



**HAL**  
open science

# Synthèse et étude de nouvelles architectures peptoïde et de peptidomimétiques inhibiteurs de l'interaction HCN-TRIP8b comme stratégie contre les douleurs neuropathiques chimio-induites

Maxime Pypec

## ► To cite this version:

Maxime Pypec. Synthèse et étude de nouvelles architectures peptoïde et de peptidomimétiques inhibiteurs de l'interaction HCN-TRIP8b comme stratégie contre les douleurs neuropathiques chimio-induites. Chimie organique. Université Clermont Auvergne, 2022. Français. NNT : 2022UCFAC033 . tel-04416466

**HAL Id: tel-04416466**

**<https://theses.hal.science/tel-04416466v1>**

Submitted on 25 Jan 2024

**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.

N° d'ordre :

**École Doctorale des Sciences Fondamentales**

# THÈSE

Présentée pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE**

*Spécialité : Chimie organique, minérale, industrielle*

Par

**Maxime PYPEC**

*Ingénieur chimiste de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Mulhouse*

---

## **Synthèse et étude de nouvelles architectures peptoïde et de peptidomimétiques inhibiteurs de l'interaction HCN-TRIP8b comme stratégie contre les douleurs neuropathiques chimio-induites**

---

Soutenue le 4 juillet 2022 devant la Commission d'Examen :

---

M. Philippe LE GREL	Maître de conférences, ISCR, Université de Rennes	Rapporteur
M. Samir ACHERAR	Maître de conférences, LCPM, Université de Lorraine	Rapporteur
Mme. Florine CAVELIER	Directrice de recherche CNRS, IBMM, Montpellier	Examinatrice
Mme. Sylvie DUCKI	Professeure, ICCF, Clermont Auvergne INP	Examinatrice Présidente du Jury
M. Claude TAILLEFUMIER	Professeur, ICCF, Université Clermont Auvergne	Directeur de thèse
M. Olivier ROY	Maître de conférences, ICCF, Université Clermont Auvergne	Co-encadrant

---

Institut de Chimie de Clermont-Ferrand - UMR CNRS-UCA 6296  
24, Avenue Blaise Pascal, 63178 AUBIERE



*À ma femme, Dawna,  
À mon fils, Matthieu,  
À mes parents, Virginie & Franck,  
À ma sœur, Mélissande,*

*Je vous aime, I love You, Mahal kita.*



## Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier Fabrice Leroux, directeur de recherche au CNRS et directeur de l'ICCF, pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire afin de pouvoir y effectuer ma thèse.

Je tiens également à remercier Claude Taillefumier, professeur à l'Université Clermont Auvergne, mon directeur de thèse, pour m'avoir accueilli au sein de la thématique *Peptoid* et pour m'avoir encadré pendant presque 4 ans. Un grand merci pour ton aide et tes conseils tout au long de mes recherches.

Merci également à Olivier Roy, maître de conférences à l'Université Clermont Auvergne, pour m'avoir co-encadré tout au long de la ma thèse. Ce fut un réel plaisir de travailler avec toi. Merci pour tes conseils et nos nombreuses discussions diverses et variées.

Un grand merci à Sophie Roy-Faure, directrice de recherche CNRS, pour tes conseils au cours de mes travaux notamment sur les couplages ainsi que pour la réalisation des analyses NOESY.

Merci à l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté d'évaluer mes travaux : M. Philippe Le Grel, maître de conférences à l'Université de Rennes 1 et M. Samir Acherar, maître de conférences à l'Université de Lorraine en tant que rapporteurs, Mme. Florine Cavelier, directrice de recherche CNRS à l'Institut des Biomolécules Max Mousseron et Mme. Sylvie Ducki, professeure à Clermont Auvergne INP et responsable de l'équipe COM (Chimie Organique et Médicinale) de l'ICCF en tant qu'examinatrices.

Merci aussi aux membres de l'équipe IER (Inhibiteurs d'Enzymes et de Récepteurs) qui partagent notre étage au quotidien pour leur bonne humeur et toutes les discussions qu'on a pu partager : Pascale Moreau, Francis Giraud, Fabrice Anizon, Elisabete Pereira. Mention spéciale à Francis pour les très nombreuses discussions qu'on a pu avoir, qu'elles soient scientifiques mais aussi personnelles, ainsi que pour les TP qu'on a pu faire ensemble pendant 2 ans. Un grand merci pour ton soutien dans les différents défis personnels que j'ai pu rencontrer au cours de ces 4 années.

Au sein du laboratoire, je voudrais remercier Aurélie Job, pour sa gentillesse et son aide pour les analyses et les purifications HPLC, Martin Lereboure et Frédéric Emenegger pour les analyses LC/MS, Laurent Jouffret pour le temps passé à rechercher des cristaux dans mes échantillons DRX, Lionel Nauton pour la modélisation moléculaire. Merci également à Yaël

Hersant pour les différentes opportunités de vulgarisation scientifique. C'est toujours un plaisir de pouvoir transmettre ma passion de la chimie aux plus jeunes. Merci à Jonathan Colombet (LMGE – Plateforme CYSTEM) pour la réalisation des images de microscopie TEM

Un grand merci à tous les doctorants, post-doctorants, ingénieurs et techniciens que j'ai pu côtoyer pendant ces trois années : Maha, Nassirine, Cassandra, Ayman, Laura, Florence, Mathilde, Théo, Arthur, Léo, au bureau du RJ-SCF dont j'ai pu faire partie pendant 3 mandats (Gérald, Germain, Charlotte, Nazim et Robin), à la team Kakémono (Florestan et Florian), à la team journées scientifiques (Victoria, Océane et Adrien). Merci pour tous ces bons moments passés ensemble.

Enfin, je souhaite remercier ma famille qui m'a toujours soutenu au cours de ma thèse. À mes parents, Virginie & Franck et ma sœur, Mélissande, qui malgré la distance, m'ont toujours soutenu et encouragé, surtout dans les moments les plus difficiles.

Last but not least, I would like to thank my wife, Dawna. Thank you for being by my side every day. Thank you for all the support you have given me for almost 4 years. Thanks to you, I managed to get through the illness and today we have been rewarded with the greatest gift of all: our son Matthieu. Since February 11, 2022, I am the happiest husband and father. None of this would have happened without you.

MERCI À TOUS !

# Sommaire

Liste des abréviations.....	1
Introduction .....	3
Chapitre I : Introduction bibliographique.....	7
1. Une recherche d'alternatives aux peptides .....	9
2. La famille des foldamères.....	12
2.1. Définition générale .....	12
2.2. Techniques d'analyse conformationnelle.....	14
2.3. Les foldamères biotiques .....	15
2.3.1. Présentation .....	15
2.3.2. Les $\beta$ -peptides.....	17
2.3.3. Les $\gamma$ -, $\delta$ -peptides et hybrides .....	18
2.3.4. Les oligourées.....	19
2.3.5. Autres unités de construction biotiques.....	20
3. Les peptoïdes .....	22
3.1. Généralités .....	22
3.2. Méthodes de synthèse des peptoïdes.....	25
3.2.1. Synthèse des $\alpha$ -peptoïdes.....	25
3.2.1.1. Approche « monomère » .....	25
3.2.1.2. Méthode « submonomère » .....	26
3.2.2. Synthèse des $\beta$ -peptoïdes.....	28
3.2.3. Autres composés apparentés.....	30
3.3. Aspects structuraux des peptoïdes .....	31
3.3.1. Influence des fonctions amides <i>N,N</i> -disubstitués.....	31
3.3.2. Structures hélicoïdales.....	32
3.3.2.1. L'hélice de type PPI.....	32
3.3.2.2. L'hélice peptoïde de type PPII.....	40
3.3.3. La conformation « threaded loop » .....	41
3.3.4. Structuration en coude.....	42
3.3.5. Structuration en feuillet.....	43
4. Objectifs de l'étude.....	44
Chapitre II : Synthèse et étude conformationnelle de peptoïdes constitués d'unités $\beta$ et $\alpha,\beta$ - alternées portant la chaîne latérale ( <i>S</i> )-1- <i>tert</i> -butyléthyle ( <i>sItbe</i> ) .....	44
1. Contexte .....	49
2. L'hélice $\beta$ -peptoïde .....	50

<b>3. Synthèse et étude des oligomères (<i>sItbe</i>) <math>\alpha,\beta</math>-alternés.....</b>	<b>52</b>
3.1. Synthèse des oligomères .....	53
3.2. Étude conformationnelle .....	55
<b>4. Synthèse et étude des oligomères <math>\beta</math> (<i>sItbe</i>) .....</b>	<b>58</b>
4.1. Synthèse des oligomères .....	58
4.1.1. Synthèse linéaire en solution .....	58
4.1.2. Obtention de l'hexamère II.9 par couplage (3+3) .....	59
4.2. Étude conformationnelle .....	60
<b>5. Conclusion .....</b>	<b>62</b>
<b>Chapitre III : Développement et étude d'une nouvelle chaîne latérale <i>trans</i>-inductrice : la chaîne méthylamino (<i>NMe</i>) .....</b>	<b>65</b>
<b>1. Contexte .....</b>	<b>69</b>
<b>2. Synthèse des homooligomères .....</b>	<b>70</b>
2.1. Premiers essais de synthèses et optimisation de l'approche synthétique.....	71
2.2. Optimisation des conditions de purification .....	75
2.3. Premiers essais d'obtention de l'hexamère par couplage .....	77
2.4. Essais de couplage de monomères.....	78
2.4.1. Approche par couplage peptidique.....	79
2.4.2. Approche par formation du chlorure d'acide .....	79
2.4.3. Approche par formation d'un anhydride mixte.....	80
2.4.4. Approche par couplage de Mukaiyama .....	83
2.4.5. Obtention de l'hexamère pour couplage de Mukaiyama .....	85
2.5. Essai d'adaptation de l'approche synthétique à la synthèse supportée.....	86
2.5.1. Mise au point des conditions de couplage de l'acide bromoacétique .....	87
2.5.2. Mise au point des conditions de substitution .....	88
2.5.3. Essais de synthèse sur la résine Fmoc-Rink amide MBHA .....	90
<b>3. Étude conformationnelle .....</b>	<b>92</b>
3.1. Diffraction des rayons X .....	92
3.2. Étude conformationnelle RMN .....	93
3.3. Analyses infrarouges .....	106
3.4. Microscopie électronique en transmission .....	108
<b>4. Modélisation moléculaire .....</b>	<b>109</b>
<b>5. Mise au point d'oligomères chiraux .....</b>	<b>113</b>
5.1. Synthèse de l'hydrazine chirale .....	114
5.2. Synthèses d'homooligomères.....	115
5.2.1. Synthèse du monomère .....	115
5.2.1.1. Mise au point des conditions de substitution .....	116

5.2.1.2.	Mise au point des conditions d'acétylation.....	118
5.2.2.	Synthèses d'oligomères plus longs.....	119
<b>6.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>120</b>
<b>Chapitre IV : Inhibition de l'interaction protéine-protéine HCN-TRIP8b comme stratégie contre des douleurs neuropathiques chimio-induites.....</b>		
<b>123</b>		
<b>1.</b>	<b>Introduction bibliographique.....</b>	<b>127</b>
1.1.	Cancer du côlon & traitement.....	127
1.2.	Canaux HCN & douleurs neuropathiques .....	130
1.3.	Une protéine auxiliaire uniquement exprimée dans le cerveau : TRIP8b.....	133
1.4.	Premières recherches d'inhibiteurs.....	134
<b>2.</b>	<b>Les débuts du projet : obtention d'un premier mème tête de série .....</b>	<b>136</b>
2.1.	Études de modélisation moléculaire .....	136
2.2.	Essais <i>in vivo</i> .....	139
2.3.	Essais <i>in vitro</i> .....	141
<b>3.</b>	<b>Optimisation de l'approche synthétique.....</b>	<b>141</b>
<b>4.</b>	<b>Conception et synthèse de nouveaux mèmes .....</b>	<b>144</b>
4.1.	Étude de modélisation moléculaire avec le mème YC-55 / IV.1.....	145
4.2.	Optimisation des interactions avec la poche hydrophobe 2 (R <sub>3</sub> et R <sub>4</sub> ).....	147
4.3.	Optimisation des chaînes latérales des deux premières unités peptoides (R <sub>1</sub> et R <sub>2</sub> ).....	150
4.4.	Validation de la formule de Markush pour le dépôt de brevet.....	155
<b>5.</b>	<b>Conclusion &amp; suite du projet.....</b>	<b>156</b>
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>		<b>159</b>
<b>Experimental section .....</b>		<b>163</b>
<b>1.</b>	<b>Reagents and equipment .....</b>	<b>165</b>
<b>2.</b>	<b>Characterization.....</b>	<b>165</b>
2.1.	Thin Layer Chromatography (TLC) .....	165
2.2.	Nuclear Magnetic Resonance (NMR).....	166
2.3.	Liquid chromatography and mass spectroscopy (HRMS; LC/MS) .....	166
2.4.	Analytical high pressure liquid chromatography (HPLC).....	166
2.5.	Infrared spectroscopy (IR) .....	167
2.6.	Transmission Electron Microscopy (TEM).....	167
<b>3.</b>	<b>Purification .....</b>	<b>167</b>
3.1.	Flash Chromatography (FC).....	167
3.2.	Preparative HPLC.....	168
<b>4.</b>	<b>Solution phase peptoids synthesis .....</b>	<b>168</b>

