



**HAL**  
open science

# Triazolamères fluorés : conception, synthèse, études conformationnelles et modulation de l'agrégation de peptides amyloïdes

José Laxio Arenas

► **To cite this version:**

José Laxio Arenas. Triazolamères fluorés : conception, synthèse, études conformationnelles et modulation de l'agrégation de peptides amyloïdes. Chimie thérapeutique. Université Paris-Saclay, 2022. Français. NNT : 2022UPASQ003 . tel-03962087

**HAL Id: tel-03962087**

**<https://theses.hal.science/tel-03962087v1>**

Submitted on 30 Jan 2023

**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.

Triazolamères fluorés : conception, synthèse,  
études conformationnelles et modulation de  
l'agrégation de peptides amyloïdes

*Fluorinated triazolamers : design, synthesis, conformational studies  
and modulation of amyloid peptides aggregation*

**Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay**

École doctorale n° 569, Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué (ITFA)

Spécialité de doctorat : Chimie Thérapeutique

Graduate School : Santé et médicaments. Référent : Faculté de pharmacie

Thèse préparée dans l'unité de recherche **BioCIS (Université Paris-Saclay, CNRS)**,

sous la direction de **Sandrine ONGERI**, professeure,

la co-direction de **Benoît CROUSSE**, directeur de recherche

**Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 28 janvier 2022, par**

**José LAXIO ARENAS**

**Composition du Jury**

<b>David AITKEN</b> Professeur, Université Paris-Saclay	Président
<b>Muriel AMBLARD</b> Directrice de recherche CNRS, Université de Montpellier	Rapporteur & Examinatrice
<b>Fabienne GRELLEPOIS</b> Maîtresse de conférences, HDR Université de Reims Champagne- Ardenne	Rapporteur & Examinatrice
<b>Philippe JUBAULT</b> Professeur, Université de Rouen	Examineur
<b>Sandrine ONGERI</b> Professeure, Université Paris-Saclay	Directrice de thèse



# Remerciements

Cette thèse a été réalisée à la faculté de Châtenay-Malabry (Université Paris-Saclay) au sein du laboratoire FLUOPEPIT « Molécules fluorées et peptides d'intérêt thérapeutique » (BioCIS, UMR 8076) sous la direction du **Prof. Sandrine Onger** et du **Dr. Benoît Crousse**.

Je souhaite remercier, en premier lieu, mes directeurs de thèse, **Prof. Sandrine Onger** et le **Dr. Benoît Crousse**. Merci à vous de m'avoir accordé votre confiance pendant ces trois années. Merci pour tous vos conseils, vos enseignements, ils m'accompagneront tout au long de mon parcours. Votre bonne humeur et votre humour m'ont permis de décompresser au quotidien. Vous m'avez permis de devenir une meilleure personne et un meilleur scientifique et pour cela je vous en serai éternellement reconnaissant.

Je tiens à exprimer ma gratitude à tous les membres du jury, le **Dr. Muriel Amblard**, le **Dr. Fabienne Grellepois**, le **Prof. David Aitken** et le **Prof. Philippe Jubault**. Merci d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de recherche.

Je remercie tous les collaborateurs qui ont participé à ce projet de recherche, Le **Prof. Ayyalusamy Ramamoorthy** de l'Université du Michigan, le **Dr. Carine Van Heijnoort**, **François Giraud** et **Jean-François Gallard** de l'ICSN pour les études RMN réalisées sur mes composés, ainsi que le **Dr. Nour-Eddine Ghermani** et **Pascal Retailleau** pour les données cristallographiques.

Merci infiniment au **Prof. Tâp Ha-duong** pour tout le travail réalisé par dynamique moléculaire, sur mes composés, pour ta pédagogie lorsque j'ai dû lancer des simulations, mais également pour ta bonne humeur communicative.

Je remercie également le **Dr. Julia Kaffy** qui a effectué l'ensemble des évaluations biophysiques préliminaires sur mes composés. Merci pour ton investissement et ta disponibilité au quotidien.

Je souhaite remercier le **Dr. Thierry Milcent** pour sa disponibilité et son humour légendaire. Je remercie également le **Dr. Nicolo Tonali** pour son aide dans la caractérisation de mes composés et sa gentillesse ainsi que **Jean-Louis Soulier** pour son aide dans la rédaction de mon manuscrit et pour toutes ses anecdotes cinématographiques.

Merci également à **Jean-Christophe Jullian** et **Rémi Franco** de la Faculté de Pharmacie de Chatenay Malabry pour les expériences de RMN ainsi que **Karine Leblanc** et **Soumia Rharrabti** pour les expériences LCMS et HRMS.

Un grand merci à l'ensemble de mes collègues doctorants, docteurs et Post-doctorants, **Maud**, **Monica**, **Jacopo**, **Sondes**, **Nicolo**, **Davide**, **Chenghui**, **Ping**, **Ting-Ting**, **Maxence**, **Kaliroi**, **Léa** et **Lizeth** pour tous les moments mémorables passés avec vous.

Je remercie également tous les stagiaires qui ont contribué à ce projet de recherche, **Chiara Brambilla**, **Marylise Triacca**, **Andréa Mosseri** et **Rammiya Ragunathan**.

Merci à tous mes amis pour m'avoir fait passer des années remplies de moments inoubliables. Merci **David** pour tous ces bons moments malgré tes goûts musicaux discutables. **Filipe**, on a refait le monde plus d'une fois, qui sait peut-être qu'un jour nos rêves deviendront réalités. **Rafaël**, mon frère d'une autre mère, toujours présent pour parler de tous et de rien mais principalement de rien. Merci **Mélissa**, **Coco**, **Quentin**, **Besart**, **Jassem**, **Aniss**, **Amine**. Merci à tous pour les vendredis soir durant lesquels j'ai pu trouver la plénitude, au sens propre, complètement plein.

**Mathilde**, cela fait maintenant quatre ans que tu partages ma vie. Merci d'être là, de me faire rire, de me soutenir dans les moments difficiles. Je dors mieux depuis que la réponse à toutes mes questions s'endort à mes côtés.

Pour finir, je voudrais remercier infiniment, mes parents, sans qui je ne serais pas l'homme que je suis aujourd'hui. Je ne vous remercierai jamais assez pour l'éducation, les principes et les valeurs que vous m'avez transmis.

# Curriculum Vitae

**Formation :** Brevet de technicien supérieur de chimiste, Lycée Galilée (Gennevilliers, 2013-2015)  
Licence de Chimie, Université Cergy-Paris (Neuville sur Oise, 2015-2016)  
Stage : Synthèse d'une première génération de ligands fluorés inhibiteurs de PPIases, Laboratoire de Chimie Biologique (Université Cergy-Paris, Avril-Juin 2017)  
Master Chimie Moléculaire et Macromoléculaire pour l'Énergie et la Santé (Neuville sur Oise, 2016-2018)  
Stage : Évaluations de l'hydrophobie de tripeptides incorporant le monofluoroalcène, Université Laval (Canada, Janvier-Juillet 2018)

**Doctorat Chimie Thérapeutique** et enseignement de Chimie Organique (192 heures, TD et TP) à la Faculté de pharmacie, Université Paris-Saclay (2018-2021)

**Présentations posters :**

- Design and synthesis of fluorinated foldamers as potential inhibitors of hIAPP aggregation; 26e Journées des Jeunes Chercheurs (20–22 Février 2019, Paris)
- Fluorinated foldamers containing *N*-difluoromethyl-triazole scaffold; 17e Rencontres de Chimie Organique (19 Avril 2019, Gif sur Yvette)
- Fluorinated foldamers as inhibitors of amyloid proteins aggregation: interest in Alzheimer's disease and type II diabetes; 21e Congrès du GFPP (12–16 Mai 2019, Amboise)

**Communications orales :**

- Design and synthesis of fluorinated triazolamers, Journée de BioCIS, (11 février 2021, Châtenay-Malabry)
- Design and synthesis of fluorinated triazolamers; Journée de l'école doctorale (17 Juin 2021, Châtenay-Malabry)

**Publications :**

Drouin, M., Laxio Arenas, J., Paquin, J.-F., *Chembiochem.* **2019**, 20, 1817-1826.

Laxio Arenas, J., Kaffy, J., Onger, S., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, 52, 157-167

Laxio Arenas, J., Xu, Y., Milcent, T., Van Heijenoort, C., Giraud, F., Ha-Duong, T., Crousse, B., Onger, S., *ChemPlusChem.* **2021**, 86 (2), 241-251.

Laxio Arenas, J., Crousse, B., *Eur. J. Org. Chem.*, **2021**, 2665-2679.

**Activité Professionnelle prévue après le doctorat :** CDD en Chimie Médicinale à l'Université de Genève, groupe du Prof. N. Winssinger (à partir du 1<sup>er</sup> Mars 2022, Genève)

# Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	<b>i</b>
<b>Curriculum Vitae</b> .....	<b>iii</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>iv</b>
<b>Nomenclature et liste des abréviations</b> .....	<b>viii</b>
<b>Introduction Générale</b> .....	<b>xiv</b>
<b>Chapitre I : Rappels bibliographiques</b> .....	<b>1</b>
I.    Les foldamères.....	1
I. 1.    Généralités sur les foldamères.....	1
I. 2.    Foldamères : outils pour mimer les structures secondaires des protéines.....	3
I. 2. a.    Mimes d'hélice $\alpha$ .....	4
I. 2. b.    Mimes de coude $\beta$ .....	9
I. 2. c.    Mimes de brin $\beta$ .....	11
I. 2. d.    Mimes de feuillets $\beta$ .....	12
I. 3.    Les interactions protéine-protéine (PPIs) .....	15
II.    Le diabète et Polypeptide Amyloïde des Ilots (IAPP) .....	17
II. 1.    Le diabète .....	17
II. 1. a.    Généralités sur le diabète.....	17
II. 1. b.    Étiologie du DT2.....	19
II. 1. c.    Physiopathologie du DT2.....	19
II. 1. d.    Conséquences et traitements.....	20
II. 2.    hIAPP .....	23
II. 2. a.    Généralités et rôle biologique de hIAPP.....	23
II. 2. b.    Hypothèses toxicologiques de hIAPP .....	23
III.    Intérêt des 1,2,3-triazoles et introduction d'atomes de Fluor .....	29

III. 1.	1,2,3-Triazoles .....	29
III. 1. a.	Généralités sur les 1,2,3-triazoles .....	29
III. 1. b.	Propriétés structurales du 1,2,3-triazole.....	30
III. 1. c.	Propriétés biologiques des 1,2,3-triazoles .....	31
III. 1. d.	Synthèse des triazoles .....	32
III. 2.	Le Fluor .....	34
III. 2. a.	Propriétés physico-chimiques du fluor.....	34
III. 2. b.	Effet sur l'acidité et la basicité.....	35
III. 2. c.	Liaison hydrogène.....	36
III. 2. d.	Lipophilie .....	36
III. 2. e.	RMN <sup>19</sup> F & TEP <sup>18</sup> F.....	37
III. 2. f.	Intérêt en chimie médicinale.....	38
III. 2. g.	Les peptidomimétiques fluorés.....	40
III. 2. h.	Les foldamères fluorés.....	41
IV.	Références .....	43

**Chapitre II : Les 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés.....62**

I.	Etat de l'art des 1,2,3-triazoles <i>N</i> -difluorométhylés .....	62
II.	Objectifs .....	66
III.	Les homotriazolamères.....	67
III. 1.	Synthèse des homotriazoles <i>N</i> -difluorométhylés .....	67
III. 2.	Évaluation conformationnelle des homotriazoles <i>N</i> -difluorométhylés.....	70
III. 2. a.	Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	70
III. 2. b.	Modélisation moléculaire .....	74
IV.	Les hétérotriazolamères .....	80
IV. 1.	Conception des hétérotriazolamères pour l'inhibition des interactions protéine-protéine.....	80
IV. 2.	Les hétérotriazoles <i>N</i> -difluorométhylés pour concevoir des peptides antimicrobiens et pénétrant les cellules .....	84
IV. 3.	Synthèse des hétérotriazoles <i>N</i> -difluorométhylés.....	84
IV. 3. a.	Synthèse des hétérotriazolamères de première génération .....	84



IV. 3. b.	Synthèse des hétérotriazolamères de deuxième génération .....	96
IV. 4.	Analyse conformationnelle des hétérotriazolamères.....	100
IV. 4. a.	Par résonance magnétique nucléaire.....	100
IV. 4. b.	Par dynamique moléculaire.....	103
V.	Évaluations biophysiques préliminaires des triazolamères par spectrométrie à la thioflavin-T .....	108
V. 1.	Évaluation des homotriazolamères.....	108
V. 1. a.	Évaluation des homotriazolamères avec hIAPP .....	108
V. 1. b.	Évaluation des homotriazolamères avec A $\beta$ <sub>1-42</sub> .....	111
V. 2.	Évaluations des hétérotriazolamères.....	111
V. 2. a.	Évaluation des hétérotriazolamères avec hIAPP.....	112
V. 2. b.	Évaluation des hétérotriazolamères avec A $\beta$ <sub>1-42</sub> .....	113
VI.	Conclusion et perspectives .....	115
VII.	Références .....	117
<b>Chapitre III : 5-fluoro-1,2,3-triazoles, nouveau synthon pour concevoir des foldamères fluorés. ....</b>		<b>120</b>
I.	Etat de l'art des 4- et 5-halo-1,2,3-triazoles .....	120
II.	Synthèse des 5-fluoro-1,2,3-triazoles .....	122
II. 1.	Fluoration aromatique .....	123
II. 1. a.	Préparation des 5-hydroxy-1,2,3-triazoles et 5-amine-1,2,3-triazoles .....	123
II. 1. b.	Essais de fluoration aromatique .....	124
II. 2.	Fluoration par fluorure d'argent .....	127
II. 2. a.	Préparation de l'alcyne iodé.....	128
II. 2. b.	Préparation des azotures.....	128
II. 2. c.	Préparation des 5-iodo-1,2,3-triazoles.....	129
II. 2. d.	Réaction de fluoration par fluorure d'argent .....	130
II. 3.	Fluoration par échange d'halogène (Halex).....	131
II. 4.	Extension des 5-fluoro-1,2,3-triazoles .....	133
II. 4. a.	Déprotection et couplage de la fonction N-terminale .....	133
II. 4. b.	Déprotection et couplage de la fonction C-terminale.....	134
III.	Étude des propriétés structurales et électroniques du motif 5-fluoro triazole .....	136

III. 1.	Par résonance magnétique nucléaire .....	136
III. 2.	Par diffraction aux rayons X .....	138
IV.	Conclusion et perspectives .....	143
V.	Références .....	145
<b>Conclusion générale .....</b>		<b>148</b>
<b>Partie Expérimentale .....</b>		<b>150</b>

# Nomenclature et liste des abréviations

## ○ Liste des abréviations

---

<b>A<math>\beta</math></b>	Amyloïde bêta	<b>A</b>
<b>Aa</b>	Acide aminé	
<b>Ac</b>	Acétyle	
<b>ACN</b>	Acétonitrile	
<b>AcOEt</b>	Acétate d'éthyle	
<b>ACTP</b>	((2-azido-1-chloro-1,2,2-trifluoroethyl)thio)-pyrimidine	
<b>Aib</b>	Acide 2-aminoisobutyrique	
<b>Asc.Na.</b>	Ascorbate de sodium	
<b>ATC</b>	Acide 4-amino(méthyl)-1,3-thiazole-5-carboxylique	

---

<b>Bn</b>	Benzyl	<b>B</b>
<b>Boc</b>	<i>Tert</i> -butyloxycarbonyl	
<b>Boc<sub>2</sub>O</b>	Di- <i>tert</i> -butyle dicarbonate	
<b>BTC</b>	Bis(trichlorométhyle) carbonate	

---

<b>Cbz</b>	Carbobenzyloxy	<b>C</b>
<b>COSY</b>	<i>Correlation spectroscopy</i>	
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Chloroforme deutéré	
<b>CuAAC</b>	<i>Copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition</i>	

---

<b>DC</b>	Dichroïsme circulaire	<b>D</b>
<b>DCM</b>	Dichlorométhane	
<b>DIEA</b>	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine	
<b>DMAP</b>	Diméthylaminopyridine	
<b>DMF</b>	4-diméthylformamide	
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde	
<b>DMSO (-<i>d</i><sub>6</sub>)</b>	Diméthylsulfoxyde (deutééré)	
<b>DPP4</b>	Dipeptidyl peptidase-4	
<b>DT1</b>	Diabète Type 1	
<b>DT2</b>	Diabète Type 2	
<b>EC</b>	Électrophorèse capillaire	<b>E</b>
<b>EDC</b>	<i>N</i> -(3-diméthylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimide	
<b>ee</b>	Excès énantiomérique	
<b>Équiv.</b>	Équivalent	
<b>ESI</b>	Electrospray ionisation	
<b>Fmoc</b>	Fluorénylméthoxy-carbonyle	<b>F</b>
<b>Fmoc-OSu</b>	9-Fluorenylméthyl <i>N</i> -succinimidyl carbonate	
<b>GIP</b>	<i>Glucose-dependent insulin</i>	<b>G</b>
<b>GLP-1</b>	<i>Glucagon-like peptide-1</i>	
<b>HATU</b>	Hexafluorophosphate de (diméthylamino)- <i>N,N</i> -diméthyl(3H-[1,2,3]triazolo[4,5- <i>b</i> ]pyridin-3-yloxy)méthaniminium	<b>H</b>
<b>HCTU</b>	O-(1H-6-Chlorobenzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate	

<b>HFIP</b>	Hexafluoroisopropan-2-ol	
<b>Hao</b>	<i>Hydrazine, 5-amino-2-methoxybenzoic acid and oxalic acid</i>	
<b>HBS</b>	<i>Hydrogen Bond Surrogate</i>	
<b>hIAPP</b>	<i>human Islet Amyloid PolyPeptide</i>	
<b>HMBC</b>	<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>	
<b>HOAt</b>	1-Hydroxy-7-azabenzotriazole	
<b>HOBt</b>	N-hydroxybenzotriazole	
<b>HPLC</b>	<i>high performance liquid chromatography</i>	
<b>HRMS</b>	<i>high resolution mass spectrometry</i>	
<b>HSQC</b>	<i>Heteronuclear single quantum coherence</i>	
<b>HCl</b>	Acide chlorhydrique	
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau	
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide Sulfurique	
<b>IMS-MS</b>	<i>ion-mobility spectrometry-mass spectrometry</i>	<b>I</b>
<b>J</b>	Constante de couplage	<b>J</b>
<b>kDa</b>	kilodalton	<b>K</b>
<b>KOH</b>	Hydroxyde de potassium	
<b>LC-MS</b>	<i>Liquid chromatography-mass spectrometry</i>	<b>L</b>
<b>LiOH</b>	Hydroxyde de lithium	
<b>MeOH</b>	Méthanol	<b>M</b>
<b>Me</b>	Méthyle	

<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Sulfate de magnésium	
<b>NBS</b>	<i>N</i> -bromosuccinimide	<b>N</b>
<b>NOESY</b>	<i>Nuclear overhauser effect spectroscopy</i>	
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	Bicarbonate de sodium	
<b>NaOH</b>	Hydroxyde de sodium	
<b>PDB</b>	<i>Protein data bank</i>	<b>P</b>
<b>Pd/C</b>	Palladium sur charbon	
<b>pH</b>	Potentiel Hydrogène	
<b>pKa</b>	Constante d'acidité	
<b>PPh<sub>3</sub></b>	Triphénylphosphine	
<b>PPIs</b>	Interactions protéine-protéine	
<b>PPTS</b>	Pyridinium <i>p</i> -toluenesulfonate	
<b>rd</b>	Rapport diastéréoisomérique	<b>R</b>
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire	
<b>ROESY</b>	<i>Rotating-frame-overhauser spectroscopy</i>	
<b>RuAAC</b>	<i>Ruthenium-catalyzed azide alkyne cycloaddition</i>	
<b>RX</b>	Rayons X	
<b>SN<sub>Ar</sub></b>	Substitution nucléophile aromatique	<b>S</b>
<b>SN<sub>1</sub></b>	Substitution nucléophile d'ordre 1	
<b>SN<sub>2</sub></b>	Substitution nucléophile d'ordre 2	
<b>ta</b>	Température ambiante	<b>T</b>

<b>TBAA</b>	<i>tert</i> -butyl acetoacetate	
<b>TBAF</b>	Tetra- <i>N</i> -butylammonium fluoride	
<b>TBTA</b>	Tris(benzyltriazolylmethyl)amine	
<b>TEA</b>	Triéthylamine	
<b>TES</b>	Triéthylsilane	
<b>TFA</b>	Acide trifluoroacétique	
<b>THF</b>	Tétrahydrofurane	
<b>ThT</b>	Thioflavine-T	
<b>TIPS</b>	Triisopropylsilane	
<b><i>t</i>-BuOH</b>	<i>tert</i> -butanol	
<hr/>		
<b>UV</b>	Ultra-violet	<b>U</b>
<hr/>		
<b>)))</b>	Ultrason	<b>...</b>
<b>μW</b>	Micro-ondes	

○ Nomenclature des acides aminés

<b>Ala</b>	Alanine	<b>Arg</b>	Arginine
<b>Asn</b>	Asparagine	<b>Asp</b>	Aspartate
<b>Cys</b>	Cystéine	<b>Glu</b>	Glutamate
<b>Gly</b>	Glycine	<b>His</b>	Histidine
<b>Ile</b>	Isoleucine	<b>Leu</b>	Leucine
<b>Lys</b>	Lysine	<b>Met</b>	Méthionine
<b>Phe</b>	Phénylalanine	<b>Pro</b>	Proline
<b>Ser</b>	Sérine	<b>Thr</b>	Thréonine
<b>Tyr</b>	Tyrosine	<b>Val</b>	Valine

○ Unités

<b>cm</b>	centimètre	<b>M</b>	molaire
<b>nm</b>	nanomètre	<b>mol</b>	mole
<b>Å</b>	angström	<b>mmol</b>	millimole
<b>g</b>	gramme	<b>μmol</b>	micromole
<b>mg</b>	milligramme	<b>mL</b>	microlitre
<b>°</b>	degrés (angle)	<b>μL</b>	microlitre
<b>°C</b>	degrés Celsius	<b>Hz</b>	Hertz
<b>h</b>	heure	<b>kDa</b>	kilodalton
<b>min</b>	minute	<b>K</b>	Kelvin
<b>δ</b>	Déplacement chimique		



# Introduction Générale

L'ensemble des processus biologiques sont régis par l'intermédiaire de biomolécules dont la diversité structurelle est limitée à un certain nombre de monomères. Les protéines sont composées de vingt acides aminés différents et quatre nucléotides pour les acides nucléiques. Au sein des protéines, l'enchaînement de ces unités de base conduit à un repliement local de la séquence peptidique pouvant induire la formation de structures secondaires telles que des hélices, des feuillets, et des coudes. Ces structures secondaires sont stabilisées par des liaisons intra- et intermoléculaires. L'assemblage de ces structures secondaires donne naissance à des structures tridimensionnelles, qui associées les unes aux autres forment la structure quaternaire des protéines. L'ensemble de cette structuration permet aux protéines de remplir leurs fonctions biologiques de manière spécifique et efficace.

Pour comprendre au mieux les mécanismes impliqués dans le repliement des protéines et les interactions engagées, les foldamères ont émergé comme un puissant outil. Les foldamères sont des assemblages de briques moléculaires, peptidiques ou non-peptidiques, qui ont tendance à adopter des conformations compactes, stabilisées par des interactions covalentes ou non covalentes.<sup>1</sup> Ces dernières décennies, de nombreux foldamères ont vu le jour, s'appuyant sur des architectures chimiques diverses et variées telles que les acides aminés  $\beta/\gamma$ , les oligourées, les aza-aminoacides, les aziridines et les triazoles afin de mimer des structures secondaires. Au-delà de l'aspect structurel, de nombreux foldamères trouvent des applications dans divers domaines tels que la catalyse, le transport ou la reconnaissance moléculaire. De plus, ils s'avèrent être une solution prometteuse pour interagir avec des biomolécules telles que les protéines et moduler les interactions protéine-protéine (PPIs).

Les foldamères adoptant des structures hélicoïdales sont de loin les plus représentés. Les structures étendues, tels que les brins  $\beta$  et leur association en feuillets  $\beta$ , sont plus rares en raison de leur tendance à s'auto-agréger et à précipiter. Ils demeurent néanmoins très prometteurs pour répondre aux nombreuses maladies impliquant des PPIs en feuillet  $\beta$  telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et le diabète de type 2.

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse de doctorat consistera à concevoir rationnellement et à synthétiser de nouveaux foldamères fluorés basés sur les 1,2,3-triazoles comme inhibiteurs d'agrégation d'une protéine amyloïde impliquée dans le diabète de type 2 : hIAPP. Dans le premier chapitre, une bibliographie des principaux sujets de cette thèse, tels que les foldamères, les PPIs, le diabète, la chimie des 1,2,3-triazoles et du fluor sera faite. Le deuxième chapitre sera consacré à mes travaux de thèse portant sur des foldamères construits sur l'architecture 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés, en commençant par un état de l'art non-exhaustif, suivi de la synthèse des homo- et hétérotriazolamères utilisant cette unité. Dans un second temps, l'analyse conformationnelle de ces foldamères par RMN et par dynamique moléculaire sera présentée. Ces foldamères seront soumis à des évaluations biophysiques telles que la spectrométrie de fluorescence à la thioflavin-T, l'électrophorèse capillaire et l'IMS-MS, dont l'objectif est de déterminer si ces foldamères peuvent interagir avec hIAPP et moduler le processus d'agrégation. Dans le troisième et dernier chapitre, mes travaux de thèse autour de l'architecture 5-fluoro-1,2,3-triazoles seront présentés, en commençant par un état de l'art, suivi de la méthodologie de synthèse. Enfin l'étude conformationnelle et électronique par diffraction aux rayons X sera faite. Nous terminerons ce manuscrit par une conclusion générale sur ces travaux de thèse et sur les perspectives de ce projet de recherche.

# Chapitre I : Rappels bibliographiques

## I. Les foldamères

### I. 1. Généralités sur les foldamères

La diversité fonctionnelle et structurelle des molécules biologiques est assurée à partir d'un nombre limité de monomères. Quatre nucléotides pour les acides nucléiques et vingt acides aminés naturels pour les peptides et protéines. Les fonctions biologiques de ces biomolécules sont assurées par le repliement en conformations spécifiques et compactes. La stabilisation de ces conformations fait intervenir des interactions intra- et intermoléculaires. Dans les protéines, le repliement local des séquences linéaires d'acides aminés conduit à des structures secondaires particulières telles que des hélices, des feuillettes, des brins ou des coudes. Ces structures secondaires peuvent s'assembler pour former des structures tridimensionnelles stabilisées par des interactions faibles (liaisons de Van der Waals, liaisons hydrogènes, empilement aromatique, effets hydrophobes). Les structures quaternaires sont formées par l'assemblage de plusieurs peptides conformés. Les structures tertiaires et quaternaires sont responsables de la fonction biologique de la protéine.

Ces dernières années les protéines ont émergé comme composés thérapeutiques (anticorps, hormones, ...).<sup>2</sup> La spécificité conformationnelle des protéines est à l'origine de cet engouement les rendant hautement spécifiques à leur cible et réduisant ainsi le risque d'effets secondaires à l'inverse des petites molécules synthétiques. Les principaux inconvénients liés aux protéines sont leur faible perméabilité cellulaire les limitant à des cibles extracellulaires et leur administration par voie intraveineuse quasi-systématique.<sup>3</sup> Les protéines sont également hautement immunogènes. Les peptides sont des polymères d'acides aminés plus petits que les protéines. Ils ont des caractéristiques intermédiaires aux petites molécules et aux protéines.

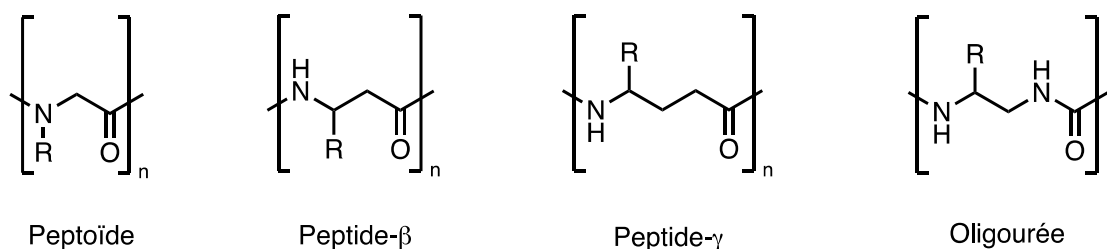
Les polypeptides peuvent adopter des structures secondaires nécessaires à l'interaction spécifique avec les cibles tout en ayant un poids moléculaire plus faible que les protéines. Cependant, leur faible stabilité métabolique face aux protéases, et le passage des membranes en particulier par voie orale sont toujours des limitations à leur développement en tant que composé thérapeutique.<sup>4,5</sup> Pour pallier à l'ensemble de ces problèmes, des molécules non-naturelles ont été développées capables de mimer les conformations repliées et stables des peptides : les foldamères.

Le terme foldamère a été employé pour la première fois par Gellman<sup>1</sup> pour définir « tous polymères avec une forte tendance à adopter une conformation compacte spécifique ». Cette définition convient parfaitement aux biopolymères que sont les protéines. Les foldamères sont généralement inspirés de biomolécules. Ils sont constitués par un assemblage de monomères, biotiques ou abiotiques, qui peuvent se replier et adopter une conformation définie stabilisée par des interactions faibles. Au cours des dernières années les foldamères ont réussi à mimer de nombreuses structures secondaires impliquées dans les peptides et protéines en utilisant différents squelettes chimiques. Les foldamères peptidomimétiques présentent des perspectives intéressantes comme alternatives aux peptides médicaments.<sup>2,6</sup> Ils peuvent offrir une meilleure stabilité métabolique, un meilleur passage des barrières, et une meilleure affinité pour leur cible grâce à leur conformation plus stable comparée aux peptides.

En raison de son fort potentiel pour former des structures stables, l'hélice est le motif le plus représenté dans les foldamères. Les hélices peuvent être composées d'un seul segment hélicoïdal ou former des complexes non-covalents par auto-assemblage de plusieurs brins stabilisés par des interactions locales. Les feuillets  $\beta$  sont assez rares dans le domaine des foldamères. La majeure raison est leur tendance à l'agrégation et la précipitation. Cependant le développement de tels mimes représente un véritable enjeu pour résoudre la problématique des maladies impliquant des interactions protéine-protéine comprenant des feuillets  $\beta$  tels que la maladie de Duchenne ou les amyloïdoses. Dans la suite de cette partie nous établirons un rapide état des lieux, des avancées et stratégies pour mimer les structures secondaires des peptides à l'aide de foldamères peptidomimétiques mais également des lacunes restantes dans ce domaine et nos objectifs à travers les travaux présentés dans ce manuscrit.

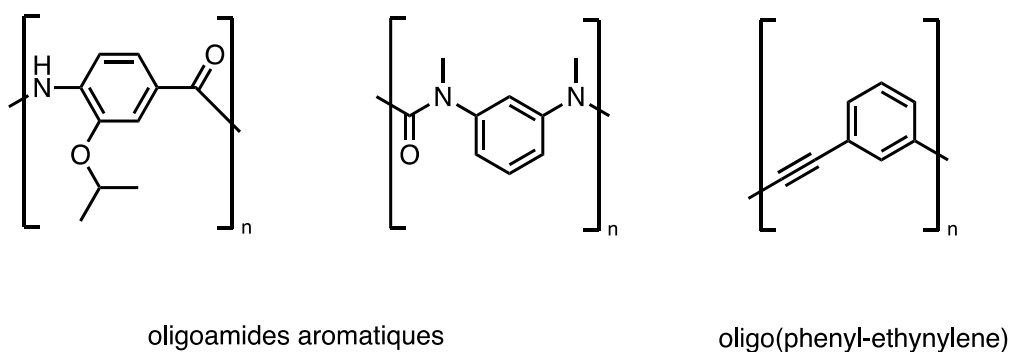
## I. 2. Foldamères : outils pour mimer les structures secondaires des protéines.

Il existe deux approches pour concevoir des foldamères. L'approche descendante (*top-down*, en anglais) consiste à modifier de manière contrôlée une séquence peptidique comprenant des acides  $\alpha$ -aminés connue pour adopter une structure secondaire stable. Ces modifications doivent conserver le plus possible les interactions présentes pour ne pas dénaturer la structure secondaire résultante. On peut citer les dérivés peptidiques utilisés pour ce type d'approche que sont les peptoïdes,<sup>7</sup> les peptides- $\beta/\gamma$ <sup>8,9</sup> et les oligourées<sup>10</sup>,... (Figure I-1)



**Figure I-1** : Exemples de foldamères issus d'une approche descendante

La deuxième approche, dite ascendante (*bottom-up*, en anglais), consiste à assembler des monomères artificiels abiotiques pour reproduire les structures secondaires, tertiaires voire quaternaires des protéines. Dans cette approche, le repliement du foldamère repose sur la rigidité du squelette utilisé, par exemple des oligoamides aromatiques ou oligo(phényl-éthylène), dû à un ensemble d'interactions faibles intra- et intermoléculaires (Figure I-2).<sup>11,12</sup>



**Figure I-2** : Exemples de foldamères issus d'une approche ascendante

I. 2. a. Mimes d'hélice  $\alpha$

I. 2. a. i) Propriétés structurales des hélices  $\alpha$

L'hélice  $\alpha$  est la principale structure secondaire rencontrée au sein des protéines. Elle a été découverte avec le feuillet  $\beta$  par Atsbury.<sup>13</sup> L'hélice alpha est définie par un enroulement régulier sur elle-même de forme hélicoïdale avec un pas de rotation droit, le pas gauche étant minoritaire dans la nature, dans laquelle chaque groupement carbonyle (C=O) du squelette peptidique forme une liaison hydrogène avec le groupement amine (N-H) i+4 (Figure I-3). Le pas droit de l'hélice comprend 3,6 résidus par tour correspondant à 5.4 Å et 13 atomes par boucle fermée par une liaison hydrogène.<sup>14</sup>

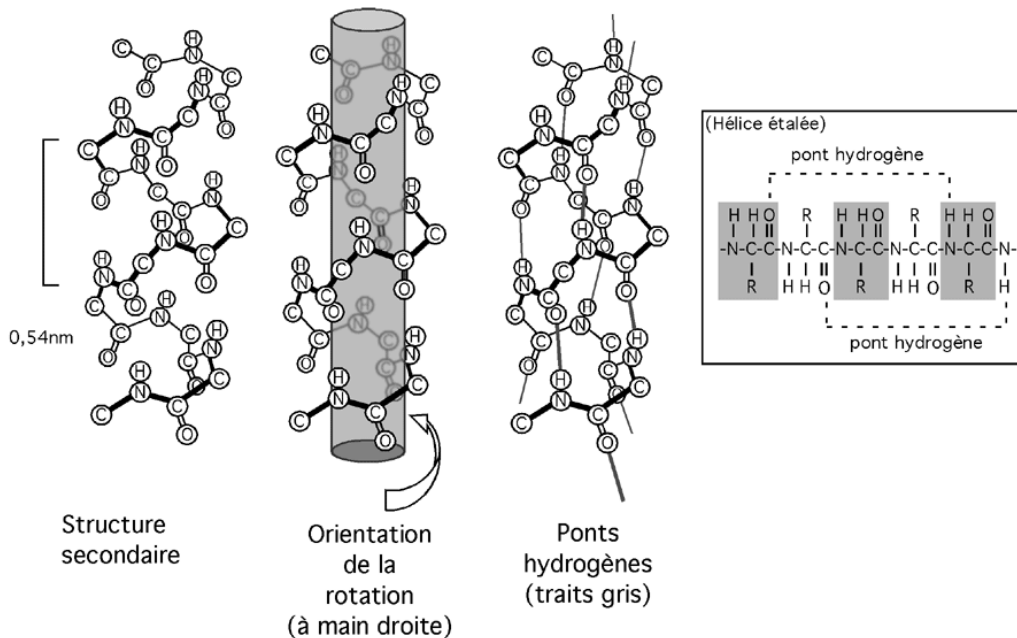


Figure I-3 : Structure d'une hélice  $\alpha$

Les valeurs permises des angles de torsion,  $\phi$  et  $\psi$ , sont respectivement de  $-57^\circ$  et  $-47^\circ$ .<sup>15</sup> La stabilité d'une hélice  $\alpha$  augmente avec la longueur de la chaîne peptidique. De plus, certains acides aminés ont une propension à favoriser la formation d'hélice  $\alpha$  particulièrement les acides aminés aliphatiques comme l'alanine, la leucine, la glutamine ou la méthionine. Cette propension a pu être déterminée grâce aux travaux de Williams en 1987.<sup>16</sup> Ces données ont permis d'envisager que les résidus d'un peptide pouvaient avoir un impact sur la stabilisation d'une structure secondaire plutôt qu'une autre.

### I. 2. a. ii) Stabilisation naturelle des hélices $\alpha$

Les chaînes latérales des résidus d'un peptide tiennent un rôle important dans la stabilisation des structures secondaires et notamment dans le cas des hélices  $\alpha$ . Il a été montré qu'au sein de courtes séquences peptidiques les interactions faibles entre les chaînes latérales des acides aminés permettent de stabiliser le repliement en hélice  $\alpha$ . Les interactions de types électrostatiques stabilisantes ont été observées lors de l'incorporation de résidus chargés ( $\text{Glu}^-$  et  $\text{Lys}^+$ ) sur des peptides aux extrémités N-terminales et C-terminales avec formation d'un pont salin.<sup>17</sup> Les chaînes latérales hydrophobes, telles que l'alanine et la leucine, peuvent également favoriser et stabiliser les structures hélicoïdales. Ces observations ont été mises en évidence par les travaux de Baldwin et Padmanabhan.<sup>18,19</sup>

La présence de groupements accepteurs de liaisons hydrogène à l'extrémité N-terminale et à l'inverse, donneur de liaisons hydrogène à l'extrémité C-terminale stabilise le repliement des hélices. Cet effet est appelé effet *capping*.<sup>20</sup>

### I. 2. a. iii) Foldamères mimant des hélices

Les foldamères mimes d'hélices  $\alpha$  sont régulièrement décrits dans la littérature autant par approche ascendante que par approche descendante. Les acides aminés non-naturels ne sont pas reconnus par les protéases et permettent d'améliorer la stabilité métabolique des peptides dans lesquels ils sont incorporés, mais également de stabiliser les structures en hélices dans ces peptides. Dans cette partie nous ferons un rapide tour d'horizon de différents foldamères mimant des hélices :

#### ○ **Les acides aminés $\alpha,\alpha$ -dialkylés**

Les acides aminés  $\alpha,\alpha$ -dialkylés peuvent être utilisés pour induire une conformation hélicoïdale. En effet, ces acides aminés apportent une contrainte conformationnelle aux peptides dans lesquels ils sont incorporés induisant des conformations en hélice  $\alpha$ , en particulier l'Aib ( $\alpha$ -aminoisobutyric acid) peut promouvoir des coudes et des hélices 3-10.<sup>21,22</sup> Ces unités ont donc été utilisées pour concevoir des peptides biologiquement actifs de conformation hélicoïdale. On peut notamment citer un octamère peptidomimétique inhibiteur de MDM2, une enzyme responsable de la régulation négative du facteur de transcription p53 et qui est impliquée dans de nombreux cancers (Figure I-4a)).<sup>23</sup>

- **Acides aminés  $\beta/\gamma$**

Les dérivés d'acides aminés tels que les acides  $\beta$ -aminés et  $\gamma$ -aminés, comportent respectivement, un et deux carbones supplémentaires dans leur squelette peptidique vis-à-vis des acides  $\alpha$ -aminés. Comme évoqué précédemment, ils permettent d'augmenter la stabilité métabolique et de stabiliser les structures en hélice dans les peptides. De nombreux foldamères peptidomimétiques incorporant des acides aminés  $\beta$  et ou  $\gamma$  non-naturels ont vu le jour (Figure I-4b)).<sup>9,24,25</sup> On peut citer notamment l'utilisation de l'acide *trans*-2-aminocyclobutanecarboxylique (*tACBC*) utilisé pour concevoir des  $\alpha/\beta/\gamma$  peptides mimes d'hélices  $\alpha$  13 en solution et agissant comme inhibiteurs sélectifs des PPIs entre p53/hDM2.<sup>8,26</sup>

- **Les oligourées**

Les oligourées aliphatiques sont décrites comme des foldamères peptidomimétiques dont la conformation hélicoïdale est stabilisée par un motif régulier de liaison hydrogène à trois centres. De plus cette hélice possède plusieurs similarités avec une hélice  $\alpha$  peptidique comme la polarité et le pas de l'hélice. Seulement quelques fragments d'oligourées sont nécessaires pour induire une conformation hélicoïdale.<sup>27,28</sup> Ce groupement a notamment été utilisé pour concevoir des analogues de GLP-1 (*Glucagon like-peptide 1*), une hormone gastro-intestinale stimulant la sécrétion d'insuline (Figure I-4c)).<sup>29</sup>

- **Les aza-aminoacides**

Très récemment, notre laboratoire a décrit des résultats préliminaires concernant la synthèse d'hexapeptides incorporant des aza-aminoacides adoptant une structure hélicoïdale 3-10 (Figure I-4d)).<sup>30</sup>

- **Les oligoamides aromatiques**

Les foldamères d'oligoamides aromatiques sont également décrits comme pouvant adopter des conformations hélicoïdales (Figure I-4e)).<sup>31,32</sup>



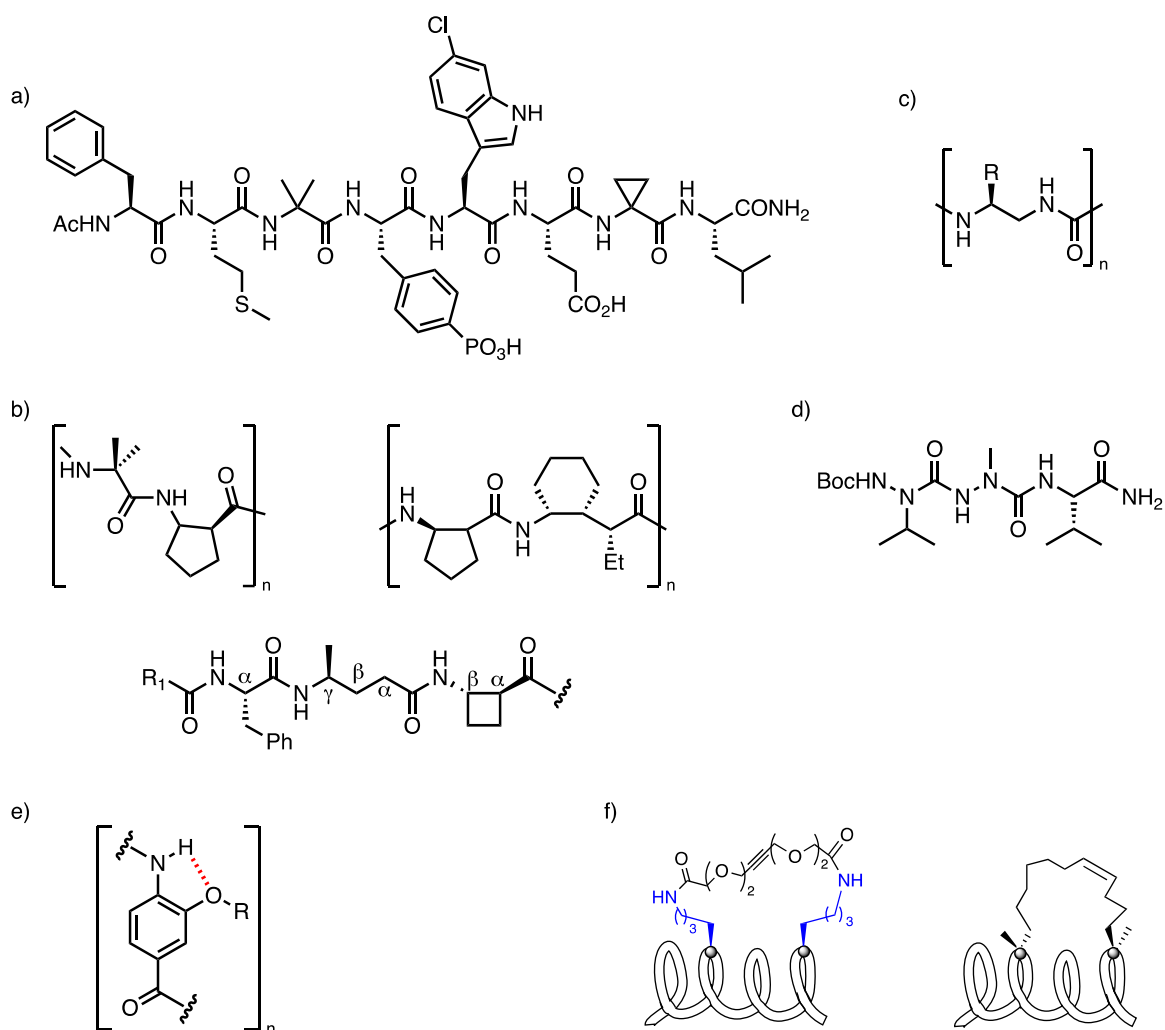
○ **Les *stapled helical peptides***

Parmi les différents peptidomimétiques développés comme inhibiteurs de PPIs, les *stapled helical peptides* ou peptides hélicoïdaux agrafés ont attiré une attention particulière, notamment grâce à des propriétés intéressantes telles que leur affinité pour la cible, leur pénétration accrue dans les cellules et leur stabilité face à la dégradation protéolytique. De nombreuses méthodes existent pour agraffer les séquences peptidiques et induire une conformation en hélice.<sup>33</sup>

Entre les chaînes latérales d'acides aminés naturels : la lactamisation (Lys-Asp/Glu),<sup>34,35</sup> l'utilisation de pont disulfure (Cys-Cys).<sup>36</sup> Ces « agrafes » sont généralement introduites entre les résidus  $i$  et  $i+4$  ou  $i$  et  $i+7$  et plus rarement entre  $i$  et  $i+3$  (Figure I-4f)).

Entre les chaînes latérales d'acides aminés non-naturels : la méthode la plus connue étant la métathèse à l'aide de catalyseur de Grubbs (Figure I-4f)),<sup>37,38</sup> mais il existe également des exemples de réaction « Click ». <sup>39,40</sup> Récemment un exemple de *stapled* peptide ciblant les PPIs entre CDK4/Cyclin D a fourni des perspectives thérapeutiques prometteuses pour les patients atteints de cancer du poumon.<sup>41</sup> La métathèse a été utilisée pour agraffer ce peptide entre les résidus  $i$  et  $i+4$ .

## Ch-I : Rappels bibliographiques



**Figure I-4 :** Quelques exemples de foldamères en hélices. a) foldamères incorporant des acides  $\alpha,\alpha$ -dialkylés.<sup>23</sup> b) foldamères incorporant des acides  $\alpha/\beta/\gamma$ -aminés.<sup>9,25,26</sup> c) foldamères d'oligourées aliphatiques.<sup>29</sup> d) foldamères incorporant des aza-aminoacides.<sup>30</sup> e) foldamères d'oligoamides aromatiques.<sup>31,32</sup> f) stapled peptides<sup>35,38</sup>

D'autres stratégies, qui ne seront pas détaillées ici, peuvent être utilisées pour concevoir des foldamères de conformation hélicoïdale comme l'utilisation de l'effet *capping* décrit précédemment.

I. 2. b. Mimes de coude  $\beta$

I. 2. b. i) Propriétés des coudes  $\beta$

Les coudes sont des structures secondaires qui induisent un changement de direction de la chaîne peptidique. Les coudes permettent la formation de structures plus complexes comme les feuillets  $\beta$  antiparallèles, les enchaînements hélice-coude-hélice ou encore hélice-coude-feuillet-coude-hélice. Le coude  $\beta$  est le plus représenté, il résulte de la formation de liaison hydrogène entre les résidus  $i$  et  $i+3$ . Les acides aminés les plus présents au sein des coudes sont : la proline, la glycine, l'asparagine et la sérine.

I. 2. b. ii) Foldamères mimant des coudes

Comme expliqué précédemment les prolines sont des résidus régulièrement retrouvés au sein des coudes  $\beta$ . La proline par sa structure cyclique rigide et l'absence de groupement donneur de liaison hydrogène (N-H) induit une déstabilisation de l'organisation de la chaîne peptidique qui conduit régulièrement à des coudes. Des études comparatives entre la (L)-proline et son énantiomère la (D)-proline ont montré que la (D)-proline permet un meilleur repliement en épingle à cheveux.<sup>42</sup> Une multitude de coudes en épingle à cheveux introduisant une (D)-proline et un acide  $\beta/\gamma$ -aminé ont été décrits. L'acide aminé,  $\alpha$ -aminoisobutyrique (Aib) permet également d'induire des coudes en épingle à cheveux (Figure I-5).

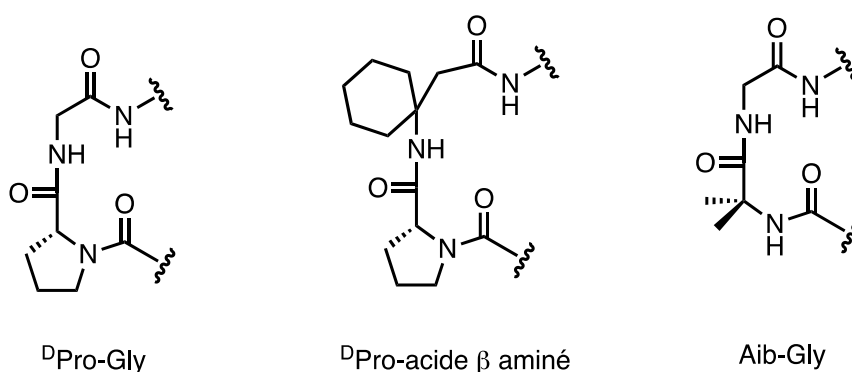
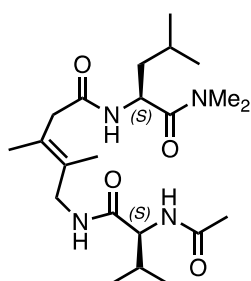


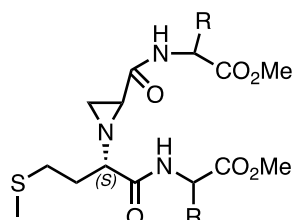
Figure I-5 : Exemples de coudes en épingles à cheveux

Un grand nombre de mimes de coudes utilisant des structures non-naturelles ont également vu le jour. Certains coudes permettent de former des feuillets  $\beta$  (cf. Chapitre I, I. 2. d. i) p.13) parallèles contrairement aux coudes biotiques en épingle à cheveux et aux coudes  $\beta$  naturels qui forment des feuillets  $\beta$  anti-parallèles. On y retrouve des motifs *trans*-alcène tétrasubstitués, des dérivés de diamine comprenant un motif aziridine (Figure I-6a)).<sup>43</sup> Des coudes  $\beta$  composés d'hétérocycles saturés et insaturés ont été conçus. Notre groupe a notamment participé au développement de différents mimes de coudes. Un coude monocyclique de type 2,5-dicétopipérazine<sup>44,45</sup> et un mime pipéridino-pyrrolidine (Figure I-6b)).<sup>46</sup> On retrouve également des structures dérivées du triazole, ainsi que des systèmes tricycliques (Figure I-6b)).<sup>47,48</sup>

a)

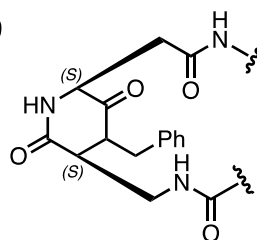


*trans*-alcène tétrasubstitué  
(feuille  $\beta$  anti-parallèle)

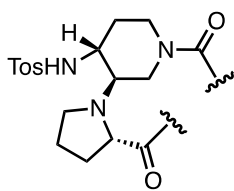


Aziridine  
(feuille  $\beta$  parallèle)

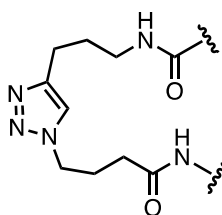
b)



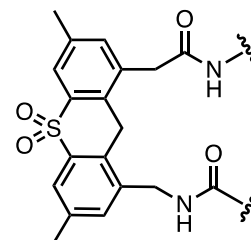
2,5-dicétopipérazine



Piperidino-pyrrolidine



Triazole



Phenoxathiin-10,10 dioxines

**Figure I-6 :** a) Mimes de coude  $\beta$  induisant un feuillet  $\beta$ -antiparallèle/parallèle b) Mimes de coudes  $\beta$  hétérocycliques

*I. 2. c. Mimes de brin  $\beta$*

I. 2. c. i) Propriétés des brins  $\beta$

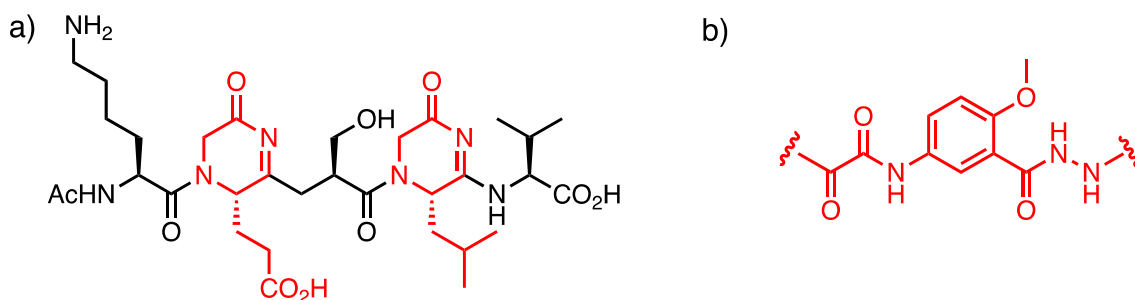
Les brins  $\beta$  sont les structures secondaires peptidiques les plus simples et sont rarement isolés. Ce sont des éléments structuraux cruciaux reconnus par des protéines spécifiques comme les enzymes protéolytiques ou le complexe majeur d'histocompatibilité. Les valeurs permises des angles dièdres pour les brins  $\beta$  sont  $\phi = [-60, -160]$  et  $\psi = [90, 180]$ .<sup>15</sup> Les petits peptides adoptent très rarement de manière spontanée en brin  $\beta$ . C'est une des raisons qui a conduit au développement de mimes de brins  $\beta$ . De plus, ils ont une forte propension à s'auto-agréger et ont été principalement décrits comme inhibiteurs de protéases mais rarement comme inhibiteurs d'interaction protéine-protéine.

Pourtant, une des stratégies prépondérantes pour inhiber les interactions protéine-protéine impliquant des feuilletts  $\beta$  est l'utilisation de peptides basés sur les éléments de reconnaissance de séquence (SRE).<sup>49</sup> Bien qu'il ne soit pas totalement prouvé que les SRE adoptent une conformation en brins  $\beta$  seuls ou en interaction avec la protéine. Des dérivés peptidiques de brin  $\beta$  de la superoxyde dismutase 1 (SOD1) ont été décrits comme inhibant la formation d'agrégats de SOD1.<sup>50</sup> Cette stratégie a également été utilisée pour inhiber l'agrégation de A $\beta$  dans la maladie d'Alzheimer.<sup>51</sup>

I. 2. c. ii) Foldamères mimant des brins

Pour concevoir des mimes de structure étendue, il est nécessaire d'utiliser des motifs induisant une conformation étendue au sein de la chaîne peptidique. L'insertion de motifs contraints de type dihydropyrazinone et de dihydropyridinone au sein de peptides a été décrite comme favorisant la conformation en brin  $\beta$  et capable de reproduire le réseau de liaison hydrogène et la fonctionnalisation des chaînes latérales d'un brin  $\beta$  naturel (cf Chapitre I, I. 2. d. i) p.13). Des mimes de pentapeptides utilisant le motif 4,5-dihydro-2(3H)pyrazinone ont été développés pour inhiber l'interaction entre le domaine PDZ de l' $\alpha$ -1-syntrophine et l'oxyde nitrique synthase neuronale (nNOS). Ces composés ont démontré une meilleure résistance à la protéolyse, et une meilleure sélectivité pour se lier au domaine PDZ que leurs analogues peptidiques (Figure I-7a)).<sup>52</sup>

Nowick a décrit une autre unité artificielle nommée « Hao » abréviation pour hydrazine, acide 5-amino-2-méthoxybenzoïque, acide oxalique. Cette architecture permet de favoriser les structures étendues. Ce motif a été développé pour la conception de feuillets  $\beta$  cycliques inhibant l'agrégation de A $\beta$  (Figure I-7b)).<sup>53</sup>



**Figure I-7** : Exemples de motifs pour induire des structures étendues.

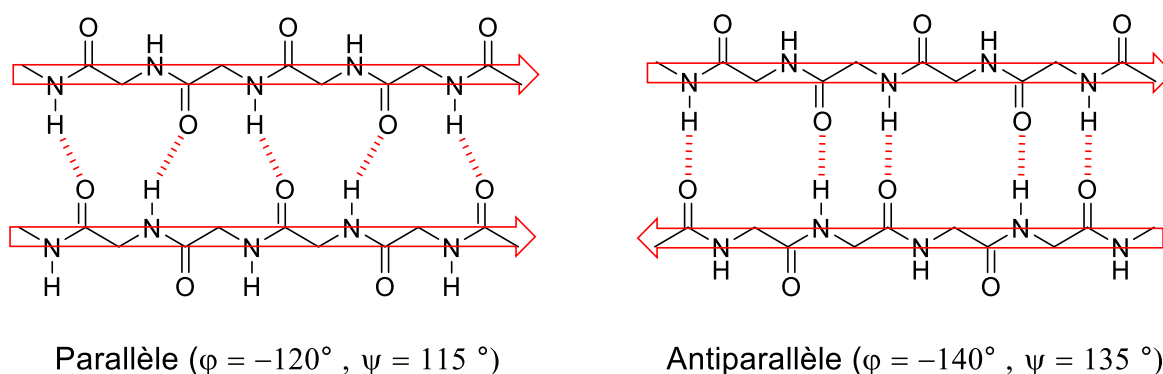
Les architectures décrites pour mimer des structures étendues peuvent se retrouver associées à des coudes pour concevoir des mimes de feuillets  $\beta$ .

#### *I. 2. d. Mimes de feuillets $\beta$*

Les feuillets  $\beta$  résultent de l'association de sous unités, les brins  $\beta$  interagissant via des interactions faibles. Ce sont ces interactions inter-brins qui font que les feuillets  $\beta$  ont une forte propension à s'agréger et à précipiter. Les maladies résultant des interactions protéine-protéine impliquant des feuillets  $\beta$  comme les amyloïdoses (maladie d'Alzheimer, Parkinson, diabète de type II, ...), certains cancers et la maladie de Duchenne sont un véritable défi pour la communauté scientifique.<sup>49</sup> Concevoir des peptidomimétiques en feuillet  $\beta$  pour altérer les interactions impliquées dans ces maladies représente un enjeu important. Quelques stratégies ont été développées pour stabiliser de courtes structures comme les coudes ou les brins  $\beta$ . Cependant concernant les feuillets, les résultats sont plus mitigés, la difficulté étant d'associer des brins tout en évitant que ceux-ci ne s'agrègent et ne précipitent. Dans cette partie seront présentées quelques avancées sur le développement de foldamères mimant des coudes, des brins et des feuillets  $\beta$ .

I. 2. d. i) Propriétés des feuillets  $\beta$ 

Les brins  $\beta$  constituant les feuillets peuvent interagir de deux manières. Lorsque les deux brins alignés s'orientent dans la même direction, de l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale, il s'agit d'un feuillet  $\beta$  parallèle. À contrario, lorsque les directions des deux brins sont opposées, on parle de feuillet  $\beta$  antiparallèle (Figure I-8). Les feuillets  $\beta$  antiparallèles sont plus stables que les feuillets  $\beta$  parallèles car les liaisons hydrogène sont alignées. La distance inter-brins est d'environ 4.7 Å. Les feuillets  $\beta$  parallèles forment un cycle à 12 chaînons fermés par des liaisons hydrogène alors que les feuillets antiparallèles possèdent des cycles à 14 chaînons et 10 chaînons.



**Figure I-8 :** Représentation des feuillets  $\beta$  parallèle/antiparallèle

I. 2. d. ii) Stabilisation naturelle des feuillets  $\beta$ 

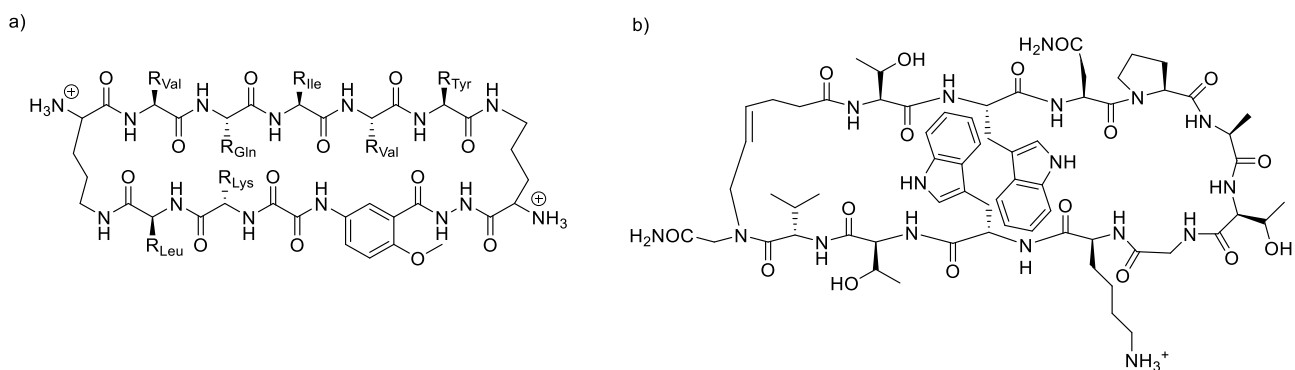
Contrairement aux hélices où le repliement s'effectue de résidu en résidu de manière intramoléculaire pour propager la structure, les feuillets  $\beta$  sont stabilisés par la formation de liaisons hydrogène intermoléculaires entre les chaînes peptidiques des brins  $\beta$  composant le feuillet mais également des interactions entre les chaînes latérales. Les résidus avec des chaînes latérales de types alcanes ou aromatiques tels que la valine, la tyrosine, la phénylalanine, la leucine et l'isoleucine sont présents plus fréquemment dans les structures étendues comme les brins  $\beta$  et sont connus pour stabiliser les feuillets en induisant des interactions hydrophobes entre deux brins. Il en est de même pour les interactions électrostatiques pouvant être initiées par des résidus à chaînes latérales chargées comme l'arginine, la lysine ou encore l'acide glutamique. La cyclisation intramoléculaire par l'intermédiaire de liaison amide ou de pont disulfure est aussi une méthode de stabilisation des feuillets  $\beta$ .<sup>54,55</sup>

I. 2. d. iii) Mimes de feuillets  $\beta$ 

La stratégie prédominante pour concevoir des foldamères métaboliquement stables est l'utilisation de groupements artificiels non-reconnus par l'organisme biologique. Il existe plusieurs stratégies pour stabiliser les feuillets  $\beta$  : l'introduction de coude artificiel pour induire une conformation en épingle à cheveu ( *$\beta$ -hairpin*, en anglais), la macrocyclisation inter-brin, ou la stabilisation par l'induction d'un grand nombre d'interactions stabilisantes comme les liaisons hydrogène ou les empilements aromatiques.

Comme structure de coude artificiel, nous avons déjà évoqué précédemment les architectures 2,5-dicétopipérazine<sup>45</sup> et pipéridino-pyrrolidine<sup>46</sup> développées dans notre laboratoire et les coudes utilisant la (D)-Proline qui, associés à des chaînes peptidiques, permettent d'obtenir une conformation en épingle à cheveu (Figure I-5 et I-6).<sup>56</sup>

Les travaux de Gellman puis dans un second temps de Nowick ont montré qu'il est possible de stabiliser les feuillets  $\beta$  par macrocyclisation à l'aide de coude artificiel (Figure I-9a).<sup>43,57,58</sup> Le macrocycle de Nowick utilise deux brins  $\beta$  liés par des coudes type  $\delta$ -ornithine. Ce composé inhibe sélectivement l'agrégation de protéines amyloïdes. Un des brins est un heptapeptide correspondant à la séquence du peptide amyloïde ciblé ( $A\beta$ ,  $\alpha$ -synucléine, hIAPP) et le deuxième brin bloque l'interaction avec les protéines amyloïdes.<sup>58</sup> Il contient le tripeptide non-naturel Hao cité précédemment. Un autre exemple est l'utilisation de substitut de liaison hydrogène (HBS) pour stabiliser la conformation en épingle à cheveu. Le deuxième exemple ci-dessous utilise cette stratégie en remplaçant une liaison hydrogène par un lien covalent utilisant une oléfine de conformation *trans* (Figure I-9b).<sup>59</sup>



**Figure I-9** : mimes de feuillets  $\beta$  cycliques



La stabilisation des feuilletts  $\beta$  multibrins (feuilletts  $\beta$  composés de plus de deux brins) est encore peu développée mais il existe quelques exemples de foldamères permettant de mimer ces feuilletts  $\beta$  multibrins. Des feuilletts à trois brins composés d'acides  $\alpha/\beta$ -aminés utilisant des coudes (D)-Pro-Gly ont été décrits par Balaram.<sup>60</sup> Une autre stratégie pour stabiliser les feuilletts multibrins est l'utilisation de brins poly-aromatiques liés par le motif 4,6-dinitro-1,3-phénylènediamine ou des interactions tryptophane-tryptophane (Figure I-9b) pour réaliser des empilements aromatiques stabilisants ( $\pi$ -stacking, en anglais).<sup>61</sup>

La conception de foldamères est un domaine qui a émergé ces dernières années. Ces architectures ont été développées pour répondre aux besoins d'inhibiteurs ayant une grande sélectivité, à l'instar des peptides, mais avec une grande stabilité conformationnelle et métabolique. Un grand nombre de stratégies ont été mises au point pour concevoir des foldamères mimés de structures secondaires, notamment pour les hélices et les coudes étant les structures les plus représentées. Les structures secondaires étendues sont impliquées dans de nombreuses maladies faisant intervenir des interactions protéine-protéine, comme la maladie d'Alzheimer, de Parkinson ou le diabète de type II.<sup>49</sup> Cependant très peu d'exemples de foldamères mimant et interagissant avec ces structures secondaires étendues sont décrits pour inhiber les interactions mises en place dans ces pathologies.

Les travaux présentés dans cette thèse ont pour objectifs de répondre à ces lacunes. Nous avons décidé de concevoir et de réaliser la synthèse de foldamères interagissant avec des protéines amyloïdes et plus particulièrement hIAPP, impliquée dans le diabète de type II, en utilisant des architectures peptidomimétiques. De plus, toujours dans une problématique de moduler au mieux les propriétés de nos inhibiteurs, nous avons fait le choix d'y incorporer des atomes de fluor. À notre connaissance, seulement quelques exemples de foldamères fluorés ont été décrit à l'heure actuelle (cf. Chapitre I-III. 2. h. p.41).<sup>62-64</sup>

### I. 3. Les interactions protéine-protéine (PPIs)

Les interactions protéine-protéine jouent un rôle fondamental dans de nombreux mécanismes biologiques. Cependant, elles sont également impliquées dans de nombreuses maladies (cancers, maladies auto-immunes, amyloïdoses).<sup>65</sup>

L'approche classique pour développer des petites molécules d'intérêt thérapeutique se concentre principalement sur les interactions protéine-ligand comme les enzymes, les canaux ioniques ou les récepteurs. Généralement les protéines contiennent un domaine de liaison du ligand (*ligand binding domain*, LBD) bien défini avec lequel les petites molécules peuvent interagir. Pour moduler des PPIs l'utilisation de petites molécules est beaucoup plus complexe et les PPIs ont été considérées pendant longtemps comme *undruggable*.<sup>66,67</sup> Différentes raisons viennent expliquer ces difficultés. Tout d'abord, les PPIs interviennent à l'interface d'un domaine spécifique où deux protéines identiques ou différentes sont en contact. La zone d'interface est plus grande dans les PPIs (1500-3000 Å) comparativement à la zone de contact récepteur-ligand (300-1000 Å)<sup>68</sup> et l'interface est hautement hydrophobe. Par ailleurs, la surface d'interaction des PPIs a tendance à être plate et ne contient que très peu de poches. De plus, ces interactions s'effectuent généralement par l'intermédiaire de structures secondaires (hélices, feuillettes, etc...) au niveau des *hot-spot* (résidus impliqués dans l'interaction) ce qui rend difficile pour des petits composés moléculaires d'inhiber des interactions de haute affinité.<sup>69,70</sup> Par rapport aux cibles traditionnelles des médicaments, les PPIs n'ont pas de ligands moléculaires endogènes de référence. En outre, les médicaments agissant sur les PPIs ont un poids moléculaire plus élevé (>400 Da) que les petites molécules bioactives (200-500 Da) rendant difficile le respect des règles de Lipinski.<sup>71</sup>

Pour moduler ces interactions, les peptides et peptidomimétiques, et par extension les foldamères, apparaissent comme une solution prometteuse pouvant être sélectifs et spécifiques. De nombreux dérivés peptidiques ont été décrits pour cibler les PPIs impliquant des structures en hélices.<sup>72,73</sup> Contrairement aux structures hélicoïdales, les structures étendues ont été beaucoup moins étudiées, pour cette raison nous avons rédigé une revue mettant en évidence les différentes stratégies de synthèse de dérivés peptidiques et peptidomimétiques pour inhiber les PPIs impliquant des feuillettes  $\beta$  (cf. revue ci-après).<sup>49</sup>

Les principales interactions ciblées impliquant des structures riches en feuillet  $\beta$  sont celles que l'on trouve dans les agrégats de protéines amyloïdes comme dans la maladie d'Alzheimer et le diabète de type II. Nos travaux ont pour but de moduler les PPIs impliquées dans le diabète de type II à l'aide de foldamères fluorés.

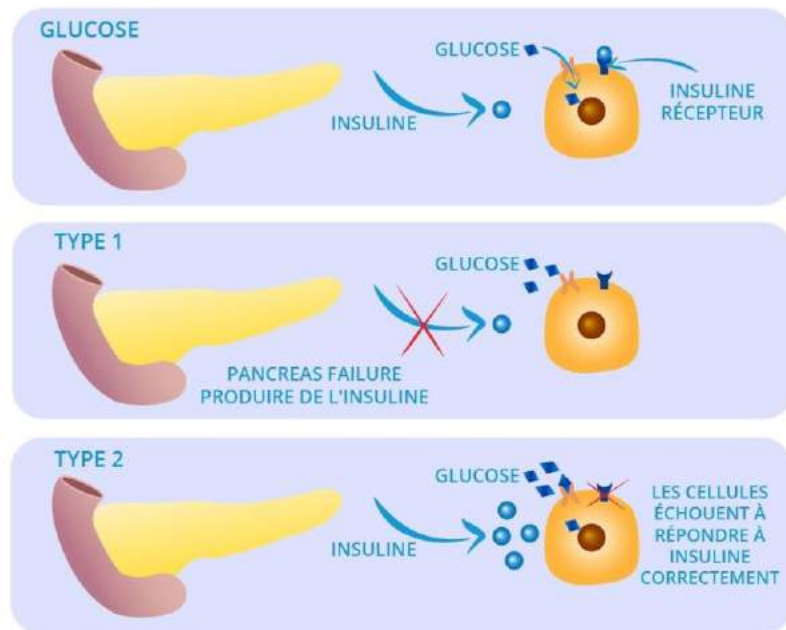
## **II. Le diabète et Polypeptide Amyloïde des Ilots (IAPP)**

### **II. 1. Le diabète**

#### *II. 1. a. Généralités sur le diabète*

Le diabète est une maladie qui atteint aujourd'hui environ un demi-milliard de personnes à travers le monde. D'après la Fédération Internationale du Diabète, le nombre d'adulte atteint de cette pathologie a plus que triplé lors des 20 dernières années. En 2045, le nombre de personne atteintes pourrait grimper jusqu'à 700 millions. Le diabète est devenu l'une des principales causes d'invalidité et de décès dans le monde et ces données alarmantes font du diabète une urgence sanitaire mondiale.<sup>74,75</sup> Pour cause, la moitié des personnes atteintes par le diabète l'ignore. Le diabète de type 2 (DT2) est majoritaire en nombre de cas représentant 90 % des diabétiques (417 millions). Le diabète de type 1 (DT1) concerne 10 % des diabétiques (46 millions). De manière générale, le diabète est dû à une dérégulation du glucose, soit par l'absence d'insuline (DT1) ou par un phénomène d'insulinorésistance (DT2). Dans les deux cas, une hyperglycémie est observée qui en l'absence de traitement peut entraîner de nombreuses complications. Le diabète est une maladie dû à des facteurs socio-environnementaux et génétiques.

Le DT1, ou insulino-dépendant est une maladie auto-immune qui se caractérise par une destruction des cellules  $\beta$ -pancréatiques des îlots de Langerhans responsable de la sécrétion d'insuline. La carence totale d'insuline empêche le glucose de pénétrer dans les muscles, entraînant un niveau élevé de glucose dans le sang et par extension la pathologie (Figure I-10). Les enfants et les jeunes adultes sont les populations les plus touchées par le DT1.



