.1, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 0.98 (6H, d, *J* 6.4, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.91 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.86 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.5 (C=O Ala<sub>1</sub>), 171.4 (C=O Val<sub>3</sub>), 171.1 (C=O), 168.0 (C=O Val<sub>2</sub>), 155.6 (C=O Fmoc), 144.3, 144.1, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (-CH=CH<sub>2</sub>, C<sub>ar</sub>-OBn), 128.7, 128.5, 127.9, 127.2, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 116.7 (-CH=CH<sub>2</sub>), 67.2 (2 peaks) (CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.8 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 31.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 31.1 (-COCH<sub>2</sub>-), 28.3 (-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 27.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.7, 19.5, 19.2, 19.0, 17.8 (CH<sub>3</sub>). IR: 3336, 2965, 1801, 1734, 1669, 1522, 1451, 1245, 1074, 741. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 720.3255; C<sub>40</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 720.3261.



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCOPh)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (19h)

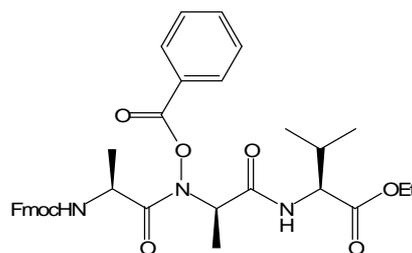
The title compound was prepared from **6b** and benzoic acid using method B (93% yield) or benzoic chloride using method C (83% yield). Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; colourless oil.  $R_f$  0.76 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +26.9^\circ$  ( $c$  1.06 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.12-8.00 (3H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.77-7.25 (16H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.75 (1H, d,  $J$  7.8, NH Ala<sub>1</sub>), 5.15 (2H, ABq,  $J$  12.6,  $\delta_A$ - $\delta_B$  10.1, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.63-4.45 (2H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.39-4.26 (3H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.21-4.11 (1H, m, CH Fmoc), 2.70-2.55 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.15 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.37 (3H, d,  $J$  6.4, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.08 (3H, d,  $J$  6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 1.02 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.94 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.90 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 171.6 (C=O Ala<sub>1</sub>), 171.0 (C=O Val<sub>3</sub>), 168.0 (C=O Val<sub>2</sub>), 164.9 (COPh), 155.6 (C=O Fmoc), 144.1, 143.9, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub> Ph), 135.0 (C<sub>ar</sub>-OBn), 133.7, 130.5, 129.7, 129.1, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 127.9, 127.2, 126.2, 125.4, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.3, 67.1 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 48.0 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 31.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.2 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.9, 19.5 (CH<sub>3</sub>), 19.2 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 18.9, 17.8 (CH<sub>3</sub>). IR: 3334, 2965, 1773, 1718, 1666, 1539, 1451, 1236, 1006, 705. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 742.3105; C<sub>42</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 742.3104.



### Boc-Leu<sub>1</sub>-Ala<sub>2</sub>-Ψ[CO-N(OCOPh)]-D-Ala<sub>3</sub>-Val<sub>4</sub>-OEt (19i)

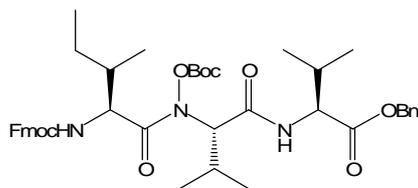
The title compound was prepared from **35c** (35 mg, 68 μmol) and benzoic acid using method B. Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; yellowish oil (42 mg, 67 μmol, 99%).  $R_f$  0.32 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +4.8^\circ$  ( $c$  1.15 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.13 (2H, d,  $J$  7.6,

CH<sub>ar</sub>), 7.75-7.65 (2H, m, NH Val<sub>4</sub>, CH<sub>ar</sub>), 7.52 (2H, dd, *J* 7.7 and 7.7, CH<sub>ar</sub>), 6.71 (1H, d, *J* 6.8, NH Ala<sub>2</sub>), 4.95-4.76 (2H, m, NH Leu<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>3</sub>), 4.69 (1H, dq, *J* 6.8 and 6.8, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.49 (1H, dd, *J* 5.1 and 8.5, CH<sub>α</sub> Val<sub>4</sub>), 4.27-4.02 (3H, m, CH<sub>α</sub> Leu<sub>1</sub>, CH<sub>2</sub> -OEt), 2.34-2.18 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>4</sub>), 1.75-1.20 (21H, m, CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>1</sub>, CH<sub>2</sub> Leu<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub> (1.51, d, *J* 6.8), CH<sub>3</sub> Boc (1.42, s), CH<sub>3</sub> Ala<sub>3</sub> (1.38, d, *J* 6.8), CH<sub>3</sub> -OEt), 0.98 (3H, d, *J* 6.4, CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 0.96 (3H, d, *J* 6.0, CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 0.92 (6H, d, *J* 6.2, CH<sub>3</sub> Leu<sub>1</sub>). δ<sub>C</sub> (75MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.7 (C=O Ala<sub>2</sub>), 172.2 (C=O Ala<sub>3</sub>), 171.7, 169.3 (C=O Leu<sub>1</sub>, C=O Val<sub>4</sub>), 165.6 (COPh), 155.7 (C=O Boc), 135.2 (C<sub>ar</sub>), 130.6, 129.2, 125.8 (CH<sub>ar</sub>), 80.1 (C<sub>q</sub> Boc), 61.1 (CH<sub>2</sub> -OEt), 59.4 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>3</sub>), 57.9 (CH<sub>α</sub> Val<sub>4</sub>), 53.0 (CH<sub>α</sub> Leu<sub>1</sub>), 46.3 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 41.6 (CH<sub>2</sub> Leu<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>4</sub>), 28.4 (CH<sub>3</sub> Boc), 24.8 (CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>1</sub>), 23.2 (CH<sub>3</sub> Leu<sub>1</sub>), 22.0 (CH<sub>3</sub> Leu<sub>1</sub>), 19.2 (CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 18.0 (CH<sub>3</sub> Val<sub>4</sub>), 17.9 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> -OEt), 13.5 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3314, 2962, 2929, 1771, 1741, 1655, 1534, 1452, 1368, 1238, 1170, 1016 710. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 643.3315; C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>Na requires 643.3319



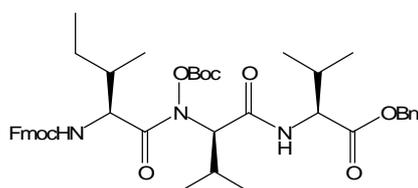
### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCOPh)]-D-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (19j)

The title compound was prepared from **9** and benzoic acid using method D. Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 3:1; pale yellow oil, 60% yield. *R*<sub>f</sub> 0.33 (pentane-EtOAc 3:1). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +24.75 (*c* 0.99 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.11 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.76 (2H, d, *J* 7.5, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.70-7.30 (10H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc, Ph, NH Val<sub>3</sub>), 5.63 (1H, d, *J* 7.5, NH Ala<sub>1</sub>), 4.95 (1H, q, *J* 7.4, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.65-4.45 (2H, m, CH<sub>β</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.40-4.00 (5H, m, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> -OEt), 2.35-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.52 (3H, d, *J* 7.2, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>), 1.42 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.35-1.10 (3H, m, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.97 (3H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.94 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 171.8, 169.3 (C=O), 165.6 (C=O Ph), 155.7 (C=O Fmoc), 144.0, 143.9, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.2 (C<sub>ar</sub> Ph), 130.6, 129.2, 127.9, 127.2, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.3 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 61.2 (CH<sub>2</sub> -OEt), 59.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 57.8 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.8 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.2 (CH Fmoc), 31.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 19.2 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 18.2 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 17.9 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> -OEt), 13.4 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3350, 2957, 2928, 1765, 1683, 1534, 1447, 1232, 1009, 703. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 652.2635; C<sub>35</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 652.2635.



### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OBoc)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**20a**)

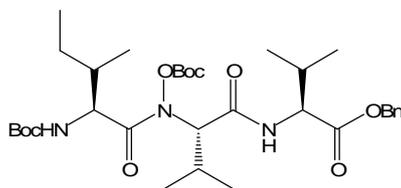
**6c** (30 mg, 46 μmol) and Boc<sub>2</sub>O (20 mg, 92 μmole) were dissolved in pyridine (1 mL). The mixture was stirred for 4 hours at room temperature. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 95:5) gave **20a** (29 mg, 38 μmol, 82% yield) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.83 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -4.44° (*c* 0.72 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.57 (2H, d, *J* 7.1, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.24 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.42 (1H, d, *J* 9.3, NH Ile<sub>1</sub>), 5.10 (2H, ABq, *J* 12.4, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 15.7, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.60-4.40 (2H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.40-4.25 (2H, m, CHH Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 4.25-4.05 (2H, m, CHH Fmoc, CH Fmoc), 2.65-2.47 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.25-2.09 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.95-1.80 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.71-1.37 (10H, m + s (1.50), CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Boc), 1.20-0.73 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 171.7, 167.9 (C=O), 156.2 (C=O Boc), 152.6 (C=O Fmoc), 144.1, 144.0, 141.5 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7, 128.5, 128.4, 127.9, 127.2, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 87.5 (C<sub>q</sub> Boc) 67.2, 66.9 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 56.0 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 37.2 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>3</sub> Boc, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 23.6 (CH<sub>2</sub>), 19.6, 19.0, 17.8 (CH<sub>3</sub> Val), 16.3, 11.5 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3355, 2965, 2925, 1795, 1726, 1694, 1658, 1524, 1244, 1141, 758, 741. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 780.3833; C<sub>43</sub>H<sub>55</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Na requires 780.3836.



### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OBoc)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**20b**)

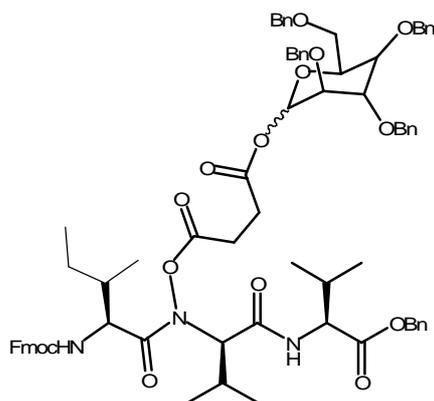
The title compound was prepared as described for **20a** using **6d** (49 mg, 74.5 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **20b** (45 mg, 64.3 μmol, 99.7% yield) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.72 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +24.0° (*c* 0.97 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.59-7.51 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.41-7.23 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.46 (1H, d, *J* 9.0, NH Ile<sub>1</sub>), 5.07 (2H, s, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.51-4.42 (2H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>,

CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.42-4.32 (2H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CHH Fmoc), 4.25-4.12 (2H, m, CHH Fmoc, CH Fmoc), 2.57-2.50 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.18-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.90-1.75 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.50 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.51-1.43 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.15-0.80 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.2, 171.4, 168.2 (C=O), 156.1 (C=O Fmoc), 152.2 (C=O Boc), 144.2, 144.0, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.6, 128.4, 127.8, 127.2, 125.4, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 87.7 (C<sub>q</sub> Boc), 67.1, 66.9 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.7 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 56.1 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 38.3 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>3</sub> Boc), 26.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 23.9 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.7, 19.3, 19.2, 17.9 (CH<sub>3</sub> Val), 16.0, 11.6 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3343, 2965, 2931, 1797, 1730, 1685, 1663, 1526, 1246, 1147, 1040, 759, 741. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 780.3831; C<sub>43</sub>H<sub>55</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Na requires 780.3836.



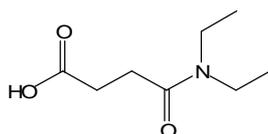
#### Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OBoc)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**20c**)

**12** (98 mg, 225 μmol) and NEt<sub>3</sub> (38 μL, 267 μmol) were dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) at room temperature. Boc<sub>2</sub>O (118 mg, 540 μmol) was slowly added to the mixture and the reaction was followed by TLC. The mixture was stirred for 4 hours at room temperature. The solvent was then evaporated and purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **20c** (110 mg, 173 μmol, 77% yield) as a colourless oil. δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.45-7.25 (6H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.15 (2H, ABq, *J* 12.3, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 16.7, CH<sub>2</sub> -OBn), 5.10-5.00 (1H, m, NH), 4.53 (1H, dd, *J* 4.7 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.50-4.35 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 4.25-4.10 (1H, br, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 2.65-2.45 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.90-1.75 (1H, br, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.54 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.50-1.35 (10H, m, CH<sub>3</sub> Boc, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.15-0.75 (19H, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.4, 171.7, 167.9 (C=O), 155.5, 152.7 (C=O Boc), 135.8 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7, 128.4 (CH<sub>ar</sub> -OBn), 87.2 (C<sub>q</sub> Boc-O-N), 79.6 (C<sub>q</sub> Boc-N), 66.9 (CH<sub>2</sub> -OBn), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.3 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 37.3 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 27.6 (CH<sub>3</sub> Boc), 23.7 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.1, 19.5, 19.0, 17.9 (CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 16.3, 11.5 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3347, 2966, 2934, 1796, 1718, 1692, 1658, 1518, 1392, 1369, 1245, 1166, 1147. LRMS (DCI) *m/z*: 653.9 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>.



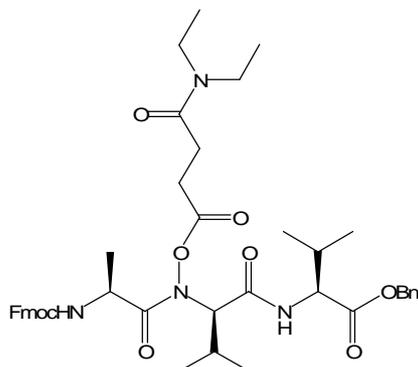
### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COMannose(OBn)<sub>4</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**24**)

The tripeptide **6d** (52 mg, 79.5 μmol) and succinic anhydride (89 mg, 886 μmol) were dissolved in pyridine (2 mL). The mixture was stirred overnight at room temperature. The solvent was then evaporated. The crude material was taken up with concentrated hydrochloric acid (5 ml) and CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml). The organic phase was extracted and dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated and evaporated. Oxalyle chloride (2 mL) was then directly poured onto the crude material. The reaction was left at room temperature for 1h30. The oxalyl chloride was then evaporated. 4 OBn (D) mannose (46 mg, 85.1 μmol), THF (1 mL) and pyridine (7 μL, 85.3 μmol) were added. The reaction was stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was then evaporated and purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **23** (15 mg, 11.9 μmol, 14% yield) as orange oil. *R<sub>f</sub>* 0.65 (pentane-AcOEt 1:1). LRMS (ESI) *m/z*: 1315.3 (M+Na)<sup>+</sup>.



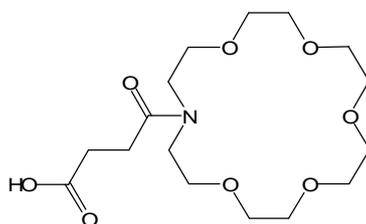
### *N,N*-diethylsuccinamic acid (**25**)

Succinic anhydride (200 mg, 2.0 mmol) and diethylamine (250 μL, 2.4 mmol) were dissolved in ether (40 mL). The mixture was stirred for 2h30 at room temperature. The solvent was then evaporated. Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 90:10) gave **24** (242 mg, 1.4 mmol, 70% yield) as a white solid. Mp: 78°C. δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 3.40 (2H, q, *J* 7.0, CH<sub>2</sub> -OEt), 3.34 (2H, d, *J* 7.3, CH<sub>2</sub> -NEt), 2.72-2.67 (4H, m, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-), 1.21 (3H, t, *J* 7.3, CH<sub>3</sub> -NEt), 1.13 (3H, t, *J* 7.0, CH<sub>3</sub> -NEt). LRMS (DCI<sup>+</sup>) *m/z*: 174.0 (M+H)<sup>+</sup>.



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CONEt<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (26)

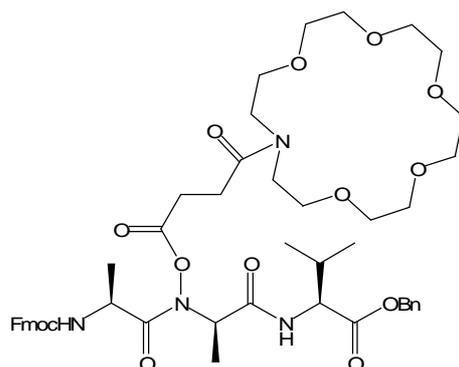
To a solution of *N,N*-diethyl-succinamic acid **24** (6 mg, 32 μmol), **6b** (15mg, 24 μmol) and BOP (6 mg, 12.9 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added DIEA (9 μL, 54 μmol). The solution was stirred overnight at room temperature. The solvent was evaporated. Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **23** (10 mg, 13.0 μmol, 54% yield) as a yellow oil.  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.65-7.56 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.43-7.25 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.67 (1H, d, *J* 5.3, NH Val<sub>3</sub>), 5.14 (2H, ABq, *J* 12.4,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  13.2, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.60-4.40 (2H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 4.40-4.15 (4H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 3.40-3.20 (4H, m, CH<sub>2</sub> -NEt), 2.80-2.63 (4H, m, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-), 2.63-2.48 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.25-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.37 (3H, d, *J* 6.3, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.15 (3H, t, *J* 7.0, CH<sub>3</sub> -NEt), 1.07 (3H, t, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> -NEt), 1.03-0.93 (6H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.90 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.85 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 176.2, 174.2, 171.9, 171.6, 166.8 (C=O), 155.6 (C=O Fmoc), 144.2, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub> -OBn), 129.5, 128.8, 128.7, 128.5, 127.9, 127.3, 125.4, 120.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.7, 67.3, 67.1 (CH Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 57.8 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 47.3 (CH Fmoc, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>, CH<sub>2</sub> -NEt), 29.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-), 19.7, 19.2 (2 peaks), 18.7, 17.9, 17.8 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> -NEt).