<b>5. Solid phase peptoids synthesis.....</b>	<b>172</b>
<b>6. Experimental procedures .....</b>	<b>174</b>
6.1. Syntheses of Chapter II.....	174
6.1.1. Synthesis of the $\alpha$ - $\beta$ series .....	174
6.1.2. Synthesis of the all- $\beta$ series .....	182
6.2. Syntheses of Chapter III.....	206
6.2.1. Linear synthesis of the achiral oligomers .....	206
6.2.2. Segment approach.....	232
6.2.3. Synthesis of the chiral oligomers .....	240
6.3. Syntheses of Chapter IV .....	246
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>255</b>

## Liste des abréviations

2-CTC :	Résine chlorure de 2-chlorotrityle
ACN :	Acétonitrile
Boc :	<i>Tert</i> -butyloxycarbonyle
CAN :	Nitrate de cérium et d'ammonium
CCM :	Chromatographie sur couche mince
CI <sub>50</sub> :	Concentration inhibitrice médiane
CMPI :	Iodure de 2-chloro-1-méthylpyridine
COMU :	1-[(1-(cyano-2-éthoxy-2-oxoéthylideneaminoxy) diméthylaminomorpholino)]uronium hexafluorophosphate
COSY :	Correlation spectroscopy
DC :	Dichroïsme circulaire
DCC :	Dicyclohexylcarbodiimide
DCM :	Dichlorométhane
DIAD :	Diisopropyle azodicarboxylate
DIC :	<i>N,N'</i> -diisopropylcarbodiimide
DIPEA :	Diisopropyléthylamine
DMAP :	4-diméthylaminopyridine
DMF :	Diméthylformamide
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
DRX :	Diffraction des rayons X
EDC :	1-Éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EEDQ :	<i>N</i> -éthoxycarbonyl-2-éthoxy-1,2-dihydroquinoline
éq. :	Équivalent
Fmoc :	Fluorénylméthoxyloxycarbonyle
GP :	Groupe protecteur
HATU :	2-(1H-7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate
HBTU :	2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate
HCN	Hyperpolarisation-activated cyclic nucleotide-gated channels
HFIP :	Hexafluoroisopropanol
HMQC :	Heteronuclear multiple quantum coherence
HOBt :	Hydroxybenzotriazole
HPLC :	High performance liquid chromatography
HR-MS :	High resolution-mass spectrometry
HSQC :	Heteronuclear single quantum coherence
HSQCAD :	Heteronuclear single quantum coherence adiabatic
IASP :	International association for the study of pain
IBCF :	Chloroformiate d'isobutyle
IIDQ :	<i>N</i> -Isobutoxycarbonyl-2-isobutoxy-1,2-dihydroquinoline
IR :	Infra-rouge
MALDI-TOF :	Matrix-assisted laser desorption and ionisation, time-of-flight
M.O. :	Micro-ondes

NMM :	<i>N</i> -méthylmorpholine
NMP :	<i>N</i> -méthyl-2-pyrrolidone
NMe :	<i>N</i> -méthylamino glycine
NOESY :	Nuclear overhauser effect spectroscopy
Ns1tbe :	<i>N</i> -( <i>S</i> )-1- <i>tert</i> butyléthyle glycine
NtBu :	<i>N-tert</i> butyle glycine
Pd/C :	Palladium sur charbon
ppb :	Parts per billions - Parties par milliards
PPI :	Hélice polyproline de type I
PPII :	Hélice polyproline de type II
ppm :	Parties par millions
PyBOP :	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
RX	Rayons X
SPPS :	Solid phase peptide synthesis
TA / RT :	Température ambiante
TBDMS :	<i>Tert</i> -butyldiméthylsilane
TEA :	Triéthylamine
TFA :	Acide trifluoroacétique
TFFH :	Tétraméthylfluoroformamidinium hexafluorophosphate
THF :	Tétrahydrofurane
TIPS :	Triisopropylsilane
TRIP8b :	Tetratricopeptide repeat-containing Rab8b-interacting protein
XXX ; YYY :	Acides aminés

# Introduction



De nombreux processus biologiques reposent sur des interactions protéine-protéine ou protéine-peptide. La modulation spécifique de certaines de ces interactions est au cœur de nouvelles approches thérapeutiques. L'utilisation de molécules de nature peptidique pour inhiber ces interactions peut conduire à des problèmes, notamment de biodisponibilité. De ce fait, de nombreuses recherches ont été réalisées pour développer des composés synthétiques pouvant être utilisés pour mimer les peptides : il s'agit des peptidomimétiques. Un aspect important dans la conception de ces mimes est qu'ils soient capables d'adopter des structures tridimensionnelles stables comme c'est le cas des peptides. Le développement de tels composés correspond au domaine des foldamères, qui rassemble de nombreux squelettes permettant d'adopter des structures tridimensionnelles bien définies.

Parmi les foldamères, les peptoïdes occupent une place importante. Ce sont des oligomères de glycines *N*-substituées qui peuvent être facilement obtenus par une approche « submonomère », méthode itérative permettant la construction de chaque nouvelle unité en deux étapes. Les peptoïdes possèdent notamment des propriétés de structuration intéressantes, puisqu'il est possible d'obtenir des structures variées comme des hélices, des coudes, des feuillets ou encore des boucles. De plus, ils présentent de meilleures propriétés pharmacocinétiques que leurs homologues peptides, notamment une meilleure résistance aux protéases, faisant des peptoïdes des molécules d'intérêt pour le développement de composés thérapeutiques.

Mes travaux de thèse se sont intéressés en premier lieu aux propriétés structurales des peptoïdes avec le développement et l'étude de différentes chaînes latérales dans l'optique de contrôler l'isomérisation *cis/trans* des fonctions amides des squelettes  $\alpha$ -peptoïde,  $\beta$ -peptoïde ainsi que  $\alpha,\beta$ -peptoïde alternés et ainsi obtenir une éventuelle structuration tridimensionnelle de ces peptoïdes. Dans un second temps, leur utilisation comme peptidomimétique a été étudiée avec le développement de mimes afin d'inhiber une interaction protéine-protéine d'intérêt thérapeutique.

Ainsi, le premier chapitre de ce manuscrit présente une étude bibliographique retraçant le développement des peptidomimétiques, et plus particulièrement des peptoïdes, comme solution alternative aux peptides. Après une courte présentation des peptides et des protéines ainsi que de leurs propriétés structurales, différentes familles de foldamères sont présentées avant de se concentrer sur le squelette peptoïde et les différents modes de repliements obtenus en fonction des chaînes latérales et du contrôle de l'isomérisation *cis/trans* des fonctions amides.

Le second chapitre s'inscrit dans la continuité des travaux réalisés au sein du groupe Peptoid sur la chaîne latérale (*S*)-1-*tert*-butyléthyle (*sItbe*), une chaîne *N* $\alpha$ -chirale permettant l'obtention de structures hélicoïdales de type polyproline I (PPI), dont l'ensemble des fonctions amides adopte une conformation *cis*. Les travaux présentés dans ce chapitre concernent donc la synthèse et l'étude conformationnelle d'homooligomères  $\beta$ -peptoïde ainsi que  $\alpha,\beta$ -peptoïde alternés portant la chaîne latérale (*sItbe*) afin d'évaluer l'influence de cette dernière sur l'isomérisation *cis/trans* des fonctions amides.

Le troisième chapitre porte sur l'étude d'une nouvelle chaîne latérale structurante (alkylamino) permettant d'obtenir des oligoamides *trans* et de restaurer des capacités à former des liaisons hydrogène. La mise au point d'une nouvelle méthode de synthèse est exposée, suivie de différents essais de couplage ainsi que d'une tentative d'adaptation de l'approche à la synthèse supportée. Dans un second temps, une étude conformationnelle par RMN, diffraction des rayons X, associée à de la microscopie électronique en transmission a été réalisée.

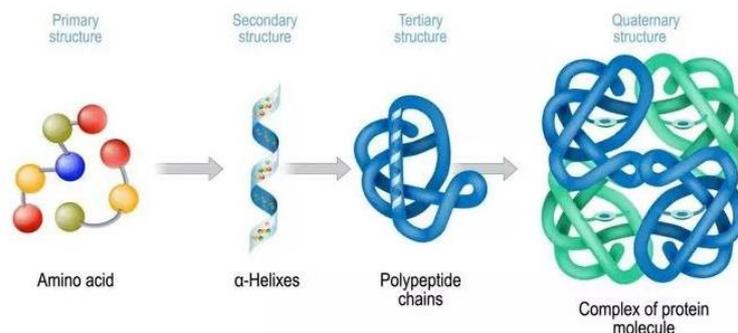
Enfin, le dernier chapitre concerne le développement de peptidomimétiques inhibiteurs de l'interaction entre l'extrémité *C*-terminale de la protéine canal HCN et sa protéine partenaire TRIP8b. Cette interaction est impliquée dans le processus de déclenchement de douleurs neuropathiques chimio-induites. Une optimisation de l'approche synthétique ainsi que des résultats *in vivo* y sont présentés.

# Chapitre I : Introduction bibliographique



## 1. Une recherche d'alternatives aux peptides

Les protéines et les peptides sont des macromolécules biologiques complexes omniprésentes dans tous les organismes vivants. Ils assurent une multitude de fonctions biologiques. Obtenus à partir des 22 acides aminés présents dans la nature, leurs tailles varient de 2 à 50 acides aminés pour les peptides, puisqu'au-delà, les biopolymères font partis des protéines. Il en découle donc une très grande diversité de taille et donc de fonctions, qui fait des peptides et des protéines des éléments clés dans de très nombreux processus biologiques. Or, leurs fonctions découlent bien évidemment de la composition en acide aminés de leurs séquences (aussi appelée **structure primaire**), mais aussi et surtout de leurs conformations dans l'espace, autrement dit de la structure tridimensionnelle issue du repliement adopté par ces séquences précises. Ce repliement, également appelé **structure secondaire**, est la conséquence d'interactions au sein du biopolymère. Ces interactions peuvent être non covalentes (liaison hydrogène, hydrophobe, électrostatique, forces de London, interaction  $\pi$  issue de l'empilement de groupements aromatiques), mais aussi covalentes (pont disulfure, coordination avec un métal...). Les protéines sont quant à elles constituées de plusieurs structures secondaires qui interagissent entre elles et conduisent à la formation d'une structure dite **tertiaire**. Enfin, l'assemblage de plusieurs structures tertiaires mène à une superstructure appelée **structure quaternaire** comme le montre la **Figure I-1**.<sup>1</sup>



**Figure I-1** Structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire<sup>2</sup>

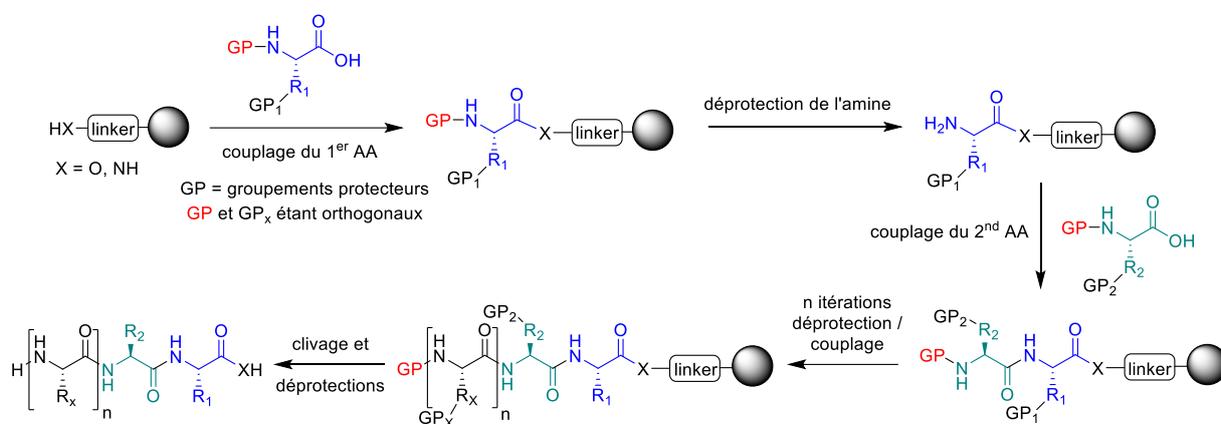
Les protéines étant des macromolécules avec un poids moléculaire très important, elles ne suscitent pas autant d'intérêts que les peptides, qui sont bien plus courts et souvent plus simples à synthétiser. L'engouement pour ces derniers s'est notamment amplifié depuis le développement de la synthèse peptidique sur support solide par B. Merrifield en 1963.<sup>3</sup> Appelée

<sup>1</sup> Onur Dagliyan, Elizabeth A. Proctor, Kevin M. D'Auria, Feng Ding, Nikolay V. Dokholyan, *Structure*, **2011**, *19*, 1837–45.