**Figure I-10** : Rôle de l'insuline chez une personne saine, atteinte du DT1 ou du DT2<sup>76</sup>

Le diabète de type 2, ou diabète insulino-résistant est une maladie chronique définie comme une affection métabolique qui apparait lorsque le pancréas ne produit plus suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise plus correctement celle qu'il produit. Le glucose n'est donc pas transporté vers les muscles et les tissus, causant une hyperglycémie générant ensuite des troubles du fonctionnement des cellules  $\beta$ -pancréatiques. Ces cellules vont continuer de produire de l'insuline pour faire diminuer la glycémie. La concentration élevée d'insuline conduit à la mort des cellules  $\beta$ -pancréatiques (Figure I-10). Le DT2 est majoritairement observé chez les personnes de plus de quarante ans. Ceci s'explique par une symptomatologie modérée voire absente chez un nombre élevé de patients expliquant le diagnostic tardif. Nos travaux se sont focalisés particulièrement sur le DT2 de par sa prépondérance vis-à-vis du DT1.

*II. 1. b. Étiologie du DT2*

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle, résultant de l'interaction entre facteurs génétiques et environnementaux. Parmi les facteurs environnementaux se tient au premier rang la consommation excessive de sucres rapides, de graisses saturées pouvant être associées à un surpoids et de l'obésité. La sédentarité est également un des facteurs importants pouvant être à l'origine de la pathologie.<sup>77</sup> De plus, des facteurs prénataux et postnataux ont été décrits ayant un impact sur l'apparition de DT2 à l'âge adulte. Durant la gestation : la malnutrition, l'obésité, la consommation de drogue (alcools, tabac, ...), ou encore la prise d'hormone peuvent augmenter le risque de diabète.<sup>78</sup>

*II. 1. c. Physiopathologie du DT2*

Comme évoqué précédemment, le DT2 est une pathologie responsable de complications graves notamment cardiovasculaires qui implique des mécanismes physiopathologiques complexes. Le DT2 résulte de deux phénomènes qui sont : l'insulinorésistance (faible sensibilité tissulaire à l'action de l'insuline) et l'insulinopénie (déficit sécrétoire en insuline). L'insulinorésistance apparaît comme un processus préalable au DT2, la glycémie est maintenue dans un premier temps à un niveau normal par une « hyper insulinémie ». Dans un second temps, l'homéostasie glucidique ne peut plus être maintenue par le pancréas qui n'arrive plus à fournir d'insuline. On parle « d'épuisement » du pancréas. La défaillance insulinosécrétoire des cellules  $\beta$ -pancréatiques est également un phénomène précoce. Certains travaux montrent qu'il préexiste sûrement même avant l'insulinorésistance et qu'il est aggravé par celle-ci.

## *II. 1. d. Conséquences et traitements*

La maladie coronarienne est la première cause de décès des patients atteints de DT2 qui représentent environ deux tiers des décès en cas de diabète. On peut nommer les ischémies coronariennes ou l'insuffisance cardiaque comme pathologies fréquemment rencontrées chez les patients atteints de DT2. On peut également citer l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) entraînant une obstruction des artères des membres inférieurs. La micro/macro-angiopathie, la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie diabétique font aussi partie des pathologies résultantes du DT2.

De plus le diabète de type 2 apparaît comme un facteur prédisposant aux maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et de Parkinson. Des interactions croisées entre hIAPP et A $\beta$ <sup>79,80</sup> et hIAPP et l' $\alpha$ -synucléine<sup>81</sup> sont décrites et suspectées pour confirmer ces observations (cf. Chapitre I, II. 2. b. ii) p. 25).

Le premier traitement du diabète de type 2 est la mise en place de mesure hygiéno-diététiques. Ces mesures vont avoir un impact bénéfique sur le contrôle glycémique mais aussi sur les facteurs de risque du DT2 comme l'obésité et la sédentarité. Bien que ces mesures aient un effet positif elles sont très régulièrement insuffisantes et doivent être accompagnées d'un traitement thérapeutique. L'une des stratégies pour le traitement du DT2 est l'utilisation de traitements médicamenteux hypoglycémisants. Il en existe différentes classes (Figure I-11) :

### ○ **Les insulinosensibilisateurs**

Les biguanides dont fait partie la metformine et les glitazones (plus commercialisés en France depuis 2011). La metformine agit comme anti-hyperglycémiant par l'intermédiaire de 3 mécanismes. Premièrement, en réduisant la production de glucose dans le foie, en inhibant la néoglucogenèse et la glycolyse. Deuxièmement en augmentant la sensibilité des muscles à l'insuline. Et finalement en retardant l'absorption intestinale du glucose.<sup>82</sup>

○ **Les insulinosécrétagogues**

On peut citer les sulfonylurées (glibenclamide, gliclazide, glimépiride) qui stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$ -pancréatiques en les rendant plus sensible à l'action du glucose. En se liant au récepteur membranaire appelé SUR (*sulfonylurea receptor*) dont le médiateur endogène est inconnu, ils inhibent l'efflux de potassium en fermant les canaux potassiques ATP-dépendants des cellules  $\beta$ . L'augmentation de la concentration en potassium intracellulaire entraîne une dépolarisation membranaire provoquant un influx du calcium. Cette augmentation du calcium intracellulaire induit une exocytose de l'insuline. Les glinides agissent de manière similaire aux sulfonylurées avec comme seul représentant de cette classe en France le repaglinide.<sup>83-85</sup>

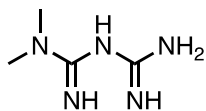
○ **Les incrétino-mimétiques et incrétino-modulateurs**

Les incrétines sont des hormones peptidiques qui stimulent la sécrétion d'insuline lorsque la glycémie est trop élevée. Dans le cas des patients atteints de DT2, la concentration en incrétine diminue ce qui a pour conséquence une inhibition de la libération d'insuline et une augmentation de la glycémie. Pour pallier ce problème, des composés peptidiques substitués d'incrétines sont utilisés tel que l'Exénatide et Liraglutide qui sont des analogues du *Glucagon-Like Peptide-1* (GLP-1). La séquence d'acides aminés de l'Exénatide correspond partiellement à celle du GLP-1 (figure I-11). L'Exénatide augmente la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$ -pancréatiques de manière glucose-dépendante. La sécrétion d'insuline diminue lorsque la glycémie diminue. De plus, l'Exénatide inhibe la sécrétion de glucagon entraînant la diminution de la production de glucose par le foie. L'Exénatide ralentit également la vidange gastrique et entraîne une augmentation de la satiété.<sup>86</sup>

○ **Les inhibiteurs de dipeptidylpeptidases DPP4**

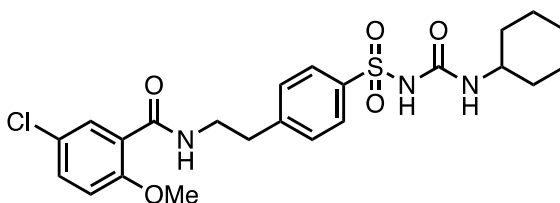
Les DPP4 sont des enzymes qui dégradent les incrétines (GLP-1/GIP). Chez le patient atteint de DT2, une des stratégies peut être l'inhibition de la dégradation des incrétines par les DPP-4 en utilisant des inhibiteurs de celle-ci telle que la sitagliptine, vildagliptine ou saxagliptine. Le mécanisme d'action glucose-dépendant de la sitagliptine se distingue de celui des sulfonylurées hypoglycémiantes qui augmente la sécrétion d'insuline même lorsque la concentration en glucose est faible pouvant entraîner une hypoglycémie. La sitagliptine est un inhibiteur puissant et hautement sélectif de la DPP-4, n'inhibant pas des enzymes étroitement apparentées telles que la DPP-8 ou DPP-9 aux concentrations thérapeutiques.<sup>87</sup>

Insulinosensibilisateurs:



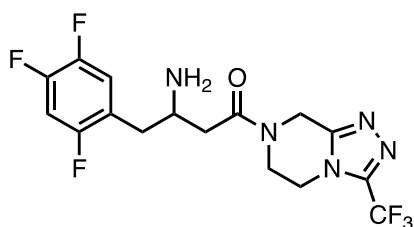
Metformine (biguanide)

Insulinosécrétagogues

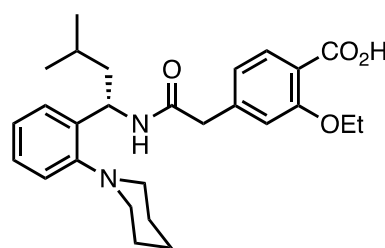


Gilbenclamide (sulfonlurée)

Inhibiteur de DPP4:



Sitagliptine



Répaglinide (glinide)

**Figure I-11** : Les différentes classes de médicaments dans le DT2

L'ensemble des médicaments présentés ci-dessus sont utilisés pour traiter les patients atteints de DT2. Néanmoins, aucun ne permet de lutter de manière directe contre la destruction des cellules  $\beta$ -pancréatiques et ils ne traitent que les symptômes. La glycémie reste souvent mal contrôlée et les patients ont généralement recours au bout d'un certain temps à un traitement par insulinothérapie.

Par ailleurs, ces traitements hypoglycémisants causent de nombreux effets secondaires indésirables. Un des enjeux majeurs de notre société réside dans le développement de nouvelles méthodes thérapeutiques pour le dépistage et le traitement causal du diabète. De nouveaux mécanismes liés à la mort des cellules  $\beta$  sont en cours d'étude.<sup>88</sup> Les travaux que nous menons tentent de répondre à cette problématique en se focalisant sur le développement d'inhibiteurs contre l'agrégation de la protéine hIAPP étant en cause dans le diabète de type 2.



## II. 2. hIAPP

### *II. 2. a. Généralités et rôle biologique de hIAPP*

hIAPP ou Polypeptide Amyloïde des Ilots humains aussi appelé amyline est un polypeptide de 37 acides aminés colocalisé avec l'insuline dans les cellules  $\beta$ -pancréatiques des îlots de Langerhans. hIAPP est également co-sécrété avec l'insuline en réponse à une hausse de glycémie dans le sang. Le ratio normal molaire hIAPP:Insuline est de 1/100. Chez les patients diabétiques ce ratio diminue à 1:20, traduisant une augmentation de la sécrétion de hIAPP.

L'insuline et hIAPP fonctionnent de paire pour réguler la glycémie. La première permet au glucose d'être transporté du sang vers les tissus. Le second permet la régulation de la glycémie dans le sang en ralentissant la vidange gastrique et en inhibant la sécrétion de glucagon pour empêcher le processus de glycolyse. hIAPP agit également à travers le système neuroendocrinien pour induire une sensation de satiété et diminuer la prise de nourriture.

### *II. 2. b. Hypothèses toxicologiques de hIAPP*

Au cours de ces dernières années un nombre croissant de preuves ont mis en évidence l'implication des dépôts amyloïdes de hIAPP dans la perte des cellules  $\beta$ -pancréatiques et la baisse progressive de sécrétion d'insuline caractéristique du diabète de type 2. Tout d'abord, des dépôts amyloïdes constitués d'agrégats de hIAPP ont été observés dans le pancréas de 95 % des patients atteints de diabète de type 2 à l'autopsie.<sup>89</sup> De plus, il y a une corrélation entre la quantité de dépôts retrouvés et la gravité de la maladie.<sup>90</sup> Deuxièmement, la formation de dépôts amyloïdes est associée à une réduction de la quantité des cellules  $\beta$ -pancréatiques chez l'humain mais également chez le primate.<sup>91,92</sup> Finalement, il a été montré que les lésions précèdent l'apparition d'hyperglycémie chez le singe.<sup>93</sup> L'ensemble de ces informations ont mis en évidence un lien étroit entre la formation de dépôts amyloïdes et le développement de diabète de type 2.

## II. 2. b. i) Mécanisme d'agrégation amyloïde

Dans son état natif l'amyline ne possède pas de structure secondaire, elle est intrinsèquement désordonnée. La formation d'oligomères puis de fibres riches en feuillet  $\beta$  intervient après un changement conformationnel du peptide encore non élucidé. Ce changement conformationnel pourrait intervenir lors de la formation de nouvelles liaisons hydrogènes au sein de la protéine entre les fonctions NH-amides et CO, lors de la dénaturation de la protéine complètement repliée, ou encore en cas de surproduction de la protéine désordonnée native.<sup>94</sup> Le mécanisme de fibrillation de l'amyline n'est pas encore complètement connu. La thioflavin T est une molécule qui fluoresce en présence d'une population riche en feuillet  $\beta$  comme les oligomères et les fibres de hIAPP. On peut suivre la cinétique d'agrégation de hIAPP par spectrométrie de fluorescence à la thioflavin T, cette cinétique se décompose en 3 phases observables (Figure I-12) :<sup>95,96</sup>

- La lag phase : phase de formation de petits oligomères à partir du monomère mal replié.
- La phase d'élongation (Growth phase) : phase de formation et de propagation de protofibres qui vont promouvoir des fibres.
- Phase de saturation : un plateau est atteint, la quantité de fibres amyloïdes est constante.

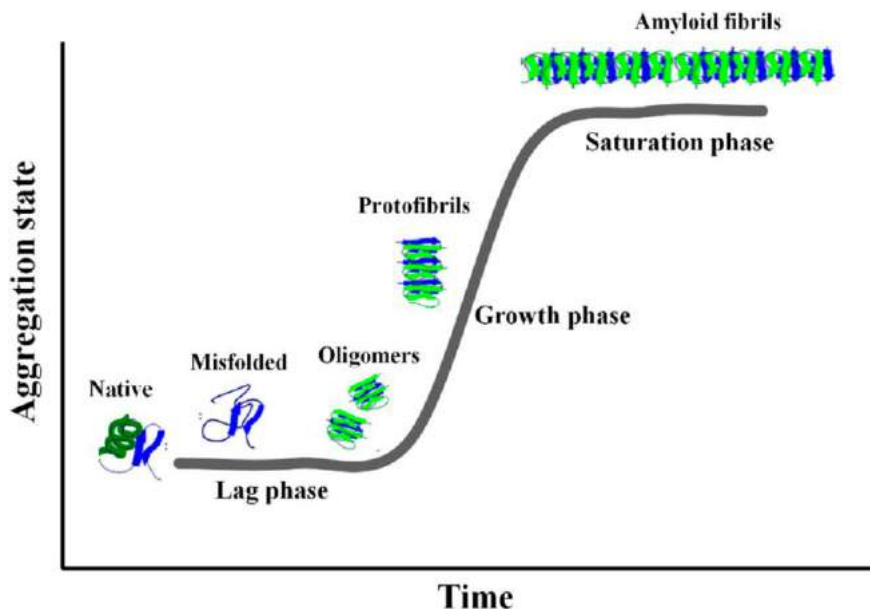
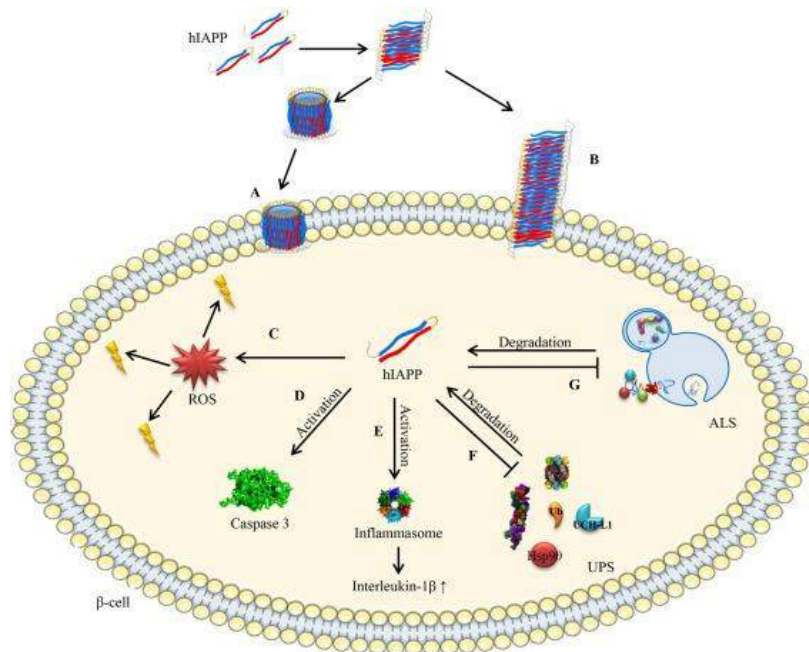


Figure I-12 : Cinétique de fibrillation de l'amyline<sup>96</sup>

## II. 2. b. ii) Espèces toxiques

Les dépôts amyloïdes retrouvés chez une grande majorité de patient atteints de diabète de type 2 ont été décrits pour ne pas être toxiques vis-à-vis des cellules  $\beta$ -pancréatiques. Les espèces les plus toxiques pour les cellules sont les petits oligomères solubles pouvant perturber les membranes *in vitro* entraînant la mort cellulaire.<sup>97,98</sup>

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant le mécanisme de toxicité des oligomères de l'amyline, qui reste néanmoins à complètement élucider. La perturbation des membranes par formation de pores transmembranaires est l'une des hypothèses les plus étudiées. En formant des pores dans la membrane des cellules, les oligomères de hIAPP permettent aux ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) de pénétrer à l'intérieur de la cellule entraînant l'apoptose de celle-ci. De plus, l'échec du mécanisme de dégradation des protéines entraîne une accumulation de mitochondries endommagées, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et une sensibilité accrue à l'apoptose induite par le stress du réticulum endoplasmique (RE).<sup>99</sup> L'ensemble de ces hypothèses concernant la toxicité de hIAPP sont mises en évidence dans la figure ci-dessous (Figure I-13).<sup>100-102</sup> Prévenir la formation des oligomères toxiques et des agrégats plus larges représente une stratégie prometteuse à explorer d'avantage pour lutter contre le diabète de type 2. De plus, cette stratégie pourrait permettre de diminuer les facteurs de risque des complications cardiovasculaires et également de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et de Parkinson. En effet des interactions croisées de la protéine hIAPP avec  $\text{A}\beta$ <sup>79,80</sup> et  $\alpha$ -synucléine<sup>81</sup> ont été décrites et suspectées comme une explication possible sur l'observation de la pathologie DT2 comme facteur prédisposant aux maladies d'Alzheimer et de Parkinson.

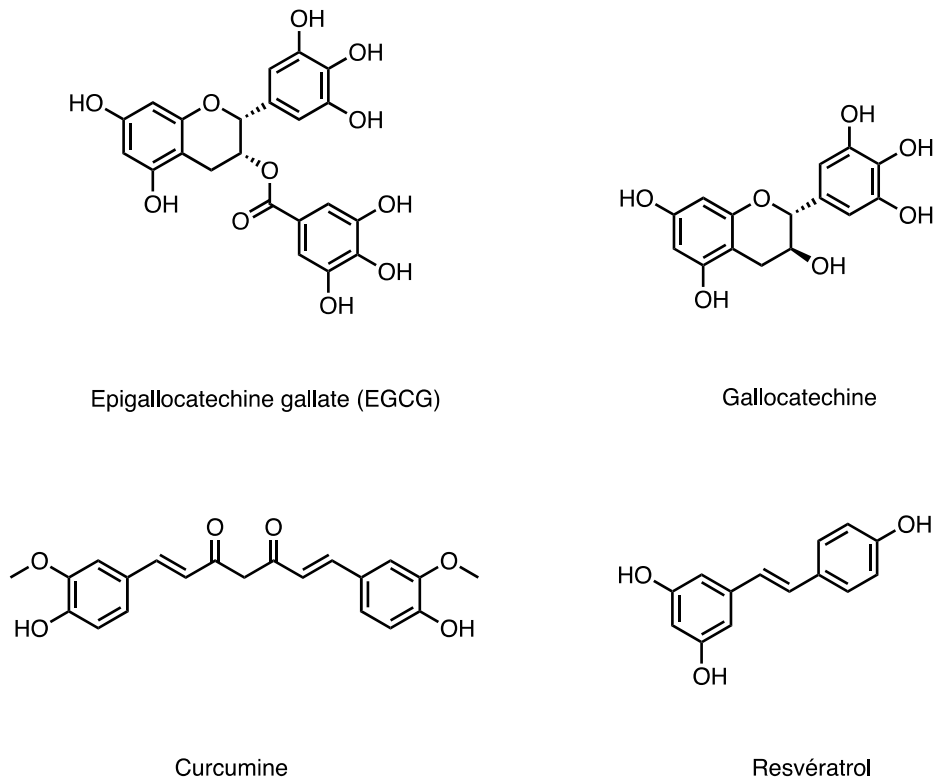


**Figure I-13 :** Effets toxiques possibles de l'amyline sur les cellules  $\beta$ -pancréatiques.<sup>102</sup> (A) les monomères de hIAPP forment des oligomères pouvant adopter une structure en forme de canaux pénétrant la membrane cellulaire conduisant à une perméabilité accrue aux ions. (B) les oligomères de hIAPP perforent la membrane cellulaire, dans laquelle se développe de longues fibres minces induisant la rupture de la membrane. (C) hIAPP induit la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO ou ROS en anglais) capables d'endommager les macromolécules cellulaires telles que les protéines, les lipides et l'ADN. (D) hIAPP initie le clivage de la procaspase 3 en caspase 3 conduisant à l'apoptose de la cellule. (E) hIAPP active l'inflammasome induisant l'inflammation. (F) Le système protéasome-ubiquitine (ULS en anglais) et (G) le système autophagie-lysosomal (ALS en anglais) sont tous deux impliqués dans la dégradation de hIAPP et inversement.

## II. 2. b. iii) Inhibiteurs de l'agrégation de IAPP

### ○ Inhibiteurs non-peptidiques

Les polyphénols sont une classe d'inhibiteurs de l'agrégation de hIAPP et de façon plus générale capables d'inhiber l'agrégation d'un grand nombre de protéines amyloïdes. Les inhibiteurs les plus étudiés sont l'épigallocatechine gallate (EGCG), gallocatechine gallate (GCG), gallocatechine (GC) qui sont extrait du thé vert, la curcumine issue du curcuma et le resvératrol qui provient du raisin (Figure I-14).<sup>103-105</sup> Ces inhibiteurs interagissent avec les protéines par des interactions  $\pi$ - $\pi$  aromatiques et par des liaisons hydrogène selon un mécanisme encore débattu aujourd'hui. Le principal inconvénient de cette classe d'inhibiteurs est leur manque de sélectivité provoquant des effets secondaires indésirables. On peut également citer les dérivés d'oligopyridylamine développés pour stabiliser hIAPP sous sa forme hélicoïdale en présence de lipides.<sup>106,107</sup>



**Figure I-14** : inhibiteurs d'agrégation de hIAPP appartenant à la classe des polyphénols

○ **Inhibiteurs peptidiques et peptidomimétiques**

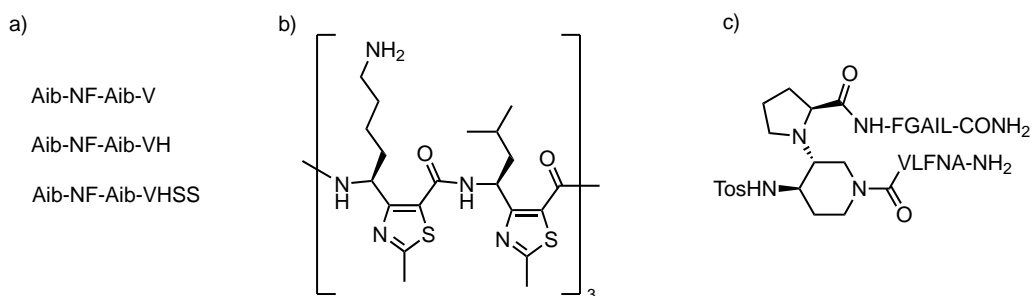
Pour éviter les effets secondaires il est nécessaire de concevoir un composé pouvant interagir et inhiber l'agrégation de hIAPP de manière rationnelle et sélective. Il est donc nécessaire de connaître la séquence du polypeptide responsable de l'agrégation. La séquence amyloïdogénique de hIAPP se trouve entre les résidus 21 et 27 (<sup>21</sup>NNFGAI<sup>27</sup>L). Cette zone amyloïdogénique du peptide a été identifiée en comparant la séquence de hIAPP à celle d'autres mammifères chez lesquels IAPP ne s'agrège pas ou peu comme les rongeurs, le chien ou le porc (Figure I-15).<sup>97</sup>

	AGGESCAN Score		1	2	3	
		—S—S—	0	0	0	
Human IAPP	-5.6	KCN TATCATQRLANFLVHSSNN	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>A</b>	<b>I</b>
Cat IAPP	-6.6	KCN TATCATQRLANFLVRSSNN	<b>L</b>	<b>G</b>	<b>A</b>	<b>I</b>
Rat IAPP	-8.8	KCN TATCATQRLANFLVRSSNN	<b>L</b>	<b>G</b>	<b>P</b>	<b>V</b>
Pig IAPP	-13.4	KCN MATCATQHLANFLDRSRNN	<b>L</b>	<b>G</b>	<b>T</b>	<b>I</b>

**Figure I-15** : Comparaison des séquences de IAPP chez l'Homme, le chat, le rat et le porc.

Le pramlintide est actuellement l'unique analogue peptidique non-amyloïdogénique de hIAPP sur le marché. Il a été approuvé par la FDA en 2005. Le pramlintide possède les mêmes effets que hIAPP et est utilisé dans le traitement du DT1 et du DT2 combiné à l'insuline. Le pramlintide est un analogue de l'amyline dans lequel les résidus 25, 28 et 29 ont été substitués par des prolines mimant la séquence non-amyloïdogénique du rat. En effet les prolines sont connues pour défavoriser la formation de structures secondaire en feuillets  $\beta$  empêchant ainsi l'agrégation.<sup>16</sup> L'insuline a également été décrite comme un inhibiteur efficace de l'agrégation de IAPP en stabilisant la forme monomérique de IAPP au ratio 1/1.<sup>108,109</sup>

Plusieurs stratégies sont utilisées pour concevoir des pseudopeptides et des peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation de IAPP, utilisant la séquence amyloïdogénique. On peut notamment citer l'insertion d'acide  $\alpha$ -aminoisobutyrique (Aib) dans une chaîne peptidique pour concevoir des  $\beta$ -sheet breaker empêchant l'agrégation (Figure I-16a)).<sup>110</sup> Des mimes de IAPP méthylés sur les résidus appartenant à la séquence amyloïdogénique ont également été conçus et ont montré une inhibition de l'agrégation.<sup>111</sup> Plus récemment des macrocycles basés sur de courts éléments de reconnaissance et avec des résidus méthylés ont été décrits comme inhibiteurs de l'agrégation de IAPP.<sup>112</sup> Concernant les foldamères plusieurs stratégies ont été également étudiées. Un macrocycle en feuillet  $\beta$  incorporant une séquence de reconnaissance de hIAPP et une séquence bloquante incorporant le motif Hao, évoqué précédemment, a montré un ralentissement de l'agrégation de hIAPP (Figure I-9).<sup>113</sup> Récemment, notre équipe a développé des foldamères hélicoïdaux basés sur 6 unités d'acide 4-amino(méthyl)-1,3-thiazole-5-carboxylique (ATC) pour piéger les monomères non toxiques de  $A\beta_{1-42}$  et de hIAPP (Figure I-16b)).<sup>114</sup> Mais également des foldamères basés sur une architecture pipéridine-pyrrolidine mime de  $\beta$ -hairpin portant 2 différents bras peptidiques ou pseudopeptidiques (Figure I-16c)).<sup>115</sup>



**Figure I-16 :** Peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation de hIAPP. a) séquences peptidiques incorporant des motifs Aib. b) foldamère hélicoïdale basé sur ATC. c) mime de  $\beta$ -hairpin basé sur une architecture pipéridine-pyrrolidine

### III. Intérêt des 1,2,3-triazoles et introduction d'atomes de Fluor

Pour concevoir nos foldamères fluorés, nous nous sommes orientés vers l'utilisation de deux architectures différentes, les 1,2,3 triazoles *N*-difluorométhylés et les 5-fluoro-1,2,3 triazoles. Ces deux architectures ont en commun la même unité de base à savoir le 1,2,3 triazole et la présence d'atomes de fluor dont l'intérêt pour concevoir des peptidomimétiques bioactifs sera explicité ci-dessous.

#### III. 1. 1,2,3-Triazoles

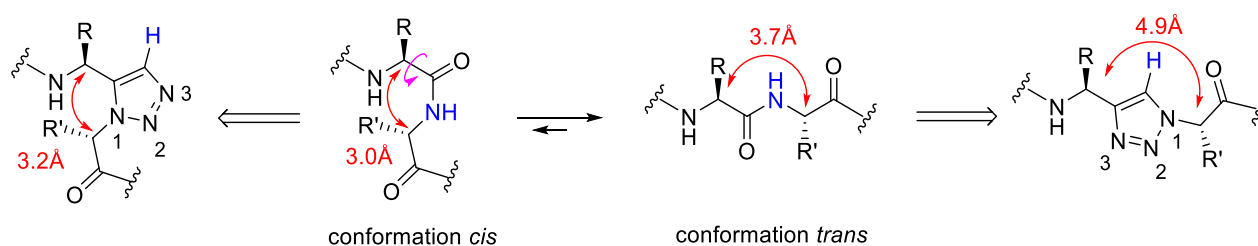
##### *III. 1. a. Généralités sur les 1,2,3-triazoles*

Ces dernières décennies, la demande croissante de composés bioactifs pour la mise au point de médicaments a donné naissance à de nombreuses voies synthétiques simples et efficaces permettant d'accéder rapidement à des architectures moléculaires complexes et variées. Le concept de chimie click s'inscrit parfaitement dans cette idéologie. Comme l'a défini Sharpless,<sup>116</sup> la chimie click doit répondre aux critères suivants : des rendements élevés, une grande diversité moléculaire, un contrôle parfait de la stéréosélectivité, des sous-produits faciles à éliminer et une procédure simple.

Dans ces réactions faisant partie de la chimie click, on trouve la réaction de Huisgen ou la 1,3-cycloaddition catalysée au cuivre comme étant un excellent outil pour produire de la complexité et de la diversité moléculaire, très simplement et avec de bons rendements. Cette réaction permet, à partir d'un azoture et d'un alcyne, de former un cycle hétéro-aromatique, 1,2,3-triazoles, avec un contrôle parfait de la régiosélectivité pour le régio-isomère 1-4. Dans le cas d'une catalyse au ruthénium, le régio-isomère 1-5 est obtenu.<sup>117</sup>

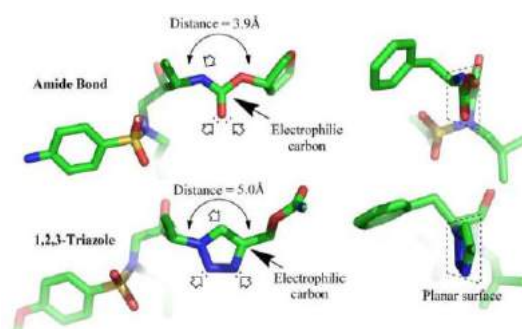
### III. 1. b. Propriétés structurales du 1,2,3-triazole

La structure tridimensionnelle du 1,2,3-triazole est très proche de la liaison peptidique. Ceci est dû à la planéité du noyau aromatique et à l'orientation des substituants (Figure I-17). L'isomère [1-5] mime la conformation *cis* (distances C $\alpha$ -C $\alpha$  très proche, 3.0 et 3.2Å) tandis que l'isomère [1-4] est un bon mime du conformère *trans* (oriente les chaînes peptidiques à l'opposé l'une de l'autre). Néanmoins le fait que le squelette peptidique comporte un carbone supplémentaire augmente considérablement la distance entre les deux carbones  $\alpha$  (4.9 contrairement à 3.7 dans le cas du dipeptide naturel).<sup>118</sup>



**Figure I-17 :** Mimétisme structurel et électronique de la liaison amide et du 1,2,3-triazole. En bleu les donneurs de liaison hydrogène

Concernant les propriétés électroniques du 1,2,3-triazole, elles sont très similaires à la liaison peptidique. D'un part avec un moment dipolaire relativement proche (5 Debye en comparaison des 4 Debye d'une fonction amide<sup>119</sup>). Mais également par la position des groupements donneurs et accepteurs de liaison hydrogène. La liaison C-H du triazole est un mime du caractère donneur de liaison hydrogène de la liaison N-H de la liaison amide. Cette liaison C-H est orientée de manière opposée aux azotes N2 et N3 du triazole, qui sont accepteurs de liaison hydrogène (Figure I-18).



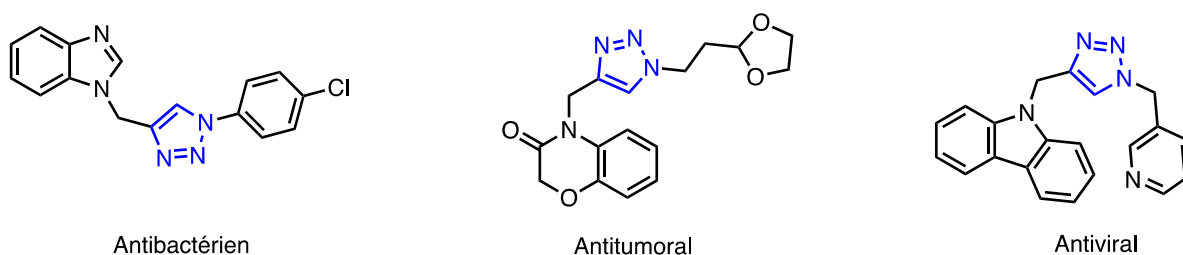
**Figure I-18 :** Propriétés spatiales des 1,2,3-triazoles



De plus les 1,2,3-triazoles présentent une bonne stabilité vis-à-vis de processus comme la dégradation enzymatique, l'hydrolyse et l'oxydation. L'ensemble de ses propriétés font du groupement 1,2,3-triazole un excellent mime de liaison peptidique.<sup>120,121</sup>

### III. 1. c. Propriétés biologiques des 1,2,3-triazoles

Les triazoles sont présents dans la structure de nombreux principes actifs médicamenteux.<sup>122</sup> Ils sont associés à des propriétés pharmacologiques diverses et variées,<sup>117</sup> telles que des activités antimicrobiennes,<sup>123</sup> antivirales,<sup>124</sup> antitumorales,<sup>125</sup> antibactériennes,<sup>126</sup> anti-inflammatoires,<sup>127</sup> et antifongiques (Figure I-19).<sup>128</sup> Les triazoles se retrouvent dans de nombreux produits d'intérêt pharmaceutique grâce à leurs propriétés utiles au développement de molécules bioactives. En effet, les triazoles sont stables vis-à-vis de l'hydrolyse acide ou basique et aux conditions oxydantes et réductives.<sup>129</sup> D'autres part, les triazoles ont un moment dipolaire plus élevé qu'une liaison amide (environ 5 Debyes), ce qui accroît le caractère accepteur et donneur de liaison hydrogène ainsi que les interactions dipôles-dipôles et les empilements  $\pi$ - $\pi$ .<sup>130</sup> Les triazoles, et possiblement les dérivés triazoliques, sont plus stables au processus de dégradation et peuvent par leurs propriétés électroniques accroître les interactions avec une cible.



**Figure I-19** : Quelques exemples de molécules contenant un noyau triazole ayant une activité biologique

Ces caractéristiques ont fait du 1,2,3-triazole une architecture très utilisée dans le développement pharmaceutique et également un isostère de liaison peptidique très utilisé pour développer des composés thérapeutiques peptidomimétiques.<sup>117,118,131</sup>

## III. 1. d. Synthèse des triazoles

## III. 1. d. i) Les triazoles [1-4] di-fonctionnalisés

La première synthèse de triazoles [1-4] disubstitués avec d'excellents rendements et une régiosélectivité parfaite a été décrite de manière concomitante par Meldal et Sharpless en 2002.<sup>132,133</sup> Ils utilisent des conditions douces à l'aide d'une catalyse au cuivre (I). Avant cela, la réaction de Huisgen était bien moins utilisée en raison de l'instabilité des azotures d'alkyles et de la faible régiosélectivité dû à la nécessité de chauffer. Le mécanisme décrit par Sharpless et Fokin pour la réaction de Huisgen est décrit dans la figure ci-dessous (Figure I-20).

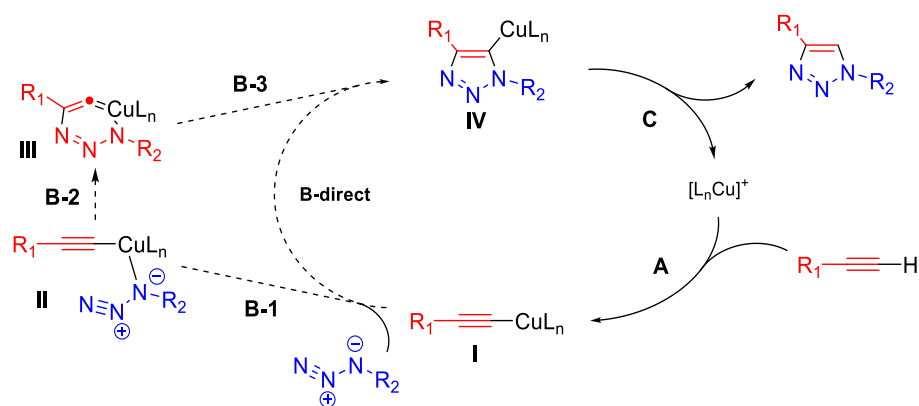
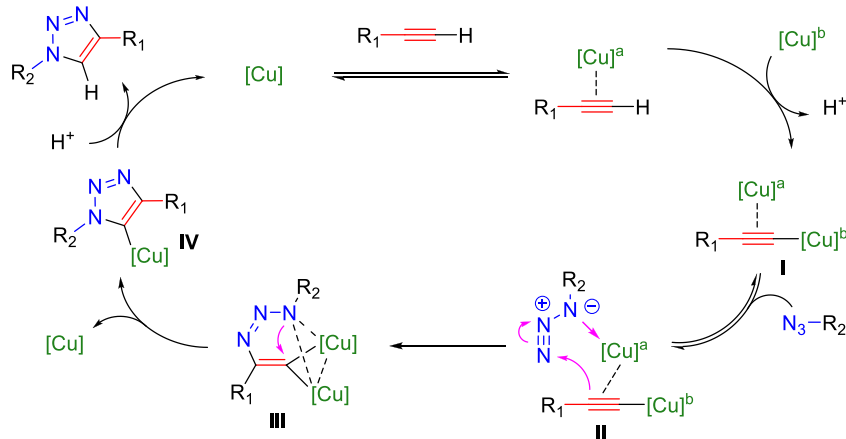


Figure I-20 : Mécanisme de la CuAAC décrit par Sharpless et Fokin<sup>133</sup>

Dans un premier temps le cuivre (I) va s'insérer sur l'alcyne afin de former l'acétylure **I**. Dans un second temps, l'azoture va se coordonner à l'atome de cuivre et après cyclisation, va former l'intermédiaire à 6 chaînons **III**. Après un réarrangement, un triazole cuivré **IV** est obtenu. Celui-ci va se protonner pour donner le triazole [1-4] attendu et recycler le catalyseur. Énergétiquement cette voie est favorisée par rapport à la voie concertée B-direct (10-12 kcal) ce qui justifie la régiosélectivité parfaite imposée par l'intermédiaire à 6 chaînons **III**.

En 2013, Fokin<sup>134</sup> a prouvé, en utilisant l'isotope <sup>63</sup>Cu comme catalyseur externe marqué, que le mécanisme passe par un intermédiaire bimétallique lors de cette réaction (Figure I-21). Il y a insertion d'un premier atome de cuivre dans la liaison C-H de l'alcyne formant l'acétylure de cuivre. Cet acétylure va se complexer à un deuxième atome de cuivre pour donner l'intermédiaire **I**. L'azoture va se coordonner sur le deuxième atome de cuivre entraînant l'attaque de l'alcyne sur l'azote N3 de l'azoture pour former l'intermédiaire bimétallique **III**.

Le triazole cuivré **IV** est obtenu après la cyclisation et le départ d'un atome de cuivre. Après protonation, le produit attendu est obtenu.



**Figure I-21** : Mécanisme de la CuAAC décrit par Fokin

Depuis sa première publication, la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée au cuivre s'est développée avec de nouvelles sources de cuivre. L'utilisation de pré-catalyseurs et de ligands afin d'étendre les substrats pouvait être utilisée. Cependant la conception d'un catalyseur polyvalent pouvant être appliqué à tous types d'alcynes ou d'azotures ainsi que des conditions de réactions permettant une élimination du cuivre complète et efficace restent les limitations à résoudre.<sup>135</sup>

La réaction de Huisgen fait l'objet de nombreuses publications dans divers domaines, la santé (conception de molécules bioactives, marquage *in vivo*, peptides...) ainsi que les matériaux (nanostructure, polymères, modifications de surfaces...).<sup>136-139</sup>

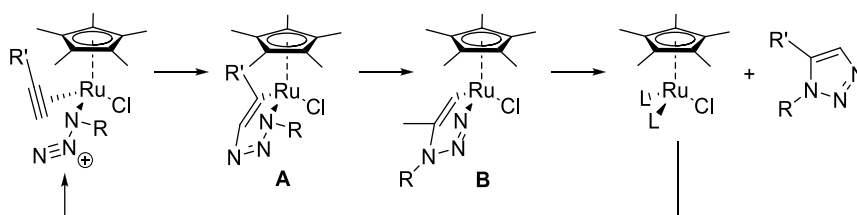
### III. 1. d. ii) Les triazoles [1-5] di-fonctionnalisés

En 2005, Fokin a décrit une méthodologie pour réaliser la synthèse régiosélective de plusieurs 1,2,3-triazoles [1-5] di-fonctionnalisés en utilisant la cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée au ruthénium. (RuAAC). Le Cp\*Ru(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> a été utilisé comme catalyseur pour synthétiser plusieurs triazoles à partir de réactifs simples avec d'excellents rendements et une régiosélectivité parfaite.<sup>140</sup>

Comme évoqué précédemment, les triazoles [1-5] sont des mimes de liaison amide *cis*. L'isomère *cis* est minoritaire dans les liaisons peptidiques vis-à-vis de l'isomère *trans*.

C'est pour cette raison que nous ne nous attarderons pas sur la synthèse du régioisomère [1-5] en ne présentant que rapidement son mécanisme.

Pour justifier la régiosélectivité de la réaction, les auteurs ont émis l'hypothèse d'un intermédiaire à six chaînons **A** ou **B**. Cet intermédiaire est issu de deux additions oxydantes sur le même atome de ruthénium par l'alcyne et l'azoture. Après une étape d'élimination réductrice, le catalyseur et le produit attendu sont libérés (Figure I-22).



**Figure I-22** : Mécanisme de la RuAAC proposé par Fokin

### III. 2. Le Fluor

#### III. 2. a. *Propriétés physico-chimiques du fluor*

L'atome de fluor est le 13<sup>e</sup> élément le plus abondant de la croûte terrestre (0,028%) et le premier halogène. À l'état naturel, cet élément se trouve essentiellement dans des minéraux sous forme de fluorure (F<sup>-</sup>). Les deux sources principales sont la cryolite (Na<sub>3</sub>AlF<sub>6</sub>) et le fluorite (CaF<sub>2</sub>). Le fluorure est également présent dans la fluoroapatite [Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>F], composant en partie l'émail dentaire.<sup>141</sup> Les propriétés particulières de l'atome de fluor font de cet atome un élément unique dans la classification périodique (Tableau I-1).

Avec un rayon de van der Waals de 1,47 Å, le fluor est le plus petit élément après l'hydrogène (1,20 Å). De plus, c'est l'élément le plus électronégatif du tableau périodique (3,98) selon l'échelle de Pauling. De ce fait, la déformation du nuage électronique de l'atome de fluor est difficile, ce qui lui confère une faible polarisabilité  $0,557 \times 10^{-24} \text{ cm}^{-3}$  le différenciant des autres halogènes.

Tableau I-1 : Propriétés de l'atome de fluor comparées à d'autres atomes								
	H	C	N	O	F	Cl	Br	I
Rayon de Van der Waals (Å)	1.20	1.70	1.55	1.52	<b>1.47</b>	1.75	1.85	1.98
Electronégativité (échelle de Pauling)	2.20	2.55	3.04	3.44	<b>3.98</b>	3.116	2.96	2.66
Polarisabilité ( $\times 10^{-24}$ cm <sup>3</sup> )	0.667	1.76	1.10	0.82	<b>0.557</b>	2.18	3.05	4.70
Longueur C-X (Å)	1.09	1.54	1.47	1.43	<b>1.35</b>	1.77	-	-

### III. 2. b. Effet sur l'acidité et la basicité

La modification du  $pK_a$  peut avoir un impact important sur l'interaction avec le ligand, la biodisponibilité et la pharmacocinétique d'un médicament. Il est donc intéressant de pouvoir moduler cette propriété pour concevoir des composés médicinaux.

L'atome de fluor étant très électronégatif, l'ajout d'atomes de fluor au sein d'une molécule a un effet important sur le  $pK_a$ . Par conséquent, la fluoration augmente l'acidité des hydrogènes des fonctions voisines comme les acides carboxyliques, les alcools et les amides voisins. De même la basicité des amines est diminuée par la fluoration (Tableau I-2).<sup>142</sup>

Tableau I-2 : Effet du fluor sur l'acidité & la basicité des fonctions voisines					
-COOH	$pK_a$	-OH	$pK_a$	-NH <sub>2</sub>	$pK_a$
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H	4.76	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	15.9	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	10.6
CH <sub>2</sub> FCO <sub>2</sub> H	2.59	CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	12.4	CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	5.7
CHF <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	1.34	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> CH	19.2	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	4.6
CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H	0.52	(CF <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> COH	5.1	C <sub>6</sub> F <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	-0.36

### III. 2. c. Liaison hydrogène

Bien qu'il soit l'atome le plus électronégatif et qu'il ait trois paires d'électrons libres, le fluor est un faible accepteur de liaison hydrogène. Ceci est dû à la faible polarisation de ses électrons. Bien qu'il soit un faible accepteur de liaison hydrogène (HBA), le fluor, grâce à son important effet électroattracteur a un impact important sur l'effet donneur liaison hydrogène (HBD) des fonctions adjacentes. Nous pouvons prendre l'exemple de l'éthanol (HBA = 0.44 ; HBD = 0.33) et du 2,2,2-trifluoroéthanol (HBA = 0.18; HBD = 0.57). De plus, l'étude des interactions entre le fluorométhane et l'eau, ainsi que fluoroéthylène et l'eau ont montré que le lien C(sp<sup>3</sup>)-F permet une liaison hydrogène plus forte que le lien C(sp<sup>2</sup>)-F.<sup>143</sup>

### III. 2. d. Lipophilie

La balance hydrophile/lipophile est un concept important dans la conception de composés thérapeutiques. En effet, une bonne balance hydrophile/lipophile permet d'optimiser l'absorption, le transport et l'interaction avec sa cible du composé.

La lipophilie est exprimée par un coefficient de partage ( $\log P$ ) d'un composé entre l'octanol et l'eau. Cette valeur permet de prédire l'aptitude d'une molécule à franchir les membranes lipidiques. La valeur du  $\log P$  doit être suffisamment élevée pour que la molécule puisse traverser les membranes, sans être trop élevée pour que la molécule n'y soit pas piégée. Le fluor est souvent utilisé pour moduler l'hydrophilie ou la lipophilie des composés dans lesquels il est incorporé. En général, la fluoration en position aliphatique diminue la lipophilie et augmente l'hydrophilie. Ceci est dû au fort effet électroattracteur du fluor (Tableau I-3).<sup>142</sup> Tandis que la fluoration de composés aromatiques, la fluoration adjacente aux atomes avec des électrons  $\pi$  (à l'exception les carbonyles fluorés), et la polyfluoruration entraînent une augmentation de la lipophilie.

<b>Tableau I-3 : Effet du fluor sur la lipophilie</b>			
Composé	Log <i>P</i>	Composé	Log <i>P</i>
CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	1.81	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	2.1
CH <sub>3</sub> CHF <sub>2</sub>	<b>0.75</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> F	<b>2.3</b>
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	3.11	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	2.1
CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> F	<b>2.33</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CF <sub>3</sub>	<b>3.0</b>

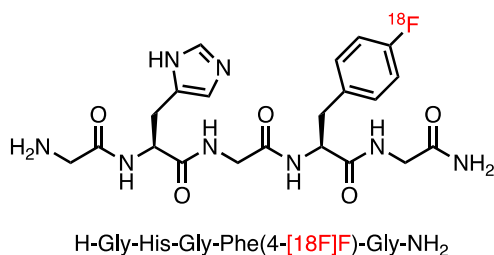
### III. 2. e. RMN <sup>19</sup>F & TEP <sup>18</sup>F

Le <sup>19</sup>F est l'isotope le plus stable de l'atome de fluor, il a une abondance naturelle de 100%, un spin de 1/2 et un rapport gyromagnétique ( $\gamma$ ) de 40,03 MHz/T représentant 0,94 fois celui de l'hydrogène (Tableau I-4).<sup>144</sup> ce qui lui confère une sensibilité relative de 83% par rapport à <sup>1</sup>H. L'ensemble de ces propriétés font du <sup>19</sup>F un noyau intéressant en résonance magnétique nucléaire (RMN). La large fenêtre spectrale (environs 350 ppm) du <sup>19</sup>F permet d'identifier de faibles variations de l'environnement chimique d'un composé par un changement de déplacement chimique. L'ensemble de ces propriétés font du fluor un outil important dans le domaine de la recherche que ce soit pour le suivi de réaction, l'étude conformationnelle, la stabilité métabolique ou des études d'interaction ligand-protéine par *fluorine chemical shift anisotropy and exchange for screening* (FAXS).<sup>145,146</sup>

<b>Tableau I-4 : Intérêt de l'atome de fluor pour la RMN</b>			
Propriétés	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C	<sup>19</sup> F
Spin	1/2	1/2	<b>1/2</b>
Abondance naturelle (%)	99.99	1.108	<b>100</b>
Rapport gyromagnétique (MHz/T)	42.58	10.71	<b>40.03</b>
Sensibilité (%)	100	0.017	<b>83</b>

Le <sup>18</sup>F est un radio-isotope de l'atome de fluor pouvant être obtenu par synthèse. Avec un temps de demi-vie de 109,8 minutes, il est utilisé dans le domaine de l'imagerie médicale en tomographie par émissions de positrons (TEP).<sup>147</sup>

Cette technique est également utilisée dans la recherche pour le développement de molécules thérapeutiques car elle permet de cartographier la distribution et le métabolisme d'un médicament *in vivo*. Récemment, cette méthodologie a été appliquée aux peptides. La synthèse de peptides incorporant des acides aminés fluorés a été décrite (Figure I-23).<sup>148</sup> Ci-dessous, l'hydrogène du noyau aromatique de la phénylalanine dans un pentapeptide a été substitué par un atome de <sup>18</sup>F.



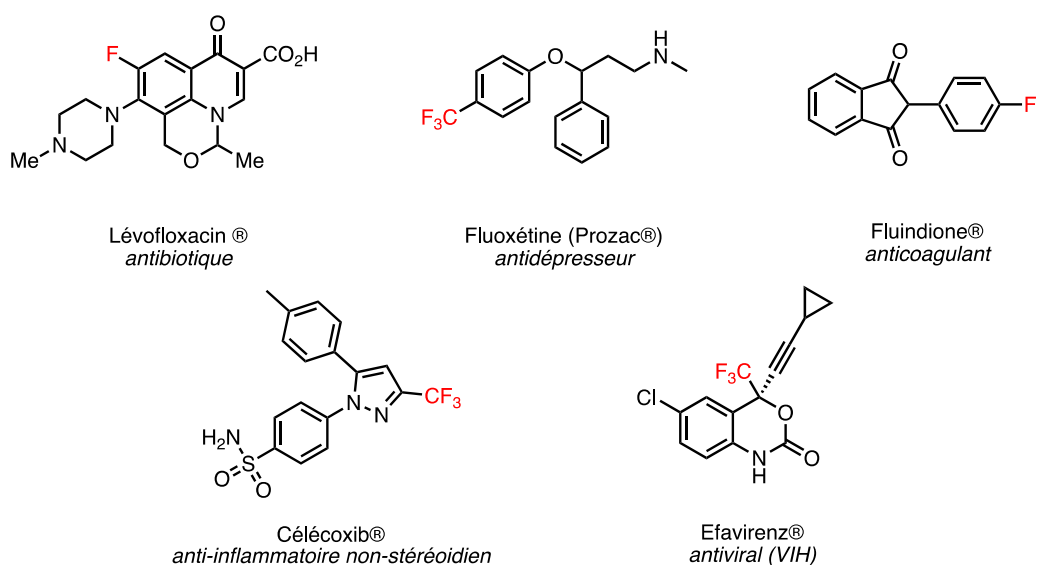
**Figure I-23** : Peptide incorporant un acide aminé fluoré

### III. 2. f. Intérêt en chimie médicinale

#### III. 2. f. i) Les molécules organofluorées bioactives

Les molécules organofluorées sont présentes dans divers domaines tels que les matériaux,<sup>149</sup> l'agrochimie<sup>150,151</sup> et le secteur pharmaceutique<sup>152-154</sup>. En 2005, la moitié des dix médicaments les plus vendus étaient fluorés.<sup>155</sup>

En 2016, un quart des médicaments sur le marché ou en phase de développement dans la plupart des classes thérapeutiques contenaient au moins un atome de fluor (Figure I-24).<sup>156,157</sup>



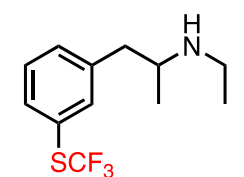
**Figure I-24** : Exemples de médicaments fluorés



Les propriétés pharmacocinétiques peuvent être modulées par l'incorporation d'un ou plusieurs atomes de fluor dans un composé.<sup>158,159</sup> Comme évoqué précédemment, les effets électroniques du fluor peuvent entraîner une perturbation de l'acidité ou la basicité et l'effet accepteur de liaison hydrogène des fonctions voisines. L'incorporation du fluor peut également induire une modification de la lipophilie, et de la conformation. L'ensemble de ces variations a une importance sur plusieurs aspects d'un médicament comme la biodisponibilité, la solubilité, et les interactions avec la cible. De plus, l'incorporation d'un atome de fluor peut induire une meilleure stabilité métabolique en prévenant des mécanismes hydrolytiques ou oxydatifs<sup>142</sup>, même si cet aspect a été discuté récemment.<sup>160</sup>

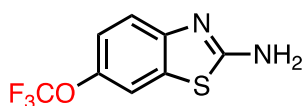
### III. 2. f. ii) Les nouveaux groupements fluorés

Cette particularité que l'atome de fluor a de pouvoir moduler les propriétés physico-chimiques des molécules dans lesquelles il est incorporé a entraîné le développement de nouveaux groupements fluorés. Notamment des groupements fluorés liés à des hétéroatomes et plus particulièrement sur l'oxygène et le soufre. Les groupements ORf /SRf et plus particulièrement les OCF<sub>3</sub> et SCF<sub>3</sub> sont reconnus pour leur lipophilie élevée,<sup>161</sup> et de nombreuses molécules incorporant ces groupements sont présentes dans l'agrochimie et le domaine pharmaceutique (Figure I-25).<sup>141,154,162</sup>



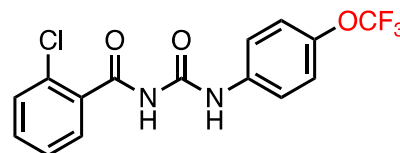
Tiflorex®

traitement de  
l'anorexie nerveuse



Riluzole®

traitement contre la  
sclérose latérale amyotrophique

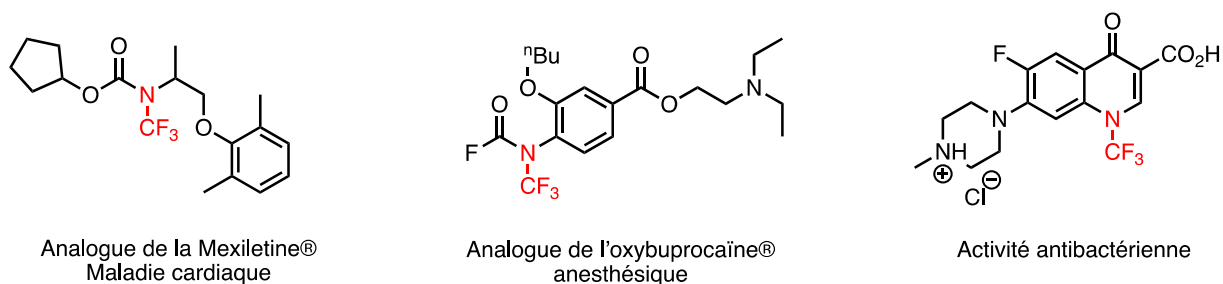


Triflumuron®

insecticide

**Figure I-25 :** Molécules actives incorporant un groupement OCF<sub>3</sub>/SCF<sub>3</sub>

A contrario les groupements *N*-Rf ont été très peu étudiés et font aujourd'hui l'objet d'un intérêt grâce aux nouveaux réactifs et méthodologies permettant de faciliter l'accès à ce groupement et plus particulièrement au *N*-CF<sub>3</sub>.<sup>163,164</sup> Quelques molécules actives ont été récemment décrites contenant un groupement *N*-CF<sub>3</sub> (Figure I-26).<sup>163,165,166</sup>

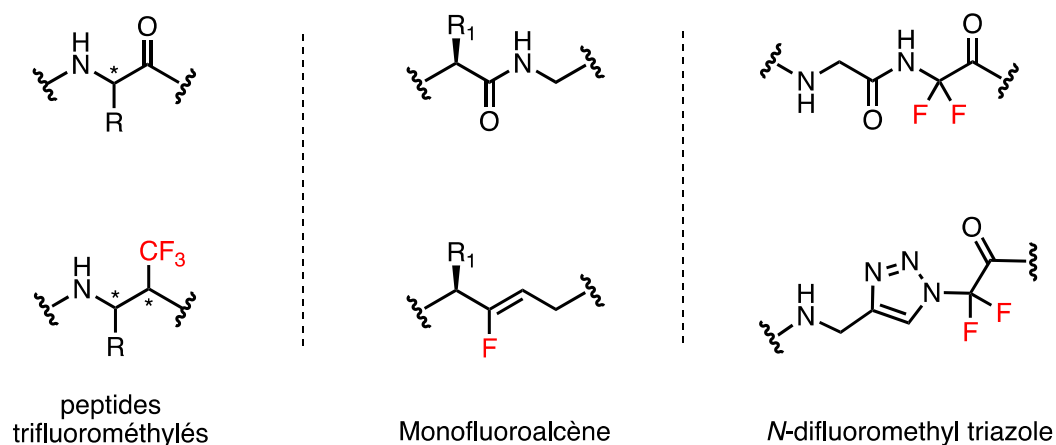


**Figure I-26 :** Molécules bioactives incorporant un groupement  $N-CF_3$

### III. 2. g. Les peptidomimétiques fluorés

Les peptides sont des composés essentiels des organismes vivants. Ils peuvent agir sous différentes formes telles que des hormones, des neurotransmetteurs, des neuromodulateurs, etc.<sup>167</sup> Ils ont vu leur utilisation s'accroître dans l'industrie pharmaceutique<sup>167</sup> néanmoins leur utilisation dans le développement de médicaments est limitée à cause de leur faible stabilité métabolique *in vivo* et de leur faible biodisponibilité. Une des stratégies pour palier à ce problème est d'effectuer des modifications sur ces peptides afin d'en augmenter la stabilité.<sup>168</sup> De plus, comme évoqué ci-dessus, une grande partie des médicaments sur le marché comporte au moins un atome de fluor. Le domaine des peptides n'a pas échappé à cette tendance et de nombreux isostères peptidomimétiques fluorés ont vu le jour dans le but d'améliorer leur propriété métabolique (Figure I-27).<sup>169</sup>

On peut notamment citer la trifluorométhylation de peptide,<sup>170</sup> l'incorporation du monofluoroalcène en tant que mime de liaison peptidique avec une meilleure stabilité métabolique.<sup>171</sup> Enfin, notre laboratoire a développé l'utilisation du *N*-difluorométhyltriazole comme mime du peptide fluoré difluoroglycine-glycine, difficile à obtenir à cause de l'instabilité des intermédiaires de synthèse.<sup>172</sup> Cependant, bien que de nombreux mimes fluorés existent, aucun composé fluoré peptidique ou peptidomimétique n'a encore été commercialisé.

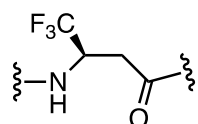


**Figure I-27 :** Quelques isostères peptidomimétiques fluorés

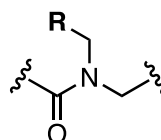
### III. 2. h. Les foldamères fluorés

Les foldamères ont émergé ces dix dernières années comme mimes de structures secondaires des protéines (cf. Chapitre I, I. p.1).<sup>6</sup> Cependant, le domaine des foldamères fluorés est encore sous-exploité et, à notre connaissance, seulement quelques exemples de foldamères fluorés ont été décrits.<sup>64,173–175</sup>

a)

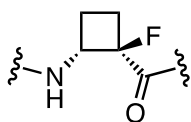


CF<sub>3</sub>-β-peptides  
(Ishida *et al.* 2014)<sup>174</sup>



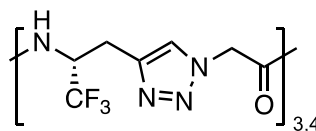
peptoïdes      R = CH<sub>2</sub>F, CF<sub>2</sub>H, CF<sub>3</sub>  
(Cobb *et al.* 2018)<sup>173</sup>

b)



*cis*-2-amino-1-fluorobutane-1-carboxylic acid  
(Aitken *et al.* 2015)<sup>64</sup>

c)



trifluoromethyl homo-1,4-Tz amino acid  
(Ongeri, Crousse *et al.* 2021)<sup>175</sup>

**Figure I-28 :** a) foldamères fluorés hélicoïdaux. b) foldamères fluorés étendus c) foldamères fluorés en « échelle »

Plusieurs foldamères basés sur la même unité de répétition ont été décrits dans la littérature. Une grande majorité de ces foldamères incorporent un ou plusieurs atomes de fluor et sont utilisés pour stabiliser une structure hélicoïdale. Le premier exemple décrit un hexamère d'acides  $\beta$ -aminés trifluorométhylés ( $\text{CF}_3$ - $\beta$ -peptides, Figure I-28a)) permettant de stabiliser une hélice 14.<sup>174</sup> Des pentamères de peptoides fluorés ont également été décrits pour adopter une structure en hélice (figure 28a)).<sup>173</sup> À notre connaissance, il n'y a qu'un seul exemple d'architecture fluorée, basée sur l'acide cis-2-amino-1-fluorobutane-1-carboxylique, pour concevoir des mimes de structures étendues dans la littérature (Figure I-28b)).<sup>64</sup>

Notre laboratoire a également développé un foldamère fluoré basé sur l'acide aminé trifluorométhyl homo-1,4-Tz adoptant une conformation en échelle (Figure I-28c)).<sup>175</sup> Quelques exemples de molécules fluorées adoptant un repliement ont également été décrites.<sup>176-179</sup>

Aucun des foldamères fluorés décrits ci-dessus n'a d'applications biologiques. Il y a une véritable lacune concernant l'utilisation de foldamères fluorés comme molécules bioactives. L'objectif de ces travaux de thèse est de combler ce manque en démontrant que nos foldamères fluorés peuvent agir comme modulateur de l'agrégation de hIAPP.

## IV. Références

- (1) Gellman, S. H. Foldamers: A Manifesto. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31* (4), 173–180. <https://doi.org/10.1021/ar960298r>.
- (2) Valeur, E.; Guéret, S. M.; Adihou, H.; Gopalakrishnan, R.; Lemurell, M.; Waldmann, H.; Grossmann, T. N.; Plowright, A. T. New Modalities for Challenging Targets in Drug Discovery. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56* (35), 10294–10323. <https://doi.org/10.1002/anie.201611914>.
- (3) Bendavid, I.; Zusman, O.; Kagan, I.; Theilla, M.; Cohen, J.; Singer, P. Early Administration of Protein in Critically Ill Patients: A Retrospective Cohort Study. *Nutrients* **2019**, *11* (1). <https://doi.org/10.3390/nu11010106>.
- (4) Fosgerau, K.; Hoffmann, T. Peptide Therapeutics: Current Status and Future Directions. *Drug Discov. Today* **2015**, *20* (1), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.10.003>.
- (5) Drucker, D. J. Advances in Oral Peptide Therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2020**, *19* (4), 277–289. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0053-0>.
- (6) Gopalakrishnan, R.; Frolov, A. I.; Knerr, L.; Drury, W. J.; Valeur, E. Therapeutic Potential of Foldamers: From Chemical Biology Tools To Drug Candidates? *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (21), 9599–9621. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00376>.
- (7) Mándity, I. M.; Fülöp, F. An Overview of Peptide and Peptoid Foldamers in Medicinal Chemistry. *Expert Opin. Drug Discov.* **2015**, *10* (11), 1163–1177. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1076790>.
- (8) Grison, C. M.; Robin, S.; Aitken, D. J. 13-Helix Folding of a  $\beta/\gamma$ -Peptide Manifold Designed from a “Minimal-Constraint” Blueprint. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (50), 7802–7805. <https://doi.org/10.1039/C6CC02142E>.
- (9) Shin, Y.-H.; Mortenson, D. E.; Satyshur, K. A.; Forest, K. T.; Gellman, S. H. Differential Impact of  $\beta$  and  $\gamma$  Residue Preorganization on  $\alpha/\beta/\gamma$ -Peptide Helix Stability in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (22), 8149–8152. <https://doi.org/10.1021/ja403319q>.
- (10) Collie, G. W.; Bailly, R.; Pulka-Ziach, K.; Lombardo, C. M.; Mauran, L.; Taib-Maamar, N.; Dessolin, J.; Mackereth, C. D.; Guichard, G. Molecular Recognition within the Cavity of a Foldamer Helix Bundle: Encapsulation of Primary Alcohols in Aqueous Conditions. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (17), 6128–6137. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b00181>.

- (11) Zhang, D.-W.; Zhao, X.; Hou, J.-L.; Li, Z.-T. Aromatic Amide Foldamers: Structures, Properties, and Functions. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (10), 5271–5316. <https://doi.org/10.1021/cr300116k>.
- (12) Guichard, G.; Huc, I. Synthetic Foldamers. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (21), 5933–5941. <https://doi.org/10.1039/C1CC11137J>.
- (13) Astbury, W. T.; Sisson, W. A.; Bragg, W. H. X-Ray Studies of the Structure of Hair, Wool, and Related Fibres - III—The Configuration of the Keratin Molecule and Its Orientation in the Biological Cell. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. - Math. Phys. Sci.* **1935**, *150* (871), 533–551. <https://doi.org/10.1098/rspa.1935.0121>.
- (14) Eisenberg, D. The Discovery of the  $\alpha$ -Helix and  $\beta$ -Sheet, the Principal Structural Features of Proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2003**, *100* (20), 11207–11210. <https://doi.org/10.1073/pnas.2034522100>.
- (15) Ramachandran, G. N.; Ramakrishnan, C.; Sasisekharan, V. Stereochemistry of Polypeptide Chain Configurations. *J. Mol. Biol.* **1963**, *7* (1), 95–99. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(63\)80023-6](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(63)80023-6).
- (16) Williams, R. W.; Chang, A.; Juretić, D.; Loughran, S. Secondary Structure Predictions and Medium Range Interactions. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Protein Struct. Mol. Enzymol.* **1987**, *916* (2), 200–204. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(87\)90109-9](https://doi.org/10.1016/0167-4838(87)90109-9).
- (17) Marqusee, S.; Baldwin, R. L. Helix Stabilization by Glu-...Lys+ Salt Bridges in Short Peptides of de Novo Design. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1987**, *84* (24), 8898–8902. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.24.8898>.
- (18) Padmanabhan, S.; Marqusee, S.; Ridgeway, T.; Laue, T. M.; Baldwin, R. L. Relative Helix-Forming Tendencies of Nonpolar Amino Acids. *Nature* **1990**, *344* (6263), 268–270. <https://doi.org/10.1038/344268a0>.
- (19) Padmanabhan, S.; Baldwin, R. L. Tests for Helix-Stabilizing Interactions between Various Nonpolar Side Chains in Alanine-Based Peptides. *Protein Sci.* **1994**, *3* (11), 1992–1997. <https://doi.org/10.1002/pro.5560031111>.
- (20) Dasgupta, S.; Bell, J. A. Design of Helix Ends. Amino Acid Preferences, Hydrogen Bonding and Electrostatic Interactions. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1993**, *41* (5), 499–511.
- (21) Venanzi, M.; Gatto, E.; Formaggio, F.; Toniolo, C. The Importance of Being Aib. Aggregation

and Self-Assembly Studies on Conformationally Constrained Oligopeptides. *J. Pept. Sci.* **2017**, *23* (2), 104–116. <https://doi.org/10.1002/psc.2956>.

(22) Toniolo, C.; Crisma, M.; Formaggio, F.; Peggion, C. Control of Peptide Conformation by the Thorpe-Ingold Effect ( $\alpha$ -Tetrasubstitution). *Pept. Sci.* **2001**, *60* (6), 396–419. [https://doi.org/10.1002/1097-0282\(2001\)60:6<396::AID-BIP10184>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0282(2001)60:6<396::AID-BIP10184>3.0.CO;2-7).

(23) Sakurai, K.; Schubert, C.; Kahne, D. Crystallographic Analysis of an 8-Mer P53 Peptide Analogue Complexed with MDM2. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (34), 11000–11001. <https://doi.org/10.1021/ja063102j>.

(24) Choi, S. H.; Guzei, I. A.; Spencer, L. C.; Gellman, S. H. Crystallographic Characterization of Helical Secondary Structures in  $\alpha/\beta$ -Peptides with 1:1 Residue Alternation <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja800355p> (accessed 2020 -04 -18). <https://doi.org/10.1021/ja800355p>.

(25) Guo, L.; Almeida, A. M.; Zhang, W.; Reidenbach, A. G.; Choi, S. H.; Guzei, I. A.; Gellman, S. H. Helix Formation in Preorganized  $\beta/\gamma$ -Peptide Foldamers: Hydrogen-Bond Analogy to the  $\alpha$ -Helix without  $\alpha$ -Amino Acid Residues. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (23), 7868–7869. <https://doi.org/10.1021/ja103233a>.

(26) Grison, C. M.; Miles, J. A.; Robin, S.; Wilson, A. J.; Aitken, D. J. An  $\alpha$ -Helix-Mimicking 12,13-Helix: Designed  $\alpha/\beta/\gamma$ -Foldamers as Selective Inhibitors of Protein–Protein Interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55* (37), 11096–11100. <https://doi.org/10.1002/anie.201604517>.

(27) Collie, G. W.; Pulka-Ziach, K.; Lombardo, C. M.; Fremaux, J.; Rosu, F.; Decossas, M.; Mauran, L.; Lambert, O.; Gabelica, V.; Mackereth, C. D.; Guichard, G. Shaping Quaternary Assemblies of Water-Soluble Non-Peptide Helical Foldamers by Sequence Manipulation. *Nat. Chem.* **2015**, *7* (11), 871–878. <https://doi.org/10.1038/nchem.2353>.

(28) Fremaux, J.; Mauran, L.; Pulka-Ziach, K.; Kauffmann, B.; Odaert, B.; Guichard, G.  $\alpha$ -Peptide-Oligourea Chimeras: Stabilization of Short  $\alpha$ -Helices by Non-Peptide Helical Foldamers. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2015**, *54* (34), 9816–9820. <https://doi.org/10.1002/anie.201500901>.

(29) Fremaux, J.; Venin, C.; Mauran, L.; Zimmer, R. H.; Guichard, G.; Goudreau, S. R. Peptide-Oligourea Hybrids Analogue of GLP-1 with Improved Action in Vivo. *Nat. Commun.* **2019**, *10* (1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08793-y>.

(30) Tonali, N.; Correia, I.; Lesma, J.; Bernadat, G.; Ongeri, S.; Lequin, O. Introducing Sequential

Aza-Amino Acids Units Induces Repeated  $\beta$ -Turns and Helical Conformations in Peptides. *Org. Biomol. Chem.* **2020**. <https://doi.org/10.1039/C9OB02654A>.

(31) Huc, I. Aromatic Oligoamide Foldamers. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2004 (1), 17–29. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200300495>.

(32) Arrata, I.; Grison, C. M.; Coubrough, H. M.; Prabhakaran, P.; Little, M. A.; Tomlinson, D. C.; Webb, M. E.; Wilson, A. J. Control of Conformation in  $\alpha$ -Helix Mimicking Aromatic Oligoamide Foldamers through Interactions between Adjacent Side-Chains. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, 17 (15), 3861–3867. <https://doi.org/10.1039/C9OB00123A>.

(33) Li, X.; Chen, S.; Zhang, W.-D.; Hu, H.-G. Stapled Helical Peptides Bearing Different Anchoring Residues. *Chem. Rev.* **2020**, 120 (18), 10079–10144. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00532>.

(34) Shepherd, N. E.; Hoang, H. N.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P. Single Turn Peptide Alpha Helices with Exceptional Stability in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127 (9), 2974–2983. <https://doi.org/10.1021/ja0456003>.