### 4-oxo-4-(1,4,7,10,13-pentaoxa-16-aza-cyclooctadec-16-yl)-butyric acid (27)

Succinic anhydride (32 mg, 320 μmol) and 1-aza-18-crown-6 (42 mg, 160 μmol) were dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL). Triethylamine (23 μL, 160 μmol) was added to the solution. The mixture was stirred for 4 hours at room temperature. The solvent was then evaporated. Purification by flash

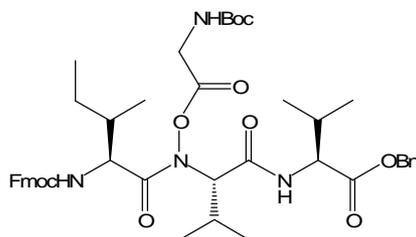
chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 95:5) gave **27** (47 mg, 128 μmol, 80% yield) as a yellow oil. *R<sub>f</sub>* 0.25 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 9:1). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 3.77-3.58 (24H, m, CH<sub>2</sub> aza-crown ether), 2.81-2.62 (4H, m, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 176.1, 173.1 (C=O), 71.2, 70.8, 70.7 (2 peaks), 70.5, 69.7, 69.5, 49.6, 47.4 (CH<sub>2</sub> aza-crown ether), 30.2, 28.3 (CH<sub>2</sub> -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-). IR: 3453, 2918, 2869, 1733, 1645, 1115.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO(18-aza-crown))-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (28)**

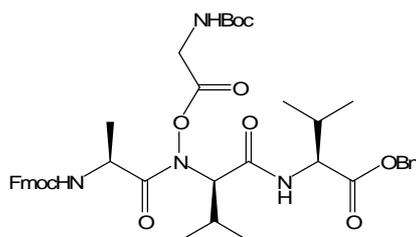
To a solution of **27** (23 mg, 63 μmol), **6b** (41 mg, 67 μmol) and BOP (32 mg, 73 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL), was added DIEA (24 μL, 140 μmol). The mixture was stirred overnight at room temperature. The solvent was evaporated. Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave 42 mg of the desired product **28**, but impure. A second purification by flash chromatography (Silica gel pre-impregnated with 2.5% w/w triethylamine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 95:5) gave **28** (25 mg, 25.8 μmol, 41% yield) as a yellow oil. *R<sub>f</sub>* 0.33 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +20.7° (*c* 0.81 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.65-7.55 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.23 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.80-5.65 (1H, m, NH Ala<sub>1</sub>), 5.13 (2H, ABq, *J* 12.3, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 13.9, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.65-4.45 (2H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.45-4.15 (4H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 3.75-3.50 (24H, m, CH<sub>2</sub> aza-crown ether), 2.92-2.67 (4H, m, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-), 2.65-2.46 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.27-2.11 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.36 (3H, d, *J* 5.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.10-0.95 (6H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.91 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.86 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.8, 171.8, 171.4, 170.9, 168.2 (C=O), 155.5 (C=O Fmoc), 144.2, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.7, 128.5, 128.4, 127.8, 127.2, 125.4, 120.1 (CH ar), 71.2, 70.9 (2 peaks), 70.8, 70.7, 70.5, 70.0, 69.6 (CH<sub>2</sub> aza-crown ether), 67.2, 67.0 (CH Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 49.1, 48.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 47.1 (CH<sub>2</sub> aza-crown ether), 31.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.4, 27.7 (CH<sub>2</sub> -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO-), 27.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.9, 19.4, 19.2, 18.7, 17.9 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>

Val<sub>3</sub>). IR: 3331, 2959, 2927, 2868, 1794, 1727, 1676, 1640, 1533, 1451, 1247, 1119, 759, 742. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 983.4626; C<sub>51</sub>H<sub>68</sub>N<sub>4</sub>O<sub>14</sub>Na requires 983.4630.



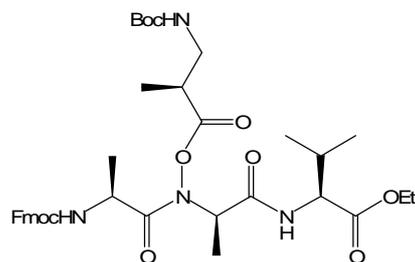
**Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-Gly-Boc)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (29a)**

The title compound was prepared from **6d** and Boc-Gly-OH using method B (85% yield). Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; white fluffy solid. Mp: 71-72°C. *R<sub>f</sub>* 0.50 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -42.5° (*c* 1.01 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.56 (2H, d, *J* 5.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.46-7.20 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.50-5.36 (1H, m, NH Ile<sub>1</sub>), 5.29-5.24 (1H, m, NH Gly), 5.10 (2H, ABq, *J* 11.9, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 24.7, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.60-3.90 (8H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> Gly, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.60-2.40 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.27-2.07 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.96-1.73 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.58-1.30 (10H, m+s (1.40), CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Boc), 1.17-0.75 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.6 (C=O), 171.9 (C=O Val<sub>3</sub>), 169.4, 168.0 (C=O), 156.4, 155.7 (C=O Fmoc, C=O Boc), 143.8, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.5 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.8, 128.7, 128.5 127.9, 127.2, 125.2 (2 peaks), 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 80.4 (C<sub>q</sub> Boc), 67.3, 67.1 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.4 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 55.6(CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 41.5 (CH<sub>2</sub> Gly), 36.3 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.4 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.1 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 19.8, 19.5, 19.0, 17.9 (CH<sub>3</sub> Val), 15.9, 11.1 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3341, 2966, 1801, 1718, 1653, 1521, 1244, 1155, 1086, 741. LRMS (DCI) *m/z*: 832.4 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 837.4057; C<sub>45</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Na requires 837.4051.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-Gly-Boc)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (29b)**

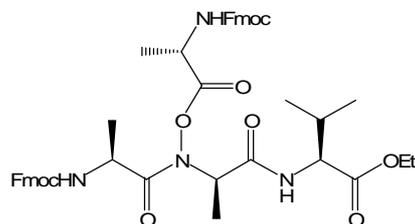
The title compound was prepared from **6b** and Boc-Gly-OH using method B (88% yield) or method D (74% yield). Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 9:1 to 1:1; white solid. Mp: 66°C.  $R_f$  0.35 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$  +21.0° (*c* 1.03 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.58 (2H, dd, *J* 6.1 and 6.1, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.42-7.18 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.15-7.00 (1H, m, NH Val<sub>3</sub>), 5.62 (1H, d, *J* 8.1, NH Ala<sub>1</sub>), 5.20-5.00 (3H, m, CH<sub>2</sub> -OBn, NH Gly), 4.50 (1H, dd, *J* 4.7 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.45-4.27 (4H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.26-4.15 (1H, m, CH Fmoc), 4.05 (2H, d, *J* 8.1, CH<sub>2</sub> Gly), 2.58-2.40 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.26-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.43 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.36 (3H, d, *J* 5.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 0.98 (6H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.90 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.86 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.6 (C=O), 171.4 (C=O Gly), 167.9 (C=O), 155.7, 155.6 (C=O Fmoc, C=O Boc), 144.0, 143.9, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.5 (C<sub>ar</sub> -OBn), 128.6, 128.5, 127.8, 127.2, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 80.5 (C<sub>q</sub> Boc), 67.2, 67.1, (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.9 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.2 (CH Fmoc), 41.4 (CH<sub>2</sub> Gly), 31.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.3 (CH<sub>3</sub> Boc), 28.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.7, 19.1, 18.5, 17.8 (CH<sub>3</sub>). IR: 3338, 2967, 1803, 1716, 1694, 1524, 1251, 740. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 773.3786; C<sub>42</sub>H<sub>53</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub> requires 773.3762.



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-βAla-Boc)]-D-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (**30a**)

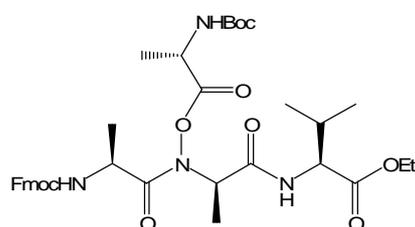
The title compound was prepared from **9** and Boc-βAla-OH using method D (88% yield). Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; colourless oil.  $R_f$  0.38 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).  $[\alpha]_D^{25}$  +3.38 (*c* 1.42 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.5, CH<sub>ar</sub>), 7.57 (1H, d, *J* 7.1, CH<sub>ar</sub>), 7.56 (1H, d, *J* 6.8, CH<sub>ar</sub>), 7.40-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.70-5.50 (2H, m, NH Ala<sub>1</sub>, NH βAla), 4.99 (1H, q, *J* 7.1, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.60-4.40 (2H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.40-4.30 (2H, m, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.30-4.10 (3H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> -OEt), 3.55-3.45 (2H, m, CH<sub>2</sub>NH), 2.80-2.70 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2.30-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.55-1.20 (18H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Boc, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.94 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.90 (3H, d, *J* 7.2, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 172.0, 169.3 (C=O), 156.1, 155.8 (C=O Fmoc, C=O Boc), 143.9, 141.4 (C<sub>ar</sub>), 127.9, 127.3, 125.3, 120.2 (CH<sub>ar</sub>), 79.6 (C<sub>q</sub> Boc), 67.4 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 61.4 (CH<sub>2</sub> -OEt), 57.8 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.6, 47.5, 47.3 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH Fmoc), 36.4 (CH<sub>2</sub>NH), 32.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 29.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub> Boc), 19.2 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 17.9, 17.8 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>

Ala<sub>1</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub> -OEt), 14.3 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3347, 2963, 2923, 1793, 1694, 1515, 1246, 740. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 719.3268; C<sub>36</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Na requires 719.3268.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-Ala<sub>4</sub>-Fmoc)]-D-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (30b)**

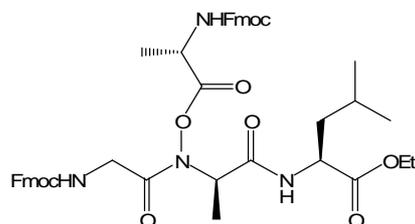
The title compound was prepared from **9** and Fmoc-Ala-OH using method D (61% yield) or method E (72% yield). Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 97:3; colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.55 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95 : 5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -2.58 (*c* 3.18 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (4H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub>), 7.57 (4H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub>), 7.45-7.25 (8H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.21 (1H, d, *J* 8.7, NH Val<sub>3</sub>), 5.75-5.45 (2H, m, NH Ala<sub>1</sub>, NH Ala<sub>4</sub>), 5.04-4.91 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.75-4.60 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1ou4</sub>), 4.55-4.05 (7H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Ala<sub>4ou1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> -OEt), 2.25-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.60-1.25 (9H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 1.19 (3H, t, *J* 7.2, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.93 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.89 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 172.0, 169.1 (C=O), 155.9 (2 peaks) (C=O Fmoc), 143.9 (2 peaks), 141.5 (C<sub>ar</sub>), 127.9, 127.2, 125.2, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.4 (2 peaks) (CH<sub>2</sub> Fmoc), 61.4 (CH<sub>2</sub> -OEt), 58.0 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 48.8, 47.7, 47.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH Fmoc), 30.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 19.2 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 18.1, 17.8 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> -OEt), 13.6 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3330, 2965, 1790, 1695, 1530, 1445, 1245, 1050, 740. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 841.3435; C<sub>46</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Na requires 841.3425.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-Ala<sub>4</sub>-Boc)]-D-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (30c)**

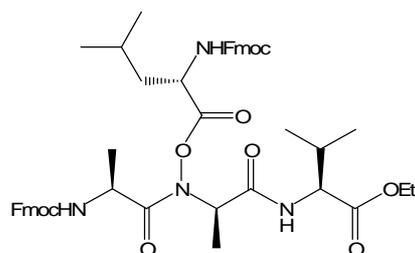
The title compound was prepared from **9** and Boc-Ala-OH using method D (86% yield) or method E (56% yield). Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 98:2; colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.51 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -1.34 (*c* 1.66 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.76 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub>), 7.58

(2H, d,  $J$  7.2, CH<sub>ar</sub>), 7.50-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 5.58 (1H, d,  $J$  7.0, NH Ala<sub>1</sub>), 5.30-5.10 (1H, m, NH Ala<sub>4</sub>), 5.05-4.85 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.70-4.00 (8H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> -OEt, CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>), 2.30-2.05 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.60-1.10 (21H, m + s (1.43) + t (1.24  $J$  7.1), CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub> Boc, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.93 (3H, d,  $J$  6.6, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.90 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 172.8, 171.8, 169.1 (C=O), 155.8, 155.3 (C=O Fmoc, C=O Boc), 143.9, 141.4 (C<sub>ar</sub>), 127.9, 127.2, 125.2, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 80.6 (C<sub>q</sub> Boc), 67.4 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 61.2 (CH<sub>2</sub> -OEt), 58.6, 58.0 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 48.4, 47.7, 47.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH Fmoc), 30.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.4 (CH<sub>3</sub> Boc), 19.2 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 18.8 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 18.1 (CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 17.5 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub> -OEt), 13.5 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3334, 2972, 2920, 1793, 1695, 1524, 1250, 1049, 842, 738. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 719.3266; C<sub>36</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Na requires 719.3268.



### Fmoc-Gly<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-Ala<sub>4</sub>-Boc)]-D-Ala<sub>2</sub>-Leu<sub>3</sub>-OEt (30d)

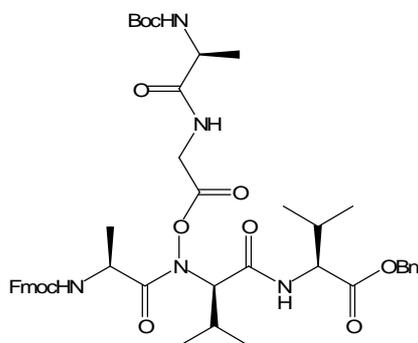
The title compound was prepared from (*R,S*)-Fmoc-Gly<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-D-Ala<sub>2</sub>-Leu<sub>3</sub>-OEt and Boc-Ala-OH using method D (69% yield) or method E (84% yield). Eluent for flash chromatography: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 98:2; colourless oil.  $R_f$  0.49 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 98:2).  $[\alpha]_D^{25}$  -1.05 ( $c$  2.09 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.76 (2H, d,  $J$  7.2, CH<sub>ar</sub>), 7.60 (2H, d,  $J$  7.2, CH<sub>ar</sub>), 7.50-7.25 (4H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.03 (1H, d,  $J$  7.2, NH Leu<sub>3</sub>), 5.70-5.55 (1H, m, NH Gly<sub>1</sub>), 5.27 (1H, d,  $J$  7.9, NH Ala<sub>4</sub>), 5.04 (1H, q,  $J$  7.2, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.65-4.30 (4H, m, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>α</sub> Leu<sub>3</sub>), 4.30-4.00 (5H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> -OEt, CH<sub>α</sub> Gly<sub>1</sub>), 1.75-1.35 (18H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub> Boc, CH<sub>α</sub> Leu<sub>3</sub>, CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>3</sub>), 1.25 (3H, t,  $J$  7.2, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.93 (3H, d,  $J$  5.4, CH<sub>3</sub> Leu<sub>3</sub>), 0.91 (3H, d,  $J$  5.8, CH<sub>3</sub> Leu<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 172.9, 169.2 (C=O), 156.6, 155.3 (C=O Fmoc, C=O Boc), 143.9, 141.4 (C<sub>ar</sub>), 127.8, 127.2, 125.2, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 80.8 (C<sub>q</sub> Boc), 67.5 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 62.1 (CH<sub>2</sub> -OEt), 58.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 51.4, 51.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>α</sub> Leu<sub>3</sub>), 47.2 (CH Fmoc), 40.8, 40.9 (CH<sub>α</sub> Gly<sub>1</sub>, CH<sub>2</sub> Leu<sub>3</sub>), 28.4 (CH<sub>3</sub> Boc), 25.0 (CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>3</sub>), 22.9 (CH<sub>α</sub> Leu<sub>3</sub>), 21.9, 21.7 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub> Leu<sub>3</sub>), 14.2 (CH<sub>3</sub> -OEt, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>). IR: 3333, 2955, 2929, 1700, 1651, 1543, 1164, 1052, 741. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 719.3272; C<sub>36</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Na requires 719.3268.