<sup>2</sup> Dipra Dastider, Dhruvo Jyoti Sen, Sudip Kumar Mandal, Sankhadip Bose, Shubhabrata Ray, Beduin Mahanti, *Eur. J. Pharm. Med. Res.*, **2020**, *7*, 648–56.

<sup>3</sup> R. Bruce Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149–54.

SPPS pour *Solid Phase Peptide Synthesis*, il s'agit d'une voie de synthèse itérative qui permet la synthèse de peptides sur une matrice polymérique insoluble (plus couramment appelée résine) à partir aussi bien d'acides aminés naturels que non naturels. Cette méthode consiste en une répétition d'étape de couplage et de déprotection de monomères séparées par des étapes de lavage du support (**Schéma I-1**). L'avantage de cette voie de synthèse est qu'elle ne requiert aucune étape de purification intermédiaire puisque l'ensemble des excès de réactifs sont éliminés par filtration et lavage de la résine. De plus, l'amélioration du procédé (nouveaux groupements protecteurs, nouveaux agents de couplages, ajout d'étapes de préactivation ou encore le développement des pseudoprolines<sup>4</sup>) a permis d'obtenir une méthode de synthèse de peptides rapide avec de bons rendements et de bonnes puretés.



**Schéma I-1** Synthèse supportée des peptides

Grâce au nombre important de possibilités en matière de taille, séquence, fonctionnalité ainsi que le développement de la synthèse supportée, les peptides trouvent leurs utilisations dans de nombreux domaines, notamment en chimie thérapeutique : agent de transports,<sup>5</sup> surfactants,<sup>6</sup> antibiotiques,<sup>7</sup> vaccins,<sup>8</sup> biomatériaux,<sup>9</sup> etc. Cependant, malgré des recherches pour améliorer leurs propriétés pharmacocinétiques, avec la mise en place de différents outils comme l'amidation *C*-terminale, l'acétylation *N*-terminale, l'utilisation d'acides aminés D et/ou non naturels ou encore la cyclisation,<sup>10,11</sup> les peptides sont considérés comme n'étant pas de

<sup>4</sup> Torsten Wöhr, Franck Wahl, Adel Nefzi, Barbara Rohwedder, Tatsunori Sato, Xicheng Sun, Manfred Mutter, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 9218–27.

<sup>5</sup> Yanming Wang, Shiyong Fan, Wu Zhong, Xinbo Zhou, Song Li, *Int. J. Mol. Sci.*, **2017**, *18*, 1860.

<sup>6</sup> Annette F. Dexter, Anton P. J. Middelberg, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2008**, *47*, 6391–98.

<sup>7</sup> Ling-juan Zhang, Richard L. Gallo, *Curr. Biol.*, **2016**, *26*, R14–19.

<sup>8</sup> Reshma J. Nevagi, Istvan Toth, and Mariusz Skwarczynski, in *Pept. Appl. Biomed. Biotechnol. Bioeng.*, Woodhead Publishing, **2018**, 327–58.

<sup>9</sup> Sotirios Koutsopoulos, in *Pept. Appl. Biomed. Biotechnol. Bioeng.*, Woodhead Publishing, **2018**, 387–408.

<sup>10</sup> Martin Werle, Andreas Bernkop-Schnürch, *Amino Acids*, **2006**, *30*, 351–67.

<sup>11</sup> Kumiko Hamamoto, Yutaka Kida, Ye Zhang, Takashi Shimizu, Koichi Kuwano, *Microbiol. Immunol.*, **2002**, *46*, 741–49.

très bons candidats pour de potentiels médicaments (bien qu'il y ait plus de 60 peptides médicaments approuvés par la *Food and Drug Administration* FDA et plus de 150 en développement<sup>12</sup>). En effet, les peptides souffrent notamment d'une faible biodisponibilité par voie orale due à leur poids moléculaire souvent important et à une faible perméabilité membranaire (notamment avec la barrière hématoencéphalique, porte d'entrée très sélective du cerveau).<sup>13</sup> Ils possèdent également un temps de demi-vie court dû à une clairance rapide par les reins ou le foie, cumulée à une faible résistance aux enzymes protéolytiques.<sup>13</sup> Dans une grande majorité des cas, ils sont immunogènes<sup>14</sup> et ont des problèmes d'agrégation ou de dénaturation engendrant une diminution de la concentration active en peptide.<sup>15</sup> Tous ces inconvénients complexifient donc le développement de peptides en tant que médicaments.

De ce fait, de nombreuses recherches ont été menées afin de développer des mimes de peptides capables de reproduire les mêmes fonctions et la même spécificité que leurs homologues peptidiques tout en ayant de meilleures propriétés pharmacocinétiques. En 1994, J. Gante nomme ces mimes « peptidomimétiques » et les définit comme "*substance[s] possédant une structure secondaire ainsi que d'autres caractéristiques structurelles analogues à celle du peptide d'origine, ce qui lui permet de déplacer le peptide d'origine des récepteurs ou des enzymes*".<sup>16</sup> Le développement de ces molécules est également accéléré par le développement et l'amélioration de la synthèse supportée, mais aussi avec l'émergence de la chimie combinatoire. Cette dernière, développée dans les années 1980, permet la synthèse de banques de molécules avec une grande rapidité dans le but de les tester de façon systématique lors de criblages à haut débit sur de nombreuses cibles thérapeutiques afin de pouvoir découvrir de potentielles molécules biologiquement actives et ainsi obtenir un point de départ pour le développement de candidats médicament. D'abord utilisée pour les biopolymères comme les peptides ou les oligonucléotides, la chimie combinatoire s'est ensuite élargie aux peptidomimétiques<sup>17</sup> et de ce fait, certains peptides non naturels ont vu le jour grâce à cette approche.

Cependant, même avec des peptidomimétiques possédant des structures primaires similaires à leur homologue naturel, il est possible qu'aucune activité ne soit observée lors des tests biologiques. Cela s'explique par le fait que la spécificité d'action d'un peptide (et même

---

<sup>12</sup> Jolene L. Lau, Michael K. Dunn, *Bioorganic Med. Chem.*, **2018**, 26, 2700–2707.

<sup>13</sup> Zuzana Antosova, Martina Mackova, Vladimir Kral, Tomas Macek, *Trends Biotechnol.*, **2009**, 27, 628–35.

<sup>14</sup> Marc H.V. Van Regenmortel, *Biologicals*, **2001**, 29, 209–13.

<sup>15</sup> Rajesh Singh, Shailesh Singh, James W Lillard, *J. Pharm. Sci.*, **2008**, 97, 2497–2523.

<sup>16</sup> Joachim Gante, *Angew. Chemie Int. Ed. English*, **1994**, 33, 1699–1720.

<sup>17</sup> Graham J. Moore, Julian R. Smith, Barry W. Baylis, John M. Matsoukas, *Adv. Pharmacol.*, **1995**, 33, 91–141.

plus généralement d'un biopolymère) ne repose pas seulement sur sa séquence, mais également sur sa structure tridimensionnelle. Or, le plus souvent, l'obtention d'une structure tridimensionnelle particulière se fait aux dépens de la spécificité d'action.<sup>18</sup> De ce fait, de nombreuses recherches sont donc menées afin de pouvoir développer des édifices oligomériques capables de mimer la structure secondaire de biopolymères tout en ayant la même spécificité d'action, le tout en possédant de meilleures propriétés pharmacocinétiques dans l'optique d'obtenir un composé pouvant être utilisé comme médicament par voie orale. L'étude des foldamères est l'une des voies de réponse à cette problématique.

## 2. La famille des foldamères

### 2.1. Définition générale

Durant les années 1980 et 1990, de nombreux groupes de recherches ont décrit des oligomères non naturels possédant des structures secondaires et tertiaires naturelles intéressantes. Ces différentes études sur les oligomères ont permis de faire émerger l'idée que le contrôle du repliement et donc de la conformation de ces oligomères pourrait conduire à de nouveaux types de molécules possédant des propriétés nouvelles et intéressantes. C'est à la fin des années 1990 que S. H. Gellman développe la notion de « foldamère » dans son manifeste du même nom afin de regrouper sous un même terme "*tout polymère ayant une forte tendance à adopter une conformation compacte*".<sup>19</sup> Puis en 2001, J. S. Moore et coll. proposent une définition plus étroite : "*tout oligomère qui se replie dans un état conformationnellement ordonné en solution et dont la structure est stabilisée par un ensemble d'interactions non covalentes entre unités monomères non adjacentes*".<sup>20</sup> Dans cette définition, ils précisent que les foldamères restent des oligomères de poids modeste dont l'intérêt est principalement basé sur la structure secondaire et que pour les oligomères de poids moléculaire plus important (> 5 kDa) et de structure plus complexe (notamment avec des structures tertiaires, voire quaternaires), le nom « tyligomère » doit être utilisé. Plus récemment, en 2011, devant le nombre sans cesse grandissant de nouveaux squelettes et nouvelles structures, G. Guichard et I. Huc suggèrent de diviser les foldamères en deux grandes familles : les foldamères « biotiques » et les foldamères « abiotiques ».<sup>21</sup> Les foldamères biotiques correspondent aux mimes de biopolymères et possèdent des modes de repliements similaires à ceux rencontrés

---

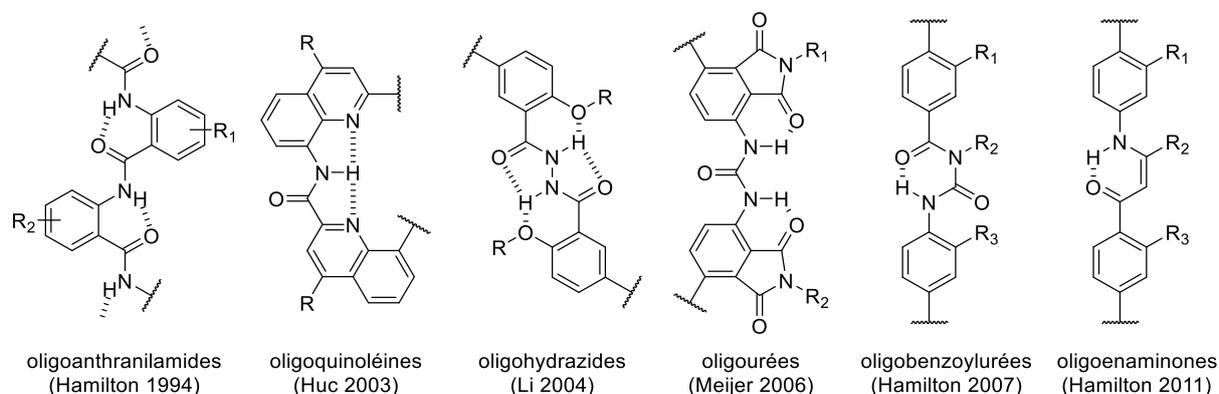
<sup>18</sup> Annelise E. Barron, Ronald N. Zuckermann, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1999**, 3, 681–87.