(35) Yu, C.; Taylor, J. W. Synthesis and Study of Peptides with Semirigid  $i$  and  $i+7$  Side-Chain Bridges Designed for  $\alpha$ -Helix Stabilization. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7 (1), 161–175. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(98\)00232-6](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(98)00232-6).

(36) Timmerman, P.; Beld, J.; Puijk, W. C.; Meloen, R. H. Rapid and Quantitative Cyclization of Multiple Peptide Loops onto Synthetic Scaffolds for Structural Mimicry of Protein Surfaces. *ChemBioChem* **2005**, 6 (5), 821–824. <https://doi.org/10.1002/cbic.200400374>.

(37) Blackwell, H. E.; Grubbs, R. H. Highly Efficient Synthesis of Covalently Cross-Linked Peptide Helices by Ring-Closing Metathesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37 (23), 3281–3284. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19981217\)37:23<3281::AID-ANIE3281>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19981217)37:23<3281::AID-ANIE3281>3.0.CO;2-V).

(38) Schafmeister, C. E.; Po, J.; Verdine, G. L. An All-Hydrocarbon Cross-Linking System for Enhancing the Helicity and Metabolic Stability of Peptides. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (24), 5891–5892. <https://doi.org/10.1021/ja000563a>.

(39) Scrima, M.; Le Chevalier-Isaad, A.; Rovero, P.; Papini, A. M.; Chorev, M.; D'Ursi, A. M. CuI-Catalyzed Azide–Alkyne Intramolecular  $i$ -to-( $i+4$ ) Side-Chain-to-Side-Chain Cyclization Promotes the Formation of Helix-Like Secondary Structures. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2010 (3), 446–457. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200901157>.



- (40) Cantel, S.; Le Chevalier Isaad, A.; Scrima, M.; Levy, J. J.; DiMarchi, R. D.; Rovero, P.; Halperin, J. A.; D'Ursi, A. M.; Papini, A. M.; Chorev, M. Synthesis and Conformational Analysis of a Cyclic Peptide Obtained via i to I+4 Intramolecular Side-Chain to Side-Chain Azide–Alkyne 1,3-Dipolar Cycloaddition. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (15), 5663–5674. <https://doi.org/10.1021/jo800142s>.
- (41) Bouclier, C.; Simon, M.; Laconde, G.; Pellerano, M.; Diot, S.; Lantuejoul, S.; Busser, B.; Vanwonderghem, L.; Vollaire, J.; Jossierand, V.; Legrand, B.; Coll, J.-L.; Amblard, M.; Hurbin, A.; Morris, M. C. Stapled Peptide Targeting the CDK4/Cyclin D Interface Combined with Abemaciclib Inhibits KRAS Mutant Lung Cancer Growth. *Theranostics* **2020**, *10* (5), 2008–2028. <https://doi.org/10.7150/thno.40971>.
- (42) Haque, T. S.; Gellman, S. H. Insights on  $\beta$ -Hairpin Stability in Aqueous Solution from Peptides with Enforced Type I' and Type II'  $\beta$ -Turns. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (9), 2303–2304. <https://doi.org/10.1021/ja963653h>.
- (43) Liang, G.-B.; Gellman, S. H.  $\beta$ -Turn and  $\beta$ -Hairpin Mimicry with Tetrasubstituted Alkenes. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (9), 1806–1816. <https://doi.org/10.1021/ja9824526>.
- (44) Vahdati, L.; Fanelli, R.; Bernadat, G.; Correia, I.; Lequin, O.; Ongeri, S.; Piarulli, U. Synthesis and Conformational Studies of a Stable Peptidomimetic  $\beta$ -Hairpin Based on a Bifunctional Diketopiperazine Turn Inducer. *New J. Chem.* **2015**, *39* (5), 3250–3258. <https://doi.org/10.1039/C4NJ01437E>.
- (45) Vahdati, L.; Kaffy, J.; Brinet, D.; Bernadat, G.; Correia, I.; Panzeri, S.; Fanelli, R.; Lequin, O.; Taverna, M.; Ongeri, S.; Piarulli, U. Synthesis and Characterization of Hairpin Mimics That Modulate the Early Oligomerization and Fibrillization of Amyloid  $\beta$ -Peptide: Synthesis and Characterization of Hairpin Mimics That Modulate the Early Oligomerization and Fibrillization of Amyloid  $\beta$ -Peptide. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (20), 2971–2980. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201700010>.
- (46) Pellegrino, S.; Tonali, N.; Erba, E.; Kaffy, J.; Taverna, M.; Contini, A.; Taylor, M.; Allsop, D.; Gelmi, M. L.; Ongeri, S.  $\beta$ -Hairpin Mimics Containing a Piperidine–Pyrrolidine Scaffold Modulate the  $\beta$ -Amyloid Aggregation Process Preserving the Monomer Species. *Chem. Sci.* **2017**, *8* (2), 1295–1302. <https://doi.org/10.1039/C6SC03176E>.
- (47) Feigel, Martin. 2,8-Dimethyl-4-(Carboxymethyl)-6-(Aminomethyl)Phenoxathiin S-Dioxide: An Organic Substitute for the  $\beta$ -Turn in Peptides? *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108* (1), 181–182. <https://doi.org/10.1021/ja00261a033>.

- (48) Oh, K.; Guan, Z. A Convergent Synthesis of New  $\beta$ -Turn Mimics by Click Chemistry. *Chem. Commun.* **2006**, No. 29, 3069–3071. <https://doi.org/10.1039/B606185K>.
- (49) Laxio Arenas, J.; Kaffy, J.; Onger, S. Peptides and Peptidomimetics as Inhibitors of Protein–Protein Interactions Involving  $\beta$ -Sheet Secondary Structures. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, *52*, 157–167. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.07.008>.
- (50) Banerjee, V.; Shani, T.; Katzman, B.; Vyazmensky, M.; Papo, N.; Israelson, A.; Engel, S. Superoxide Dismutase 1 (SOD1)-Derived Peptide Inhibits Amyloid Aggregation of Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis SOD1 Mutants. *ACS Chem. Neurosci.* **2016**, *7* (11), 1595–1606. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.6b00227>.
- (51) Ryan, P.; Patel, B.; Makwana, V.; Jadhav, H. R.; Kiefel, M.; Davey, A.; Reekie, T. A.; Rudrawar, S.; Kassiou, M. Peptides, Peptidomimetics, and Carbohydrate-Peptide Conjugates as Amyloidogenic Aggregation Inhibitors for Alzheimer’s Disease. *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, *9* (7), 1530–1551. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.8b00185>.
- (52) Hammond, M. C.; Harris, B. Z.; Lim, W. A.; Bartlett, P. A. Beta Strand Peptidomimetics as Potent PDZ Domain Ligands. *Chem. Biol.* **2006**, *13* (12), 1247–1251. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.11.010>.
- (53) Nowick, J. S.; Lam, K. S.; Khasanova, T. V.; Kemnitzer, W. E.; Maitra, S.; Mee, H. T.; Liu, R. An Unnatural Amino Acid That Induces  $\beta$ -Sheet Folding and Interaction in Peptides. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (18), 4972–4973. <https://doi.org/10.1021/ja025699i>.
- (54) Fujiwara, K.; Toda, H.; Ikeguchi, M. Dependence of  $\alpha$ -Helical and  $\beta$ -Sheet Amino Acid Propensities on the Overall Protein Fold Type. *BMC Struct. Biol.* **2012**, *12* (1), 18. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-12-18>.
- (55) Grotenbreg, G. M.; Overhand, M.; Llamas-Saiz, A. L.; Raaij, M. J. V. Double-Stranded Helical Twisted  $\beta$ -Sheet Channels in Crystals of Gramicidin S Grown in the Presence of Trifluoroacetic and Hydrochloric Acids. *Acta Crystallogr. Sect. D* **2007**, *63* (3), 401–407. <https://doi.org/10.1107/S0907444906056435>.
- (56) Tonali, N.; Kaffy, J.; Soulier, J.-L.; Gelmi, M. L.; Erba, E.; Taverna, M.; van Heijenoort, C.; Ha-Duong, T.; Onger, S. Structure-Activity Relationships of  $\beta$ -Hairpin Mimics as Modulators of Amyloid  $\beta$ -Peptide Aggregation. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *154*, 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.018>.

- (57) Buchanan, L. E.; Dunkelberger, E. B.; Tran, H. Q.; Cheng, P.-N.; Chiu, C.-C.; Cao, P.; Raleigh, D. P.; de Pablo, J. J.; Nowick, J. S.; Zanni, M. T. Mechanism of IAPP Amyloid Fibril Formation Involves an Intermediate with a Transient  $\beta$ -Sheet. **2013**.
- (58) Cheng, P.-N.; Liu, C.; Zhao, M.; Eisenberg, D.; Nowick, J. S. Amyloid  $\beta$ -Sheet Mimics That Antagonize Protein Aggregation and Reduce Amyloid Toxicity. *Nat. Chem.* **2012**, *4* (11), 927–933. <https://doi.org/10.1038/nchem.1433>.
- (59) Sawyer, N.; Arora, P. S. Hydrogen Bond Surrogate Stabilization of  $\beta$ -Hairpins. *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13* (8), 2027–2032. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.8b00641>.
- (60) Sonti, R.; Gopi, H. N.; Muddegowda, U.; Ragothama, S.; Balaram, P. A Designed Three-Stranded  $\beta$ -Sheet in an  $\alpha/\beta$  Hybrid Peptide. *Chem. – Eur. J.* **2013**, *19* (19), 5955–5965. <https://doi.org/10.1002/chem.201204327>.
- (61) Sebaoun, L.; Kauffmann, B.; Delclos, T.; Maurizot, V.; Huc, I. Assessing Stabilization through  $\pi$ - $\pi$  Interactions in Aromatic Oligoamide  $\beta$ -Sheet Foldamers. *Org. Lett.* **2014**, *16* (9), 2326–2329. <https://doi.org/10.1021/ol500512f>.
- (62) Wu, C.-F.; Li, Z.-M.; Xu, X.-N.; Zhao, Z.-X.; Zhao, X.; Wang, R.-X.; Li, Z.-T. Folding-Induced Folding: The Assembly of Aromatic Amide and 1,2,3-Triazole Hybrid Helices. *Chem. – Eur. J.* **2014**, *20* (5), 1418–1426. <https://doi.org/10.1002/chem.201304161>.
- (63) Gimenez, D.; Aguilar, J. A.; Bromley, E. H. C.; Cobb, S. L. Stabilising Peptoid Helices Using Non-Chiral Fluoroalkyl Monomers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (33), 10549–10553. <https://doi.org/10.1002/anie.201804488>.
- (64) Hassoun, A.; Grison, C. M.; Guillot, R.; Boddaert, T.; Aitken, D. J. Conformational Preferences in the  $\beta$ -Peptide Oligomers of Cis-2-Amino-1-Fluorocyclobutane-1-Carboxylic Acid. *New J. Chem.* **2015**, *39* (5), 3270–3279. <https://doi.org/10.1039/C4NJ01929F>.
- (65) Wang, X.; Ni, D.; Liu, Y.; Lu, S. Rational Design of Peptide-Based Inhibitors Disrupting Protein-Protein Interactions. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 294. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.682675>.
- (66) Lu, H.; Zhou, Q.; He, J.; Jiang, Z.; Peng, C.; Tong, R.; Shi, J. Recent Advances in the Development of Protein–Protein Interactions Modulators: Mechanisms and Clinical Trials. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2020**, *5* (1), 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00315-3>.
- (67) Ran, X.; Gestwicki, J. E. Inhibitors of Protein–Protein Interactions (PPIs): An Analysis of Scaffold Choices and Buried Surface Area. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2018**, *44*, 75–86.

<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.06.004>.

(68) Cheng, A. C.; Coleman, R. G.; Smyth, K. T.; Cao, Q.; Soulard, P.; Caffrey, D. R.; Salzberg, A. C.; Huang, E. S. Structure-Based Maximal Affinity Model Predicts Small-Molecule Druggability. *Nat. Biotechnol.* **2007**, *25* (1), 71–75. <https://doi.org/10.1038/nbt1273>.

(69) Winter, A.; Higuero, A. P.; Marsh, M.; Sigurdardottir, A.; Pitt, W. R.; Blundell, T. L. Biophysical and Computational Fragment-Based Approaches to Targeting Protein-Protein Interactions: Applications in Structure-Guided Drug Discovery. *Q. Rev. Biophys.* **2012**, *45* (4), 383–426. <https://doi.org/10.1017/S0033583512000108>.

(70) Coyne, A. G.; Scott, D. E.; Abell, C. Drugging Challenging Targets Using Fragment-Based Approaches. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14* (3), 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.02.010>.

(71) Arkin, M. R.; Wells, J. A. Small-Molecule Inhibitors of Protein-Protein Interactions: Progressing towards the Dream. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3* (4), 301–317. <https://doi.org/10.1038/nrd1343>.

(72) M., J. P. de V.; Mercedes, M.-M.; Rosario, G.-M. Modulation of Protein-Protein Interactions by Stabilizing/Mimicking Protein Secondary Structure Elements. *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *7* (1), 33–62.

(73) Pelay-Gimeno, M.; Glas, A.; Koch, O.; Grossmann, T. N. Structure-Based Design of Inhibitors of Protein-Protein Interactions: Mimicking Peptide Binding Epitopes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54* (31), 8896–8927. <https://doi.org/10.1002/anie.201412070>.

(74) Aperçu démographique et géographique <https://www.diabetesatlas.org/fr/sections/demographic-and-geographic-outline.html> (accessed 2020 -03 -30).

(75) Data and statistics <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/diabetes/data-and-statistics> (accessed 2020 -04 -20).

(76) Le diabète, excès de sucre dans le sang - Les signes et les conseils. *Dr. Seb.*

(77) Schulz, L. O.; Bennett, P. H.; Ravussin, E.; Kidd, J. R.; Kidd, K. K.; Esparza, J.; Valencia, M. E. Effects of Traditional and Western Environments on Prevalence of Type 2 Diabetes in Pima Indians in Mexico and the U.S. *Diabetes Care* **2006**, *29* (8), 1866–1871. <https://doi.org/10.2337/dc06-0138>.

- (78) Jiang, X.; Ma, H.; Wang, Y.; Liu, Y. Early Life Factors and Type 2 Diabetes Mellitus <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2013/485082/> (accessed 2020 -03 -30). <https://doi.org/10.1155/2013/485082>.
- (79) Ly, H.; Verma, N.; Sharma, S.; Kotiya, D.; Despa, S.; Abner, E. L.; Nelson, P. T.; Jicha, G. A.; Wilcock, D. M.; Goldstein, L. B.; Guerreiro, R.; Brás, J.; Hanson, A. J.; Craft, S.; Murray, A. J.; Biessels, G. J.; Troakes, C.; Zetterberg, H.; Hardy, J.; Lashley, T.; Aesg, null; Despa, F. The Association of Circulating Amylin with  $\beta$ -Amyloid in Familial Alzheimer's Disease. *Alzheimers Dement. N. Y. N* **2021**, 7 (1), e12130. <https://doi.org/10.1002/trc2.12130>.
- (80) Bharadwaj, P.; Solomon, T.; Sahoo, B. R.; Ignasiak, K.; Gaskin, S.; Rowles, J.; Verdile, G.; Howard, M. J.; Bond, C. S.; Ramamoorthy, A.; Martins, R. N.; Newsholme, P. Amylin and Beta Amyloid Proteins Interact to Form Amorphous Heterocomplexes with Enhanced Toxicity in Neuronal Cells. *Sci. Rep.* **2020**, 10 (1), 10356. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66602-9>.
- (81) Horvath, I.; Wittung-Stafshede, P. Cross-Talk between Amyloidogenic Proteins in Type-2 Diabetes and Parkinson's Disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, 113 (44), 12473–12477. <https://doi.org/10.1073/pnas.1610371113>.
- (82) VIDAL - Metformine <https://www.vidal.fr/substances/2339/metformine/> (accessed 2020 -04 -20).
- (83) VIDAL - Glibenclamide <https://www.vidal.fr/substances/1627/glibenclamide/> (accessed 2020 -04 -20).
- (84) VIDAL - Glimépiride <https://www.vidal.fr/substances/17244/glimepiride/> (accessed 2020 -04 -20).
- (85) VIDAL - Gliclazide <https://www.vidal.fr/substances/1641/gliclazide/> (accessed 2020 -04 -20).
- (86) VIDAL - Exénatide <https://www.vidal.fr/substances/22874/exenatide/> (accessed 2020 -04 -20).
- (87) VIDAL - Sitagliptine <https://www.vidal.fr/substances/22893/sitagliptine/> (accessed 2020 -04 -20).
- (88) Rojas, J.; Bermudez, V.; Palmar, J.; Martínez, M. S.; Olivar, L. C.; Nava, M.; Tomey, D.; Rojas, M.; Salazar, J.; Garicano, C.; Velasco, M. Pancreatic Beta Cell Death: Novel Potential Mechanisms in Diabetes Therapy. *J. Diabetes Res.* **2018**, 2018, e9601801.

<https://doi.org/10.1155/2018/9601801>.

(89) Kahn, S. E.; Andrikopoulos, S.; Verchere, C. B. Islet Amyloid: A Long-Recognized but Underappreciated Pathological Feature of Type 2 Diabetes. *Diabetes* **1999**, *48* (2), 241–253. <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.2.241>.

(90) Westermark, P. Amyloid in the Islets of Langerhans: Thoughts and Some Historical Aspects. *Ups. J. Med. Sci.* **2011**, *116* (2), 81–89. <https://doi.org/10.3109/03009734.2011.573884>.

(91) Jaikaran, E. T. A. S.; Clark, A. Islet Amyloid and Type 2 Diabetes: From Molecular Misfolding to Islet Pathophysiology. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* **2001**, *1537* (3), 179–203. [https://doi.org/10.1016/S0925-4439\(01\)00078-3](https://doi.org/10.1016/S0925-4439(01)00078-3).

(92) Jurgens, C. A.; Toukatly, M. N.; Fligner, C. L.; Udayasankar, J.; Subramanian, S. L.; Zraika, S.; Aston-Mourney, K.; Carr, D. B.; Westermark, P.; Westermark, G. T.; Kahn, S. E.; Hull, R. L.  $\beta$ -Cell Loss and  $\beta$ -Cell Apoptosis in Human Type 2 Diabetes Are Related to Islet Amyloid Deposition. *Am. J. Pathol.* **2011**, *178* (6), 2632–2640. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.02.036>.

(93) de Koning, E. J. P.; Bodkin, N. L.; Hansen, B. C.; Clark, A. Diabetes Mellitus in Macaca Mulatta Monkeys Is Characterised by Islet Amyloidosis and Reduction in Beta-Cell Population. *Diabetologia* **1993**, *36* (5), 378–384. <https://doi.org/10.1007/BF00402271>.

(94) Eisenberg, D.; Jucker, M. The Amyloid State of Proteins in Human Diseases. *Cell* **2012**, *148* (6), 1188–1203. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.022>.

(95) Hoffmann, W.; Folmert, K.; Moschner, J.; Huang, X.; von Berlepsch, H.; Koksche, B.; Bowers, M. T.; von Helden, G.; Pagel, K. NFGAIL Amyloid Oligomers: The Onset of Beta-Sheet Formation and the Mechanism for Fibril Formation. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140* (1), 244–249. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b09510>.

(96) Iannuzzi, C.; Irace, G.; Sirangelo, I. The Effect of Glycosaminoglycans (GAGs) on Amyloid Aggregation and Toxicity. *Molecules* **2015**, *20* (2), 2510–2528. <https://doi.org/10.3390/molecules20022510>.

(97) Akter, R.; Cao, P.; Noor, H.; Ridgway, Z.; Tu, L.-H.; Wang, H.; Wong, A. G.; Zhang, X.; Abedini, A.; Schmidt, A. M.; Raleigh, D. P. Islet Amyloid Polypeptide: Structure, Function, and Pathophysiology. *J. Diabetes Res.* **2016**, *2016*, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2016/2798269>.

(98) Milardi, D.; Gazit, E.; Radford, S. E.; Xu, Y.; Gallardo, R. U.; Caflisch, A.; Westermark, G. T.; Westermark, P.; Rosa, C. L.; Ramamoorthy, A. Proteostasis of Islet Amyloid Polypeptide: A

Molecular Perspective of Risk Factors and Protective Strategies for Type II Diabetes. *Chem. Rev.* **2021**, *121* (3), 1845–1893. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00981>.

(99) Hernández, M. G.; Aguilar, A. G.; Burillo, J.; Oca, R. G.; Manca, M. A.; Novials, A.; Alcarraz-Vizan, G.; Guillén, C.; Benito, M. Pancreatic  $\beta$  Cells Overexpressing HIAPP Impaired Mitophagy and Unbalanced Mitochondrial Dynamics. *Cell Death Dis.* **2018**, *9* (5), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0533-x>.

(100) Brender, J. R.; Salamekh, S.; Ramamoorthy, A. Membrane Disruption and Early Events in the Aggregation of the Diabetes Related Peptide IAPP from a Molecular Perspective. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45* (3), 454–462. <https://doi.org/10.1021/ar200189b>.

(101) Zraika, S.; Hull, R. L.; Udayasankar, J.; Aston-Mourney, K.; Subramanian, S. L.; Kisilevsky, R.; Szarek, W. A.; Kahn, S. E. Oxidative Stress Is Induced by Islet Amyloid Formation and Time-Dependently Mediates Amyloid-Induced Beta Cell Apoptosis. *Diabetologia* **2009**, *52* (4), 626–635. <https://doi.org/10.1007/s00125-008-1255-x>.

(102) Press, M.; Jung, T.; König, J.; Grune, T.; Höhn, A. Protein Aggregates and Proteostasis in Aging: Amylin and  $\beta$ -Cell Function. *Mech. Ageing Dev.* **2019**, *177*, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2018.03.010>.

(103) Pithadia, A.; Brender, J. R.; Fierke, C. A.; Ramamoorthy, A. Inhibition of IAPP Aggregation and Toxicity by Natural Products and Derivatives. *J. Diabetes Res.* **2016**, *2016*. <https://doi.org/10.1155/2016/2046327>.

(104) Cheng, B.; Gong, H.; Li, X.; Sun, Y.; Zhang, X.; Chen, H.; Liu, X.; Zheng, L.; Huang, K. Silibinin Inhibits the Toxic Aggregation of Human Islet Amyloid Polypeptide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2012**, *419* (3), 495–499. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.02.042>.

(105) Cao, P.; Raleigh, D. P. Analysis of the Inhibition and Remodeling of Islet Amyloid Polypeptide Amyloid Fibers by Flavanols. *Biochemistry* **2012**, *51* (13), 2670–2683. <https://doi.org/10.1021/bi2015162>.

(106) Kumar, S.; Schlamadinger, D. E.; Brown, M. A.; Dunn, J. M.; Mercado, B.; Hebda, J. A.; Saraogi, I.; Rhoades, E.; Hamilton, A. D.; Miranker, A. D. Islet Amyloid-Induced Cell Death and Bilayer Integrity Loss Share a Molecular Origin Targetable with Oligopyridylamide-Based  $\alpha$ -Helical Mimetics. *Chem. Biol.* **2015**, *22* (3), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2015.01.006>.

(107) Kumar, S.; Henning-Knechtel, A.; Chehade, I.; Magzoub, M.; Hamilton, A. D. Foldamer-

Mediated Structural Rearrangement Attenuates A $\beta$  Oligomerization and Cytotoxicity. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (47), 17098–17108. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b08259>.

(108) Knight, J. D.; Williamson, J. A.; Miranker, A. D. Interaction of Membrane-Bound Islet Amyloid Polypeptide with Soluble and Crystalline Insulin. *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* **2008**, *17* (10), 1850–1856. <https://doi.org/10.1110/ps.036350.108>.

(109) Susa, A. C.; Wu, C.; Bernstein, S. L.; Dupuis, N. F.; Wang, H.; Raleigh, D. P.; Shea, J.-E.; Bowers, M. T. Defining the Molecular Basis of Amyloid Inhibitors: Human Islet Amyloid Polypeptide-Insulin Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (37), 12912–12919. <https://doi.org/10.1021/ja504031d>.

(110) Gilead, S.; Gazit, E. Inhibition of Amyloid Fibril Formation by Peptide Analogues Modified with Alpha-Aminoisobutyric Acid. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2004**, *43* (31), 4041–4044. <https://doi.org/10.1002/anie.200353565>.

(111) Yan, L.-M.; Tatarek-Nossol, M.; Velkova, A.; Kazantzis, A.; Kapurniotu, A. Design of a Mimic of Nonamyloidogenic and Bioactive Human Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) as Nanomolar Affinity Inhibitor of IAPP Cytotoxic Fibrillogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103* (7), 2046–2051. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507471103>.

(112) Spanopoulou, A.; Heidrich, L.; Chen, H.-R.; Frost, C.; Hrle, D.; Malideli, E.; Hille, K.; Grammatikopoulos, A.; Bernhagen, J.; Zacharias, M.; Rammes, G.; Kapurniotu, A. Designed Macrocyclic Peptides as Nanomolar Amyloid Inhibitors Based on Minimal Recognition Elements. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**. <https://doi.org/10.1002/anie.201802979>.

(113) Buchanan, L. E.; Dunkelberger, E. B.; Tran, H. Q.; Cheng, P.-N.; Chiu, C.-C.; Cao, P.; Raleigh, D. P.; de Pablo, J. J.; Nowick, J. S.; Zanni, M. T. Mechanism of IAPP Amyloid Fibril Formation Involves an Intermediate with a Transient  $\beta$ -Sheet. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2013**, *110* (48), 19285–19290. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314481110>.

(114) Kaffy, J.; Berardet, C.; Mathieu, L.; Legrand, B.; Taverna, M.; Halgand, F.; Rest, G. V. D.; Maillard, L. T.; Ongeri, S. Helical  $\gamma$ -Peptide Foldamers as Dual Inhibitors of Amyloid- $\beta$  Peptide and Islet Amyloid Polypeptide Oligomerization and Fibrillization. *Chem. – Eur. J.* **2020**, *26* (64), 14612–14622. <https://doi.org/10.1002/chem.202001716>.

(115) Lesma, J.; Bizet, F.; Berardet, C.; Tonali, N.; Pellegrino, S.; Taverna, M.; Khemtémourian, L.; Soulier, J.-L.; van Heijenoort, C.; Halgand, F.; Ha-Duong, T.; Kaffy, J.; Ongeri, S.  $\beta$ -Hairpin Peptide Mimics Decrease Human Islet Amyloid Polypeptide (HIAPP) Aggregation. *Front. Cell Dev.*



*Biol.* **2021**, *9*, 2531. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.729001>.

(116) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2001**, *40* (11), 2004–2021. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)40:11<2004::aid-anie2004>3.3.co;2-x](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::aid-anie2004>3.3.co;2-x).

(117) Rani, A.; Singh, G.; Singh, A.; Maqbool, U.; Kaur, G.; Singh, J. CuAAC-Ensembled 1,2,3-Triazole-Linked Isosteres as Pharmacophores in Drug Discovery: Review. *RSC Adv.* **2020**, *10* (10), 5610–5635. <https://doi.org/10.1039/C9RA09510A>.

(118) Pedersen, D. S.; Abell, A. 1,2,3-Triazoles in Peptidomimetic Chemistry. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (13), 2399–2411. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201100157>.

(119) Palmer, M. H.; Findlay, R. H.; Gaskell, A. J. Electronic Charge Distribution and Moments of Five- and Six-Membered Heterocycles. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1974**, No. 4, 420–428. <https://doi.org/10.1039/P29740000420>.

(120) Valverde, I. E.; Mindt, T. L. 1,2,3-Triazoles as Amide-Bond Surrogates in Peptidomimetics. *Chim. Int. J. Chem.* **2013**, *67* (4), 262–266. <https://doi.org/10.2533/chimia.2013.262>.

(121) Kann, N.; Johansson, J. R.; Beke-Somfai, T. Conformational Properties of 1,4- and 1,5-Substituted 1,2,3-Triazole Amino Acids – Building Units for Peptidic Foldamers. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (9), 2776–2785. <https://doi.org/10.1039/C4OB02359E>.

(122) Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. The Growing Impact of Click Chemistry on Drug Discovery. *Drug Discov. Today* **2003**, *8* (24), 1128–1137. [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(03\)02933-7](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(03)02933-7).

(123) Maračić, S.; Kraljević, T. G.; Paljetak, H. Č.; Perić, M.; Matijašić, M.; Verbanac, D.; Cetina, M.; Raić-Malić, S. 1,2,3-Triazole Pharmacophore-Based Benzofused Nitrogen/Sulfur Heterocycles with Potential Anti-Moraxella Catarrhalis Activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23* (23), 7448–7463. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.10.042>.

(124) Iqbal, S.; Khan, M. A.; Javaid, K.; Sadiq, R.; Fazal-Ur-Rehman, S.; Choudhary, M. I.; Basha, F. Z. New Carbazole Linked 1,2,3-Triazoles as Highly Potent Non-Sugar  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors. *Bioorganic Chem.* **2017**, *74*, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.07.006>.

(125) Su, C.-L.; Tseng, C.-L.; Ramesh, C.; Liu, H.-S.; Huang, C.-Y. F.; Yao, C.-F. Using Gene Expression Database to Uncover Biology Functions of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazole Analogues Synthesized via a Copper (I)-Catalyzed Reaction. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *132*, 90–107. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.034>.

- (126) Wang, G.; Peng, Z.; Wang, J.; Li, J.; Li, X. Synthesis and Biological Evaluation of Novel 2,4,5-Triarylimidazole-1,2,3-Triazole Derivatives via Click Chemistry as  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (23), 5719–5723. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.10.057>.
- (127) Naaz, F.; Preeti Pallavi, M. C.; Shafi, S.; Mulakayala, N.; Shahar Yar, M.; Sampath Kumar, H. M. 1,2,3-Triazole Tethered Indole-3-Glyoxamide Derivatives as Multiple Inhibitors of 5-LOX, COX-2 & Tubulin: Their Anti-Proliferative & Anti-Inflammatory Activity. *Bioorganic Chem.* **2018**, *81*, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.07.029>.
- (128) Dai, Z.-C.; Chen, Y.-F.; Zhang, M.; Li, S.-K.; Yang, T.-T.; Shen, L.; Wang, J.-X.; Qian, S.-S.; Zhu, H.-L.; Ye, Y.-H. Synthesis and Antifungal Activity of 1,2,3-Triazole Phenylhydrazone Derivatives. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *13* (2), 477–486. <https://doi.org/10.1039/C4OB01758G>.
- (129) Li, C.; Finn, M. G. Click Chemistry in Materials Synthesis. II. Acid-Swellable Crosslinked Polymers Made by Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2006**, *44* (19), 5513–5518. <https://doi.org/10.1002/pola.21623>.
- (130) Abboud, J.-L. M.; Foces-Foces, C.; Notario, R.; Trifonov, R. E.; Volovodenko, A. P.; Ostrovskii, V. A.; Alkorta, I.; Elguero, J. Basicity of N-H- and N-Methyl-1,2,3-Triazoles in the Gas Phase, in Solution, and in the Solid State – An Experimental and Theoretical Study. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001* (16), 3013–3024. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200108\)2001:16<3013::AID-EJOC3013>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200108)2001:16<3013::AID-EJOC3013>3.0.CO;2-Y).
- (131) Keri, R. S.; Patil, S. A.; Budagumpi, S.; Nagaraja, B. M. Triazole: A Promising Antitubercular Agent. *Chem. Biol. Drug Des.* **2015**, *86* (4), 410–423. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12527>.
- (132) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (9), 3057–3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>.
- (133) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41* (14), 2596–2599. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4).
- (134) Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloadditions. *Science* **2013**, *340* (6131), 457–460. <https://doi.org/10.1126/science.1229506>.

- (135) Haldón, E.; Nicasio, M. C.; Pérez, P. J. Copper-Catalysed Azide–Alkyne Cycloadditions (CuAAC): An Update. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13* (37), 9528–9550. <https://doi.org/10.1039/C5OB01457C>.
- (136) Rink, W. M.; Thomas, F. Decoration of Coiled-Coil Peptides with N-Cysteine Peptide Thioesters As Cyclic Peptide Precursors Using Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition (CuAAC) Click Reaction. *Org. Lett.* **2018**, *20* (23), 7493–7497. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b03261>.
- (137) Neumann, S.; Biewend, M.; Rana, S.; Binder, W. H. The CuAAC: Principles, Homogeneous and Heterogeneous Catalysts, and Novel Developments and Applications. *Macromol. Rapid Commun.* **2020**, *41* (1), 1900359. <https://doi.org/10.1002/marc.201900359>.
- (138) Shin, J.-A.; Oh, S.-J.; Lee, H.-Y.; Lim, Y.-G. An Efficient Cu-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition (CuAAC) Reaction in Aqueous Medium with a Zwitterionic Ligand, Betaine. *Catal. Sci. Technol.* **2017**, *7* (12), 2450–2456. <https://doi.org/10.1039/C7CY00518K>.
- (139) Döhler, D.; Michael, P.; Binder, W. H. CuAAC-Based Click Chemistry in Self-Healing Polymers. *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50* (10), 2610–2620. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00371>.
- (140) Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Jia, G. Ruthenium-Catalyzed Cycloaddition of Alkynes and Organic Azides. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (46), 15998–15999. <https://doi.org/10.1021/ja054114s>.
- (141) Wiley-VCH - Modern Fluoroorganic Chemistry <https://www.wiley-vch.de/de/fachgebiete/naturwissenschaften/modern-fluoroorganic-chemistry-978-3-527-33166-6> (accessed 2019 -10 -30).
- (142) Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. Fluorine in Medicinal Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37* (2), 320–330. <https://doi.org/10.1039/B610213C>.
- (143) Howard, J. A. K.; Hoy, V. J.; O’Hagan, D.; Smith, G. T. How Good Is Fluorine as a Hydrogen Bond Acceptor? *Tetrahedron* **1996**, *52* (38), 12613–12622. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(96\)00749-1](https://doi.org/10.1016/0040-4020(96)00749-1).
- (144) General Introduction. In *Guide to Fluorine NMR for Organic Chemists*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2016; pp 1–8. <https://doi.org/10.1002/9781118831106.ch1>.
- (145) Dalvit, C.; Vulpetti, A. Ligand-Based Fluorine NMR Screening: Principles and Applications in Drug Discovery Projects. *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (5), 2218–2244.

<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01210>.

(146) Gimenez, D.; Phelan, A.; Murphy, C. D.; Cobb, S. L. <sup>19</sup>F NMR as a Tool in Chemical Biology. *Beilstein J. Org. Chem.* **2021**, *17* (1), 293–318. <https://doi.org/10.3762/bjoc.17.28>.

(147) Preshlock, S.; Tredwell, M.; Gouverneur, V. <sup>18</sup>F-Labeling of Arenes and Heteroarenes for Applications in Positron Emission Tomography. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (2), 719–766. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00493>.

(148) Rickmeier, J.; Ritter, T. Site-Specific Deoxyfluorination of Small Peptides with [<sup>18</sup>F]Fluoride. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (43), 14207–14211. <https://doi.org/10.1002/anie.201807983>.

(149) Berger, R.; Resnati, G.; Metrangolo, P.; Weber, E.; Hulliger, J. Organic Fluorine Compounds: A Great Opportunity for Enhanced Materials Properties. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (7), 3496. <https://doi.org/10.1039/c0cs00221f>.

(150) Fujiwara, T.; O'Hagan, D. Successful Fluorine-Containing Herbicide Agrochemicals. *J. Fluor. Chem.* **2014**, *167*, 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2014.06.014>.

(151) Jeschke, P. The Unique Role of Halogen Substituents in the Design of Modern Agrochemicals. *Pest Manag. Sci.* **2010**, *66* (1), 10–27. <https://doi.org/10.1002/ps.1829>.

(152) Gillis, E. P.; Eastman, K. J.; Hill, M. D.; Donnelly, D. J.; Meanwell, N. A. Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (21), 8315–8359. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00258>.

(153) Wang, J.; Sánchez-Roselló, M.; Aceña, J. L.; del Pozo, C.; Sorochinsky, A. E.; Fustero, S.; Soloshonok, V. A.; Liu, H. Fluorine in Pharmaceutical Industry: Fluorine-Containing Drugs Introduced to the Market in the Last Decade (2001-2011). *Chem. Rev.* **2014**, *114* (4), 2432–2506. <https://doi.org/10.1021/cr4002879>.

(154) Zhou, Y.; Wang, J.; Gu, Z.; Wang, S.; Zhu, W.; Aceña, J. L.; Soloshonok, V. A.; Izawa, K.; Liu, H. Next Generation of Fluorine-Containing Pharmaceuticals, Compounds Currently in Phase II-III Clinical Trials of Major Pharmaceutical Companies: New Structural Trends and Therapeutic Areas. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (2), 422–518. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00392>.

(155) THAYER, A. M. FABULOUS FLUORINE. *Chem. Eng. News Arch.* **2006**, *84* (23), 15–24. <https://doi.org/10.1021/cen-v084n023.p015>.

(156) Richardson, P. Fluorination Methods for Drug Discovery and Development. *Expert Opin.*

*Drug Discov.* **2016**, *11* (10), 983–999. <https://doi.org/10.1080/17460441.2016.1223037>.

(157) Inoue, M.; Sumii, Y.; Shibata, N. Contribution of Organofluorine Compounds to Pharmaceuticals. *ACS Omega* **2020**, *5* (19), 10633–10640. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00830>.

(158) Huchet, Q. A.; Kuhn, B.; Wagner, B.; Kratochwil, N. A.; Fischer, H.; Kansy, M.; Zimmerli, D.; Carreira, E. M.; Müller, K. Fluorination Patterning: A Study of Structural Motifs That Impact Physicochemical Properties of Relevance to Drug Discovery. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (22), 9041–9060. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01455>.

(159) Müller, K.; Faeh, C.; Diederich, F. Fluorine in Pharmaceuticals: Looking beyond Intuition. *Science* **2007**, *317* (5846), 1881–1886. <https://doi.org/10.1126/science.1131943>.

(160) Pan, Y. The Dark Side of Fluorine. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10* (7), 1016–1019. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00235>.

(161) Xu, X.-H.; Matsuzaki, K.; Shibata, N. Synthetic Methods for Compounds Having CF<sub>3</sub>-S Units on Carbon by Trifluoromethylation, Trifluoromethylthiolation, Triflylation, and Related Reactions. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (2), 731–764. <https://doi.org/10.1021/cr500193b>.

(162) Besset, T.; Jubault, P.; Pannecoucke, X.; Poisson, T. New Entries toward the Synthesis of OCF<sub>3</sub>-Containing Molecules. *Org. Chem. Front.* **2016**, *3* (8), 1004–1010. <https://doi.org/10.1039/C6QO00164E>.

(163) Milcent, T.; Crousse, B. The Main and Recent Syntheses of the N-CF<sub>3</sub> Motif. *Comptes Rendus Chim.* **2018**, *21* (8), 771–781. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2017.09.003>.

(164) Scattolin, T.; Bouayad-Gervais, S.; Schoenebeck, F. Straightforward Access to N-Trifluoromethyl Amides, Carbamates, Thiocarbamates and Ureas. *Nature* **2019**, *573* (7772), 102–107. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1518-3>.

(165) Zhang, Z.; He, J.; Zhu, L.; Xiao, H.; Fang, Y.; Li, C. Silver-Mediated N-Trifluoromethylation of Amides and Peptides. *Chin. J. Chem.* **2020**, *38* (9), 924–928. <https://doi.org/10.1002/cjoc.202000132>.

(166) Cao, T.; Retailleau, P.; Milcent, T.; Crousse, B. Synthesis of N-CF<sub>3</sub> Hydrazines through Radical Trifluoromethylation of Azodicarboxylates. *Chem. Commun.* **2021**, *57* (80), 10351–10354. <https://doi.org/10.1039/D1CC04538E>.

(167) Muttenthaler, M.; King, G. F.; Adams, D. J.; Alewood, P. F. Trends in Peptide Drug

Discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2021**, *20* (4), 309–325. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00135-8>.

(168) Lenci, E.; Trabocchi, A. Peptidomimetic Toolbox for Drug Discovery. *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49* (11), 3262–3277. <https://doi.org/10.1039/D0CS00102C>.

(169) Mei, H.; Han, J.; Klika, K. D.; Izawa, K.; Sato, T.; Meanwell, N. A.; Soloshonok, V. A. Applications of Fluorine-Containing Amino Acids for Drug Design. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *186*, 111826. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111826>.

(170) Sani, M.; Molteni, M.; Bruché, L.; Volonterio, A.; Zanda, M. Synthesis and Properties of New Fluorinated Peptidomimetics. In *Fluorine-Containing Synthons*; ACS Symposium Series; American Chemical Society, 2005; Vol. 911, pp 572–592. <https://doi.org/10.1021/bk-2005-0911.ch033>.

(171) Altman, R. A.; Sharma, K. K.; Rajewski, L. G.; Toren, P. C.; Baltezor, M. J.; Pal, M.; Karad, S. N. Tyr1-ψ[(Z)CF=CH]-Gly2 Fluorinated Peptidomimetic Improves Distribution and Metabolism Properties of Leu-Enkephalin. *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, *9* (7), 1735–1742. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.8b00085>.

(172) Mamone, M.; Gonçalves, R. S. B.; Blanchard, F.; Bernadat, G.; Ongeri, S.; Milcent, T.; Crousse, B. N-Difluoromethyl-Triazole as a Constrained Scaffold in Peptidomimetics. *Chem. Commun.* **2017**, *53* (36), 5024–5027. <https://doi.org/10.1039/C7CC01298E>.

(173) Gimenez, D.; Aguilar, J. A.; Bromley, E. H. C.; Cobb, S. L. Stabilising Peptoid Helices Using Non-Chiral Fluoroalkyl Monomers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (33), 10549–10553. <https://doi.org/10.1002/anie.201804488>.

(174) Cho, J.; Sawaki, K.; Hanashima, S.; Yamaguchi, Y.; Shiro, M.; Saigo, K.; Ishida, Y. Stabilization of β-Peptide Helices by Direct Attachment of Trifluoromethyl Groups to Peptide Backbones. *Chem. Commun.* **2014**, *50* (69), 9855–9858. <https://doi.org/10.1039/C4CC02136C>.

(175) Laxio Arenas, J.; Xu, Y.; Milcent, T.; Heijenoort, C. V.; Giraud, F.; Ha-Duong, T.; Crousse, B.; Ongeri, S. Fluorinated Triazole Foldamers: Folded or Extended Conformational Preferences. *ChemPlusChem* **2021**, *86* (2), 241–251. <https://doi.org/10.1002/cplu.202000791>.

(176) Bucci, R.; Contini, A.; Clerici, F.; Beccalli, E. M.; Formaggio, F.; Maffucci, I.; Pellegrino, S.; Gelmi, M. L. Fluoro-Aryl Substituted α,β,γ-Peptides in the Development of Foldameric Antiparallel β-Sheets: A Conformational Study. *Front. Chem.* **2019**, *7*, 192. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00192>.

- (177) Ueda, A.; Ikeda, M.; Kasae, T.; Doi, M.; Demizu, Y.; Oba, M.; Tanaka, M. Synthesis of Chiral  $\alpha$ -Trifluoromethyl  $\alpha,\alpha$ -Disubstituted  $\alpha$ -Amino Acids and Conformational Analysis of L-Leu-Based Peptides with (R)- or (S)- $\alpha$ -Trifluoromethylalanine. *ChemistrySelect* **2020**, *5* (35), 10882–10886. <https://doi.org/10.1002/slct.202002888>.
- (178) Wu, C.-F.; Li, Z.-M.; Xu, X.-N.; Zhao, Z.-X.; Zhao, X.; Wang, R.-X.; Li, Z.-T. Folding-Induced Folding: The Assembly of Aromatic Amide and 1,2,3-Triazole Hybrid Helices. *Chem. – Eur. J.* **2014**, *20* (5), 1418–1426. <https://doi.org/10.1002/chem.201304161>.
- (179) Li, C.; Ren, S.-F.; Hou, J.-L.; Yi, H.-P.; Zhu, S.-Z.; Jiang, X.-K.; Li, Z.-T. F $\cdots$ H $\cdots$ N Hydrogen Bonding Driven Foldamers: Efficient Receptors for Dialkylammonium Ions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (35), 5725–5729. <https://doi.org/10.1002/anie.200500982>.

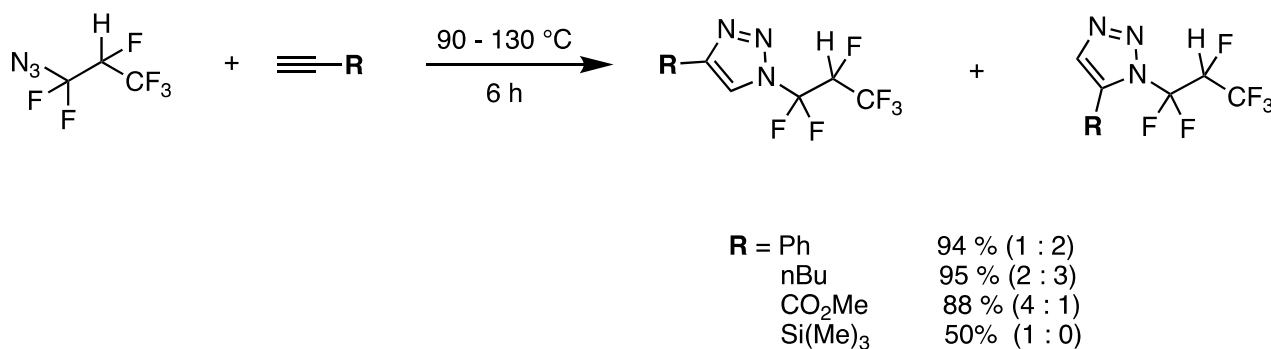
# Chapitre II : Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés

Ce chapitre présentera le développement de foldamères fluorés utilisant l'architecture 1,2,3-triazole N-difluorométhylée, de la conception à l'évaluation biophysique en passant par la synthèse. Dans un premier temps, un état de l'art non-exhaustif concernant la synthèse de molécules utilisant cette architecture sera fait. Dans un second temps, la conception, la synthèse, les analyses conformationnelles et les évaluations biophysiques préliminaires de nos foldamères fluorés seront présentées.

## I. Etat de l'art des 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés

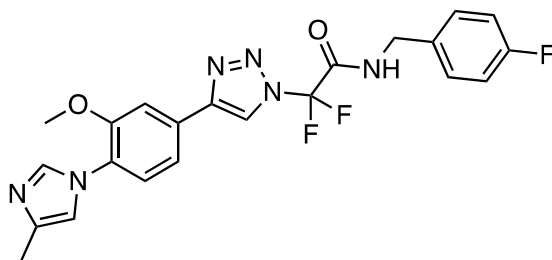
Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés appartiennent à la famille des dérivés N-Rf. Ils sont obtenus par cyclisation 1,3-dipolaire entre des alcynes et des dérivés d'azotures R-CF<sub>2</sub>N<sub>3</sub>. Néanmoins, les synthèses de molécules incorporant des 1,2,3-triazoles difluorométhylés ne sont pas nombreuses. L'une des premières synthèses décrites a été réalisée en 2000 par Lermontov *et al.* en effectuant la cyclisation thermique entre différents alcènes terminaux et l'azoture de 2-hydroperfluoropropyle. Ils ont obtenu des mélanges de deux régioisomères avec des rendements allant de 50 % à 95 % (Schéma II-1).<sup>1</sup>





**Schéma II-1** : Première cycloaddition [3+2] avec azotures  $\alpha,\alpha$ -difluorés

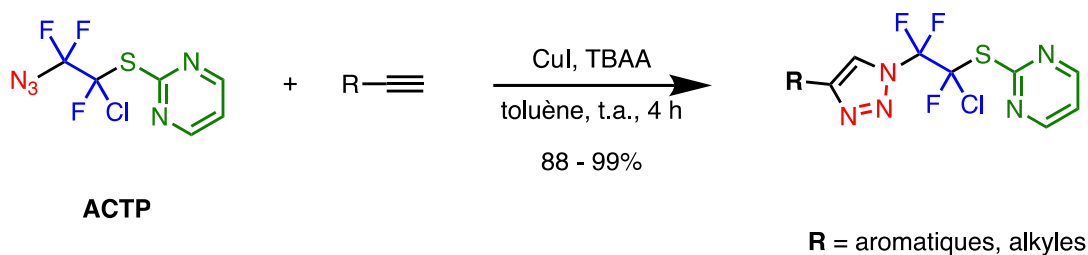
En 2008, Fischer *et al.* brevètent la synthèse, par cycloaddition [1,3] dipolaire catalysée au cuivre, d'une molécule incorporant un motif 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylés pouvant sélectivement diminuer la production de  $A\beta_{1-42}$  et, par conséquent, prévenir les maladies associées aux dépôts d' $A\beta$  dans le cerveau, en particulier la maladie d'Alzheimer (Figure II-1).<sup>2</sup>



**Figure II-1** : Molécule bioactive utilisant le triazole *N*-difluorométhylé, pouvant présenter un intérêt dans la maladie d'Alzheimer

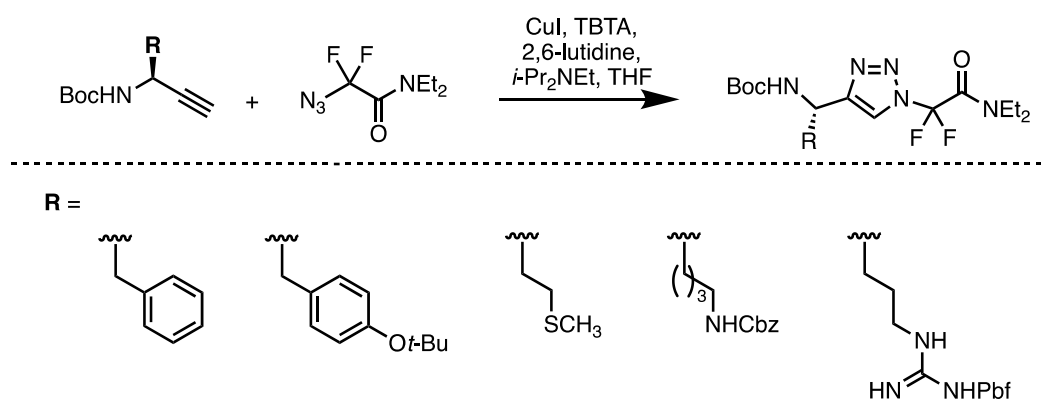
Plus récemment, l'équipe de Bai a décrit la synthèse de fluoroalkyles thioéthers incorporant un 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé dans des conditions classiques de cycloaddition [1,3] dipolaire catalysée au cuivre entre un dérivé d'azoture, le 2-((2-azido-1-chloro-1,2,2-trifluoroéthyl)thio)-pyrimidine (ACTP) et des alcynes avec d'excellents rendements. Cette méthodologie permet la synthèse de polymères d'acides sulfoniques fluorés utiles pour la préparation de membranes d'échange de protons (Schéma II-2).<sup>3</sup> Les membranes d'échange de protons sont des membranes semi-perméables permettant la conduction protonique mais imperméable aux gaz tels que le dioxygène ou le dihydrogène.

Ch-II : Les 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés



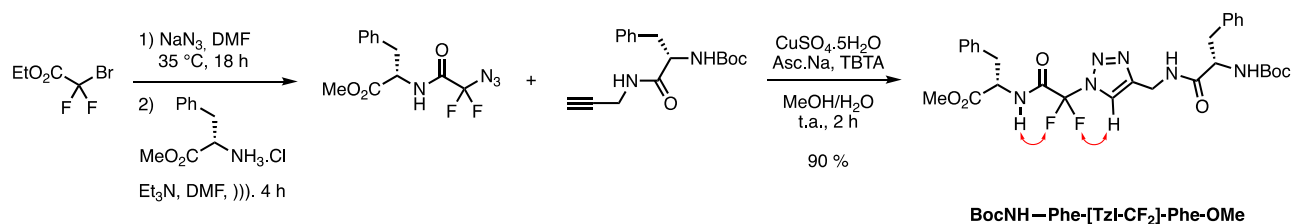
**Schéma II-2 :** Première cycloaddition de Huisgen avec ACTP

L'équipe de Olsen a utilisé le motif 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé, synthétisé dans des conditions classiques de cycloaddition [1-3] dipolaire, pour concevoir des peptidomimétiques analogues du neurotransmetteur Leu-enképhaline se liant aux récepteurs opioïdes.<sup>4</sup> Le synthon de départ est synthétisé en solution puis est intégré à une stratégie de synthèse sur support solide (SPPS).



**Schéma II-3 :** Synthèse de peptidomimétiques analogues du neurotransmetteur Leu-enképhaline utilisant les 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés

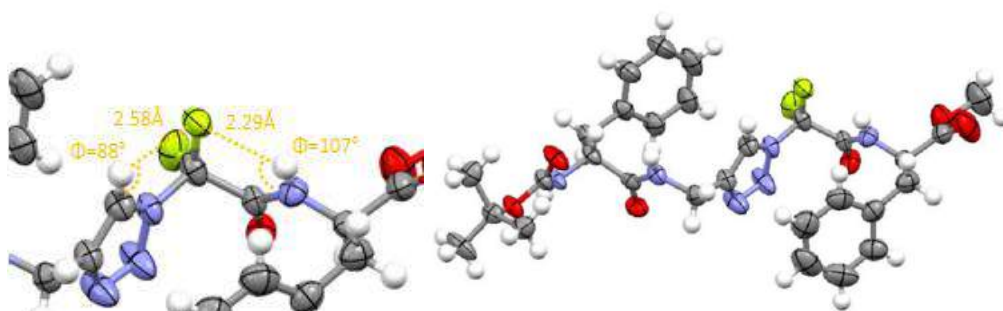
En 2017, notre laboratoire a également utilisé les 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés comme architecture contraignante pour concevoir des pseudo-térapeptides adoptant une conformation étendue (Schéma II-4).<sup>5</sup>



**Schéma II-4 :** Synthèse de pseudo-térapeptides incorporant le 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé

Le pseudo-tétrapeptide est obtenu par cycloaddition [1-3] dipolaire catalysé au cuivre à partir d'un azoture et d'un alcyne portant des résidus d'acides aminés. Cette réaction est réalisée en présence de sulfate de cuivre pentahydrate comme source de  $\text{Cu}^{2+}$ , d'ascorbate de sodium permettant de réduire les ions  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Cu}^+$  (catalyseur) et enfin de TBTA comme ligand pour stabiliser les ions  $\text{Cu}^+$ . On parle de pseudo-tétrapeptide car le motif 1,2,3-triazole N-difluorométhylé peut être considéré comme un mime du dipeptide Glycine-difluoroglycine ( $\text{Gly-CF}_2\text{Gly}$ ) difficilement utilisable en raison de son instabilité.

De plus, notre groupe a mis en évidence, par RMN, DFT et cristallographie aux rayons X, les interactions entre les atomes de fluor et les protons voisins.<sup>5</sup> La constante de couplage  $^3J_{\text{HN-H}\alpha}$  (8.2 Hz) correspond à un angle dièdre d'environ  $-120^\circ$ , ce qui correspond à une conformation étendue. De plus, les expériences 2D  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$  NOE en RMN ont permis d'identifier une corrélation entre les atomes de fluor et le proton du triazole et le NH de la phénylalanine. Ces observations sont en accord avec les analyses par diffraction aux rayons X. La structure identifiée au sein de la maille cristalline met en évidence les distances entre les deux protons (proton du triazole/NH phénylalanine) et un atome de fluor qui sont de 2.58 Å et 2.29 Å avec des angles  $\phi$  de  $88^\circ$  et  $107^\circ$ , respectivement (Figure II-2). Ces informations tendent à confirmer les interactions proton-fluor stabilisant une conformation locale étendue.



**Figure II-2 :** Structure cristalline du pseudo-tétrapeptide BocNH-Phe-[Tzl-CF<sub>2</sub>]-Phe-OMe<sup>5</sup>

## II. Objectifs

Le principal objectif de cette partie est le développement de foldamères fluorés de structure étendue s'appuyant sur les travaux antérieurs du laboratoire concernant la synthèse de triazoles *N*-difluorométhylés.

Tout d'abord l'auto-assemblage de ces unités sera effectué comme preuve de concept pour le développement de structures étendues basées sur l'acide aminométhyl-1,4-triazolyl-difluoroacétique (1,4-Tz-CF<sub>2</sub>), que nous appellerons homotriazolamères. Ensuite les foldamères fluorés seront conçus de manière rationnelle, en introduisant des acides aminés choisis selon les séquences amyloïdogéniques des protéines amyloïdes, ces foldamères seront appelés hétérotriazolamères. Ces hétérotriazolamères sont conçus pour inhiber les interactions protéine-protéine (PPIs) impliquant des structures étendues, notamment dans l'agrégation de hIAPP. De plus, cette stratégie pourra être appliquée pour concevoir des inhibiteurs d'agrégation d'une autre protéine amyloïde, A $\beta$ <sub>1-42</sub>, impliquée dans la maladie d'Alzheimer mais également dans la conception de peptides antimicrobiens (AMPs) et des peptides pénétrant les cellules (CPPs).

La synthèse sera basée sur l'expertise du laboratoire, c'est-à-dire par une voie convergente reposant sur la cycloaddition [1-3] dipolaire de Huisgen catalysée au cuivre (CuAAC).<sup>5</sup>

Une fois les foldamères synthétisés, des études conformationnelles seront effectuées par dynamique moléculaire et par RMN pour mettre en évidence les conformations adoptées en solution par nos foldamères. Finalement, des évaluations biophysiques seront mises en place, notamment par spectrométrie de fluorescence à la thioflavin-T (ThT), pour évaluer ces foldamères comme inhibiteurs potentiels de PPIs impliquées dans l'agrégation de hIAPP (cf. Chapitre I, II. 2. p.23).

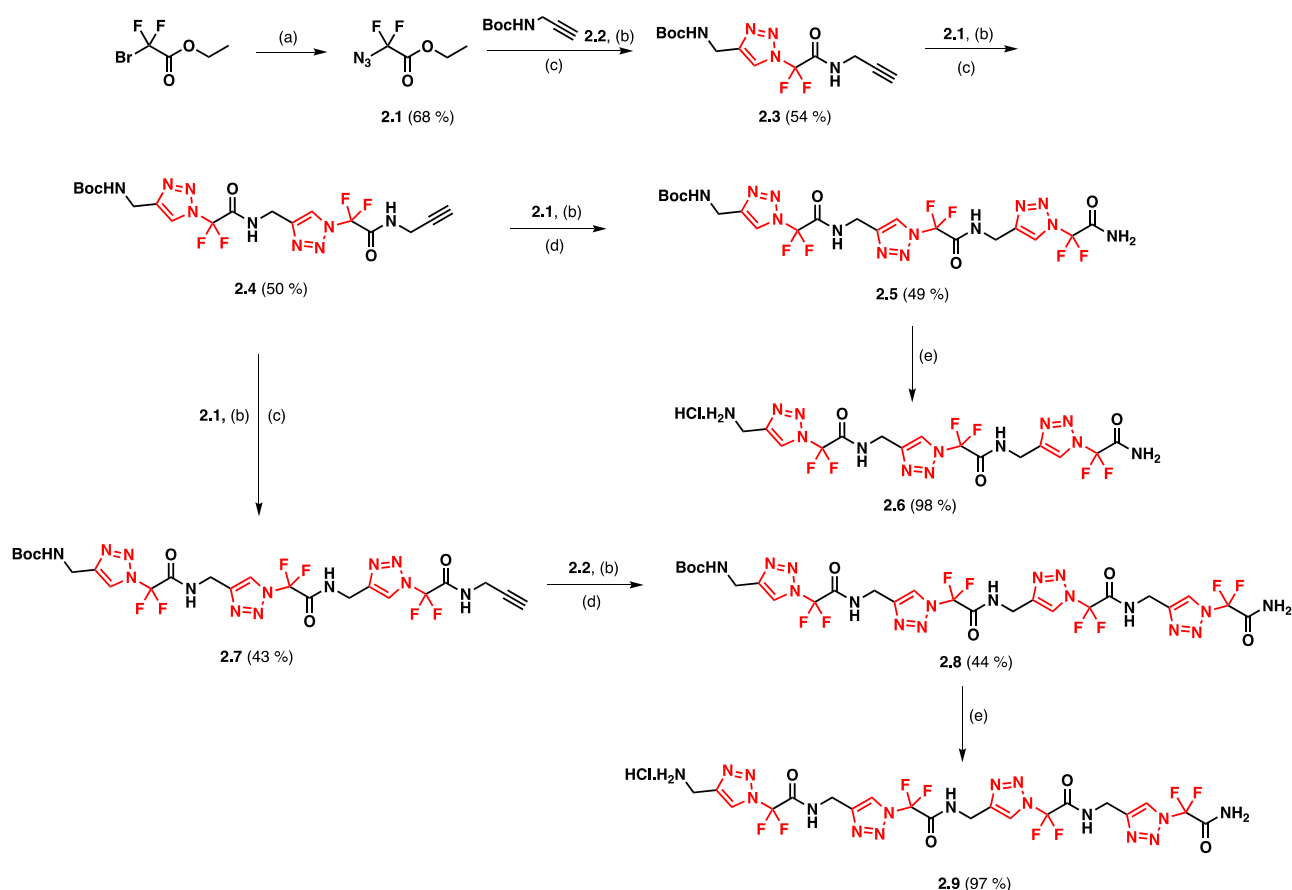
### III. Les homotriazolamères

Notre laboratoire a montré que l'architecture *N*-difluorométhyle triazole pouvait s'apparenter à une architecture contraignante dans le développement de peptidomimétiques de structure étendue. Cette observation a été mise en évidence au sein d'un pseudo tétrapeptide (Phe-[TzlCF<sub>2</sub>]-Phe). En effet le 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé est un mime de dipeptide fluoré (Gly-CF<sub>2</sub>Gly). Mais cette structuration étendue est-elle conservée lorsque l'on assemble plus d'une unité au sein d'une même molécule ? C'est la question que nous nous sommes posées et à laquelle nous avons tenté de répondre. Pour cela nous avons réalisé le couplage de trois et quatre unités d'acide aminométhyl-1,4-triazolyl-difluoroacétique (1,4-Tz-CF<sub>2</sub>), afin d'identifier quelle conformation nos tri- et tétratriazolamères adoptent.

#### III. 1. Synthèse des homotriazoles *N*-difluorométhylés

Pour réaliser nos azotures difluorés nous avons suivi la méthodologie brevetée par Koppes et Chaykovsky (DMSO, 1.2 équivalents de NaN<sub>3</sub>, t.a., 18 h) à partir de l'ester éthylique du bromodifluoroacetate.<sup>6</sup> Ces conditions ont été optimisées par Marius Mamone, le doctorant qui a développé la synthèse du pseudo-tétrapeptide (Schéma II-4).<sup>5</sup> 1.1 équivalents d'azoture de sodium sont suffisants pour obtenir une conversion complète, le DMSO a été remplacé par le DMF, et le mélange réactionnel est chauffé 18 h à 35 °C (Schéma II-5). La réaction est efficace et la conversion est totale. La difficulté de cette réaction réside dans la grande volatilité de l'azoture difluoré **2.1**. En effet, après traitement le solvant d'extraction (Et<sub>2</sub>O ou CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) doit être évaporé précautionneusement pour limiter les pertes. Autrement, l'azoture peut être conservé en solution dans le solvant d'extraction sous atmosphère inerte. L'azoture difluoré est utilisé sans purification à cause de sa volatilité et de la faible stabilité de la fonction ester sur silice.

Avant de procéder à la réaction de cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre, il est nécessaire de protéger la fonction amine de la propargylamine pour empêcher celle-ci de venir complexer le cuivre et de perturber la réactivité de celui-ci. Le carbamate de *tert*-butyle a été choisi comme groupement protecteur pour sa relative facilité à être introduit et clivé. Le groupement protecteur est introduit en utilisant des conditions classiques, dicarbonate de di-*tert*-butyle, triéthylamine dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 2 h. L'alcyne protégé **2.2** est utilisé sans purification supplémentaire et est mis en solution dans le THF en présence de l'azoture difluoré **2.1**, d'iodure de cuivre en quantité catalytique et de triéthylamine à température ambiante pendant 2 heures (Schéma II-5).



**Schéma II-5** : Synthèse des trimères et tétramères *N*-difluorométhyle triazole protégés/déprotégés (**2.5/2.6**, **2.8/2.9**). (a)  $\text{NaN}_3$  (1.05 éq.), DMF, 35 °C, 18 heures ; (b) CuI (10 %),  $\text{NEt}_3$  (1.0 éq.), THF, ta, 2h ; (c) propargylamine, THF, 0 °C, 2h ; (d) ammoniac dans le méthanol (7 N, 5 éq.), 0 °C, 2 h ; (e) HCl-dioxane (4M, 10 éq.), solvant ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ou MeOH), 0 °C à t.a., 2 h.

L'ester intermédiaire est directement mis sous des conditions d'amidification, l'ester n'étant pas très stable sur silice n'est pas purifié. Le monomère propargylamide **2.3** est obtenu par amidification avec la propargylamine préalablement distillée (les amines primaires n'étant pas très stables et pouvant polymériser), dans le THF pendant deux heures à 0 °C. L'amidification peut être réalisée dans des conditions douces grâce à l'effet électronique des deux fluors qui appauvrissent le carbone de l'ester et augmente son caractère électrophile. Il n'est donc pas nécessaire de chauffer, ni de mettre l'amine en excès. Le monomère **2.3** stable sur silice est obtenu avec un rendement sur 2 étapes de 54 % après purification.

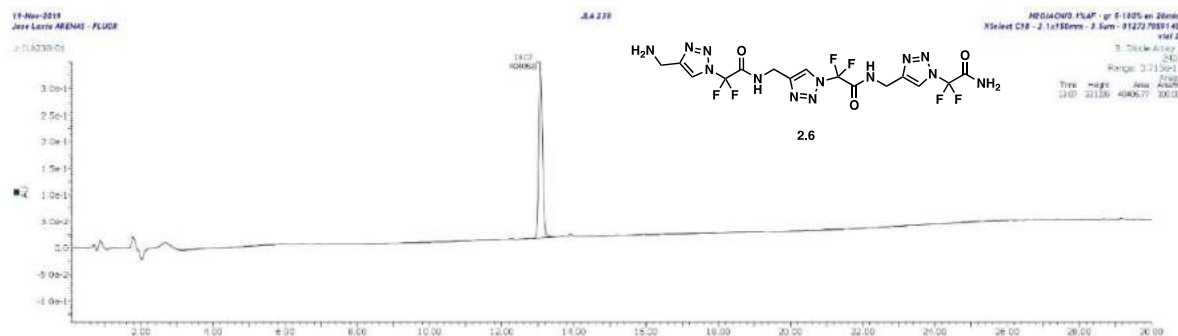
Les étapes de cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre et d'amidification sont répétées successivement jusqu'à l'obtention du trimère et du tétramère (**2.5/2.8**). Plus la taille du foldamère augmente plus les rendements diminuent, mais restent satisfaisants (de 54 à 44% en passant du monomère au tétramère).

La dernière étape d'amidification est effectuée avec une solution d'ammoniac dans le méthanol à la place de la propargylamine afin d'obtenir l'amide libre (**2.5/2.8**, Schéma II-5).

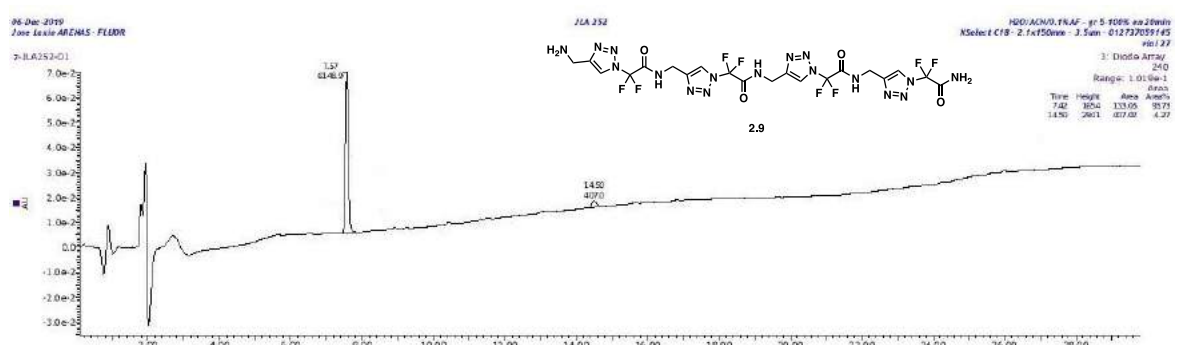
L'ultime étape est le clivage du carbamate de *tert*-butyle en *N*-terminale à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique dans le dioxane. La réaction est faite dans le dichlorométhane pour le trimère **2.5** et dans le méthanol pour le tétramère **2.8**, à cause de sa faible solubilité dans le dichlorométhane. Le mélange réactionnel est agité 2 heures à 0 °C.

Les foldamères **2.6** et **2.9** ont été purifiés par HPLC à l'aide d'une colonne XSelect C18 2.1\*150mm – 3.5 µm avec un mélange eau/acétonitrile comme solvant d'élution (Figure II-3).

A



B



**Figure II-3** : spectre UV (longueur d'onde d'absorption : 240 nm) après purification. **A** oligomère **2.6**. **B** oligomère **2.9**.

Les trimères **2.6** et tétramères **2.9** déprotégés ont été soumis aux évaluations conformationnelles par RMN et dynamique moléculaire.

### III. 2. Évaluation conformationnelle des homotriazoles N-difluorométhylés

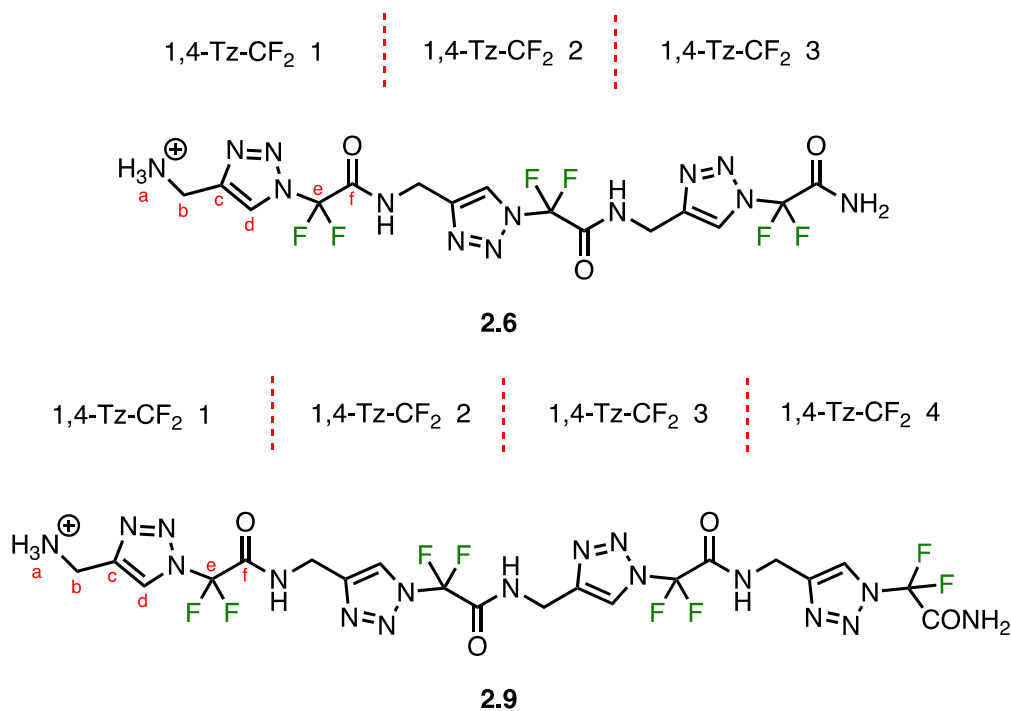
#### III. 2. a. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les expériences de RMN ont été effectuées en collaboration avec le Dr Carine Van Heijenoort, directrice de recherche au CNRS à l'institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN). Les spectres RMN ont été enregistrés sur un Bruker AVANCE III, un spectromètre 600 MHz ( $^1\text{H}$  600Mz,  $^{13}\text{C}$  150MHz,  $^{19}\text{F}$ , 564 MHz) équipé d'une sonde z-gradient TCI ou une cryosonde  $^{19}\text{F}$ -QCI avec laquelle des expériences d'hétéro-NOE  $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$  ont pu être effectuées.



De nombreuses expériences 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ), 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  ROESY,  $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$  HOESY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC) ont été enregistrées à 283 K et 313 K. Les résultats obtenus de ces différentes expériences sont présentés ci-dessous.

Dans le trimère **2.6** et le tétramère **2.9** de l'acide aminométhyl-1,4-triazolyl-difluoroacétique (1,4-Tz-CF<sub>2</sub>) la variation de température modifie significativement les déplacements chimiques des NH des amides et des H portés sur les triazoles (CH-Tzl) (Figure II-5). Le calcul des coefficients de température  $\Delta\delta_{\text{NH}}/\Delta T$  révèle des valeurs négatives autour de -6.0 ppb/K (Tableau II-1) confirmant que les liaisons amide NH ne sont pas engagées dans des liaisons hydrogène intra- (ou inter-) moléculaires stables.