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-Leu-Boc)]-D-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (30e)

The title compound was prepared from **9** and Boc-Leu-OH using method D (67% yield) or method E (77% yield). Eluent for flash chromatography: pentane-EtOAc 2:1; colourless oil.  $R_f$  0.53 (pentane-EtOAc 2:1).  $[\alpha]_D^{25}$  -9.57 ( $c$  1.4 in  $\text{CHCl}_3$ ).  $\delta_H$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 7.76 (2H, d,  $J$  6.8,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.58 (2H, d,  $J$  7.6,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.50-7.20 (5H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ , NH Val<sub>3</sub>), 5.57 (1H, d,  $J$  7.8, NH Ala<sub>1</sub>), 5.12 (1H, d,  $J$  8.6, NH Leu), 5.00-4.80 (1H, m,  $\text{CH}_\alpha$  Ala<sub>2</sub>), 4.60-4.00 (8H, m, CH Fmoc,  $\text{CH}_2$  Fmoc,  $\text{CH}_\alpha$  Ala<sub>1</sub>,  $\text{CH}_\alpha$  Val<sub>3</sub>,  $\text{CH}_2$  -OEt,  $\text{CH}_\alpha$  Leu), 2.30-2.10 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{iPr}}$  Val<sub>3</sub>), 1.90-1.60 (3H, m,  $\text{CH}_\alpha$  Leu<sub>4</sub>,  $\text{CH}_{\text{iBu}}$  Leu), 1.60-1.20 (18H, m,  $\text{CH}_3$  Ala<sub>1</sub>,  $\text{CH}_3$  Ala<sub>2</sub>,  $\text{CH}_3$  Boc,  $\text{CH}_3$  -OEt), 1.10-0.80 (12H, m,  $\text{CH}_3$  Val<sub>3</sub>,  $\text{CH}_3$  Leu).  $\delta_C$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 172.7, 171.8, 171.3, 169.0 (C=O), 155.8, 155.6 (C=O Fmoc, C=O Boc), 144.0, 141.4 ( $\text{C}_{\text{ar}}$ ), 127.9, 127.2, 125.2, 120.1 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 80.7 ( $\text{C}_{\text{q}}$  Boc), 67.4 ( $\text{CH}_2$  Fmoc), 61.2 ( $\text{CH}_2$  -OEt), 60.5 ( $\text{CH}_\alpha$  Leu), 57.9 ( $\text{CH}_\alpha$  Val<sub>3</sub>), 51.4 ( $\text{CH}_\alpha$  Ala<sub>2</sub>), 47.6, 47.2 ( $\text{CH}_\alpha$  Ala<sub>1</sub>, CH Fmoc), 40.3 ( $\text{CH}_\alpha$  Leu), 30.9 ( $\text{CH}_{\text{iPr}}$  Val<sub>3</sub>), 28.4 ( $\text{CH}_3$  Boc), 25.0 ( $\text{CH}_{\text{iBu}}$  Leu), 23.0, 21.5, 21.2, 19.2, 18.1 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$  -OEt,  $\text{CH}_3$  Ala<sub>2</sub>). IR: 3345, 2931, 1695, 1535, 1447, 1250, 1162, 1028, 738. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 761.3739;  $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Na}$  requires 761.3738.

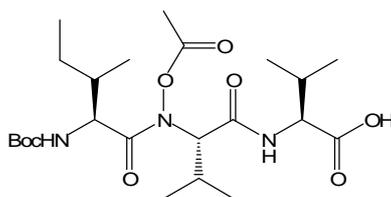
#### i) Chemical modifications



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-Gly<sub>4</sub>-Ala<sub>5</sub>-Boc)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (31)

A solution of **29b** (46 mg, 60  $\mu\text{mol}$ ) in TFA (1.6 mL) was stirred at room temperature for 1h before volatile compounds were evaporated under reduced pressure.

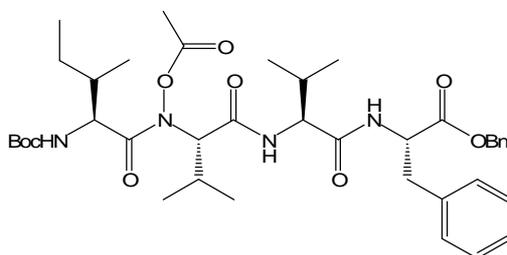
A mixture of Boc-Ala-OH (15 mg, 78  $\mu\text{mol}$ ) and HOBt (11 mg, 78  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4.5 mL) was stirred at room temperature. EDCI (15 mg, 78  $\mu\text{mol}$ ) and DIEA (31  $\mu\text{L}$ , 180  $\mu\text{mol}$ ) were added and the resulting solution was transferred on the trifluoroacetic salt of deprotected **29b**. The mixture was stirred overnight at room temperature. The solution was washed with brine and the organic layer dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1) gave **31** (36 mg, 43  $\mu\text{mol}$ , 72%) as a white solid. Mp: 73°C.  $R_f$  0.41 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 95:5).  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +10.6^\circ$  ( $c$  1.02 in  $\text{CHCl}_3$ ).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 7.75 (2H, d,  $J$  7.3,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.62-7.53 (2H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.44-7.24 (9H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.07 (1H, d,  $J$  8.1, NH Val<sub>3</sub>), 7.02-6.88 (1H, br, NH Ala<sub>5</sub>), 5.64 (1H, d,  $J$  8.1, NH Ala<sub>1</sub>), 5.36-5.22 (1H, br, NH Gly<sub>4</sub>), 5.13 (2H, ABq,  $J$  12.2,  $\delta_{\text{A}}-\delta_{\text{B}}$  19.1,  $\text{CH}_2$  -OBn), 4.55-4.43 (2H, m,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>3</sub>,  $\text{CH}_{\alpha}$  Ala), 4.40-4.27 (3H, m,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>2</sub>, CHH Gly, CHH Fmoc), 4.27-4.15 (3H, m, CH Fmoc, CHH Fmoc,  $\text{CH}_{\alpha}$  Ala), 4.08-3.97 (1H, m, CHH Gly), 2.57-2.41 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{iPr}}$  Val<sub>2</sub>), 2.26-2.11 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{iPr}}$  Val<sub>3</sub>), 1.40 (9H, s,  $\text{CH}_3$  Boc), 1.38-1.30 (6H, m,  $\text{CH}_3$  Ala<sub>1</sub>,  $\text{CH}_3$  Ala<sub>5</sub>), 0.97 (6H, d,  $J$  6.8,  $\text{CH}_3$  Val<sub>2</sub>), 0.90 (3H, d,  $J$  6.9,  $\text{CH}_3$  Val<sub>3</sub>), 0.86 (3H, d,  $J$  6.9,  $\text{CH}_3$  Val<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 173.9, 173.5, 171.6, 168.5, 167.9 (C=O), 155.7 (2 peaks) (C=O Boc, C=O Fmoc), 144.0, 143.9, 141.5 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  Fmoc), 135.5 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  -OBn), 128.8, 128.7, 128.6 (2 peaks), 128.5, 127.9, 127.3, 125.3, 120.2 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 80.4 ( $\text{C}_{\text{q}}$  Boc), 67.3, 67.2 ( $\text{CH}_2$  Fmoc,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>2</sub>,  $\text{CH}_2$  -OBn), 57.8 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>3</sub>), 50.0 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Ala<sub>5</sub>), 47.9 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 40.2 ( $\text{CH}_2$  Gly), 31.1 ( $\text{CH}_{\text{iPr}}$  Val<sub>3</sub>), 28.5 ( $\text{CH}_3$  Boc), 27.2 ( $\text{CH}_{\text{iPr}}$  Val<sub>2</sub>), 19.8, 19.3, 19.2, 18.8, 17.9 ( $\text{CH}_3$ ). IR: 3328, 2967, 2930, 1801, 1711, 1696, 1670, 1535, 1452, 1248, 741. LRMS (DCI)  $m/z$ : 861.5 ( $\text{M}+\text{NH}_4$ )<sup>+</sup>. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 882.3690;  $\text{C}_{45}\text{H}_{57}\text{N}_5\text{O}_{11}\text{K}$  requires 882.3692.



### Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OAc)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OH (**33**)

A mixture of **18c** (21 mg, 37  $\mu\text{mol}$ ) and Pd/C (12 mg, 10%) in EtOH (2 mL) was placed under an atmosphere of hydrogen. The suspension was stirred at room temperature for one hour, then filtered. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ - MeOH 95:5) gave **33** (16 mg, 34  $\mu\text{mol}$ , 91%) as a colourless oil.  $R_f$  0.04 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 95:5).  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -52.4^\circ$  ( $c$  1.04 in  $\text{CHCl}_3$ ).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 7.55-7.45 (1H, br, NH Val<sub>3</sub>), 4.99 (1H, d,  $J$  9.6, NH Ile<sub>1</sub>), 4.55-4.40 (1H, m,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>3</sub>), 4.35-4.20 (2H, m,  $\text{CH}_{\alpha}$  Ile<sub>1</sub>,  $\text{CH}_{\alpha}$

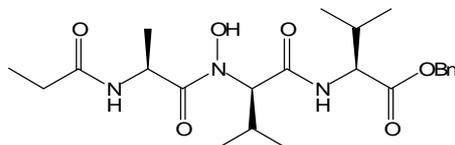
Val<sub>2</sub>), 2.66-2.43 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.39-2.10 (4H, m+s (2.26), CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Ac), 1.92-1.71 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.66-1.37 (10H, m, CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Boc), 1.15-0.80 (19H, m, CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 175.0, 172.9 (C=O), 169.5 (C=O Ac), 168.2 (C=O), 155.6 (C=O Boc), 80.1 (C<sub>q</sub> Boc), 61.8 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 57.6 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 54.8 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 36.7 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 30.6 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.4 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.0 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.0, 19.2 (CH<sub>3</sub> Val), 18.9 (CH<sub>3</sub> Ac), 18.6, 17.9 (CH<sub>3</sub> Val), 16.1, 11.3 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3333, 2966, 2931, 1807, 1717, 1656, 1524, 1392, 1368, 1173. LRMS (DCI)  $m/z$ : 504.9 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 510.2783; C<sub>23</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 510.2791.



#### Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OAc)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Phe<sub>4</sub>-OBn (**34**)

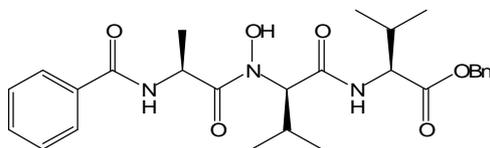
To a mixture of **33** (17 mg, 34  $\mu$ mol), L-phenylalanine benzyl ester hydrochloride (11 mg, 37  $\mu$ mol), EDCI (8 mg, 41  $\mu$ mol) and HOBt (6 mg, 41  $\mu$ mol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.5 mL) was added DIEA (7  $\mu$ L, 38  $\mu$ mol). The solution was stirred overnight at room temperature, washed with brine and the organic layer dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **34** (18 mg, 25  $\mu$ mol, 74%) as a white-yellowish solid. Mp: 133°C.  $R_f$  0.37 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>- MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25}$  -28.5° ( $c$  0.46 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.55-7.40 (1H, br, NH Val<sub>3</sub>), 7.37-7.15 (8H, m, CH<sub>ar</sub> Phe<sub>4</sub>, -OBn), 7.10-7.00 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Phe<sub>4</sub>), 6.52 (1H, d,  $J$  5.9 Hz, NH Phe<sub>4</sub>), 5.10 (2H, ABq,  $J$  12.3 Hz,  $\delta_A$ - $\delta_B$  11.8 Hz, CH<sub>2</sub> -OBn), 4.96 (1H, d,  $J$  9.9 Hz, NH Ile<sub>1</sub>), 4.90-4.80 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe<sub>4</sub>), 4.32-4.15 (2H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 4.00-3.90 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 3.20-3.05 (2H, m, CH<sub>2</sub> Phe<sub>4</sub>), 2.65-2.50 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.10 (4H, m+s (2.22), CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Ac), 1.90-1.70 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.60-1.45 (1H, m, CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.38 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.15-0.80 (19H, m, CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.7, 171.2, 170.8, 169.5, 168.4 (C=O), 155.5 (C=O Boc), 136.1 (C<sub>ar</sub> Phe<sub>4</sub>), 135.4 (C<sub>ar</sub> -OBn), 129.5, 128.7, 128.6, 127.1 (CH<sub>ar</sub>), 80.0 (C<sub>q</sub> Boc), 67.3 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> -OBn), 58.9 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 54.9 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ile<sub>1</sub>), 53.5 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Phe<sub>4</sub>), 37.9 (CH<sub>2</sub> Phe<sub>4</sub>), 36.8 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 30.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.4 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 23.9 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.0, 19.6, 19.4, 18.6, 17.7 (CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>

Ac), 16.2, 11.3 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3310, 2964, 2928, 1807, 1714, 1650, 1524, 1176, 698. LRMS (DCI) *m/z*: 742.3 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 747.3948; C<sub>39</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>Na requires 747.3945.



**CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CO-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (35a)**

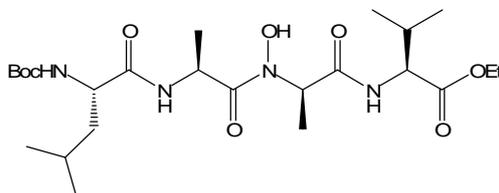
To a solution of **19c** (56 mg, 83 μmol) in THF (1 mL) was added diethylamine (52 μL, 500 μmol). The mixture was stirred for 4h at room temperature. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **35a** (35 mg, 78 μmol, 94%) as a white solid. Mp: 190°C. *R<sub>f</sub>* 0.78 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +24.0° (*c* 1.28 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.96 (1H, s, NOH), 7.45-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.98 (1H, d, *J* 8.3, NH Val<sub>3</sub>), 6.55 (1H, d, *J* 7.3, NH Ala<sub>1</sub>), 5.20-5.08 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 5.15 (2H, ABq, *J* 12.2, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 24.2, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.74 (1H, d, *J* 9.6, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 4.54 (1H, dd, *J* 4.8 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 2.54-2.39 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.15 (3H, m+q (2.23, *J* 7.5), CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, -COCH<sub>2</sub>-), 1.37 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.12 (3H, t, *J* 7.5, -COCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.03 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.97 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.92 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.88 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.9 (C=O Val<sub>3</sub>), 173.0 (-COCH<sub>2</sub>-), 172.0 (C=O Ala<sub>1</sub>), 170.4 (C=O Val<sub>2</sub>), 135.1 (C<sub>ar</sub>-OBn), 128.5 (CH<sub>ar</sub>), 67.3 (CH<sub>2</sub>-OBn), 64.4 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 45.4 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 30.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 29.4 (-COCH<sub>2</sub>-), 27.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.6, 19.0, 17.8, 17.7, 17.6 (CH<sub>3</sub>), 9.6 (-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR: 3256, 3062, 2965, 2934, 2876, 1734, 1675, 1645, 1611, 1550, 1456, 1268, 735. LRMS (DCI) *m/z*: 466.4 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 472.2415; C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Na requires 472.2424.



**PhCO-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (35b)**

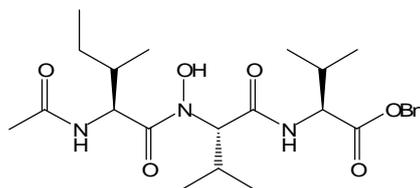
The title compound was prepared as described for **35a** using **19h** (26 mg, 37 μmol) and, after flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 99.5:0.5 to 98:2), was obtained as a white solid (17 mg, 34 μmol, 79%). Mp: 174°C. *R<sub>f</sub>* 0.45 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +57.2° (*c* 1.02 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 9.12 (1H, s, NOH), 7.86-7.80 (2H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.54-7.23 (9H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Ala<sub>1</sub>), 7.10

(1H, d,  $J$  8.3, NH Val<sub>3</sub>), 5.45-5.32 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 5.07 (2H, ABq,  $J$  12.2,  $\delta_A$ - $\delta_B$  25.4, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.75 (1H, d,  $J$  9.7, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 4.52 (1H, dd,  $J$  4.9 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 2.50-2.31 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.27-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.49 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.00 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.93 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.91 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.86 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.0, 171.7, 171.1, 167.3 (C=O), 135.3 (C<sub>ar</sub>-OBn), 134.2 (C<sub>ar</sub>-Ph), 131.8, 128.8, 128.6 (2 peaks), 127.5 (CH<sub>ar</sub>), 67.4 (CH<sub>2</sub>-OBn), 64.1 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.8 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 46.4 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.6, 19.2, 18.2, 18.0 (CH<sub>3</sub>). IR: 3272, 3063, 2963, 2925, 1742, 1670, 1644, 1611, 1543, 1463, 1267, 1185, 694. LRMS (DCI)  $m/z$ : 497.7 [M]<sup>+</sup>. HRMS (ESI +)  $m/z$ : found, 520.2424; C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Na requires 520.2424.



#### Boc-Leu<sub>1</sub>-Ala<sub>2</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-D-Ala<sub>3</sub>-Val<sub>4</sub>-OEt (**15**)

To a solution of **30e** (34 mg, 45 μmol) in THF (1 mL) was added diethylamine (29 μL, 278 μmol). The mixture was stirred over night at 40°C. After evaporation of the solvent under reduced pressure, the residue was taken up CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and the solution was washed with brine. The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 98:2) gave **15** (17 mg, 33 μmol, 71%) as a yellowish oil. See above for characterisations.

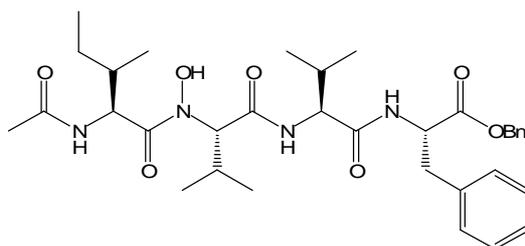


#### Ac-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**35c**)

A solution of **18c** (9 mg, 16 μmol) in TFA (1 mL) was stirred at room temperature for 2h before volatile compounds were evaporated under reduced pressure. The residue was taken up in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) and an aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (1M, 5 mL) was added. The biphasic solution was vigorously stirred over night at room temperature. The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CHCl<sub>3</sub>-acetone 10:0 to 9:1) gave **35c** (7 mg, 14 μmol, 92%) as a white solid.