<sup>19</sup> Samuel H. Gellman, 'Foldamers: A Manifesto', **1998**.

<sup>20</sup> David J. Hill, Matthew J. Mio, Ryan B. Prince, Thomas S. Hughes, Jeffrey S. Moore, *Chem. Rev.*, **2001**, 101, 3893–4011.

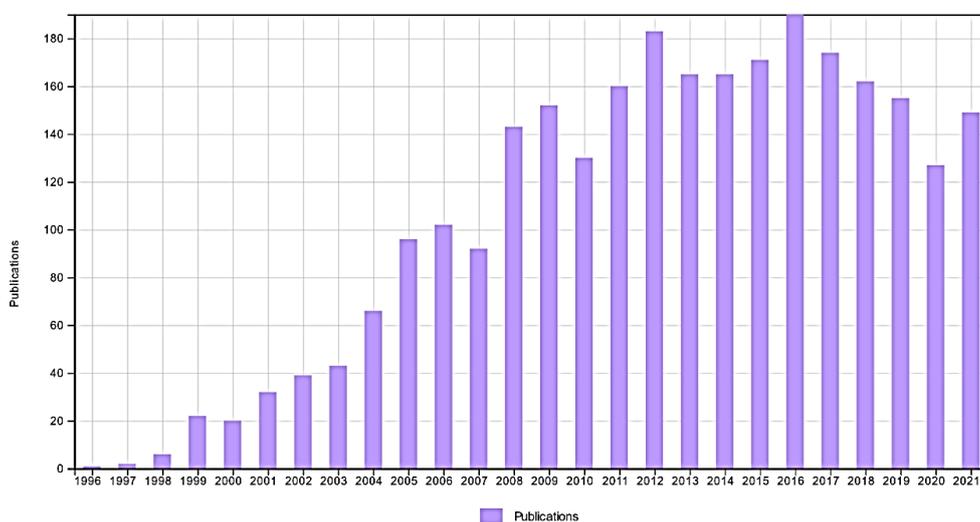
<sup>21</sup> Gilles Guichard, Ivan Huc, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 5933–41.

dans la nature. Les foldamères abiotiques, quant à eux, regroupent l'ensemble des foldamères possédant un squelette et un mode de repliement non naturels. Quelques exemples sont donnés dans la **Figure I-2**. Ces derniers ne seront pas décrits dans ce manuscrit puisque les travaux présentés par la suite concerne une classe de foldamères biotiques.



**Figure I-2** Quelques exemples d'unités abiotiques

L'intérêt pour les foldamères n'a cessé de grandir comme le montre la **Figure I-3** représentant le nombre de publications publiées entre 1996 et 2021. Cela est entre autres la conséquence des problématiques liées à l'instabilité hydrolytique et métabolique des peptides dans le développement de médicaments orientant les équipes de recherches vers des analogues non naturels et notamment vers les foldamères.

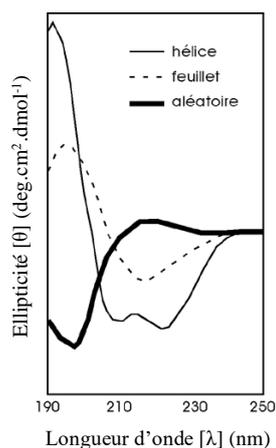


**Figure I-3** Nombres d'articles concernant les foldamères publiés entre 1996 et 2021 (Source : Web of Science).

## 2.2. Techniques d'analyse conformationnelle

Comme indiqué précédemment, l'utilité principale des foldamères repose sur leurs structures secondaires stables. Afin de pouvoir l'étudier et la connaître, différentes techniques spectroscopiques sont nécessaires. Les plus utilisées étant la résonance magnétique nucléaire (RMN) à une et deux dimensions ainsi que la diffraction des rayons X (DRX). Ces deux techniques sont complémentaires puisqu'elles permettent d'obtenir des informations structurales à la fois en solution et à l'état solide. À cela est souvent ajoutée la modélisation moléculaire qui est un outil puissant pour prédire et/ou aussi mieux comprendre certains repliements.

De plus, lorsque les foldamères présentent de la chiralité, l'analyse structurale peut faire appel au dichroïsme circulaire (DC). Cette méthode très largement utilisée pour l'étude des biopolymères repose sur la capacité d'un échantillon possédant un chromophore chiral ou placé dans un environnement asymétrique (comme une fonction amide dans le cas des biopolymères), d'absorber différemment la lumière polarisée permettant de détecter la présence de structures secondaires comme les hélices  $\alpha$  ou les feuillets  $\beta$  (**Figure I-4**). En effet, ces deux structures sont très bien décrites dans la littérature.<sup>22</sup> Ainsi, une hélice  $\alpha$  est facilement identifiable par la présence de deux bandes négatives à 222 et 208 nm ainsi qu'une bande positive à 195 nm. En ce qui concerne les feuillets  $\beta$ , ils sont caractérisés par une bande négative vers 218 nm ainsi qu'une bande positive plus faible à 195 nm.<sup>23</sup> Une protéine désordonnée, quant à elle, aura une faible ellipticité au-dessus de 210 nm et une bande négative aux alentours de 195 nm.<sup>24</sup>



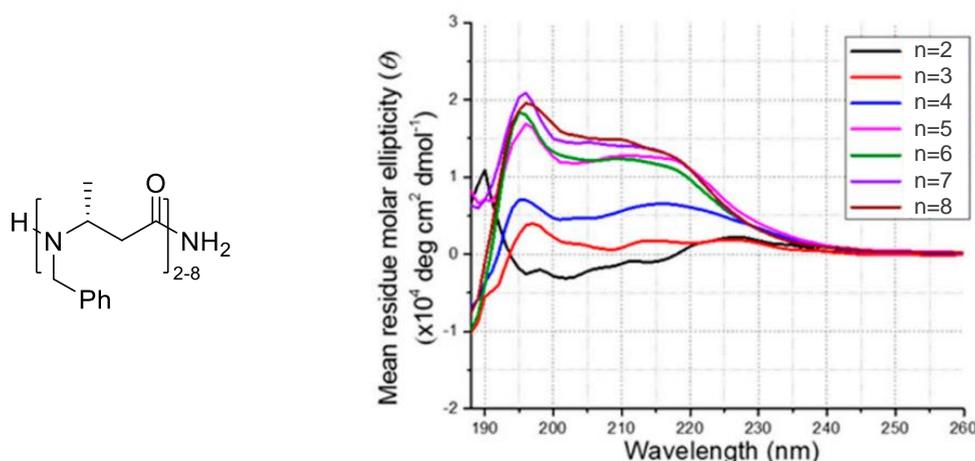
**Figure I-4** Spectres DC caractéristiques de peptides présentant des structures intégrales sous la forme d'hélices  $\alpha$ , de feuillets  $\beta$ , ou de pelote aléatoire.<sup>23</sup>

<sup>22</sup> Norma J. Greenfield, *Nat. Protoc.*, **2007**, *1*, 2876–90.

<sup>23</sup> Norma J. Greenfield, Gerald D. Fasman, *Biochemistry*, **1969**, *8*, 4108–16.

<sup>24</sup> S. Yu Venyaminov, I. A. Baikalov, Zhi Min Shen, Chuen Shang C. Wu, Jen Tsi Yang, *Anal. Biochem.*, **1993**, *214*, 17–24.

Lors de l'étude conformationnelle d'oligomères, l'analyse par dichroïsme circulaire permet d'évaluer la stabilité en solution de la structure secondaire. En effet, l'analyse d'une série d'homooligomères de longueur croissante doit conduire, lorsque la structure tridimensionnelle est stable, à l'observation d'une augmentation, avec la longueur de l'oligomère, de l'intensité des bandes jusqu'à une valeur maximale caractérisant la structure adoptée par l'oligomère, il s'agit de l'effet coopératif (**Figure I-5**). De plus, l'analyse par dichroïsme circulaire étant une méthode très sensible aux conditions expérimentales (température, pH, concentration...), il est possible d'étudier les modifications conformationnelles provoquées par un milieu précis.



**Figure I-5** Effet cumulatif observé avec l'augmentation de la longueur de chaîne lors de l'étude d'oligomère *N*-benzyle  $\beta^3$ -homoalanine. Les longueurs allant de 2 à 8 unités.<sup>25</sup>

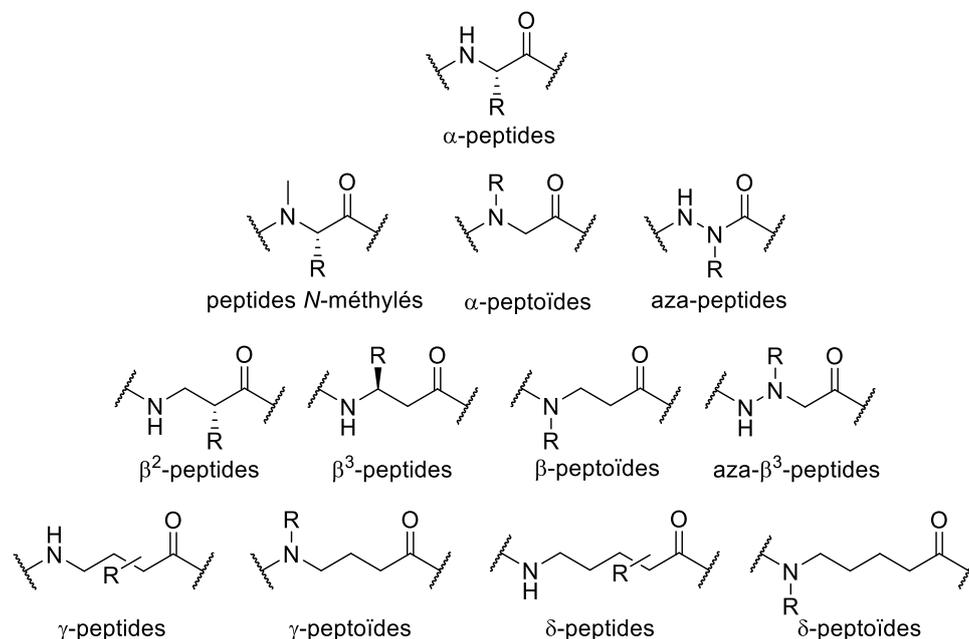
## 2.3. Les foldamères biotiques

### 2.3.1. Présentation

Comme indiqué précédemment, les foldamères biotiques correspondent à l'ensemble des oligomères dits bio-inspirés, autrement dit dont la structure et le mode de repliement sont similaires aux biopolymères. Par leurs similitudes avec les biopolymères, il s'agit essentiellement des foldamères aliphatiques comme le montre la **Figure I-6**.

<sup>25</sup> Ganesh A. Sable, Kang Ju Lee, Hyun-Suk Lim, *Molecules*, **2019**, *24*, 178.

Parmi ces différentes unités de construction se trouvent les  $\beta$ - et  $\gamma$ -peptides,<sup>26</sup> les  $\alpha$ - et  $\beta$ -peptoïdes,<sup>27,28</sup> les peptides *N*-méthylés<sup>29</sup> ou encore les aza-peptides ou azatides<sup>30,31</sup> (**Figure I-6**).



**Figure I-6** Exemples d'unités de construction biotiques.

Dans la grande majorité des cas, les unités monomériques sont reliées par une fonction amide, aussi appelée liaison peptidique. Des motifs plus originaux ont également été décrits comme les oligosulfonamides,<sup>32</sup> les oligourées,<sup>33</sup> les peptides vinylogues<sup>34</sup> ou encore les oligocarbamates<sup>35</sup> (**Figure I-7**).

<sup>26</sup> Dieter Seebach, David F. Hook, Alice Glättli, *Biopolymers*, **2006**, *84*, 23–37.