**Figure II-4 :** structure des tri- et tétratriazolamères **2.6/2.9**

Ch-II : Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés

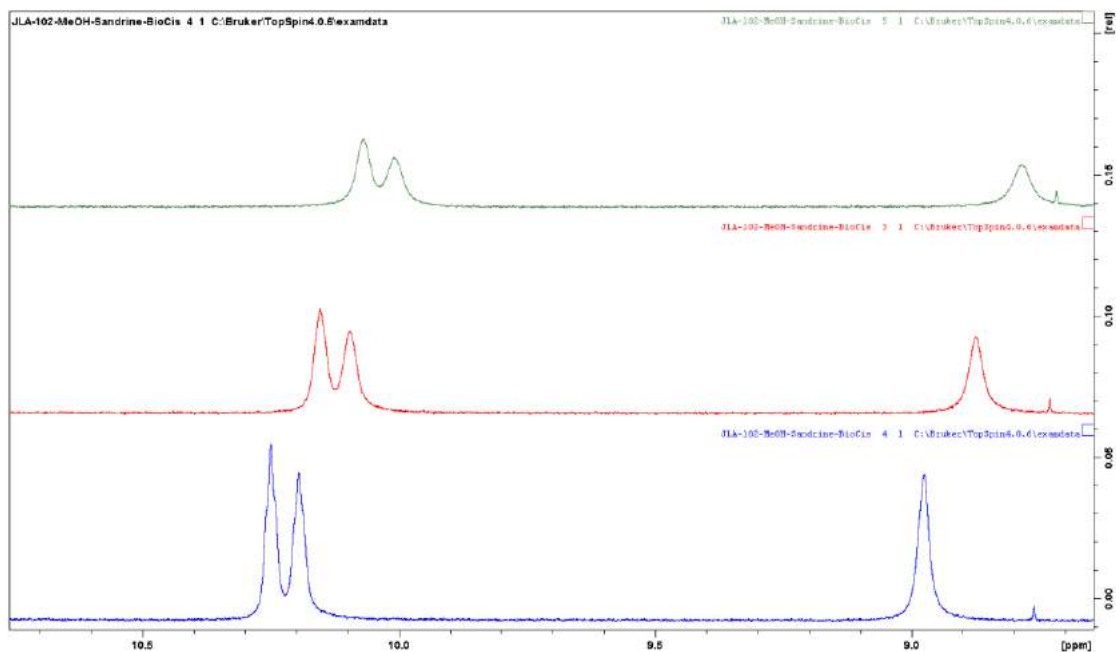


Figure II-5 : Déplacements chimiques des NH amide pour le trimère **2.6** dans le méthanol à 283K (bleu), 298K (rouge) et 313K (vert)

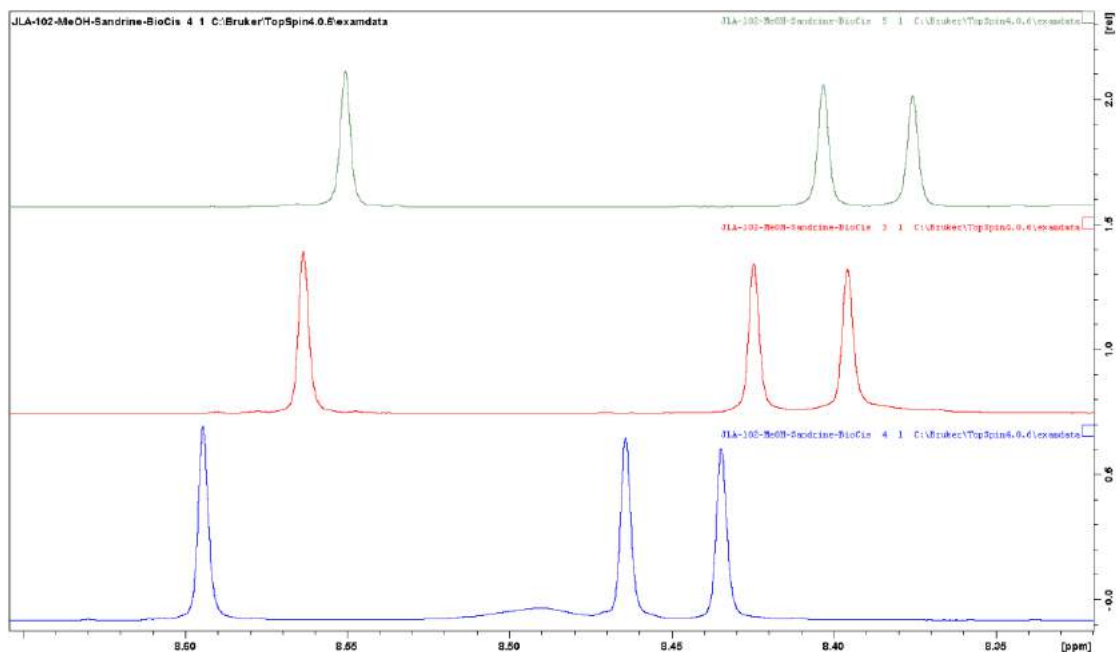
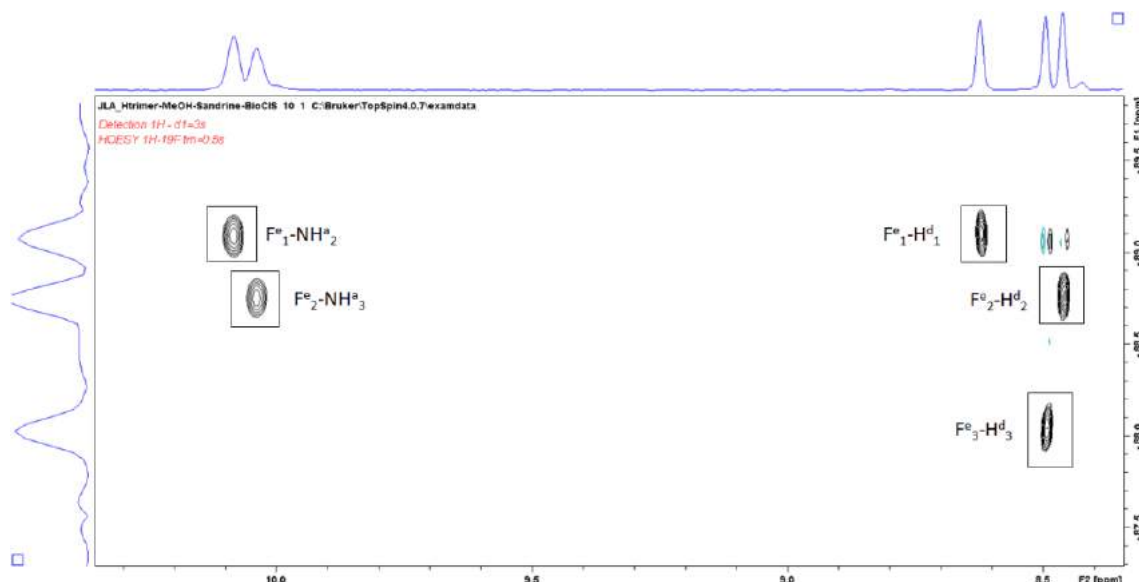


Figure II-6 : Déplacements chimiques des CH-Tzl pour le trimère **2.6** dans le méthanol à 283K (bleu), 298K (rouge) et 313K (vert)

<b>Tableau II-1</b> : Déplacements chimique $^1\text{H}$ pour le trimère <b>2.6</b> dans $\text{CD}_3\text{OH}$ à 283 K. Coefficients de température des NH calculés entre 283 K et 313 K.				
Residu	a [ppm]	b [ppm]	d [ppm]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb.K $^{-1}$ ]
1,4-Tz-CF $_2$ -1	-	4.32	8.61	-
1,4-Tz-CF $_2$ -2	10.10	4.69	8.42	-6.0
1,4-Tz-CF $_2$ -3	10.04	4.69	8.48	-6.0

Les valeurs des déplacements chimiques des protons similaires (NH **a**, CHtz **d**, CH $_2\alpha$ -Tz **b**) sont très proches entre chaque unité 1,4-Tz-CF $_2$  (Tableau II-1). De la même manière les déplacements chimiques en RMN  $^{19}\text{F}$  sont très similaires (les deux fluors appartenant à une unité triazole sont équivalents). L'assignation des déplacements chimiques pour le trimère **2.6** a été possible tandis que pour le tétramère **2.9** seule une assignation par résidu a pu être effectuée (Tableau II-1/2). Aucune corrélation longue distance n'a été observée pour le trimère **2.6** et le tétramère **2.9**. Ces informations suggèrent que le trimère **2.6** et le tétramère **2.9** sont flexibles et n'adoptent pas une conformation particulière ou qu'ils adoptent une conformation plutôt étendue.



**Figure II-7** : Expérience  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$  HOESY dans  $\text{CD}_3\text{OH}$  à 313 K pour le trimère **2.6**

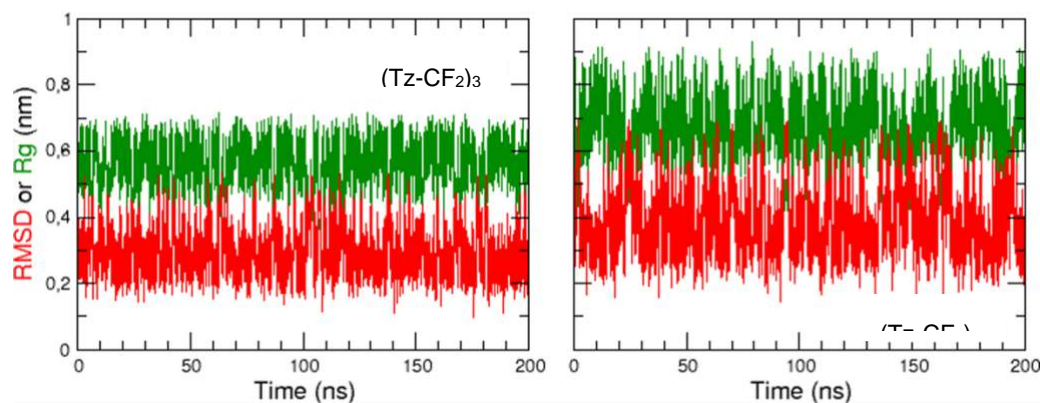
Dans le trimère comme dans le tétramère, les analyses 2D  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$  HOESY ont confirmé des corrélations courte distance, au sein de chaque unité *N*-difluorométhyle triazole, entre les deux atomes de fluor, les protons des triazoles et les NH de l'unité suivante (Figure II-7). Ces résultats, déjà observés dans nos travaux précédemment publiés, tendent à indiquer que la rotation des deux côtés du groupement difluoré est empêchée, soit par l'encombrement stérique des deux atomes de fluor soit par une interaction électrostatique stabilisante entre les atomes de fluor et les protons voisins. Cependant, aucune corrélation à longue distance par hétéroNOE  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$  entre les différentes unités n'a été observée, confirmant une conformation étendue pour nos structures.

<b>Tableau II-2</b> : Déplacements chimique $^1\text{H}$ pour le tétramère <b>2.9</b> dans DMF- $d_7$ à 283K. Coefficients de température des NH calculés entre 283 K et 313 K.				
Residu	a [ppm]	b [ppm]	d [ppm]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb.K $^{-1}$ ]
1,4-Tz-CF $_2$ -1	-	4.52	8.83	-
1,4-Tz-CF $_2$ -2/3/4	10.13	4.74	8.34	-5.3
1,4-Tz-CF $_2$ -2/3/4	10.25	4.77	8.64	-6.0
1,4-Tz-CF $_2$ -2/3/4	10.35	4.80	8.52	-6.0

### III. 2. b. Modélisation moléculaire

Des simulations de dynamique moléculaire ont été effectuées sur le trimère **2.6** et le tétramère **2.9**, en complément des analyses RMN, pour obtenir plus d'informations sur leurs structurations. Chaque composé a été soumis à une dynamique moléculaire de 200 ns dans le méthanol comme solvant pour être au plus près des conditions d'analyses par RMN. Pour les molécules avec un nombre limité d'angles dièdres, comme notre fragment 1,4-Tz-CF $_2$ , les simulations de quelques centaines de nanosecondes sont généralement considérées comme suffisamment longues.

Dans un premier temps, pour évaluer la convergence de nos simulations, l'évolution dans le temps du RMSD par rapport à la conformation initiale et au rayon de giration a été évaluée (Figure II-8).



**Figure II-8 :** Evolution dans le temps du RMSD par rapport à la conformation initiale (rouge) et du rayon de giration (vert) pour le trimère **2.6** et le tétramère **2.9** par dynamique moléculaire.

Le RMSD pour (Pour Root-Mean-Square-Deviation), ou Racine de l'Écart Quadratique Moyen en français, est ici calculé à partir des N positions atomiques  $\vec{r}_i = (x_i, y_i, z_i)$  d'une molécule (où  $x_i, y_i, z_i$  sont les coordonnées cartésiennes de l'atome i) selon la formule :

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\vec{r}_i - \vec{r}_i^0)^2} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - x_i^0)^2 + (y_i - y_i^0)^2 + (z_i - z_i^0)^2}$$

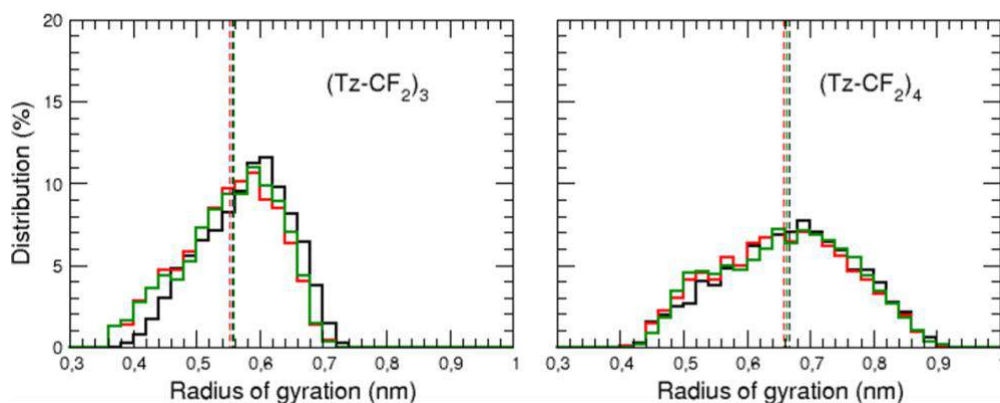
**Figure II-9 :** Formule du RMSD

Où  $\vec{r}_i^0 = (x_i^0, y_i^0, z_i^0)$  sont les coordonnées atomiques d'une conformation de référence (ici la structure à  $t=0$ ).

Le RMSD est ainsi une distance moyenne entre les atomes d'une molécule et ceux d'une conformation de référence permettant de quantifier la similarité entre 2 structures 3D (plus le RMSD est proche de zéro, plus les deux structures sont similaires).

Dans notre cas, les variations des RMSD et des rayons de giration indiquent que les deux molécules simulées adoptent à de multiples reprises un certain nombre de conformations différentes des configurations initiales, compactes ou étendues, sans être « coincées » dans une structure particulière (Figure II-8).

Pour évaluer davantage la convergence des simulations, la distribution du rayon de giration de nos molécules a été calculée sur 3 fenêtres de temps différentes : 0-100 ns, 50-150 ns et 100-200 ns (Figure II-10).



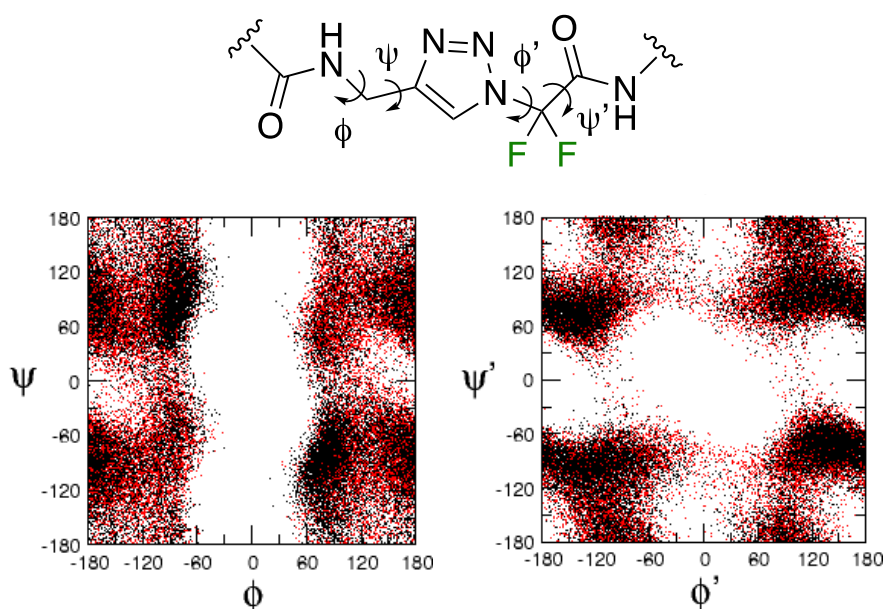
**Figure II-10 :** Distribution du rayon de giration pour les 2 composés **2.6**, **2.9** durant 3 plages de temps 0-100 ns (**noir**), 50-150 ns (**rouge**), et 100-200 ns (**vert**) de chaque trajectoire. Les pointillés verticaux indiquent les valeurs moyennes.

Pour chaque oligomère 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>, toutes les distributions se superposent témoignant de la convergence des simulations. Ces graphiques suggèrent que des simulations supplémentaires pourraient légèrement modifier le poids relatif des clusters conformationnels mais n'auraient pas changé le comportement dynamique qui oscille entre des structures compactes/repliées et étendues.

Nous avons ensuite examiné la flexibilité locale du squelette triazolamère en comparant le diagramme de Ramachandran ( $\phi$ ,  $\psi$ ) du premier acide aminé du dipeptide (extrémité N-terminale du triazole) avec celui ( $\phi'$ ,  $\psi'$ ) du second acide aminé (extrémité C-terminale du triazole) (Figure II-11). Le diagramme de Ramachandran est une représentation graphique permettant d'analyser la conformation locale du squelette des protéines : Pour chaque acide aminé d'une protéine, on porte la valeur de l'angle dièdre  $\phi$  en abscisse en fonction de celle de l'angle  $\psi$  en ordonnée.

Au sein de nos oligomères N-difluorométhyle triazole **2.6** et **2.9**, le résidu mime de glycine (caractérisé par les angles  $\phi$ ,  $\psi$ ) explore une large portion du diagramme de Ramachandran qui est approximativement deux fois symétrique autour du point ( $0^\circ$ ,  $0^\circ$ ) indiquant une large flexibilité à ces positions (Figure II-11), Probablement due à l'absence d'un C $\beta$  sur la chaîne latérale.<sup>7</sup>

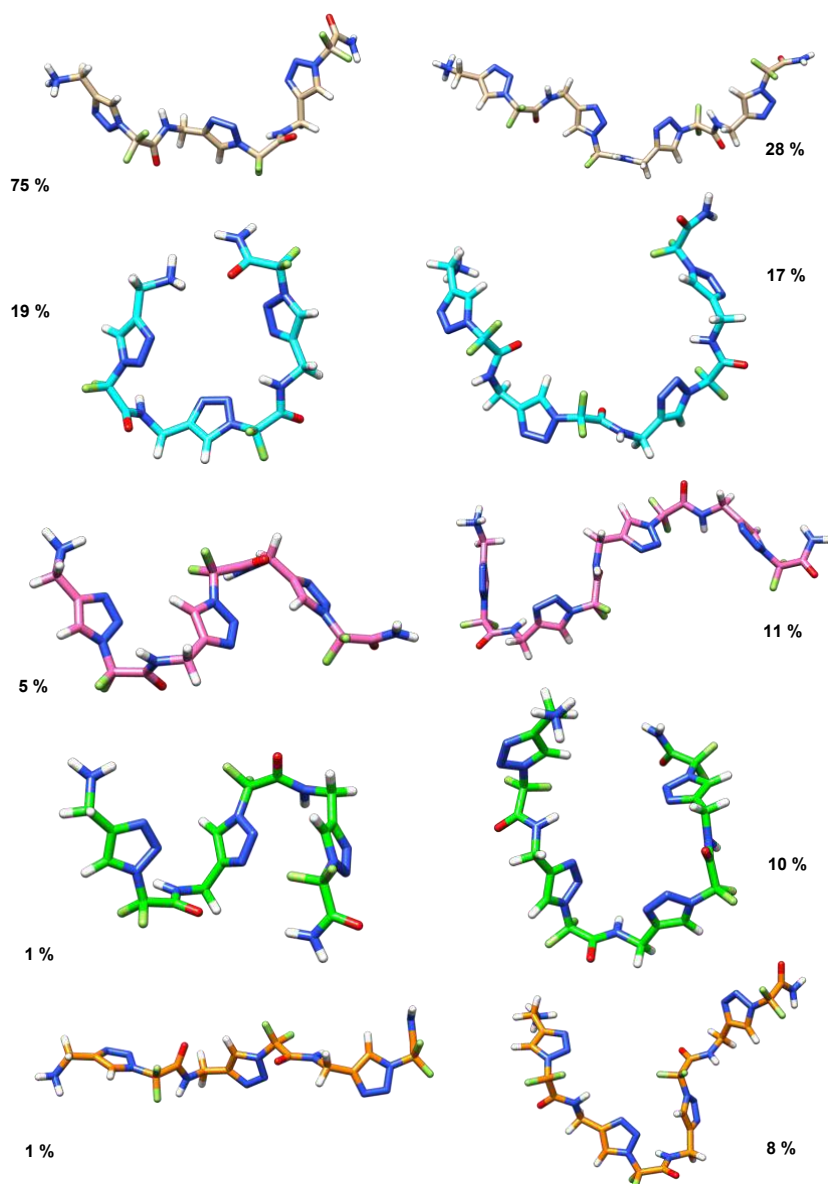
Du point de vue des angles  $\phi'$ ,  $\psi'$  les deux atomes de fluor sur le C $\alpha$  (extrémité C-terminale du triazole) nous donne également un diagramme de Ramachandran approximativement deux fois symétrique autour du point central ( $0^\circ$ ,  $0^\circ$ ), indiquant aussi une large flexibilité au niveau de ces positions (Figure II-11). Cependant, on peut noter que dans l'unité 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>, l'angle  $\phi'$  adopte préférentiellement des valeurs restreintes aux intervalles  $[-180^\circ, -90^\circ]$  et  $[90^\circ, 180^\circ]$ . Cette observation suggère que les deux atomes de fluor préfèrent pointer vers le proton du triazole et restreignent par conséquent la rotation autour de la liaison N-C $\alpha$ . Il semblerait donc que le groupement CF<sub>2</sub> induise une rigidification locale du squelette triazolamère.



**Figure II-11** : Diagramme de Ramachandran pour le premier acide aminé du dipeptide (extrémité N-terminale,  $\phi$ ,  $\psi$ ) (gauche) et le deuxième acide aminé (extrémité C-terminale,  $\phi'$ ,  $\psi'$ ) (droite). Les points noirs et rouges correspondent au trimère **2.6** et au tétramère **2.9** respectivement.

Les structures les plus souvent adoptées par nos triazolamères comprenant l'unité 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> sont données dans la Figure II-12. On peut noter que ces représentations illustrent bien comment la rigidité locale de la chaîne principale 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> empêche le repliement en structure compacte et donne à ces triazolamères un comportement de chaîne en forme de « ver ». Le cluster majoritaire (75%) du trimère **2.6** semble plus étendu. On observe néanmoins des clusters minoritaires dans lesquels des interactions dipôle-dipôle électrostatique peuvent exister entre les cycles triazoles. Le tétramère **2.9** semble plus flexible et adopte des structures plus ou moins étendues ou légèrement repliées. Ceci s'explique en partie par le fait que le tétramère a un plus grand degré de liberté que le trimère.

Ainsi ces travaux montrent que l'unité 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé, qui est un mime de dipeptide fluoré (Gly-CF<sub>2</sub>Gly), induit localement une conformation étendue qui conduit dans des triazolamères à une structure majoritairement étendue également. Néanmoins, des structures plus compactes peuvent être observées grâce à la flexibilité induite par le mime Glycine et à des interactions dipôle-dipôle et  $\pi$ -stacking qui peuvent exister entre les cycles triazoles.



**Figure II-12 :** Structures représentatives des clusters les plus peuplés pour le trimère **2.6** (colonne de gauche) et le tétramère **2.9** (colonne de droite).



De nombreux essais de cristallisation du trimère **2.5** et du tétramère **2.8** protégés (les chlorures étant connus pour plus difficilement cristalliser) ont été effectués afin d'obtenir des données de diffraction au rayon X et ainsi confirmer les observations faites par RMN et par dynamique moléculaire. Malheureusement, l'intégralité des essais a échoué. Ceci peut être dû, comme l'ont montré les simulations de dynamique moléculaire, à l'absence de conformation préférentielle empêchant de figer une structure sous forme de cristal.

L'ensemble des travaux présentés ci-dessus concernant les homo 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés ont été publiés dans une édition spéciale foldamères (article joint ci-après).<sup>8</sup> Ces travaux ont été mis en perspective avec d'autres triazolamères fluorés utilisant l'architecture CF<sub>3</sub>-1,4-Tz développée au sein du laboratoire par un autre doctorant (Figure II-13).

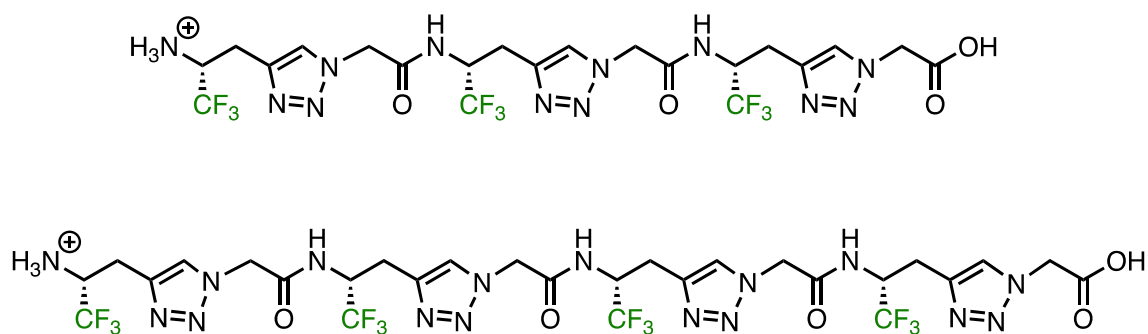


Figure II-13 : Structure des triazolamères CF<sub>3</sub>-1,4-Tz.

Les tri- et tétratriazolamères construits à partir de l'unité CF<sub>3</sub>-1,4-Tz adoptent une structuration en forme d'échelle mimant de courts  $\beta$ -sheets multi-brin. Cette observation se justifie par la présence d'un carbone supplémentaire dans le squelette principal de l'unité CF<sub>3</sub>-1,4-Tz par rapport 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>. Ce carbone offre un plus grand degré de liberté aux triazolamères et par conséquent leur permet d'adopter des structures compactes repliées. Ces résultats ont été obtenus à l'aide d'analyses par RMN, dynamique moléculaire et de diffraction aux rayons X. Ces résultats sont présentés dans l'article ci-après.

Les homotriazolamères **2.6** et **2.9** ont été évalués par spectrométrie de fluorescence à la thioflavin-T. Ces résultats seront présentés conjointement aux hétéotriazolamères (cf. Chapitre II, V. p.109).

## IV. Les hétérotriazolamères

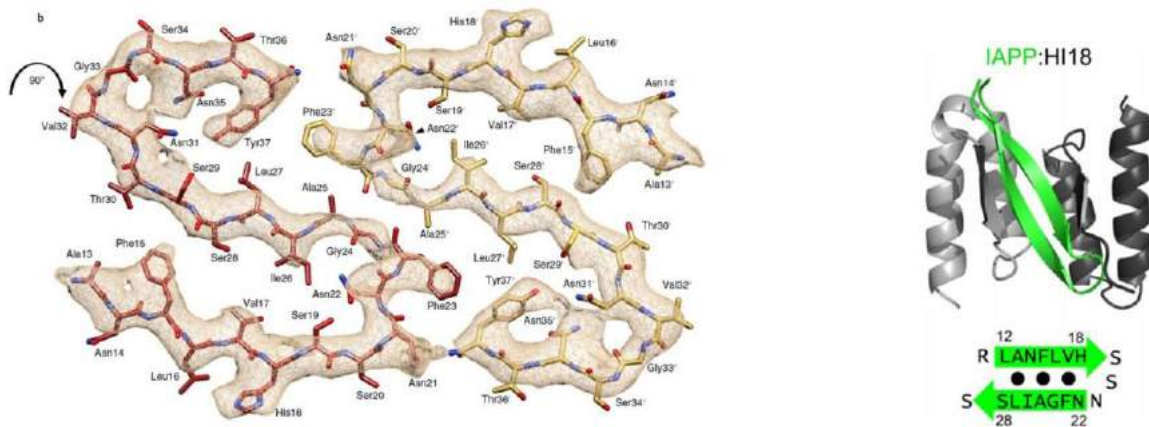
### IV. 1. Conception des hétérotriazolamères pour l'inhibition des interactions protéine-protéine

Pour concevoir nos hétérotriazolamères fluorés inhibiteurs d'interactions protéine-protéine (PPIs) impliquant des feuillets  $\beta$ , nous nous sommes appuyés sur deux points principaux :

- Utiliser l'unité peptidomimétique 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>, pour laquelle nous avons démontré sa préférence à adopter des structures plus ou moins étendues lors de son auto-assemblage. Induire une structure étendue à nos foldamères devrait améliorer l'interaction avec les structures amyloïdogéniques, riches en feuillets  $\beta$ .
- Intercaler entre les unités 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> des acides aminés naturels choisis selon la séquence amyloïdogénique de hIAPP, N<sub>21</sub>N<sub>22</sub>F<sub>23</sub>G<sub>24</sub>A<sub>25</sub>L<sub>26</sub>L<sub>27</sub>, en partie responsable de l'agrégation (cf Chapitre I, II. 2. b. i) p.24).

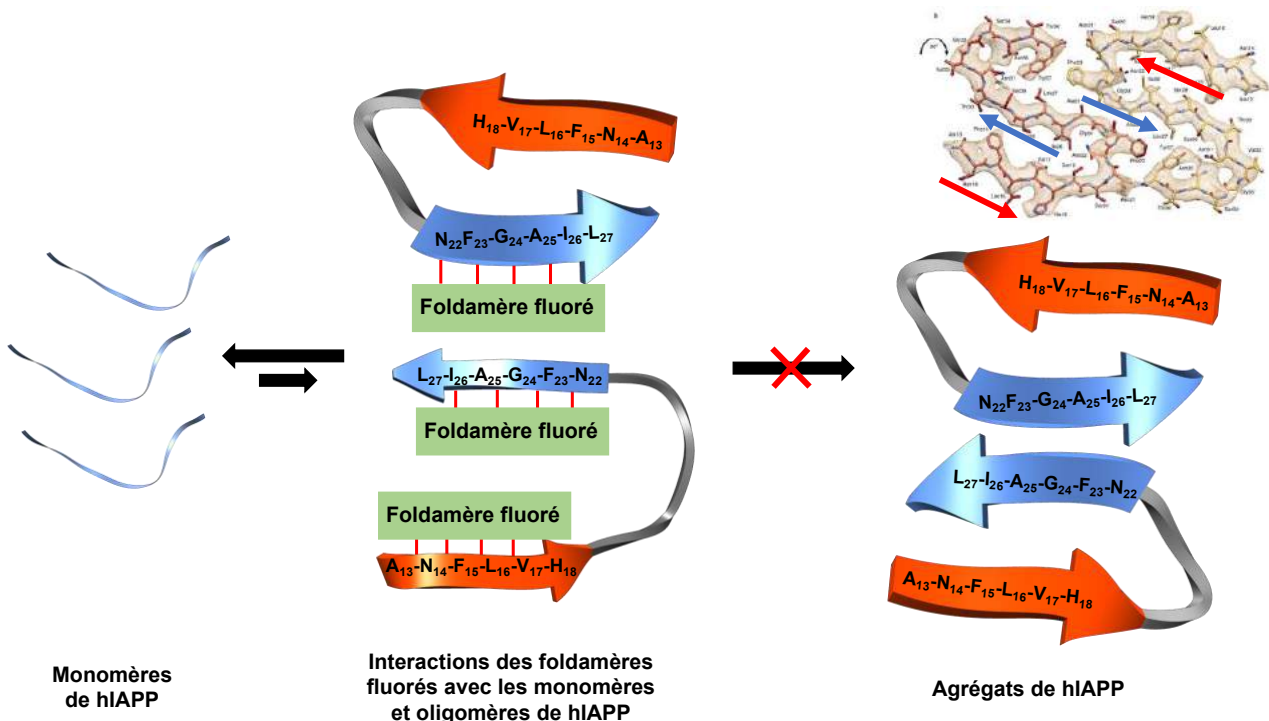
Dans la littérature, les analyses RMN et les quelques structures expérimentales et *in silico* dans l'agrégation de hIAPP ont permis d'observer des repliements en feuillets  $\beta$  intra- et intermoléculaires dans lesquelles sont impliquées la séquence N<sub>21</sub>NFGAIL<sub>27</sub>. En 2005, un modèle en forme de « s » a été proposé par Kajava *et al.* par modélisation moléculaire dans les oligomères de hIAPP impliquant 3 feuillets  $\beta$  parallèles entre les acides aminés 12-17, 22-27 et 31-37.<sup>9</sup> En 2020, le modèle atomique de cette forme en « s » a été observé par Röder *et al.*<sup>10</sup> par cryo-microscopie électronique au sein des fibres de hIAPP (Figure II-14, gauche). Il montre que la séquence N<sub>22</sub>FGAIL<sub>27</sub> est impliquée dans le repliement intramoléculaire (avec les résidus A<sub>13</sub>NFLVH<sub>18</sub>) et dans des interactions intermoléculaires entre les séquences F<sub>23</sub>GAIL<sub>27</sub> de deux brins antiparallèles. En 2016, Mirecka *et al.*<sup>11</sup> publie l'étude du complexe entre hIAPP et l'inhibiteur d'agrégation «  $\beta$ -wrapping » HI18 par RMN. Cette étude a permis d'identifier deux séquences de hIAPP adoptant une structure en brin  $\beta$  (N<sub>22</sub>FGAIL<sub>27</sub> et L<sub>12</sub>ANFLVH<sub>18</sub>) connecté par un coude entre les acides aminés S<sub>19</sub> et N<sub>21</sub> (Figure II-14, droite).

Ch-II : Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés



**Figure II-14 :** (gauche) Modèle atomique de la structure en forme de « s » au sein des fibres de hIAPP impliquant les acides aminés 13-37 observé par Röder *et al.*<sup>10</sup> ; (droite) structure du complexe hIAPP :HI18 reporté par Mirecka *et al.*<sup>11</sup>, la structure de hIAPP est en vert

Nos foldamères sont conçus pour mimer la séquence N<sub>21</sub>NFGAIL<sub>27</sub> grâce aux similarités des chaînes latérales, permettant d’engager un certain nombre de liaison hydrogène et d’interaction entre les chaînes latérales avec les séquences complémentaires (L<sub>12</sub>ANFLVH<sub>18</sub>), et ainsi perturber les interactions intra- et intermoléculaires pour empêcher l’agrégation (Figure II-15).



**Figure II-15 :** Hypothèse de mécanisme d’interaction pour la conception de nos foldamères fluorés afin de moduler les PPIs dans l’agrégation de hIAPP

Les unités 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> pourront faire des « trous » localement dans le réseau de liaison hydrogène et des interactions avec les chaînes latérales et ainsi agir comme des éléments « β-sheet breakers » (Figure II-16). Ainsi le pseudoheptapeptide F-[1,4-Tz-CF<sub>2</sub>]-A-[1,4-Tz-CF<sub>2</sub>]-L-NH<sub>2</sub> et le pseudodécapéptide N-[1,4-Tz-CF<sub>2</sub>]-F-[1,4-Tz-CF<sub>2</sub>]-A-[1,4-Tz-CF<sub>2</sub>]-L-NH<sub>2</sub> ont été conçus pour mimer la séquence F<sub>23</sub>GAIL<sub>27</sub> et N<sub>21</sub>NFGAIL<sub>27</sub> respectivement (Figure II-16). Les extrémités C-terminales seront amides (CONH<sub>2</sub>) et les extrémités N-terminales seront laissées libres ou acétylés, pour évaluer l'influence d'une charge cationique sur la structuration et l'activité anti-agrégante sur hIAPP.

Cette stratégie a été explorée principalement pour hIAPP (N<sub>21</sub>NFGAIL<sub>27</sub>) impliqué dans le diabète de type II mais également pour Aβ<sub>1-42</sub> dans lequel la séquence amyloïdogénique est K<sub>16</sub>LVFF<sub>20</sub> impliqué dans la maladie d'Alzheimer. Ainsi, la synthèse du pseudoheptapeptide K-[1,4-Tz-CF<sub>2</sub>]-V-[1,4-Tz-CF<sub>2</sub>]-F-NH<sub>2</sub> a également été réalisée, l'extrémité N-terminale étant laissée libre en raison de nos résultats précédents démontrant l'importance de l'amine libre pour l'activité anti-agrégante sur Aβ<sub>1-42</sub> (Figure II-16).<sup>12</sup>

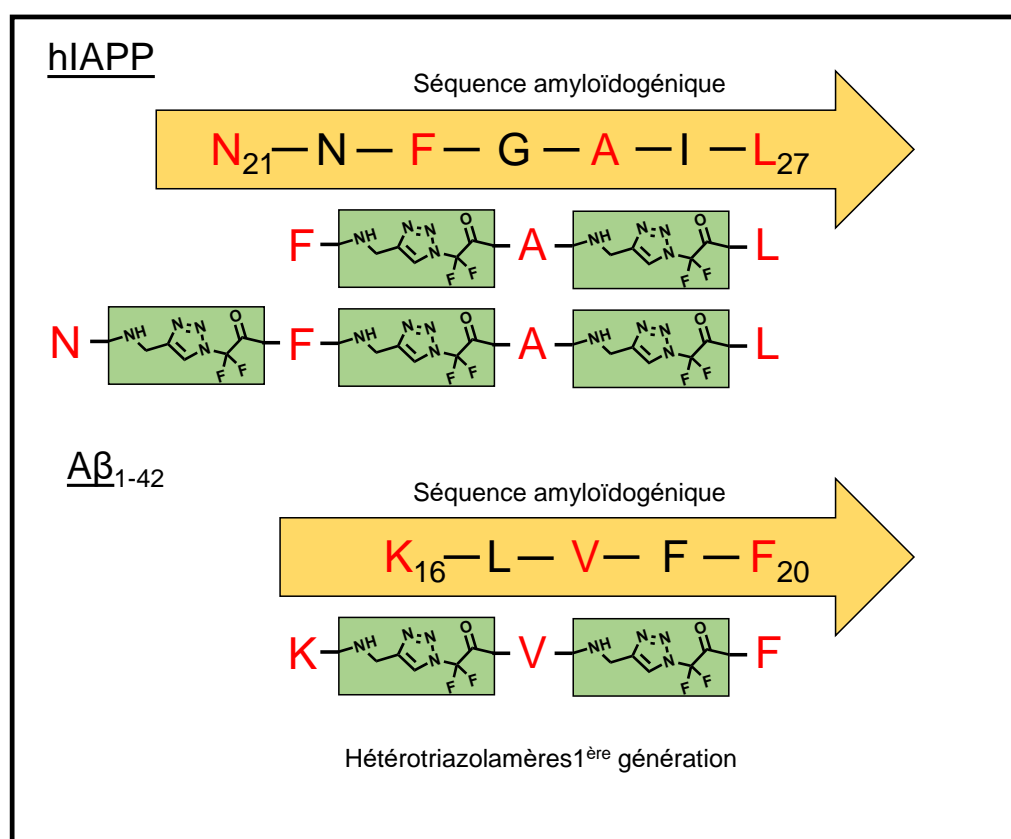
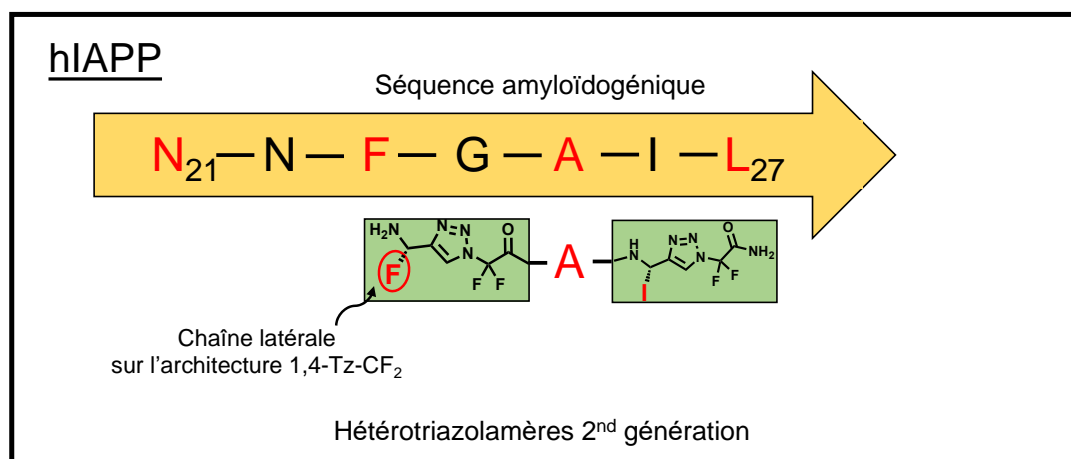


Figure II-16 : Conception des foldamères fluorés de 1<sup>er</sup> génération

De plus, comme expliqué précédemment, notre unité 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> est un mime de dipeptide (Gly-CF<sub>2</sub>Gly). Nos foldamères seront donc plus grands que la séquence amyloïdogénique mimée puisque nous avons délibérément fait le choix de substituer un acide aminé de la séquence par notre architecture. Cette différence de longueur peut se présenter comme un argument supplémentaire pour venir perturber les interactions intra- et intermoléculaires des monomères de hIAPP. Cependant, pour répondre à cette problématique, nous avons également conçu des hétérotriazolamères incorporant une chaîne latérale d'acide aminé directement sur les 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés afin de mimer directement un dipeptide de la séquence amyloïdogénique de hIAPP (Figure II-17). L'objectif de ces nouveaux foldamères est d'augmenter l'affinité des unités 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> en permettant l'interaction avec les chaînes latérales tout en diminuant le caractère peptidique. Nous pourrions évaluer la capacité de ces nouvelles architectures à mimer les peptides naturels tout en réduisant la taille de nos foldamères en évitant d'incorporer des acides aminés naturels. Nous souhaitons également comparer la différence de structuration des foldamères de 2<sup>nd</sup> génération par rapport à la 1<sup>ère</sup> génération.



**Figure II-17 :** Conception des foldamères fluorés de 2<sup>ème</sup> génération

Dans un premier temps sera présentée la synthèse de la première génération de ces foldamères fluorés, intercalant des acides aminés naturels et l'unité 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>.

Dans un second temps, les essais préliminaires de synthèse de la deuxième génération des foldamères fluorés incorporant les chaînes latérales d'acide aminé directement sur l'architecture *N*-difluorométhyle triazole, seront présentés.

## IV. 2. Les hétérotriazoles N-difluorométhylés pour concevoir des peptides antimicrobiens et pénétrant les cellules

Dans un cadre très préliminaire et annexe, nous avons envisagé d'exploiter les hétérotriazolamères de 1<sup>ère</sup> génération pour concevoir des peptides pénétrant les cellules (CPPs) et des peptides antimicrobiens (AMPs). L'association d'unités 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>, mimant des résidus hydrophobes, et d'acides aminés hydrophiles cationiques (Lysine/Arginine) peut induire un caractère amphiphile à ces structures leur permettant d'interagir, et de potentiellement traverser les membranes (Figure II-18). La synthèse des unités contenant des résidus Lysine et les tentatives pour obtenir l'hétérotriazolamère correspondant seront présentées conjointement aux hétérotriazolamères de 1<sup>ère</sup> génération.

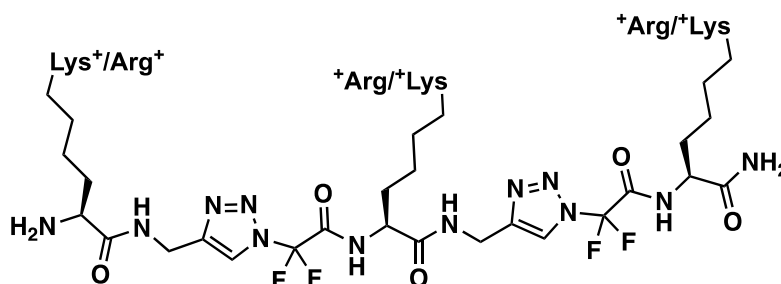


Figure II-18 : Triazolamères comme potentiels CPPs/AMPs

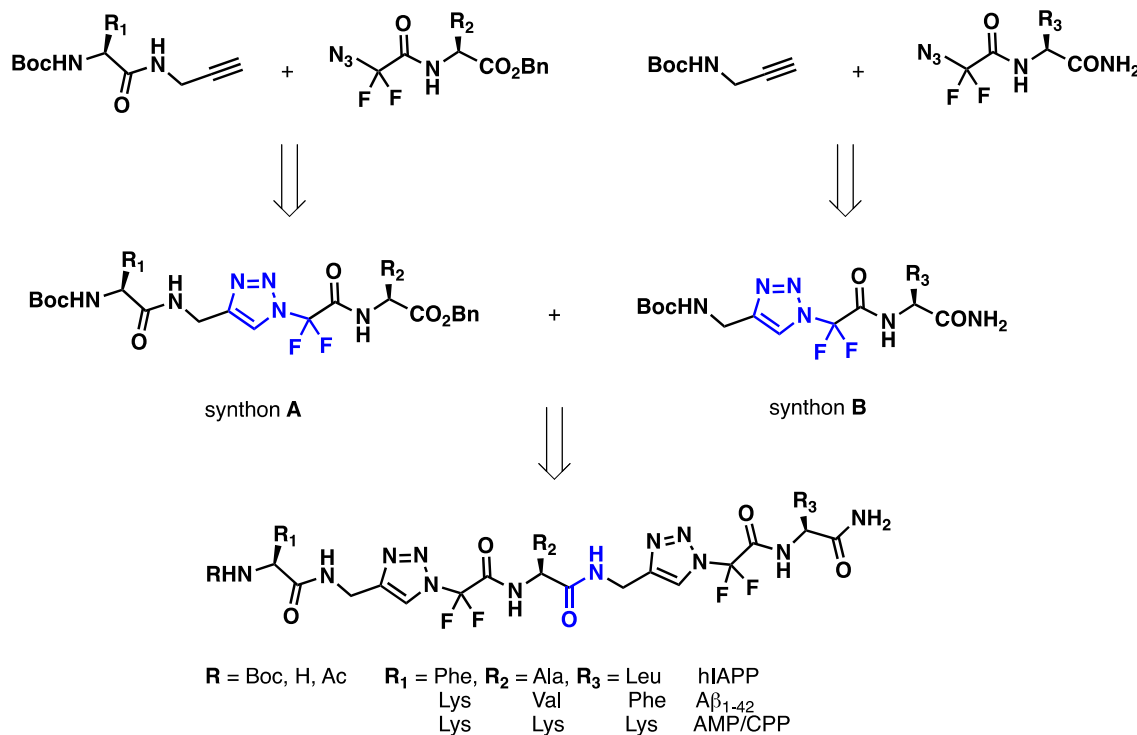
## IV. 3. Synthèse des hétérotriazoles N-difluorométhylés

### IV. 3. a. *Synthèse des hétérotriazolamères de première génération*

Afin d'expliquer la stratégie de synthèse de nos foldamères fluorés, nous avons décrit ci-dessous l'approche rétro-synthétique de ces foldamères (Schéma II-6/7). Pour la synthèse de nos pseudo-heptapeptides, nous devons réaliser la synthèse de deux synthons **A** et **B** portant un triazole N-difluorométhylés, issus de la réaction de la cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre entre un alcyne et un azoture difluoré. Pour intercaler des acides aminés entre les unités 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>, il est nécessaire de synthétiser des unités portant des acides aminés de part et d'autre du triazole (synthon **A**), et d'autres ne portant un résidu d'acide aminé qu'à l'extrémité C-terminale (synthon **B**).

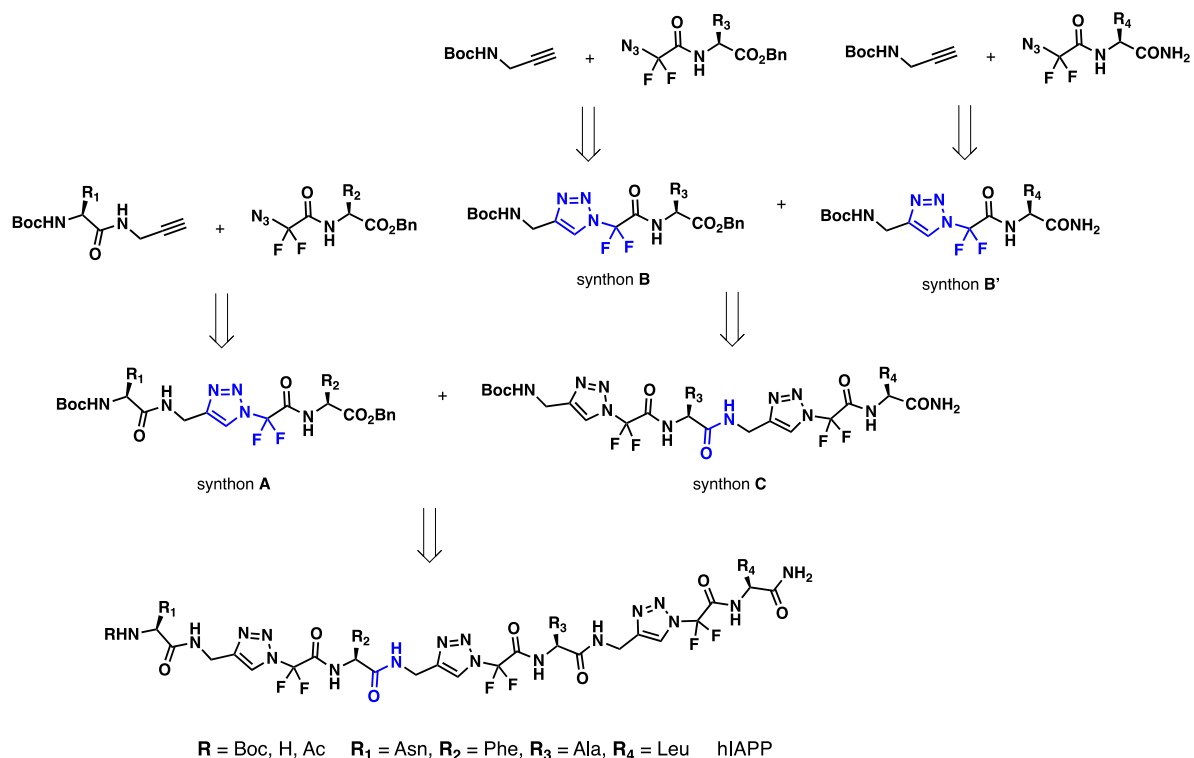
Ch-II : Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés

Pour obtenir les différentes séries de foldamères spécifiques à leur séquence (hIAPP, A $\beta_{1-42}$ , AMPs/CPPs) nous aurons simplement à changer les acides aminés sur les alcynes et les azotures difluorés (Schéma II-6).



**Schéma II-6** : approche rétro-synthétique des pseudo-heptapeptides

La synthèse du pseudo-décapeptide pour la séquence de hIAPP est réalisée de manière très similaire à la synthèse des pseudopeptides décrite précédemment (Schéma II-6). L'unique différence est la synthèse d'un **synthon C** portant deux triazoles N-difluorométhylés obtenu à partir de deux synthons **B** (Schéma II-7). Le couplage des synthons **A** et **C** permettra d'obtenir le pseudo-décapeptide.



**Schéma II-7** : Approche rétro-synthétique du pseudo-décapeptide

La synthèse des différents synthons et leur assemblage est décrite ci-après.

#### IV. 3. a. i) Synthèse des propargylamides

La synthèse des propargylamides a été décrite pour de nombreux acides aminés dans la littérature.<sup>5,13</sup> Ils sont obtenus par couplage entre la propargylamine, préalablement distillée et un acide aminé protégé sur la partie *N*-terminale. Nous avons utilisé des conditions de couplage classique, à l'aide de 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC), de *N*-hydroxybenzotriazole (HOBt) et de triéthylamine dans le dichlorométhane. Nous avons pu obtenir différents amides d'acides aminés (Phe, Asn, Lys) avec de bons rendements (82-90%). Concernant l'asparagine, il est nécessaire de protéger l'amide de la chaîne latérale par un groupement trityl pour que la réaction conduise à l'amide attendu avec un bon rendement (85%) (Schéma II-8).



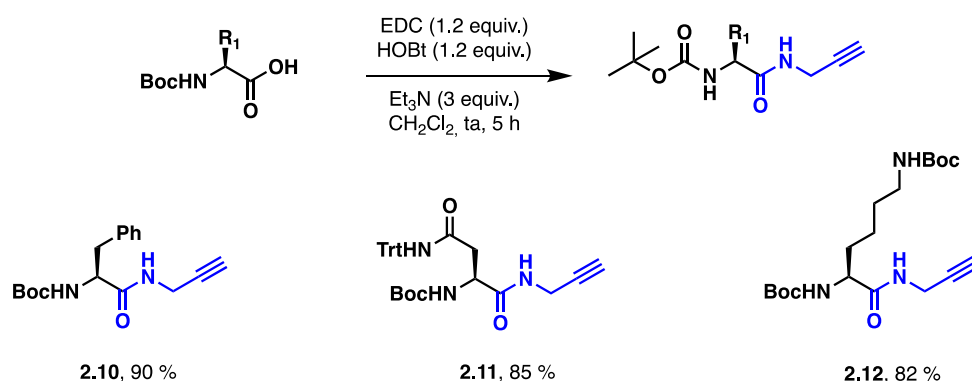


Schéma II-8 : Synthèse des propargylamides

#### IV. 3. a. ii) Synthèse des azidodifluoroacétamides

La méthodologie de synthèse des azotures difluorés portant un résidu d'acide aminé a été développée précédemment au laboratoire.<sup>5</sup> L'azoture difluoré intermédiaire obtenu par réaction entre l'éthyl bromodifluoroacétate et l'azoture de sodium est directement mis dans des conditions d'amidification par sonication en présence de l'acide aminé correspondant et de triéthylamine pendant 4 h à 40 °C. Les produits obtenus ont été purifiés par colonne de silice. On obtient les produits avec des rendements modérés (46-67%). Les rendements sont plus faibles lorsque la fonction C-terminale de l'acide aminé est un amide (Schéma II-9).

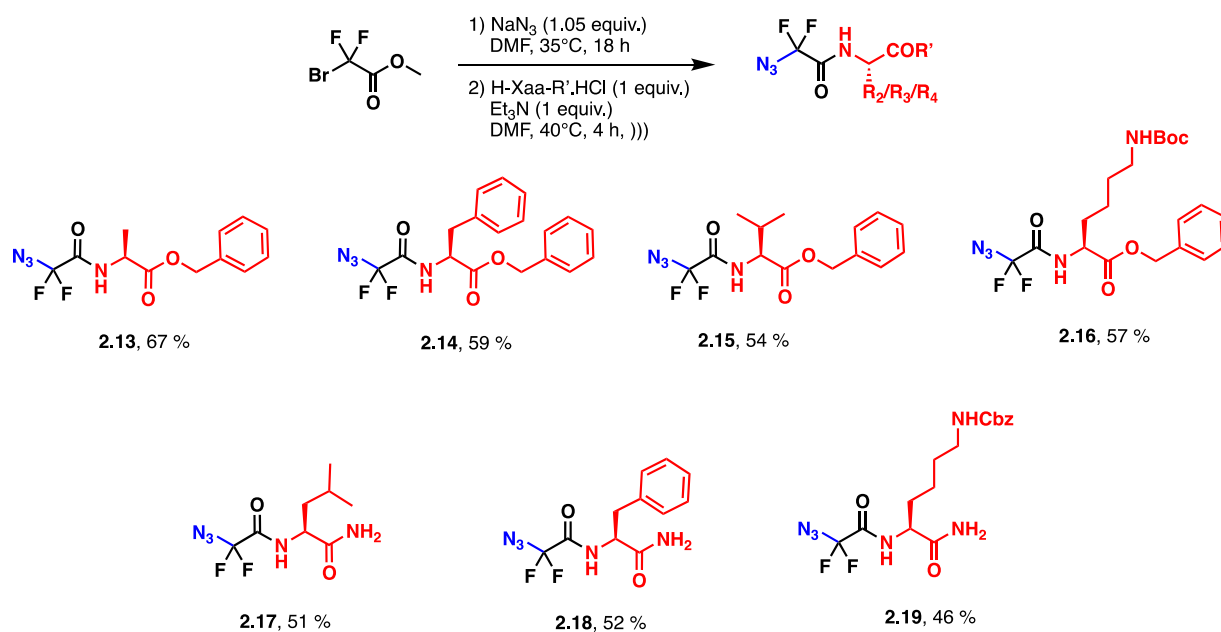
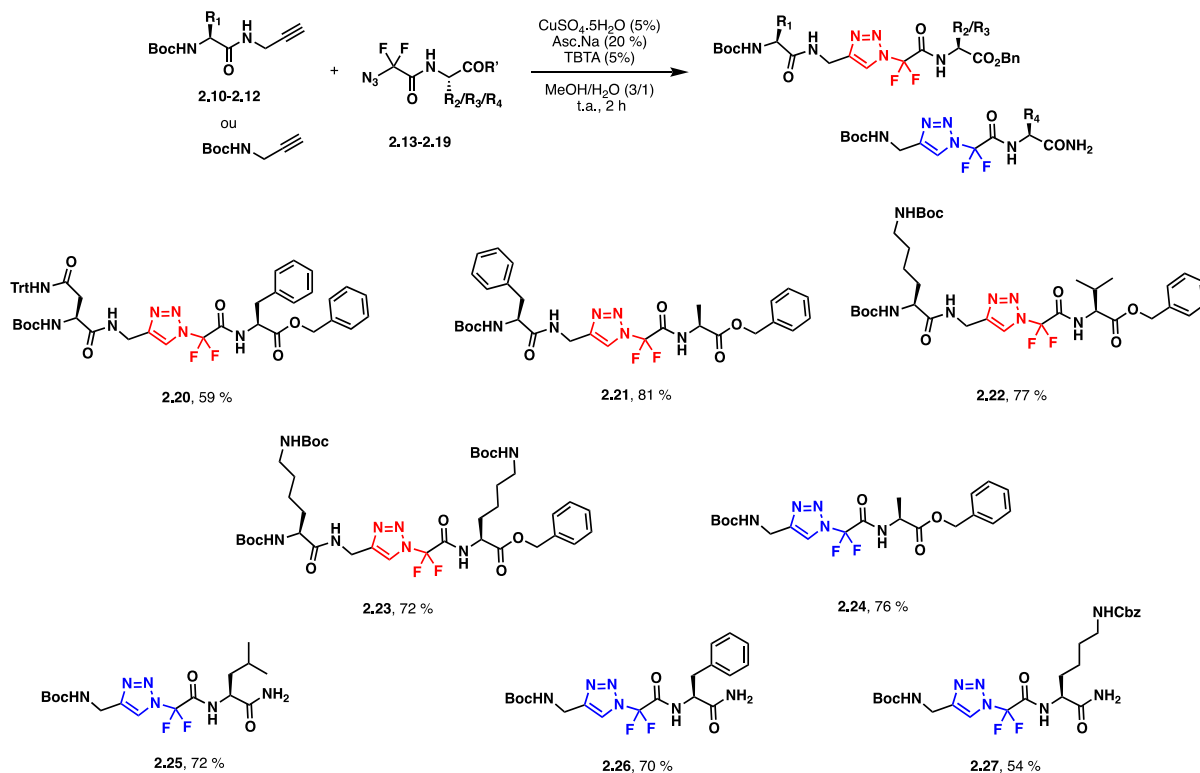


Schéma II-9 : Synthèse des azidodifluoroacétamides

## IV. 3. a. iii) Cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre

Pour former l'unité 1,4-Tz-CF<sub>2</sub>, on effectue une réaction de cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre.<sup>5</sup> Nous utilisons des conditions optimisées au laboratoire avec le sulfate de cuivre hydraté (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) en quantité catalytique comme source de cuivre (II). L'espèce catalytique lors de la réaction de cycloaddition est le cuivre au degré d'oxydation I. On utilise l'ascorbate de sodium pour réduire les ions Cu<sup>2+</sup> en Cu<sup>+</sup> dans un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O dans un ratio 3/1 (Schéma II-10).

Pour accélérer la réaction et augmenter les rendements, l'utilisation de ligand a souvent été décrite. Notamment pour les réactions de cycloaddition où l'azoture est appauvri en électrons, ce qui est notre cas ici avec l'effet électroattracteur des deux atomes de fluor en alpha de l'azoture. Nous avons donc utilisé le *tris*-(benzyltriazolylméthyle)amine, TBTA comme ligand.<sup>14,15</sup> Il est important que la réaction soit réalisée sous atmosphère inerte et anaérobie, les ions Cu<sup>+</sup> pouvant être oxydé en ion Cu<sup>2+</sup> et interrompre la réactivité. Ce problème est facilement identifiable, le milieu réactionnel étant bleuté en présence des ions Cu<sup>2+</sup>. Ces conditions permettent d'obtenir des triazoles *N*-difluorométhylés portant des acides aminés avec des rendements modérés à bons (54-81%) et un large choix d'acides aminés.

Schéma II-10 : Synthèse des synthons 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés A et B

IV. 3. a. iv) Déprotection des synthons 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés

Avant de procéder à l'étape de couplage peptidique il est nécessaire de cliver les groupements protecteurs en *C*-terminale (**2.20-2.24**) et en *N*-terminale (**2.25-2.27**) des synthons 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés.

Les esters benzyliques des fonctions *C*-terminale sont clivés en utilisant les conditions de réduction douces et rapides décrite par McMurray (Schéma II-11).<sup>16</sup> L'hydrogène est généré *in situ* par addition du triéthylsilane sur le palladium sur charbon en présence de méthanol. La réaction se déroule à température ambiante avec un temps de réaction très court (30 minutes). Nous avons également réalisé l'hydrogénation en faisant buller de l'hydrogène. Les rendements sont similaires mais le temps de réaction est plus long. L'ensemble des acides carboxyliques correspondant n'a pas été isolé et a été soumis directement aux conditions de couplage.

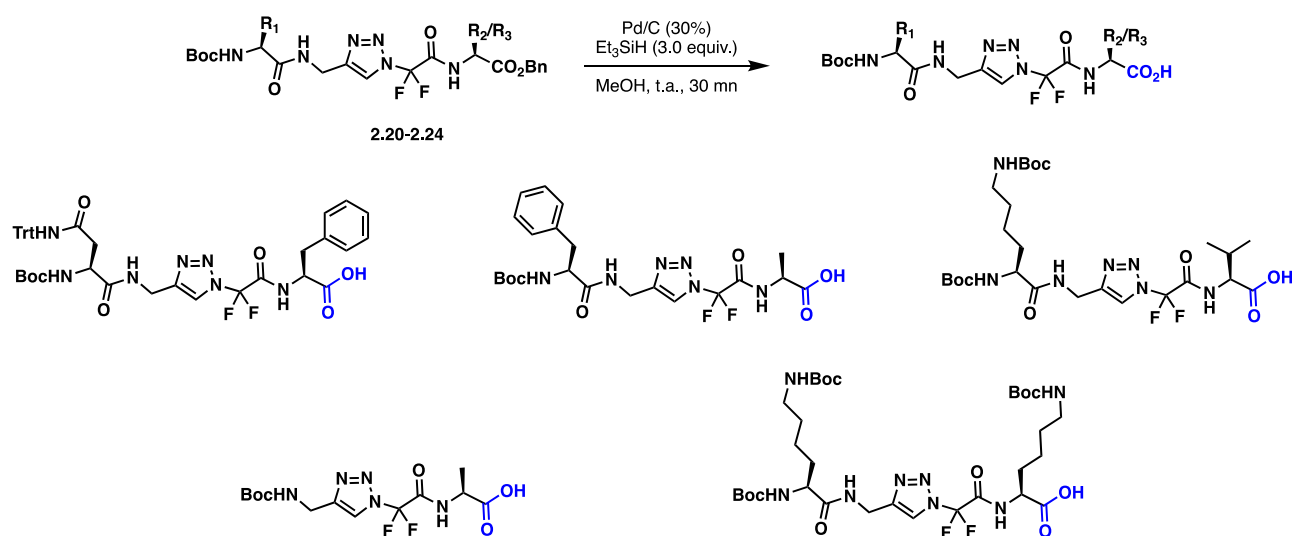
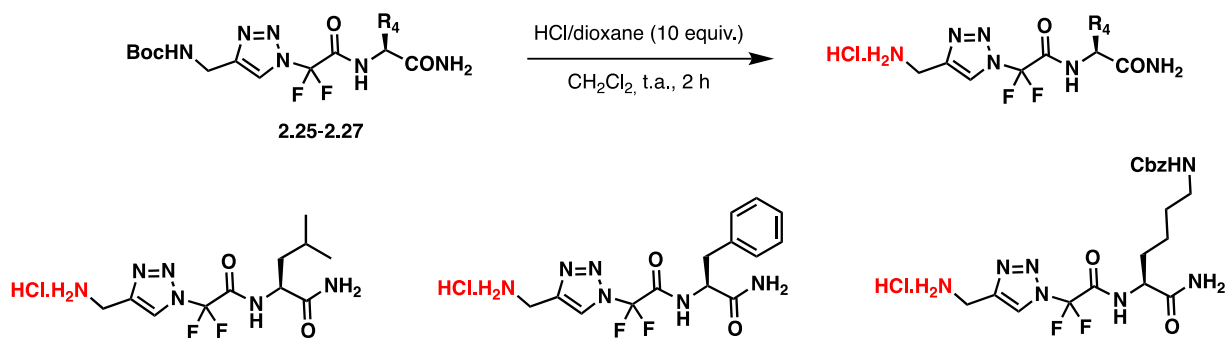


Schéma II-11 : Clivage de l'ester benzylique de la fonction *C*-terminale

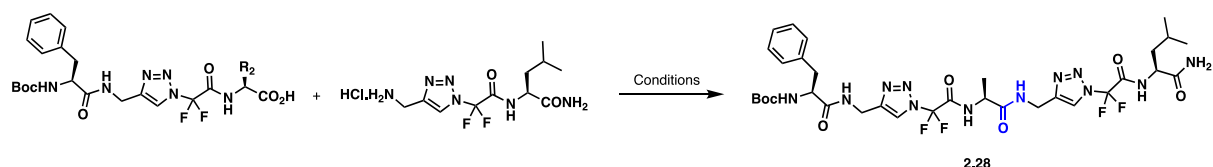
Les groupements carbamates de *tert*-butyle ont été clivés en utilisant des conditions classiques en milieu acide à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique dans le dioxane à température ambiante pendant deux heures (Schéma II-12). Comme précédemment l'ensemble des amines libres correspondantes n'a pas été isolé et a été soumis directement aux conditions de couplage.



**Schéma II-12** : Clivage du carbamate de *tert*-butyle de la fonction *N*-terminale

#### IV. 3. a. v) Étape de couplage

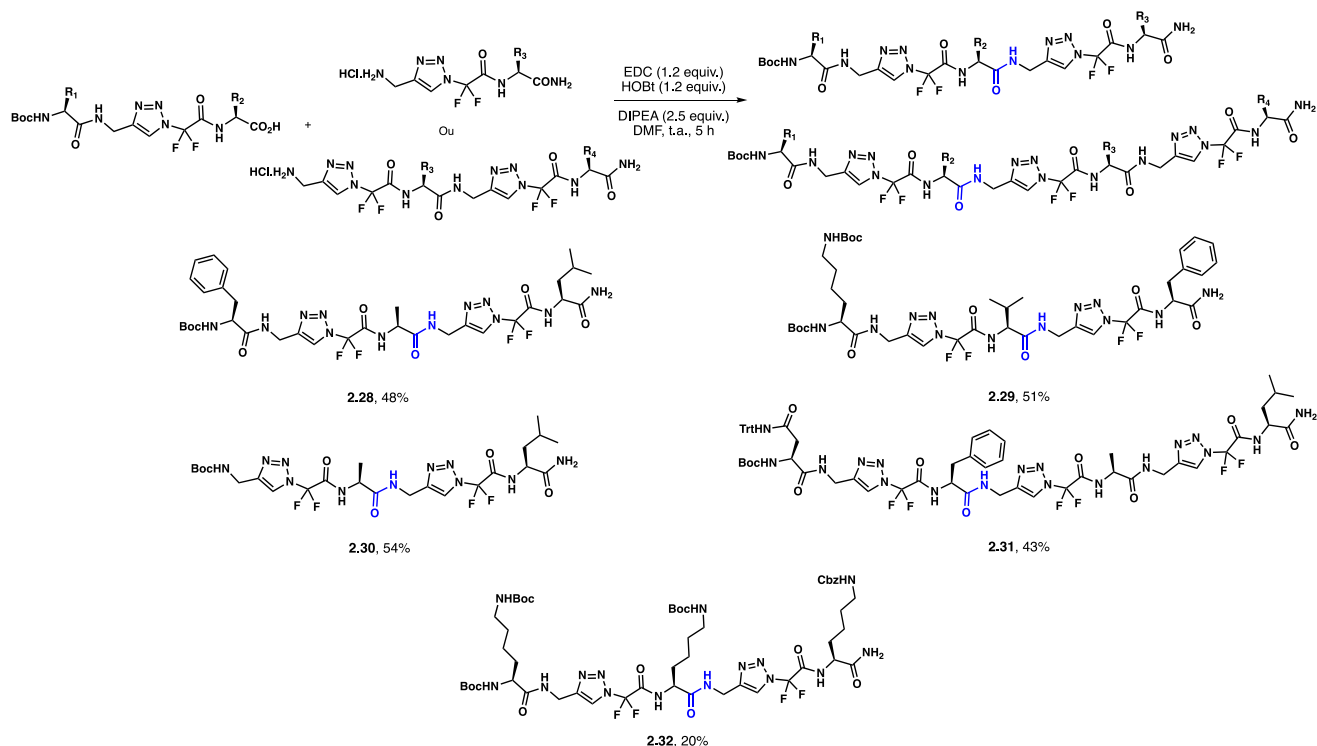
Le couplage peptidique est une étape importante de notre chemin synthétique vers l'obtention de nos foldamères fluorés. Nous avons commencé les essais avec des conditions de couplage que nous utilisions régulièrement à l'aide de 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC), de *N*-hydroxybenzotriazole (HOBT) et de diisopropyléthylamine (DIPEA) dans le diméthylformamide (DMF) à température ambiante pendant 48 heures (Tableau II-3, entrée 1). Cependant nous avons observé par RMN  $^{19}\text{F}$  un mélange de diastéréoisomères dans un ratio 9/1. Nous avons émis l'hypothèse qu'avec un temps de réaction long et en milieu basique les hydrogènes  $\alpha$  des résidus d'acides aminés à proximité des groupements difluorés pouvaient s'épimériser. Pour éviter ce problème nous avons diminué le temps de réaction de 48h à 5 h. Nous avons obtenu le produit final **2.28** avec un rendement de 48 % et aucune épimérisation n'a été observée (Tableau II-3, entrée 2). Nous avons tenté d'utiliser d'autres conditions de couplage afin d'obtenir de meilleurs rendements. Nous avons utilisé une base plus faible comme la collidine pour avoir un temps de réaction plus long et éviter toute épimérisation mais le rendement n'était pas amélioré (Tableau II-3, entrée 3 et 5). Nous avons changé d'agents de couplage en utilisant un autre carbodiimide, le DIC et des sels d'uronium tels que le COMU, HATU, HCTU mais les rendements n'ont pas été améliorés (Tableau II-3, entrée 4-8).

**Tableau II-3 : Conditions de couplage peptidique**

Entrée	Agents de couplage	Base	Temps	Rdt (%)	ed (%)
1	EDC.HCl (1.2 eq.), HOBT (1.2 eq.)	DIPEA (2.5 eq.)	48 h	55	80
2	<b>EDC.HCl (1.2 eq.), HOBT (1.2 eq.)</b>	<b>DIPEA (2.5 eq.)</b>	<b>5 h</b>	<b>48</b>	<b>100</b>
3	EDC.HCl (1.2 eq.), HOBT (1.2 eq.)	Collidine (5.0 eq.)	24 h	46	100
4	COMU (1.2 eq.), OXYMA (1.2 eq.)	DIPEA (2.5 eq.)	5 h	27	-
5	COMU (1.2 eq.), OXYMA (1.2 eq.)	Collidine (5.0 eq.)	24 h	16	-
6	DIC (1.2 eq.), OXYMA (1.2 eq.)	DIPEA (2.5 eq.)	5 h	20	-
7	HATU (1.2 eq.), HOAt (1.2 eq.)	DIPEA (2.5 eq.)	5 h	18	-
8	HCTU (1.2 eq.)	DIPEA (2.5 eq.)	5 h	28	-

À l'issue de ces essais nous avons poursuivi les synthèses des autres hétérotriazolamères en utilisant les meilleures conditions de couplage trouvées lors des essais précédents (Tableau II-3, entrée 2). Trouver des conditions de couplage permettant d'améliorer les rendements reste toujours un point important de ce travail de recherche. L'ensemble des foldamères protégés synthétisés à l'heure actuelle est décrit ci-dessous (Schéma II-13). Les rendements de couplage sont satisfaisants (43 à 54%) à l'exception du foldamère **2.32** contenant les trois résidus Lysine, pour lequel le rendement est faible (20%).