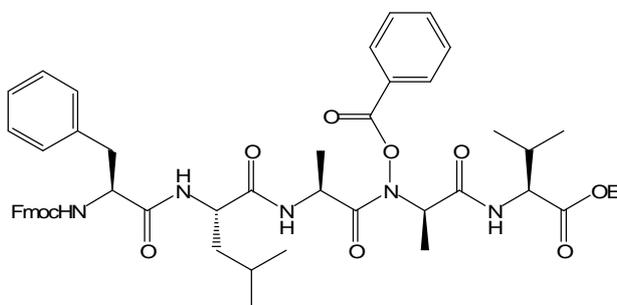
Mp: 137°C. *R<sub>f</sub>* 0.23 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -25.4° (*c* 0.56 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.51 (1H, s, NOH), 8.40-8.23 (1H, m, NH Val<sub>3</sub>), 7.40-7.30 (5H, br s, CH<sub>ar</sub>-OBn), 7.05-6.90 (1H, m, NH Ile<sub>1</sub>), 5.28-5.05 (4H, m, CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 4.72 (1H, dd, *J* 4.6 and 9.2, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 2.45-2.30 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.25-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 2.00 (3H, s, CH<sub>3</sub> Ac), 1.85-1.72 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.47-1.32 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.10-0.70 (19H, m, CHH Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.9, 172.3, 171.4, 170.8 (C=O), 135.2 (C<sub>ar</sub>-OBn), 128.9, 128.8, 128.5 (CH<sub>ar</sub>), 67.7 (CH<sub>2</sub>-OBn), 63.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 56.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 53.3 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 37.4 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 32.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.7 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 22.9 (CH<sub>3</sub> Ac), 19.8, 19.2, 18.9, 17.5 (CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 15.7, 11.4 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3397, 3307, 3170, 3089, 2962, 2931, 2875, 1731, 1686, 1627, 1526, 1463, 1394, 1306, 1187, 1145, 751, 698. LRMS (DCI+) *m/z*: 477.9 (M+H)<sup>+</sup>, 494.9 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 516.2482; C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>K requires 516.2476.



#### Ac-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OH)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Phe<sub>4</sub>-OBn (**35d**)

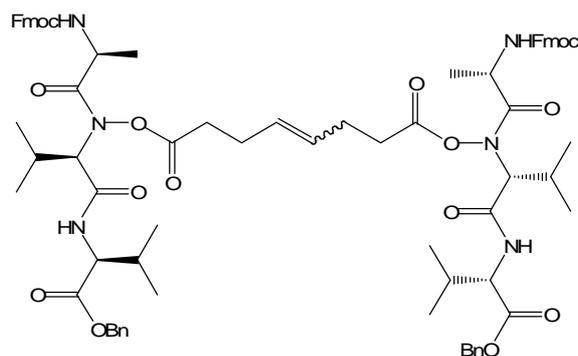
The title compound was prepared as described for **35c** using **34** (14 mg, 19 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, CHCl<sub>3</sub>-acetone 10:0 to 9:1) gave **35d** (8 mg, 13 μmol, 70%) as a white solid. Mp: 235-236°C. *R<sub>f</sub>* 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -23.5° (*c* 0.76 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.45-8.70 (2H, m+s (8.53), NH Val<sub>3</sub>, NOH), 7.40-7.50 (1H, m, NH Ile<sub>1</sub>), 7.38-7.15 (8H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.95-7.05 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Phe<sub>4</sub>), 6.75-6.85 (1H, br, NH Phe<sub>4</sub>), 5.05-5.25 (4H, m, CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 4.85-4.95 (1H, m, CH<sub>α</sub> Phe<sub>4</sub>), 4.30-4.40 (1H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 3.02-3.10 (2H, m, CH<sub>2</sub> Phe<sub>4</sub>), 2.25-2.40 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 1.90-2.10 (4H, m+s (1.94), CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Ac), 1.75-1.85 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.40-1.55 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.10-1.20 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 0.75-0.95 (18H, m, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 172.4, 171.8, 171.3, 171.0, 170.9, (C=O), 135.4 (C<sub>ar</sub> Phe), 135.0 (C<sub>ar</sub>-OBn), 129.3, 128.9, 128.8 (2 peaks), 127.5 (CH<sub>ar</sub>), 67.7 (CH<sub>2</sub>-OBn), 63.7 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 58.4 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 53.5 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 53.2 (CH<sub>α</sub> Phe<sub>4</sub>), 38.1 (CH<sub>2</sub> Phe<sub>4</sub>), 37.4 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 31.6 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 24.9 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 22.9 (CH<sub>3</sub> Ac), 19.9, 19.2, 19.0

(CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 14.3, 11.3 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). IR: 3294, 3060, 2961, 2925, 2854, 1741, 1651, 1628, 1548, 1455, 1378, 1186, 698. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 647.3416; C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>Na requires 647.3421.



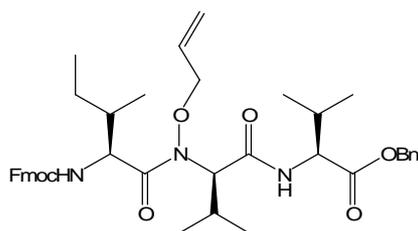
**Fmoc-Phe<sub>1</sub>-Leu<sub>2</sub>-Ala<sub>3</sub>-Ψ[CO-N(OCOPh)]-D-Ala<sub>4</sub>-Val<sub>5</sub>-OEt (36)**

The title compound was prepared as described for **31** using **19i** (21 mg, 34 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1) gave **36** (22 mg, 25 μmol, 74%) as a white solid. Mp: 86-88°C. R<sub>f</sub> 0.33 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +1.48° (*c* 0.90 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.13 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> -COPh), 7.78-7.62 (4H, m, NH Val<sub>2</sub>, CH<sub>ar</sub>), 7.57-7.45 (4H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.42-7.10 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.85-6.75 (1H, br s, NH Ala<sub>3</sub>), 6.40-6.28 (1H, br s, NH Leu<sub>2</sub>), 5.45-5.30 (1H, br s, NH Phe<sub>1</sub>), 5.00-4.87 (1H, br, CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>), 4.70-4.57 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>3</sub>), 4.55-4.34 (3H, m, CHH Fmoc, CH<sub>α</sub> Phe<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Leu<sub>2</sub>), 4.49 (1H, dd, *J* 5.2 and 8.4, CH<sub>α</sub> Val<sub>5</sub>), 4.34-4.23 (1H, m, CH Fmoc), 4.23-4.17 (3H, m, CHH Fmoc, CH<sub>2</sub> -OEt), 3.12-2.98 (2H, br, CH<sub>2</sub> Phe<sub>1</sub>), 2.34-2.16 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 1.63-1.15 (12H, m, CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub> Leu<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>3</sub>), 0.97 (3H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Val<sub>5</sub>), 0.95 (3H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Val<sub>5</sub>), 0.85 (6H, br s, CH<sub>3</sub> Leu<sub>2</sub>). δ<sub>C</sub> (125.9 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.6 (C=O), 171.8 (C=O Val<sub>5</sub>), 171.0, 170.9, 169.3 (C=O), 165.6 (COPh), 156.2 (C=O Fmoc), 143.8, 141.5 (CH<sub>ar</sub> Fmoc), 136.3 (C<sub>ar</sub> Phe<sub>1</sub>), 135.3 (C<sub>ar</sub> -COPh), 130.6, 129.5, 129.3, 128.9, 127.9, 127.3, 125.7, 125.3, 125.2, 120.2 (CH<sub>ar</sub>), 67.3 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 61.2 (CH<sub>2</sub> -OEt), 59.2 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>), 57.8 (CH<sub>α</sub> Val<sub>5</sub>), 56.2 (CH<sub>α</sub> Phe<sub>1</sub>), 51.7 (CH<sub>α</sub> Leu<sub>2</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 46.4 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>3</sub>), 41.3 (CH<sub>2</sub> Leu<sub>2</sub>), 38.3 (CH<sub>2</sub> Phe<sub>1</sub>), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 24.7 (CH<sub>iBu</sub> Leu<sub>2</sub>), 23.1 (CH<sub>3</sub> Leu<sub>2</sub>), 22.0 (CH<sub>3</sub> Leu<sub>1</sub>), 19.3, 18.1 (CH<sub>3</sub> Val<sub>5</sub>), 17.8 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub> -OEt), 13.5 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>3</sub>). IR: 3295, 3063, 2959, 2927, 2868, 2855, 1736, 1647, 1535, 1451, 1237, 1038, 1015, 741, 706. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 912.4159; C<sub>50</sub>H<sub>59</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>Na requires 912.4160.



**{Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=\*)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn}<sub>2</sub> (37 and 37')**

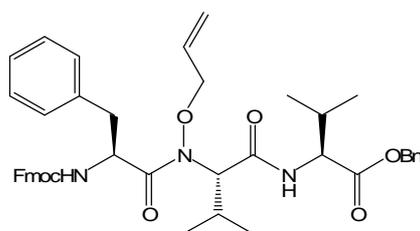
To a solution of **19g** (23 mg, 33.6 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.8 mL) was added 10% mol/mol (3 mg, 3.5 μmol) of Grubbs catalyst, second generation. The mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction was then washed with brine and the aqueous phase was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic layers were united and dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated and evaporated. Flash chromatography (Silica gel, pentane-AcOEt 9:1 to 1:1) gave 12 mg (16.8 μmol, 50%) of a mixture of products **37** and **37'** as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.39 (pentane-EtOAc 1:1). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (4H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.60-7.53 (4H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.42-7.25 (18H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.17-6.98 (2H, br, NH Val<sub>3</sub>), 5.66 (2H, d, *J* 7.7, NH Ala), 5.64-5.59 and 5.52-5.48 (2H, ratio 1:1, m, CH=), 5.12 (4H, ABq, *J* 12.4, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 12.8, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.50 (2H, dd, *J* 4.9 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.46-4.25 (8H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CHH Fmoc, CH Fmoc), 4.25-4.15 (2H, m, CHH Fmoc), 2.58-2.32 (10H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.24-2.10 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.38-1.30 (6H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 0.97 (12H, d, *J* 5.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.90 (6H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.81 (6H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 173.5, 171.3, 171.1, 167.9 (C=O), 155.5 (C=O Fmoc), 144.1, 143.9, 141.5, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub>-OBn, CH=), 128.7, 128.5, 127.9, 127.3, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 67.2, 67.1 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-OBn), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.8 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 31.6 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 31.3 (N-O-CH<sub>2</sub>), 29.9 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 27.2, 26.9 (**37** CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, **37'** CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.8, 19.2, 19.0, 17.8 (CH<sub>3</sub>). IR: 3326, 2963, 2927, 2869, 2851, 1802, 1729, 1661, 1531, 1451, 1246, 1072, 758, 741. LRMS (ESI) *m/z*: 1390.5 (M+Na)<sup>+</sup>.



**Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (38a)**

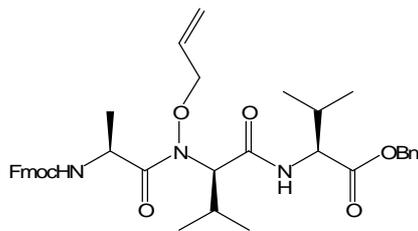
A mixture of **6d** (30 mg, 45.6 μmol) and PPh<sub>3</sub> (13 mg, 50 μmol) was dissolved in THF (10 ml). Allylic alcohol (3 μL, 50 μmol) and DIAD (10 μL, 50.8 μmol) were added to the solution. After 4 hours of reaction, the solvent was evaporated and the crude material was taken up with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The mixture was washed with brine and the aqueous phase was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic layers were united and dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated and evaporated. Purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to

95:5) gave 14 mg (20.1  $\mu\text{mol}$ , 44% yield) of the desired product **38a** as a colourless oil and 12 mg (18.2  $\mu\text{mol}$ , 40% yield) of **6d**.  $R_f$  0.71 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 95:5).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 7.67 (2H, d,  $J$  7.4,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.55-7.45 (2H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.35-7.05 (10H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ , NH Val<sub>3</sub>), 5.95-5.80 (1H, m,  $\text{CH}=\text{}$ ), 5.45-5.15 (3H, m, NH Ile<sub>1</sub>,  $\text{CH}_2=\text{}$ ), 4.89 (2H, s,  $\text{CH}_2$ -OBn), 4.70 (1H, dd,  $J$  5.2 and 10.2,  $\text{CH}_{\alpha}$  Ile<sub>1</sub>), 4.56 (1H, dd,  $J$  5.5 and 10.9, N-O-CHH), 4.46-4.10 (6H, m, N-O-CHH,  $\text{CH}_2$  Fmoc, CH Fmoc,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>2</sub>,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>3</sub>), 2.55-2.40 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>2</sub>), 2.18-2.05 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>3</sub>), 1.88-1.72 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{SBU}}$  Ile<sub>1</sub>), 1.50-1.40 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.15-1.05 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.00-0.75 (18H, m,  $\text{CH}_3$  Ile<sub>1</sub>,  $\text{CH}_3$  Val<sub>2</sub>,  $\text{CH}_3$  Val<sub>3</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 173.7, 171.2, 170.4 (C=O), 156.5 (C=O Fmoc), 144.3, 144.0, 141.5 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  Fmoc), 135.6 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  OBn), 130.9 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 128.7, 128.4, 128.3, 127.9, 127.2, 125.4 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 121.1 ( $\text{CH}_2=\text{}$ ), 120.1 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 78.1 (N-O- $\text{CH}_2$ ), 67.2, 66.9 ( $\text{CH}_2$  Fmoc,  $\text{CH}_2$ -OBn,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>2</sub>), 57.5, 55.8 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Ile<sub>1</sub>,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>3</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 38.1 ( $\text{CH}_{\text{SBU}}$  Ile<sub>1</sub>), 30.8 ( $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>3</sub>), 25.9 ( $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>2</sub>), 19.9, 19.3, 19.2, 17.7, 16.0, 11.5 ( $\text{CH}_3$ ). IR: 3336, 2964, 2932, 2875, 1724, 1685, 1522, 1451, 1242, 1150, 759, 741. LRMS (ESI +)  $m/z$ : 720.1 (M+Na)<sup>+</sup>.



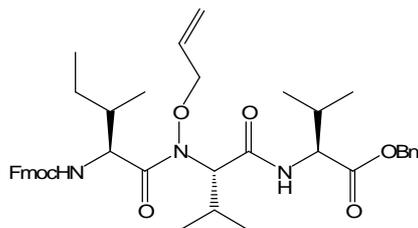
**Fmoc-Phe<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**38b**)**

The title compound was prepared as described for **38a** using **6e** (50 mg, 72.3  $\mu\text{mol}$ ). Purification by flash chromatography (Silica gel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 100:0 to 95:5) gave **38b** (26 mg, 35.5  $\mu\text{mol}$ , 49% yield) as a colourless oil.  $R_f$  0.78 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 95:5).  $\delta_{\text{H}}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 7.74 (2H, d,  $J$  7.5,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.60-7.48 (2H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$  Fmoc), 7.40-7.15 (14H, m,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 7.07 (1H, d,  $J$  8.3, NH Val<sub>3</sub>), 6.00-5.80 (1H, m,  $\text{CH}=\text{}$ ), 5.50-5.25 (3H, m,  $\text{CH}_2=\text{}$ , NH Phe<sub>1</sub>), 5.15-5.05 (1H, m,  $\text{CH}_{\alpha}$  Phe<sub>1</sub>), 5.03 (2H, s,  $\text{CH}_2$ -OBn), 4.65-4.50 (1H, m, N-O-CHH), 4.60-4.10 (6H, m, N-O-CHH,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>2</sub>,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>3</sub>,  $\text{CH}_2$  Fmoc, CH Fmoc), 3.25-3.10 (1H, m, CHH Phe<sub>1</sub>), 2.95-2.80 (1H, m, CHH Phe<sub>1</sub>), 2.60-2.40 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>2</sub>), 2.25-2.10 (1H, m,  $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>3</sub>), 1.00 (3H, d,  $J$  6.4,  $\text{CH}_3$  Val<sub>2</sub>), 0.90 (6H, d,  $J$  6.4,  $\text{CH}_3$  Val<sub>3</sub>), 0.84 (3H, d,  $J$  6.8,  $\text{CH}_3$  Val<sub>2</sub>).  $\delta_{\text{C}}$  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 173.1 (C=O Phe<sub>1</sub>), 171.2 (C=O Val<sub>3</sub>), 170.2 (C=O Val<sub>2</sub>), 155.9 (C=O Fmoc), 144.1, 144.0, 141.5, 141.4 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  Fmoc), 136.2 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  Phe), 135.6 ( $\text{C}_{\text{ar}}$  OBn), 130.8 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 129.6, 128.7, 128.5, 128.4, 127.8, 127.2 (2 peaks), 125.4 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 121.2 ( $\text{CH}_2=\text{}$ ), 120.1 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 78.1 (N-O- $\text{CH}_2$ ), 67.5, 67.2, 67.0 ( $\text{CH}_2$  Fmoc,  $\text{CH}_2$ -OBn,  $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>2</sub>), 57.6 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Val<sub>3</sub>), 52.6 ( $\text{CH}_{\alpha}$  Phe<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 38.9 ( $\text{CH}_2$  Phe<sub>1</sub>), 30.8 ( $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>3</sub>), 26.2 ( $\text{CH}_{\text{IPr}}$  Val<sub>2</sub>), 19.9, 19.8, 19.3, 17.7 ( $\text{CH}_3$ ). LRMS (ESI +)  $m/z$ : 754.1 (M+Na)<sup>+</sup>.



### Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**38c**)

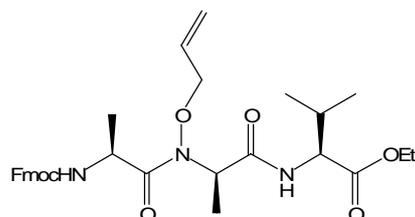
The title compound was prepared as described for **38a** using **6b** (50 mg, 81.1 μmol) and DMAD (30 mg, 203 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, Pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **38c** (37 mg, 56.0 μmol, 49% yield) as a colourless oil.  $R_f$  0.56 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +17.7^\circ$  ( $c$  0.83 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d,  $J$  7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.63-7.55 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.43-7.20 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.00 (1H, d,  $J$  8.1, NH Val<sub>3</sub>), 6.00-5.80 (1H, m, CH=), 5.60 (1H, d,  $J$  7.9, NH Ala<sub>1</sub>), 5.40-5.25 (2H, m, CH<sub>2</sub>=), 5.08 (2H, ABq,  $J$  12.3,  $\delta_A$ - $\delta_B$  12.5, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.85-4.70 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.65-4.55 (1H, m, N-O-CHH), 4.49 (1H, dd,  $J$  4.5 and 8.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.42-4.32 (3H, m, CH Fmoc, CHH Fmoc and N-O-CHH), 4.30-4.20 (2H, m, CHH Fmoc and CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 2.63-2.48 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.27-2.14 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.40 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.00 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val), 0.97 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val), 0.91 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val), 0.85 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Val).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.1 (C=O Ala<sub>1</sub>), 171.2 (C=O Val<sub>3</sub>), 170.1 (C=O Val<sub>2</sub>), 155.8 (C=O, Fmoc), 144.2, 144.0, 141.5 (2peaks) (CH<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub>-OBn), 130.8 (CH=), 128.7, 128.5 (2peaks), 127.9, 127.2, 125.4, 125.3 (CH<sub>ar</sub>), 121.0 (CH<sub>2</sub>=), 120.2 (CH<sub>ar</sub>), 77.4 (N-O-CH<sub>2</sub>), 67.2, 67.0 (CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 48.0 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 30.9 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 26.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.8, 19.7, 19.3, 18.9, 17.7 (CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, Val<sub>2</sub>, Val<sub>3</sub>). IR: 3325, 2963, 2928, 2874, 1722, 1682, 1655, 1526, 1452, 1247, 759, 740. LMRS (DCI)  $m/z$ : 672.8 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>.



### Fmoc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**39a**)

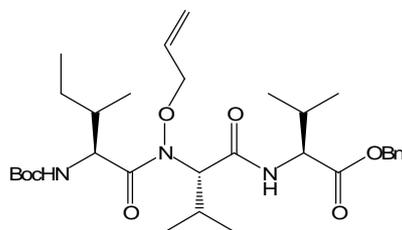
The title compound was prepared as described for **38a** using **6c** (44 mg, 67.3 μmol) and DMAD (25 mg, 168.8 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **39a** (22 mg, 31.5 μmol, 47% yield) as a colourless oil.  $R_f$  0.52 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.85-7.70 (3H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc, NH Val<sub>3</sub>), 7.59 (2H, d,  $J$  6.9, CH<sub>ar</sub>), 7.50-7.10 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.10-5.80 (1H, m, CH=), 5.50-5.35 (3H, m, CH<sub>2</sub>=, NH Ile<sub>1</sub>), 4.99 (2H, s, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.73 (1H, dd,  $J$  4.8 and 9.6, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.55-4.15 (6H, m, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>, N-O-CH<sub>2</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 3.92 (1H, d,  $J$  11.0, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 2.85-2.55 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.10 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 2.00-1.80 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.60-1.40 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.25-1.05 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.05- 0.75 (18H, m, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 171.6, 171.3, 170.4

(C=O), 155.6 (C=O Fmoc), 141.5, 141.4, 140.9 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub> OBn), 130.6 (CH=), 130.2, 128.7, 128.4, 127.9 (2 peaks), 126.9, 125.4 (CH<sub>ar</sub>), 121.6 (CH<sub>2</sub>=), 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 75.1 (N-O-CH<sub>2</sub>), 67.2, 67.1 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 65.1 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 56.5 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 37.5 (CH<sub>S</sub>Bu Ile<sub>1</sub>), 30.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.0, 19.7, 19.3, 17.7, 16.4, 11.5 (CH<sub>3</sub>). LRMS (ESI +) *m/z*: 720.1 (M+Na)<sup>+</sup>.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (39b)**

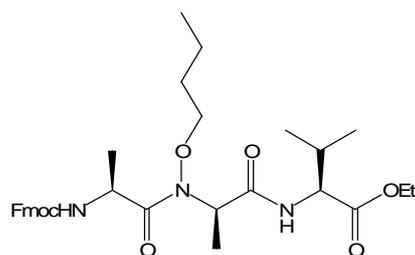
The title compound was prepared as described for **39a** using **6c** (15 mg, 28.5 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10% w/w), pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **39a** (14 mg, 24.2 μmol, 85% yield) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.83 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.69 (1H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.64-7.50 (3H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.40-7.16 (4H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 6.86 (1H, d, *J* 7.7, NH Val<sub>3</sub>), 6.00-5.80 (1H, m, CH=), 5.48 (1H, d, *J* 7.3, NH Ala<sub>1</sub>), 5.42-5.10 (2H, m, CH<sub>2</sub>=), 4.95-4.85 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.80-4.68 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.63-4.26 (4H, m, N-O-CH<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CHH Fmoc), 4.20-3.98 (4H, m, CH<sub>2</sub> -OEt, CHH Fmoc, CH Fmoc), 2.20-2.02 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.45 (3H, d, *J* 7.6, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>), 1.33 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.12 (3H, d, *J* 7.2, CH<sub>3</sub> -OEt), 0.86 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.80 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 175.0, 171.5, 170.7 (C=O), 156.0 (C=O Fmoc), 144.1, 144.0, 141.5, 140.9 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 130.7 (CH=), 130.6, 128.1, 127.9, 127.2, 126.7, 125.3 (CH<sub>ar</sub>), 121.3 (CH<sub>2</sub>=), 120.2 (CH<sub>ar</sub>), 78.1 (N-O-CH<sub>2</sub>), 67.3 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 61.3 (CH<sub>2</sub> -OEt), 56.0 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 53.8 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 48.0 (2 peaks) (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH Fmoc), 31.0 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 19.2, 18.2, 17.8, 12.5 (CH<sub>3</sub>). LRMS (ESI +) *m/z*: 588.1 (M+Na)<sup>+</sup>.



**Boc-Ile<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (39c)**

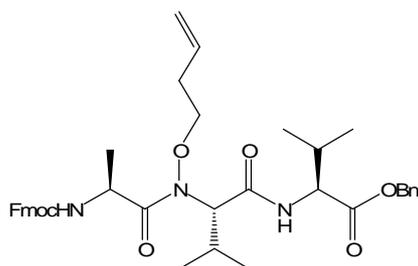
The title compound was prepared as described for **39a** using **13** (37 mg, 68.5 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10% w/w), pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **39c** (30 mg, 51.4 μmol, 75% yield) as a colourless oil. δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.73 (1H, d, *J* 7.6, NH Val<sub>3</sub>), 7.40-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.00-5.80 (1H, m, CH=), 5.45-5.25 (2H, m, CH<sub>2</sub>=), 5.25-5.05 (3H, m, CH<sub>2</sub>-OBn, NH Ile<sub>1</sub>), 4.63 (1H, dd, *J* 5.1

and 9.5, CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 4.55-4.40 (3H, m, N-O-CH<sub>2</sub> and CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 3.91 (1H, d, *J* 11.1, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 2.75-2.60 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.15 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.92-1.80 (1H, m, CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 1.60-1.43 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.43 (9H, s, CH<sub>3</sub> Boc), 1.18-1.05 (1H, m, CHH Ile<sub>1</sub>), 1.00-0.91 (15H, m, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.88 (3H, t, *J* 7.0, CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.4 (C=O Ile<sub>1</sub>), 171.3 (C=O Val<sub>3</sub>), 170.4 (C=O Val<sub>2</sub>), 155.9 (C=O Boc), 135.8 (C<sub>ar</sub>-OBn), 130.7 (CH=), 128.7, 128.5 (CH<sub>ar</sub>), 121.3 (CH<sub>2</sub>=), 79.6 (C<sub>q</sub> Boc), 77.4 (N-O-CH<sub>2</sub>), 74.7 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 66.9 (CH<sub>2</sub>-OBn), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 56.1 (CH<sub>α</sub> Ile<sub>1</sub>), 37.5 (CH<sub>sBu</sub> Ile<sub>1</sub>), 30.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub> Boc), 27.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 23.6 (CH<sub>2</sub> Ile<sub>1</sub>), 20.0, 19.7, 19.3, 17.7, 16.4, 11.6 (CH<sub>3</sub> Ile<sub>1</sub>, Val<sub>2</sub>, Val<sub>3</sub>).



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>)]-D-Ala<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OEt (39d)**

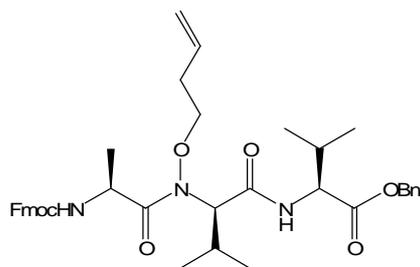
The title compound was prepared as described for **39a** using **9** (20 mg, 38.1 μmol) and butanol (9 μL, 95 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10% w/w), pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **39d** (13 mg, 21.5 μmol, 57% yield) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). δ<sub>H</sub> (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.77 (2H, d, *J* 7.9, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.60 (2H, d, *J* 7.2, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.20 (4H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.00-6.92 (1H, m, NH Val<sub>3</sub>), 5.68-5.58 (1H, m, NH Ala<sub>1</sub>), 5.00-4.85 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.80-4.65 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>2</sub>), 4.50-3.70 (8H, m, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub>-OEt, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, N-O-CH<sub>2</sub> nBu), 2.30-2.00 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.80-1.10 (13H, m, N-O-CH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>-OEt, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>2</sub>), 1.00-0.80 (9H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> nBu). LRMS (ESI +) *m/z*: 604.4 (M+Na)<sup>+</sup>.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (39e)**

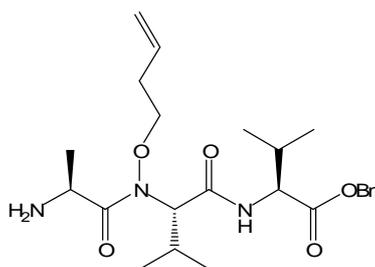
The title compound was prepared as described for **39a** using **6a** (29 mg, 46.4 μmol) and 3-buten-1-ol (10 μL, 116 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10% w/w), pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **39e** (15 mg, 21.8 μmol, 45% yield) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.56 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +4.1° (c 1.09 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.72-7.65 (1H, m, NH Val<sub>3</sub>), 7.64-7.58

(2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.43- 7.23 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.85-5.70 (1H, m, CH=), 5.58 (1H, d, *J* 7.7, NH Ala<sub>1</sub>), 5.20-5.00 (4H, m, CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>2</sub>=), 4.80-4.70 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.49 (1H, dd, *J* 4.3 and 8.4, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.45-4.32 (2H, m, CHH Fmoc, CH Fmoc), 4.28-4.20 (1H, m, CHH Fmoc), 4.10-3.85 (3H, m, N-O-CH<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 2.75-2.60 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.40-2.30 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.28-2.15 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.40 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.00 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.97 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.92 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.85 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.6, 171.4, 170.3 (C=O), 155.8 (C=O Fmoc), 144.2, 144.0, 141.5, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub> -OBn), 133.5 (CH=), 128.7, 128.5, 128.4, 127.9, 125.4, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 118.1 (CH<sub>2</sub>=), 75.8 (N-O-CH<sub>2</sub>), 74.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 67.2, 67.0 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 48.1 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 32.5 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.9, 19.7, 19.3, 18.7, 17.6 (CH<sub>3</sub>). IR: 3323, 2964, 2930, 1725, 1681, 1531, 1452, 1246, 760, 741. LRMS (ESI +) *m/z*: 692.1 (M+Na)<sup>+</sup>.



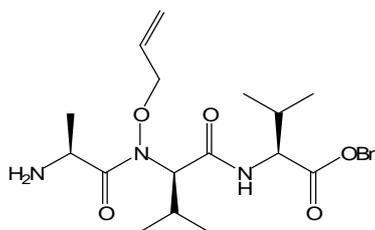
**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (39f)**

The title compound was prepared as described for **39a** using **6b** (100 mg, 162 μmol) and 3-buten-1-ol (34.7 μL, 406 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **39f** (47.4 mg, 71 μmol, 44% yield) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.65 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +25.3° (*c* 0.75 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.68 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.58-7.48 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.35- 7.15 (9H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.95 (1H, d, *J* 8.2, NH Val<sub>3</sub>), 5.80-5.62 (1H, m, CH=), 5.55 (1H, d, *J* 8.2, NH Ala<sub>1</sub>), 5.12-4.92 (4H, m, CH<sub>2</sub> -OBn, CH<sub>2</sub>=), 4.70-4.60 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.41 (1H, dd, *J* 4.6 and 8.4, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.33-4.25 (2H, m, CHH Fmoc, CH Fmoc), 4.22-4.05 (3H, m, CHH Fmoc, N-O-CHH, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 3.85-3.75 (1H, m, N-O-CHH), 2.55-2.40 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.31-2.20 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.18-2.05 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.31 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 0.93 (3H, d, *J* 6.5, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.89 (3H, d, *J* 6.4, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.83 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.77 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.4, 171.2, 170.3 (C=O), 155.8 (C=O Fmoc), 144.2, 144.0, 141.5, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.6 (C<sub>ar</sub> -OBn), 133.7 (CH=), 128.7, 128.5, 128.4, 127.8, 127.2, 125.4, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 117.9 (CH<sub>2</sub>=), 75.9 (N-O-CH<sub>2</sub>), 68.0 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 67.1, 67.0 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> -OBn), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 48.0 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.4 (CH Fmoc), 32.6 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 26.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.9, 19.7, 19.3, 18.8, 17.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3325, 2964, 2929, 1723, 1681, 1649, 1530, 1452, 1245, 741. LRMS (DCI +) *m/z*: 687.0 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>.



#### H-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**43a**)

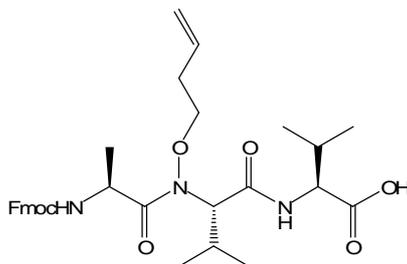
To a solution of **39e** (59 mg, 88 μmol) in THF (5 mL) at room temperature was added piperidine (1 mL). The mixture was stirred for 1h. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 100:0 to 90:10) gave **43a** (17 mg, 37 μmol, 42% yield) as a yellow oil. *R<sub>f</sub>* 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 90:10).  $[\alpha]_D^{25} +0.8^\circ$  (*c* 0.92 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.81 (1H, d, *J* 8.6, NH Val<sub>3</sub>), 7.40-7.25 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 5.85-5.65 (1H, m, CH=), 5.22-5.05 (4H, m, CH<sub>2</sub>-OBn, CH<sub>2</sub>=), 4.51 (1H, dd, *J* 4.5 and 8.8, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.02-3.70 (4H, m, N-O-CH<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 2.75-2.60 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.40-2.18 (3H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.29 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 0.99 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.95 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.94 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.88 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 178.5, 171.6, 171.0 (C=O), 135.7 (C<sub>ar</sub>), 133.5 (CH=), 128.7, 128.6, 128.4 (CH<sub>ar</sub>), 118.0 (CH<sub>2</sub>=), 75.4 (N-O-CH<sub>2</sub>), 74.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 67.0 (CH<sub>2</sub>-OBn), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.8 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 32.5 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.2 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 20.6, 19.9, 19.7, 19.4, 17.6 (CH<sub>3</sub>). IR: 3308, 3066, 3034, 2964, 2929, 2874, 1739, 1682, 1538, 1456, 1186, 1149, 698. LRMS (ESI+) *m/z*: 448.1 (M+H)<sup>+</sup>.