<sup>27</sup> Reyna J. Simon, Robert S. Kania, Ronald N. Zuckermann, Verena D. Huebner, David A. Jewell, Steven Banville, Simon Ng, Liang Wang, Steven Rosenberg, Charles K. Marlowe, David C. Spellmeyer, Ruoying Tan, Alan D. Frankel, Daniel V. Santi, Fred E. Cohen, Paul A. Bartlett, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1992**, *89*, 9367–71.

<sup>28</sup> Jonas S. Laursen, Jens Engel-Andreasen, Christian A. Olsen, *Acc. Chem. Res.*, **2015**, *48*, 2696–2704.

<sup>29</sup> Jayanta Chatterjee, Chaim Gilon, Amnon Hoffman, Horst Kessler, *Acc. Chem. Res.*, **2008**, *41*, 1331–42.

<sup>30</sup> Anamarija Zega, *Curr. Med. Chem.*, **2012**, *12*, 589–97.

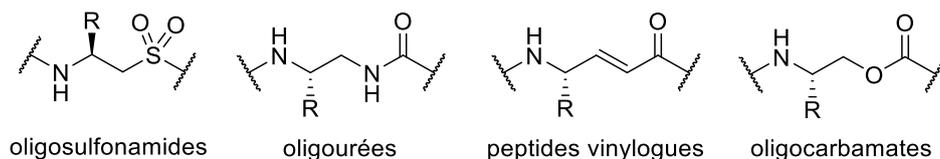
<sup>31</sup> Arnaud Salaün, Michel Potel, Thierry Roisnel, Philippe Gall, Philippe Le Grel, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 6499–6502.

<sup>32</sup> Wilna J. Moree, Gijs A. van der Marel, Rob J. Liskamp, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 5157–69.

<sup>33</sup> Diane Bécart, Vincent Diemer, Arnaud Salaün, Mikel Oiartide, Yella Reddy Nelli, Brice Kauffmann, Lucile Fischer, Claudio Palomo, Gilles Guichard, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 12524–32.

<sup>34</sup> Neville J. Anthony, Stuart L. Schreiber, Masahiko Hagihara, Thomas J. Stout, Jon Clardy, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 6568–70.

<sup>35</sup> Charles Y. Cho, Edmund J. Moran, Sara R. Cherry, James C. Stephans, Stephen P.A. Fodor, Cynthia L. Adams, Arathi Sundaram, Jeffrey W. Jacobs, Peter G. Schultz, *Science*, **1993**, *261*, 1303–5.



**Figure I-7** Blocs de construction biotiques originaux.

Des structures hybrides mélangeant différents blocs ont également permis d'obtenir des structures stables notamment par exemple avec des hybrides  $\alpha,\beta$ -peptides<sup>36</sup> ou encore des hybrides mélangeant peptoïdes et peptides.<sup>37</sup> Cela apporte une diversité plus grande de structures secondaires.

### 2.3.2. Les $\beta$ -peptides

Parmi l'ensemble des possibilités citées précédemment, les  $\beta$ -peptides sont sans aucun doute la famille de peptidomimétiques la plus étudiée notamment grâce aux travaux de S. H. Gellman<sup>38</sup> et D. Seebach<sup>39</sup> dans les années 90. Il s'agit des analogues les plus proches des  $\alpha$ -peptides d'un point de vue de leur structure puisqu'ils sont obtenus à partir des  $\beta$  acides aminés qui possèdent seulement un carbone supplémentaire entre l'acide carboxylique et l'amine primaire. Il y a 2 types de  $\beta$ -peptides, les  $\beta^2$ -peptides pour lesquels le substituant est sur le carbone adjacent au groupe carbonyle et les  $\beta^3$ -peptides où le substituant est sur le carbone portant l'azote.

Les travaux de ces deux groupes pionniers ont également permis de mettre en évidence que les  $\beta$ -peptides conduisent à de nouvelles structures hélicoïdales qui sont plus stables que leurs analogues  $\alpha$ .<sup>39</sup> Ces hélices sont obtenues par des liaisons hydrogène intramoléculaires entre les fonctions carbonyles et les NH des fonctions amides du squelette. Au total, 5 nouveaux types d'hélices ont été observées avec les  $\beta$ -peptides : H-8, H-10/12, H-10, H-12 et H14, le numéro de l'hélice correspondant à la taille du pseudocycle obtenu en incluant la liaison hydrogène<sup>40</sup> (**Figure I-8**).

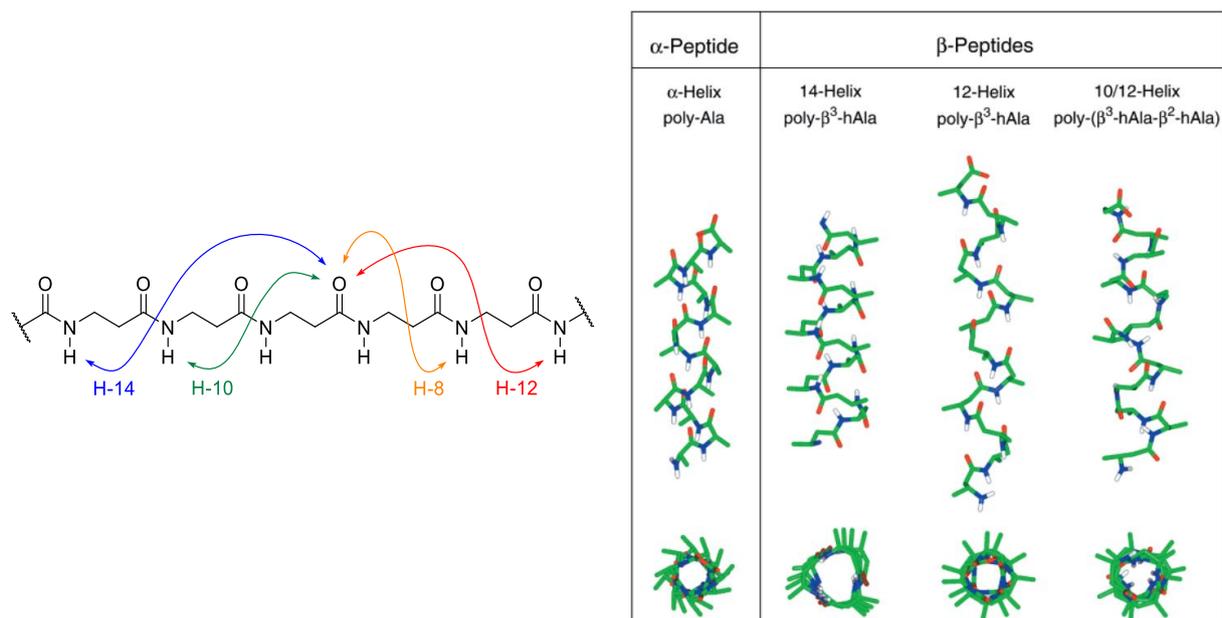
<sup>36</sup> Ludwig K.A. Pilsl, Oliver Reiser, *Amino Acids*, **2011**, *41*, 709–18.

<sup>37</sup> Christian A. Olsen, Gitte Bonke, Line Vedel, Anne Adsersen, Matthias Witt, Henrik Franzyk, Jerzy W. Jaroszewski, *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 1549–52.

<sup>38</sup> Daniel H. Appella, Laurie A. Christianson, Isabella L. Karle, Douglas R. Powell, Samuel H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 13071–72.

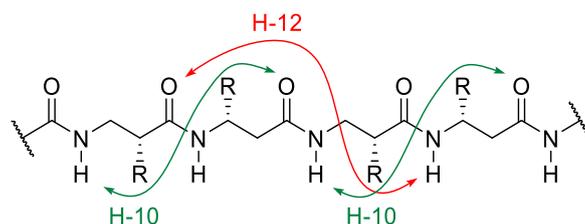
<sup>39</sup> Dieter Seebach and Jennifer L. Matthews, *Chem. Commun.*, **1997**, *21*, 2015–22.

<sup>40</sup> Richard P. Cheng, Samuel H. Gellman, William F. DeGrado, *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, 3219–32.



**Figure I-8** Hélices obtenues par le squelette  $\beta$ -peptide.<sup>40</sup>

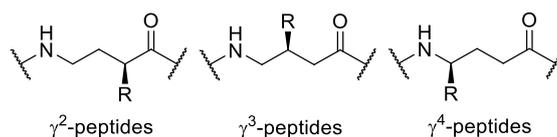
Ces différentes hélices dépendent du type et de la position ( $\beta^2$ - ou  $\beta^3$ -) des substituants sur la chaîne principale (squelette). Notamment pour l'hélice H-10/12 qui est spécifique au motif poly-( $\beta^3$ - $\beta^2$ ) comme l'indique la **Figure I-9**.<sup>41</sup>



**Figure I-9** Représentations des liaisons hydrogène stabilisant l'hélice H-10/12.<sup>41</sup>

### 2.3.3. Les $\gamma$ -, $\delta$ -peptides et hybrides

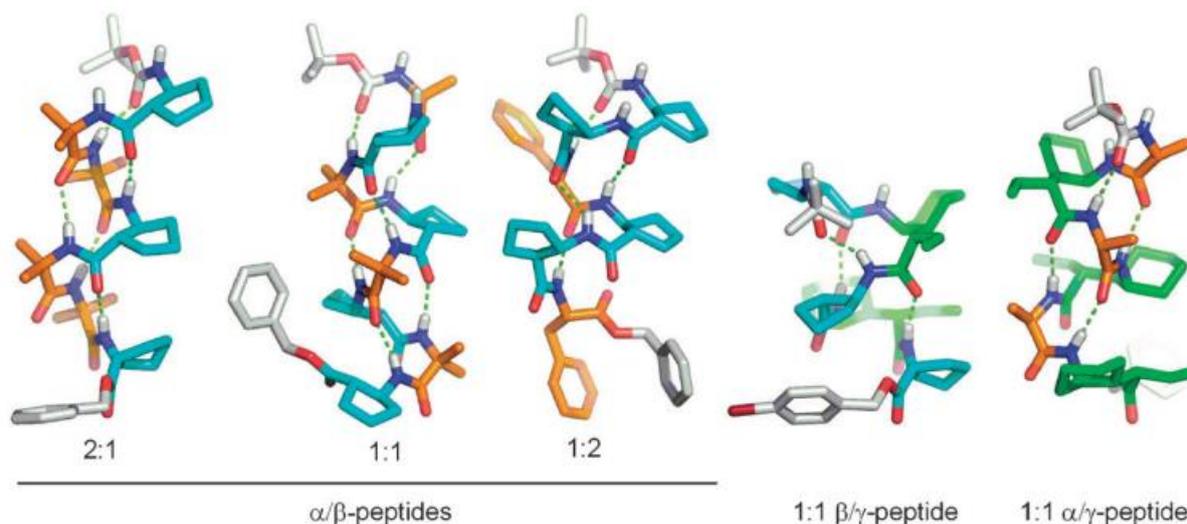
Les  $\beta$ -peptides ayant montré des résultats inattendus sur la structure secondaire, des études ont été réalisées pour observer les conséquences de l'ajout de deux carbones, conduisant aux  $\gamma$ -peptides. Les  $\gamma$  acides aminés possèdent donc trois groupements méthylènes qui sont trois positions possibles pouvant être fonctionnalisées (**Figure I-10**).



**Figure I-10** Nomenclatures des  $\gamma$ -peptides

<sup>41</sup> Dieter Seebach, Stefan Abele, Karl Gademann, Gilles Guichard, Tobias Hintermann, Bernhard Jaun, Jennifer L. Matthews, Jürg V. Schreiber, Lukas Oberer, Ulrich Hommel, Hans Widmer, *Helv. Chim. Acta*, **1998**, *81*, 932–82.

En 1998, Seebach,<sup>42</sup> mais aussi S. Hanessian<sup>43</sup> ont rapportés quasi simultanément que, malgré l'ajout de ce groupement méthylène qui éloigne davantage les fonctions amides et diminuent donc les possibilités de liaisons hydrogène, les  $\gamma$ -peptides sont tout de même capable de former des structures stables en solution comme des hélices, des feuilletts ou encore des coudes. Ces observations ont été confirmées par H.J. Hofmann lors de la réalisation de simulations sur les  $\gamma$ -peptides au début des années 2000.<sup>44</sup> Le même constat a été réalisé pour les  $\delta$ -peptides.<sup>45</sup> De plus, des formes hybrides mélangeant ces acides aminés conduisent également à des structures secondaires stables,<sup>36,46</sup> augmentant encore davantage les possibilités comme mimes peptidiques.