## Ch-II : Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés



**Schéma II-13** : Couplage de type peptidique des synthons 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés

### IV. 3. a. vi) Déprotection de **2.28/2.29** et acétylation de **2.33**

L'analyse conformationnelle et les études biophysiques de nos hétérotriazolamères seront effectuées avec la fonction *N*-terminale libre ou acétylée. Les molécules protégées par un carbamate de *tert*-butyle **2.28/2.29** ont été clivées à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique dans le dioxane à température ambiante pendant 2 heures pour obtenir **2.33/2.34** avec un rendement de 98% et 95% respectivement (Schéma II-14). Ensuite, **2.33** a été acétylée en utilisant l'anhydride acétique et la triéthylamine dans le DMF à température ambiante pendant 5 heures pour donner **2.35** avec un rendement de 55% (Schéma II-14). Comme évoqué l'extrémité *N*-terminale de **2.34** est laissée libre en raison de nos résultats précédents démontrant l'importance de l'amine libre pour l'activité anti-agrégante sur A $\beta$ <sub>1-42</sub>

## Ch-II : Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés

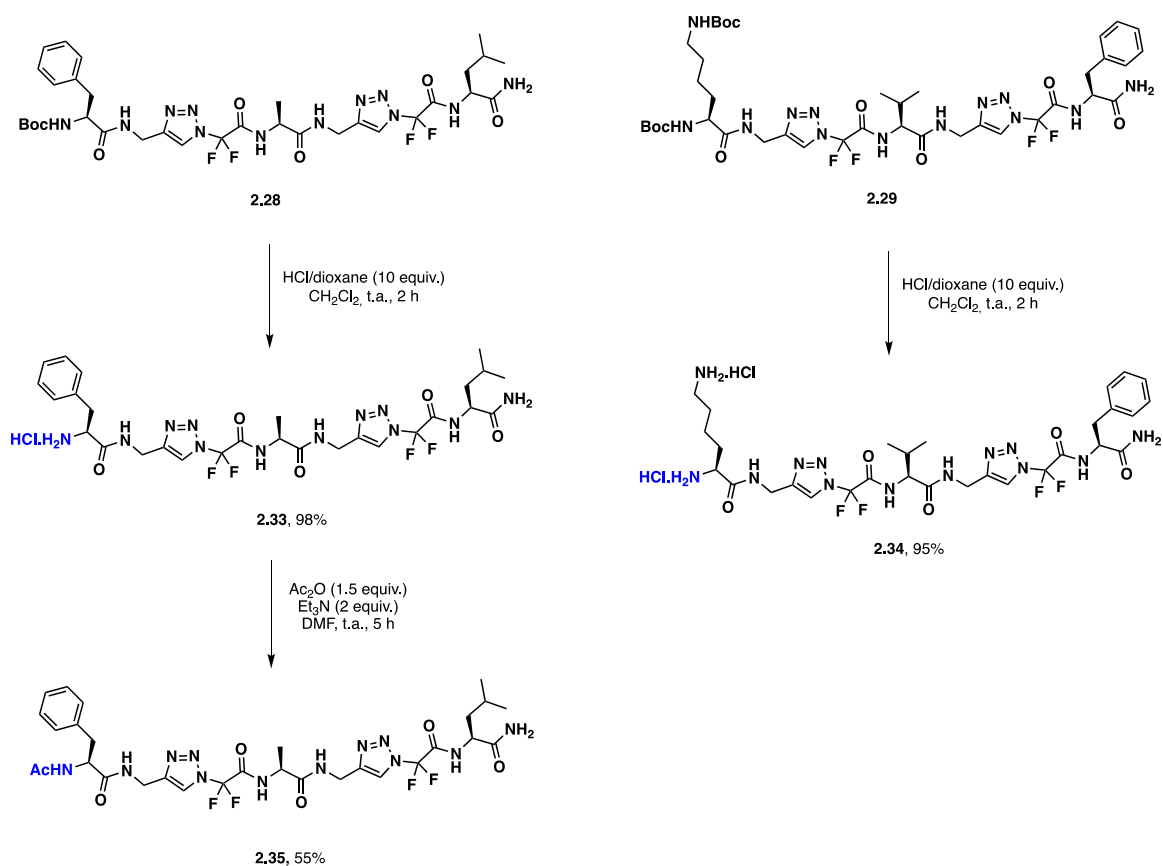
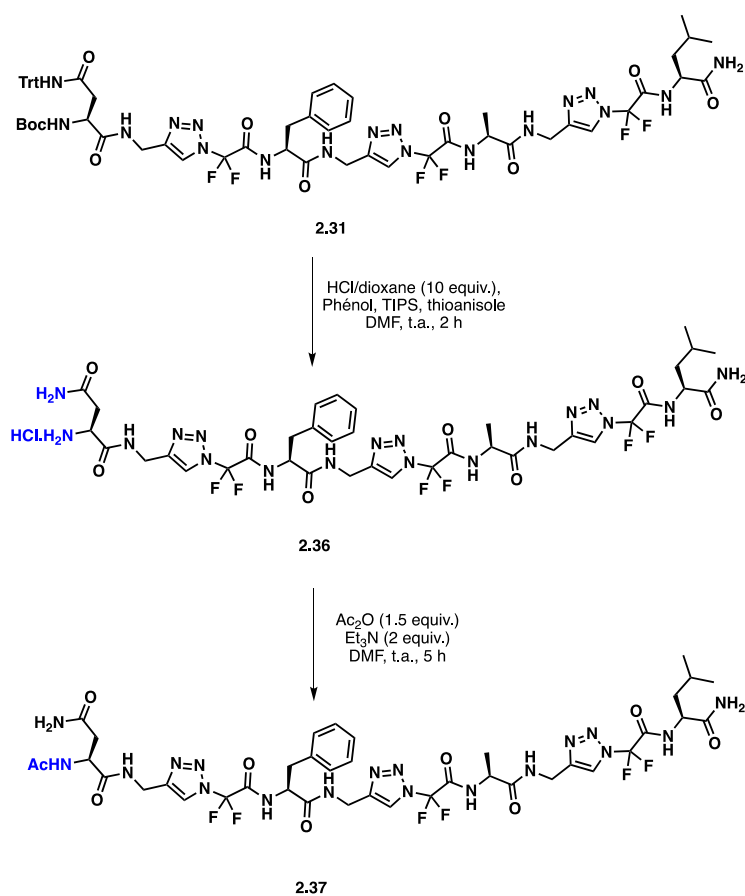


Schéma II-14 : Déprotection de **2.28/2.29**, acétylation de **2.33**

L'analyse conformationnelle et les évaluations biophysiques des composés **2.33/2.35** seront discutés dans les parties IV. 4. et V. (p.101-109).

### IV. 3. a. vii) Déprotection et acétylation de **2.31**

Pour la déprotection des groupements protecteurs du composé **2.31**, nous souhaitons déprotéger de manière concomitante le groupement *tert*-butyle et le groupement trityle en milieu acide. Nous avons utilisé les conditions décrites précédemment à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique dans le dioxane, dans le DMF à température ambiante pendant 2 heures (Schéma II-15).



**Schéma II-15** : Déprotection et acétylation de **2.31**

Cependant, par chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse (LCMS) nous avons observé le pic de base correspondant à  $[M+243]^+$  avec le même temps de rétention que notre composé **2.31**. Ce pic est un adduit correspondant à l'addition du carbocation issu de la déprotection du groupement trityle. Ce phénomène est couramment rencontré avec ce type de groupement protecteur en synthèse sur support solide. Pour y remédier il est nécessaire d'utiliser un mélange de composés agissant comme piègeurs de carbocations (« scavengers »). Nous avons essayé l'étape de déprotection en utilisant une solution d'acide chlorhydrique dans le dioxane, en présence de grandes quantités (50 équivalents) de thioanisole, de phénol et de triisopropyle silane, dans le DMF à température ambiante pendant 2 heures. Nous avons également utilisé l'acide trifluoroacétique en présence de scavengers. Pour quelques essais, nous n'avons plus observé le pic  $[M+243]^+$ , cependant un pic  $[243]^+$  correspondant au carbocation trityle était toujours observable. Nous avons décidé de poursuivre par l'acétylation du composé **2.36** sans purification intermédiaire. L'acétylation a été réalisée à l'aide d'anhydride acétique et de triéthylamine dans le DMF, à température ambiante pendant 5 heures. À l'issue de l'acétylation, le composé **2.37** a été purifié sur colonne de silice.



Après purification, nous avons observé par RMN  $^1\text{H}$ , un nombre de protons aromatiques trop élevé (18H au lieu de 5H) et par LCMS nous avons de nouveau observé le pic  $[\text{M}+243]^+$  pour notre composé acétylé.

Au vu de ces résultats nous avons émis l'hypothèse que le carbocation du groupement trityle pouvait former un adduit covalent ou non covalent par des interactions  $\pi/\pi$  ou  $\pi/\text{cation}$  en présence des triazoles qui peuvent agir comme « cage » et piéger le carbocation. Les travaux concernant le clivage du groupement trityle sont toujours en cours de réalisation.

#### IV. 3. a. viii) Déprotection de **2.32**

Les groupements carbamate de *tert*-butyle ont été clivés à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique dans le dioxane, dans le dichlorométhane à température ambiante pendant trois heures. Le composé **2.38** a été obtenu avec un rendement de 98% (Schéma II-16).

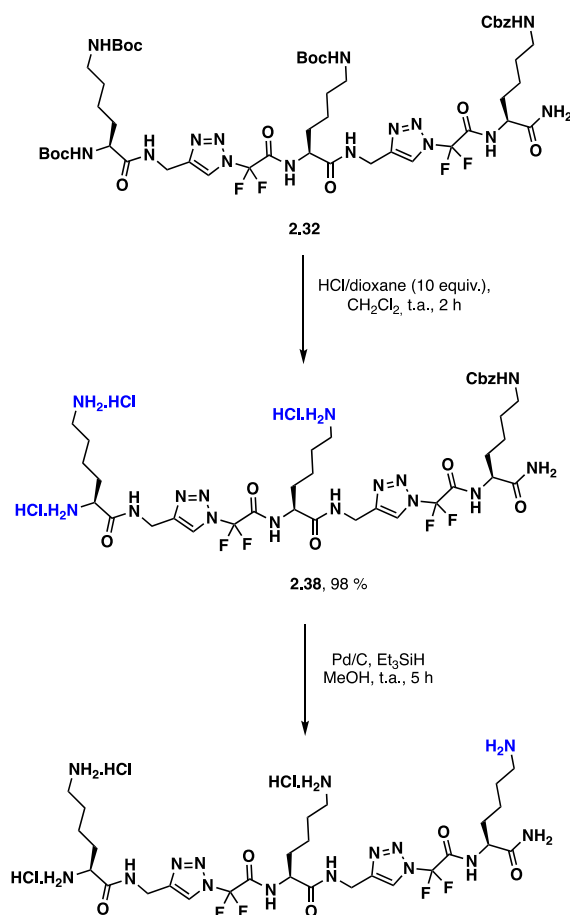
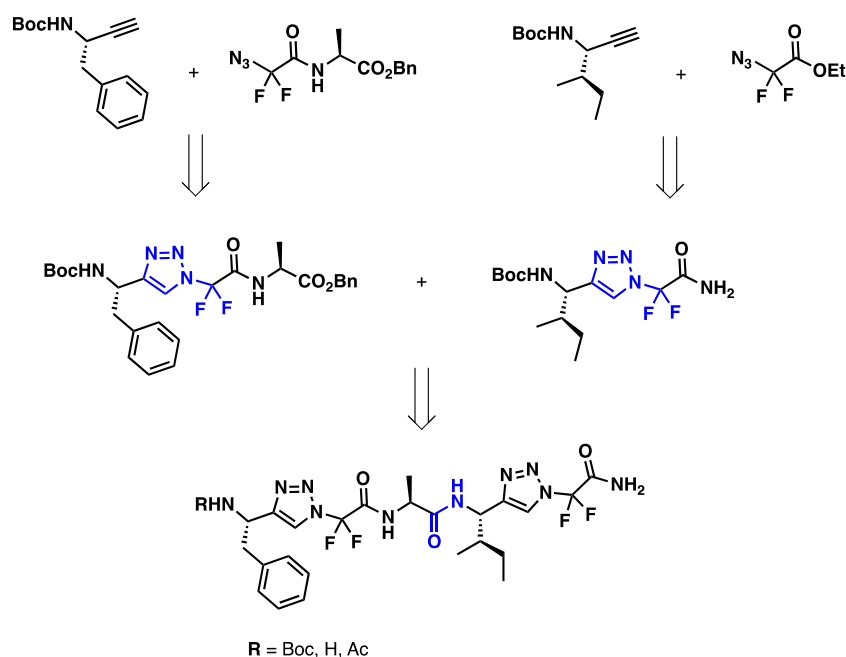


Schéma II-16 : déprotection de **2.32**

Nous avons ensuite tenté de cliver le groupement carboxybenzyle par hydrogénolyse à l'aide de triéthylsilane et de palladium sur charbon dans le méthanol. Après de nombreux essais (en utilisant un excès de Pd/C, en utilisant H<sub>2</sub> en présence de Pd/C, en présence ou non d'acide chlorhydrique supplémentaire, ou en tentant l'hydrogénolyse du groupement Cbz avant de cliver les groupements Boc) la réaction n'a jamais eu lieu, le produit de départ est toujours récupéré dans son intégralité. Nous avons émis l'hypothèse que les amines libres et les carbamates pouvaient chélater le palladium et par conséquent l'empoisonner empêchant toute réactivité. Par manque de temps, nous n'avons pas pour l'instant pu trouver de solution pour le clivage du groupement carboxybenzyle. Une nouvelle synthèse devra être envisagée pour remplacer le groupement Cbz de la chaîne latérale de la Lysine par un groupement Boc sur le synthon **B** 1,2,3-triazole N-difluorométhylé intermédiaire.

#### IV. 3. b. Synthèse des hétérotriazolamères de deuxième génération

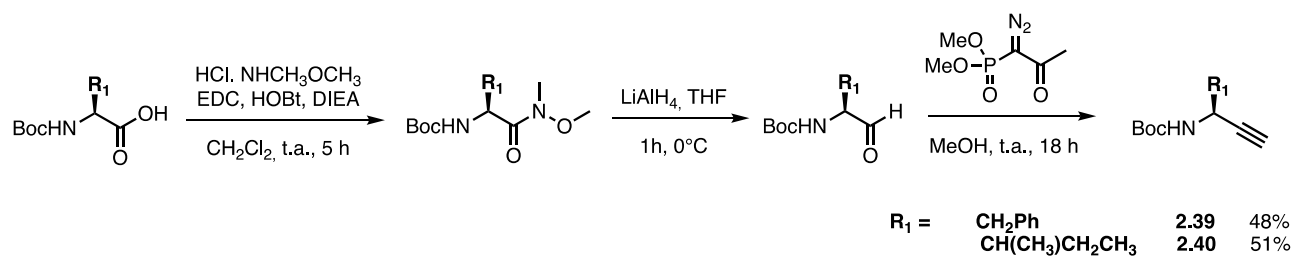
L'unique différence entre la synthèse des hétérotriazolamères de 1<sup>ère</sup> et de 2<sup>ème</sup> génération est la synthèse des alcynes. Dans la 1<sup>ère</sup> génération nous réalisons la synthèse de propargylamide à partir d'acides aminés et de la propargylamine (cf. Chapitre IIIV. 3. a. i) p.90) Ici nous voulons introduire une chaîne latérale d'acide aminé directement sur l'unité 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> (Schéma II-17).



**Schéma II-17** : Approche rétro-synthétique des hétérotriazolamères de 2<sup>ème</sup> génération

Pour réaliser la synthèse de ces alcynes nous avons suivi la méthodologie décrite par *Olsen et al* (Schéma II-18).<sup>4</sup> L'amide de Weinreb est obtenu par couplage entre l'acide aminé, la *N,O*-diméthylhydroxylamine, l'EDC, l'HOBt et la DIPEA dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 5 heures. L'amide de Weinreb obtenu est réduit sélectivement en aldéhyde à l'aide de  $\text{LiAlH}_4$  dans le THF à  $0^\circ\text{C}$  pendant 1 heure. Finalement, le réactif de Bestmann-Ohira, préalablement synthétisé à l'aide d'azoture de tosylo et de diméthyl 2-oxopropylphosphonate en présence de carbonate de potassium, est utilisé pour réaliser la synthèse de l'alcyne.<sup>4</sup>

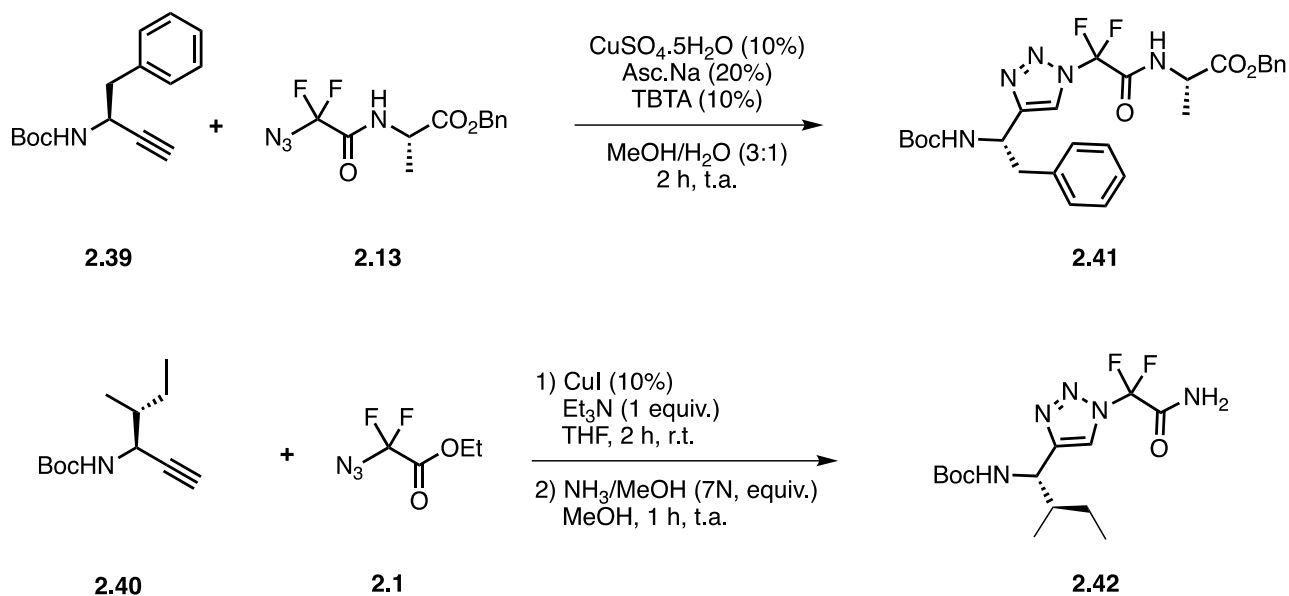
Il est important de noter que l'ensemble de cette suite synthétique ne nécessite qu'une étape de purification pour l'alcyne final. Les alcynes portant une chaîne latérale benzyle (**2.39**) et *isobutyle* (**2.40**) ont été obtenus avec des rendements satisfaisants de 48 et 51% respectivement.



**Schéma II-18** : Méthodologie de synthèse des alcynes portant une chaîne latérale

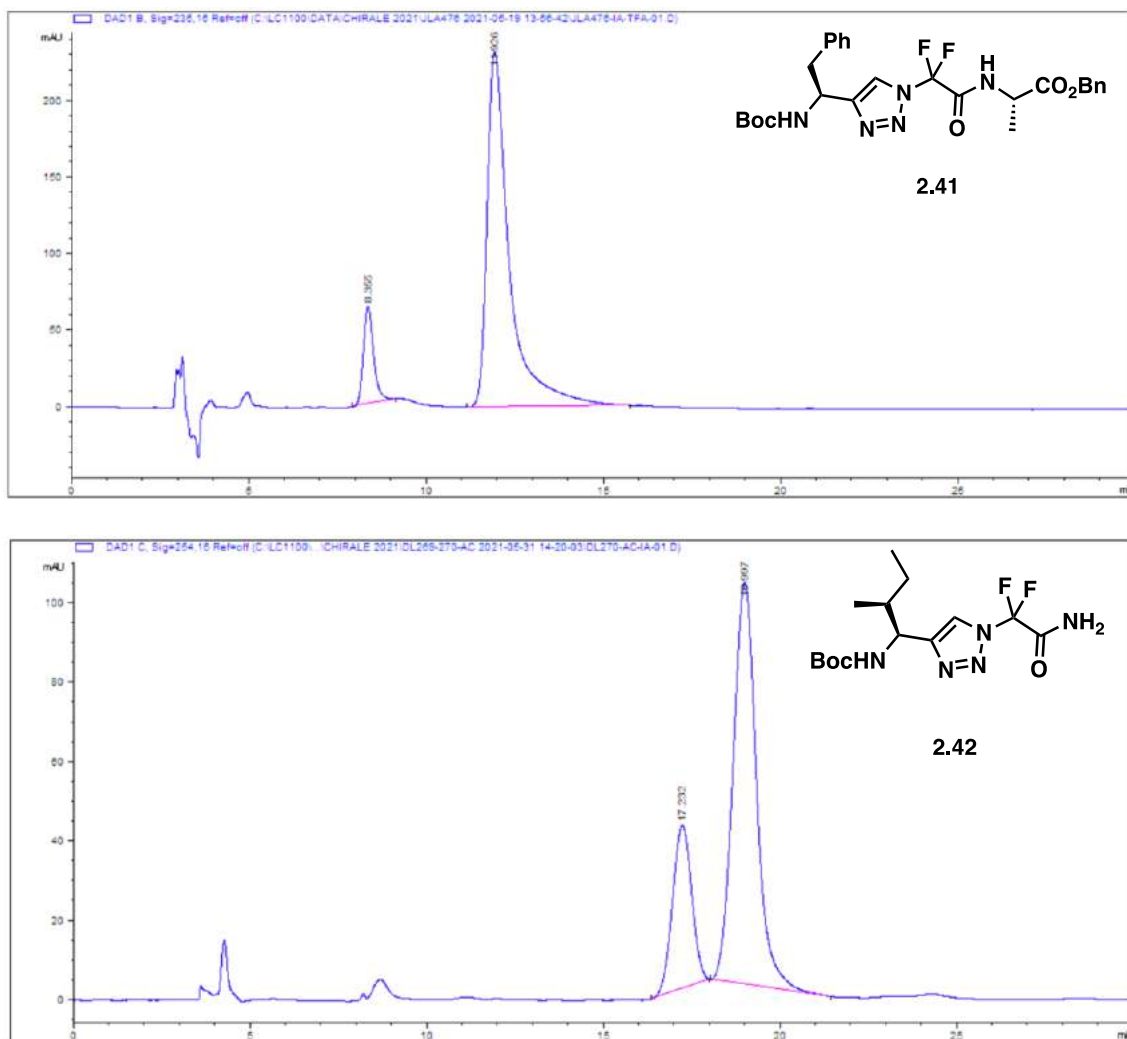
La suite de la synthèse est très similaire à celle présentée pour les triazolamères de 1<sup>ère</sup> génération. L'alcyne **2.39** et l'azoture difluorés **2.13** portant un résidu d'acide aminés ont été soumis aux conditions décrites précédemment à l'aide de sulfate de cuivre pentahydraté, d'ascorbate de sodium et de TBTA dans un mélange méthanol/eau (cf. Chapitre II, IV. 3. a. iii) p.92). Le composé **2.41** est obtenu avec un rendement de 81 % (Schéma II-19). Pour la réaction de cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre entre l'alcyne **2.40** et l'azoture difluoré **2.1** ne portant pas de chaînes latérales, nous avons utilisé d'autres conditions décrites plus tôt (cf. Chapitre II, III p.71). Ces conditions, à l'aide d'iodure de cuivre et de triéthylamine dans le THF, sont nécessaires à cause de la faible stabilité de l'ester éthylique de l'azoture fluoré en milieu aqueux. Le triazole *N*-difluorométhylé intermédiaire est directement soumis à des conditions d'amidification à l'aide d'ammoniac dans le méthanol pendant une heure à température ambiante. Le composé **2.42** est obtenu avec un rendement global de 73 % (Schéma II-19).

Ch-II : Les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, architecture pour construire des foldamères fluorés



**Schéma II-19** : Synthèse des synthons 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés portant des chaînes latérales.

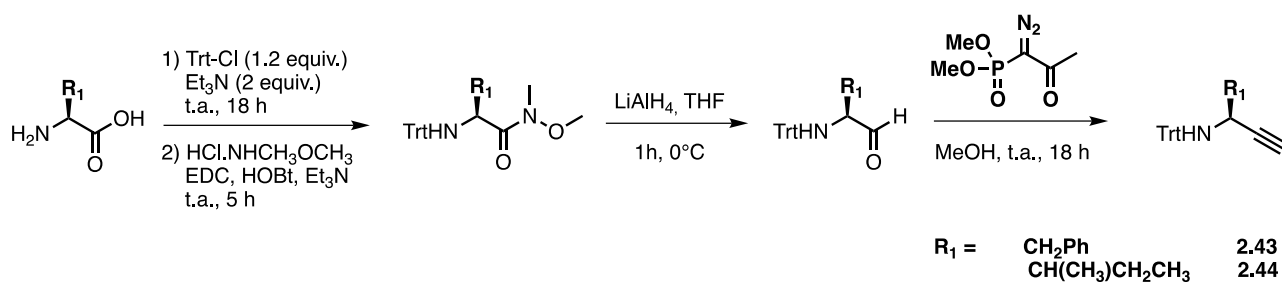
Cependant une fois la synthèse des 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés réalisée, nous avons observé un mélange de diastéréoisomères pour le composé **2.41** par RMN  $^{19}\text{F}$ . Nous avons également envisagé un mélange d'énantiomères pour le composé **2.42**. Les stéréoisomères ne sont pas séparables par HPLC mais nous avons pu quantifier la proportion des diastéréoisomères **2.41/2.42** en utilisant une colonne chirale (Figure II-17).



**Figure II-17 :** (haut) Chromatogramme HPLC chirale composé **2.41**; (bas) Chromatogramme HPLC chirale composé **2.42**.

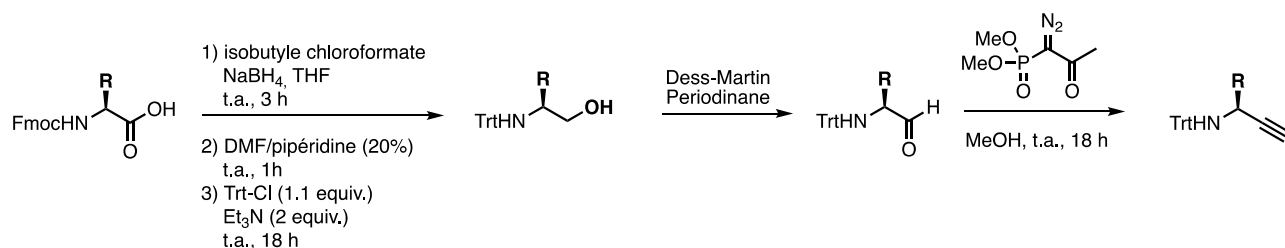
Après analyse, nous pouvons identifier que nous avons un mélange de diastéréoisomères pour le composé **2.41** dans un ratio 89/11, et 75/25 pour le mélange deuxième mélange de diastéréoisomères du composé **2.42**. L'obtention de ces stéréoisomères est due au fait que l'on obtient un mélange d'énantiomères des composés **2.39/2.40**. En effet la présence du groupement carbamate de *tert*-butyle comme groupement protecteur rend le proton du carbone asymétrique de l'alcyne ou de l'aldéhyde labile et qui peut donc s'épimériser en milieu basique. Cette observation a été observée précédemment par le Dr. N. Tonali.<sup>17</sup>

Pour éviter l'épimérisation, il faut utiliser un trityl comme groupement protecteur ce qui évite de rendre le proton labile et donc de s'épimériser (Schéma II-20).



**Schéma II-20** : Méthodologie de synthèse des alcynes pour éviter l'épimérisation

Par manque de temps, les composés **2.43** et **2.44** n'ont pas encore été totalement synthétisés. Ces travaux sont encore en cours de réalisation. Cependant, un autre doctorant du laboratoire Davide Di Lorenzo a réalisé des travaux basés sur la synthèse de ces alcynes et a réussi à les obtenir, sans épimérisation, à l'aide de la méthodologie suivante basée sur la réduction de l'anhydride mixte en alcool, l'échange de la fonction carbamate par un trityle, suivie de l'oxydation en aldéhyde et addition du réactif de Bestmann-Ohira (Schéma II-21).



**Schéma II-21** : Méthodologie de synthèse des alcynes utilisée par Davide Di Lorenzo

#### IV. 4. Analyse conformationnelle des hétérotriazolamères

##### IV. 4. a. *Par résonance magnétique nucléaire*

Les études conformationnelles de nos oligomères **2.33/35** ont été réalisées par RMN dans le  $\text{CD}_3\text{OH}$ , un solvant polaire évitant les problèmes de solubilité dans l'eau. Les déplacements chimiques en  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  à 300K sont donnés dans le Tableau II-4.

Dans le composé **2.35**, les valeurs des constantes de couplage  $^3J_{\text{NH-H}\alpha}$  sont de 7.9 Hz pour la phénylalanine et de 8.0 Hz pour la leucine (Tableau II-4) ce qui correspond à un angle dièdre autour de  $120^\circ\text{C}$  majoritairement associé à des segments de peptides de conformation étendue comme envisagé pour les 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés. La constante de couplage  $^3J_{\text{NH-H}\alpha}$  pour l'alanine a été plus difficile à calculer de manière fiable mais semble inférieur à 7 Hz.

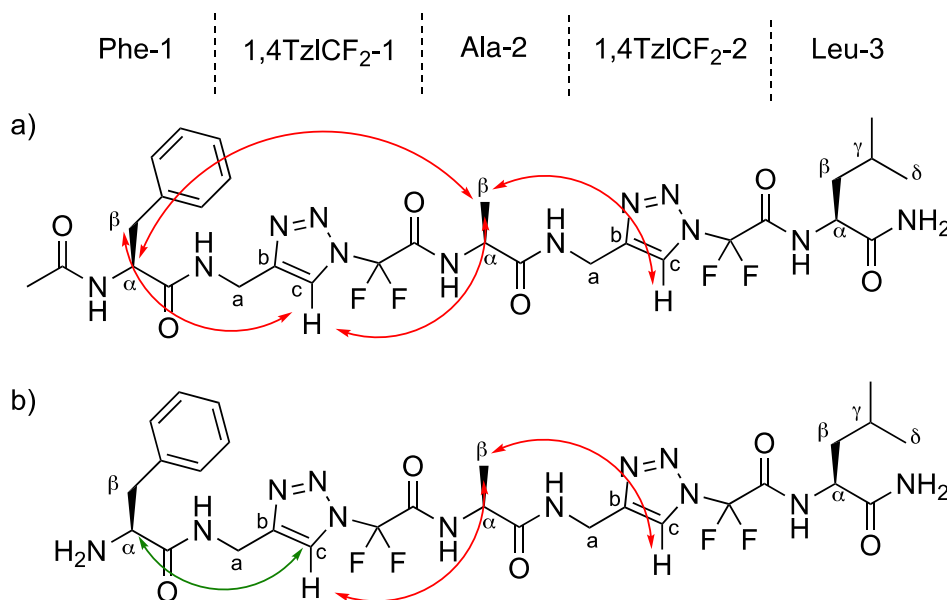
Les coefficients de température ont été calculés pour identifier les propensions conformationnelles du squelette des foldamères. Les petits coefficients de température négatifs ( $> -4,5 \text{ ppb.K}^{-1}$ ) correspondent à des protons amides impliqués dans des liaisons hydrogène (intra- ou intermoléculaires), tandis que les valeurs négatives plus élevées ( $< -6 \text{ ppb.K}^{-1}$ ) indiquent des interactions avec les solvants.

Dans le composé **2.35**, les coefficients de température ont été calculés entre 283 et 313K (Tableau II-4). Ces valeurs se situent entre -8 et -9 pour les résidus d'acides aminés naturels et autour de -7 pour les amides des 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés, indiquant que les protons des liaisons amide ne sont pas engagés dans des liaisons hydrogènes stables (intra- ou intermoléculaires). Des valeurs similaires ont été obtenues pour le composé **2.33**.

Tableau II-4 : Déplacements chimiques en RMN $^1\text{H}$ et coefficients de température des NH pour le composé 2.35 dans $\text{CD}_3\text{OH}$ à 300 K					
Résidu	$\delta \text{ NH (ppm)}$	$\delta \text{ H}^\alpha \text{ (ppm)}$	$\delta \text{ H}^\beta \text{ (ppm)}$	$\delta \text{ autres protons (ppm)}$	$(\Delta\delta_{\text{NH}}/\Delta T, \text{ppb.K}^{-1})$ 283-313K
Acétyl	/	1.91	/	/	/
Phe-1	8.35 ( $^3J = 7.9 \text{ Hz}$ )	4.55	3.08 ( $^2J = 13.8 \text{ Hz}; ^3J = 8.2 \text{ Hz}$ ) 2.90 ( $^2J = 13.8 \text{ Hz}; ^3J = 8.2 \text{ Hz}$ )	$\text{H}_{\text{arom.}} 7.37-7.18$	-9
Ala-2	9.77	4.51	1.47 ( $^3J = 7.3 \text{ Hz}$ )	$\gamma_{\text{CH}_2} 1.73-1.66$ $\delta_{\text{CH}_3} 0.97/0.94$ ( $^3J = 6.4 \text{ Hz}$ )	-8
Leu-3	9.65 ( $^3J = 8.0 \text{ Hz}$ )	4.53	1.73-1.66	$\text{CONH}_2 7.75/7.22$	-8
1,4-TzCF <sub>2</sub> -1	8.66 ( $^3J = 5.9 \text{ Hz}$ )	4.46	/	$\text{H}_c: 8.16$	-7.7
1,4-TzCF <sub>2</sub> -2	8.72 ( $^3J = 5.8 \text{ Hz}$ )	4.58	/	$\text{H}_c: 8.41$	-6.7

Des corrélations longue distance de ROE  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  ont été observées, indiquant une conformation repliée pour les triazolamères **2.33** et **2.35**. En particulier, dans le cas de **2.35**, les corrélations sont visibles entre le  $\text{CH}_3$  du résidu Ala-2 et les  $\text{H}_c$  des deux triazoles (Figure II-18a). Des corrélations entre le  $\text{CH}_3$  de l'Ala-2 et le  $\text{H}_\alpha$  du résidu Phe-1 ainsi qu'entre le  $\text{H}_\beta$  de Phe-1 et le  $\text{H}_c$  du 1,4-TzCF<sub>2</sub>-1 ont également été observées. Le rapprochement entre les deux acides aminés de chaque côté de l'unité 1,4-TzCF<sub>2</sub> pourrait avoir lieu grâce à la flexibilité du carbone  $\text{C}_\alpha$  de cette architecture. En effet cette partie de l'échafaudage des 1,2,3-triazoles N-difluorométhylés portant les carbones  $\text{C}_\alpha/\text{C}_\beta$  a une plus grande flexibilité que la partie portant les deux atomes de fluor qui sont responsables de l'effet contraignant de l'unité grâce aux interactions H-F.

Ces corrélations n'ont pas toutes été observées dans le cas de **2.33** ou les corrélations visibles sont entre le  $\text{CH}_3$  de Ala-2 et le  $\text{H}_c$  des deux triazoles ainsi qu'entre le  $\text{H}_\alpha$  de Phe-1 et le  $\text{H}_c$  de l'unité 1,4-TzCF<sub>2</sub>-1 (Figure II-18b). Le rapprochement entre Phe-1 et Ala-2 n'est pas observé dans le composé **2.33**.



**Figure II-18** : Corrélations longue distance  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  a) composé **2.35** ; b) composé **2.33**

Dans les spectres 2D  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$  HOESY de **2.33** et **2.35** seules les corrélations à courte distance impliquant dans chaque unité 1,4-TzCF<sub>2</sub> les deux atomes de fluor avec les protons du triazole ( $\text{H}_c$ ) et le NH de l'unité successive sont visibles.



Ce résultat suggère que les deux atomes de fluor de chaque unité 1,4-TzCF<sub>2</sub> maintiennent la contrainte étendue à leur extrémité C-terminale mais ne sont pas impliqués dans le repliement global des foldamères.

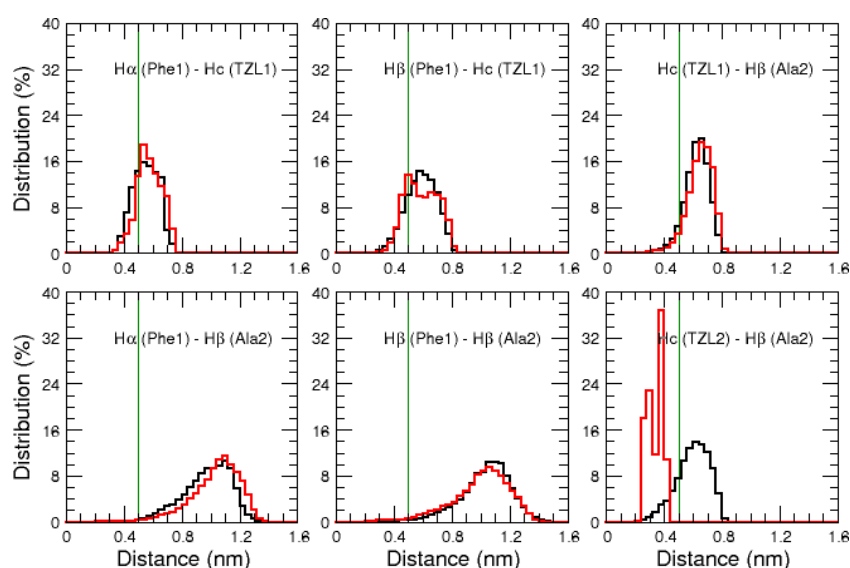
#### IV. 4. b. Par dynamique moléculaire

Pour mieux comprendre leurs structures préférentielles, les composés **2.33** et **2.35** ont chacun été soumis à une simulation de dynamique moléculaire (MD) de 500 ns dans le méthanol. Les constantes de couplage  $^3J_{\text{NH-H}\alpha}$  théoriques (calculées sur l'ensemble des trajectoires) sont assez proches des mesures expérimentales (Tableau II-5), indiquant que les ensembles conformationnels générés par les simulations MD sont cohérents avec ceux révélés par RMN.

<b>Tableau II-5 : Comparaison des constantes de couplage <math>^3J_{\text{NH-H}\alpha}</math> (Hz) dans les composés 2.33/2.35 mesurées par RMN ou par dynamique moléculaire (MD) dans le méthanol à 300K</b>				
Résidus	Composé <b>2.33</b>		Composé <b>2.35</b>	
	RMN	DM	RMN	DM
Phe 1	-	-	7.4	7.6 ± 1.6
1,4-TzCF <sub>2</sub> -1	6.3	4.9 ± 2.6	5.9	4.4 ± 2.6
Ala 2	6.8	7.5 ± 1.7	7.3	7.5 ± 1.7
1,4-TzCF <sub>2</sub> -2	5.6	4.8 ± 2.7	5.8	4.9 ± 2.7
Leu 3	8.8	8.0 ± 1.5	8.0	8.0 ± 1.4

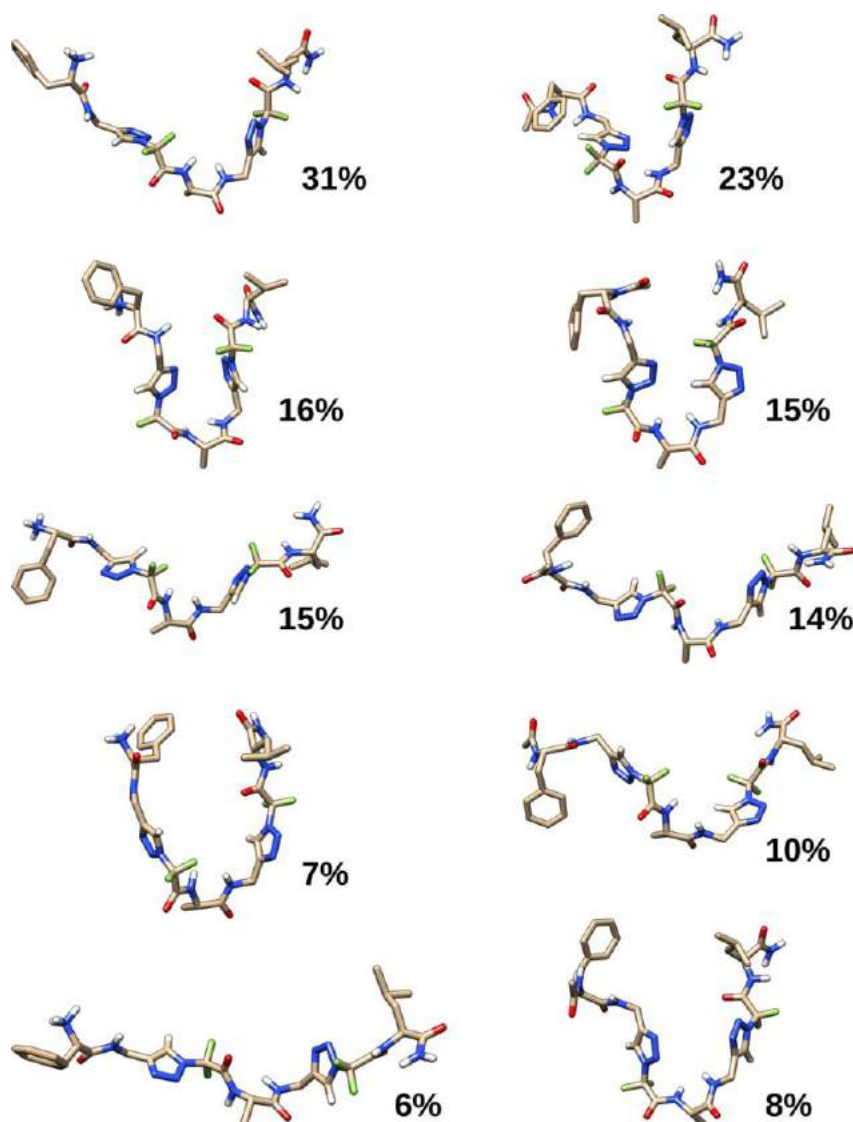
En ce qui concerne les distances entre protons au sein des deux molécules, les observations RMN sont partiellement retrouvées dans les simulations par dynamique moléculaire. Comme le montre la Figure II-19, les distances entre les protons H<sub>α</sub> ou H<sub>β</sub> de Phe-1 et H<sub>c</sub> de 1,4-TzCF<sub>2</sub>-1, ainsi que les distances entre les protons H<sub>β</sub> de Ala-2 et H<sub>c</sub> des deux molécules voisines 1,4-TzCF<sub>2</sub>-1 et 1,4-TzCF<sub>2</sub>-2, ont atteint des valeurs inférieures à 0.5 nm dans un nombre significatif de conformations, ce qui est cohérent avec les NOEs longue distance détectés.

Néanmoins, contrairement aux expériences RMN du composé **2.35**, mais de manière cohérente avec celles du composé **2.33**, nous n'avons pas observé de proximité étroite entre Phe-1 H $\alpha$  (ou H $\beta$ ) et Ala-2 H $\beta$  dans les simulations MD, ce qui indique que le segment Phe-1-[1,4-TzCF $_2$ -1]-Ala-2 est plus étendu dans la simulation du composé **2.35** que dans les données expérimentales. Une conformation étendue similaire de la seconde moitié du segment Ala-2-[1,4-TzCF $_2$ -2]-Leu-3 dans les deux composés est soutenue par la non-détection de NOEs à longue distance entre les protons Ala-2 et Leu-3.



**Figure II-19** : Distribution des distances entre protons calculées à partir des trajectoires de MD du composé **2.33** (lignes noires) et du composé **2.35** (lignes rouges). Les lignes verticales vertes indiquent la distance en dessous de laquelle le NOE peut être détecté.

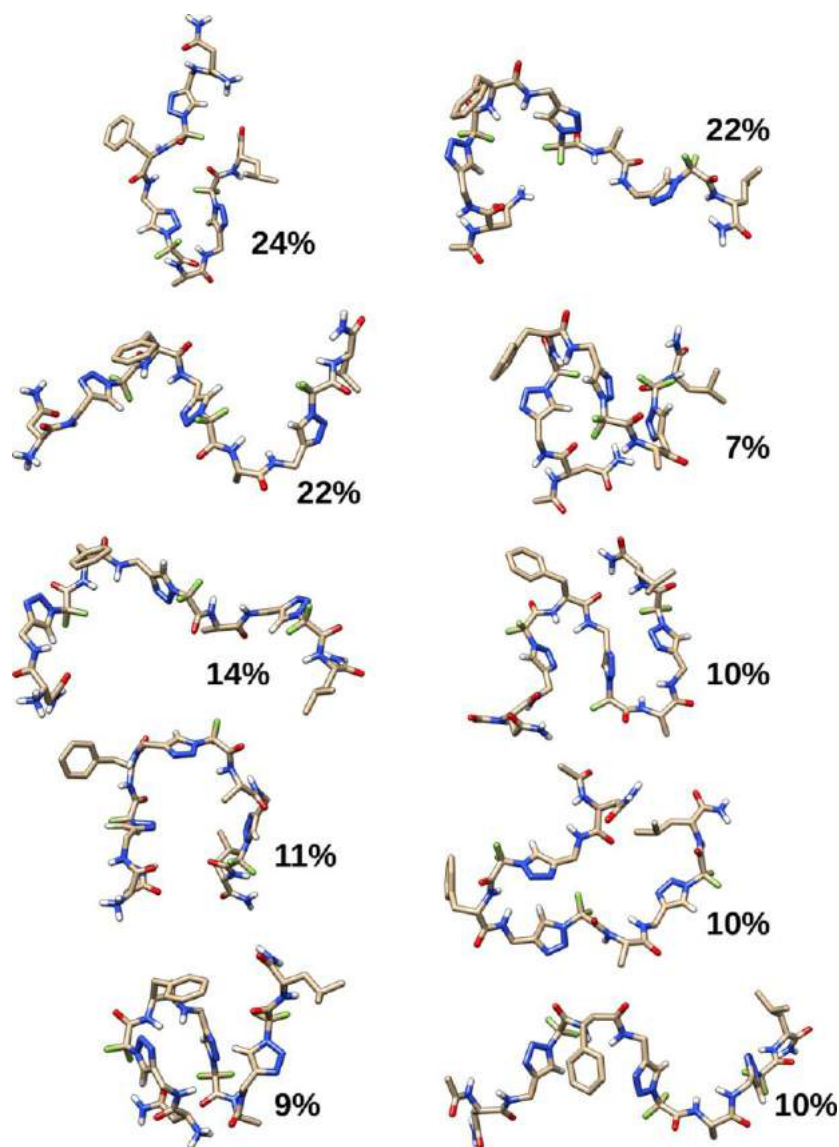
Dans l'ensemble, les simulations MD des composés **2.33** et **2.35** ont généré des ensembles conformationnels dans lesquels les deux segments étendus plutôt rigides Phe-1-[1,4-TzCF $_2$ -1]-Ala-2 et Ala-2-[1,4-TzCF $_2$ -2]-Leu-3 peuvent tourner autour du résidu Ala-2 qui agit comme une charnière, conduisant à des structures repliées en épingle à cheveux ou linéaires étendues (Figure II-20).



**Figure II-20** : Structures représentatives des cinq clusters les plus peuplés des composés **2.33** (colonne de gauche) et **2.35** (colonne de droite). Le seuil RMSD pour le clustering est de 0.3 nm.

Puisque les simulations MD des molécules **2.33** et **2.35** ont pu générer des ensembles conformationnels en accord avec les expériences RMN, nous avons utilisé la même méthode pour proposer des modèles structurels des composés **2.36** et **2.37** qui ont un fragment Asn-1,4-TzCF<sub>2</sub> supplémentaire (précédant le fragment Phe-1,4-TzCF<sub>2</sub> des molécules **2.33** et **2.35**) et pour lesquels les données expérimentales n'ont pas été obtenues pour le moment. Les visualisations des trajectoires MD montrent que les molécules **2.36** et **2.37** sont très flexibles et adoptent différentes conformations dont les plus représentatives sont présentées dans la Figure II-21. Comme pour les composés **2.33** et **2.35**, nous avons remarqué que les 3 fragments Asn-1,4-TzCF<sub>2</sub>, Phe-1,4-TzCF<sub>2</sub>, et Ala-1,4-TzCF<sub>2</sub> sont plutôt rigides, mais peuvent tourner autour des 2 résidus Phe et Ala qui agissent comme des charnières.

Ainsi, nous avons pu observer des conformations étendues transitoires en zig-zag pliées à ces deux positions, des structures en épingle à cheveux, et des conformations compactes qui se replient parfois en structures en échelle similaires à de courts feuilletts  $\beta$  multibrins (Figure II-21).



**Figure II-21** : Structures représentatives des cinq clusters les plus peuplés des composés **2.36** (colonne de gauche) et **2.37** (colonne de droite). Le seuil RMSD pour le clustering est de 0.4 nm.

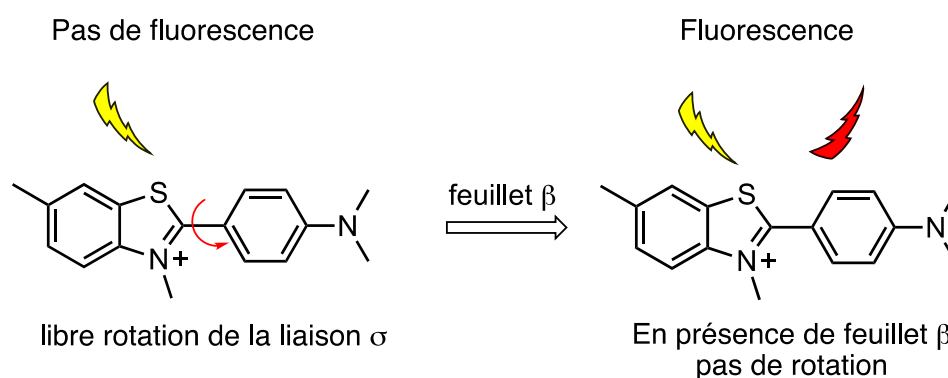
Pour évaluer l'effet sur le processus d'agrégation de hIAPP, nos hétérotriazolamères **2.3** et **2.5**, ont été évalués, par spectroscopie de fluorescence à la thioflavine-T. Les résultats de ces expériences préliminaires sont présentés dans la partie ci-dessous. Ces expériences ont été réalisées conjointement avec les homotriazolamères **2.6** et **2.9** afin d'évaluer l'influence de la structuration étendue de **2.6** et **2.9** ou plus repliée en épingles à cheveux de **2.33** et **2.35** sur la modulation de l'agrégation de hIAPP. Ces résultats seront également comparés à l'activité de et l'hétérotriazolamères **2.34** (basé sur la séquence d'une autre protéine amyloïde  $A\beta_{1-42}$ ) afin d'évaluer la sélectivité des homo et hétérotriazolamères.

## V. Évaluations biophysiques préliminaires des triazolamères par spectrométrie à la thioflavine-T

### V. 1. Évaluation des homotriazolamères

#### V. 1. a. *Évaluation des homotriazolamères avec hIAPP*

Comme évoqué précédemment (cf. Chapitre I, II. 2. b. i) p.26), on peut suivre la cinétique d'agrégation de hIAPP par spectrométrie de fluorescence à la thioflavine-T, cette cinétique se décompose en 3 phases observables. La thioflavine-T est un bicyclic composé d'un noyau aniline et d'un cycle benzothiazole. Ces deux cycles sont liés par une liaison  $\sigma$  (C-C) permettant la libre rotation. En présence de population de feuillet  $\beta$ , la libre rotation de cette liaison est bloquée et les deux fragments sont contraints à être dans le même plan conduisant à une émission de fluorescence (Figure II-22).

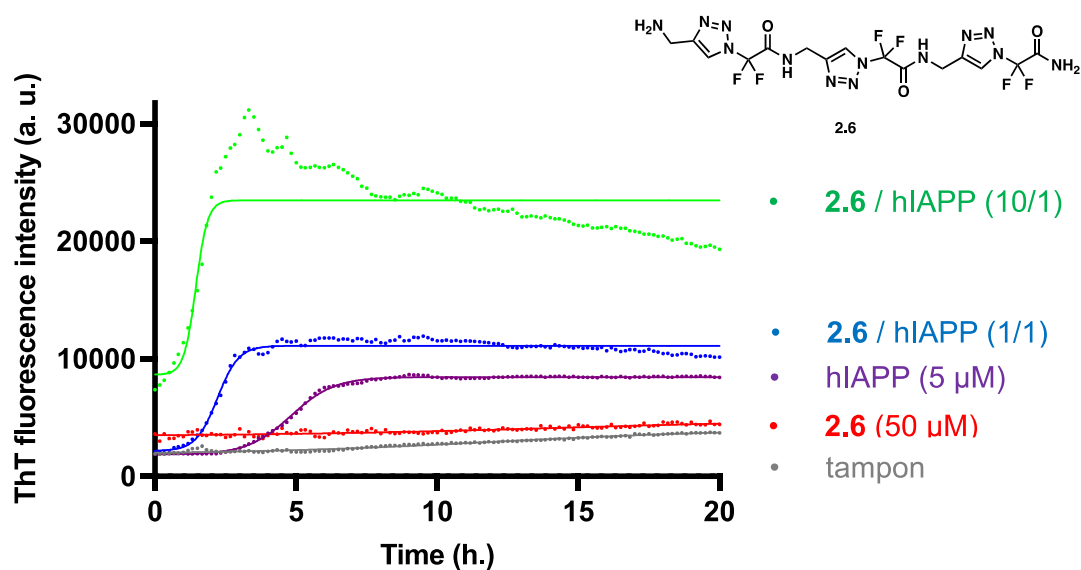


**Figure II-22** : Mécanisme de fluorescence de la thioflavine-T

Cette méthodologie nous permet de suivre l'évolution de l'agrégation du peptide hIAPP. Les courbes tracées dans les figures ci-dessous représentent l'intensité de fluorescence de la thioflavine-T en fonction du temps pour différentes conditions simultanément. Les différentes conditions sont les suivantes : le tampon et le composé (50  $\mu$ M) sont évalués pour démontrer qu'il n'y a pas de phénomène d'auto-agrégation et que toutes les observations sont dues aux interactions entre le composé (2.6/2.9) et hIAPP.

De plus, le peptide hIAPP est systématiquement évalué, à une concentration de 5  $\mu\text{M}$  pour hIAPP (10  $\mu\text{M}$  pour  $\text{A}\beta_{1-42}$ ), pour avoir une valeur de référence pour la cinétique d'agrégation du peptide.

Finalement, le mélange de notre composé avec le peptide hIAPP est évalué à plusieurs ratio 10/1, 1/1 et parfois 0.1/1. Les résultats des expériences de fluorescence par thioflavine-T pour nos homotriazolamères **2.6** et **2.9** en présence de hIAPP sont donnés dans les figures II-23 et 24.



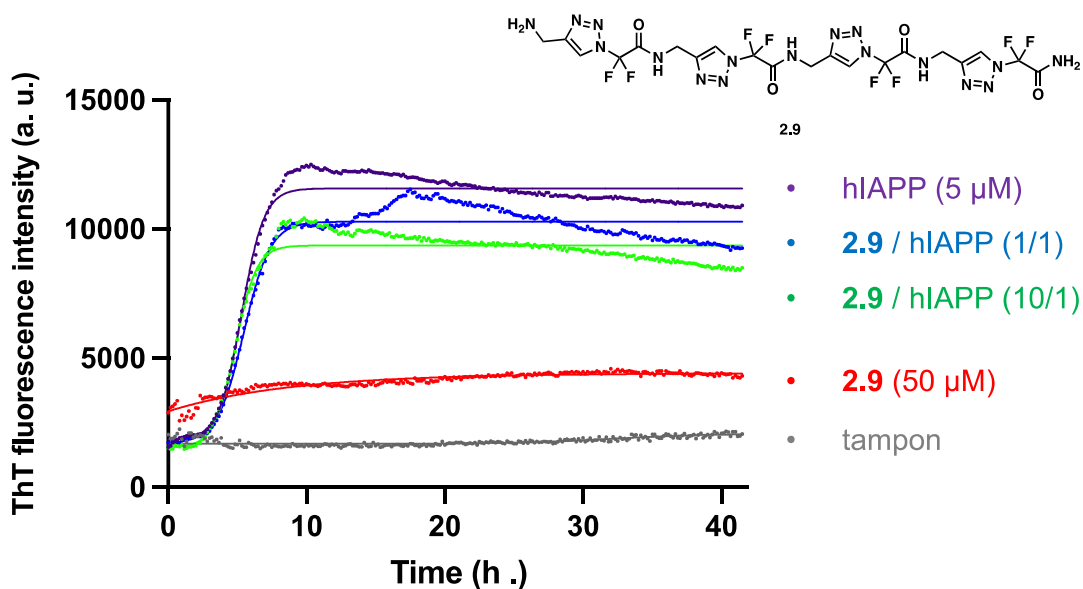
**Figure II-23** : Représentation des courbes moyennes des essais de fluorescence thioflavine-T en fonction du temps montrant l'agrégation de l'hIAPP (5  $\mu\text{M}$ ) en présence du composé **2.6** (courbe moyenne du triplicat).

Les courbes d'agrégation de hIAPP sont des sigmoïdes dans lesquelles on peut identifier trois phases : la « lag phase », la phase d'élongation puis enfin la phase de plateau. On peut observer pour les courbes d'agrégation de hIAPP en présence du composé **2.6** dans un ratio 10/1 que la « lag phase » est beaucoup plus courte. On peut également noter que lors de la phase d'élongation, la pente de la courbe **2.6**/hIAPP (10/1) est plus élevée que pour les autres courbes ce qui traduit une accélération de cette phase d'élongation (Figure II-23). Le plateau de fluorescence pour la courbe **2.6**/hIAPP (10/1) est atteint plus tôt, environ trois heures contre plus de cinq heures pour le ratio 1/1 et hIAPP seul. Cette observation s'explique par le fait que la « lag phase » est plus courte et la phase d'élongation plus rapide.

De plus, à ce ratio, l'intensité du plateau de fluorescence est deux fois plus élevée (environ 22000 a. u.) que les autres courbes (environ 10000 a. u.), il y a une augmentation de la fluorescence donc de l'agrégation (Figure II-23). Par l'interprétation de nos courbes de fluorescence en fonction du temps, nous pouvons conclure que notre composé **2.6** est capable dans un ratio 10/1 d'accélérer mais également d'augmenter l'agrégation de hIAPP.

Ces observations ne sont pas retrouvées dans le ratio 1/1, les modifications observées dans ces conditions ne sont pas significatives. Nous avons également montré que le composé **2.6** à une concentration 50  $\mu\text{M}$  ne s'auto-agrège pas, du moins dans des états capables de fixer la thioflavine-T (ce qui a pu être observé précédemment sur certains composés)<sup>18</sup>.

La même expérience a été réalisée pour le composé **2.9** à deux ratios différents 10/1, 1/1 (Figure II-24). Cependant, aucun n'impact sur la cinétique d'agrégation de hIAPP n'a été observé. La durée de la « lag phase » est identique, la pente et l'intensité du plateau sont similaires pour toutes les courbes. Notre composé **2.9** n'a démontré aucun effet sur le processus d'agrégation de hIAPP. En revanche, une légère auto-agrégation est observée pour **2.9** à 50  $\mu\text{M}$  (courbe rouge sur la Figure II-24).



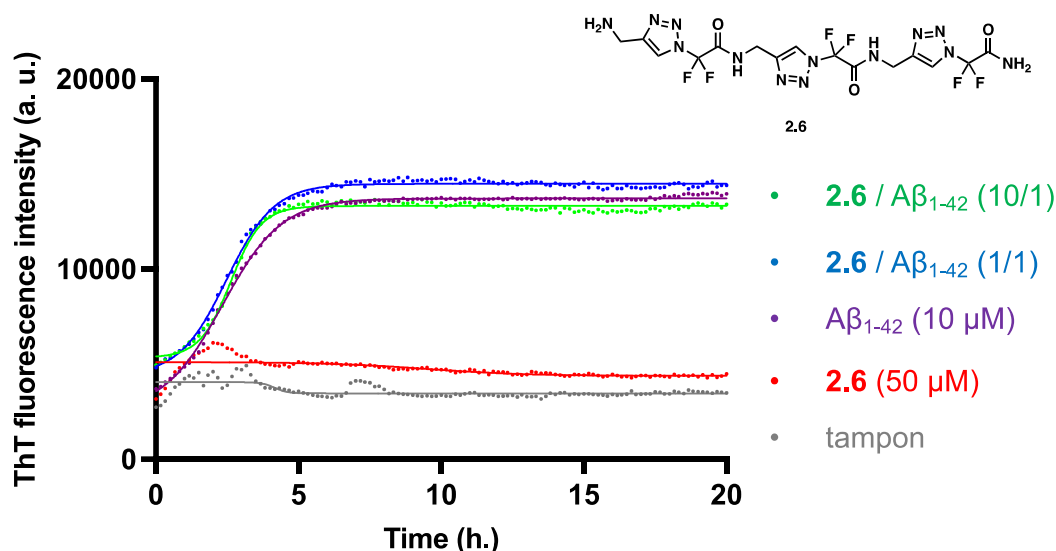
**Figure II-24 :** Représentation des courbes moyennes des essais de fluorescence thioflavine-T en fonction du temps montrant l'agrégation de l'hIAPP (5  $\mu\text{M}$ ) en présence du composé **2.9** (courbe moyenne du triplicat).



V. 1. b. *Évaluation des homotriazolamères avec A $\beta$ <sub>1-42</sub>*

Nous avons réalisé la même expérience pour notre composé **2.6** mais en présence du peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub> (Figure II-25). On peut remarquer que notre composé **2.6** ne modifie ni la durée de la « lag phase », ni la vitesse de la phase d'élongation ainsi que l'intensité du plateau de fluorescence pour tous les ratios en présence de A $\beta$ <sub>1-42</sub>.

On peut en conclure que le composé **2.6** n'a aucun effet sur l'agrégation de A $\beta$ <sub>1-42</sub>. Toutefois, cette expérience nous permet de dire que l'effet du composé **2.6** à un ratio 10/1 peut être considéré comme sélectif vis-à-vis de hIAPP (Figure II-25/26).



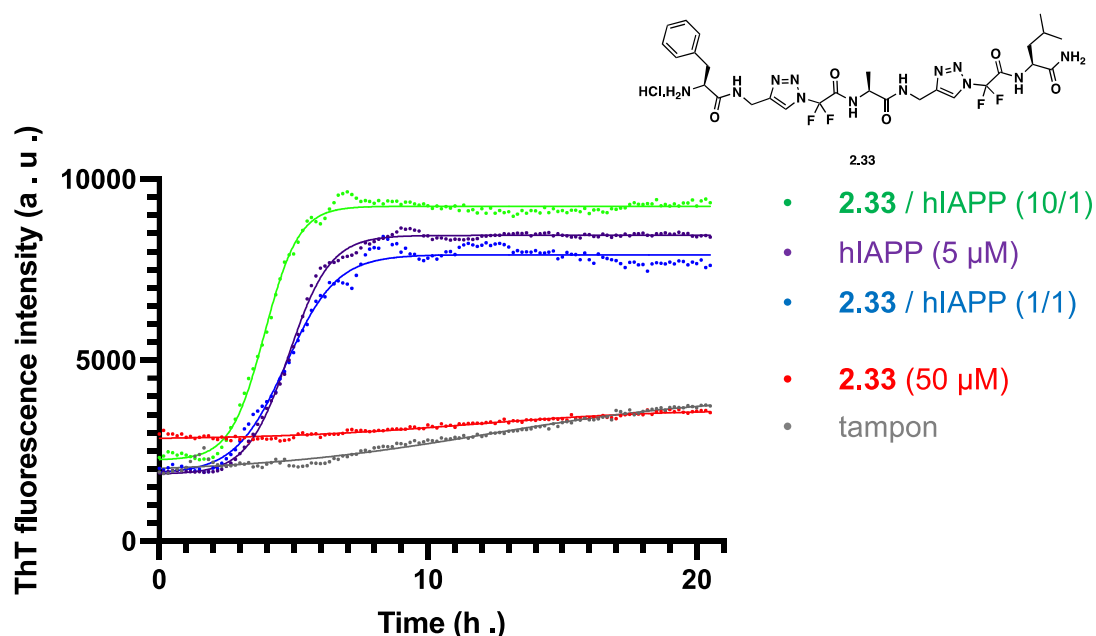
**Figure II-25** : Représentation des courbes moyennes des essais de fluorescence thioflavine-T en fonction du temps montrant l'agrégation de A $\beta$ <sub>1-42</sub> (10  $\mu$ M) en présence du composé **2.6** (courbe moyenne du triplicat).

V. 2. Évaluations des hétérotriazolamères

Les évaluations préliminaires par spectroscopie à la thioflavine-T ont été réalisées sur nos hétérotriazolamères. Les hétérotriazolamères **2.33** et **2.35** basés sur la séquence de reconnaissance de hIAPP ont été évalués en présence de hIAPP (Figure II-26/27) tandis que l'hétérotriazolamère **2.34** basé sur la séquence de A $\beta$ <sub>1-42</sub> a été évalué en présence de A $\beta$ <sub>1-42</sub> (Figure II-28).

V. 2. a. *Évaluation des hétérotriazolamères avec hIAPP*

Les résultats pour le composé **2.28** sont similaires à ceux du composé **2.33** et ne sont pas présentés. Les résultats pour le composé **2.33** sont présentés ci-dessous (Figure II-26). La cinétique d'agrégation de hIAPP n'est pas modifiée de manière significative à aucun des ratios (10/1 et 1/1). Il n'y a pas d'allongement de la durée de la « lag phase ». La pente des courbes n'est pas modifiée et l'intensité des plateaux de fluorescence non plus. Au vu de ces résultats, nous pouvons conclure que le composé **2.33** n'a aucun effet sur l'agrégation de hIAPP.

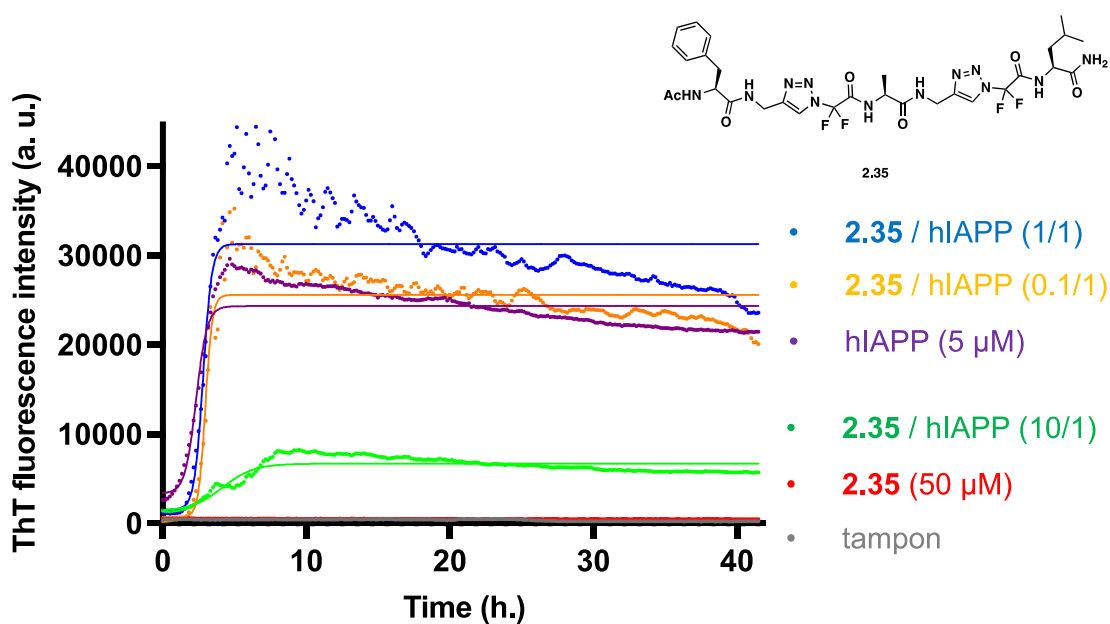


**Figure II-26** : Représentation des courbes moyennes des essais de fluorescence thioflavine-T en fonction du temps montrant l'agrégation de hIAPP (5 μM) en présence du composé **2.33** (courbe moyenne du triplicat).

Les résultats pour le composé **2.35** sont présentés ci-dessous (Figure II-27). On peut observer que la cinétique d'agrégation de hIAPP avec le composé **2.35** est significativement modifiée au ratio de 10/1 (**2.35**/hIAPP). En revanche, l'effet peut être considéré comme négligeable aux autres ratios 1/1 et 0.1/1. Concernant le ratio 10/1, on peut remarquer un allongement de la durée de la « lag phase ».

La pente de la courbe est bien plus faible à ce ratio pour la phase d'élongation traduisant une élongation plus lente. Le plateau est atteint plus tardivement, au-delà de cinq heures contre moins de trois heures aux autres ratios et pour hIAPP seul. De plus, l'intensité de plateau de fluorescence est diminuée, inférieure à 10000 a. u. contre supérieure à 20000 a. u. pour les autres ratios.

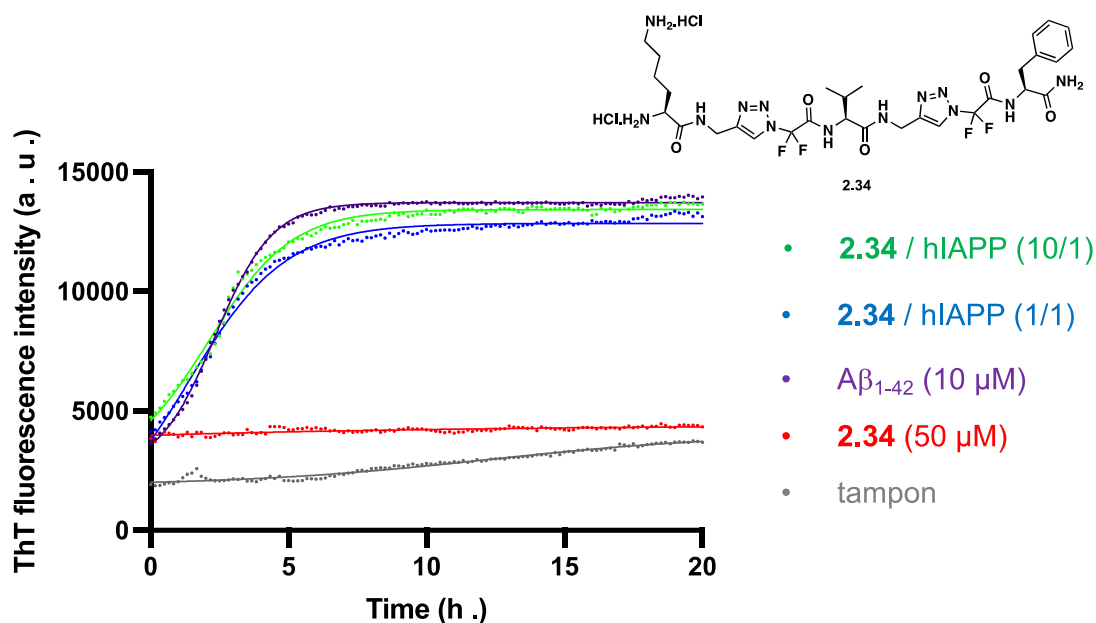
On peut en conclure que notre composé **2.35** en présence de hIAPP à un ratio 10/1 est capable de ralentir significativement la cinétique d'agrégation mais également de la diminuer la quantité ou la morphologie des fibres. Ceci devra être confirmé par TEM (microscopie à transmission électronique) qui nous permettra de visualiser la morphologie et la densité des agrégats de hIAPP formés en absence ou en présence de **2.35**.



**Figure II-27** : Représentation des courbes moyennes des essais de fluorescence thioflavine-T en fonction du temps montrant l'agrégation de hIAPP (5 µM) en présence du composé **2.35** (courbe moyenne du triplicat).

### V. 2. b. Évaluation des hétérotriazolamères avec A $\beta$ <sub>1-42</sub>

Comme évoqué plus tôt l'hétérotriazolamère mime de la séquence de A $\beta$ <sub>1-42</sub> a été évalué avec l'extrémité N-terminale laissée libre en raison de nos résultats précédents démontrant l'importance de l'amine libre pour l'activité anti-agrégante sur A $\beta$ <sub>1-42</sub>.<sup>12</sup> L'évaluation par spectrométrie de fluorescence à la thioflavine-T du composé **2.34** en présence de A $\beta$ <sub>1-42</sub> à des ratios de 10/1 et 1/1 est présentée ci-dessous (Figure II-28).