#### H-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OBn (**43b**)

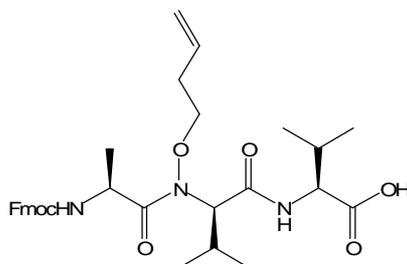
To a solution of **38c** (54 mg, 82.4 μmol) in THF (4 mL) at room temperature was added piperidine (1 mL). The mixture was stirred for 1h. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **43b** (22 mg, 51.4 μmol, 62% yield) as a yellow oil. *R<sub>f</sub>* 0.11 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +48.3^\circ$  (*c* 0.64 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.45-7.30 (5H, m, CH<sub>ar</sub>), 7.18 (1H, d, *J* 8.5, NH Val<sub>3</sub>), 5.95-5.78 (1H, m, CH=), 5.39-5.23 (2H, m, CH<sub>2</sub>=), 5.14 (2H, ABq, *J* 12.3,  $\delta_A$ - $\delta_B$  14.1, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.61-4.48 (2H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, N-O-CHH), 4.33-4.17 (2H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, N-O-CHH), 3.86 (1H, q, *J* 6.8, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 2.62-2.47 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.30-2.16 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.28 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.00 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.96 (3H, d, *J* 6.7, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>), 0.93 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>), 0.88 (3H, d, *J* 6.9, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 178.5, 171.6, 170.7 (C=O), 135.6 (C<sub>ar</sub>), 131.0 (CH=), 128.7 (2 peaks),

128.6, 128.4 (CH<sub>ar</sub>), 120.6 (CH<sub>2</sub>=), 77.6 (N-O-CH<sub>2</sub>), 68.1 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 67.1 (CH<sub>2</sub>-OBn), 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 47.8 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 30.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 26.1 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 20.9, 19.8, 19.7, 19.3, 17.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3310, 2965, 2929, 2872, 1739, 1685, 1653, 1534, 1457, 1188, 1149, 978. LRMS (DCI +) *m/z*: 434.1 (M+H)<sup>+</sup>.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OH (44a)**

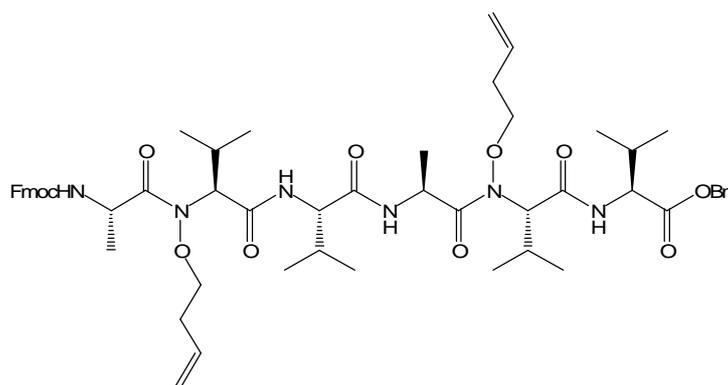
To a solution of **39e** (42 mg, 62.8 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) at room temperature was added BCl<sub>3</sub> (1M/hexane) (472 μL, 472 μmol). The mixture was stirred overnight. Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification by flash chromatography (Silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 98:2 to 90:10) gave **44a** (29 mg, 50.4 μmol, 80% yield) as a yellow oil. *R<sub>f</sub>* 0.13 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +10.9° (*c* 1.27 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.64 (1H, d, *J* 7.8, NH Val<sub>3</sub>), 7.60-7.55 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.42-7.25 (4H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 5.85-5.72 (1H, m, CH=), 5.63 (1H, d, *J* 8.1, NH Ala<sub>1</sub>), 5.17-5.05 (2H, m, CH<sub>2</sub>=), 4.81-4.69 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.44 (1H, dd, *J* 4.5 and 8.1, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 4.40-4.30 (2H, m, CHH Fmoc, CH Fmoc), 4.25-4.15 (1H, m, CHH Fmoc), 4.15-3.95 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>), 4.01 (1H, d, *J* 11.3, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 2.70-2.55 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.43-2.30 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.29-2.14 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.38 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.02-0.85 (12H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.9, 174.3, 170.4 (C=O), 156.1 (C=O Fmoc), 144.1, 144.0, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 133.5 (CH=), 127.9, 127.3, 125.4, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 118.2 (CH<sub>2</sub>=), 76.0 (N-O-CH<sub>2</sub>), 73.7 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>), 67.3 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 48.1 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 32.6 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.8, 19.7, 19.3, 18.4, 17.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3319, 3067, 2965, 2932, 1723, 1652, 1532, 1451, 1246, 758, 741. LRMS (ESI +) *m/z*: 602.1 (M+Na)<sup>+</sup>.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-OH (44b)**

To a solution of **39f** (35 mg, 52.9 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) at room temperature was added BCl<sub>3</sub> (1M/hexane) (0.5 mL, 0.5 mmol). The mixture was stirred overnight. Evaporation of the solvent under reduced pressure

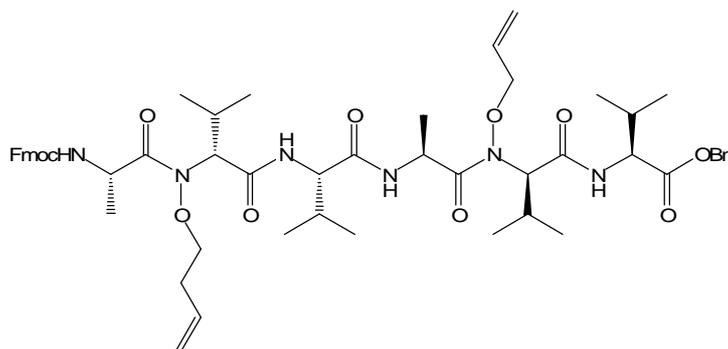
followed by purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **44b** (12 mg, 20.7  $\mu$ mol, 40% yield) as a yellow oil.  $R_f$  0.11 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} +13.0^\circ$  ( $c$  0.71 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d,  $J$  7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.73-7.65 (1H, m, NH Val<sub>3</sub>), 7.62-7.53 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.42-7.25 (4H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 5.85- 5.70 (1H, m, CH=), 5.57 (1H, d,  $J$  8.2, NH Ala<sub>1</sub>), 5.20-5.05 (2H, m, CH<sub>2</sub>=), 4.80-4.65 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>), 4.42 (1H, dd,  $J$  4.6 and 8.2, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 4.38-4.31 (2H, m, CHH Fmoc, CH Fmoc), 4.25-4.16 (1H, m, CHH Fmoc), 4.15-4.02 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>), 3.95 (1H, d,  $J$  11.1, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 2.72-2.57 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 2.45-2.33 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.30-2.15 (1H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 1.39 (3H, d,  $J$  6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.05-0.80 (12H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.9, 173.9, 170.6 (C=O), 156.0 (C=O Fmoc), 144.0, 141.5 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 133.5 (CH=), 127.9, 127.3, 125.4, 125.3, 120.2 (CH<sub>ar</sub>), 118.2 (CH<sub>2</sub>=), 75.9 (N-O-CH<sub>2</sub>), 74.2 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>), 67.3 (CH<sub>2</sub> Fmoc), 57.7 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>), 48.1 (CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 32.6 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>), 27.4 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>), 19.8, 19.7, 19.4, 18.4, 17.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3314, 3068, 2965, 2931, 1716, 1651, 1537, 1451, 1247, 759, 741. LRMS (DCI +)  $m/z$ : 580.1 (M+H)<sup>+</sup>, 597.6 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>- $\Psi$ [CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Ala<sub>4</sub>- $\Psi$ [CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-Val<sub>5</sub>-Val<sub>6</sub>-OBn (45a)**

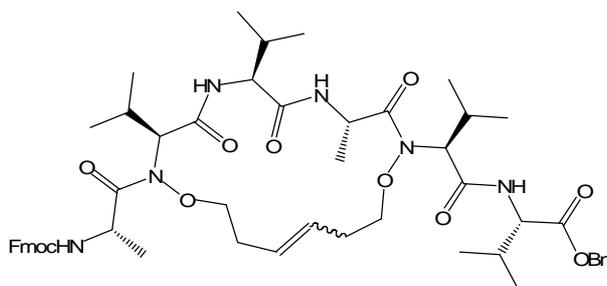
The title compound was prepared as described for **15** using **43a** (18 mg, 41.1  $\mu$ mol) and **44a** (25 mg, 43.8  $\mu$ mol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **45a** (27 mg, 26.7  $\mu$ mol, 65% yield) as a yellow oil.  $R_f$  0.40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5).  $[\alpha]_D^{25} -12.7^\circ$  ( $c$  0.94 in CHCl<sub>3</sub>).  $\delta_H$  (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.76 (2H, d,  $J$  7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.63-7.55 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.47 (1H, d,  $J$  8.7, NH Val<sub>6</sub>), 7.44-7.26 (10H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc, NH Val<sub>3</sub>), 6.69 (1H, d,  $J$  7.9, NH Ala<sub>4</sub>), 5.90-5.60 (3H, m, 2x CH=, NH Ala<sub>1</sub>), 5.24-5.02 (6H, m, CH<sub>2</sub>-OBn, 2x CH<sub>2</sub>=), 5.01-4.90 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>4</sub>), 4.83-4.70 (1H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Ala<sub>1</sub>), 4.48 (1H, dd,  $J$  4.3 and 8.4, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>6</sub>), 4.40-3.90 (10H, m, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>3</sub>, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>2</sub>, CH <sub>$\alpha$</sub>  Val<sub>5</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc, (2x) N-O-CH<sub>2</sub>), 2.70-2.50 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 2.50-2.27 (4H, m, (2x) N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.27-2.12 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>6</sub>), 1.41 (3H, d,  $J$  6.7, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.32 (3H, d,  $J$  6.9, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 1.07-0.80 (24H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>5</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>6</sub>).  $\delta_C$  (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.8, 174.2, 171.4, 170.1, 170.0, 169.8 (C=O), 155.8 (C=O Fmoc), 144.1, 144.0, 141.5 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub>-OBn), 133.6, 133.5 (CH=), 128.7, 128.5, 128.4,

127.9, 127.2, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 118.1, 118.0 (CH<sub>2</sub>=), 76.0, 75.9 (N-O-CH<sub>2</sub>), 73.5, 72.8 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>5</sub>), 67.2, 67.0 (CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>2</sub> OBn), 58.8 (CH<sub>α</sub> Val<sub>6</sub>), 57.4 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 48.0 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 46.1 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>), 32.6, 32.5 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.7 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>6</sub>), 27.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 19.9, 19.8, 19.7, 19.5, 19.3, 18.5, 17.9, 17.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3312, 3067, 2963, 2931, 2874, 1744, 1724, 1682, 1641, 1538, 1453, 1246, 740. LRMS (ESI +) *m/z*: 1031.5 (M+Na)<sup>+</sup>.



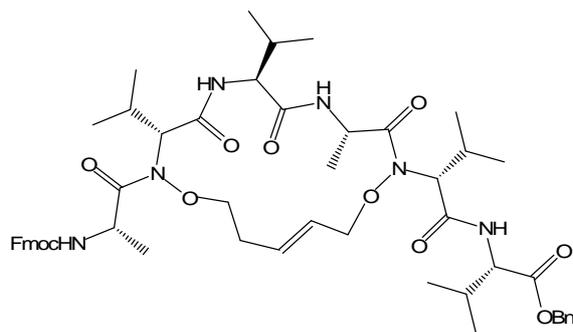
**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Ala<sub>4</sub>-Ψ[CO-N(O-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>)]-D-Val<sub>5</sub>-Val<sub>6</sub>-OBn (45b)**

The title compound was prepared as described for **15** using **43b** (8 mg, 19.2 μmol) and **44b** (9.8 mg, 16.9 μmol). Purification by flash chromatography (Silica gel, pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave **45b** (12 mg, 12.1 μmol, 71% yield) as a yellow oil. *R<sub>f</sub>* 0.40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +22.8° (*c* 0.69 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.76 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.65-7.55 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.45-7.25 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val 6), 7.05-6.90 (1H, m, NH Val<sub>3</sub>), 6.70-6.60 (1H, m, NH Ala<sub>4</sub>), 5.95-5.70 (3H, m, 2x CH=, NH Ala<sub>1</sub>), 5.40-4.95 (6H, m, CH<sub>2</sub>-OBn, 2x CH<sub>2</sub>=), 4.95-4.86 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>), 4.82-4.75 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.67-4.55 (1H, m, NO-CHH-CH=), 4.52-4.35 (3H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>6</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, NO-CHH-CH=), 4.34-4.15 (6H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>5</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc, N-O-CHH), 4.00-3.90 (1H, m, N-O-CHH), 2.63-2.41 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 2.40-2.29 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.28-2.17 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>6</sub>), 1.45-1.20 (6H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 1.05-0.80 (24H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>5</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>6</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 174.2, 171.4, 171.2, 170.1, 169.8 (C=O), 155.8 (C=O Fmoc), 144.1, 144.0, 141.5 (CH Fmoc), 135.7 (C<sub>ar</sub>-OBn), 133.7 (CH=), 130.9 (NO-CH<sub>2</sub>-CH=), 128.8, 128.7, 128.5 (2 peaks), 127.9, 127.3, 125.3 (CH<sub>ar</sub>), 121.0 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 120.2 (CH<sub>ar</sub>), 117.9 (N-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 77.9, 76.0 (N-O-CH<sub>2</sub>), 68.4, 67.9 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>5</sub>), 67.2, 67.0 (CH<sub>2</sub> OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc), 58.9, 57.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>6</sub>), 48.4 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub> or 4), 47.4 (CH Fmoc), 46.6 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub> or 1), 32.7 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.8, 30.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>6</sub>), 26.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 19.9, 19.8, 19.7, 19.5, 19.2, 18.7, 18.6, 17.9, 17.8, 17.7 (CH<sub>3</sub>). IR: 3324, 3067, 2965, 2932, 2874, 1724, 1650, 1529, 1452, 1246, 741. LRMS (ESI +) *m/z*: 1017.2 (M+Na)<sup>+</sup>.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=\*)]-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Ala<sub>4</sub>-Ψ[CO-N(O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH\*=)]-Val<sub>5</sub>-Val<sub>6</sub>-OBn (46a)**

To a solution of **45a** (19 mg, 18.6 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL), Grubbs' catalyst was added in three times: first 1.6 mg, 1.9 μmol then 0.8 mg, 0.9 μmol after 6h and 0.8 mg, 0.9 μmol after 12h. The reaction was stirred as a result for 20 hours after which, the mixture was washed with brine and extracted. Organic phases were united, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated and evaporated. Flash chromatography (Silica gel + Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10% w/w), pentane-EtOAc 9:1 to 1:1) gave a 8:2 mixture of two compounds (13 mg, 13.1 μmol, 66% yield). *R<sub>f</sub>* 0.27 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (2H, d, *J* 7.4, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.63-7.50 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.46 (1H, d, *J* 7.0, NH Val<sub>6</sub>), 7.42-7.25 (10H, m, CH<sub>ar</sub>, NH Val<sub>3</sub>), 6.37-6.28 and 6.00-5.95 (1H, ratio 8:2, m, NH Ala<sub>4</sub>), 5.75-5.55 (2H, m, CH=, NH Ala<sub>1</sub>), 5.55-5.43 (1H, m, CH=), 5.12 (2H, ABq, *J* 12.3, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 57.1, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.85-4.65 (6H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>, 2xN-O-CH<sub>2</sub>), 4.50-3.62 (7H, m, CH<sub>α</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>5</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>6</sub>, CH Fmoc, CH<sub>2</sub> Fmoc), 2.80-2.50 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 2.40-2.00 (4H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 1.45 (3H, d, *J* 6.8, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.50-1.25 (6H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 1.10-0.78 (24H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>5</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>6</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) Major compound: 174.5, 172.7, 171.4, 171.2, 170.4, 170.2, 169.5 (C=O), 155.8 (C=O Fmoc), 144.3, 141.5, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 136.0 (C<sub>ar</sub> OBn), 130.7 (CH=), 128.6, 128.4, 128.3, 127.8, 127.2, 127.0, 126.7, 125.4, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 76.3 (2x N-O-CH<sub>2</sub>), 73.8 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 67.2, 66.8, 66.7 (CH<sub>2</sub> OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 60.8, 57.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3 and 6</sub>), 48.6 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1 or 4</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 46.6 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1 or 4</sub>), 31.1 (2x N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.6, 30.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3 and 6</sub>), 27.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2 and 5</sub>), 20.5, 19.9, 19.8, 19.7, 19.4, 19.3, 19.2, 19.0, 17.8, 17.6 (CH<sub>3</sub>). Minor Compound: 174.5, 172.7, 171.4, 171.2, 170.4, 170.2, 169.5 (C=O), 155.8 (C=O Fmoc), 144.3, 141.5, 141.4 (C<sub>ar</sub> Fmoc), 136.0 (C<sub>ar</sub> OBn), 130.7 (CH=), 128.6, 128.4, 128.3, 127.8, 127.2, 127.0, 126.7, 125.4, 125.3, 120.1 (CH<sub>ar</sub>), 76.1 (2x N-O-CH<sub>2</sub>), 72.6 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 67.2, 66.8, 66.7 (CH<sub>2</sub> OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 59.5, 57.4 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3 and 6</sub>), 48.3 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1 or 4</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 47.1 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1 or 4</sub>), 30.9 (2x N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.6, 30.3 (2x CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3 and 6</sub>), 27.3 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2 and 5</sub>), 20.5, 19.9, 19.8, 19.7, 19.4, 19.3, 19.2, 19.0, 17.8, 17.6 (CH<sub>3</sub>). IR: 3318, 3063, 3033, 2965, 2924, 2872, 1714, 1664, 1541, 1458, 1246, 739. HRMS (ESI +) *m/z*: found, 981.53157; C<sub>54</sub>H<sub>73</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub> requires 981.53318.