**Figure I-11** Structures hélicoïdales obtenues à partir de squelettes hybrides combinant des acides aminés  $\alpha$  (orange),  $\beta$  (bleu) et  $\gamma$  (vert) dans différentes proportions.<sup>21</sup>

#### 2.3.4. Les oligourées

Les oligourées sont une forme de peptidomimétiques dans la lignée des  $\gamma$ -peptides puisqu'ils sont composés d'acides aminés  $\gamma$  dont le carbone  $\alpha$  est remplacé par un groupement NH. Cette fonction urée ainsi obtenue partage de nombreuses propriétés avec la fonction amide (rigidité, polarité, capacité à former des liaisons hydrogène...), ce qui explique l'intérêt pour la synthèse et l'étude des oligourées.

<sup>42</sup> Tobias Hintermann, Karl Gademann, Bernhard Jaun, Dieter Seebach, *Helv. Chim. Acta*, **1998**, *81*, 983–1002.

<sup>43</sup> Stephen Hanessian, Xuehong Luo, Robert Schaum, Stephen Michnick, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 8569–70.

<sup>44</sup> Carsten Baldauf, Robert Günther, Hans-Jörg Hofmann, *Helv. Chim. Acta*, **2003**, *86*, 2573–88.

<sup>45</sup> Carsten Baldauf, Robert Günther, Hans-Jörg Hofmann, *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 6214–20.

<sup>46</sup> Prema G. Vasudev, Sunanda Chatterjee, Shamala Narayanaswamy, Balaram Padmanabhan, *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 657–87.

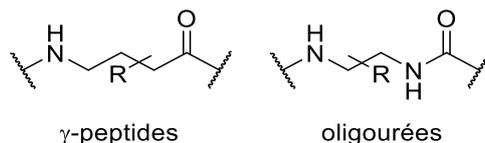


Figure I-12 Squelettes des  $\gamma$ -peptides et oligourées.

Les premières études sur les oligourées ont été réalisées dans les années 1990, mais c'est notamment à partir de 2002 avec les recherches de G. Guichard que leurs structures ont été analysées. Ces dernières révèlent que les oligourées adoptent une structure hélicoïdale proche de celle des  $\gamma$ -peptides avec la formation d'hélice de type H-12/14 ce qui s'explique par le fait que les deux groupements NH autour du carbonyle font une liaison hydrogène avec le même carbonyle<sup>47,48</sup> (Figure I-13).

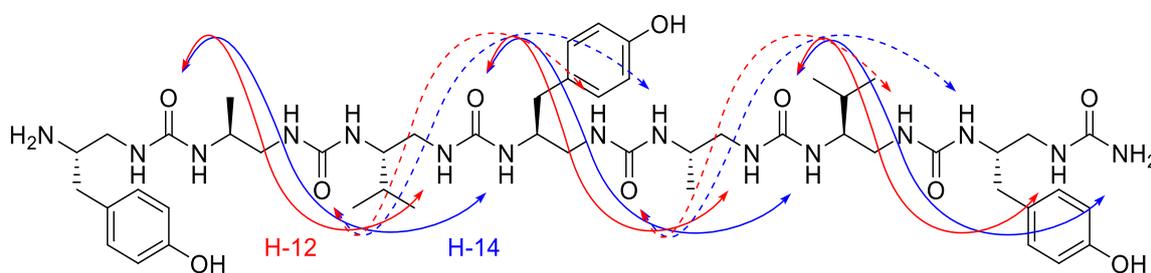


Figure I-13 Structure d'un heptamère oligourée obtenu par le groupe de G. Guichard.<sup>47</sup>

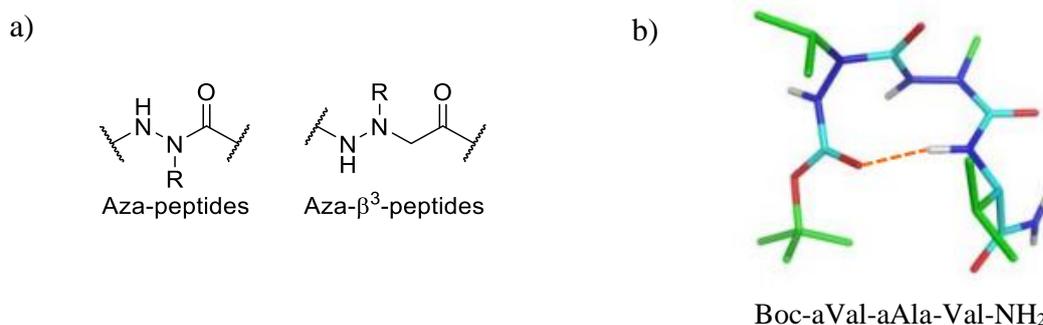
### 2.3.5. Autres unités de construction biotiques

En plus des exemples cités précédemment, d'autres motifs ont également montré leur capacité à adopter des structures secondaires stables. Les aza-peptides et les aza- $\beta^3$ -peptides diffèrent des  $\alpha$ - et  $\beta$ -peptides par le remplacement respectif des carbones  $\alpha$  et  $\beta^3$  par un groupe N-R, avec R la chaîne latérale de l'unité constructrice. Ces oligomères permettent principalement l'obtention de structures coudées, mais aussi hélicoïdales (Figure I-14).<sup>31,49</sup>

<sup>47</sup> Christine Hemmerlin, Michel Marraud, Didier Rognan, Roland Graff, Vincent Semetey, Jean-Paul Briand, Gilles Guichard, *Helv. Chim. Acta*, **2002**, *85*, 3692–3711.

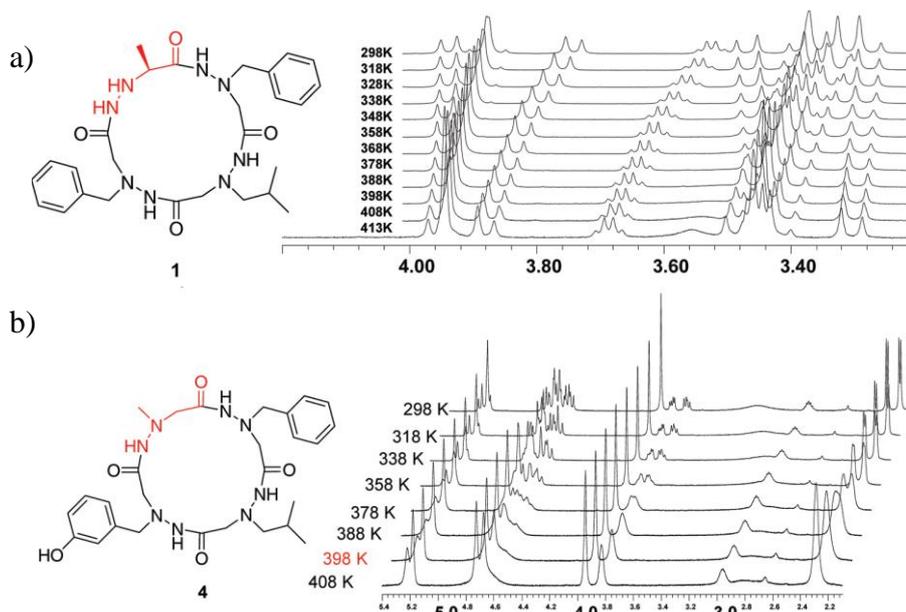
<sup>48</sup> Vincent Semetey, Didier Rognan, Christine Hemmerlin, Roland Graff, Jean-Paul Briand, Michel Marraud, Gilles Guichard, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2002**, *41*, 1893–95.

<sup>49</sup> Nicolo Tonalì, Isabelle Correia, Jacopo Lesma, Guillaume Bernadat, Sandrine Ongeri, Olivier Lequin, *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, *18*, 3452–58.



**Figure I-14** a) Structures des aza-peptides et des aza- $\beta^3$ -peptides et b) représentation d'un coude obtenu à partir d'un trimère incorporant deux aza-acides aminés.<sup>49</sup>

Des propriétés un peu plus particulières ont été également observées. Des travaux réalisés par l'équipe de P. Le Grel, en collaboration avec celle de B. Jamart-Grégoire, sur des aza- $\beta^3$ -cyclopeptides ont montré que lorsque ces cycles contiennent un acide aminé  $\beta^3$ , il est possible d'inhiber complètement le phénomène d'inversion pyramidale des atomes d'azotes (**Figure I-15 a**) et ainsi verrouiller la conformation des cycles dans un état stable contrairement à leurs équivalents isostérique non hybride (**Figure I-15 b**).<sup>50</sup> Cette propriété permet notamment le développement de macrocycle avec des atomes d'azotes de chiralité contrôlée.



**Figure I-15** Étude RMN en température de deux macrocycles mettant en évidence la coalescence des signaux diastérotopiques lors de l'absence de l'acide aminé  $\beta^3$ .<sup>50</sup>

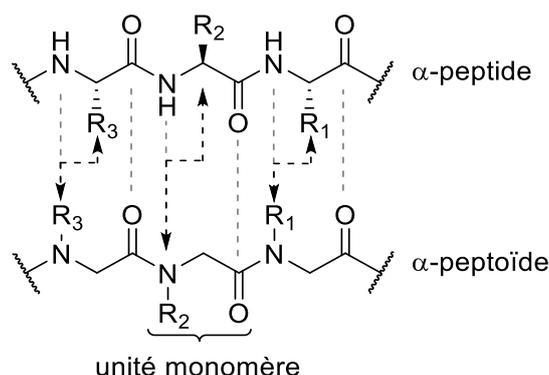
En plus de toutes les familles citées ci-dessus, il y a les peptoïdes, une classe de foldamères biotiques émergente, car présentant de nombreux avantages comparés à leurs analogues naturels. Notre équipe de recherche s'intéresse notamment aux propriétés structurales des peptoïdes ainsi qu'à leur bioactivité en vue d'applications en chimie médicinale.

<sup>50</sup> Clémence Mocquet, Arnaud Salatin, Paul Claudon, Barbara Le Grel, Michel Potel, Gilles Guichard, Brigitte Jamart-Grégoire, Philippe Le Grel, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 14521–25.

### 3. Les peptoides

#### 3.1. Généralités

Les peptoides sont des oligomères de glycines *N*-substituées, autrement dit les chaînes latérales ne sont plus portées par les carbones  $\alpha$ , mais par l'atome d'azote de la fonction amide (**Figure I-16**). Le concept a été rapporté pour la première fois par R. Zuckermann en 1992.<sup>27</sup>



**Figure I-16** Structure d'un  $\alpha$ -peptide et de son équivalent  $\alpha$ -peptide

Cette modification structurale entraîne de nombreuses conséquences :

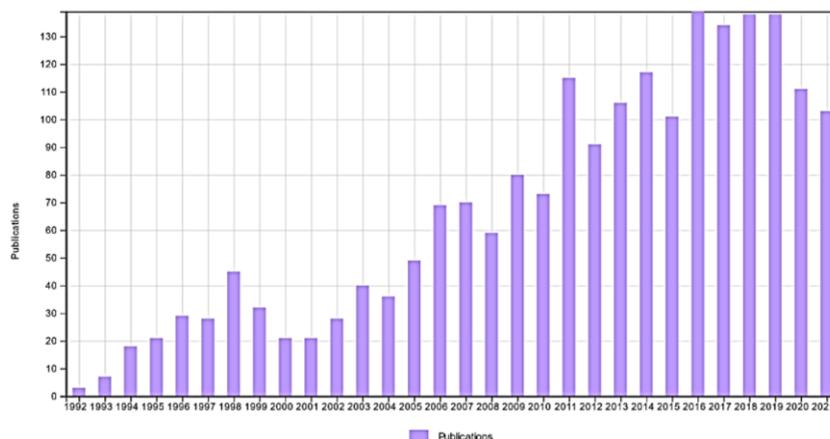
- Suppression du centre asymétrique au niveau du carbone  $\alpha$  et donc obtention d'un squelette entièrement achiral.
- Obtention de fonctions amides *N,N*-disubstitués (amides tertiaires) supprimant les liaisons hydrogène intra-chaînes sur lesquelles reposent en partie la structuration des peptides. Une autre conséquence est une diminution des risques d'agrégation et une augmentation de la biodisponibilité des peptoides.
- Ces fonctions amides *N,N*-disubstitués apportent aux peptoides des propriétés pharmacocinétiques différentes de celles de leurs analogues peptidiques :
  - Une meilleure stabilité métabolique due à une plus forte résistance aux protéases.<sup>51</sup>
  - Une meilleure perméabilité membranaire.<sup>52</sup>
  - Un caractère non immunogène.<sup>53</sup>
- Apparition d'une isomérisation *cis* / *trans* pour les liaisons peptidiques.