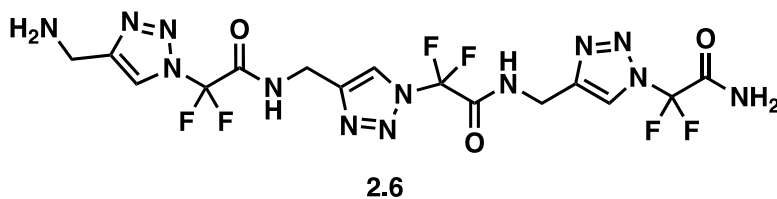
**Figure II-28** : Représentation des courbes moyennes des essais de fluorescence thioflavine-T en fonction du temps montrant l'agrégation de Aβ<sub>1-42</sub> (10 μM) en présence du composé **2.34** (courbe moyenne du triplicat).

Les courbes du composé **2.34** en présence de Aβ<sub>1-42</sub> aux ratios 10/1 et 1/1 sont identiques à la courbe de Aβ<sub>1-42</sub> seul. Le composé **2.34** n'a donc aucun effet sur le processus d'agrégation de Aβ<sub>1-42</sub>. Les premiers résultats obtenus lors de ces évaluations préliminaires de nos homo- et hétérotriazolamères nous ont permis d'identifier certains composés pouvant interagir et moduler l'agrégation de hIAPP. Notamment le composé **2.6** capable d'accélérer et d'augmenter l'agrégation de hIAPP et le composé **2.35** capable de ralentir et diminuer celle-ci. Ces évaluations par spectrométrie à la thioflavine-T devront être reproduites pour ces composés afin de confirmer leurs effets. Par ailleurs, l'activité de **2.35** sur Aβ<sub>1-42</sub> reste à évaluer afin de confirmer sa sélectivité sur hIAPP. Si ces observations sont confirmées, des expériences de TEM seront effectuées pour analyser la morphologie des agrégats en fin de cinétiques. Des expériences d'électrophorèse capillaire (EC) et d'IMS-MS de ces composés en présence de hIAPP pourront ensuite être réalisées afin d'évaluer les activités de **2.6** et **2.35** sur l'oligomérisation précoce. L'EC nous donnera essentiellement l'information sur la capacité de **2.35** à stabiliser le monomère de hIAPP alors que **2.6** pourrait former de nouveaux oligomères.<sup>18-21</sup> L'IMS-MS nous donnera plusieurs informations : l'effet de **2.6** et **2.35** sur la formation des petits oligomères (dimères et pentamères), sur la conformation de hIAPP monomère et sur les complexes composé/monomère de hIAPP et composé/petits oligomères.<sup>18-21</sup>

## VI. Conclusion et perspectives

Dans ce chapitre, nous avons utilisé l'architecture 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé pour concevoir des foldamères fluorés étendus afin de moduler l'agrégation de protéines amyloïdes impliquant des feuillets  $\beta$ .

Dans un premier temps nous avons réalisé la synthèse d'homotriazolamères, comme preuve de concept, pour évaluer les conformations obtenues par l'auto-assemblage de nos unités triazoles. Les homotriazolamères ont été obtenus avec des rendements satisfaisants. À l'issue des études conformationnelles, par RMN et par dynamique moléculaire, nous avons pu conclure que nos homotriazolamères adoptent préférentiellement une conformation majoritairement étendue. Des évaluations biophysiques préliminaires, par spectrométrie à la thioflavine-T, ont été réalisées sur nos homotriazolamères. Un de nos composés est capable d'accélérer et d'augmenter l'agrégation de hIAPP (Figure II-26). Ceci ne semble pas à première vue très intéressant, néanmoins des analyses complémentaires méritent d'être menées pour évaluer l'effet sur l'oligomérisation précoce. Il est en effet largement rapporté que les espèces de hIAPP les plus toxiques sont oligomériques (cf Chapitre I, II. 2. b. ii) p.25). Ainsi diminuer la présence de ces oligomères intermédiaires et accélérer l'agrégation vers des espèces plus grosse mais plus inertes ou amorphes mérite d'être exploré. À notre connaissance, aucun composé n'a été rapporté dans la littérature comme accélérant l'agrégation de hIAPP contrairement à  $A\beta_{1-42}$ .<sup>22</sup>

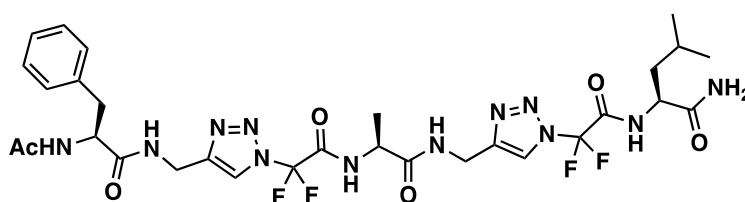


**Figure II-26** : Homotriazolamère **2.6** capable d'accélérer et d'augmenter l'agrégation de hIAPP

Dans un second temps, des hétérotriazolamères de 1<sup>ère</sup> génération, intercalant les unités 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés et les acides aminés de la séquence de reconnaissance de hIAPP en partie responsable de l'agrégation, ont été synthétisés.

Les études conformationnelles des hétérotriazolamères de 1<sup>ère</sup> génération ont mis en évidence une tendance à adopter une conformation de type épingle  $\beta$  composé de deux bras avec une unité 1,2,3-triazole N-difluorométhylé, localement étendue, et un coude au niveau de l'acide aminé entre les deux unités triazoles.

Les évaluations biophysiques préliminaires, par spectrométrie à la thioflavine-T, ont mis en évidence la capacité d'un de nos composés à ralentir et diminuer le processus d'agrégation de hIAPP (Figure II-25).



2.35

**Figure II-27** : Hétérotriazolamère **2.35** capable de ralentir et diminuer l'agrégation de hIAPP

De plus, l'interaction entre nos homo- et hétérotriazolamères avec hIAPP a été mise en évidence par RMN grâce à une collaboration avec le Prof. A. Ramamoorthy de l'Université du Michigan. Ces résultats sont présentés dans le *draft* de l'article ci-après.

Une 2<sup>nd</sup> génération d'hétérotriazolamère a été conçue incorporant une chaîne latérale d'acide aminé directement sur l'extrémité N-terminale de l'unité 1,2,3-triazole N-difluorométhylé.

Les perspectives pour ces travaux de recherche sont d'une part terminer l'extension des hétérotriazolamères de 1<sup>ère</sup> génération, d'autre part réaliser la synthèse et les études conformationnelles des hétérotriazolamères de 2<sup>ème</sup> génération. Finalement, les évaluations biophysiques par spectrométrie de fluorescence à la thioflavine-T devront être approfondies et étendues à tous les foldamères. Nous devons ensuite réaliser sur les foldamères les plus prometteurs des analyses par TEM, électrophorèse capillaire et IMS-MS

## VII. Références

- (1) Lermontov, S. A.; Shkavrov, S. V.; Pushin, A. N. The Reaction of  $\alpha,\alpha$ -Difluoroazides with Acetylenic Compounds. *J. Fluor. Chem.* **2000**, *105* (1), 141–147. [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(00\)00303-1](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(00)00303-1).
- (2) Fischer, C.; Munoz, B.; Zultanski, S.; Methot, J.; Zhou, H.; Brown, W. C. Triazole Derivatives for Treating Alzheimer's Disease and Related Conditions. WO2008156580A1, December 24, 2008.
- (3) Dai, J.; Li, Z.; Wang, T.; Bai, W.; Bai, R. A Diheteroatom Fluoroalkylation Reagent for Preparation of S- and N-Containing Fluoroalkyl Compounds and Sulfonic Acid Polymer. *Org. Lett.* **2017**, *19* (6), 1418–1421. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b00347>.
- (4) Engel-Andreasen, J.; Wellhöfer, I.; Wich, K.; Olsen, C. A. Backbone-Fluorinated 1,2,3-Triazole-Containing Dipeptide Surrogates. *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (21), 11613–11619. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b01744>.
- (5) Mamone, M.; Gonçalves, R. S. B.; Blanchard, F.; Bernadat, G.; Ongeri, S.; Milcent, T.; Crousse, B. N-Difluoromethyl-Triazole as a Constrained Scaffold in Peptidomimetics. *Chem. Commun.* **2017**, *53* (36), 5024–5027. <https://doi.org/10.1039/C7CC01298E>.
- (6) W. M. Koppes, et al. 1994, 2-Azido-2,2-Difluoroethanol (US patent No. 5,276,171).
- (7) Lovell, S. C.; Davis, I. W.; Arendall, W. B.; Bakker, P. I. W. de; Word, J. M.; Prisant, M. G.; Richardson, J. S.; Richardson, D. C. Structure validation by  $C\alpha$  geometry:  $\phi,\psi$  and  $C\beta$  deviation. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **2003**, *50* (3), 437–450. <https://doi.org/10.1002/prot.10286>.
- (8) Laxio Arenas, J.; Xu, Y.; Milcent, T.; Heijenoort, C. V.; Giraud, F.; Ha-Duong, T.; Crousse, B.; Ongeri, S. Fluorinated Triazole Foldamers: Folded or Extended Conformational Preferences. *ChemPlusChem* **2021**, *86* (2), 241–251. <https://doi.org/10.1002/cplu.202000791>.
- (9) Kajava, A. V.; Aebi, U.; Steven, A. C. The Parallel Superpleated Beta-Structure as a Model for Amyloid Fibrils of Human Amylin. *J. Mol. Biol.* **2005**, *348* (2), 247–252. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.02.029>.
- (10) Röder, C.; Kupreichyk, T.; Gremer, L.; Schäfer, L. U.; Pothula, K. R.; Ravelli, R. B. G.; Willbold, D.; Hoyer, W.; Schröder, G. F. Cryo-EM Structure of Islet Amyloid Polypeptide Fibrils Reveals Similarities with Amyloid- $\beta$  Fibrils. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2020**, *27* (7), 660–667. <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0442-4>.

- (11) Mirecka, E. A.; Feuerstein, S.; Gremer, L.; Schröder, G. F.; Stoldt, M.; Willbold, D.; Hoyer, W.  $\beta$ -Hairpin of Islet Amyloid Polypeptide Bound to an Aggregation Inhibitor. *Sci. Rep.* **2016**, *6* (1). <https://doi.org/10.1038/srep33474>.
- (12) Pellegrino, S.; Tonali, N.; Erba, E.; Kaffy, J.; Taverna, M.; Contini, A.; Taylor, M.; Allsop, D.; Gelmi, M. L.; Ongeri, S.  $\beta$ -Hairpin Mimics Containing a Piperidine–Pyrrolidine Scaffold Modulate the  $\beta$ -Amyloid Aggregation Process Preserving the Monomer Species. *Chem. Sci.* **2017**, *8* (2), 1295–1302. <https://doi.org/10.1039/C6SC03176E>.
- (13) Hema, K.; Sureshan, K. M.  $\beta$ -Sheet to Helical-Sheet Evolution Induced by Topochemical Polymerization: Cross- $\alpha$ -Amyloid-like Packing in a Pseudoprotein with Gly-Phe-Gly Repeats. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59* (23), 8854–8859. <https://doi.org/10.1002/anie.201914975>.
- (14) Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Polytriazoles as Copper(I)-Stabilizing Ligands in Catalysis. *Org. Lett.* **2004**, *6* (17), 2853–2855. <https://doi.org/10.1021/ol0493094>.
- (15) Wang, Q.; Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Finn, M. G. Bioconjugation by Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne [3 + 2] Cycloaddition. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (11), 3192–3193. <https://doi.org/10.1021/ja021381e>.
- (16) Mandal, P. K.; McMurray, J. S. Pd-C-Induced Catalytic Transfer Hydrogenation with Triethylsilane. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (17), 6599–6601. <https://doi.org/10.1021/jo0706123>.
- (17) Tonali, N.; Hericks, L.; Schröder, D. C.; Kracker, O.; Krzemieniecki, R.; Kaffy, J.; Joncour, V. L.; Laakkonen, P.; Marion, A.; Ongeri, S.; Doderio, V. I.; Sewald, N. Peptidotriazolamers Inhibit A $\beta$ (1–42) Oligomerization and Cross a Blood-Brain-Barrier Model. *ChemPlusChem* **2021**, *86* (6), 840–851. <https://doi.org/10.1002/cplu.202000814>.
- (18) Lesma, J.; Bizet, F.; Berardet, C.; Tonali, N.; Pellegrino, S.; Taverna, M.; Khemtémourian, L.; Soulier, J.-L.; van Heijenoort, C.; Halgand, F.; Ha-Duong, T.; Kaffy, J.; Ongeri, S.  $\beta$ -Hairpin Peptide Mimics Decrease Human Islet Amyloid Polypeptide (HIAPP) Aggregation. *Front. Cell Dev. Biol.* **2021**, *9*, 2531. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.729001>.
- (19) Berardet, C.; Kaffy, J.; Ongeri, S.; Taverna, M. A Capillary Zone Electrophoresis Method to Investigate the Oligomerization of the Human Islet Amyloid Polypeptide Involved in Type 2 Diabetes. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1578*, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.10.006>.
- (20) Berardet, C.; Kaffy, J.; Halgand, F.; Van der Rest, G.; Ongeri, S.; Taverna, M. Evidence for Different in Vitro Oligomerization Behaviors of Synthetic HIAPP Obtained from Different Sources. *Anal. Bioanal. Chem.* **2020**, *412* (13), 3103–3111. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02560-5>.



- (21) Kaffy, J.; Berardet, C.; Mathieu, L.; Legrand, B.; Taverna, M.; Halgand, F.; Rest, G. V. D.; Maillard, L. T.; Ongerì, S. Helical  $\gamma$ -Peptide Foldamers as Dual Inhibitors of Amyloid- $\beta$  Peptide and Islet Amyloid Polypeptide Oligomerization and Fibrillization. *Chem. – Eur. J.* **2020**, *26* (64), 14612–14622. <https://doi.org/10.1002/chem.202001716>.
- (22) Bieschke, J.; Herbst, M.; Wiglenda, T.; Friedrich, R. P.; Boeddrich, A.; Schiele, F.; Kleckers, D.; Lopez del Amo, J. M.; Grüning, B. A.; Wang, Q.; Schmidt, M. R.; Lurz, R.; Anwyl, R.; Schnoegl, S.; Fändrich, M.; Frank, R. F.; Reif, B.; Günther, S.; Walsh, D. M.; Wanker, E. E. Small-Molecule Conversion of Toxic Oligomers to Nontoxic  $\beta$ -Sheet-Rich Amyloid Fibrils. *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *8* (1), 93–101. <https://doi.org/10.1038/nchembio.719>.

## **Chapitre III : 5-fluoro-1,2,3-triazole, nouveau synthon pour concevoir des foldamères fluorés.**

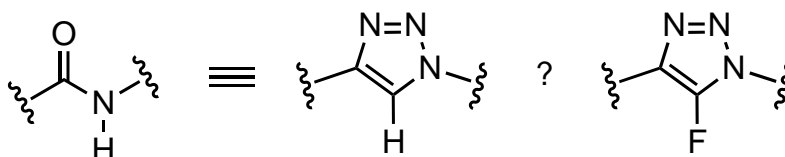
Après avoir conçu, synthétisé et évalué des foldamères fluorés basés sur les triazoles *N*-difluorométhylés, nous étions à la recherche d'une architecture nous permettant de développer de nouveaux foldamères fluorés. Nos regards se sont arrêtés sur les halogénotriazoles. Cette classe de composés a été très largement décrite aussi bien pour leurs synthèses que pour leurs applications dans le cas des chloro, iodo et bromo triazoles. En revanche et étonnamment, les fluoro-triazoles n'ont été à ce jour que très peu décrits dans la littérature. Cette observation nous a conduit à réaliser un état de l'art exhaustif concernant la synthèse et les applications des 4- et 5-halo-1,2,3-triazoles afin de mettre en évidence le manque de connaissances et d'informations des 4- et 5-fluoro-1,2,3-triazoles. Cet état de l'art a été publié sous forme de revue insérée ci-dessous.<sup>1</sup>

### **I. Etat de l'art des 4- et 5-halo-1,2,3-triazoles**

En résumé, nous avons vu que les alcynes fluorés sont très difficiles à synthétiser et sont très instables. De ce fait, il est impossible d'utiliser la méthodologie prépondérante pour la synthèse des 1,2,3-triazoles, c'est-à-dire la réaction de Huisgen ou la cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée au cuivre entre un azoture et un alcyne fluoré, que nous avons utilisée pour concevoir nos précédents foldamères fluorés (cf. Chapitre II). À ce jour, la synthèse des 5-fluorotriazoles n'a été décrite que par deux groupes. Fokin<sup>2</sup> est le premier à avoir décrit la réaction d'échange d'halogène (Halex) entre le 5-iodotriazole et une source de fluorure. En présence de fluorure de potassium (KF) ou de bifluorure de potassium (KHF<sub>2</sub>) en dix minutes aux micro-ondes à 180 degrés, le fluorure est capable de substituer l'atome d'iode du 5-iodotriazole avec de bons rendements. Le principal avantage de cette méthodologie de synthèse est son temps de réaction très court permettant d'introduire un atome de <sup>18</sup>F pour réaliser de la tomographie par émission de positons. Ensuite, l'équipe de Chu<sup>3</sup> a également décrit une méthodologie de synthèse des 5-fluorotriazoles en partant des 5-iodotriazoles. Le fluorure d'argent est utilisé comme source de fluorure en présence d'un ligand, le tétraméthyléthylènediamine (TMEDA), pendant une nuit à 120 degrés dans le toluène. Ces conditions sont décrites comme plus douces et permettent d'étendre le nombre de substrats utilisés pour cette réaction. Cependant, un des points négatifs de cette méthodologie est qu'elle ne permet pas d'avoir accès à l'introduction de fluor 18. Concernant les mécanismes réactionnels, les auteurs ont émis deux hypothèses : un mécanisme de substitution par ouverture de cycle aromatique passant par un intermédiaire diazo/imidoyl ou un mécanisme de substitution nucléophile aromatique. Toutefois, aucun de ces mécanismes n'a été mis en évidence à ce jour. Une méthodologie de synthèse des triazoles fluorés par cycloaddition a récemment été décrite. Cependant elle permet uniquement l'obtention du 4-fluorotriazole.<sup>4</sup>

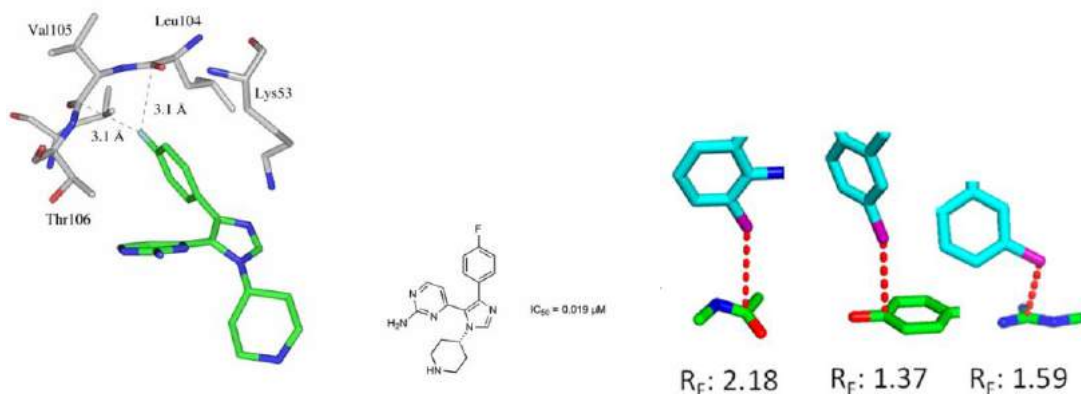
## II. Synthèse des 5-fluoro-1,2,3-triazoles

Nous avons vu précédemment que l'association triazoles et fluors apporte des propriétés et des conformations particulières très intéressantes. Face à ces résultats, nous nous sommes orientés vers un nouveau peptidomimétique fluoré, le 5-fluoro triazole (Figure III-1). Comme il a été reporté dans la revue, il existe très peu d'exemple de synthèse de 5-fluorotriazoles et aucun n'est incorporé dans une séquence peptidique. Nous nous sommes donc demandé quelles pourraient être les propriétés de ce motif au sein de peptides comparativement à une liaison amide et aux 5-H triazoles. La présence du fluor sur le triazole pourrait donner de nouvelles structures faisant intervenir des interactions intra ou intermoléculaire.



**Figure III-1** : Comparaison entre la liaison amide, le 5-H-triazole et le 5-F-triazole

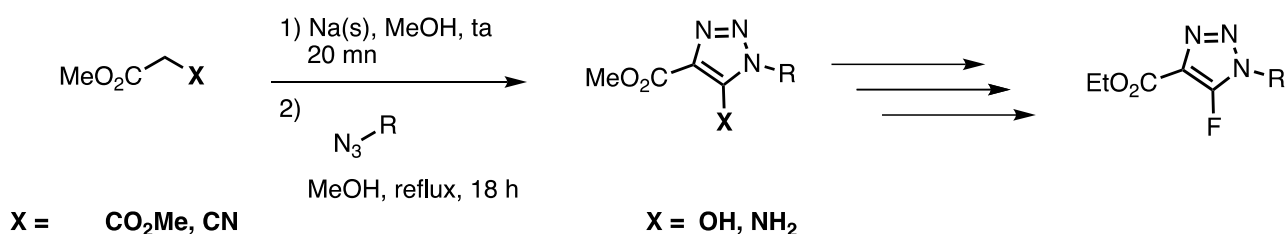
De plus, la présence du fluor sur le noyau aromatique triazole pourrait conduire à des interactions de type C-F...H-N, C-F...C=O, et C-F...H-C $\alpha$  observées dans le cas de dérivés fluorobenzènes (Figure III-2).<sup>5,6</sup>



**Figure III-2** : Exemples d'interactions dipolaires C-F...C=O/H-N/H-C $\alpha$ <sup>5,6</sup>

Ainsi, avant d'incorporer le 5-fluoro triazole dans un peptide, nous avons étudié d'autres voies de synthèse de ce motif. De plus, le peu d'informations connues sur le 5-fluorotriazole nous a motivé à nous attarder sur cette architecture. Nous avons tenté d'apporter plus de connaissances aussi bien en termes de propriétés structurales et électroniques qu'en termes de méthodologie de synthèse.

Pour concevoir une nouvelle voie d'accès vers les 5-fluoro-triazoles, nous avons d'abord envisagé la possibilité d'utiliser les 5-hydroxy-triazoles et les 5-amino-triazoles afin de substituer le groupement hydroxyle/amine par une source de fluorure. (Schéma III-1).<sup>7</sup>



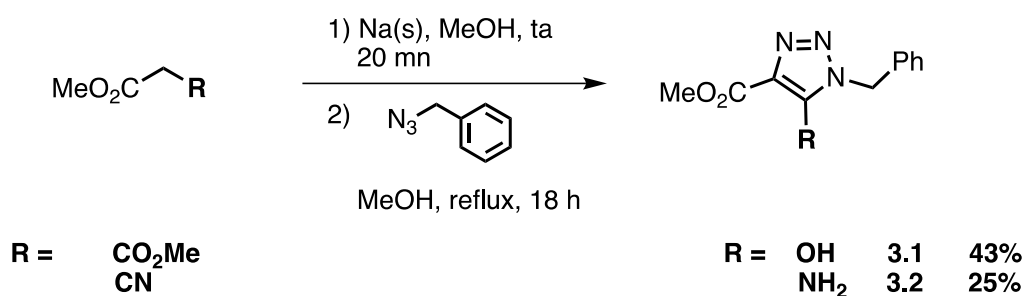
**Schéma III-1** : Accès aux 5-fluoro-1,2,3-triazoles à partir des 5-hydroxy/amino-1,2,3-triazoles

Les travaux concernant le développement de la synthèse des 5-fluoro-1,2,3-triazoles sont présentés ci-dessous

## II. 1. Fluoration aromatique

### II. 1. a. *Préparation des 5-hydroxy-1,2,3-triazoles et 5-amino-1,2,3-triazoles*

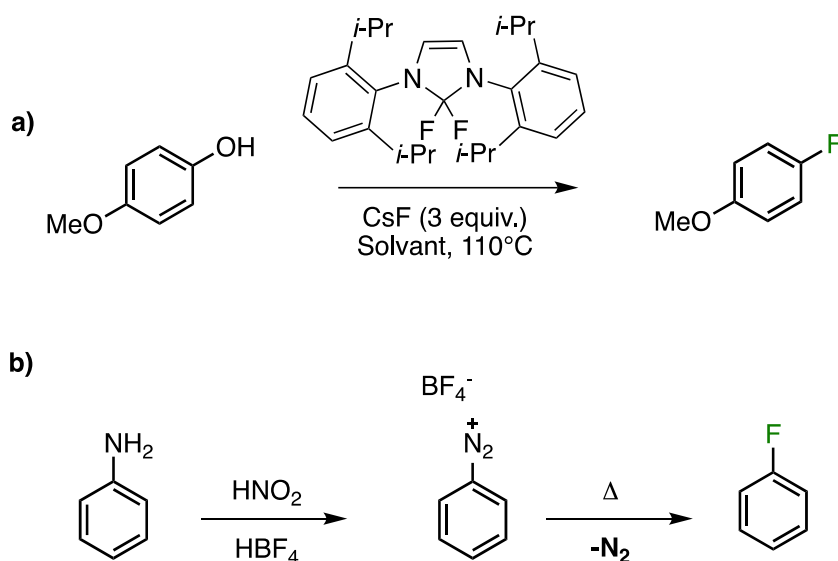
La première étape de ce chemin synthétique est la préparation des 5-hydroxy/5-amino-1,2,3-triazoles (**3.2/3.3**). Le diéthylmalonate est déprotoné à l'aide de sodium dans le méthanol à température ambiante. Après une vingtaine de minutes, une solution d'azoture de benzyle dans le méthanol est ajoutée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité 18 heures à reflux. Après acidification du mélange réactionnel, le 5-hydroxy-1,2,3-triazole **3.1** est obtenu avec un rendement de 43 % (Schéma III-2). De manière similaire, le 5-amino-1,2,3-triazole **3.2** est obtenu en partant du cyanoacétate d'éthyle avec un rendement très faible de 25 % (Schéma III-2).



**Schéma III-2 :** Préparation des 5-hydroxy/5-amino-1,2,3-triazoles **3.1/3.2**

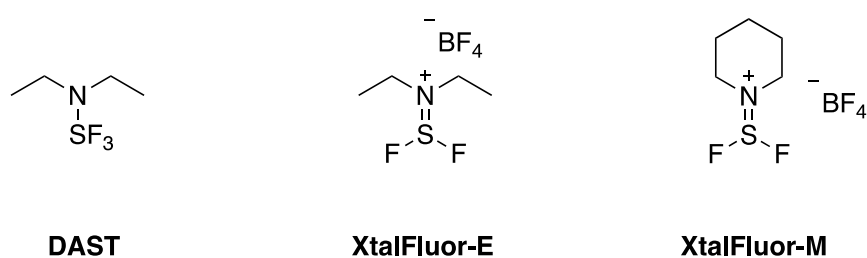
## II. 1. b. Essais de fluoration aromatique

La substitution d'alcool aromatique par déoxyfluoruration a été décrite par Ritter en 2011 (Schéma III-3a)).<sup>7</sup> Concernant les anilines, la réaction de Balz-Schiemann permet par diazotation-dédiazotation en présence d'une source de fluorure d'hydrogène d'introduire un atome de fluor (Schéma III-3b)).<sup>8</sup>



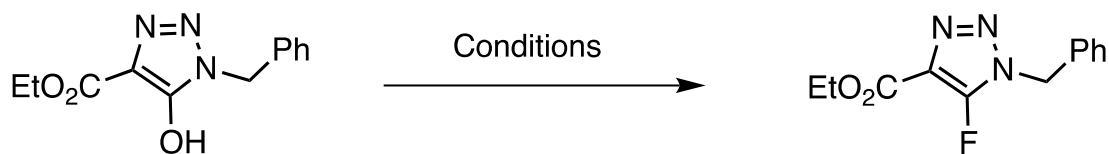
**Schéma III-3:** a) réaction de déoxyfluoruration b) réaction de Balz-Schiemann

Dans un premier temps, les essais de fluoration aromatique ont été effectués uniquement sur le 5-hydroxy-1,2,3-triazole **3.1**. Nous nous sommes orientés tout d'abord vers un agent de déoxyfluoruration, le DAST. Nous avons également utilisé le Xtalfluor-E et Xtalfluor-M dont la manipulation est plus simple et moins dangereuse (Figure III-3).



**Figure III-3** : Sources de fluorures utilisés

L'ensemble des essais réalisés est répertorié dans le Tableau III-1. Nous avons essayé différents temps de réaction (3 h à 18 h), différents solvants (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dioxane, toluène), différents additifs ou bases (Et<sub>3</sub>N.3HF, KF, NaF, DBU, CsF), différentes températures (-78°C à reflux) et également différentes quantités de source de fluorure. Mais malheureusement aucune de ces conditions n'a permis d'introduire un atome de fluor et de récupérer la plupart du temps le produit de départ dans son intégralité.

**Tableau III-1 : Essais de fluoration aromatique**

Entrée	Source de fluorure	Additif/Base	Solvant	Temp. (°C)	Temps	Rdt (%)
1	DAST (2 eq.)	-	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-78 à t.a.	3 h	-
2	DAST (2 eq.)	-	Dioxane	-78 à t.a.	18 h	-
3	DAST (2 eq.)	-	Toluène	-78 à t.a.	18 h	-
4	DAST (2 eq.)	-	THF	-78 à t.a.	18 h	-
5	DAST (3 eq.)	-	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-78 à t.a.	18 h	-
6	DAST (2 eq.)	Et <sub>3</sub> N.3HF (3 eq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-78 à t.a.	18 h	-
7	DAST (2 eq.)	CsF (3 eq.)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-78 à t.a.	18 h	-
8	Xtalfluor-E (2 eq.)	-	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 à t.a.	18 h	-
9	Xtalfluor-E (2 eq.)	-	Toluène	0 à reflux	18 h	-
10	Xtalfluor-E (2 eq.)	DBU (3 eq.)	Toluène	0 à reflux	18 h	-
11	Xtalfluor-E (2 eq.)	Et <sub>3</sub> N.3HF (3 eq.)	Toluène	0 à reflux	18 h	-
12	Xtalfluor-M (2 eq.)	KF (3 eq.)	Toluène	0 à reflux	18 h	-
13	Xtalfluor-M (2 eq.)	NaF (3 eq.)	Toluène	0 à reflux	18 h	-
14	Xtalfluor-M (2 eq.)	CsF (3 eq.)	Toluène	0 à reflux	18 h	-

Nous avons également activé la fonction alcool avec le chlorure de tosyloxy pour avoir un meilleur nucléofuge, cependant cet essai s'est soldé également par un échec lors de la réaction de fluoration. Au vu des résultats obtenus et de la difficulté relative à obtenir les substrats de départ, nous avons choisi de nous orienter vers les deux méthodologies principales décrites précédemment faisant intervenir l'échange d'halogènes entre un 5-iodotriazole et une source de fluorure (cf. Ch-III-I. p.120). Cependant, ces dernières présentent majoritairement des résidus aromatiques ou alkyles dans leur *scope*.



Ainsi avant de démarrer la préparation des 5-fluoro triazoles fonctionnalisés incorporant des résidus d'acides aminés, nous avons entrepris dans un premier temps de préparer le 5-fluoro triazole correspondant pour estimer la stabilité lors de la réaction d'échange d'halogène (Figure III-4).

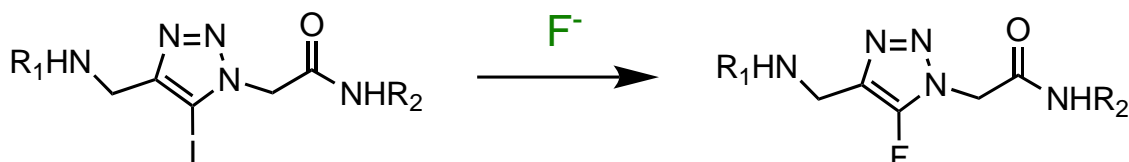


Figure III-4 : pseudo-dipeptide comprenant le motif 5-fluoro triazole

## II. 2. Fluoration par fluorure d'argent

La réaction de fluoration par le fluorure d'argent s'effectue à partir de 5-iodo-1,2,3-triazoles. Pour avoir accès à ces iodo-triazoles nous avons envisagé deux stratégies : la cycloaddition [1-3] catalysée au cuivre avec un alcyne iodé et une méthodologie multi-composant via un mélange CuI/NBS (Schéma III-4). Dans les deux cas la préparation d'alcynes et d'azotures est nécessaire.

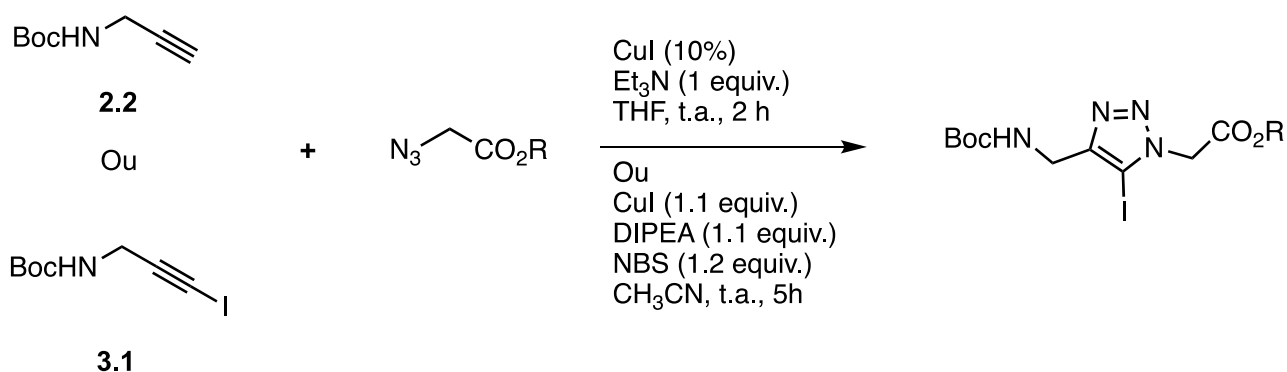
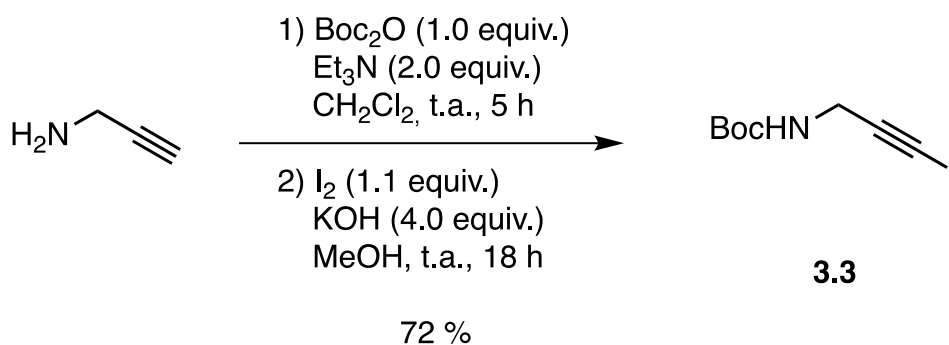


Schéma III-4 : Différentes voies de synthèse des 5-iodo triazoles

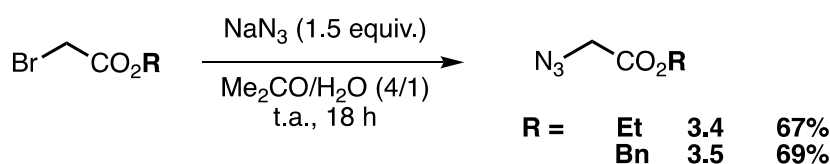
## II. 2. a. Préparation de l'alcyne iodé

Pour la réaction de cycloaddition [1-3] catalysée au cuivre, il est nécessaire de préparer un alcyne iodé (**3.3**). Cet alcyne iodé est préparé à partir de propargylamine fraîchement distillé, dans un premier temps protégé par un carbamate de *tert*-butyle, en utilisant le di-*tert*-butyle carbonate en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane pendant 5 h à température ambiante. Sans purification, l'intermédiaire est solubilisé dans le méthanol en présence d'une solution d'hydroxyde de potassium dans l'eau. L'iode est ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 18 h à température ambiante pour fournir l'alcyne iodé avec un rendement total de 72 % (Schéma III-5).

Schéma III-5 : Préparation de **3.3** à partir de la propargylamine

## II. 2. b. Préparation des azotures

Les azotures sont préparés en accord avec la littérature<sup>9</sup> à partir d'éthyl/benzyl bromoacétate en présence d'azoture de sodium dans un mélange eau/acétone à température ambiante pendant 18 h. Les différents azotures sont obtenus avec des rendements allant de 67 à 69 % (Schéma III-6). Les esters éthylique et benzylique ont été choisis pour être orthogonaux au groupement carbamate de *tert*-butyle.

Schéma III-6 : Préparation des azotures **3.4/3.5**

## II. 2. c. Préparation des 5-iodo-1,2,3-triazoles

## II. 2. c. i) Par Cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre

Pour réaliser la synthèse des 5-iodo-1,2,3-triazoles, nous avons commencé par la méthode la plus intuitive, la cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre entre l'alcyne iodé **3.3** et un azoture (**3.4/3.5**). Cette réaction s'effectue dans des conditions classiques en présence d'une quantité catalytique d'iodure de cuivre, de triéthylamine à température ambiante pendant deux heures dans le THF (Schéma III-7). Les 5-iodo-1,2,3-triazoles sont obtenus avec de bons rendements (76-78 %).

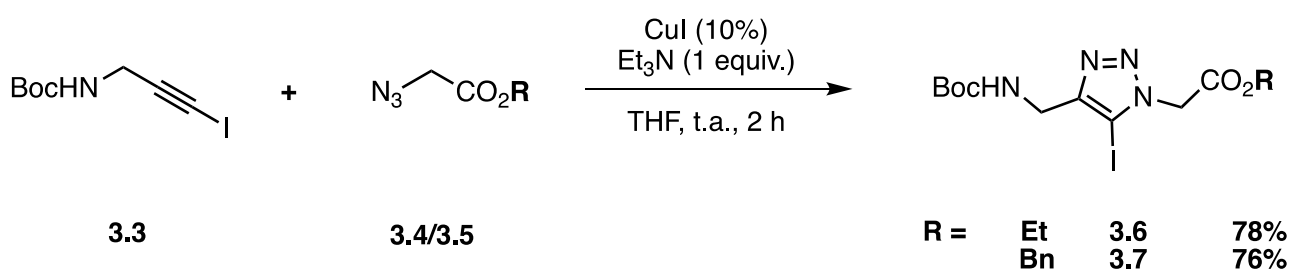


Schéma III-7 : Cycloaddition [1-3] dipolaire catalysée au cuivre

## II. 2. c. ii) Méthode « one-pot »

Dans un second temps, nous avons tenté une méthodologie moins conventionnelle combinant l'étape de cycloaddition et l'insertion de l'atome d'iode grâce à un mélange iodure de cuivre et *N*-bromosuccinimide (NBS).<sup>10</sup> La Boc-propargylamine et l'azoture sont mis en présence d'iodure de cuivre, de NBS et de diisopropyléthylamine dans l'acétonitrile à température ambiante pendant cinq heures pour donner l'iodotriazole avec un rendement modéré de 54 à 57% (Schéma III-8). Cette réaction est possible grâce à la réaction d'oxydo-réduction entre CuI et NBS générant *in situ* des ions I<sup>+</sup> qui sont piégés par l'intermédiaire carbanion de la réaction click. Le CuI a deux rôles dans cette réaction, d'une part fournir les ions Cu<sup>+</sup> nécessaire pour catalyser la réaction click et d'autre part la source d'iode pour générer les ions I<sup>+</sup>.

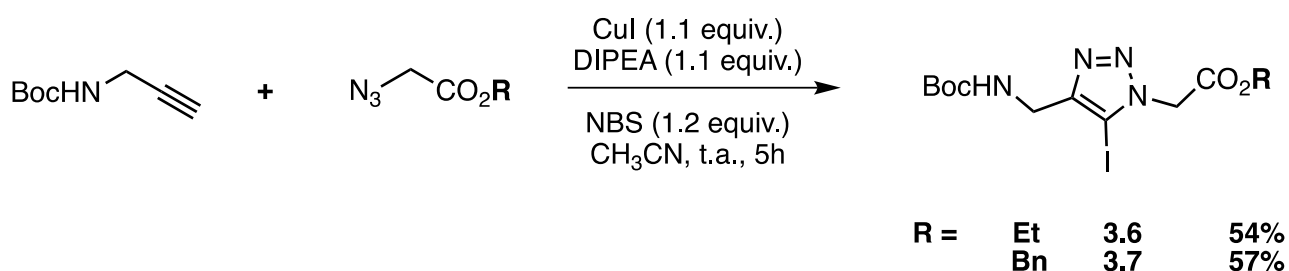
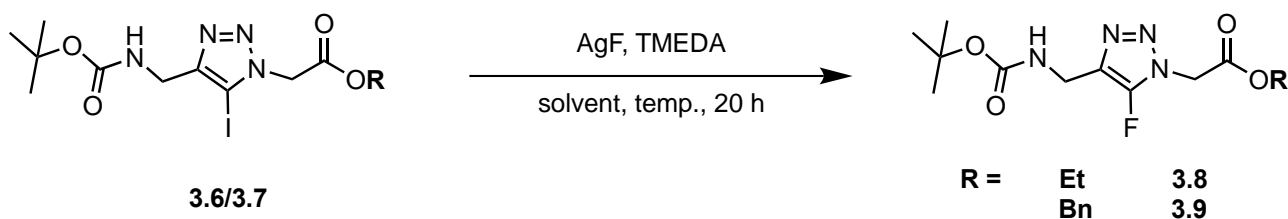


Schéma III-8 : Synthèse des 5-iodo-1,2,3-triazoles « one-pot »

La principale limitation de cette méthodologie réside dans le traitement. En effet la réaction d'oxydo-réduction entre le NBS et le CuI génère de nombreux sous-produits iodés et bromés qui rendent le traitement fastidieux. Pour cette raison nous avons décidé de continuer la synthèse en utilisant la méthode présentée précédemment par cycloaddition avec un alcyne iodé (cf. Ch-III-II. 2. c. i) p.129).

#### II. 2. d. Réaction de fluoration par fluorure d'argent

Une fois les 5-iodo-1,2,3-triazoles obtenus, nous avons commencé les essais de fluoration à l'aide de fluorure d'argent en commençant par les conditions décrites par Chu *et al.*<sup>3</sup> Malheureusement ces conditions (Tableau III-2, entrée 1) ne nous ont pas permis d'obtenir le produit fluoré. Aucune trace du produit de départ n'a été retrouvée. Nous avons émis l'hypothèse que les conditions de départ avec 5 équivalents de fluorure d'argent étaient trop dures pour notre substrat. Nous avons poursuivi les essais en abaissant la quantité de fluorure d'argent (Tableau III-2, entrée 2-3). Dans ce cas, nous avons été capable d'obtenir les 5-fluoro-1,2,3-triazoles (**3.8/3.9**) avec un rendement de 36 %. Nous avons tenté d'optimiser les conditions réactionnelles afin d'améliorer le rendement en faisant varier la quantité de ligand (Tableau III-2, entrée 3-8), la température (Tableau III-2, entrée 9-10) et le solvant (Tableau III-2, entrée 11-12). Les conditions optimisées (Tableau III-2, entrée 4) nous ont permis d'atteindre un rendement de 56 % qui, au regard de la fonctionnalisation de notre substrat, nous apparaît très satisfaisant.

**Tableau III-2: Fluoration par fluorure d'argent**

Entrée	Source de fluorure	Ligand	Solvant	Temp. (°C)	Rdt (%)
1	AgF (5 eq)	TMEDA (0.5 eq)	Toluène	120	-
2	AgF (2.5 eq)	TMEDA (0.5 eq)	Toluène	120	12%
3	AgF (1.2 eq)	TMEDA (0.5 eq)	Toluène	120	36%
<b>4</b>	<b>AgF (1.2 eq)</b>	<b>TMEDA (0.2 eq)</b>	Toluène	<b>120</b>	<b>56%</b>
5	AgF (1.2 eq)	TMEDA (1.0 eq)	Toluène	120	24%
6	AgF (5 eq)	-	Toluène	120	-
7	AgF (2.5 eq)	-	Toluène	120	-
8	AgF (1.2 eq)	-	Toluène	120	-
9	AgF (1.2 eq)	TMEDA (0.2 eq)	Toluène	70	7%
10	AgF (1.2 eq)	TMEDA (0.2 eq)	Toluène	100	31%
11	AgF (1.2 eq)	TMEDA (0.2 eq)	THF	65	8%
12	AgF (1.2 eq)	TMEDA (0.2 eq)	Dioxane	100	12%

### II. 3. Fluoration par échange d'halogène (Halex)

Après avoir réussi à obtenir les 5-fluoro-1,2,3-triazoles par fluoration au fluorure d'argent, nous avons tenté d'utiliser la méthodologie décrite par Fokin *et al.*<sup>2</sup> en présence de fluorure de potassium aux micro-ondes. Comme évoqué précédemment, le principal avantage de cette méthodologie est de permettre l'introduction de <sup>18</sup>F avec un temps de réaction très court.

Dans un premier temps, n'ayant pas eu accès à un appareil à micro-ondes, nous avons donc essayé d'utiliser des conditions thermiques (Tableau III-3, entrée 1-3). Ces conditions ne nous ont pas permis de convertir les 5-iodo-1,2,3-triazoles en 5-fluoro-1,2,3-triazoles. Finalement, nous avons eu l'opportunité de réaliser quelques essais au micro-ondes (Tableau III-3, entrée 4) qui se sont soldés par l'obtention du 5-fluoro-1,2,3-triazole **3.8** avec un rendement de 58 %. Nous avons réussi à démontrer qu'un fragment aromatique n'est pas nécessaire en position 4 du triazole pour mener à bien cette réaction d'échange d'halogène contrairement à ce qui est indiqué dans la littérature.<sup>2</sup>

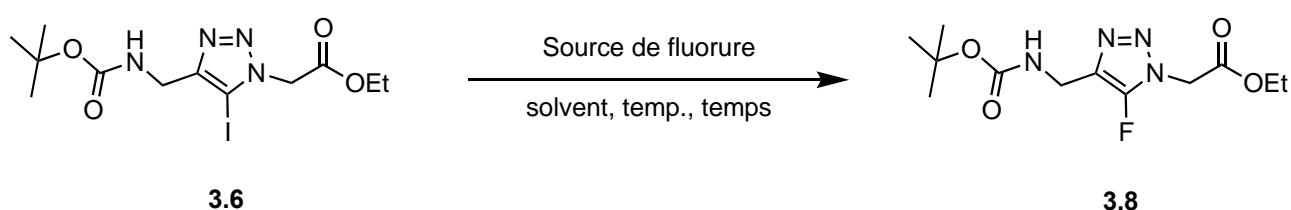
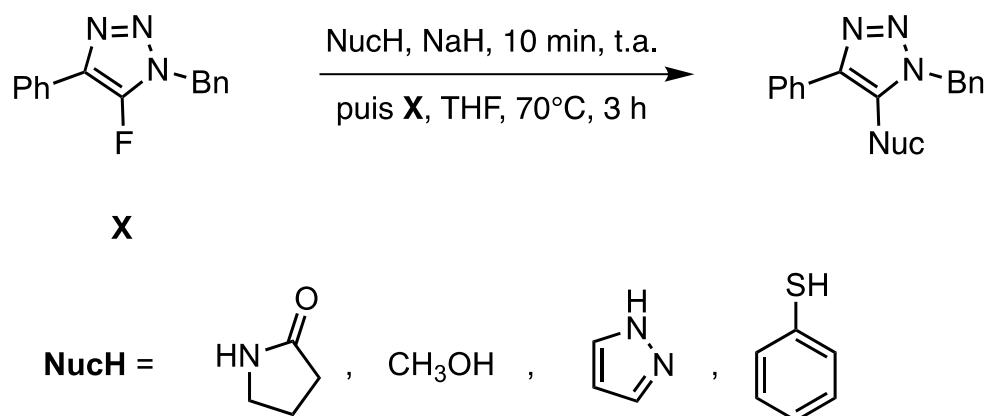


Tableau III-3 : Essais de fluoration par échange d'halogène					
Entrée	Source de fluorure	Solvant	Temp. (°C)	Temps	Rdt (%)
1	KF (5 eq)	H <sub>2</sub> O/CH <sub>3</sub> CN	100	20 h	-
2	KHF <sub>2</sub> (7 eq)	H <sub>2</sub> O/CH <sub>3</sub> CN	100	20 h	-
3	CsF (5 equiv.)	H <sub>2</sub> O/CH <sub>3</sub> CN	100	20 h	-
<b>4</b>	<b>KF (5 eq)</b>	<b>H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN</b>	<b>180 (Micro-ondes)</b>	<b>10 min</b>	<b>58 %</b>

Bien que nous ayons obtenu le triazole fluoré par la méthode d'échange d'halogène aux micro-ondes nous n'avons pas pu optimiser les conditions afin d'obtenir de meilleurs rendements. Cet aspect du projet tend à être développé.

II. 4. Extension des 5-fluoro-1,2,3-triazoles

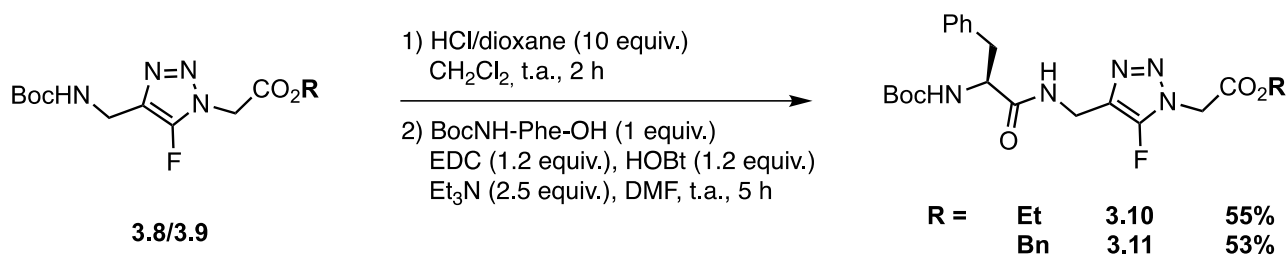
Pour envisager la construction de foldamères fluorés utilisant les 5-fluoro-1,2,3-triazoles, il est nécessaire de démontrer la compatibilité de cette architecture avec les réactions usuelles utilisées en chimie peptidique (couplage, déprotection). En effet, l'atome de fluor des 5-fluoro-1,2,3-triazoles a été décrit comme un bon groupe partant vis-à-vis de réactions de type substitution nucléophile aromatique (S<sub>N</sub>Ar) (Schéma III-9).<sup>2</sup>



**Schéma III-9** : Substitution nucléophile aromatique de l'atome de fluor des 5-fluoro-1,2,3-triazoles

II. 4. a. *Déprotection et couplage de la fonction N-terminale*

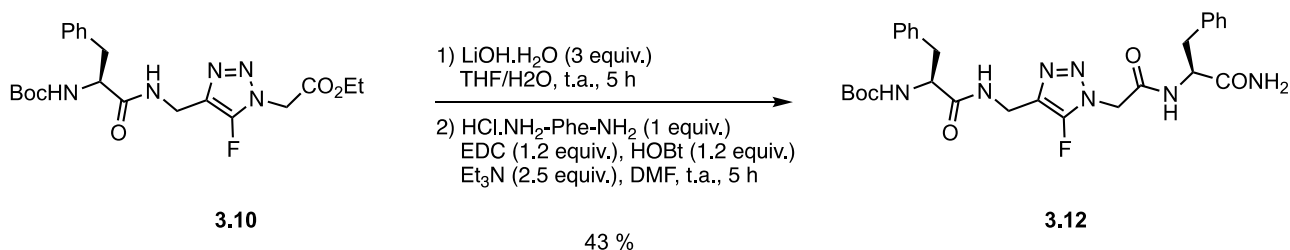
Nous avons réalisé l'extension de nos 5-fluoro-1,2,3-triazoles en commençant par la fonction *N*-terminale. La fonction carbamate de *tert*-butyle est déprotégée à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique dans le dioxane à température ambiante pendant deux heures. Le chlorhydrate intermédiaire est couplé avec la Boc-L-phénylalanine dans des conditions de couplage EDC, HOBt, et la triéthylamine dans le DMF à température ambiante pendant cinq heures (Schéma III-10). Les produits **3.10** et **3.11** sont obtenus avec un rendement de 55 et 53%, respectivement.



**Schéma III-10** : Déprotection et couplage

#### II. 4. b. *Déprotection et couplage de la fonction C-terminale*

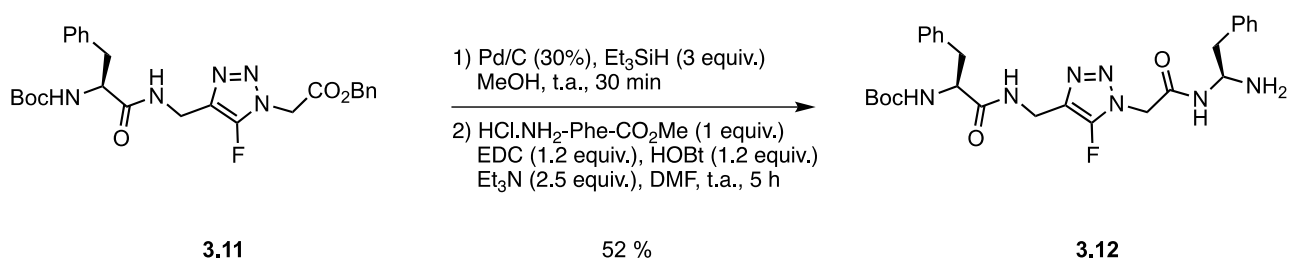
Nous avons ensuite poursuivi l'extension par l'extrémité C-terminale. Dans un premier temps, nous avons saponifié l'ester éthylique du composé **3.10** à l'aide de lithine dans un mélange tétrahydrofurane (THF)/eau à température ambiante pendant cinq heures. Bien que l'atome de fluor ait été décrit comme sensible aux nucléophiles, aucune substitution de l'atome de fluor par des ions hydroxydes n'a été observée. Comme précédemment, l'acide carboxylique intermédiaire a été couplé avec la L-phénylalanine amide dans les mêmes conditions de couplage pour obtenir **3.12** avec un rendement de 43% (Schéma III-11).



**Schéma III-11** : déprotection et couplage de **3.10**



Nous avons également clivé l'ester benzylique du composé **3.11** en suivant la méthodologie décrite par McMurray<sup>11</sup> à l'aide de palladium sur charbon et de triéthylsilane dans le méthanol à température ambiante pendant 30 minutes. Une fois encore, l'acide carboxylique intermédiaire a été couplé avec la L-phénylalanine amide avec les mêmes conditions de couplage pour obtenir **3.12** avec un rendement de 52% (Schéma III-12).



**Schéma III-12** : déprotection et couplage de **3.11**

Le travail réalisé autour de la synthèse des 5-fluoro-1,2,3-triazoles incorporant des résidus d'acides aminés ainsi que l'étude structurale de l'unité par diffraction aux rayons X est l'objet d'une publication en cours de rédaction dont le contenu est joint ci-après.

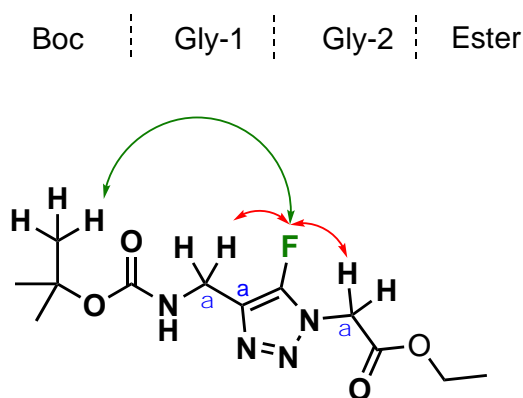
### III. Étude des propriétés structurales et électroniques du motif 5-fluoro triazole

#### III. 1. Par résonance magnétique nucléaire

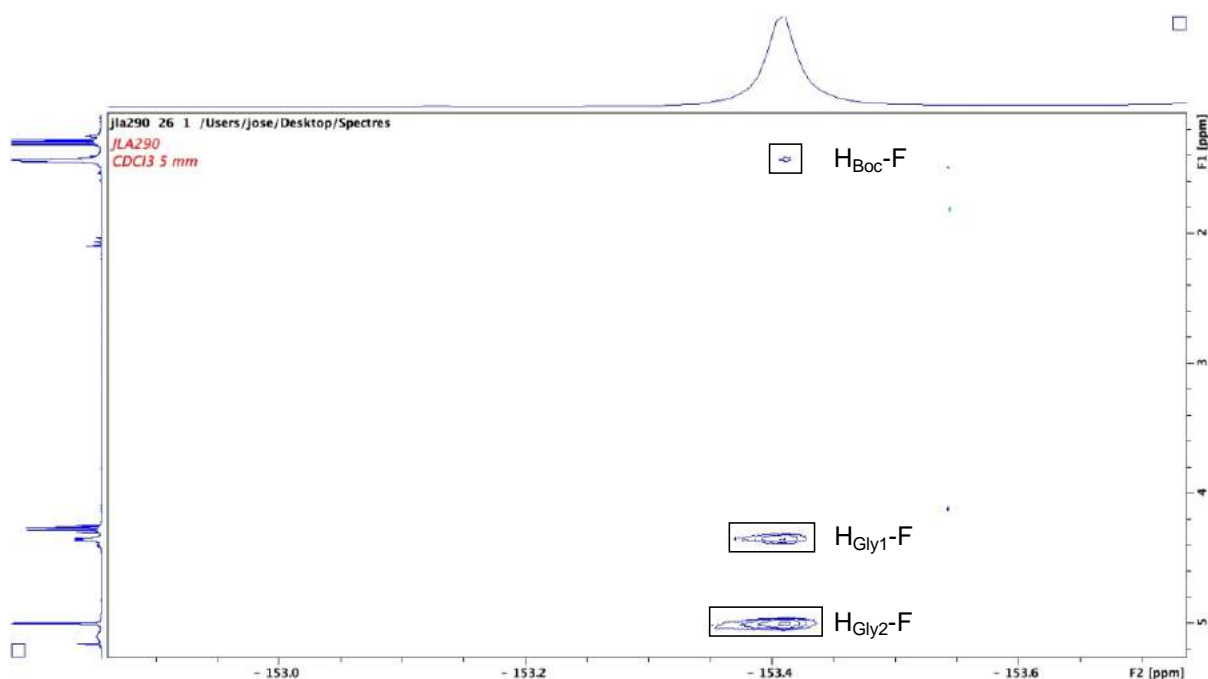
Les expériences de résonance magnétique nucléaire de notre composé **3.8** ont été réalisées par RMN dans le CDCl<sub>3</sub>. Les déplacements chimiques en <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F à 283K sont donnés dans le Tableau II-4.

Tableau II-4 : Déplacements chimiques en RMN <sup>1</sup> H/ <sup>13</sup> C/ <sup>19</sup> F pour le composé <b>3.8</b> dans le CDCl <sub>3</sub> à 283 K				
Résidu	δ NH (ppm)	δ H (ppm)	δ C (ppm)	δ F (ppm)
Boc	/	1.43	80 (C), 28 (CH <sub>3</sub> )	/
Gly-1	5.09	4.39 ( <sup>3</sup> J = 5.8 Hz) 4.35 ( <sup>3</sup> J = 5.8 Hz)	34 (CH <sub>2</sub> )	/
Gly-2	/	5.0	48 (CH <sub>2</sub> )	/
Ester	/	1.29 ( <sup>3</sup> J = 7.1 Hz) 4.29 ( <sup>3</sup> J = 7.1 Hz)	165.1 (C=O) 63 (CH <sub>2</sub> ), 14 (CH <sub>3</sub> )	/
5-fluoro-1,4-Tzl	/		125 (C <sub>a</sub> ) ( <sup>1</sup> J(C-F) = 279 Hz)	-153.5

Dans les spectres 2D <sup>19</sup>F-<sup>1</sup>H HOESY de **3.8**, nous observons des corrélations courte distance impliquant l'atome de fluor et les protons α des deux résidus Gly-1 et Gly-2 (Figure III-5/6). Nous retrouvons également l'interaction proton-fluor observée dans le cristal entre un proton du groupement carbamate de *tert*-butyle et l'atome de fluor. Cette corrélation est de plus faible intensité puisque les deux atomes sont plus éloignés (Figure III-6).



**Figure III-5** : Corrélations longue distance  $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$  pour **3.8**

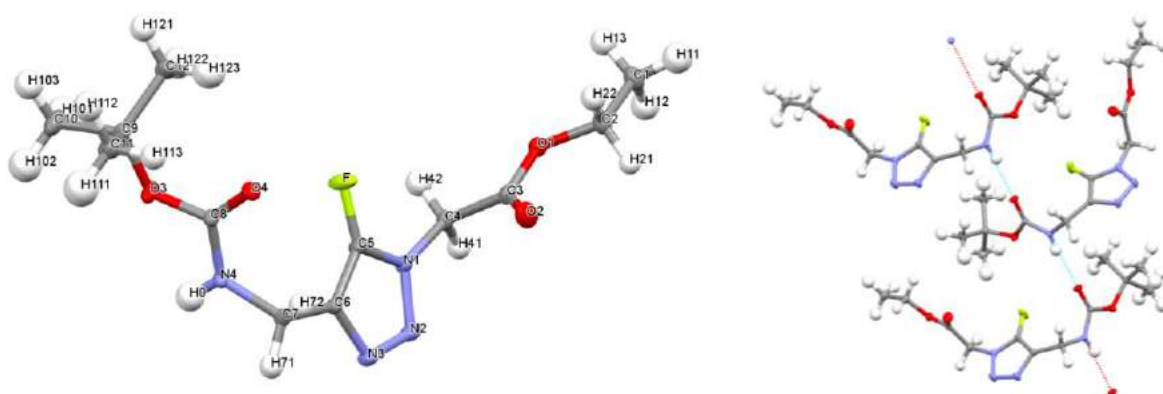


**Figure III-6** : Expérience  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$  HOESY dans  $\text{CDCl}_3$  à 283 K pour le composé **3.8**

La conformation en solution du composé **3.8** est différente de celle observée dans le cristal. Les corrélations courte distance entre l'atome de fluor et les protons  $\alpha$  des deux résidus Gly-1 et Gly-2 laissent supposer une conformation plus repliée en solution que dans le cristal. Cette observation est confirmée par la valeur de la constante de couplage entre le NH et le  $\text{H}_\alpha$  du résidu Gly-1 de 5.8 Hz. De plus, la valeur de la constante de couplage est très proche de celle décrite dans la littérature pour les 5-H-1,2,3-triazoles utilisés comme substitués de liaison peptidique *cis*.<sup>12</sup>

### III. 2. Par diffraction aux rayons X

Comme évoqué précédemment, nous avons réussi à obtenir une structure cristalline du composé **3.8** par évaporation lente dans un mélange de solvant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/Cyclohexane. Grâce à une collaboration avec le Dr. N-E. Ghermani de l'Université Paris-Saclay et Pascal Retailleau de l'ICSN, une excellente résolution du cristal a permis de déterminer certaines propriétés électroniques du motif 5-fluoro triazole.

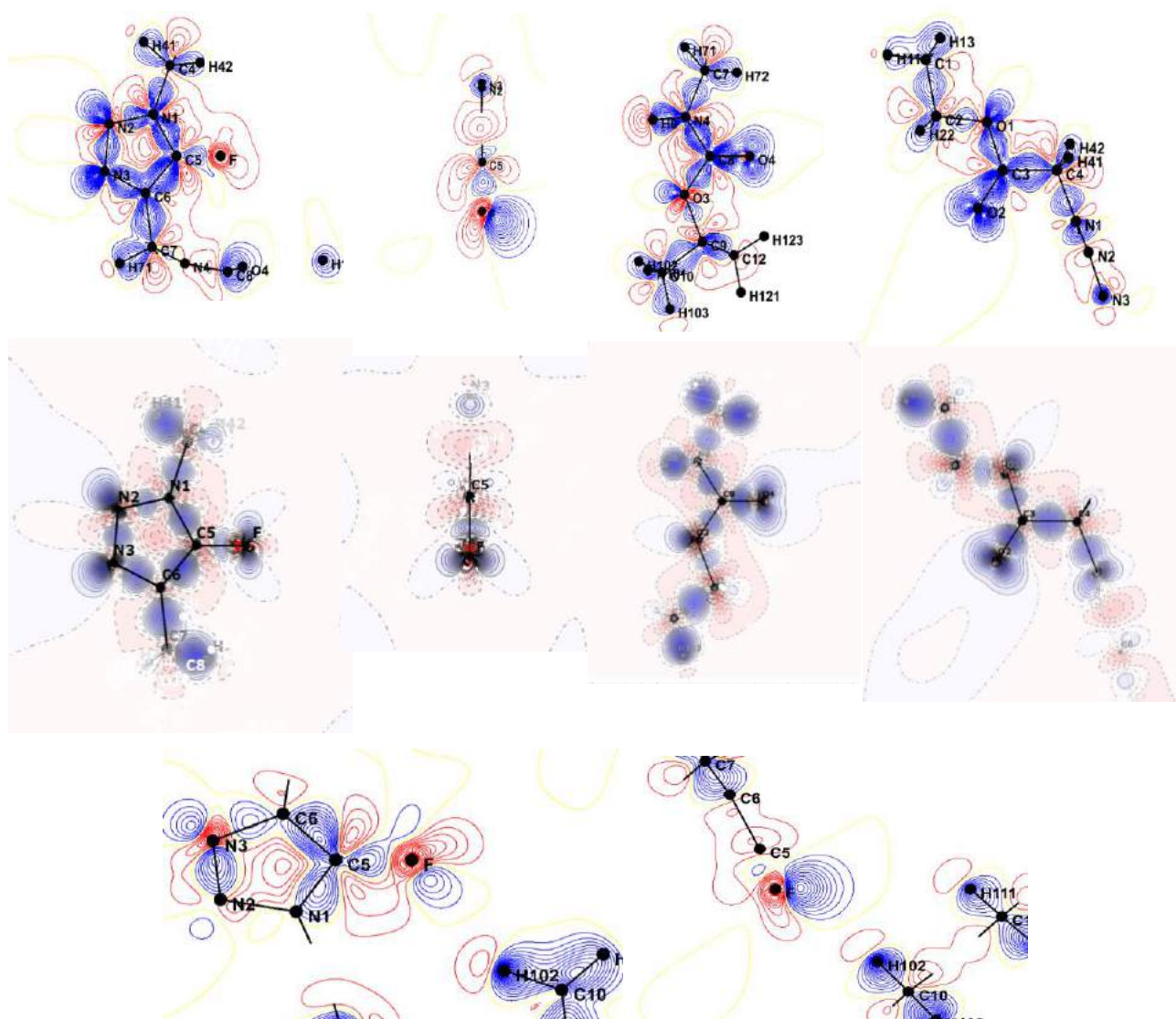


**Figure III-7 :** (gauche) Structure cristalline de **3.8** au rayons X. (droite) Réseau de liaison hydrogène dans le cristal.

Dans la structure cristalline de **3.8**, nous pouvons voir que le motif de répétition du cristal est centré autour de la liaison hydrogène du NH (H0) avec le carbonyl de l'ester *tert*-butyle (C4) (Figure III-7). Il n'apparaît pas d'interaction particulière faisant intervenir le fluor. (seule une interaction intramoléculaire avec les hydrogènes du CH<sub>3</sub> du carbamate de *tert*-butyle est observée (F··H102 = 2.666(4) Å).

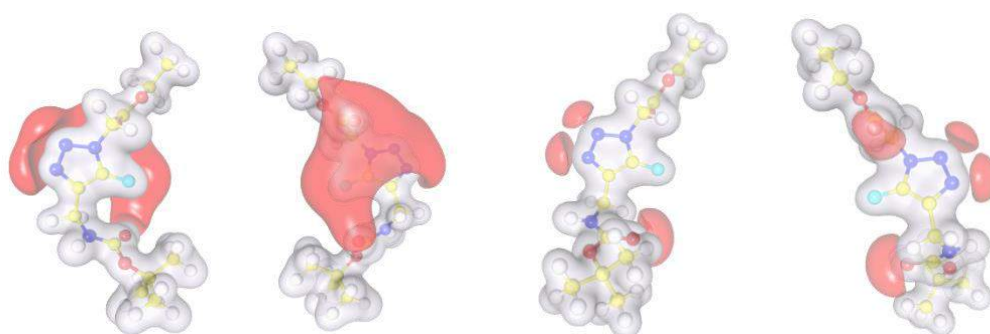
Pour donner suite aux données du cristal de la molécule **3.8**, les densités de déformation statique théorique et expérimentale ont été calculées dans différentes parties de la molécule **3.8** (Figure III-8). Les densités de paires isolées et les polarisations électroniques (pour les atomes O et N) sont bien révélées par les raffinements multipolaires basés sur des facteurs de structures expérimentaux. En revanche, un appauvrissement de la densité électronique est constaté au voisinage de l'atome de fluor. Les hauteurs de pic des densités de paires isolées sont les suivantes : 0,8 eÅ<sup>-3</sup> pour les atomes N et même supérieure à 0,9 eÅ<sup>-3</sup> pour les paires isolées O (1 eÅ<sup>-3</sup> = 0,15 e.bohr<sup>-3</sup>).

Le caractère covalent des liaisons C-C, C-N, C-O, N-N et N-H est clairement illustré sur la figure III-8 affichant une concentration d'électrons (supérieure à  $0,8 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$ ) entre les atomes. La liaison C5-F est en revanche moins chargée en électrons ( $0,3 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$ ). Cependant, comme le montre la figure III-5, l'atome de fluor présente un grand pic d'électrons ( $0,6 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$ ) dans le plan perpendiculaire de la liaison C5-F (deuxième image en partant de la gauche). Cette polarisation de la densité électronique est dirigée vers les atomes d'hydrogène de *tert*-butyle H102 et H111 d'une molécule adjacente. La dernière carte de densité électronique met en évidence l'interaction entre l'atome de fluor et l'hydrogène (H102) du groupement carbamate de *tert*-butyle (Figure III-8).



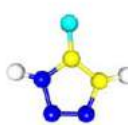

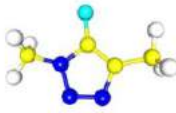

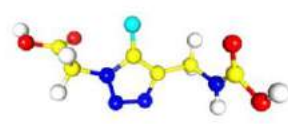

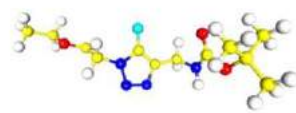
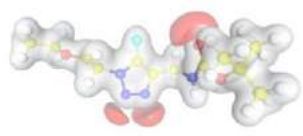
**Figure III-8** : Densité de la déformation électronique statique expérimentale (en haut) et théorique (au milieu) dans des plans choisis de la molécule **3.8**. (En bas) Interaction F...H102 du groupement Boc. Les contours sont de  $0,05 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$ , les contours négatifs sont en rouge.

À la suite de ces résultats, le potentiel électrostatique de la molécule a été obtenu à partir des méthodes expérimentales et théoriques (partie expérimentale). Dans les deux approches, la surface de potentiel négatif est principalement générée par les atomes les plus électronégatifs (O, N et F) de la molécule **3.8** et s'étend sur un seul côté du cycle triazole fluoré central (Figure III-9, gauche). Il est cependant intéressant de noter que la surface de potentiel négatif est moins étendue dans les figures théoriques (Figure III-9, droite) pour la molécule **3.8** sous vide. La partie rouge correspond donc à une région négative où des interactions avec des espèces électropositives peuvent se présenter.