**Fmoc-Ala<sub>1</sub>-Ψ[CO-N(O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=\*)]-D-Val<sub>2</sub>-Val<sub>3</sub>-Ala<sub>4</sub>-Ψ[CO-N(OCH<sub>2</sub>CH\*=)]-D-Val<sub>5</sub>-Val<sub>6</sub>-OBn (46b)**

To a solution of **45b** (7.4 mg, 7.4 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL), Grubbs' catalyst (0.6 mg, 0.7 μmol) was added and the reaction was stirred for 12 hours. The mixture was washed with brine and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic phases were united, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated and evaporated. Flash chromatography (Silica gel, diethyl ether) gave **46b** (6.1 mg, 6.3 μmol, 85% yield) as a colourless oil. *R<sub>f</sub>* 0.23 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5). [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +26.7° (*c* 0.56 in CHCl<sub>3</sub>). δ<sub>H</sub> (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.76 (2H, d, *J* 7.6, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.71 (1H, d, *J* 7.6, NH Val<sub>6</sub>), 7.63-7.54 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.44-7.36 (2H, m, CH<sub>ar</sub> Fmoc), 7.35-7.25 (7H, m, CH<sub>ar</sub>), 6.62 (1H, d, *J* 6.9, NH Val<sub>3</sub>), 6.42-6.37 (1H, m, NH Ala<sub>4</sub>), 5.87-5.72 (2H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CH=, NH Ala<sub>1</sub>), 5.57 (1H, dt, *J* 7.0 and 15.9, CH=), 5.14 (2H, ABq, *J* 12.5, δ<sub>A</sub>-δ<sub>B</sub> 8.3, CH<sub>2</sub>-OBn), 4.92-4.81 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>1</sub>), 4.78-4.70 (1H, m, CH<sub>α</sub> Ala<sub>4</sub>), 4.70-4.60 (1H, m, N-O-CHH<sub>Allyl</sub>), 4.74 (1H, d, *J* 11.0, CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 4.50 (1H, dd, *J* 5.8 and 7.8, CH<sub>α</sub> Val<sub>6</sub>), 4.42-4.22 (4H, m, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 4.18-4.08 (1H, m, N-O-CHH<sub>Allyl</sub>), 4.05-3.84 (3H, m, N-O-CH<sub>2</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>), 2.59-2.44 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 2.42-2.28 (1H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CHH), 2.25-2.12 (1H, m, N-O-CH<sub>2</sub>-CHH), 2.08-1.96 (2H, m, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>6</sub>), 1.45-1.40 (3H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>1</sub>), 1.27-1.20 (3H, m, CH<sub>3</sub> Ala<sub>4</sub>), 1.09-0.80 (24H, m, CH<sub>3</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>5</sub>, CH<sub>3</sub> Val<sub>6</sub>). δ<sub>C</sub> (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 175.3, 175.1, 171.9, 170.6, 170.2, 169.3, (C=O), 156.0 (C=O Fmoc), 144.2, 143.9, 141.5 (2 peaks) (C<sub>ar</sub> Fmoc), 135.8 (C<sub>ar</sub> OBn), 128.7, 128.5, 128.3, 127.9 (2 peaks), 127.2 (CH<sub>ar</sub>), 125.7, 125.4 (CH=), 120.2 (CH<sub>ar</sub>), 76.5, 75.3 (N-O-CH<sub>2</sub>), 67.4, 66.9 (CH<sub>2</sub> OBn, CH<sub>2</sub> Fmoc, CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 64.5 (CH<sub>α</sub> Val<sub>2 or 5</sub>), 61.2, 58.0 (CH<sub>α</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>α</sub> Val<sub>6</sub>), 48.2, 48.1 (CH<sub>α</sub> Ala<sub>1 and 4</sub>), 47.3 (CH Fmoc), 34.4 (N-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 30.8, 30.5 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>3</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>6</sub>), 27.6, 26.8 (CH<sub>iPr</sub> Val<sub>2</sub>, CH<sub>iPr</sub> Val<sub>5</sub>), 20.3, 19.9 (2 peaks), 19.5, 19.4, 19.3, 18.8, 18.1, 17.5 (CH<sub>3</sub>). IR: 3320, 2961, 2925, 2872, 2853, 1736, 1660, 1537, 1452, 1259, 1151, 758, 741. LRMS (ESI +) *m/z*: 989.3 (M+Na)<sup>+</sup>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques

1. L. Stryer, J. M. Berg and J. L. Tymoczko, "Biochimie", Flammarion Medecine-Sciences, Flammarion, 5<sup>ème</sup> Ed., 2003.
2. Images extraites de <http://www.callisto.si.usherb.ca/~bcm514/2b.html>, site de l'université de Sherbrooke, consulté le 26 Août 2006.
3. John Jones, "Amino acid and peptide synthesis", second edition, Oxford Chemistry Primers, **2002**, P25.
4. F. Albericio and L. A. Carpino "Coupling reagents and activation." *Methods Enzymol.*, **1997**, 289, 104-126.
5. John Jones, "Amino acid and peptide synthesis", second edition, Oxford Chemistry Primers, **2002**, P39.
6. J. Sheehan, J. Preston and P. Cruickshank. "A rapid synthesis of oligopeptide derivatives without isolation of intermediates" *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 2492-2493.
7. G. Windridge and E. Jorgensen. "1-Hydroxybenzotriazole as a Racemization-Suppressing Reagent for the Incorporation of *im*-Benzyl *c*-histidine into Peptides" *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 71, 6318-6319.
8. L. A. Carpino. "1-Hydroxy-7-azabenzotriazole. An efficient Peptide Coupling Additive" *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4397-4398.
9. B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin et C. Selve. "Réactifs de couplage peptidique IV (1)-l'hexafluorophosphate de benzotriazolyl *N*-oxytrisdiméthylamino phosphonium (BOP)" *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 14, 1219-1222.
10. J. M. Humphrey and A. R. Chamberlin. "Chemical synthesis of natural product peptides: coupling methods for the incorporation of noncoded amino acids into peptides" *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 2243-2266.
11. M. Schelhaas and H. Waldmann. "Protecting groups strategies in organic synthesis" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 2056-2083.
12. T. W. Greene and P. G. M. Wuts. "Protective groups in organic synthesis" 3<sup>rd</sup> Ed., **1999**, Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Inc., P729 and P737.
13. R. B. Merrifield. "Solid phase synthesis. The synthesis of a tetrapeptide" *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 2149-2154.
14. H. C. J. Ottenheijm and J. D. M. Herscheid. "*N*-hydroxy- $\alpha$ -amino Acids in Organic Chemistry" *Chem. Rev.*, **1986**, 86, 697-707.

15. V. Dupont, A. Lecoq, J.-P. Mangeot, A. Aubry, G. Boussard and M. Marraud. "Conformational perturbations Induced by *N*-Amination and *N*-Hydroxylation of Peptides" *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 8898-8906.
16. <sup>1</sup> Y. Takeuchi and G. R. Marshall. "Conformational Analysis of Reverse-Turn Constraints by *N*-Methylation and *N*-Hydroxylation of Amide Bonds in Peptides and Non-Peptide Mimetics" *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 5363-5372.
17. A. Bianco, C. Zabel, P. Walden and G. Jung. "*N*-Hydroxy-amide Analogues of MHC-Class I Peptide Ligands with Nanomolar Binding Affinities" *J. Peptide Sci.*, **1998**, *4*, 471-478.
18. A. Bianco, D. Kaiser and G. Jung. "*N*-Hydroxy peptides as substrates for  $\alpha$ -chymotrypsin" *J. Peptide Res.*, **1999**, *54*, 544-548.
19. M. Marastoni, M. Bazzaro, S. Salvadori, F. Bortolotti and R. Tomatis. "HIV-1 Protease Inhibitors Containing an *N*-hydroxyamino Acid Core Structure" *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, *9*, 939-945.
20. K. Umezawa, K. Nakazawa, Y. Ikeda, H. Naganawa and Shinichi Kondo. "Polyoxypeptins A and B Produced by *Streptomyces*: Apoptosis-inducing Cyclic Depsipeptides Containing the Novel Amino Acid (2*S*,3*R*)-3-Hydroxy-3-methylproline" *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 3034-3038.
21. K. Umezawa, Y. Ikeda, O. Kawase, H. Naganawa and Shinichi Kondo. "Biosynthesis of Polyoxypeptin A: novel amino acid 3-hydroxy-3-methylproline derived from isoleucine" *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, **2001**, 1550-1553.
22. C. J. Marmion, D. Griffith and K. B. Nolan. "Hydroxyamic Acids - An Intriguing Family of Enzymes Inhibitors and Biomedical Ligands" *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2004**, 3003-3016.
23. E.M.F. Muri, M.J. Nieto, R.D. Sindelar and J.S. Williamson. "Hydroxamic Acids as Pharmacological Agents" *Curr. Med. Chem.*, **2002**, *9*, 1631-1653.
24. R. J. Davenport and R. J. Watson. "An improved synthesis of the broad spectrum matrix metalloprotease inhibitor marimastat" *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 7983-7986.
25. T. Kiss and E. Farkas. "Metal-binding Ability of Desferrioxamine B." *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, **1998**, *32*, 385-403.
26. K. Shimizu, M. Hasegawa and M. Akiyama. "*N*-hydroxy amides. I. Synthesis of *N*-Benzyloxy and *N*-hydroxy Peptides via Polymerization of *N*-Benzyloxy DL- $\alpha$ -amino Acid *N*-Carboxy anhydrides" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1984**, *57*, 495-499.
27. K. Shimizu, K. Nakayama and M. Akiyama. "*N*-hydroxy amides. II. *N*-Benzyloxy and *N*-hydroxy succinimide Esters and Synthesis of a Hexapeptide Having an alternating *N*-Hydroxy Amide-Amide Sequence" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1984**, *57*, 2456-2462.
28. M. Akiyama, K. Iesaki, A. Katoh and K. Shimizu. "*N*-Hydroxy amides. Part 5. Synthesis and properties of *N*-hydroxypeptides having Leucine enkephalin Sequences", *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1986, 851-855.
29. Y. Hara and M. Akiyama. "An Iron Reservoir Model Based on Ferrichrome : Irons(III)-Binding and Metal(III)-Exchange Properties of Tripodal Monotopic and Ditopic Hydroxamate Ligands with an L-Alanyl-L-alanyl-*N*-hydroxy- $\beta$ -alanyl Sequence" *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 7247-7256.
30. Y. Ye, M. Liu, J. L.-K. Kao and G. Marshall. "Peptide-Bond Modification for Metal Coordination: Peptides Containing two Hydroxamate Groups" *Biopolymers (Pept. Sci.)*, **2003**, *71*, 489-515.
31. M. J. Kelso, H. N. Hoang, T. G. Appleton and D. P. Fairlie. "The First Solution Structure of a Single  $\alpha$ -Helical Turn. A Pentapeptide  $\alpha$ -Helix stabilized by a Metal Clip" *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 10488-10489.
32. M. Albrecht, P. Stortz, M. Engeser and C. Schalley. "Solid-Phase Synthesis of a Double 4-Pyridinyl Terminated Leu-Ala-Leu Tripeptide and Macrocyclization by Palladium (II) Coordination" *Synlett.*, **2004**, *15*, 2821-2823.
33. M. Marraud and R. Vanderesse. Houben-Weyl, "Methods of Organic chemistry", 4<sup>th</sup> ed., Vol E22c; M. Goodman, Ed.; Thieme: Stuttgart, **2003**.
34. M. D. Wittman, R. L. Halcomb and S. J. Danishefsky. "On the Conversion of Biologically Interesting Amines to Hydroxylamines" *J. Org. Chem.*, **1990**, *55*, 1981-1983.
35. A. Detomaso and R. Curci. "Oxydation of natural targets by dioxiranes. Part4: A novel approach to the synthesis of *N*-hydroxyamino acids using dioxiranes" *Tetrahedron. Lett.*, **2001**, *42*, 755-758.
36. W.D. Emmons. "The preparation and properties of Oxaziranes" *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 5739-5754.
37. T. Polonski and A. Chimiak. "Oxydation of amino acids esters into *N*-hydroxyamino acid derivatives" *Tetrahedron Lett.*, **1974**, *28*, 2453-2456.
38. G. Grundke, W. Keese and M. Rimpler. "Optically Active *N*-Hydroxy- $\alpha$ -L-Amino Acid Methyl Esters: An Improved and Simplified Synthesis." *Synthesis*, **1987**, 1115-1116.

39. <sup>1</sup> R.W. Feenstra, E.H.M. Stokkingreef, A.M. Reichwein, W.B.H. Lousberg and H.C.J. Ottenheijm. "Oxidative Preparation of Optically Active N-hydroxy- $\alpha$ -amino Acids Amides." *Tetrahedron*, **1990**, *46* (5), 1745-1756.
40. M. L. Di Gioia, A. Leggio, A. Le Pera, A. Liguori and C. Siciliano. "Optically Pure N-Hydroxy-O-triisopropylsilyl- $\alpha$ -L-amino Acid Methyl Esters from AlCl<sub>3</sub>-Assisted Ring Opening of Chiral Oxaziridine by Nitrogen containing Nucleophiles" *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 10494-10501.
41. L. Neelakantan and W. H. Hartung. " $\alpha$ -Hydroxylamino Nitriles and  $\alpha$ -Hydroxylamino Acids" *J. Org. Chem.*, **1958**, *23*, 964-967.
42. E. Buehler and G. B. Brown. "A General Synthesis of N-hydroxyamino Acids" *J. Org. Chem.*, **1967**, *32*, 265-267.
43. T. Polonski and A. Chimiak. "Nitrones as intermediates in the synthesis of N-Hydroxyamino Acid Esters" *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 2092-2095.
44. T. Kolasa and A. Chimiak. "O-protected derivatives of N-hydroxyamino acids" *Tetrahedron*, **1974**, *30*, 3591-3595.
45. R.W. Feenstra, E.H.M. Stokkingreef, R.J.F. Nivard and H.C.J. Ottenheijm. "Interconversion of (R) and (S)-O-benzyl- $\alpha$ -hydroxylamino acid esters of high optical purity." *Tetrahedron*, **1988**, *44* (17), 5583-5595.
46. R.W. Feenstra, E.H.M. Stokkingreef, R.J.F. Nivard and H.C.J. Ottenheijm. « An efficient synthesis of N-hydroxy- $\alpha$ -amino acid derivatives of high optical purity. » *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 1215-1218.
47. O. Mitsunobu. "The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in synthesis and Transformation of Natural Products" *Synthesis*, **1981**, 1-28
48. T. Kolasa and M. J. Miller. "Reactions of  $\alpha$ -Hydroxy Carbonyl Compounds with Azodicarboxylates and Triphenylphosphine: Synthesis of  $\alpha$ -N-Hydroxy Amino Acid derivatives." *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 4978-4984.
49. S. Hanessian and R.Y. Yang. "Synthesis of N-hydroxy  $\alpha$ -Amino Acids from  $\alpha$ -Hydroxy Acids with High Enantiomeric Purity." *Synlett*, **1995**, 633-634.
50. W. Oppolzer and O. Tamura. "Asymmetric synthesis of  $\alpha$ -amino acids and  $\alpha$ -N-hydroxyamino acids via electrophilic amination of bornanesultam-derived enolates with 1-chloro-1-nitrosocyclohexane." *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31* (7), 991-994.
51. S.I. Murahashi and T. Shiota. "Short-Step Synthesis of Amino Acids and N-Hydroxyamino Acids from Amines" *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 6469-6472.
52. P. Merino and S. Franco. "Asymmetric Addition Reactions of Lithium (Trimethylsilyl)acetylide with Chiral  $\alpha$ -Amino Nitrones. Synthesis of Diastereomerically Pure N-Hydroxy- $\alpha$ -amino Acids" *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 5627-5630.
53. a) T. Kolasa, S. Sharma and M. J. Miller. "Reactions of organometallics with oximes. Synthesis of  $\alpha$ -N-hydroxy amino acids" *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28* (42), 4973-4976. b) T. Kolasa, S. Sharma and M. J. Miller. " $\alpha$ -N-Hydroxyamino Acid derivatives" *Tetrahedron*, **1988**, *44* (17), 5431-5440.
54. S. Hanessian and R.-Y. Yang. "The Asymmetric Synthesis of Allylglycine and Other Unnatural  $\alpha$ -Amino Acids via Zinc-Mediated allylation of Oximes in Aqueous Media" *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37* (30), 5273-5276.
55. H. Miyabe, C. Ushiro, M. Ueda, K. Yamakawa and T. Naito. "Asymmetric Synthesis of  $\alpha$ -Amino Acids Based on Carbon Radical Addition to Gloxylic Oxime Ether" *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 176-185.
56. H. Miyabe, Y. Yamaoka, T. Naito and Y. Takemoto. "Regioselectivity in Palladium-Indium Iodide – Mediated Allylation Reaction of Glyoxylic Oxime Ether and N-Sulfonylimine" *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 6745-6751.
57. P. Merino, E. Castillo, S. Franco, F. L. Merchan and T. Tejero. "Enantiodivergent Approach to D- and L-Secondary N-Hydroxy- $\alpha$ -amino Acids by Using N-Benzyl-2,3-O-isopropylidene-D-glyceraldehyde Nitron as an Effective N-Hydroxyglycine Cation Equivalent" *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 2371-2374.
58. P. Merino. "New developments in nucleophilic additions to nitrones" *C. R. Chimie*, **2005**, *8*, 775-788.
59. P. Chittari, V. R. Jadhav, K. N. Ganesh and S. Rajappa. "Synthesis and metal complexation of chiral 3-mono- or 3,3-bis-allyl-2-hydroxypyrrrolopyrazine-1,4-diones" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1998**, 1319-1324.
60. a) H. Feuer, R. S. Bartlett, B. F. Vincent, Jr. and R. S. Anderson. "Diborane Reduction of Nitro Salts. A New synthesis of N-Monosubstituted Hydroxylamines" *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*, 2880-2882. b) G. W. Kabalka and L. H. M. Guindi "Selected reductions of conjugated nitroalkenes" *Tetrahedron*, **1990**, *46* (21), 7443-7457.
61. H. Feuer, B. F. Vincent, Jr. and R. S. Bartlett. "The Reduction of Oximes with Diborane. A new Synthesis of N-Monosubstituted Hydroxylamines" *J. Org. Chem.*, **1965**, *30* (9), 2877-2879.
62. E. G. E. Jahngen, Jr. and E. F. Rossomando. "The synthesis of hadacidin: sodium cyanoborohydride reduction of  $\alpha$ -oximinic acids" *Synth. Commun.*, **1982**, *12* (8), 601-606.