<sup>51</sup> Susan M. Miller, Reyna J. Simon, Simon Ng, Ronald N. Zuckermann, Janice M. Kerr, Walter H. Moos, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **1994**, 4, 2657–62.

<sup>52</sup> Yong Uk Kwon, Thomas Kodadek, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 1508–9.

<sup>53</sup> John M. Astle, D. Gomika Udugamasooriya, Joan E. Smallshaw, Thomas Kodadek, *Int. J. Pept. Res. Ther.*, **2008**, 14, 223–27.

Au cours des trois dernières décennies, l'engouement pour les peptoïdes s'est grandement intensifié comme l'indique la **Figure I-17**, représentant le nombre d'articles publiés entre 1992 et 2021. Cela s'explique notamment par la facilité de leur synthèse, qui sera décrite dans la suite de ce manuscrit, leur faible coût de production ainsi que la diversité de chaînes latérales possibles.



**Figure I-17** Nombres d'articles sur les peptoïdes publiés entre 1992 et 2021 (Source : Web of Science).

Tout cela a permis l'accès rapide, grâce à la chimie combinatoire, à de grandes bibliothèques de molécules qui, du fait de leurs propriétés pharmacocinétiques intéressantes et robustes par rapport aux peptides, ont été rapidement utilisées dans des criblages pour le développement de nouveaux candidats médicaments.<sup>54,55</sup> De plus, T. Kodadek a mis au point en 2003 une méthode rapide de criblage de ces banques de molécules et d'isolement des potentielles « touches », accélérant grandement le processus de recherche de molécules thérapeutiquement intéressantes.<sup>56</sup>

Des recherches sur les peptoïdes ont été réalisées pour de potentielles applications dans les domaines des peptoïdes amphiphiles antibactériens,<sup>57</sup> des surfactants pulmonaires,<sup>58</sup> des agents de transports de principe actif,<sup>59</sup> des biomatériaux,<sup>60,61,62</sup> etc (**Figure I-18**). Par ailleurs, grâce à

<sup>54</sup> Ronald N. Zuckermann, Thomas Kodadek, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, **2009**, *11*, 299–307.

<sup>55</sup> Michelle T. Dohm, Rinki Kapoor, Annelise E. Barron, *Curr. Pharm. Des.*, **2012**, *17*, 2732–47.

<sup>56</sup> Prasanna G. Alluri, M. Muralidhar Reddy, Kiran Bachhawat-Sikder, Hernando J. Olivos, Thomas Kodadek, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 13995–4.

<sup>57</sup> Radhe Shyam, Nicolas Charbonnel, Aurélie Job, Christelle Blavignac, Christiane Forestier, Claude Taillefumier, Sophie Faure, *ChemMedChem*, **2018**, *13*, 1513–16.

<sup>58</sup> Shannon L. Seurnyck-Servoss, Michelle T. Dohm, Annelise E. Barron, *Biochemistry*, **2006**, *45*, 11809–18.

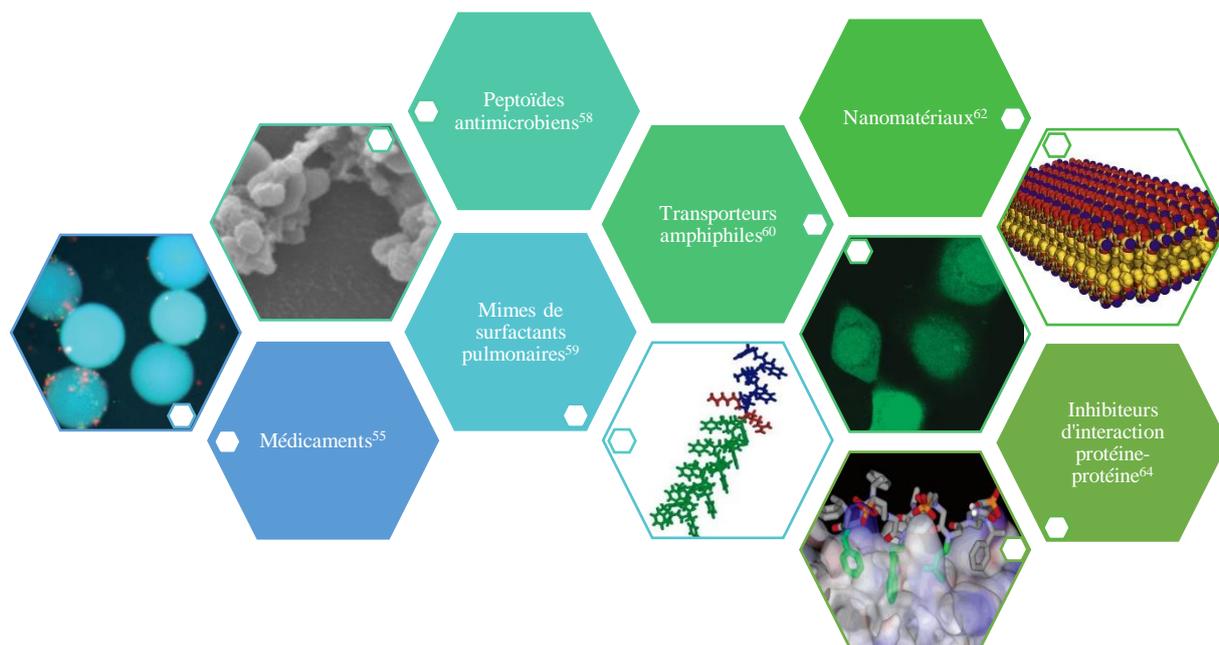
<sup>59</sup> Wei Huang, Jiwon Seo, Jennifer S. Lin, Annelise E. Barron, *Mol. Biosyst.*, **2012**, *8*, 2626–28.

<sup>60</sup> Helen Tran, Sarah L. Gael, Michael D. Connolly, Ronald N. Zuckermann, *J. Vis. Exp.*, **2011**, 1–7.

<sup>61</sup> Shimoga D. Ganesh, Nabanita Saha, Oyunchimeg Zandraa, Ronald N. Zuckermann, Petr Saha, *Polym. Bull.*, **2017**, *74*, 3455–66.

<sup>62</sup> Ki Tae Nam, Sarah A. Shelby, Philip H. Choi, Amanda B. Marciel, Ritchie Chen, Li Tan, Tammy K. Chu, Ryan A. Mesch, Byoung Chul Lee, Michael D. Connolly, Christian Kisielowski, Ronald N. Zuckermann, *Nat. Mater.*, **2010**, *9*, 454–60.

leurs propriétés pharmacocinétiques, les peptoïdes sont d'excellents candidats pour l'inhibition d'interaction protéine-protéine,<sup>63,64,65</sup> qui sont des éléments clés pour de nombreux processus biologiques importants. Plus précisément, ce manuscrit se penchera sur l'inhibition de l'interaction entre la protéine-canal HCN et sa sous-unité auxiliaire TRIP8b afin d'inhiber le processus responsable des douleurs neuropathiques chez les patients atteints de cancer du côlon traité par chimiothérapie.



**Figure I-18** Schéma récapitulatif des différentes applications des peptoïdes

<sup>63</sup> Toshiaki Hara, Stewart R. Durell, Michael C. Myers, Daniel H. Appella, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 1995–2004.

<sup>64</sup> Jeffrey A. Schneider, Timothy W. Craven, Amanda C. Kasper, Chi Yun, Michael Haugbro, Erica M. Briggs, Vladimir Svetlov, Evgeny Nudler, Holger Knaut, Richard Bonneau, Michael J. Garabedian, Kent Kirshenbaum, Susan K. Logan, *Nat. Commun.*, **2018**, *9*, 4396.

<sup>65</sup> Jack T. Nguyen, Margaret Porter, Mehran Amoui, W. Todd Miller, Ronald N. Zuckermann, Wendell A. Lim, *Chem. Biol.*, **2000**, *7*, 463–73.

## 3.2. Méthodes de synthèse des peptoides

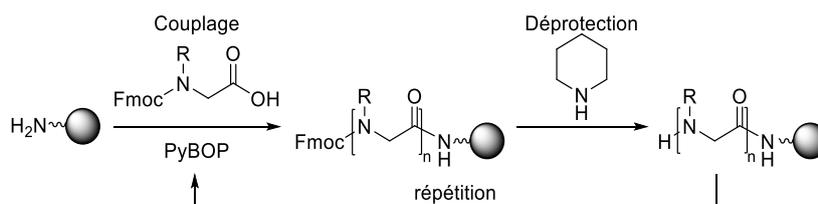
### 3.2.1. Synthèse des $\alpha$ -peptoides

Les premières synthèses de peptoides ont été réalisées à la fin des années 1980 par Protos Corp., une start-up américaine dans laquelle travaille R. Zuckermann, avec pour objectif de trouver de nouveaux candidats médicaments. Avec l'émergence de nouvelles cibles thérapeutiques et des technologies de criblage à haut débit, les entreprises biotechnologiques se sont intéressées de plus en plus à la chimie combinatoire afin de pouvoir générer rapidement de grandes banques de molécules afin de pouvoir découvrir rapidement des biomolécules non naturelles présentant une affinité pour des protéines particulières et ainsi obtenir un point de départ rapide vers de potentiels médicaments. C'est dans cette optique que Chiron Corp. racheta Protos Corp. et donc les travaux de Zuckermann en 1988.

Étant donné la similitude des peptoides avec les peptides, qui sont simplement régioisomères, l'équipe de Zuckermann a pu mettre au point une approche synthétique rapide similaire à la synthèse des peptides sur support solide.

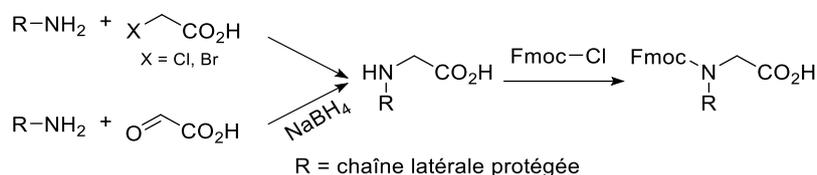
#### 3.2.1.1. Approche « monomère »

Lors du développement de la synthèse des peptoides, l'équipe de Zuckermann a tout d'abord envisagé une voie de synthèse identique à celle des peptides, autrement dit en réalisant l'assemblage de blocs monomériques protégés par un groupement Fmoc (9-Fluorénylméthoxycarbonyl) à leur extrémité *N*-terminale (**Schéma I-2**). Après le couplage du monomère protégé, le groupement Fmoc est retiré par action de la pipéridine puis le monomère suivant est ajouté et ainsi de suite. Cependant, un des problèmes de cette méthode est l'encombrement de l'amine secondaire rendant la réaction de couplage plus difficile et nécessitant donc l'usage d'agent d'activation comme PyBOP qui permet d'activer l'acide carboxylique sous forme d'acyloxyphosphonium permettant de faciliter l'attaque de l'amine encombrée et d'améliorer la conversion. De plus, comme indiqué ci-dessus, cette voie de synthèse nécessite la préparation en amont des monomères protégés en quantité souvent importante, or cela représente un travail souvent long, difficile et coûteux.



**Schéma I-2** Synthèse de peptoïde par la méthode monomère

Pour préparer ces monomères, deux approches sont le plus souvent envisagées. La première est de réaliser l'étape de substitution en solution tandis que la seconde a recours à une amination réductrice. Dans les deux cas, l'amine secondaire obtenue doit ensuite être protégée afin de pouvoir utiliser le bloc en synthèse supportée (**Schéma I-3**).