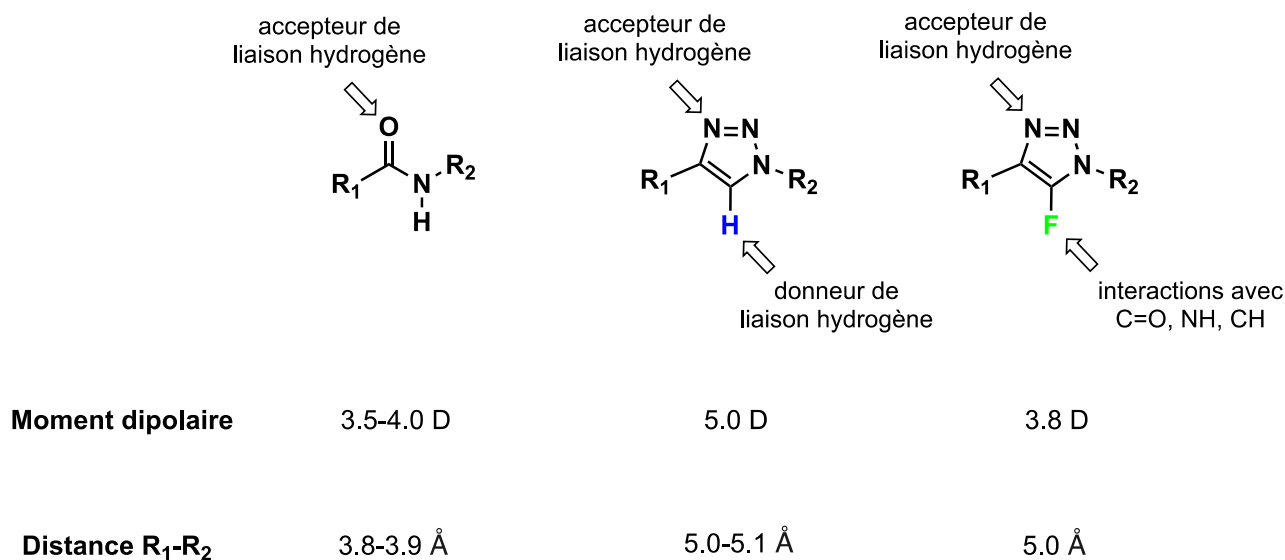
**Figure III-9 :** Potentiel électrostatique expérimental (gauche) et théorique (droite) pour deux orientations de la molécule **3.8**. La coupure de la surface de l'isovaleur est de + 0,1 e/bohr (en gris) et de -0,05 e/bohr (en rouge).

Afin de mettre en évidence les modifications des valeurs de potentiel électrostatique et de moment dipolaire lors de la construction chimique de la molécule **3.8**, des calculs théoriques ont été effectués à partir du motif 5-fluoro triazole ( $C_2N_3H_2F$ ) comme le montre la figure III-10. Les amplitudes dipolaires pour les quatre molécules construites sont comprises entre 2,9 et 3,8 D, ce qui signifie que la réactivité à longue distance (interaction van der Waals) de la molécule **3.8** reste principalement régie par les propriétés électrostatiques du noyau 5-fluoro triazole. Ces résultats respectifs sont en accord avec les surfaces de potentiel négatif expérimentales et théoriques qui sont différentes en forme et en extension comme le montre la figure III-9.

1) $C_2N_3H_2F$			3.2 D -341.6 a.u.
2) $C_4N_3H_6F$			3.3 D -420.2 a.u.
3) $C_6N_4H_7O_4F$			2.9 D -852.9 a.u.
3.6 $C_{12}N_4H_{19}O_4F$			3.8 D -1088.8 a.u.

**Figure III-10** : Potentiel électrostatique théorique (coupe de la surface de l'isovaleur comme dans la figure III-3), magnitudes des dipôles (en Debye, dernière colonne, première ligne) et énergies totales (en u.a., dernière colonne, deuxième ligne) pour les molécules choisies données dans la première colonne.

Au niveau structural, la planéité du cycle aromatique au sein des 5-fluoro triazoles est conservée. Le composé **3.8** peut être identifié comme un mime de dipeptide Gly-Gly. L'absence de chaînes latérales ne nous permet pas de comparer l'orientation des substituants dans l'espace par rapport à une liaison peptidique, et aux 5-H triazoles. Les résidus sans chaînes latérales tels que la glycine n'imposent aucune contrainte stérique et la valeur des angles  $\Psi$ ,  $\Phi$  est plus variable. Le moment dipolaire et la distance entre résidus  $R_1$ - $R_2$  du 5-fluoro-triazole sont comparables à la liaison peptidique et aux 5-H triazoles (Figure III-11). De plus, les distances des liaisons N1-N2 et N2-N3 entre les azotes du noyau triazole au sein des 5-fluoro-triazoles sont comparables aux analogues non fluorés, ainsi que la capacité à former des liaisons hydrogène au niveau du N-3 du triazole.



**Figure III-11** : Comparaison des moments dipolaires et des distances R<sub>1</sub>-R<sub>2</sub> entre la liaison peptidique, les 5-H-triazoles et le composé **3.8**

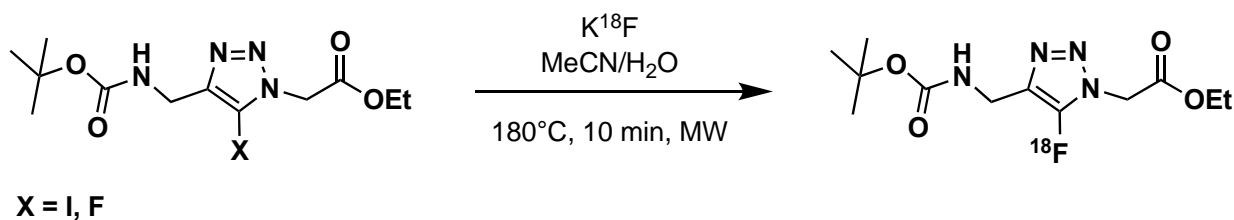
L'ensemble des différentes données obtenues sur les 5-fluoro-triazoles a été comparé à celles d'une liaison peptidique et des analogues non-fluorés. Nous pouvons conclure qu'au niveau structural, l'atome de fluor ne modifie ni les distances, ni la structure du noyau triazole. L'impact de l'atome de fluor se fait principalement ressentir au niveau de la structure électronique du triazole. Ainsi, nous pouvons supposer que le fluor pourrait être impliqué dans des interactions intramoléculaires dans le cas de la structuration de foldamères, mais également dans des interactions intermoléculaires entre ligand et protéine.



## IV. Conclusion et perspectives

Nous avons effectué la synthèse de composés peptidomimétiques incorporant une unité 5-fluorotriazole en utilisant deux méthodologies décrites dans la littérature, la réaction d'échange d'halogène (Halex) et la fluoration par l'intermédiaire de fluorure d'argent.

En adaptant les conditions réactionnelles, nous avons démontré la compatibilité de nos substrats fonctionnalisés avec ces deux méthodologies. De plus, la compatibilité de nos 5-fluorotriazoles avec des réactions usuelles de chimie peptidique (couplage, saponification, hydrogénation, hydrolyse) a été mise en évidence. L'obtention de cristaux nous a permis de mener l'étude des propriétés électroniques et structurales par diffraction aux rayons X. Nous avons pu mettre en évidence l'impact de l'atome de fluor sur la densité électronique autour du noyau triazole. L'impact de l'atome de fluor sur la structuration et la conformation apparait limité, d'autant plus en l'absence de chaînes latérales. L'ensemble de ces travaux sont l'objet d'une publication scientifique en cours de rédaction. Actuellement, une collaboration avec le Dr. T. Billard est en cours en vue d'introduire un atome de fluor 18 par échange iode/fluor18 et également fluor19/fluor18 au sein de nos composés afin d'envisager l'utilisation de PET pour nos composés (Schéma III-13).

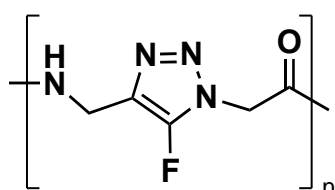


**Schéma III-13** : Insertion d'un atome de fluor 18 par réaction halex

### Ch-III : 5-fluoro-1,2,3-triazoles, nouveau synthon pour concevoir des foldamères fluorés

Les objectifs pour la suite de ce projet sont, dans un premier temps, d'optimiser les conditions d'accès aux 5-fluoro-1,2,3-triazoles en développant de nouvelles méthodes, mais également en optimisant les conditions de la réaction Halex aux micro-ondes, ce qui n'a pas pu être réalisé durant ces travaux en raison d'un accès limité aux appareils micro-ondes.

Dans un second temps, l'assemblage de plusieurs unités 5-fluoro-triazoles sera réalisé et la conformation obtenue sera évaluée par RMN, modélisation moléculaire et RX si nous avons la capacité à obtenir des cristaux (Figure III-12).



**Figure III-12** : Assemblage de 5-fluoro-1,2,3-triazoles

## V. Références

- (1) Laxio Arenas, J.; Crousse, B. An Overview of 4- and 5-Halo-1,2,3-Triazoles from Cycloaddition Reactions. *Eur. J. Org. Chem.* **2021**, 2021 (18), 2665–2679. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202100327>.
- (2) Worrell, B. T.; Hein, J. E.; Fokin, V. V. Halogen Exchange (Halex) Reaction of 5-Iodo-1,2,3-Triazoles: Synthesis and Applications of 5-Fluorotriazoles. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51 (47), 11791–11794.
- (3) Wang, D.; Sun, W.; Chu, T. Synthesis of 5-Fluorotriazoles by Silver-Mediated Fluorination of 5-Iodotriazoles: Silver-Mediated Fluorination of 5-Iodotriazoles. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2015 (19), 4114–4118.
- (4) Jana, S.; Adhikari, S.; Cox, M. R.; Roy, S. Regioselective Synthesis of 4-Fluoro-1,5-Disubstituted-1,2,3-Triazoles from Synthetic Surrogates of  $\alpha$ -Fluoroalkynes. *Chem. Commun.* **2020**, 10.1039/C9CC09216A. <https://doi.org/10.1039/C9CC09216A>.
- (5) Kuhn, B.; Gilberg, E.; Taylor, R.; Cole, J.; Korb, O. How Significant Are Unusual Protein–Ligand Interactions? Insights from Database Mining. *J. Med. Chem.* **2019**, 62 (22), 10441–10455. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01545>.
- (6) Müller, K.; Faeh, C.; Diederich, F. Fluorine in Pharmaceuticals: Looking beyond Intuition. *Science* **2007**, 317 (5846), 1881–1886. <https://doi.org/10.1126/science.1131943>.
- (7) Tang, P.; Wang, W.; Ritter, T. Deoxyfluorination of Phenols. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133 (30), 11482–11484. <https://doi.org/10.1021/ja2048072>.
- (8) Balz, G.; Schiemann, G. Über Aromatische Fluorverbindungen, I.: Ein Neues Verfahren Zu Ihrer Darstellung. *Berichte Dtsch. Chem. Ges. B Ser.* **1927**, 60 (5), 1186–1190. <https://doi.org/10.1002/cber.19270600539>.
- (9) Liao, Y.; Lu, Q.; Chen, G.; Yu, Y.; Li, C.; Huang, X. Rhodium-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition of Internal Ynamides: Regioselective Assembly of 5-Amino-Triazoles under Mild Conditions. *ACS Catal.* **2017**, 7 (11), 7529–7534. <https://doi.org/10.1021/acscatal.7b02558>.
- (10) Li, L.; Zhang, G.; Zhu, A.; Zhang, L. A Convenient Preparation of 5-Iodo-1,4-Disubstituted-1,2,3-Triazole: Multicomponent One-Pot Reaction of Azide and Alkyne Mediated by CuI–NBS. *J. Org. Chem.* **2008**, 73 (9), 3630–3633. <https://doi.org/10.1021/jo800035v>.

- (11) Mandal, P. K.; McMurray, J. S. Pd-C-Induced Catalytic Transfer Hydrogenation with Triethylsilane. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (17), 6599–6601. <https://doi.org/10.1021/jo0706123>.
- (12) Tam, A.; Arnold, U.; Soellner, M. B.; Raines, R. T. Protein Prosthesis: 1,5-Disubstituted[1,2,3]Triazoles as Cis-Peptide Bond Surrogates. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (42), 12670–12671. <https://doi.org/10.1021/ja075865s>.
- (13) ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry & Biology <https://chemaxon.com/> (accessed 2020 -07 -31).
- (14) Sousa da Silva, A. W.; Vranken, W. F. ACPYPE - AnteChamber PYthon Parser InterfacE. *BMC Res. Notes* **2012**, *5* (1), 367. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-367>.
- (15) Abraham, M. J.; Murtola, T.; Schulz, R.; Páll, S.; Smith, J. C.; Hess, B.; Lindahl, E. GROMACS: High Performance Molecular Simulations through Multi-Level Parallelism from Laptops to Supercomputers. *SoftwareX* **2015**, *1–2*, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>.
- (16) Wang, J.; Wolf, R. M.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. Development and Testing of a General Amber Force Field. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25* (9), 1157–1174. <https://doi.org/10.1002/jcc.20035>.
- (17) Essmann, U.; Perera, L.; Berkowitz, M. L.; Darden, T.; Lee, H.; Pedersen, L. G. A Smooth Particle Mesh Ewald Method. *J. Chem. Phys.* **1995**, *103* (19), 8577–8593. <https://doi.org/10.1063/1.470117>.
- (18) Hess, B. P-LINCS: A Parallel Linear Constraint Solver for Molecular Simulation. *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4* (1), 116–122. <https://doi.org/10.1021/ct700200b>.
- (19) Nosé, S. A Unified Formulation of the Constant Temperature Molecular Dynamics Methods. *J. Chem. Phys.* **1984**, *81* (1), 511–519. <https://doi.org/10.1063/1.447334>.
- (20) Hoover, W. G. Canonical Dynamics: Equilibrium Phase-Space Distributions. *Phys. Rev. A* **1985**, *31* (3), 1695–1697. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.31.1695>.
- (21) Parrinello, M.; Rahman, A. Polymorphic Transitions in Single Crystals: A New Molecular Dynamics Method. *J. Appl. Phys.* **1981**, *52* (12), 7182–7190. <https://doi.org/10.1063/1.328693>.
- (22) Daura, X.; Gademann, K.; Jaun, B.; Seebach, D.; Gunsteren, W. F. van; Mark, A. E. Peptide Folding: When Simulation Meets Experiment. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38* (1–2), 236–240. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19990115\)38:1/2<236::AID-ANIE236>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19990115)38:1/2<236::AID-ANIE236>3.0.CO;2-M).

- (23) Blessing, R. H. Outlier Treatment in Data Merging. *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30* (4), 421–426. <https://doi.org/10.1107/S0021889896014628>.
- (24) Altomare, A.; Cascarano, G.; Giacovazzo, C.; Guagliardi, A. Completion and Refinement of Crystal Structures with SIR92. *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, *26* (3), 343–350. <https://doi.org/10.1107/S0021889892010331>.
- (25) Sheldrick, G. M. Crystal Structure Refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71* (1), 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- (26) Farrugia, L. J. WinGX Suite for Small-Molecule Single-Crystal Crystallography. *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32* (4), 837–838. <https://doi.org/10.1107/S0021889899006020>.
- (27) Hansen, N. K.; Coppens, P. Testing Aspherical Atom Refinements on Small-Molecule Data Sets. *Acta Crystallogr. Sect. A* **1978**, *34* (6), 909–921. <https://doi.org/10.1107/S0567739478001886>.
- (28) Guillot, B.; Lagoutte, A.; Lecomte, C.; Jelsch, C. Advances in Protein and Small-Molecule Charge-Density Refinement Methods Using MoPro. *J. Appl. Crystallogr.* **2005**, *38* (1), 38–54. <https://doi.org/10.1107/S0021889804025518>.
- (29) Gaussian 09 Citation | Gaussian.com <https://gaussian.com/g09citation/> (accessed 2021 -11 -02).

# Conclusion générale

Ces travaux de thèse ont été consacrés au développement de foldamères basés sur les triazoles fluorés pour évaluer leur capacité à adopter des conformations particulières et pour moduler l'agrégation de protéines amyloïdes.

Le premier chapitre a été consacré à l'architecture 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés. Dans un premier temps, nous avons obtenu des trimères et des tétramères issus de l'auto-assemblage de l'unité 1,4-TzCF<sub>2</sub>. Nous avons mis en évidence, par RMN et par dynamique moléculaire, que ces homotriazolamères adoptent préférentiellement une conformation majoritairement étendue. Nous avons pu voir précédemment qu'il n'y avait dans la littérature que très peu d'exemples de foldamères fluorés d'une manière générale, et encore moins capable d'adopter des conformations étendues. La capacité de ces homotriazolamères, à moduler l'agrégation de protéines amyloïdes, a été évaluée par spectrométrie de fluorescence à la thioflavine-T. Les résultats préliminaires indiquent que nos homotriazolamères ont tendance à accélérer et d'augmenter l'agrégation de hIAPP. Cet effet devra être mieux étudié afin d'évaluer si l'accélération de la fibrillation est associée à la capacité à diminuer la présence d'oligomères toxiques précoces. Dans un second temps, pour augmenter les potentielles interactions entre nos foldamères et hIAPP nous avons réalisé la synthèse d'hétérotriazolamères intercalant des acides aminés issus de la séquence amyloïdogénique de hIAPP entre deux unités 1,4-TzCF<sub>2</sub>. Les études conformationnelles, par RMN et dynamique moléculaire, ont mis en évidence la conformation repliée, en forme d'épingle β, des hétérotriazolamères. Une conformation qui, encore une fois, est peu décrite dans la littérature. Les évaluations biophysiques préliminaires, par spectrométrie de fluorescence à la thioflavine-T, de nos hétérotriazolamères ont démontrées leur capacité à ralentir et à baisser l'agrégation de hIAPP. À notre connaissance, c'est la première fois que des foldamères fluorés sont décrits pour moduler l'agrégation d'une protéine amyloïde. Nous avons ainsi répondu à deux interrogations posées au début de mon projet de thèse :

- La structuration étendue du 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé qui est un mime de dipeptide fluoré (Gly-CF<sub>2</sub>Gly) est conservée lorsque l'on assemble plus d'une unité au sein d'un homotriazolamère et induit une conformation globale étendue de ce foldamère.

Elle n'est en revanche conservée que localement lorsque des acides aminés naturels sont insérés entre les unités 1,2,3-triazole *N*-difluorométhylé, et une conformation repliée en épingle  $\beta$  est privilégiée dans les hétérotriazolamères.

- Ces nouveaux foldamères fluorés sont capables d'interagir avec la protéine amyloïde hIAPP : les homotriazolamères semblent catalyser l'agrégation de hIAPP probablement grâce à leur structuration étendue mimant un brin  $\beta$  et à des interactions  $\pi/\pi$  des triazoles avec les noyaux aromatiques de hIAPP (Phe), hydrophobes avec les chaînes alkyles de hIAPP (Val, Leu) ou  $\pi$ /cation avec les acides aminés cationiques (Lys, Arg); au contraire l'incorporation d'acides aminés naturels permettant d'adopter des structures en « hairpin » sont capables de ralentir l'agrégation en perturbant les interactions intra- et inter- moléculaires de hIAPP par un encombrement stérique de structures flexibles en hairpin, la possibilité d'engager des liaisons hydrogène et des interactions spécifiques avec des séquences impliquées dans le repliement de hIAPP et son agrégation. Cet effet est plus similaire aux activités observées avec des structures en hairpins conçues par le passé au laboratoire. Nous sommes très curieux d'étudier prochainement les effets de ces homo et hétérotriazolamères incorporant des chaînes latérales cationiques (Lys, Arg) sur des membranes pour évaluer leurs propriétés potentielles amphiphiles et leur caractère potentiel CPP et/ou AMP.

Le deuxième chapitre a été consacré au développement de l'architecture 5-fluoro-1,2,3-triazole pour concevoir de nouveaux foldamères fluorés. Les premiers synthons fluorés ont été obtenus à l'aide de deux méthodologies différentes à partir de 5-iodo-triazoles, la réaction de fluoration par fluorure d'argent et la réaction d'échange d'halogène aux micro-ondes. Avant nos travaux, l'utilisation de ces méthodologies n'avait jamais été décrite dans la littérature pour des composés peptidomimétiques. De plus, nous avons obtenu une structure cristalline d'un de nos composés 5-fluoro-1,2,3-triazole ce qui nous a permis de mettre en évidence, pour la première fois, par diffraction aux rayons X, l'effet de l'atome de fluor sur les densités électroniques du noyau triazole. En perspective, nous sommes très curieux d'étudier les conformations adoptées par ces unités lorsqu'elles seront assemblées en homo ou hétérotriazolamères et d'évaluer leur capacité à interagir avec des cibles protéiques ou lipidiques.

# Partie Expérimentale

## General experimental methods

All experiments dealing with air and moisture-sensitive compounds were conducted under an atmosphere of dry argon. The usual solvents were purchased from commercial sources without further purification. Reagents were used without further purification as received from commercial. TLC analyses were performed on silica gel, 60 F<sub>250</sub> (0.26 mm thickness) plates. The plates were visualized with UV light ( $\lambda = 254$  nm) or with a 3.5% solution of phosphomolybdic acid in ethanol or with a solution of KMnO<sub>4</sub> in water. Compounds were purified by silica gel chromatography using Merck 60 silica gel (230 – 400 mesh).

NMR spectra were recorded on a Bruker AMX 200 (<sup>1</sup>H, 200MHz; <sup>19</sup>F, 188 MHz), an ultrafield Bruker AVANCE 300 (<sup>1</sup>H, 300 MHz, <sup>13</sup>C, 75 MHz), a Bruker AVANCE 400 (<sup>1</sup>H, 400 MHz, <sup>13</sup>C, 100 MHz, <sup>19</sup>F, 376 MHz), a Bruker AVANCE I 600MHz (<sup>1</sup>H, 600 MHz, <sup>13</sup>C, 150 MHz, <sup>19</sup>F, 564 MHz) equipped with a z-gradient TCI and <sup>19</sup>F-QCI, or a Bruker AVANCE III 800MHz (<sup>1</sup>H, 800 MHz, <sup>13</sup>C, 200 MHz) spectrometers, equipped with a z-gradient TCI cryprobe.

Chemical shift values ( $\delta$ ) for are reported in ppm downfield from Me<sub>4</sub>Si ( $\delta = 0.0$  ppm) with the solvent resonance as the internal standard (<sup>1</sup>H NMR, CDCl<sub>3</sub>:  $\delta = 7.26$  ppm, CD<sub>3</sub>OD and CD<sub>3</sub>OH:  $\delta = 3.31$  ppm; <sup>13</sup>C NMR, CDCl<sub>3</sub>:  $\delta = 77.16$  ppm, CD<sub>3</sub>OD and CD<sub>3</sub>OH:  $\delta = 49.00$  ppm). Data are reported as follows: chemical shift ( $\delta$  ppm), multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, p = pentet, m = multiplet), coupling constant (Hz), integration, attribution. Melting points were determined on a Kofler melting point apparatus. High-resolution mass spectra (HRMS) were obtained using a TOF LCT Premier apparatus (Waters), with an electrospray ionization source. The purity of compounds **2.6-2.9** was determined by HPLC using the 1260 Infinity system (Agilent Technologies) and a column SUNFIRE (C18, 3.5  $\mu$ m, 150 mm X 2.1 mm); mobile phase: H<sub>2</sub>O + 0.1% formic acid/ACN gradient from 5 to 100% in 20 min. or from 1 to 60% in 20 min.; detection at 225, 230, 240 nm; flow rate 0.25 mL/min.

## Fluorescence-detected ThT binding assay

IAPP was purchased from Bachem. IAPP was dissolved in pure hexafluoro-isopropanol (HFIP) at a concentration of 1 mM and incubated for 1 hour at room temperature to dissolve any preformed aggregates. Next, HFIP was evaporated with dry nitrogen gas followed by vacuum desiccation for 3 hours. The resulting peptide film was then dissolved in DMSO to obtain stock solutions of IAPP (0:2 mM). Stock solutions of compounds were dissolved in DMSO (10, 1 and 0:1 mM). The concentration of DMSO was kept constant at 3% (v/v) in the final volume of (200  $\mu$ L). Thioflavin-T binding assays were used to measure the development of fibrils over time.



A plate reader (Fluostar Optima, BmgLabtech) and standard 96-wells flat-bottom black microtiter plates in combination with a 440 nm excitation filter and a 485 nm emission filter were used. The ThT assay was started by adding (5  $\mu$ L of a 0:2 mM IAPP stock solution and (1  $\mu$ M of stock solutions of compounds to test to a mixture of (10  $\mu$ M ThT and 10 mM Tris/HCl, 100 mM NaCl at pH 7.4.

The concentration of IAPP was held constant at (5  $\mu$ M and compounds were added to yield compound/IAPP ratios of 10/1, 1/1 and 0.1/1. The ThT assays was performed in triplicate. The ability of compounds to inhibit IAPP aggregation was assessed considering both the time of the half-aggregation ( $t_{1/2}$ ) and the intensity of the experimental fluorescence plateau (F). The extension/reduction of  $t_{1/2}$  is defined as the experimental  $t_{1/2}$  in the presence of the tested compound relative to the one obtained without the compound and is evaluated as the following percentage :  $[\frac{t_{1/2}(\text{IAPP} + \text{compound})}{t_{1/2}(\text{IAPP})} - 1] \times 100$ . The extension/reduction of the experimental plateau is defined as the intensity of experimental fluorescence plateau observed with the tested compound relative to the value obtained without the compound and is evaluated as the following percentage:  $(\frac{FI_{\text{IAPP} + \text{compound}}}{FI_{\text{IAPP}}} - 1) \times 100$ .

### **Transmission Electron Microscopy**

Samples were prepared under the same conditions as in the ThT-fluorescence assay. Aliquots of IAPP (5  $\mu$ M in 10 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl buffer, pH 7.4 in the presence and absence of the tested compounds) were adsorbed onto 300-mesh carbon grids for 2 min, washed and dried. The samples were negatively stained for 45 sec. on 2 % uranyl acetate in water. After draining off the excess of staining solution and drying, images were obtained using a ZEISS 912 Omega electron microscope operating at an accelerating voltage of 80 kV.

### **Capillary Electrophoresis (CE)**

Sample preparation: The commercial IAPP was dissolved upon reception in pure HFIP at 1 mM and incubated for 1 hour at room temperature, followed by an aliquoting and an immediate evaporation under nitrogen flow, then vacuum and storage at -20°C. Just before each kinetics, the dried peptide was reconstituted in 50 mM ammonium acetate buffer pH 3.7 at 100  $\mu$ M, which is also the background electrolyte (BGE). - CE: MDQ Instrument (SCIEX, Framingham, MA, USA) equipped with a UV detector. Detection was performed at 200 nm. Bare fused silica capillaries (50  $\mu$ m id x 365  $\mu$ m od) were purchased from Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA). Polybrene capillaries were 60 cm total length (49.8 cm to the detector). Silica capillaries were coated with a 0.2% polybrene solution. Briefly, solid polybrene was dissolved in water under heating at 50 °C. Bare fused silica capillary was preconditioned with MeOH, NaOH 1 M, NaOH 0:1 M and with H<sub>2</sub>O for in-between rinsing. All flushings were done at 20 psi for 15 min. The capillary was then coated with the 0.2% polybrene solution for 15 min at 20 psi. The coated capillary was then flushed with the background electrolyte (BGE) at 20 psi for 45 min and equilibrated under 25 kV for 2 hours. PVA coated capillaries were purchased from SCIEX (Framingham, MA, USA). The separation was carried out under -25 kV at 25 °C. The sample was injected from the inlet by hydrodynamic injection at 0.8 psi for 10 s. After each run, the capillary was rinsed for 5 min with 1 M NaOH, 5 min with water, recoated for 10 min with 0.2% polybrene, and finally equilibrated with the running buffer for 5 min at 20 psi.

## Computational methods

Initial structures of all triazolamers were generated using 2D to 3D structure conversion program MarkinSketch 6.2.1 from ChemAxon.<sup>13</sup> Compound topologies and parameters were generated using the python-based tool ACPYPE.<sup>14</sup> Simulations of CF<sub>3</sub>-1,4-Tz and 1,4-Tz-CF<sub>2</sub> compounds were performed with the molecular simulation package GROMACS versions 5.1 and 2016, respectively.<sup>15</sup> The Generalized AMBER Force Field (GAFF)<sup>16</sup> was used for both solutes and methanol solvent. Each triazolamer was initially placed in a simulation cubic box which dimension is set to the solute largest dimension plus twice 1.4 nm and filled with methanol molecules and one chloride ion to neutralize the systems. Electrostatic interactions were treated using the smooth PME method<sup>17</sup> and Lennard-Jones potentials were cut-off at the distance of 1.2 nm. Covalent bond lengths were kept constant using the LINCS procedure,<sup>18</sup> allowing a time step of 2 fs. Studied systems were first equilibrated using two short MD simulations of 1 ns each to reach the target temperature  $T = 300$  K and pressure  $P = 1$  bar. Then, each system was simulated during 200 ns in the NPT ensemble using the Nose-Hoover and Parrinello-Rahman coupling methods.<sup>19–21</sup> Trajectory coordinates were saved every 20 ps for subsequent analyses using GROMACS tools, including *gmx mindist*, *gmx angle* and *gmx gyrate* for extracting intramolecular distances, dihedral angles, and radius of gyration, respectively. Conformation ensembles were clustered with a RMSD threshold of 0.3 nm using the gromos method<sup>22</sup> implemented in the GROMACS program *gmx cluster*.

## X-ray diffraction experiments

Crystal samples of **3.9** molecule used in this study were obtained by slow evaporation of supersaturated solution of cyclohexane/EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The first crystals (**COLOR FORMS**) appear after 72 h of evaporation at room temperature. The data of **3.9** were collected at 100.0(1) K on a XXX diffractometer using graphite monochromated MoK $\alpha$  X-radiation (wavelength  $\lambda = 0.71069$  Å). The data spots were recorded as XXX-scans in order to reconstruct accurate three-dimensional diffracted intensity peak profiles. The exposure time for the recorded frames vary from XXX s (low order data) to XXX s (high order data). 12529 unique reflections were collected up to a resolution of  $\sin \theta / \lambda = 1.00$  Å<sup>-1</sup>. SORTAV<sup>23</sup> program was used for sorting and averaging data revealing the good quality of the measurements (internal  $R_{\text{int}} = 0.024$ ) with data redundancy of 6.

The crystal structure of the **3.9** compound was solved using SIR94 program<sup>24</sup> and refined using SHELX97<sup>25</sup> implemented in WinGX<sup>26</sup> package. For the electron density refinements, the Hansen-Coppens model<sup>27</sup> was applied. MOPRO program<sup>28</sup> has been used for the electron density refinement against all the structure factors  $F$  with no statistical standard deviations cut-off ( $I > 0$ ). VMOPRO<sup>28</sup> computer program was run to map out the static deformation density maps and to generate the electrostatic potential around the **3.9** molecule in the crystal. This last property exhibits the nucleophilic (negative potential) and electrophilic (positive potential) regions of the molecule and is a good indicator of the chemical reactivity.

Non-periodic theoretical calculations (isolated molecule) were performed using GAUSSIAN09.<sup>29</sup> All calculations were conducted at B3LYP/6-311++(2d,2p) level of theory. For better assessment of the robustness, the first calculations were also conducted with the standard cc-PVTZ basis set with no major difference in the outcomes.

Self-consistent field computation was considered to have converged once the population matrix elements variation did not exceed  $10^{-8}10^{-8}$  on average (RMS), and the change in energy was less than  $10^{-6}$  Hartree.

Geometry optimization was achieved when the resulting inter-nuclear forces in the system did not exceed  $10^{-5}$  Hartree/bohr (RMS) and  $1.5 \cdot 10^{-5}$  Hartree/bohr (max) while the nuclei displacements were less than  $6.0 \cdot 10^{-5}$   $6 \cdot 10^{-5}$   $6 \cdot 10^{-5}$   $4.0 \cdot 10^{-5}$   $4 \cdot 10^{-5}$   $4 \cdot 10^{-5}$  ohr (RMS). The total energies are estimated in *hartrees* (1 H = 1 atomic unit (a.u.) = 2625.5 kJ/mol) The experimental molecular geometries were systematically used as initial guess and optimized at B3LYP/6-311++(2d,2p) level of theory.

## Chapter I

### Homo *N*-difluoromethyltriazole

**General procedure A:** Click chemistry and synthesis of propargylamides.

To a solution of azide (1.0 equiv.) in dry THF (0.5 M) was added alkyne (1.0 equiv.) under Argon. At 0 °C, CuI (10 mol%) and Et<sub>3</sub>N (1.0 equiv.) were added. The mixture was stirred at room temperature for 2 hours. After completion, reaction was quenched using NH<sub>4</sub>Cl sat., extracted with EtOAc (3x). The organic layers were washed with H<sub>2</sub>O and brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. Because of the instability of the ester on silica, the product is not isolated and directly put under the following amidification condition. To a solution of difluoroacetylated triazole (1.0 equiv.) in THF (1,0 M) was added freshly distilled propargylamine (1.1 equiv.) under argon at 0 °C. The mixture was stirred at 0 °C during 1 to 2 hours. After completion, the solution was concentrated under vacuum. The crude was purified by column chromatography using the appropriate solvent.

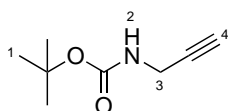
**General procedure B:** Click chemistry and synthesis of amides.

To a solution of azide (1.0 equiv.) in dry THF (0.5 M) was added alkyne (1.0 equiv.) under Argon. At 0 °C, CuI (10 mol%) and Et<sub>3</sub>N (1.0 equiv.) were added. The mixture was stirred at room temperature for 2 hours. After completion, reaction was quenched using NH<sub>4</sub>Cl sat., extracted with EtOAc. The organic layers were washed with H<sub>2</sub>O and brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. Because of the instability of the ester on silica, the product was not isolated and directly put under the following amidification condition. To a solution of difluoroacetylated triazole (1.0 equiv.) in MeOH (1.0 M) was added a solution of ammonia in methanol (7 N, 5 equiv.) under argon at 0 °C. The mixture was stirred at 0 °C during 1 to 2 hours.

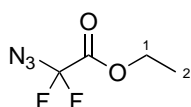
After completion, the solution was concentrated under vacuum. The crude was purified by column chromatography using the appropriate solvent.

**General procedure C:** Deprotection of *N*-terminus.

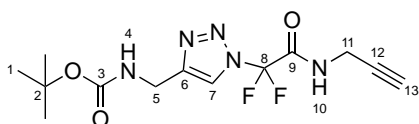
To a solution of Boc-protected *N*-difluoromethyl-triazole (1.0 equiv.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.1 M) was added a solution of HCl in dioxane (4.0 M) at 0 °C. The mixture was stirred at room temperature for 2 hours. After completion, reaction was concentrated under vacuum. The crude was used without further purification.



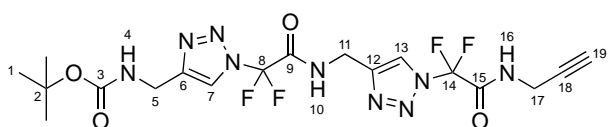
*Tert*-butyl prop-2-yn-1-ylcarbamate (**2.1**). To a solution of propargylamine (352  $\mu$ L, 5.5 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9 mL, 0.54 M) was added Et<sub>3</sub>N (1.7 mL, 12.5 mmol) and Boc<sub>2</sub>O (1.0 g, 5.0 mmol) at 0 °C. The mixture was stirred at room temperature for 3 hours. After completion, the solution was washed with water (20 mL), NH<sub>4</sub>Cl sat. (20 mL), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum to obtain a colorless solid **2.1** (713 mg, 5.1 mmol, 92 %). The crude product was used without further purification. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.90 (s, 1H, H2), 3.84 (s, 2H, H3), 2.16 (t, 1H, H4), 1.38 (s, 9H, H1).



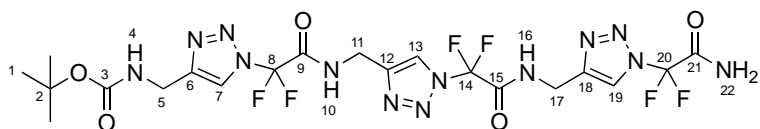
*Ethyl 2-azido-2,2-difluoroacetate* (**2.2**). To a solution of ethyl bromodifluoroacetate (2.0 g, 9.9 mmol) in DMF (5 mL, 2.0 M) was added NaN<sub>3</sub> (708 mg, 10.8 mmol). The mixture was stirred 35 °C temperature overnight. After completion (monitored by <sup>19</sup>F NMR), the solution was diluted with water (20 mL), extracted with Et<sub>2</sub>O (3x 15 mL). The organics layers were washed with water, brine and dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum to obtain **2.2** as a colorless liquid (1.1 g, 6.7 mmol, 68 %). The crude product was used without further purification. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.41 (q, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, H1), 1.40 (t, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 3H, H2).



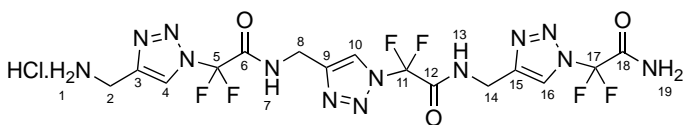
*Tert-butyl* ((1-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(prop-2-yn-1-ylamino)ethyl)-1H-1,2,3-triazole-4-yl)methyl)carbamate or *N*-difluoromethyl-triazole propargylamide monomer (**2.3**). **2.3** was obtained following the general procedure **A** from **2.1** (1.5 g, 9.8 mmol, 1.0 eq.) and **2.2** (1.6 g, 9.8 mmol, 1.0 eq.). The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 75/25) to provide **2.3** (1.7 g, 5.3 mmol, 54%) as a white solid. mp: 90-92 °C;  $R_f$  = 0.20 (c-Hex/EtOAc: 75/25);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.04 (t,  $^3J$  = 5.4 Hz, 1H, H10), 8.47 (s, 1H, H7), 7.37 (br s, 1H, H4), 4.26 (d,  $^3J$  = 5.7 Hz, 2H, H5), 4.06 (dd,  $^3J$  = 5.4 Hz,  $^4J$  = 2.3 Hz, 2H, H11), 3.23 (t,  $^4J$  = 2.3 Hz, H13), 1.39 (s, 9H, H1);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  157.6 (t,  $^2J(\text{C},\text{F})$  = 30.9 Hz, C9), 155.5 (C3), 146.7 (C6), 121.3 (C7), 110.2 (t,  $^1J(\text{C},\text{F})$  = 267.3 Hz, C8), 79.1 (C2), 74.0 (C12), 35.2 (C5), 29.0 (C11), 28.1 (C1);  $^{19}\text{F}$  NMR (188, MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  -85.8 (s, 2F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3329, 3279, 3081, 1693, 1528, 1432, 1054, 11037, 954  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive)  $m/z$   $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  cal. 330.1374, found 330.1378.



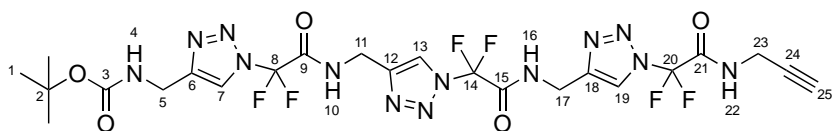
*Tert-butyl* ((1-(2-(((1-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(prop-2-yn-1-ylamino)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate or *N*-difluoromethyl-triazole propargylamide dimer (**2.4**). **2.4** was obtained following the general procedure **A** from **2.3** (1.7 g, 5.2 mmol, 1.0 eq.) and **2.2** (858 mg, 5.2 mmol, 1.0 eq.). The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 1/1) to provide **2.4** (1.30 g, 2.58 mmol, 50%) as a white solid. mp: 140-142 °C;  $R_f$  = 0.30 (c-Hex/EtOAc: 1/1);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9.24 (br s, 1H, H10, H16), 9.12 (br s, 1H, H10, H16), 8.46 (s, 1H, H7, H13), 8.31 (s, 1H, H7, H13), 6.52 (br s, 1H, H4), 4.77 (d,  $^3J$  = 5.8 Hz, 2H, H11), 4.41 (d,  $^3J$  = 6.0 Hz, 2H, H5), 4.23 (dd,  $^3J$  = 5.6 Hz,  $^4J$  = 2.6 Hz, 2H, H17), 2.79 (t,  $^4J$  = 2.6 Hz, 1H, H19), 1.42 (s, 9H, h1);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  159.3 (t,  $^2J(\text{C},\text{F})$  = 30.7 Hz, C9, C15), 148.0 (C6, C12), 145.3 (C6, C12), 122.5 (C7, C13), 121.7 (C7, C13), 111.6 (t,  $^1J(\text{C},\text{F})$  = 267.4 Hz, C8, C14), 71.2 (C2), 69.8 (C18), 36.5 (C5, C11, C17), 35.9 (C5, C11, C17), 28.6 (C1);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -87.7 (s, 2F), -88.0 (s, 2F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3295, 2980, 1674, 1523, 1426, 1393, 1367, 1251, 1163, 1034  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive)  $m/z$   $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_{10}\text{O}_4\text{F}_4$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  cal. 521.1989, found 521.1996.



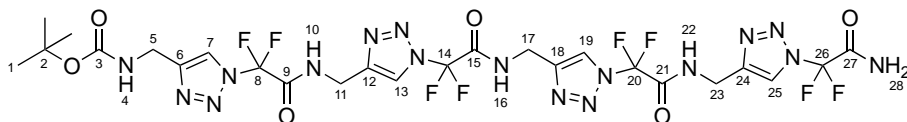
*Tert-butyl* ((1-(2-(((1-(2-(((1-(2-amino-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate or *Boc-protected N-difluoromethyl-triazole trimer (2.5)*. **2.5** was obtained following the general procedure **B** from **2.4** (382 mg, 0.76 mmol, 1.0 eq.) and **2.2** (125 mg, 0.76 mmol, 1.0 eq.). The crude product was purified by column chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 93/7) to provide **2.5** (186 mg, 0.37 mmol, 49%) as a white solid. mp: 162-164 °C; R<sub>f</sub> = 0.20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 93/7); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.20-10.14 (m, 2H, H10, H16), 8.90 (br s, 1H, H22), 8.67 (s, 1H, H7, H13, H19), 8.61 (br s, 2H, H7, H13, H19, H22), 8.51 (s, 1H, H7, H13, H19), 7.37 (br s, 1H, H4), 4.62-4.60 (m, 4H, H11, H17), 4.26 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 2H, H5), 1.39 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 159.2 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.2 Hz, C9, C15, C21), 157.9 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.7 Hz, C9, C15, C21), 157.8 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.6 Hz, C9, C15, C21), 146.8 (C6, C12, C18), 144.3 (C6, C12, C18), 144.1 (C6, C12, C18), 122.1 (C7, C13, C19), 121.3 (C7, C13, C19), 110.2 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 267.3 Hz, C8, C14, C20), 78.1 (C2), 35.2 (C5, C11, C17), 34.7 (C5, C11, C17), 28.1 (C1); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ -85.6 (s, 2F), -85.6 (s, 2F), -86.2 (s, 2F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3308, 3148, 1703, 1552, 1439, 1365, 1342, 1221, 1179, 1144 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) m/z C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>13</sub>O<sub>5</sub>F<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 640.1919, found 640.1928.



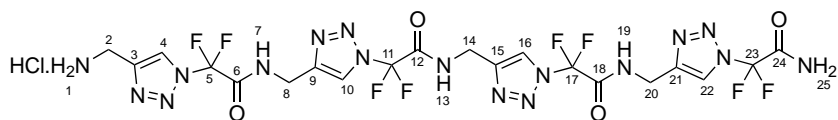
*N-((1-(2-amino-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-2-(4-((2-(4-(aminomethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamide hydrochloride* or *Unprotected N-difluoromethyl-triazole trimer (2.6)*. **2.6** was obtained following the general procedure **C** from **2.5** (52 mg, 0.082 mmol) to provide **2.6** (51 mg, 0.080 mmol, 98%) as a white solid. mp: 92-94 °C; R<sub>f</sub> = 0.10 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 9/1); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.29 (t, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 1H, H7, H13), 10.21 (t, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 1H, H7, H13), 8.91 (br s, 1H, H19), 8.82 (s, 1H, H4, H10, H16), 8.69 (s, 1H, H4, H10, H16), 8.63 (br s, 1H, H19), 8.61 (s, 1H, H4, H10, H16), 8.51 (br s, 2H, H1), 4.61 (s, 2H, H8, H14), 4.60 (s, 2H, H8, H14), 4.22 (s, 2H, H2); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 159.2 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.3 Hz, C6, C12, C18), 157.8 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.8 Hz, C6, C12, C18), 157.7 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.8 Hz, C6, C12, C18), 144.2 (C3, C9, C15), 144.1 (C3, C9, C15), 141.5 (C3, C9, C15), 123.5 (C4, C10, C16), 122.2 (C4, C10, C16), 122.1 (4, 10, 16), 110.2 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 267.9 Hz, C5, C11, C17), 34.7 (C2), 33.5 (C8, C14); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ -85.7 (s, 2F), -86.1 (s, 2F), -86.2 (s, 2F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3303, 3149, 1703, 1553, 1437, 1342, 1221, 1181, 1144, 1034 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) m/z C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>13</sub>O<sub>3</sub>F<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 540.1411, found 540.1403; HPLC analysis: column XSelect C18 2.1\*150mm – 3.5μm; eluent: H<sub>2</sub>O (0.1% formic acid)/ acetonitrile – gradient : 5-100% in 20 min; t<sub>R</sub> = 13.07 min. Area% = 100;



*Tert-butyl ((1-(2-(((1-(2-(((1-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(prop-2-yn-1-ylamino)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate or N-difluoromethyl-triazole propargylamide trimer (**2.7**). **2.7** was obtained following the general procedure **A** from **2.4** (1.16 g, 2.3 mmol, 1.0 eq.) and **2.2** (380 mg, 2.3 mmol, 1.0 eq.). The crude product was purified by column chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 93/7) to provide **2.7** (678 mg, 1.0 mmol, 43%) as a white solid. mp: 138-140 °C; R<sub>f</sub> = 0.25 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 9/1); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.21-10.08 (m, 3H, H10, H16, H22), 8.67 (s, 1H, H7, H13, H19), 8.65 (s, 1H, H7, H13, H19), 8.51 (s, 1H, H7, H13, H19), 7.37 (br s, 1H, H4), 4.62-4.60 (m, 4H, H11, H17), 4.26 (d, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 2H, H5), 4.08-4.06 (m, 2H, H23), 3.24 (t, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz 1H, H25), 1.39 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 157.9 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.4 Hz, C9, C15, C21), 157.5 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.2 Hz, C9, C15, C21), 146.8 (C6, C12, C18), 144.3 (C6, C12, C18), 144.2 (C6, C12, C18), 122.1 (C7, C13, C19), 121.3 (C7, C13, C19), 110.2 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 265.9 Hz, C8, C14, C20), 79.1 (C25), 78.1 (C2), 74.0 (C24), 35.2 (C5, C11, C17), 34.7 (C5, C11, C17), 30.4 (C5, C11, C17), 29.0 (C23), 28.1 (C1); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ -85.6 (s, 2F), -85.6 (s, 2F), -85.8 (s, 2F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3305, 2945, 1703, 1550, 1436, 1345, 1340, 1221, 1179, 1148 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) *m/z* C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>N<sub>14</sub>O<sub>5</sub>F<sub>6</sub> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> cal. 695.2356, found 695.2350.*



*Tert-butyl ((1-(2-(((1-(2-(((1-(2-(((1-(2-amino-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate or Boc-protected N-difluoromethyl-triazole tetramer (**2.8**). **2.8** was obtained following the general procedure **B** from **2.7** (66mg, 0.098 mmol, 1.0 equiv.) and **2.2** (16 mg, 0.098 mmol, 1.0 equiv.). The crude product was purified by column chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 9/1) to provide **2.8** (35 mg, 0.043 mmol, 44%) as a white solid. mp: 154-156 °C; R<sub>f</sub> = 0.20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 88/12); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.18 (br s, 3H, H10, H16, H22), 8.89 (br s, 1H, H28), 8.68 (s, 1H, H7, H13, H19, H25), 8.67 (s, 1H, H7, H13, H19, H25), 8.61 (s, 2H, H7, H13, H19, H25, H28), 8.50 (s, 1H, H7, H13, H19, H25), 7.37 (br s, 1H, H4), 4.60 (br s, 6H, H11, H17, H23), 4.25 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 2H, H5), 1.38 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 157.8 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.55 Hz, C9, C15, C21, C27), 144.3 (C6, C12, C18, C24), 144.3 (C6, C12, C18, C24), 144.1 (C6, C12, C18, C24), 122.1 (C7, C13, C19, C25), 122.1 (C7, C13, C19, C25), 122.0 (C7, C13, C19, C25), 121.1 (C7, C13, C19, C25), 110.2 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 266.39 Hz, C8, C14, C20, C26), 78.2 (C2), 35.2 (C5), 34.7 (C11, C17, C23), 28.1 (C1); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ -85.5 (s, 1F), -85.6 (s, 2F), -86.1 (s, 1F); IR (neat) : ν<sub>max</sub> 3308, 3137, 2984, 1706, 1548, 1437, 1342, 1221, 1181, 1034, 971 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) *m/z* C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>N<sub>17</sub>O<sub>6</sub>F<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 814.2202, found 814.2210.*



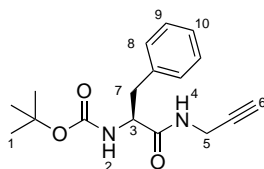
*N*-((1-(2-amino-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-2-(4-((2-(4-((2-(4-(aminomethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamide hydrochloride or [Unprotected *N*-difluoromethyl-triazole tetramer] (**2.9**). **2.9** was obtained following the general procedure **C** from **2.8** (0.015 mg, 0.018 mmol) to provide **2.9** (13 mg, 0.018 mmol, 98%) as a white solid used without further purification. mp: 104-106 °C;  $R_f = 0.1$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH: 88/12); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMF-*d*<sub>7</sub>): δ 10.35 (br s, 1H, H7, H13, H19), 10.25 (br s, 1H, H7, H13, H19), 10.13 (br s, 1H, H7, H13, H19), 8.83 (s, 1H, H4), 8.64 (s, 1H, H10, H16, H22), 8.52 (s, 1H, H10, H16, H22), 8.34 (s, 1H, H10, H16, H22), 4.80-4.74 (m, 6H, H8, H14, H20), 4.52 (s, 2H, H2); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMF-*d*<sub>7</sub>): δ 158.6 (t, <sup>2</sup>*J*(C,F) = 30.55 Hz, C6, C12, C18, C24), 145.2 (C3, C9, C15, C21), 144.9 (C3, C9, C15, C21), 143.5 (C3, C9, C15, C21), 142.9 (C3, C9, C15, C21) 123.7 (C4, C10, C16, C22), 122.9 (C4, C10, C16, C22), 122.5 (C4, C10, C16, C22), 122.4 (C4, C10, C16, C22), 110.9 (t, <sup>1</sup>*J*(C,F) = 266.19 Hz, C5, C11, C17, C23); <sup>19</sup>F NMR (188, MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ -84.2 (s, 1F), -85.7 (s, 1F), -85.8 (s, 1F) -86.1 (s, 1F); IR (neat):  $\nu_{max}$  3308, 3135, 2985, 1548, 1437, 1342, 1221, 1181, 1034, 971 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) *m/z* C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>17</sub>O<sub>4</sub>F<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 713.1678, found 713.1687; HPLC analysis: column XSelect C18 2.1\*150mm – 3.5μm; eluent: H<sub>2</sub>O (0.1% formic acid)/ acetonitrile – gradient : 5-100% in 20 min;  $t_R = 7.57$  min. Area% = 96;

## Hetero *N*-difluoromethyltriazole 1<sup>st</sup> generation

### Alkynes

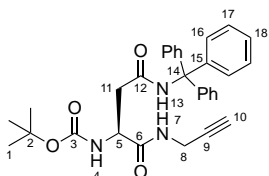
#### General procedure D

To a solution of *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-aminoacid (1.0 eq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.38 M) was added propargylamine (1,2 eq.), HOBT (1,2 eq.) and EDC (1,2 eq.). Et<sub>3</sub>N (2 eq.) was added at 0 °C and then the mixture was let to stir at room temperature for 3 hours. After completion, the solution was successively washed with 10% aqueous solution of citric acid (10 %), 10% aqueous solution of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O and brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was used in next step without further purification.

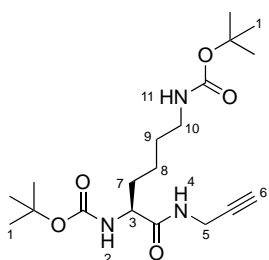


*Tert*-butyl (*S*)-(1-oxo-3-phenyl-1-(prop-2-yn-1-ylamino)propan-2-yl)carbamate (**2.10**). **2.10** was obtained following the general procedure **D** from L-phenylalanine (1.0 g, 3.8 mmol) and propargylamine (253 mg, 4.6 mmol) to obtain **2.10** (1.0 g, 3.4 mmol, 90 %) as a sticky solid. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.35-7.21 (m, 5H, H8, H9, H10), 6.09 (bs, 1H, H4), 5.00 (bs, 1H, H2), 4.34 (m, 1H, H3), 4.00 (m, 2H, H5), 3.08 (d, 2H, H7), 2.21 (s, 1H, H6), 1.43 (s, 9H, H1).





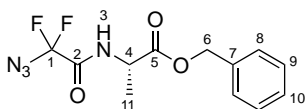
*Tert-butyl (S)-(1,4-dioxo-1-(prop-2-yn-1-ylamino)-4-(triylamino)butan-2-yl)carbamate (2.11)*. The product was obtained following the general procedure **D** from L-Boc-Asn(Trt)-OH (1.0 g, 2.1 mmol) and propargylamine (253 mg, 2.5 mmol) to obtain **2.11** (665 mg, 1.3 mmol, 62 %) as a colorless solid. mp = 76-78 °C;  $R_f = 0.3$  (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>/EtOAc 7/3); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.49 (s, 1H, H13), 8.17 (t, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 1H, H7), 7.29-7.16 (m, 15H, H16, H17, H18), 6.95 (t, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 1H, H4), 4.22 (s, 1H, H5), 3.84 (dd, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, 2H, H8), 3.05 (t, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, 1H, H10), 2.65-2.43 (m, 1H, H11), 1.39 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 171.2 (C12), 168.9 (C6), 155.0 (C3), 144.7 (C15), 128.5 (C17), 127.4 (C16), 126.3 (C18), 81.0 (C9), 78.1 (C2), 72.8 (C10), 69.4 (C14), 51.6 (C5), 38.7 (C11), 28.2 (C8), 28.1 (C1); IR (neat):  $\nu_{\max}$  3153, 2825, 1546, 1473, 1242, 1221, 1121, 1031, 970 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): *m/z* C<sub>31</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 512.2506, found 512.2508



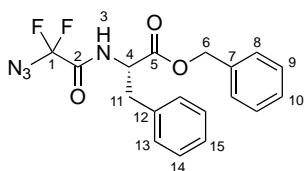
*Di-tert-butyl (6-oxo-6-(prop-2-yn-1-ylamino)hexane-1,5-diyl)(S)-dicarbamate (2.12)*. The product was obtained following the general procedure **D** from L-Boc-Lys(Boc)-OH (484 mg, 1.4 mmol, 1.0 eq.) and propargylamine (77 mg, 1.4 mmol, 1.0 eq.) to obtain **2.12** (421 mg, 1.1 mmol, 82 %) as a sticky solid. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.51 (br s, 1H, H2), 5.05 (br s, 1H, H11), 4.54 (br s, 1H, H4), 3.98-3.96 (m, 2H, H5), 3.05-3.01 (m, 2H, H10), 2.15 (t, 1H, H6), 1.84-1.53 (m, 4H, H7, H9), 1.37 (s, 18H, H1), 1.20-1.02 (m, 2H, H8).

### N-azidodifluoroacetylated aminoacids

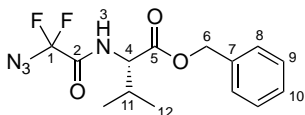
**General procedure E.** To a solution of bromodifluoroethylacetate (1.0 eq.) in DMF (0.5 M) was added NaN<sub>3</sub> (1.15 eq.) and the mixture was stirred at 35°C overnight. After completion (monitored by <sup>19</sup>F NMR) triethylamine (1.5 eq.) and aminoacid (1 eq.) were immediately added and then the mixture was heated in an ultrasound bath for 4 h. The solution was diluted with water (10 mL) and extracted with Et<sub>2</sub>O (2x10 mL). The organic layers were successively washed with H<sub>2</sub>O (10 mL) and brine (10 mL), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by column chromatography using the appropriate solvents.



**Benzyl (2-azido-2,2-difluoroacetyl)-L-alaninate (2.13).** **2.13** was obtained following the general procedure **E** from L-Alanine Benzyl ester hydrochloride (1.2 g, 5.6 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 92/8) to provide **2.13** (1.1 g, 3.8 mmol, 67 %) as a white solid.; mp = 40-42 °C;  $R_f$  = 0.3 (c-Hex/EtOAc 9/1);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.36 (s, 5H, H8, H9, H10), 7.00 (s, 1H, H3), 5.21 (s, 2H, H6), 4.66-4.57, (quint, 1H, H4), 1.49 (d,  $^3J$  = 7.14 Hz, 3H, H11);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.4 (C3), 159.2 (t,  $^2J(\text{C},\text{F})$  = 34.6 Hz, C2), 134.9 (C7), 128.7 (C8), 128.3 (C9), 113.4 (t,  $^1J(\text{C},\text{F})$  = 269.3 Hz, C1), 67.8 (C6), 48.7 (C4), 17.8 (C11);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -82.98 (d,  $^2J(\text{F},\text{F})$  = 194.9 Hz, 1F), -84.09 (d,  $^2J(\text{F},\text{F})$  = 194.5 Hz, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3083, 2834, 1546, 1413, 1321, 1111, 1081, 930  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive):  $m/z$   $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  cal. 316.1221, found 316.1121.

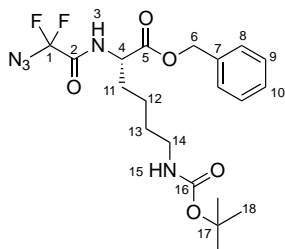


**Benzyl (2-azido-2,2-difluoroacetyl)-L-phenylalaninate (2.14).** **2.14** was obtained following the general procedure **E** from L-Phenylalanine benzyl ester hydrochloride (1.5 g, 5.1 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 9/1) to provide **2.14** (1.0 g, 2.8 mmol, 54 %) as a white solid. mp = 32-34 °C;  $R_f$  = 0.3 (c-Hex/EtOAc 9/1);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.31-7.20 (m, 5H, H7, H8, H9, H10), 7.16-7.11 (m, 3H, H13, H14, H15), 6.90-6.86 (m, H12, H13, H14, H15), 6.76 (d,  $^3J$  = 7.3 Hz, 1H, H3), 5.12 (d,  $^2J$  = 12.0 Hz, 1H, H6), 5.04 (d,  $^2J$  = 12.0 Hz, 1H, H6), 4.78 (q,  $^3J$  = 5.76 Hz, 1H, H4), 3.31 (dd,  $^2J$  = 14.0 Hz,  $^3J$  = 5.82 Hz, 1H, H11), 3.03 (dd,  $^2J$  = 14.0 Hz,  $^3J$  = 5.67 Hz, 1H, H11);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.0 (C5), 159.2 ( $^2J(\text{C},\text{F})$  = 36.7 Hz, C2), 134.7 (C7, C12), 134.6 (C7, C12), 129.3 (C9, C14), 128.8 (C8, C13), 127.5 (C10, C15), 113.3 (t,  $^1J(\text{C},\text{F})$  = 266.3 Hz, C1), 67.9 (C6), 53.5 (C4), 37.3 (C11);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -82.9 (d,  $^2J(\text{F},\text{F})$  = 194.0 Hz, 1F), -84.0 (d,  $^2J(\text{F},\text{F})$  = 194.5 Hz, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3081, 2839, 1446, 1313, 1221, 1041, 1012, 983  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive):  $m/z$   $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  cal. 392.1536, found 392.1541.

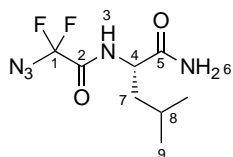


**Benzyl (2-azido-2,2-difluoroacetyl)-L-valinate (2.15).** The product was obtained following the general procedure **E** from L-Valine Benzyl ester hydrochloride (1.2 g, 4.8 mmol) The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 92/8) to provide **2.15** (1.0 g, 3.1 mmol, 65%) as a colorless liquid.  $R_f$  = 0.3 (c-Hex/EtOAc: 9/1);  $^1\text{H}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.29 (s, 5H, H8, H9, H10), 6.72 (s, 1H, H3), 5.17 (d,  $^2J$  = 12.12 Hz, 1H, H6), 5.10 (d,  $^2J$  = 12.12 Hz, 1H, H6), 4.53-4.49 (dd,  $^3J$  = 4.68, 8.76 Hz, 1H, H4), 2.24-2.13 (m, 1H, H11), 0.87 (d,  $^3J$  = 7.05 Hz, 3H, H12), 0.82 (d,  $^3J$  = 7.05 Hz, 3H, H12).

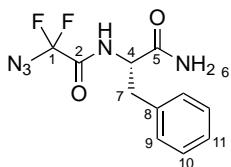
$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.4 (C3), 159.6 (t,  $^2J(\text{C},\text{F}) = 34.7$  Hz, C2), 134.9 (C7), 128.7 (C8), 128.5 (C9), 113.6 (t,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 269.2$  Hz, C1), 67.6 (C6), 57.7 (C4), 31.4 (C11), 18.7 (C12), 17.4 (C12);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -82.61 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 194.5$  Hz, 1F), -83.93 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 194.5$  Hz, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3122, 2815, 1546, 1473, 1242, 1231, 1221, 1131, 974  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive)  $m/z$   $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  cal. 344.1534, found 344.1529.



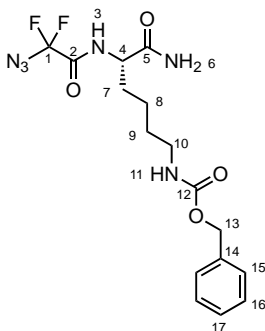
*Benzyl N<sup>2</sup>-(2-azido-2,2-difluoroacetyl)-N<sup>6</sup>-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysinate (2.16)*. The product was obtained following the general procedure **E** from L-Lysine Benzyl ester hydrochloride (1.2 g, 3.2 mmol). The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 6/4) to provide **2.16** (819 mg, 1.8 mmol, 57 %) as a yellow sticky oil.  $R_f = 0.2$  (c-Hex/EtOAc: 1/1);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 (s, 5H, H8, H9, H10), 5.08 (s, 2H, H6), 4.47 (br s, 1H, H3), 3.41 (t,  $^3J = 6.31$  Hz, 1H, H15), 2.99 (m, 2H, H14), 1.72-1.65 (m, 2H, H11), 1.55-1.50 (m, 2H, H13), 1.40-1.20 (m, 11H, H12, H18),  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.7 (C5), 159.5 (t,  $^2J(\text{C},\text{F}) = 34.6$  Hz, C2) 156.0 (C16), 134.8 (C7), 128.7 (C8), 128.5 (C9), 113.4 (t,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 269.5$  Hz, C1), 67.7 (C6), 52.6 (C4), 39.9 (C14), 31.5 (C11), 29.6 (C13), 28.4 (C18), 22.1 (C12);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -82.61 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 194.7$  Hz, 1F), -83.89 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 194.5$  Hz, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3213, 2871, 1596, 1503, 1442, 1131, 940  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS(ESI-TOF)  $m/z$   $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_5\text{F}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  cal. 478.1872, found 478.1875.



*(S)-2-(2-azido-2,2-difluoroacetamido)-4-methylpentanamide (2.17)*. **2.17** was obtained following the general procedure **E** from L-Isoleucine amide hydrochloride (800 mg, 4.8 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 1/1) to yield **2.17** (651 mg, 2.4 mmol, 51%) as a white solid. mp = 96-98 °C;  $R_f = 0.2$  (c-Hex/EtOAc 7/3);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.33 (d,  $^3J = 7.98$  Hz, 1H, H3), 6.38 (bs, 1H, H6), 6.06 (bs, 1H, H6), 4.52-4.45 (m, 1H, H4), 1.62-1.60 (m, 3H, H7, H8), 0.92-0.87 (m, 6H, H9);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  173.2 (C3), 159.8 (t,  $^2J(\text{C},\text{F}) = 34.94$  Hz, C2). 113.5 (t,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 269.56$  Hz, C1), 51.8 (C4), 41.2 (C7), 24.7 (C8), 22.7 (C9), 22.0 (C9);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -83.2 (s, 1F), -83.3 (s, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3103, 2951, 1544, 1312, 1241, 1111, 1101, 940  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive):  $m/z$   $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}_2\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  cal. 250.1116, found 250.1117.



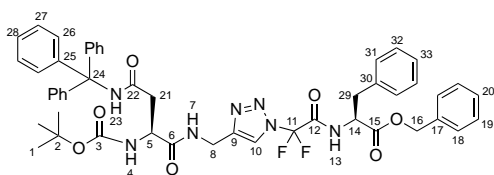
(*S*)-2-(2-azido-2,2-difluoroacetamido)-3-phenylpropanamide (**2.18**). **2.18** was obtained following the general procedure **E** from L-Phenylalanine amide hydrochloride (863 mg, 4.3 mmol) The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 45/55) to provide **2.18** (695 mg, 2.2 mmol, 52%) as a white solid.  $R_f = 0.3$  (c-Hex/EtOAc: 7/3); mp: 66-68 °C;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  9.23 (d, t,  $^3J = 8.5$  Hz, 1H, H3), 7.66 (s, 1H, H6), 7.28-7.26 (m, 6H, H6, H9, H10, H11), 4.54-4.47 (m, 1H, H4), 3.15-3.09 (dd, 1H, H7), 2.98-2.90 (dd, 1H, H7);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  171.4 (C5), 159.0. (t,  $^2J(\text{C},\text{F}) = 34.64$  Hz, C2), 137.6 (C8), 129.0 (C9), 128.0 (C10), 126.4 (C11), 113.6 (t,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 266.53$  Hz, C1), 54.6 (C4), 36.7 (C7);  $^{19}\text{F NMR}$  (188 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  -83.3 (s, 1F), -83.5 (s, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3013, 2902, 1611, 1512, 1321, 1133, 1041, 980  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive)  $m/z$  C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>F<sub>2</sub> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> cal. 301.1225, found 301.1220.



Benzyl (*S*)-(6-amino-5-(2-azido-2,2-difluoroacetamido)-6-oxohexyl)carbamate (**2.19**). The product was obtained following the general procedure **E** from L-Lysine amide hydrochloride (1.1 g, 3.4 mmol). The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 1/1) to provide **2.16** (730 mg, 1.8 mmol, 54 %) as a yellow sticky oil.  $R_f = 0.2$  (c-Hex/EtOAc: 45/55);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.34-7.31 (m, 4H, H15, H16, H17), 5.07 (s, 2H, H13), 4.38-4.34 (m, 1H, H4), 3.13-3.10 (m, 2H, H10); 1.81 (m, 2H, H7); 1.54 (m, 2H, H9), 1.42-1.40 (m, 2H, H8);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  175.4 (C5), 161.7 (C19), 158.9 (t,  $^2J(\text{C},\text{F}) = 33.2$  Hz, C2), 138.4 (C14), 129.4 (C17), 128.9 (C15, C16), 115.1 (t,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 267.1$  Hz, C1), 67.3 (C13), 54.8 (C4), 41.4 (C10), 32.4 (C9), 30.1 (C7), 24.0 (C8);  $^{19}\text{F NMR}$  (188 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  -84.3 (s, 1F), -84.5 (s, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3233, 2911, 1602, 1543, 1477, 980  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS(ESI-TOF)  $m/z$  C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>F<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> cal. 478.1874, found 478.1876.

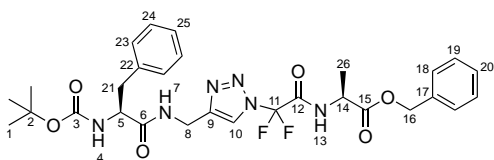
## N-difluoromethyltriazole tri/tetrapeptides

**General procedure F:** To a solution of corresponding azidodifluoroacetylated amino acid (1.0 eq.) and Boc-protected propargylamide or propargylamine (1.0 eq.) in MeOH (0.124 M) were successively added CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (5 %), Asc.Na (20 %), and TBTA (5 %). The mixture was stirred for 2 to 4 hours at room temperature. After completion, the solution was diluted in water and extracted with EtOAc. The organic layers were washed with water and brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by column chromatography using the appropriate solvents.

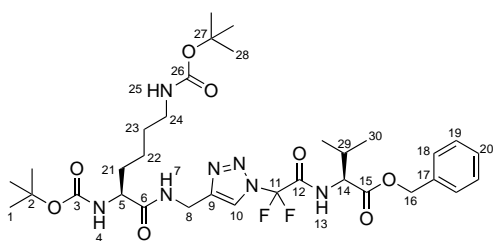


*Benzyl (2-(4-(((S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-4-oxo-4-(tritylamino)butanamido)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetyl)-L-phenylalaninate (2.20)*. **2.20** was obtained following the general procedure **F** from **2.11** (600 mg, 1.2 mmol) and **2.14** (358 mg, 1.2 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 99/1) to yield **2.20** (638 mg, 0.72 mmol, 60 %) as a white solid. mp = 82-84°C; R<sub>f</sub> = 0.4 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99/1);

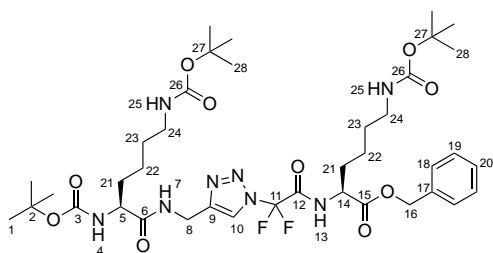
<sup>1</sup>H NMR (300, MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.87 (s, 1H, H13), 7.38-7.17 (m, 25H, H26-28, H31-33, H18-20), 7.04-7.00 (m, 2H, H7, H23), 6.00 (bs, 1H, H3), 5.24 (d, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H16), 5.17 (d, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, 1H, H16), 4.97 (q, <sup>3</sup>J = 6.48 Hz, 1H, H5), 4.58-4.53 (m, 2H, H8), 4.49-4.45 (m, 1H, H14), 3.21 (d, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, 2H, H21), 3.12 (dd, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, 1H, H21b), 2.61 (dd, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, 1H, H21a), 1.42 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.6 (22), 170.3 (6), 169.7 (15), 157.5 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.1 Hz, 12), 145.6 (C9), 144.2 (C25), 134.6 (30), 134.5 (17), 129.4 (27), 128.8 (20), 128.7 (33), 128.6 (28), 128.0 (26), 127.4 (31), 127.1 (18), 120.8 (C10), 110.1 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 269.5 Hz, C11), 80.5 (C2), 70.9 (C24), 67.9 (C16), 53.9 (C14), 51.5 (C5), 38.3 (C21), 37.3 (C29), 34.9 (C5), 28.3 (C1); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ. -86.8 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 208.9 Hz, 1F) -88.7 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 208.9 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3252, 3111, 2910, 2904, 2873, 1598, 1512, 1443, 1212, 1102, 996 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): m/z C<sub>49</sub>H<sub>50</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub>F<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 886.3863, found 886.3869.



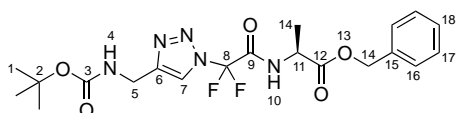
*Benzyl (2-(4-(((S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-phenylpropanamido)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetyl)-L-alaninate (2.21)*. **2.21** was obtained following the general procedure **F** from **2.10** (500 mg, 1.7 mmol) and **2.13** (493 mg, 1.7 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 65/35) to provide **2.21** (826 mg, 1.4 mmol, 81 %) as a white solid. mp = 100-102 °C; R<sub>f</sub> = 0.3 (c-Hex/EtOAc 65/35); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.87 (s, 1H, H10), 7.37 (s, 5H, H18, H19, H20), 7.17-7.13 (m, 5H, H23, H24, H25), 6.50-6.39 (m, 1H, H13), 5.23 (s, 2H, H16), 4.99 (bs, 1H, H4), 4.70 (t, <sup>3</sup>J = 7.16 Hz, 1H, H5), 4.51 (d, <sup>3</sup>J = 5.92 Hz, 2H, H8), 4.38-4.38 (m, 1H, H14) 3.06 (d, 2H, H21), 1.55 (d, <sup>3</sup>J = 7.16 Hz, 26, 3H), 1.40 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.5 (C15), 170.3 (C6), 157.9 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.3 Hz, C12), 156.2 (C3), 145.5 (C9), 134.9 (C17), 128.7 (C18), 128.5 (C19), 120.9 (C20), 110.3 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 268.9 Hz, C11), 80.3 (C2), 67.7 (C16), 55.9 (C5), 49.2 (C14), 39.9 (C21), 34.6 (C8), 28.3 (C1), 17.5 (C26); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -86.8 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 207.8 Hz, 1F), -89.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 211.9 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3213, 3001, 2954, 1593, 1501, 1252, 1211, 1141, 1013, 989 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): m/z C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>F<sub>2</sub> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> cal. 618.2852, found 618.2855.