63. R. Zimmer, T. Arnold, K. Homann and H. -U. Reissig. "An Efficient and Simple Synthesis of 3,4,5,6,-Tetrahydro-2H-1,2-oxazines by Sodium Cyanoborohydride Reduction of 5,6-Dihydro-4H-1,2-oxazines" *Synthesis*, **1994**, 1050-1056.
64. Y. Kikugawa and M. Kawase. "Selective reduction of oximes with pyridine-borane" *Chem. Letters*, **1977**, 1279-1280.
65. J. D. M. Herscheid and H. C. J. Ottenheijm. "A practical synthesis of N-hydroxy- $\alpha$ -amino acid esters" *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 51, 5143-5144.
66. J. D. M. Herscheid, R. J. F. Nivard, M. W. Tijhuis, H. P. H. Scholten and H. C. J. Ottenheijm. " $\alpha$ -Functionalized Amino Acid Derivatives. A synthetic Approach of Possible Biogenetic Importance" *J. Org. Chem.*, **1980**, 45 (10), 1881-1885.
67. M. W. Tijhuis, J. D. M. Herscheid and H. C. J. Ottenheijm. "A practical Synthesis of N-Hydroxy- $\alpha$ -amino Acid Derivatives" *Synthesis*, **1980**, 891.
68. H. O.J. Ottenheijm, R. Plate, J. H. Noordik and J. D. M. Herscheid. "N-Hydroxytryptophan in the Synthesis of Natural Products Containing Oxidized Dioxopiperazines. An Approach to the Neoechinulin and Sporidesmin Series" *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2147-2154.
69. W. Jencks. "The Reaction of Hydroxylamine with Activated Acyl Groups. I. Formation of O-Acylhydroxylamine" *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 4581-4584.
70. W. Jencks. "The Reaction of Hydroxylamine with Activated Acyl Groups. II. Mechanism of the Reaction" *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 4585-4589.
71. T. Kolasa and A. Chimiak. "Unambiguous Synthesis of N-hydroxy-peptides" *Tetrahedron*, **1977**, 33, 3285-3288.
72. S. D. Young and P. P. Tamburini. "Enzymatic Peptidyl  $\alpha$ -Amidation Proceeds through Formation of an  $\alpha$ -Hydroxyglycine Intermediate" *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 1933-1934.
73. L. Nakonieczna and A. Chimiak. "A New Synthesis of N-hydroxyamides Using Trimethylsilyl Protection" *Synthesis*, **1987**, 418-420.
74. Y. Jin and D. H. Kim. "D-Stereospecificity in the inhibition of thermolysin by N-acyl-N-hydroxy- $\alpha$ -amino acid esters" *Tetrahedron Asymm.*, **1997**, 8 (22), 3699-3702.
75. K. Shimizu, K. Nakayama and M. Akiyama. "N-Hydroxy Amides. II. N-Benzoyloxy  $\alpha$ -Amino Acid N-Hydroxy-succinimide Esters and Synthesis of a Hexapeptide Having an Alternating N-Hydroxy Amide-Amide Sequence" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1984**, 57, 2456-2462.
76. O. Neunheffer, G. Lehmann, D. Haberer and G. Steinle. "The hydroxylamino lysis of N-substituted phthalimide, a method for the preparation of peptides and N-hydroxy-peptides" *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 712, 208-213.
77. A. Chimiak and T. Polonski. "The use of o-nitrophenylsulfenyl-N-carboxyanhydrides in N-hydroxy-peptides synthesis" *J. Prakt. Chem.*, **1980**, 322, 669-673.
78. J. Hu and M. J. Miller. "Total Synthesis of a Mycobactin S, a Siderophore and Growth Promoter of Mycobacterium Smegatis, and Determination of its Growth Inhibitory Activity against Mycobacterium tuberculosis" *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 3462-3468.
79. P. Maire, V. Blandin, M. Lopez and Y. Vallée. "Straightforward Synthesis of N-Hydroxy Peptides" *Synlett*, **2003**, 5, 671-674.
80. M. D. Fletcher and M. M. Campbell. "Partially Modified Retro-inverso Peptides: Development, Synthesis, and Conformational Behavior" *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 763-795.
81. I. T. Lim, S. O. Meroueh, M. Lee, M. J. Heeg and S. Mobashery, "Strategy in Inhibition of Cathepsin B, A Target in Tumor Invasion and Metastasis" *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 10271-10277.
82. J. Giovannoni, C. Didierjean, P. Durand, M. Marraud, A. Aubry, P. Renaut, J. Martinez and M. Amblard. "Synthesis and Structure of Symmetrical Bicyclic Hexapeptides Bridged by Metathesis Reaction" *Org. Lett.*, **2004**, 6, 3449-3452.
83. R. N. Chapman, G. Dimartino and P. S. Arora. "A Highly Stable  $\alpha$ -Helix Constrained by a Main-Chain Hydrogen-Bond Surrogate" *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 12252-12253.
84. N. Kise, S. Takaoka, M. Yamauchi and N. Ueda. "Stereoselective reduction of N-hydroxy- $\alpha$ -iminocarbonyl-oligopeptide methyl esters with Zn-MsOH" *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (41), 7297-7300.
85. L. Yang, R.-X. Tan, Q. Wang, W.-Y. Huang and Y.-X. Yin. "Antifungal cyclopeptides from *Holbacillus litoralis* YS3106 of marine origin" *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 6545-6548.
86. Christian Fizet. "Synthèse de la diméthyl-4,4-dihydrofuranedione-2,3" *Helvetica Chimica Acta*, **1982**, 65 (7), 2024-2028.
87. a) H. C. J. Ottenheijm and J. H. M. De Man. "Synthesis of  $\alpha$ -Keto Acid Chlorides" *Synthesis*, **1975**, 163-164. b) H. C. J. Ottenheijm and M. W. Tijhuis. "Acid chlorides from  $\alpha$ -Keto Acids with  $\alpha$ , $\alpha$ -dichloromethyl methyl ether : pyruvoyl chloride" *Org. Synth.*, **1983**, 61, 1-4.

88. J.-S. Yao and Y.-S. Wu. "Synthesis of chiral depsipeptide building block via asymmetric hydrosilylation" *Synth. Commun.*, **2002**, 32 (4), 535-556.
89. M. A. Berliner and K. Belecki. "Simple, Rapid Procedure for the Synthesis of Chloromethyl Methyl Ether and Other Chloro Alkyl Ethers" *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 9618-9621.
90. T. Munegumi and K. Harada. "Asymmetric Catalytic Hydrogenation of Oximes and Benzylimino Derivatives of Chiral Pyruvamides" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1988**, 61, 1425-1427.
91. D. P. Curran, X. Gu, W. Zhang and P. Dowd. "On the Mechanism of the Intramolecular Samarium Barbier Reaction. Probes for Formation of Radical and Organosamarium Intermediates" *Tetrahedron*, **1997**, 53, 9023-9042.
92. I. E. Kopka. "Selective semisynthetic modification of L-156,602, a novel cyclic hexadepsipeptide antibiotic" *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 4711-4714.
93. A. Hassner and V. Alexanian. "Direct room temperature esterification of carboxylic acids" *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 46, 4475-4478.
94. J. Boivin, A.-C. Callier-Dublanchet, B. Quiclet-Sire, A.-M. Schiano and S. Z. Zard. "Iminyl, Amidyl, and Carbamyl Radicals from *O*-Bzoyl Oximes and *O*-Benzoyl Hydroxamic Acid Derivatives" *Tetrahedron*, **1995**, 51 (23), 6517-6528.
95. A. J. Clark, Y. S. S. Al-Faiyz, M. J. Broadhurst, D. Patel and J. L. Peacock. "Base catalysed rearrangement of *N*-alkyl-*O*-acyl hydroxamic acids: synthesis of 2-acyloxyamides" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 1117-1127.
96. C. M. Dooley, M. Devocelle, B. McLoughlin, K. B. Nolan, D. J. Fitzgerald and C. T. Sharkey. "A Novel Family of Hydroxamate-Based Acylating Inhibitors of Cyclooxygenase" *Mol. Pharmacol.*, **2003**, 63, 450-455.
97. T. W. Greene and P. G. M. Wuts. "Protective groups in organic synthesis" 3<sup>rd</sup> Ed., **1999**, Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Inc., P507 and P737.
98. P. Phukan. "Iodine as an extremely powerful catalyst for the acetylation of alcohols under solvent-free conditions" *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4785-4787.
99. Les différentes méthodes d'acylation seront notées méthodes A,B...S tout au long de ce chapitre.
100. D. L. Comins and A. H. Abdullah. "Synthesis of 1-Acyl-1,4-dihydropyridines via Copper Hydride Reduction of 1-Acylpyridinium Salts" *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 3392-3394.
- † La silice de la colonne chromatographique traitée par la triéthylamine ne permet pas de récupérer le produit propre.
101. D. De, M. Seth, S. Chandra and A. P. Bhaduri. "Reversal of chloroquine resistance: synthesis and biological evaluation of substituted alkanolamines and diaminobutanes" *Ind. J. Chem., (section B: Org. Chem. Inc. Med. Chem.)*, **1989**, 28 B, 146-149.
102. S. Pathirana and W. C. Neely. "Interaction of Valinomycin and Stearic Acid in Monolayers" *Langmuir*, **1992**, 8, 1984-1987.
103. D. Yamashiro. "Preparation and properties of some crystalline symmetrical anhydrides of *N*<sup>α</sup>-tert.-butyloxycarbonyl-amino acids" *Int. J. Peptide Protein Res.*, **1987**, 30, 9-12.
- † Un essai avec l'anhydride isolé par cristallisation conduit à un rendement de 75% pour **29b**.
104. W. D. Fuller, M. Goodman, F. R. Naidier and Y.-F. Zhu. "Urethane-Protected  $\alpha$ -Amino Acid *N*-Carboxyanhydrides and Peptide Synthesis" *Biopolymers (Pept. Sci.)*, **1996**, 40, 183-205.
105. D. Shan, M. G. Nicolaou, R. T. Borchardt and B Wang. "Prodrug Strategies Based on Intramolecular cyclization Reactions" *J. Pharm. Sci.*, **1997**, 86, 765-767.
106. C. Goolcharran and R. T. Borchardt. "Kinetics of Diketopiperazine Formation using Model Peptides" *J. Pharm. Sci.*, **1998**, 87, 283-288.
107. C. Santos, M. L. Mateus, A. P. dos Santos, R. Moreira, E. de Oliveira and P. Gomes. "Cyclization-activated prodrugs. Synthesis, reactivity and toxicity of dipeptide esters of paracetamol" *Bioorg. Med. Chem Lett.*, **2005**, 15, 1595-1598.
108. a) R. Braslau, J. R. Axon and B. Lee. Synthesis of *N*-hydroxy Peptides: Chemical ligation of *O*-Acyl Hydroxamic Acids" *Org. Lett.*, **2000**, 2, 1399-1401. b) L. Wang and O. Phanstiel IV. "Synthesis of *N*-(Hydroxy)thioamide-Containing Peptides" *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 1442-1447.
109. L. A. Carpino, E. Krause, C. Dan Sferdean, M. Schüman, H. Fabian, M. Bienert and M. Beyermann. "Synthesis of "difficult" peptide sequences: application of a depsipeptide technique to the Jung-Redemann 10- and 26-mers and the amyloid peptide A $\beta$ (1-42)" *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 7519-7523.
110. Y. Sohma, Y. Hayashi, M. Kimura, Y. Chiyomori, A. Tanigushi, M. Sasaki, T. Kimura and Y. Kiso. "The "*O*-Acyl isopeptide method" for the synthesis of difficult sequence-containing peptides: application to the synthesis of Alzheimer's disease-related amyloid  $\beta$  peptide (A $\beta$ )1-42" *J. Peptide Sci.*, **2005**, 11, 441-451.

- <sup>111</sup>. S. Dos Santos, A. Chandravarkar, B. Mandal, R. Mimna, K. Murat, L. Saucède, P. Tella, G. Tuchscherer and M. Mutter, "Switch-Peptides: Controlling Self-Assembly of Amyloid  $\beta$ -Derived Peptides in vitro by Consecutive Triggering of Acyl Migrations" *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 11888–11889.
- <sup>112</sup>. a) M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee and R. H. Grubbs. "Synthesis and Activity of a New Generation of Ruthenium-Based Olefin Metathesis Catalysts Coordinated with 1,3-Dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidene ligands" *Org. Lett.*, **1999**, *1*, 953-956. b) J. P. Morgan and R. H. Grubbs "In Situ Preparation of a Highly Active *N*-Heterocyclic Carbene-Coordinated olefin Metathesis Catalyst" *Org. Lett.*, **2000**, *2*, 3153-3155.
- † Il ne s'agit pas strictement d'un dimère puisque deux groupes méthylènes sont perdus.
- <sup>113</sup>. J.-J. Kim, Y.-D. Park, S.-D. Cho, H.-K. Kim, Y.-J. Kang, S.-G. Lee, J. R. Falck, M. Shiro and Y.-J. Yoon. "Preparation of *O*-Alkylhydroxamic Acids using 2-Acylpyridazin-3(2H)-ones in Water" *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2004**, *25*, 1273-1276.
- <sup>114</sup>. M. R. G. da Costa, M. J. M. Curto, S. G. Davies, J. Sanders and F. C. Teixeira. "Synthesis of (R)- $\{\eta^6[O\text{-methyl-}N\text{-}(\alpha\text{-methylbenzyl})\text{hydroxyamino}]\text{-benzene}\}$  chromium tricarbonyl via nucleophilic aromatic substitution of ( $\eta^6$ -fluorobenzene) chromium tricarbonyl" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 2850-2855.
- <sup>115</sup>. D. Papaioannou, K. Barlos, G. W. Francis, T. Brekke, D. W. Aksnes and K. Maartmann-Moe. "Reinvestigation of the Base-Induced Ring Closure of Methylsulfonium Salts of *N*-Trityl-(*S*)-methioninehydroxamide and Derivatives" *Act. Chem. Scand.*, **1990**, *44*, 189-194.
- <sup>116</sup>. Y. Xu and M. J. Miller. "Total synthesis of Mycobactin analogues as Potent Antimycobacterial Agents Using a Minimal protecting Groups Strategy" *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 4314-4322.
- <sup>117</sup>. G.-Q. Shi. "The first general synthesis of *N*-substituted 1,2-benzioxazolin-3-ones" *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 2295-2298.
- <sup>118</sup>. T. Ishikawa, M. R. Kadoya, T. Morimoto, N. Miyake, M. Izawa and S. Saito. "Intramolecular Diels-Alder Reactions Employing Hydroxamate Tethers: The First Examples and Promising Prospects" *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 4607-4608.
- <sup>119</sup>. O. Miyata, M. Namba, M. Ueda and T. Naito. "A novel synthesis of amino-1,2-oxazinones as a versatile synthon for  $\beta$ -amino acid derivatives" *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, *2*, 1274-1276.
- <sup>120</sup>. R. Dembinski. "Recent Advances in the Mitsunobu Reaction: Modified Reagents and the Quest for Chromatography-Free Separation" *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 2763-2772.
- <sup>121</sup>. J. C. Pelletier and S. Kincaid. "Mitsunobu reaction modifications allowing product isolation without chromatography: application to a small parallel library" *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 797-800.
- <sup>122</sup>. A. V. Stachulski. "Synthesis of *O*-Vinyl Oximes and Derived Penicillins using Organoselenium Intermediates" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1991**, *12*, 3065-3070.
- <sup>123</sup>. W. F. Huffman, R. F. Hall, J. A. Grant and K. G. Holden. "Nuclear Analogues of  $\beta$ -Lactam Antibiotics. 4. Total Synthesis of Bisnorisopenicillins from Antibacterially Active Monocyclic  $\beta$ -Lactam Precursors" *J. Med. Chem.*, **1978**, *21*, 413-415.
- <sup>124</sup>. U. Schmidt, M. Kroner and H. Griesser. "Total Synthesis of the Didemnins; IV. Synthesis of the Peptolide Ring and Construction of the Side Chain" *Synthesis*, **1991**, 294-300.
- <sup>125</sup>. A. Hoveyda, D. G. Gillingham, J. J. Van Veldhuizen, O. Kataoka, S. B. Garber, J. S. Kingsbury and J. P. A. Harrity. "Ru complexes bearing carbenes: from innocent curiosity to uniquely effective catalysts for olefin metathesis" *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, *2*, 8-23.

---

## MODIFICATIONS DE LA LIAISON PEPTIDIQUE : *N*-HYDROXY-, *N*-ACYLOXY- ET *N*-ALKYLOXY-PEPTIDES

---

Une série de peptides présentant un ou deux motifs hydroxamate a été synthétisée, l'étape clé étant la *N*-acylation sélective de *N*-hydroxy-dipeptides terminaux. L'atome d'oxygène du groupe hydroxyle peut servir de point d'ancrage pour une autre chaîne et donne ainsi accès à de nouveaux pseudopeptides. D'une part, l'acylation de *N*-hydroxy-peptides a été réalisée dans différentes conditions permettant l'introduction de groupements variés, en particulier des acides aminés. Il est possible d'allonger ces *N*-acyloxy-peptides dans toutes les directions, même si dans certains cas des réarrangements intéressants peuvent avoir lieu. D'autre part, une réaction d'alkylation dans les conditions de Mitsunobu a permis de greffer des groupements allyle et homoallyle sur des *N*-hydroxy-tripeptides, conduisant notamment à la préparation d'un hexapeptide bis insaturé qui peut être cyclisé via une réaction de métathèse.

---

## PEPTIDE BOND MODIFICATIONS: *N*-HYDROXY, *N*-ACYLOXY AND *N*-ALKYLOXY PEPTIDES

---

A series of peptides containing one or two hydroxamate groups were synthesized, the key step being the selective *N*-acylation of terminal *N*-hydroxy-dipeptides. The oxygen atom of the hydroxyl group can serve to graft another chain; it thus gives access to new pseudopeptides. On the one hand, the acylation of *N*-hydroxy-peptides was performed under a variety of conditions allowing the introduction of a range of groups, including amino acids. Elongation of these *N*-acyloxy-peptides is possible in all directions, even if interesting rearrangements may occur in some cases. On the other hand, alkylation reactions using Mitsunobu conditions led to the synthesis of *N*-allyloxy- and *N*-homoallyloxy-tripeptides and of a bis-unsaturated hexapeptide which can be cyclized through metathesis.

- 
- Mots clés : pseudopeptides, *N*-hydroxy-peptides, *N*-acyloxy-peptides, *N*-alkyloxy-peptides, motif hydroxamate, réarrangement, acylation, réaction de Mitsunobu, réaction de métathèse.
  - Discipline : Chimie Moléculaire.
  - Laboratoire : Laboratoire d'Etudes Dynamiques et Structurales de la Sélectivité – équipe SyRCA (Synthèse et Réactivité des Composés Azotés) – 301, rue de la Chimie – BP 53 – 38041 Grenoble Cedex 9.
-