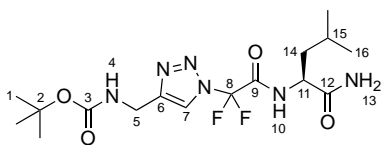
*Benzyl (2-(4-(((S)-2,6-bis((tert-butoxycarbonyl)amino)hexanamido)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetyl)-L-valinate (2.22)*. **2.22** was obtained following the general procedure **F** from **2.12** (651 mg, 1.7 mmol) and **2.15** (554 mg, 1.7 mmol). The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 6/4) to provide **2.22** (923 mg, 1.3 mmol, 77 %) as a white solid. mp: 66-68 °C; R<sub>f</sub> = 0.3 (c-Hex/EtOAc: 1/1); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.99 (s, 1H, H10), 7.30 (m, 6H, H13, H18, H19, H20), 6.97 (s, 1H, H4), 5.20 (d, <sup>2</sup>J = 12.15 Hz, 2H, H16), 5.11 (d, <sup>2</sup>J = 12.09 Hz, 2H, H16), 4.62-4.55. (dd, <sup>3</sup>J = 4.74, 8.55 Hz 1H, H14), 4.51 (d, <sup>3</sup>J = 4.96 Hz, 2H, H8), 3.99 (m, 1H, H5), 3.01 (t<sub>app</sub>, 2H, H24), 2.28-2.19 (m, 2H, H29), 1.79-1.61 (m, 2H, H23), 1.36-1.25 (m, 22H, H1, H22, H28), 0.90 (d, <sup>3</sup>J = 6.94 Hz, 3H, H30), 0.86 (d, <sup>3</sup>J = 6.94 Hz, 3H, H30); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172.5 (C16), 170.3 (C6), 157.9 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.3 Hz, C12), 156.3 (C3) 145.5 (C9), 134.9 (C17), 128.7 (C18), 128.5 (C19), 120.9 (C20), 110.3 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 268.9 Hz, C11), 80.3 (C2), 79.3 (C27), 67.6 (C16), 58.1 (C14), 54.6 (5), 39.9 (24), 34.6 (8), 31.7 (29), 31.5 (23), 29.7 (21), 28.4 (1), 28.3 (28), 22.6 (22), 18.8 (30), 17.6 (C30); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -85.9 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 207.6 Hz, 1F), -89.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 208.3 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3193, 3041, 2902, 1613, 1565, 1312, 1200, 1112, 969 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) m/z C<sub>33</sub>H<sub>53</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>F<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup> cal. 727.3954, found 727.3953.



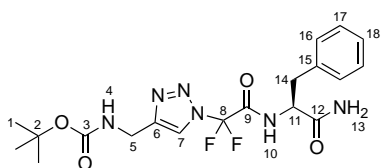
*Benzyl N<sup>2</sup>-(2-(4-(((S)-2,6-bis((tert-butoxycarbonyl)amino)hexanamido)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetyl)-N<sup>6</sup>-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysinate (2.23)*. The product was obtained following the general procedure **F** from **2.12** (575 mg, 1.5 mmol) and **2.16** (683 mg, 1.5 mmol). The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 1/1) to provide **2.23** (905 mg, 1.1 mmol, 72 %) as a sticky solid. *R<sub>f</sub>* = 0.2 (c-Hex/EtOAc: 1/1); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.96 (s, 1H, H10), 7.70 (s, 1H, H13), 7.28 (s, 5H, H18, H19, H20), 7.11 (s, 1H, H4), 5.23 (s, 1H, H25), 5.16 (d, <sup>2</sup>*J* = 12.22 Hz, 1H, H16), 5.10 (d, <sup>2</sup>*J* = 12.16 Hz, 1H, H16), 4.62-4.59. (m, 2H, H5, H14), 4.48 (s, 2H, H8), 2.98-2.95 (m, 4H, H24), 1.92-1.53 (m, 6H, H21, H23), 1.43-1.26 (m, 32H, H1, H22, H23); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 176.3, (C3), 172.7 (C15), 170.7 (C26), 157.9 (t, <sup>2</sup>*J*(C,F) = 31.8 Hz, C12), 145.6 (C9), 134.9 (C17), 128.7 (C18), 128.4 (C19), 120.8 (C20), 110.2 (t, <sup>1</sup>*J*(C,F) = 268.9 Hz, C11), 80.1 (C2), 79.2 (C27), 67.7 (C16), 54.6 (C5), 53.1 (C14), 40.0 (C24), 34.6 (C8), 31.9 (C21), 31.3 (C21), 29.6 (C23), 29.4 (C23), 28.4 (C1), 28.3 (C28), 22.6 (C22), 22.3 (C22); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -86.5 (d, <sup>2</sup>*J*(F,F) = 210.0 Hz, 1F), -88.8 (d, <sup>2</sup>*J*(F,F) = 207.9 Hz, 1F); IR (neat): *ν*<sub>max</sub> 3211, 3065, 2913, 1599, 1515, 1282, 1187, 1102, 982 cm<sup>-1</sup>; HRMS(ESI-TOF) *m/z* C<sub>39</sub>H<sub>64</sub>N<sub>9</sub>O<sub>10</sub>F<sub>2</sub> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> cal. 856.4744, found 856.4743.



*Benzyl (2-(4-(((S)-2,6-bis((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetyl)-L-alaninate (2.24)*. **2.24** was obtained following the general procedure **F** from **2.1** (465 mg, 3.0 mmol) and **2.13** (894 mg, 3.0 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 7/3) to yield **2.24** (1.0 g, 2.3 mmol, 76 %) as a white solid. mp = 120-122°C; *R<sub>f</sub>* = 0.3 (c-Hex/EtOAc 7/3); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.97 (s, 1H, H7), 7.63 (bs, 1H, H10), 7.35 (s, 5H, H16, H17, H18), 5.27 (m, 1H, H4), 5.21 (s, 2H, H14), 4.72-4.66 (m, 1H, H11), 4.43-4.41 (m, 2H, H5), (d, <sup>3</sup>*J* = 7.16 Hz, 3H, H14), 1.44 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.3 (C12), 157.6 (t, <sup>2</sup>*J*(C,F) = 32.5 Hz, C9), 155.8 (C3), 146.2 (C6), 134.8 (C15), 128.7 (C17), 128.3 (C16), 120.6 (C7), 110.2 (t, <sup>1</sup>*J*(C,F) = 269.0 Hz, C8) 80.2 (C2), 67.8 (C14), 49.1 (C11), 35.8 (C5), 28.3 (C1), 17.7 (C14); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ. -87.1 (d, <sup>2</sup>*J*(F,F) = 210.9 Hz, 1F) - 88.3 (d, <sup>2</sup>*J*(F,F) = 209.8 Hz, 1F); IR (neat): *ν*<sub>max</sub> 3102, 2923, 1601, 1542, 1243, 1222, 1107, 967 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): *m/z* C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>F<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 454.1810, found 454.1814.

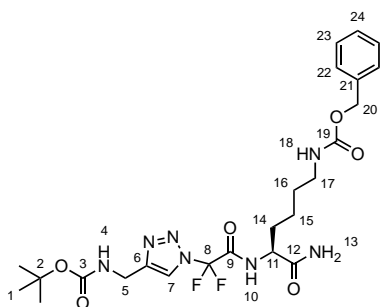


*Tert-butyl (S)-((1-(2-((1-amino-4-methyl-1-oxopentan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate (2.25)*. **2.25** was obtained following the general procedure **F** from **2.1** (388 mg, 2.5 mmol) and **2.17** (623 mg, 2.5 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 4/6) to provide **2.25** (727 mg, 1.8 mmol, 72 %) as a white solid. mp = 94-96°C; R<sub>f</sub> = 0.2 (c-Hex/EtOAc 4/6); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.94 (s, 1H, H7), 7.72 (brs, 1H, H10), 6.54 (brs, 1H, H13), 5.75 (brs, 1H, H13), 5.23 (brs, 1H, H4) 4.58-4.47 (m, 1H, H11), 4.36 (d, <sup>3</sup>J = 5.69 Hz, 2H, H5), 1.78 (m, 3H, 14, H15), 1.37 (s, 9H, H1), 0.91 (d, <sup>3</sup>J = 2.34 Hz, 3H, H16), 0.88 (d, <sup>3</sup>J = 2.34 Hz, 3H, H16); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 173.2 (C12), 158.1 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.2 Hz, C9), 155.9 (C3), 146.6 (C6), 120.5 (C7), 110.3 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 268.4 Hz, C8), 80.1 (C2), 52.4 (C11), 40.6 (C14), 35.8 (C5), 28.3 (C1), 24.8 (C15), 22.9 (C16), 21.6 (C16); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -86.0 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.5 Hz, 1F), -89.3 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.4 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3144, 2914, 1614, 1554, 1413, 1240, 1100, 988 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): m/z C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>F<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup> cal. 405.2062, found 405.2068.



*Tert-butyl (S)-((1-(2-((1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate (2.26)*. The product was obtained following the general procedure **F** from **2.1** (326 mg, 2.1 mmol, 1.0 eq.) and **2.18** (594 mg, 2.1 mmol, 1.0 eq.). The crude product was purified by column chromatography (c-Hex/EtOAc: 4/6) to provide **2.26** (657 mg, 1.5 mmol, 70%) as a white solid. mp: 120-122°C; R<sub>f</sub> = 0.2 (c-Hex/EtOAc: 4/6); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.86 (s, 1H, H10), 7.64 (s, 1H, H4), 7.21-7.19 (m, 5H, H16, H17, H18), 6.12 (s, 1H, H13), 5.85 (s, 1H, H13), 5.23 (s, 1H, H4), 4.71 (q, <sup>3</sup>J = 6.90 Hz, 1H, H11), 4.34 (d, <sup>3</sup>J = 3.52 Hz, 2H, H5), 3.24-3.03 (m, 2H, H14), 1.37 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.1 (C12), 135.4 (C15), 129.3 (C16), 129.0 (C17), 127.5 (C18), 120.4 (C7), 54.7 (C11), 37.7 (C14), 35.8 (C5), 28.3 (C1); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ. -86.0 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 206.1 Hz, 1F) -89.8 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 206.1 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3114, 3004, 2903, 1511, 1500, 1303, 1204, 1187, 976 cm<sup>-1</sup>; HRMS(ESI-TOF, ion polarity positive) m/z C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>F<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 439.1905, found 439.1909.

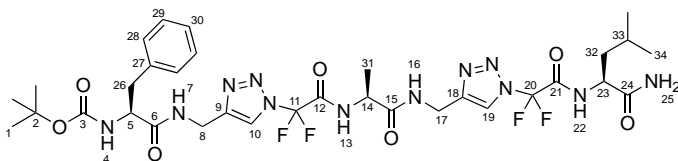




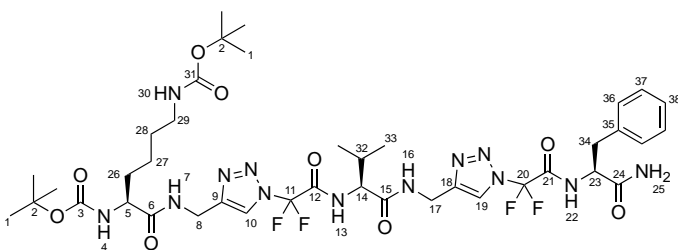
*Tert-butyl (S)-((1-(2-((1-amino-6-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-oxohexan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate (2.27).* **2.27** was obtained following the general procedure **F** from **2.1** (388 mg, 2.5 mmol) and **2.19** (995 mg, 2.5 mmol). The crude product obtained was purified by column chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH : 97/3) to provide **2.27** (747 mg, 1.4 mmol, 54 %) as a white solid. mp = 90-92°C; R<sub>f</sub> = 0.2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH : 97/3); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.33 (s, 1H, H7), 7.34 (m, 5H, H22, H23, H24), 5.07 (s, 2H, H20), 4.36 (s, 2H, H5), 4.46-4.43 (m, 1H, H11), 3.14-3.12 (m, 2H, H17), 1.94 (m, 1H, H14); 1.79 (m, 1H, H14); 1.59-1.57 (m, 2H, H16); 1.45 (s, 9H, H1), 1.30-1.27 (m, 2H, H15); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ -88.23 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 204.5 Hz, 1F), -89.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 204.4 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3094, 2932, 1514, 1454, 1400, 1199, 1023, 978 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): *m/z* C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>F<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup> cal. 576.2367, found 576.2370.

#### *N*-difluoromethyl-triazole hepta/decapeptides

**General procedure G:** Before coupling step: Benzyl ester (**2.20-24**) were deprotected using triethylsilane (3 equiv.) and palladium on carbon 10% (0.3 eq.) in MeOH (0.1 M) for 30 minutes at rt. The mixture was filtered on a short pad of celite, concentrated under vacuum and used directly. Boc-protected *N*-difluoromethyltriazole (**2.25-27**) were deprotected using a solution of HCl in dioxane (4.0 M, 10 eq.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.1 M) for 1 hour at rt. The mixture was concentrated under vacuum to provide amine-free *N*-difluoromethyltriazole which is used directly. Coupling step: To a solution of the corresponding acid (1 eq.) in dry DMF (0.38 M) was successively added HOBt (1,2 eq.) and EDC (1,2 eq.). Then, DIPEA (2.5 eq.) and the corresponding amine were added at 0 °C. The mixture was let to stir at room temperature for 5 hours. After completion, the solution was successively washed with 10% aqueous solution of citric acid (10 %), 10% aqueous solution of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O and brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography using the appropriate eluant.

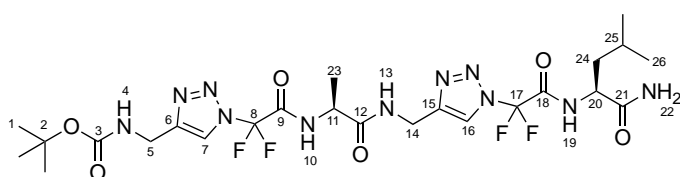


*Tert-butyl* ((*S*)-1-(((1-(2-(((*S*)-1-(((1-(2-(((*S*)-1-amino-4-methyl-1-oxopentan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)carbamate or [BocNH-Phe-[TzlCF<sub>2</sub>]-Ala-[TzlCF<sub>2</sub>]-Leu-NH<sub>2</sub> Heptapeptide] (**2.28**). **2.28** was obtained following the general procedure **G** from benzyl ester **2.21** (240 mg, 0.40 mmol) and **2.25** (162 mg, 0.40 mmol) which were both deprotected. The crude product obtained was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 99/1 to 90/10) to obtain **2.28** (154 mg, 0.19 mmol, 48 %) as a white solid. mp = 122-124°C; R<sub>f</sub> = 0.2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95/5); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.40 (s, 1H, H10), 8.23 (s, 1H, H19), 7.26-7.20 (m, 5H, H28, H29, H30), 4.59-4.58 (m, 6H, H8, H14, H17, H23), 4.30 (t, <sup>3</sup>J = 7.26 Hz, 1H, 5H), 3.01 (dd, <sup>3</sup>J = 13.64 Hz, <sup>2</sup>J = 8.14 Hz, 1H, H26), 2.99 (dd, <sup>3</sup>J = 13.64 Hz, <sup>2</sup>J = 8.14 Hz, 1H, H26), 1.81-1.69 (m, 3H, H32, H33), 1.50 (d, <sup>3</sup>J = 7.22 Hz, 3H, H31), 1.39 (s, 9H, H1), 0.99 (d, <sup>3</sup>J = 6.18 Hz, 3H, H34), 0.96 (d, <sup>3</sup>J = 6.18 Hz, 3H, H34); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 174.6 (C25), 173.1 (C15), 172.3 (C3), 158.6 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.8 Hz, C12, C21), 158.4 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.8 Hz, C12, C21), 146.1 (C9, C18), 145.8 (C9, C18), 137.0 (C27), 129.0 (C28), 128.0 (C29), 126.4 (C30), 121.3 (C10, C19), 121.1 (C10, C19), 110.5 (t, <sup>1</sup>J(F,F) = 267.1 Hz, C11, C20), 110.3 (t, <sup>1</sup>J(F,F) = 267.0 Hz, C11, C20), 79.3 (C2), 56.2 (C23), 52.3 (C5), 50.1 (C14), 40.0 (C32), 37.7 (C26), 34.3 (C8), 34.0 (C17), 27.3 (C1), 24.6 (C33), 22.1 (C34), 20.2 (C34), 15.9 (C31); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ -87.4 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 25.75 Hz), -88.0 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 25.75 Hz), -88.6 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 71.16 Hz), -89.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 71.16 Hz); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3276, 3164, 3113, 2932, 2897, 1611, 1546, 1300, 1234 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): *m/z* C<sub>33</sub>H<sub>44</sub>N<sub>12</sub>O<sub>7</sub>NaF<sub>4</sub> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> cal. 819.3290, found 819.3292.

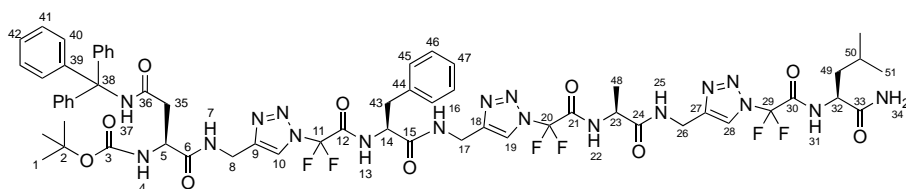


*Di-tert-butyl* ((*S*)-6-(((1-(2-(((*S*)-1-(((1-(2-(((*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-6-oxohexane-1,5-diyl)dicarbamate (**2.29**). **2.29** was obtained following the general procedure **G** from benzyl ester **2.22** (240 mg, 0.40 mmol) and **2.26** (162 mg, 0.40 mmol) which were both deprotected. The crude product obtained was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 99/1 to 90/10) to obtain **2.29** (154 mg, 0.19 mmol, 48 %) as a white solid. The crude product was purified by flash chromatography (DCM/MeOH: 98/2 to 90/10) to obtain a white solid (33 %). mp = 124-126 °C; R<sub>f</sub> = 0.2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 94/6);

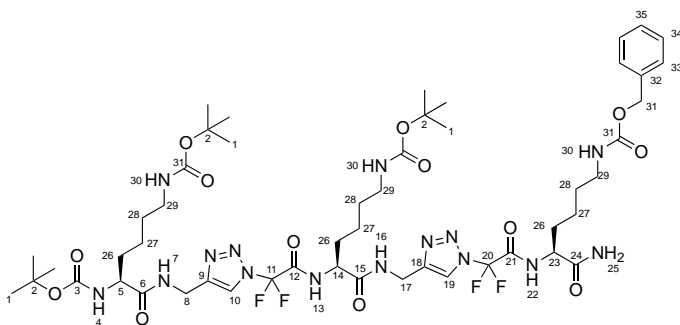
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.35 (s, 1H, H10), 8.15 (s, 1H, H19), 7.28-7.22 (m, 5H, H36, H37, H38), 4.78-4.74 (m, 4H, H8, H17), 4.54-4.51 (m, 4H, H5, 14), 4.28-4.25 (m, 1H, H23), 3.97 (m, 1H, 4), 3.28-3.27 (m, 2H, H29), 3.03-3.00 (m, 2H, H34), 2.24-2.16 (m, 2H, H26), 1.74-1.70 (m, 1H, H32), 1.63-1.59 (m, 2H, H28), 1.47-1.35 (m, 21H, H1, H27), 0.98 (d,  $^3J = 6.79$  Hz, 3H, H33), 0.96 (d,  $^3J = 6.79$  Hz, 3H, H33).  $^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  175.7 (C24), 174.5 (C15), 172.3 (C6), 160.0 (t,  $^2J(\text{C},\text{F}) = 31.90$  Hz, C12, C21), 147.7.9 (C18), 146.9 (C19), 138.0 (C35), 130.3 (C37), 129.6 (C36), 127.9 (C38), 122.7 (C10), 122.4 (C19), 111.9 (t,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 267.03$  Hz, C11), 111.6 (t,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 267.58$  Hz, C20), 80.7 (C2), 79.9 (C2), 61.4 (11), 56.4 (C5, C15), 41.0 (C8), 38.3 (C17), 35.5 (C29), 35.4 (C26), 32.7 (C28), 31.6 (C27), 28.8 (C1), 28.7 (C1) 24.2 (21), 19.6 (C33), 19.0 (C33);  $^{19}\text{F}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  -86.5 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 26.3$  Hz), -86.9 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 26.3$  Hz), -87.6 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 69.9$  Hz), -88.2 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 69.9$  Hz); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3200, 3121, 2813, 1652, 1555, 1411, 1265, 987  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF)  $m/z$   $\text{C}_{40}\text{H}_{61}\text{N}_{14}\text{O}_9\text{F}_4$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  cal. 957.4682, found 957.4680.



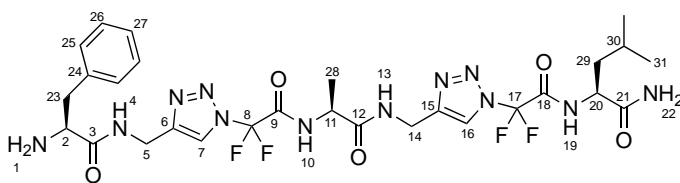
*Tert-butyl(((1-(2-(((S)-1-(((1-(2-(((S)-1-amino-4-methyl-1-oxopentan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate or [BocNH-[TzlCF<sub>2</sub>]-Ala-[TzlCF<sub>2</sub>]-Leu-NH<sub>2</sub> Hexapeptide] (2.30). 2.30 was obtained following the general procedure G from 2.24 (313 mg, 0.69 mmol) and 2.25 (279 mg, 0.69 mmol) which were both deprotected. The crude product obtained was purified by flash chromatography ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 99/1 to 90/10) to yield 2.30 (220 mg, 0.34 mmol, 49 %) as a white solid.  $R_f = 0.2$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  95/5); mp = 122-124°C;  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8.39 (s, 1H, H7), 8.34 (s, 1H, H16), 4.57 (s, 2H, H14), 4.53-4.50 (m, 2H, H11/20), 4.37 (s, 2H, H5), 1.74-1.72 (m, 3H, H24/25), 1.48 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 3H, H23), 1.44 (s, 9H, H1), 0.96 (d,  $^3J = 6.8$  Hz, 6H, H26);  $^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  176.0 (C21), 173.7 (C12), 148.1 (t,  $^2J(\text{C},\text{F}) = 30.7$  Hz, C9/C18), 147.3 (C6/15), 122.6 (C7), 122.2 (C16), 111.9 (t,  $^1J(\text{F},\text{F}) = 267.3$  Hz, C8), 111.7 (t,  $^1J(\text{F},\text{F}) = 267.9$  Hz, C17), 53.8 (C20), 51.5 (C11), 41.4 (5), 36.5 (C2), 35.7 (C24), 28.7 (C1), 26.0 (C25), 23.4 (C26b), 21.6 (C26a), 17.3 (C23);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  -87.5 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 205.5$  Hz), -87.7 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 205.5$  Hz), -89.1 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 205.5$  Hz), -89.2 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 207.6$  Hz); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3276, 3164, 3113, 2932, 2897, 1611, 1546, 1300, 1234  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive):  $m/z$   $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_{11}\text{O}_6\text{F}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  cal. 650.2801, found 650.2795.*



*Tert-butyl ((S)-1-(((1-(2-(((S)-1-(((1-(2-(((S)-1-(((1-(2-(((S)-1-amino-4-methyl-1-oxopentan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1,4-dioxo-4-(tritylamino)butan-2-yl)carbamate or [BocNH-Asn(Trt)-[TzlCF<sub>2</sub>]-Phe-[TzlCF<sub>2</sub>]-Ala-[TzlCF<sub>2</sub>]-Leu-NH<sub>2</sub> Decapeptide] (**2.31**). **2.31** was obtained following the general procedure **G** from **2.20** (284 mg, 0.32 mmol) and **2.30** (208 mg, 0.32 mmol) which were bot deprotected. The crude product obtained was purified by recrystallisation in MeOH to yield **2.31** (180 mg, 0.14 mmol, 42 %) as a white solid; mp = 112-114°C; R<sub>f</sub> = 0.2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 93/7); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.56 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 1H, H22), 9.69 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 1H, H31), 9.56 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, H13), 8.80 (t, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, 1H, H16), 8.66 (t, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 1H, H25), 8.53 (brs, 1H, H34b), 8.51 (s, 1H, H19), 8.43 (s, 1H, H28), 8.41 (t, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, 1H, H7), 8.13 (s, 1H, H10), 7.48 (brs, 1H, H34a), 7.28-7.14 (m, 20H, H40, H41, H42, H45, H46, H47), 7.05 (d, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 1H, H4), 4.69-4.63 (m, 1H, H32), 4.53-4.50 (m, 2H, H11/20), 4.37 (s, 2H, H5), 1.74-1.72 (m, 3H, H24/25), 1.48 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, H23), 1.72-1.51 (m, 3H, H49/50), 4.51-4.31 (m, 8H, H5, H8, H14, H17, H26), 4.25-4.20 (m, 1H, H23), 3.14 (dd, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 1H, H23b), 2.98 (dd, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 1H, H43a) 2.64 (dd, <sup>2</sup>J = 14.2 Hz <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H35b), 2.53 (dd, <sup>2</sup>J = 14.2 Hz <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H35a), 1.39 (s, 9H, H1), 1.36 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 6H, H48), 0.89 (d, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 6H, H51b), 0.86 (d, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 6H, H51a); <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):δ 172.5 (C33), 171.7 (C24), 170.8 (C16), 169.6 (C7), 168.9 (C37), 157.5 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.9 Hz, C12), 157.4 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 30.8 Hz, C21), 155.2 (C3), 146.2 (C8), 145.8 (C17), 145.5 (C26), 144.7 (C39), 137.2 (C44), 129.0 (C46), 128.5 (C41), 128.1 (C45), 127.4 (C40), 126.4 (C47), 126.3 (C42), 121.7 (C19), 121.5 (C28), 121.2 (C10), 110.2 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 266.9 Hz, C20), 110.1 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 266.2 Hz, C29), 78.3 (C2), 69.4 (C38), 55.0 (C14), 52.0 (C32), 51.8 (C23), 49.3 (C5), 38.5 (C49), 36.7 (C8/17/26), 34.1 (C35), 34.0 (C43), 28.2 (C1), 24.2 (C50), 23.0 (C51b), 21.1 (C51a), 17.2 (C48); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):δ -87.5 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.5 Hz), -87.7 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.5 Hz), -89.1 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.5 Hz), -89.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 207.6 Hz); IR (neat): ν<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup> 3199, 3104, 2972, 2917, 1601, 1526, 1234, 928; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): *m/z* C<sub>61</sub>H<sub>69</sub>N<sub>18</sub>O<sub>10</sub>F<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 1327.5308, found 1327.5311.*

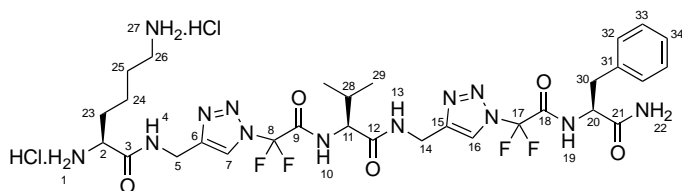


*Di-tert-butyl* ((*S*)-6-(((1-(2-(((*S*)-1-(((1-(2-(((*S*)-1-amino-6-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-oxohexan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-6-((tert-butoxycarbonyl)amino)-1-oxohexan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-6-oxohexane-1,5-diyl)dicarbamate (**2.32**). **2.32** was obtained following the general procedure **G** from benzyl ester **2.23** (599 mg, 0.80 mmol) and **2.27** (392 mg, 0.80 mmol) which were both deprotected. The crude product obtained was purified by flash chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 99/1 to 90/10) to obtain **2.32** (189 mg, 0.16 mmol, 20 %) as a white solid. The crude product was purified by flash chromatography (DCM/MeOH: 95/5) to obtain a white solid (33 %). mp = 104-106°C; R<sub>f</sub> = 0.3 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 94/6); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.65 (bs, 1H, H22), 8.52 (bs, 1H, H13), 8.37 (s, 2H, H10, H19), 7.46 (bs, 1H, H30), 7.32-28 (m, 5H, H33, H34, H35), 7.20 (bs, 1H, H30), 7.15 (bs, 1H, H30), 6.89 (bs, 1H, H4), 6.71 (bs, 2H, H25); 5.05 (s, 2H, H31), 4.54-4.52 (m, 4H, H8, H17), 4.46-4.43 (m, 3H, H5, H14, H23), 3.12 (m, 2H, H29), 3.03 (m, 2H, H29), 2.99 (m, 2H, H29), 1.72 (m, 2H, H26); 1.91 (m, 2H, H26); 1.61 (m, 2H, H26), 1.53-1.51 (m, 6H, H28), 1.42 (s, 27H, s, H1), 1.36-1.35 (m, 2H, H27), 1.34-1.32 (m, 2H, H27), 1.29-1.27 (m, 2H, H27); <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 174.2 (C24), 171.6 (C5, C13, C32), 128.0 (C32), 127.5 (C34), 127.3 (C33), 121.3 (C19), 121.0 (C10), 110.4 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 264.8 Hz, C11, C20), 80.5 (C1), 65.9 (C31), 54.9 (C5), 54.3 (C14), 53.8 (C23), 40.0 (C8, C17), 39.6 (C2), 30.8 (C29), 30.5 (C26), 27.3 (C1), 22.7 (C27); <sup>19</sup>F NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ -88.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 203.8 Hz), -87.7 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 203.9 Hz); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3241, 3064, 3021, 2912, 2888, 1511, 1506, 1234 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF) *m/z* C<sub>40</sub>H<sub>61</sub>N<sub>14</sub>O<sub>9</sub>F<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> cal. 1207.5684, found 1207.5687.

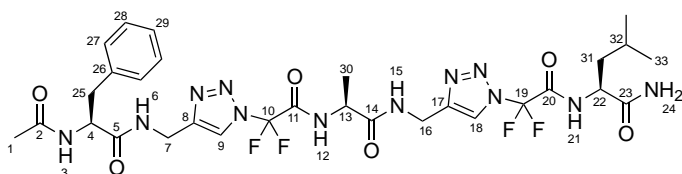


(*S*)-2-(2-(4-(((*S*)-2-(2-(4-(((*S*)-2-amino-3-phenylpropanamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)propanamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)-4-methylpentanamide Hydrochloride or [NH<sub>2</sub>-Phe-[TzlCF<sub>2</sub>]-Ala-[TzlCF<sub>2</sub>]-Leu-NH<sub>2</sub> Heptapeptide.HCl] (**2.33**). To a solution of **2.28** (100 mg, 0.126 mmol, 1 eq.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added at 0 °C drop by drop a solution of HCl in dioxane (4.0 M, 10 eq.). After 2 hours, the mixture was concentrated under vacuum. The crude hydrochloride salt **2.33** (90 mg, 0.122 mol, 97%) obtained was used in next step without further purification. mp = 170-172°C; R<sub>f</sub> = 0.1 (EtOAc/MeOH 8/2);

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.38 (s, 1H, H7, H16), 8.25 (s, 1H, H7, H16), 7.28-7.21 (m, 5H, H25, H26, H27), 4.60-4.48 (m, 6H, H5, H11, H14, H20), 4.07 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 1H, H2), 3.18 (dd, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 1H, H23), 3.08 (dd, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 1H, H23), 1.88-1.68 (m, 3H, H29, H30), 1.48 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, H28), 0.97 (d, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 3H, H31), 0.94 (d, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 3H, H31)  
<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OH): δ 176.0 (C21), 173.7 (C13), 169.5 (C3), 160.0 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.2 Hz, C9, C18), 159.7 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.1 Hz, C9, C18), 147.2 (C6, C15), 146.4 (C6, C15), 135.4 (C24), 130.5 (C25), 130.1 (C26), 128.9 (C27), 122.9 (C7, C16), 122.6 (C7, C16), 111.9 (t, <sup>1</sup>J(F,F) = 266.8 Hz, C8, C17), 111.7 (t, <sup>1</sup>J(F,F) = 267.4 Hz, C8, C17), 55.8 (C20), 53.8 (C2), 51.5 (C11), 41.4 (C29), 38.5 (C23), 35.7 (C14), 35.3 (C5), 26.0 (C30), 23.4 (C31), 21.6 (C31), 17.4 (C28); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ -87.6 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.6 Hz), -88.0 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 206.2 Hz), -88.8 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.7 Hz), -89.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 206.4 Hz); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3256, 3104, 3016, 2904, 1675, 1586, 1454, 1224, 1192 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): *m/z* C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>N<sub>12</sub>O<sub>5</sub>NaF<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> cal. 697.2950, found 697.2922.

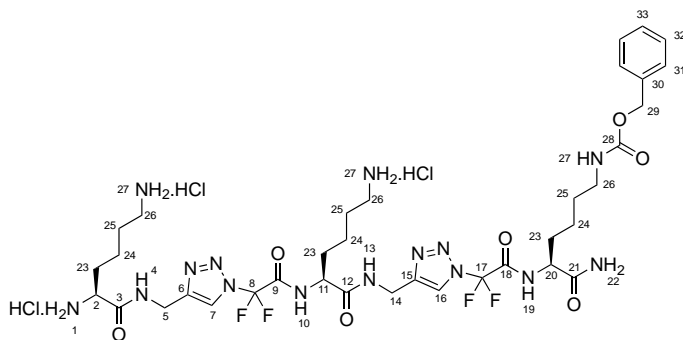


(*S*)-2,6-diamino-*N*-(((1-(2-(((*S*)-1-(((1-(2-(((*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)amino)-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)hexanamide dihydrochloride (**2.34**). To a solution of **2.29** (120 mg, 0.128 mmol, 1 eq.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added at 0 °C drop by drop a solution of HCl in dioxane (4.0 M, 10 eq.). After 2 hours, the mixture was concentrated under vacuum. The crude hydrochloride salt **2.34** (99 mg, 0.122 mol, 95%) was used in next step without further purification. mp = 114-116 °C; R<sub>f</sub> = 0.1 (EtOAc/MeOH: 8/2); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OH): δ 9.64 (t, <sup>3</sup>J = 7.32 Hz, 1H, H19), 9.51 (t, <sup>3</sup>J = 7.89 Hz, 1H, H10), 9.07-9.02 (m, 1H, H4), 8.93-8.91 (m, 1H, H13), 8.47 (s, 1H, H7), 8.46 (s, 1H, H7), 8.37 (br. s, 1H, H1), 8.34 (br. s, 1H, H1), 8.18 (s, 1H, H16), 8.17 (s, 1H, H16) 7.88-7.81 (m, 3H, H22, H27), 7.36 (br. s, 1H, H22), 7.30-7.26 (m, 4H, H32, H33), 7.24-7.22 (m, 1H, H34), 4.76-4.73 (m, 1H, H20), 4.63-4.50 (m, 4H, H5, H14), 4.24-4.21 (m, 1H, H11), 3.92-3.90 (m, 1H, H2), 3.14 (dd, <sup>3</sup>J = 13.93 Hz, <sup>2</sup>J = 175.48 Hz, 1H, H30), 3.13 (dd, <sup>3</sup>J = 13.93 Hz, <sup>2</sup>J = 180.40 Hz, 1H, H30), 2.94-2.90 (m, 2H, H26), 2.21-2.16 (m, 1H, H28), 1.92-1.83 (m, 2H, H23), 1.71-1.66 (m, 2H, H25), 1.47-1.42 (m, 2H, H24), 1.00 (d, <sup>3</sup>J = 6.78 Hz, 3H, H29), 0.96 (d, <sup>3</sup>J = 6.78 Hz, 3H, H29); <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OH): δ 174.5 (C21), 172.4 (C12), 170.0 (C3), 159.7 (t, <sup>2</sup>J(C,F) = 31.73 Hz, C9, C18), 146.9 (C15), 146.5 (C6), 138.0 (C31), 130.3 (C32), 129.6 (C33), 128.0 (C34), 122.8 (C7), 122.7 (C16), 111.9 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 267.31 Hz, C17), 111.7 (t, <sup>1</sup>J(C,F) = 267.77 Hz, C8), 61.6 (C11), 56.5 (C20), 54.2 (C2), 40.3 (C26), 38.3 (C30), 35.3 (C5, C14), 32.0 (C23), 31.5 (C28), 28.1 (C25), 22.8 (C24), 19.6 (C29), 19.0 (C29); <sup>19</sup>F NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ -87.3 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 82.23 Hz, 1F), -87.9 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 81.89 Hz, 1F), -89.4 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 69.69 Hz, 1F), -89.6 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 69.73 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3276, 3164, 3113, 2932, 2897, 1611, 1546, 1300, 1234 cm<sup>-1</sup> HRMS (ESI-TOF) *m/z* C<sub>28</sub>H<sub>43</sub>N<sub>13</sub>O<sub>5</sub>NaF<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> cal. 740.3344, found 740.3364.



(*S*)-2-(2-(4-(((*S*)-2-(2-(4-(((*S*)-2-acetamido-3-phenylpropanamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)propanamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)-4-methylpentanamide or [AcNH-Phe-[TzlCF<sub>2</sub>]-Ala-[TzlCF<sub>2</sub>]-Leu-NH<sub>2</sub> Heptapeptide] (**2.35**). To a solution of the previous hydrochloride salt **2.33** (50 mg, 0.07 mmol, 1.0 eq.) in dry methanol (0.1 M) was added acetic anhydride (10 mg, 0.1 mmol 1.5 eq.) and triethylamine (1.5 equiv.). After completion, monitored by TLC, the mixture was concentrated under vacuum and purified by silica column chromatography using CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 9/1 as eluant to provide **2.35** (44 mg, 0.06 mmol, 88 %) as a white solid; mp = 138-140°C; R<sub>f</sub> = 0.2 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1); <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OH): δ 175.0 (C23), 172.6 (C5, C14), 172.1 (C2), 146.5 (C7, C16), 137.1 (C26), 129.6 (C28), 128.2 (C27), 126.6 (C29), 121.3 (C9, C18), 55.2 (C4), 52.5 (C22), 50.3 (C13), 40.0 (C31), 37.6 (C25), 24.6 (C32), 22.3 (C33), 21.7 (C1), 20.3 (C33), 16.2 (C30); <sup>19</sup>F NMR (564 MHz, CD<sub>3</sub>OH): δ -87.9 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.5 Hz), -88.1 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 204.8 Hz), -89.0 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 206.0 Hz), -89.3 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 205.8 Hz); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3268, 3123, 3100, 2976, 1611, 1546, 1521, 1412, 1402, 1318, 1211, 1132 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): *m/z* C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>12</sub>O<sub>6</sub>NaF<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> cal. 761.2958, found 761.2961.

Compounds **2.36/2.37** are not described below as they were not obtained clean enough. Their synthesis is still in progress.

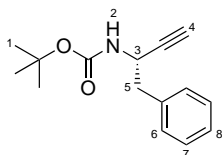


Benzyl ((*S*)-6-amino-5-(2-(4-(((*S*)-6-amino-2-(2-(4-(((*S*)-2,6-diaminohexanamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)hexanamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetamido)-6-oxohexyl)carbamate trihydrochloride (**2.38**). To a solution of **2.32** (85 mg, 0.055 mmol, 1 eq.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added at 0 °C drop by drop a solution of HCl in dioxane (4.0 M, 10 eq.). After 2 hours, the mixture was concentrated under vacuum. The crude hydrochloride salt **2.38** (50 mg, 0.05 mol, 91%) obtained was used in next step without further purification. mp = 104-106°C; R<sub>f</sub> = 0.1 (EtOAc/MeOH: 8/2); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.68 (bs, 1H, H19), 8.54 (bs, 1H, H10), 8.35 (s, 2H, H7, H16), 7.35-29 (m, 5H, H31, H32, H33), 7.20 (bs, 1H, H30), 7.15 (bs, 1H, H27), 5.05 (s, 2H, H29), 4.54-4.52 (m, 4H, H5, H14), 4.46-4.43 (m, 3H, H2, H11, H20), 3.12 (m, 2H, H26), 3.03 (m, 2H, H26), 2.99 (m, 2H, H26), 1.72 (m, 2H, H23); 1.91 (m, 2H, H23); 1.61 (m, 2H, H23), 1.53-1.51 (m, 6H, H25), 1.36-1.35 (m, 2H, H24), 1.34-1.32 (m, 2H, H24), 1.29-1.27 (m, 2H, H24);

$^{19}\text{F}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  -88.9 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 204.7$  Hz), -88.2 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 204.5$  Hz); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3241, 3064, 3021, 2912, 2888, 1511, 1506, 1234  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF)  $m/z$   $\text{C}_{40}\text{H}_{61}\text{N}_{14}\text{O}_9\text{F}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  cal. 884.4222, found 884.4225.

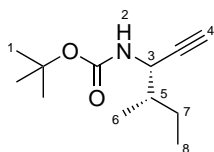
## Hetero *N*-difluoromethyltriazole 2<sup>nd</sup> generation

**General procedure H:** *i*-Pr<sub>2</sub>NEt (2.0 equiv) was added to a solution of the amino acid (1.0 equiv), *N,O*-dimethylhydroxylamine·HCl (1.1 equiv) and HOBT (1.1 equiv) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.3 M with respect to amino acid) under nitrogen. EDC·HCl (1.1 equiv) was added to the mixture at 0 °C and stirring was continued for 3 h, after which it was allowed to reach room temperature. The mixture was diluted with EtOAc (2 × volume of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), washed with 5% aq.  $\text{KHSO}_4$  (2×), 5% aq.  $\text{NaHCO}_3$  (2×), and brine (2×). The organic phase was dried ( $\text{MgSO}_4$ ), filtered, and concentrated in vacuo to give the crude Weinreb amide. The crude product was dissolved in dry THF (0.25 M) and  $\text{LiAlH}_4$  (1.25 equiv) was added in one portion at 0 °C under nitrogen. After stirring at 0 °C for 1 h the reaction was quenched with 5% aq.  $\text{KHSO}_4$ . The mixture was diluted with EtOAc and washed with 5% aq.  $\text{KHSO}_4$  (2×), 5% aq.  $\text{NaHCO}_3$  (2×), and brine (2×). The organic phase was dried ( $\text{MgSO}_4$ ), filtered, and concentrated in vacuo to give the crude aldehyde, which was used directly without further purification.  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (3.0 equiv) and *p*-toluenesulfonylazide (1.2 equiv) were suspended in MeCN (0.5 M with respect to *p*-toluenesulfonylazide) under nitrogen. Dimethyl-(2-oxopropyl)-phosphonate (1.2 equiv) was added and the mixture was stirred for 4–8 h. A solution of the crude aldehyde in dry MeOH (1.6 M) was added. After stirring for 16 h, the solvents were removed in vacuo and the crude residue was dissolved in EtOAc, washed with water (2×) and brine (2×), dried ( $\text{MgSO}_4$ ), filtered, and concentrated in vacuo. The crude material was purified by silica chromatography using the appropriate eluent.

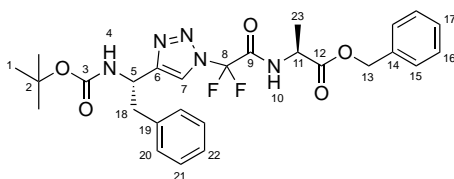


*Tert*-butyl (*S*)-(1-phenylbut-3-yn-2-yl)carbamate (**2.39**). The product was obtained following the general procedure **H** from Boc-*L*-phenylalanine (2.7 g, 10.2 mmol). The crude product obtained was purified by flash chromatography (c-Hex/EtOAc: 99/1 to 90/10) to obtain **2.39** (1.2 g, 4.9 mmol, 48 %) as a sticky solid.  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.35–7.21 (m, 5H, H8, H9, H10), 6.09 (br s, 1H, H2), 5.00 (br s, 1H, H4), 4.34 (m, 1H, H3), 4.00 (m, 2H, H5), 3.08 (d, 2H, H7), 2.21 (s, 1H, H6), 1.43 (s, 9H, H1).

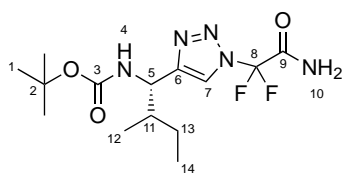




*Tert-butyl ((3S,4S)-4-methylhex-1-yn-3-yl)carbamate (2.40)*. The product was obtained following the general procedure **H** from Boc-L-isoleucine (1.9 g, 8.2 mmol). The crude product obtained was purified by flash chromatography (c-Hex/EtOAc: 99/1 to 90/10) to obtain **2.40** (886 mg, 4.2 mmol, 51 %) as a sticky solid. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.45 (d, 1H, H3), 2.24 (d, 1H, H4), 2.08-2.04 (m, 1H, H5), 1.55-1.53 (m, 2H, H7), 1.43 (s, 9H, H1), 0.99-0.95 (m, 6H, H6, H8).



*Benzyl (2-(4-((S)-1-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-phenylethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2,2-difluoroacetyl)-L-alaninate (2.41)*. The product was obtained following the general procedure **F** from **2.39** (514 mg, 2.1 mmol) and **2.13** (626 mg, 2.1 mmol). The crude product obtained was purified by flash chromatography (c-Hex/EtOAc: 8/2) to obtain **2.41** (923 mg, 1.7 mmol, 81 %) as a white solid. R<sub>f</sub> = 0.2 (c-Hex/EtOAc: 8/2); mp = 88-90°C; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.61 (s, 1H, H7), 7.38 (s, 5H, H15, H16, H17), 7.24-7.20 (m, 3H, H20, H21, H22), 7.11-7.07 (m, 2H, H20, H21, H22), 5.24 (s, 2H, H13), 5.18-5.11 (m, 2H, H4, H5), 4.69 (p, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1H, H11), 3.23-3.20 (m, 2H, H18), 1.55 (d, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 3H, H23), 1.41 (s, 9H, H1); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.1 (C12), 135.4 (C15), 129.3 (C16), 129.0 (C17), 127.5 (C18), 120.4 (C7), 54.7 (C11), 37.7 (C14), 35.8 (C5), 28.3 (C1); <sup>19</sup>F NMR (188 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -87.2 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 209.3 Hz, 1F) -88.9 (d, <sup>2</sup>J(F,F) = 209.5 Hz, 1F); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3193, 3102, 2932, 1623, 1562, 1313, 1244, 1111, 925 cm<sup>-1</sup>; HRMS(ESI-TOF) m/z C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>F<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> cal. 544.2283, found 544.2289.



*Tert-butyl ((1S,2R)-1-(1-(2-amino-1,1-difluoro-2-oxoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-2-methylbutyl)carbamate (2.42)*. To a solution of **2.2** (775 mg, 4.7 mmol, 1 equiv.) and **2.40** (1.0 g, 4.7 mmol, 1 equiv.) in MeOH (0.124 M) were added CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (5 %), Asc.Na (20 %), and TBTA (5 %). The mixture was stirred for 2 to 4 hours at room temperature. After completion, the solution was diluted in water and extracted with EtOAc. The organic layers were washed with water and brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was dissolved in MeOH (1.0 M) and a solution of ammonia in methanol (3.3 ml, 23 mmol, 7 N, 5 equiv.) was added at 0 °C. The mixture was stirred at room temperature during 1 to 2 hours. After completion, the solution was concentrated under vacuum.

The crude was purified by column chromatography using c-Hex/EtOAc: 8/2 as eluant to provide **2.42** (1.4 g, 4.0 mmol, 85 %) as a white solid. mp = 120-122°C; R<sub>f</sub> = 0.2 (c-Hex/EtOAc: 4/6);

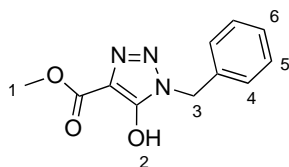
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.46 (brs, 1H, 4), 7.88 (s, 1H, 7), 7.23 (brs, 2H, 10), 4.65 (m, 1H, 5), 2.44 (m, 1H, 11), 1.58 (m, 2H, 13), 1.37 (s, 9H, 1) 0.95-0.93 (m, 6H, 12, 14);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.1 (12), 135.4 (15), 129.3 (16), 129.0 (17), 127.5 (18), 120.4 (7), 54.7 (11), 37.7 (14), 35.8 (5), 28.3 (1);  $^{19}\text{F}$  NMR (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ . -86.0 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 206.1$  Hz, 1F) -89.8 (d,  $^2J(\text{F},\text{F}) = 206.1$  Hz, 1F); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3114, 3004, 2903, 1511, 1500, 1303, 1204, 1187, 976  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS(ESI-TOF)  $m/z$   $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_4\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  cal. 347.1778, found 347.1769.

### Chapter III: Les 5-fluoro-1,2,3-triazoles

**General procedure I:** To a solution of sodium azide (1.5 equiv.) in a mixture of acetone and water (4/1, 0.5 M) the corresponding 2-bromoacetate (1 equiv.) was added. The mixture was stirred for 5 h at room temperature. After completion, the solution was diluted with water (50 mL), extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$  (3x20 mL), washed with  $\text{H}_2\text{O}$  and brine, dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated under vacuum. The crude product was used without further purification.

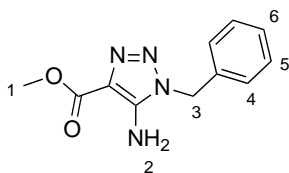
**General procedure J:** To a solution of azide (1 equiv.) in THF (0.2 M) iodo-alkyne (1 equiv.) was added. The mixture was stirred for 2 to 4 h at room temperature. After completion, the solution was quenched with  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sat., extracted with  $\text{EtOAc}$ , washed with water and brine, dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified used the corresponding eluant.

**General procedure K:**  $\text{AgF}$  (4 equiv.) and 5-iodotriazoles (1.0. equiv.) were added to an oven-dried glassware charged with a stir bar. TMEDA (0.5 equiv.) and toluene were added. Finally, the glassware was capped and heated at  $120^\circ\text{C}$  in oil bath. After 18 h, the mixture was cooled to room temperature and quenched by  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL). the insoluble solid was removed by a short silica chromatography. Then the solvent was removed, and the product was purified by silica column chromatography using the appropriate conditions.

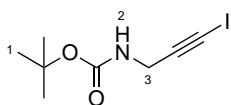


**Methyl 1-benzyl-5-hydroxy-1H-1,2,3-triazole-4-carboxylate (3.1).** To a solution of sodium (35 mg, 1.5 mmol, 1.5 equiv.) in  $\text{MeOH}$  (3.3 mL, 0.3 M) at  $0^\circ\text{C}$  dimethyl malonate (0.85 mL, 1.5 mmol, 1.5 equiv.) was added slowly. The mixture was allowed to stir at room temperature for 30 min. A solution of benzyl azide in methanol (0.2 mL, 5.0 M, 1.0 mmol, 1 equiv.) was added drop by drop and the mixture was stirred at reflux overnight.

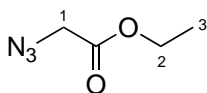
After completion, the mixture was concentrated under vacuum, diluted in water and acidified with HCl 1.0M until pH= 2-3. The mixture was filtrated to obtain **3.1** (100 mg, 0.42 mmol, 43%) as a white solid. The crude product was used without further purification.  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.26 (s, 5H, H4, H5, H6), 5.15 (s, 2H, H3), 3.80 (s, 3H, H1), 3.36 (s, 1H, H2)



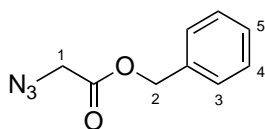
*Methyl 5-amino-1-benzyl-1H-1,2,3-triazole-4-carboxylate (3.2)*. To a solution of sodium (23 mg, 1.0 mmol, 1.5 equiv.) in MeOH (2.2 mL, 0.3 M) at 0°C methyl cyanoacetate (0.88 mL, 1.0 mmol, 1.5 equiv.) was added slowly. The mixture was allowed to stir at room temperature for 30 min. A solution of benzyl azide in methanol (0.13 mL, 5.0 M, 0.67 mmol, 1 equiv.) was added drop by drop and the mixture was stirred at reflux overnight. After completion, the mixture was concentrated under vacuum, diluted in water and acidified with HCl 1.0M until pH= 2-3. The mixture was filtrated to obtain **3.2** (46 mg, 0.20 mmol, 20%) as a white solid. The crude product was used without further purification.  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.26 (s, 5H, H4, H5, H6), 6.32 (br s, 2H, H2), 5.15 (s, 2H, H3), 3.80 (s, 3H, H1).



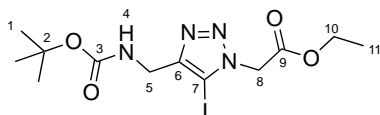
*Tert-butyl (3-iodoprop-2-yn-1-yl)carbamate (3.3)*. To a solution of **2.2** (3.8 g, 25 mmol) in MeOH (63 mL, 0.4 M) was added KOH aq. (25 mL, 4.0 M, 100 mmol) at 0°C and stirred for 20 min.  $\text{I}_2$  (3.8 g, 15 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature for 18 hours. After completion, the solution was diluted with water (40 mL), extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$  (3x20 mL), washed with  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  and NaCl sat. then dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated under vacuum to obtain **3.3** (5.4 g, 19 mmol, 76%) as a yellow solid. The crude product was used without further purification.  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.69 (br s, 1H, H2), 4.08 (d,  $^3J = 5.63$  Hz, H3), 1.46 (s, 9H, H1)



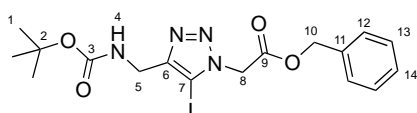
*Ethyl 2-azidoacetate (3.4)*. The product was obtained following the general procedure **I** from sodium azide (6.5 g, 100 mmol) and ethyl bromoacetate (11 g, 67 mmol), to obtain **3.4** (7.1 g, 55 mmol, 79 %) as a colorless liquid.  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.26 (q, 2H,  $^3J = 7.13$  Hz, H2), 3.86 (s, 2H, 1), 1.31 (t,  $^3J = 7.13$  Hz, H3)



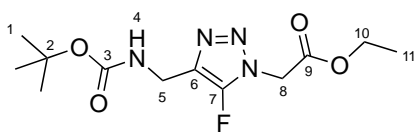
**Benzyl 2-azidoacetate (3.5).** The product was obtained following the general procedure **I** from sodium azide (6.0 g, 92 mmol) and benzyl bromoacetate (14 g, 61 mmol), to obtain **3.5** (10 g, 52 mmol, 85 %) as a colorless liquid.  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.39 (m, 5H, H3, H4, H5), 5.25 (s, 2H, H2), 3.92 (s, 2H, H1)



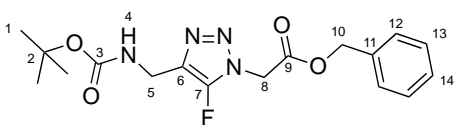
**Ethyl 2-(4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-iodo-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetate (3.6).** To a solution of **3.4** (486 mgs, 3.8 mmol, 1.0 equiv.) in dry THF (0.3 M) was successively added **3.3** (1.1 g, 3.8 mmol, 1.0 equiv.), CuI (74 mg, 0.38 mmol, 0.1 equiv.), triethylamine (0.530 mL, 3.8 mmol, 1.0 equiv.). The mixture was stirred for 2 hours at room temperature. After completion, reaction was quenched using  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sat., and extracted with EtOAc (3 x 15mL). The organic layers were washed with water and brine, dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by column chromatography using c-Hex/EtOAc: 6/4 to provide **3.6** (1.2 g, 2.9 mmol, 77%) as a white solid. mp: 122-124 °C; Rf = 0.2 (c-Hex/EtOAc: 75/25);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.16 (s, 2H, H8), 5.10 (br s, 1H, H4), 4.40 (d,  $^3J = 5.04$  Hz, 2H, H5), 4.27 (q,  $^3J = 7.12$  Hz, 2H, H10) 1.45 (s, 9H, H1), 1.29 (t,  $^3J = 7.12$  Hz, 3H, H11);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165.5 (C9), 62.7 (C10), 51.5 (C8), 36.8 (C5), 28.5 (C1), 14.2 (C11); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3103, 2951, 1544, 1241, 1101, 940  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) m/z  $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{IN}_4\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  cal. 433.0343, found 433.0345.



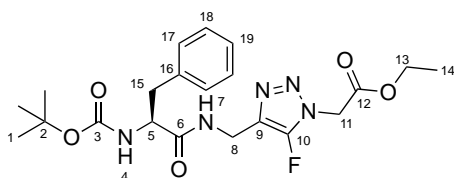
**Benzyl 2-(4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-iodo-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetate (3.7).** To a solution of **3.5** (669 mgs, 3.5 mmol, 1.0 equiv.) in dry THF (0.3 M) was successively added **3.3** (984 mg, 3.5 mmol, 1.0 equiv.), CuI (68 mg, 0.35 mmol, 0.1 equiv.), triethylamine (0.487 mL, 3.5 mmol, 1.0 equiv.). The mixture was stirred for 2 hours at room temperature. After completion, reaction was quenched using  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sat., and extracted with EtOAc (3 x 15mL). The organic layers were washed with water and brine, dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by column chromatography using c-Hex/EtOAc: 6/4 to provide **3.7** (1.2 g, 2.6 mmol, 73%) as a white solid. mp: 100-102 °C; Rf = 0.2 (c-hex/EtOAc: 75/25);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  7.39 (s, 5H, H12, H13, H14), 7.24 (br s, 1H, H4), 5.46 (s, 2H, H10), 5.24 (s, 2H, H8), 4.17 (d,  $^3J = 5.84$  Hz, 2H, H5) 1.42 (s, 9H, H1);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 166.4 (C9), 135.2 (C11), 128.5 (C13), 128.3 (C14), 128.0 (C12), 66.9 (C10), 51.0 (C8), 35.9 (C5), 28.2 (C1); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3103, 2951, 1544, 1241, 1101, 940  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive): m/z  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{IN}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  cal. 473.0645, found 473.0649.



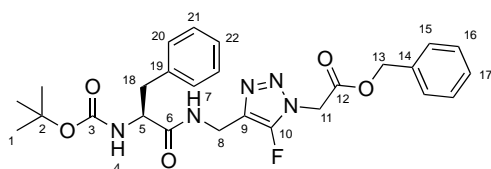
*Ethyl 2-(4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-fluoro-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetate (3.8)*. AgF (151 mg, 1.2 mmol, 1.2 equiv.) and **3.6** (410 mg, 1.0 mmol, 1 equiv.) were added to an over-dried glassware charged with a stir bar. Then, freshly distilled TMEDA (30  $\mu$ L, 0.2 mmol, 0.2 equiv.) and anhydrous toluene (0.3 M) were added. Finally, the glassware was capped and heated at 120°C for 18 hours. After completion, the mixture was cooled to room temperature and quenched CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The insoluble solid was removed by filtration on a short pad of celite. Then the solvent was removed, and the product was purified by flash silica column chromatography using as eluant *c*-Hex/EtOAc: 75/25 to obtain **3.8** (169 mg, 0.56 mmol, 56%) as a pale-yellow solid. mp = 78-80 °C; R<sub>f</sub> = 0.2 (*c*-hex/EtOAc: 75/25); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  5.10 (br s, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.33 (d, <sup>3</sup>J = 6.03 Hz, 2H), 4.26 (q, <sup>3</sup>J = 7.17 Hz, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.28 (t, <sup>3</sup>J = 7.17 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165.1 (C9), 162.6 (C3), 150.6 (<sup>1</sup>J(C,F) = 279.4 Hz, C7), 80 (C2), 62.7 (C10), 47.8 (C8), 34.2 (C5), 28.3 (C1), 14.0 (C11); <sup>19</sup>F NMR (188, MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  -153.4 (s); IR (neat):  $\nu_{\max}$  3112, 2977, 1580, 1199 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) *m/z* C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> cal. 325.1284, found 325.1283.



*Benzyl 2-(4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-fluoro-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetate (3.9)*. AgF (151 mg, 1.2 mmol, 1.2 equiv.) and **3.7** (472 mg, 1.0 mmol, 1 equiv.) were added to an over-dried glassware charged with a stir bar. Then, freshly distilled TMEDA (30  $\mu$ L, 0.2 mmol, 0.2 equiv.) and anhydrous toluene (0.3 M) were added. Finally, the glassware was capped and heated at 120°C for 18 hours. After completion, the mixture was cooled to room temperature and quenched CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The insoluble solid was removed by filtration on a short pad of celite. Then the solvent was removed, and the product was purified by flash silica column chromatography using as eluant *c*-Hex/EtOAc: 75/25 to obtain **3.9** (193 mg, 0.53 mmol, 53%) as a pale-yellow solid. mp = 88-90 °C; R<sub>f</sub> = 0.2 (*c*-hex/EtOAc: 75/25); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.36 (br s, 5H), 5.25 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 4.37 (d, <sup>3</sup>J = 5.90 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): <sup>19</sup>F NMR (188, MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  -153.4 (s); IR (neat):  $\nu_{\max}$  3003, 2891, 1576, 1221; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) *m/z* C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> cal. 387.1439, found 387.1440.

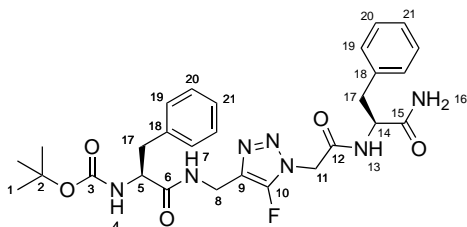


*Ethyl (S)-2-(4-((2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-phenylpropanamido)methyl)-5-fluoro-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetate (3.10)*. To a solution of **3.8** (320 mg, 1.06 mmol, 1 equiv.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.1 M) was added a solution of HCl in dioxane (4.0 M, 2.6 mL, 10.6 mmol, 10 equiv.) at 0°C and stirred for 2 hours. After completion the crude product was concentrated under vacuum and used directly without further purification. To a solution of Boc-L-Phenylalanine (281 mg, 1.06 mmol, 1 equiv.), deprotected 5-fluorotriazole, HOBt (198 mg, 1.27 mmol, 1.2 equiv.) and EDC.HCl (243 mg, 1.27 mmol, 1.2 equiv.) in dry DMF was added drop by drop DIPEA (500 μL, 2.65 mmol, 2.5 equiv.) at 0°C and stirred for 5 hours. The mixture was diluted with water, extracted with EtOAc (3x 10 mL), washed with citric acid (10%), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10%), NaCl sat. then dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The product was purified by silica column chromatography using as eluant c-Hex/EtOAc: 7/3 to obtain **3.10** (207 mg, 0.46 mmol, 43 %) as a white solid. mp = 104-106 °C; R<sub>f</sub> = 0.2 (c-hex/EtOAc: 7/3); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.24-7.18 (m, 5H, H17, H18, H19), 5.25 (s, 2H, H11), 4.40 (d, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2H), 4.28 (q, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, H5, H13), 3.08 (dd, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, 1H, H15), 2.83 (dd, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, 1H, H15), 1.42 (s, 9H), 1.28 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, H14); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 174.3 (C6), 167.3 (C12), 152.2 (d, <sup>1</sup>J(C,F) = 281.0 Hz, C10), 138.5 (C16), 130.4 (C17), 129.4 (C18), 127.7 (C19), 80.7 (C2), 63.5 (C5), 61.5 (C13), 57.3 (C11), 39.5 (C15), 33.6 (C8), 28.6 (C1), 14.4 (C14); <sup>19</sup>F NMR (188, MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -154.0 (s); IR (neat): ν<sub>max</sub> 3001, 2853, 1577, 1239 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive) *m/z* C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>5</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> cal. 472.2177, found 472.2179.



*Ethyl (S)-2-(4-((2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-phenylpropanamido)methyl)-5-fluoro-1H-1,2,3-triazol-1-yl)acetate (3.11)*. To a solution of **3.9** (419 mg, 1.15 mmol, 1 equiv.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.1 M) was added a solution of HCl in dioxane (4.0 M, 2.9 mL, 11.5 mmol, 10 equiv.) at 0°C and stirred for 2 hours. After completion the crude product was concentrated under vacuum and used directly without further purification. To a solution of Boc-L-Phenylalanine (305 mg, 1.15 mmol, 1 equiv.), deprotected 5-fluorotriazole, HOBt (215 mg, 1.38 mmol, 1.2 equiv.) and EDC.HCl (264 mg, 1.38 mmol, 1.2 equiv.) in dry DMF was added drop by drop DIPEA (600 μL, 2.9 mmol, 2.5 equiv.) at 0°C and stirred for 5 hours. The mixture was diluted with water, extracted with EtOAc (3x 10 mL), washed with citric acid (10%), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10%), NaCl sat. then dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The product was purified by silica column chromatography using as eluant c-Hex/EtOAc: 7/3 to obtain **3.11** as a white solid (286 mg, 0.56 mmol, 49 %). mp = 104-106 °C; R<sub>f</sub> = 0.2 (c-hex/EtOAc: 7/3); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8.54 (t, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 1H, H4), 8.03 (t, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 1H, H7), 7.37-7.31 (m, 5H, H14, H15, H16), 7.22-7.12 (m, 5H, H20, H21, H22), 5.46 (s, 2H, H13), 5.21 (s, 2H, H11), 4.46-4.44 (m, 1H, H5), 4.26 (d, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 2H, H8), 2.93 (dd, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 1H, H18), 2.69 (dd, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 1H, H18), 1.49 (s, 9H, H1);

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 171.3 (C6), 169.0 (C12), 166.2 (C3) 150.3 (d,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 280.8$  Hz, C10), 137.9 (C19), 135.1 (C14) 129.0 (C21), 128.5 (C16), 128.3 (C20), 128.1 (C15), 127.9 (C17), 126.1 (C22), 80.7 (C2), 63.5 (C5), 61.1 (C13), 53.8 (C5), 47.7 (C11), 39.5 (C8), 28.6 (C1);  $^{19}\text{F}$  NMR (188, MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -152.7 (s); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3001, 2853, 1577, 1239  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive)  $m/z$   $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{FN}_4\text{O}_5\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  cal. 472.2177, found 472.2179.



*Tert-butyl ((S)-1-(((1-(2-(((S)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-2-oxoethyl)-5-fluoro-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)carbamate* **3.12**. To a solution of **3.11** (99 mg, 0.22 mmol, 1 equiv.) in a mixture of THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (0.1 M, 2.2 mL) was added  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (28 mg, 0.66 mmol, 3 equiv.) at  $0^\circ\text{C}$  and stirred for 2 hours. After completion the crude product was concentrated under vacuum and acidified until  $\text{pH} = 2-3$  with  $\text{HCl}$  solution (0.1 M). The mixture was extracted with  $\text{EtOAc}$  (3 x 10 mL). The organic layers were washed with  $\text{H}_2\text{O}$  and brine, dried over  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ , concentrated under vacuum to provide the intermediate. To a solution of the intermediate acid, Phenylalanine amide hydrochloride (44 mg, 0.22 mmol, 1 equiv.),  $\text{HOBT}$  (41 mg, 0.26 mmol, 1.2 equiv.) and  $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$  (50 mg, 0.26 mmol, 1.2 equiv.) in dry  $\text{DMF}$  was added drop by drop  $\text{DIPEA}$  (100  $\mu\text{L}$ , 0.55 mmol, 2.5 equiv.) at  $0^\circ\text{C}$  and stirred for 5 hours. The mixture was diluted with water, extracted with  $\text{EtOAc}$  (3x 10 mL), washed with citric acid (10%),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (10%),  $\text{NaCl}$  sat. then dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated under vacuum. The product was purified by silica column chromatography using as eluant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 94/6 to obtain **3.12** (57 mg, 0.12 mmol, 46%) as a white solid.  $\text{mp} = 130-132^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.3$  ( $c\text{-CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 93/7);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.29-7.14 (m, 10H, H17, H18, H19), 5.20 (s, 2H, H11), 4.48 (s, 2H, H8), 4.28-4.24 (m, 2H, H5, H14), 3.09-2.84 (m, 4H, H17), 1.42 (s, 9H, H1);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 174.3 (C15), 172.2 (C12), 172.1 (C6) 167.3 (C3), 152.7 (d,  $^1J(\text{C},\text{F}) = 280.3$  Hz, C10), 138.5 (C18), 130.4 (C20), 129.4 (C19), 127.7 (C21), 80.7 (C2), 58.5 (C5), 58.4 (C14), 53.3 (C11), 35.4 (C17), 34.2 (C8), 28.4 (C1);  $^{19}\text{F}$  NMR (188, MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  -153.8 (s); IR (neat):  $\nu_{\text{max}}$  3200, 3192, 2856, 1510, 1423, 1289  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI-TOF, ion polarity positive)  $m/z$   $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{FN}_4\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  cal. 568.2639, found 568.2642.

**Title :** Fluorinated triazolamers : design, synthesis, conformational studies and modulation of amyloid peptides aggregation

**Keywords :** Foldamers, peptidomimetics, type II diabetes, amyloid, protein-protein interactions, fluorine

**Abstract :** In recent decades, foldamers have emerged as a promising tool for developing bioactive molecules that mimic the secondary structures of proteins. These foldamers are mainly used to modulate protein-protein interactions involved in many diseases, including amyloidoses such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease and type II diabetes (T2D). Amyloidosis is a disease characterized by the presence of insoluble protein deposits in tissues. Islet amyloid polypeptide (hIAPP) aggregation is linked to beta-cell degeneration and to the pathogenesis of type 2 diabetes. hIAPP is a 37-residue polypeptide secreted by pancreatic beta cells. Amyloid deposits of hIAPP are found in the pancreas of many patients with T2D. hIAPP is one of the most amyloidogenic polypeptides known, and aggregates of hIAPP are toxic for pancreatic beta cells. Worldwide, approximately 483 million people currently have type 2 diabetes (T2D), a prevalence that is predicted to reach 579 million by 2030. The increasing prevalence of type 2 diabetes, and the associated adverse cardiovascular risks, is now considered a major public health challenge. Currently, the treatments available for diabetes are symptomatic and have many side effects. Targeting hIAPP has become a promising strategy to find an etiological treatment for T2D.

In this context, we have designed foldamers based on fluorinated 1,2,3-triazoles that can modulate the aggregation process of hIAPP. The 1,2,3-triazoles were used for their properties as peptide bond isosteres with improved metabolic stability. The fluorine atom, by its properties, allows to induce conformations and constitutes a <sup>19</sup>F NMR probe, useful for studying ligand-protein interactions, metabolic stability, membrane crossing or even the *in vivo* distribution of compounds. Firstly, we carried out the synthesis of homo- and heterotriazolamers based on *N*-difluoromethylated 1,2,3-triazoles. Secondly, we have carried out preliminary works on 5-fluoro-1,2,3-triazoles as a new architecture to design fluorinated foldamers. Conformational studies were carried out by NMR, and molecular dynamics for the triazolamers of *N*-difluoromethylated 1,2,3-triazoles. The conformational study of 5-fluoro-1,2,3-triazoles was performed by X-ray diffraction. In addition, preliminary studies were performed by thioflavin-T fluorescence spectrometry to assess the modulation of hIAPP aggregation by these foldamers.

The thesis work aims to develop the knowledge around fluorinated foldamers to design bioactive molecules. To our knowledge, none of the fluorinated foldamers described in the literature has been used for medicinal applications.



**Titre :** Triazolamères fluorés : conception, synthèse, études conformationnelles et modulation de l'agrégation de protéines amyloïdes.

**Mots clés :** Foldamères, peptidomimétiques, diabète de type II, amyloïde, interactions protéine-protéine, fluor

**Résumé :** Ces dernières décennies, les foldamères ont émergé comme un outil prometteur pour développer des molécules bioactives mimant les structures secondaires des protéines. Ces foldamères sont principalement utilisés pour moduler les interactions protéine-protéine impliquées dans de nombreuses maladies, notamment les amyloïdoses telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et le diabète de type II (DT2). Les amyloïdoses sont des maladies qui se caractérisent par la présence de dépôts de protéines insolubles dans les tissus. L'agrégation du polypeptide amyloïde des îlots (hIAPP) est liée à la dégénérescence des cellules bêta et à la pathogenèse du diabète de type 2. hIAPP est un polypeptide de 37 résidus sécrété par les cellules bêta du pancréas. On trouve des dépôts amyloïdes de hIAPP dans le pancréas de nombreux patients atteints de DT2. hIAPP est l'un des polypeptides les plus amyloïdogènes connus, et les agrégats de hIAPP sont toxiques pour les cellules bêta du pancréas. Dans le monde, environ 483 millions de personnes sont actuellement atteintes de diabète de type II (DT2), une prévalence qui, selon les prévisions, devrait atteindre 579 millions d'ici 2030. La prévalence croissante du diabète de type II, et les risques cardiovasculaires indésirables qui lui sont associés, sont désormais considérés comme un défi majeur de santé publique. Actuellement, les traitements disponibles pour le traitement du diabète sont symptomatiques et induisent de nombreux effets secondaires. Le ciblage de hIAPP est devenu une stratégie prometteuse pour trouver un traitement étiologique contre le DT2.

Dans ce contexte, nous avons conçu des foldamères basés sur les 1,2,3-triazoles fluorés pouvant moduler le processus d'agrégation de hIAPP. Les 1,2,3-triazoles ont été utilisés pour leurs propriétés d'isostères de liaison peptidique avec une meilleure stabilité métabolique. L'atome de fluor, par ses propriétés particulières, permet d'induire des conformations et constitue une sonde en RMN du  $^{19}\text{F}$ , utile pour étudier les interactions ligand-protéine, la stabilité métabolique, le passage de membranes ou même la distribution d'un composé *in vivo*. D'une part, nous avons réalisé la synthèse d'homo- et d'hétérotriazolamères se basant sur les 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés. D'autre part, nous avons effectué des travaux préliminaires sur les 5-fluoro-1,2,3-triazoles comme nouvelle architecture pour concevoir des foldamères fluorés. Les études conformationnelles ont été réalisées par RMN et dynamique moléculaire pour les triazolamères des 1,2,3-triazoles *N*-difluorométhylés. L'étude conformationnelle des 5-fluoro-1,2,3-triazoles a été réalisée par diffraction aux rayons X. De plus, des études préliminaires ont été réalisées par spectrométrie de fluorescence à la thioflavine-T pour évaluer la modulation de l'agrégation de hIAPP par ces foldamères.

L'ensemble de ces travaux de thèse a pour objectif de développer le savoir autour des foldamères fluorés pour concevoir des molécules bioactives. À notre connaissance, aucun des foldamères fluorés décrit dans la littérature n'a d'application médicale.