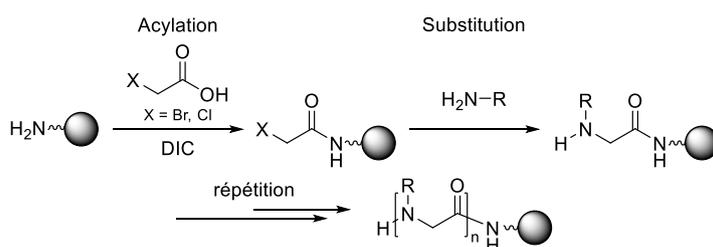


**Schéma I-3** Méthodes de synthèses des monomères protégés

De ce fait, pour contourner ce problème, le groupe de Zuckermann a développé une nouvelle approche dite « submonomère » permettant de former les monomères directement sur le peptotide en croissance sans avoir recours à des groupements protecteurs.

### 3.2.1.2. Méthode « submonomère »

Cette méthode, développée en 1992, est une innovation majeure dans le domaine de la synthèse des peptoides. Il s'agit également d'une méthode itérative en deux étapes comportant une étape d'acylation et d'une étape de substitution. Tout d'abord, une étape d'acylation par couplage d'un acide haloacétique (chloro ou bromo) sur l'amine libre de l'extrémité *N*-terminale du peptotide en croissance. Puis dans un second temps, une substitution nucléophile de l'halogène par une amine primaire portant la chaîne latérale de l'unité désirée. Les étapes d'acylation et de substitution nucléophiles sont répétées jusqu'à l'obtention du peptotide souhaité comme résumé sur le **Schéma I-4**.



**Schéma I-4** Synthèse « submonomère » sur support solide.

En général, l'acide bromoacétique est utilisé pour l'étape d'acylation avec la *N,N*-diisopropylcarbodiimide (DIC) comme agent de couplage. Lors de cette étape d'acylation, les fonctions présentes sur les chaînes latérales doivent être protégées afin d'éviter tout risque de réaction sur ces fonctions. De ce fait, en présence d'hétéroatomes non protégés (imidazole, pyridine...), l'acide chloroacétique sera préféré du fait de son plus faible pouvoir alkylant, limitant donc les réactions parasites sur les éventuels hétéroatomes de la chaîne latérale.

Cependant, le passage par des intermédiaires chloroacétamide a pour conséquence de ralentir l'étape de substitution nucléophile, mais cela peut être contourné par l'ajout d'iodure de potassium (KI) dans le milieu réactionnel afin de réaliser un échange d'halogène de Finkelstein permettant la formation d'un iodoacétamide et améliorant ainsi la réactivité de l'intermédiaire.<sup>66</sup>

L'avantage de la synthèse « submonomère » est que les chaînes latérales sont insérées par des amines primaires. De ce fait, cela apporte une très grande diversité de chaînes latérales<sup>67</sup> et même les amines non disponibles commercialement sont en général accessibles par synthèse. De plus, des travaux réalisés notamment par H. E. Blackwell ont mis en évidence la possibilité d'accélérer la synthèse supportée de peptoïdes par irradiation micro-ondes.<sup>68,69</sup> Cette activation permet entre autres de faciliter le couplage d'amines primaires encombrées ou électroniquement désactivées. L'optimisation de cette approche a permis d'obtenir des peptoïdes ayant une longueur de plus de 50 unités de long et dont le rendement pour chaque unité est de l'ordre de 99%.<sup>70</sup>

Par la suite, notre équipe a mis au point une approche en solution de la synthèse « submonomère » pour des peptoïdes ayant une taille allant jusqu'à 10 unités (**Schéma I-5**). Cette méthodologie permet de travailler à l'échelle du gramme tout en conservant des rendements satisfaisants.<sup>71,72</sup> Cependant, cette méthode requiert des étapes de purification intermédiaires car, contrairement à la synthèse sur support solide, il est impossible de se débarrasser des excès de réactifs et des sous-produits par simple lavage. En revanche, elle utilise seulement 3 ou 4 équivalents d'amines alors que la synthèse sur support solide nécessite 10 à 25 équivalents d'amines. De plus, lorsque l'amine utilisée est volatile, l'excès peut être éliminé facilement par évaporation du mélange réactionnel.

Généralement, en solution, l'étape d'élongation du squelette correspond à une acylation de l'amine à l'extrémité *N*-terminale par un halogénure de bromoacétyle (chlorure ou bromure)

---

<sup>66</sup> Timothy S. Burkoth, Aaron T. Fafarman, Deborah H. Charych, Michael D. Connolly, Ronald N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 8841–45.

<sup>67</sup> Adrian S. Culf, Rodney J. Ouellette, *Molecules*, **2010**, *15*, 5282–5335.

<sup>68</sup> Helen E. Blackwell, *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *1*, 1251–55.

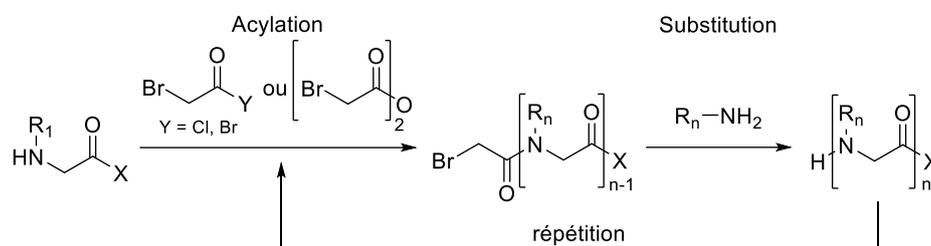
<sup>69</sup> Anne C. Schneider, Daniel Fritz, Joseph K. Vasquez, Sidonie B.L. Vollrath, Helen E. Blackwell, Stefan Bräse, *ACS Comb. Sci.*, **2017**, *19*, 715–37.

<sup>70</sup> John E. Murphy, Tetsuo Uno, Janice D. Hamer, Fred E. Cohen, Varavani Dwarki, Ronald N. Zuckermann, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, *95*, 1517–22.

<sup>71</sup> Thomas Hjelmgaard, Sophie Faure, Cécile Caumes, Emiliana De Santis, Alison A. Edwards, Claude Taillefumier, *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4100–4103.

<sup>72</sup> Cécile Caumes, Thomas Hjelmgaard, Roland Remuson, Sophie Faure, Claude Taillefumier, *Synthesis*, **2011**, *2*, 257–64.

suivie par la substitution de l'atome de brome par une amine primaire. Il est également possible de réaliser l'étape d'acylation en utilisant l'anhydride bromoacétique. De plus, dans certains cas, ces approches alternatives conduisent à de meilleurs résultats comparés à ceux obtenus avec l'acide.<sup>73,74</sup>



**Schéma I-5** Synthèse en solution par la méthode « submonomère ».

### 3.2.2. Synthèse des $\beta$ -peptoides

Tout comme pour les peptides, une homologation du squelette peptomimétique est possible, conduisant ainsi aux  $\beta$ -peptoides. Ce sont en fait des oligomères de  $\beta$ -alanines *N*-substituées, qui ont été décrits pour la première fois en 1998 par B. C. Hamper.<sup>75</sup> De la même manière que leur homologue  $\alpha$ -peptomimétique, l'approche favorisée pour la synthèse des  $\beta$ -peptoides est la méthode « submonomère », qui a été adaptée et rendue possible aussi bien sur support solide qu'en solution. Cette méthode, développée par Hamper repose sur une réaction d'aza-Michael pour introduire la chaîne latérale. Ainsi, lors de la synthèse des  $\beta$ -peptoides, le donneur d'acyle devient le chlorure d'acryloyle puis dans un second temps, la chaîne latérale est introduite par une réaction d'aza-Michael entre l'amine primaire portant la chaîne latérale et l'acrylamide intermédiaire formé (**Schéma I-6**). Cependant, cette dernière étape présente un risque de formation du sous-produit issue de la double addition de deux acrylamides sur une amine. Pour éviter cela et favoriser la mono addition, un excès d'amine est utilisé lors de la réaction (3 à 4 équivalents en solution et jusqu'à 20 sur support solide).<sup>76</sup> Pour ce qui concerne leur synthèse en solution, le produit de départ est en général l'acrylate de *tert*-butyle et les produits intermédiaires sont purifiés à chaque étape par chromatographie flash sur colonne. Une approche similaire à la synthèse des unités  $\alpha$  par substitution d'un  $\beta$ -halogénopropionamide (notamment 3-iodo- et 3-bromo-) a été envisagée par l'équipe de P. I. Arvidsson, cependant,

<sup>73</sup> Olivier Roy, Cécile Caumes, Yannick Esvan, Claude Didierjean, Sophie Faure, Claude Taillefumier, *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 2246–49.

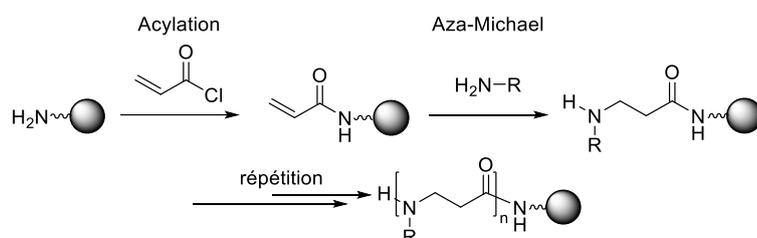
<sup>74</sup> Uttam K. Saha and René Roy, *Chem. Commun.*, **1995**, *24*, 2571–73.

<sup>75</sup> Bruce C. Hamper, Stephen A. Kolodziej, Angela M. Scates, Ronald G. Smith, Enriqueta Cortez, *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 708–18.

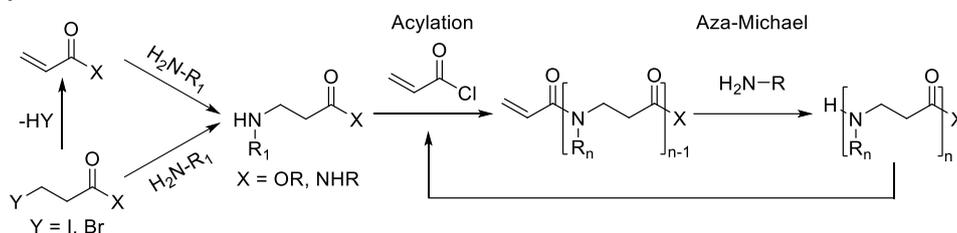
<sup>76</sup> Aymeric Genest, Sandra Binauld, Emmanuel Pouget, François Ganachaud, Etienne Fleury, Daniel Portinha, *Polym. Chem.*, **2017**, *8*, 624–30.

les analyses par spectrométrie de masse lors du suivi de la réaction ont montré qu'une partie du réactif halogéné subissait une  $\beta$ -élimination conduisant ainsi à l'acrylamide utilisé par Hamper.<sup>77</sup> Ce dernier conduisait tout de même au motif  $\beta$  souhaité puisque les conditions réactionnelles utilisées par Arvidsson lors de la substitution sont similaires à celles utilisées par Hamper pour la réaction d'aza-Michael.

#### Synthèse sur support solide



#### Synthèse en solution



**Schéma I-6** Synthèse de  $\beta$ -peptoides par l'approche « submonomère »

À ce jour, la méthodologie de synthèse des  $\beta$ -peptoides, que ce soit sur support solide ou en solution, est beaucoup moins présente dans la littérature que celle de leur homologue  $\alpha$ . Elle est beaucoup moins optimisée et de ce fait, il est difficile pour le moment de synthétiser de longs  $\beta$ -peptoides de façon linéaire puisque le rendement de cette méthode diminue grandement avec la longueur de l'oligomère et notamment avec des chaînes latérales  $\alpha$ -chirales.<sup>78,79,80</sup> Cependant, une approche par assemblage de blocs protégés est possible comme l'a montré S. W. Shuey en réalisant des  $\beta$ -peptoides allant jusqu'à 18 unités de longueur grâce à l'assemblage de blocs constitués de deux ou trois unités  $\beta$ -peptide.<sup>81</sup> Plus récemment, en 2019, une équipe américaine dirigée par T. F. Scott a également décrit une approche synthétique sur support solide reposant sur le couplage de monomères préalablement préparés en solution. Par cette

<sup>77</sup> Anna S. Norgren, Suode Zhang, Per I. Arvidsson, *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 4533–36.

<sup>78</sup> Christian A. Olsen, Maja Lambert, Matthias Witt, Henrik Franzyk, Jerzy Witold Jaroszewski, *Amino Acids*, **2008**, *34*, 465–71.

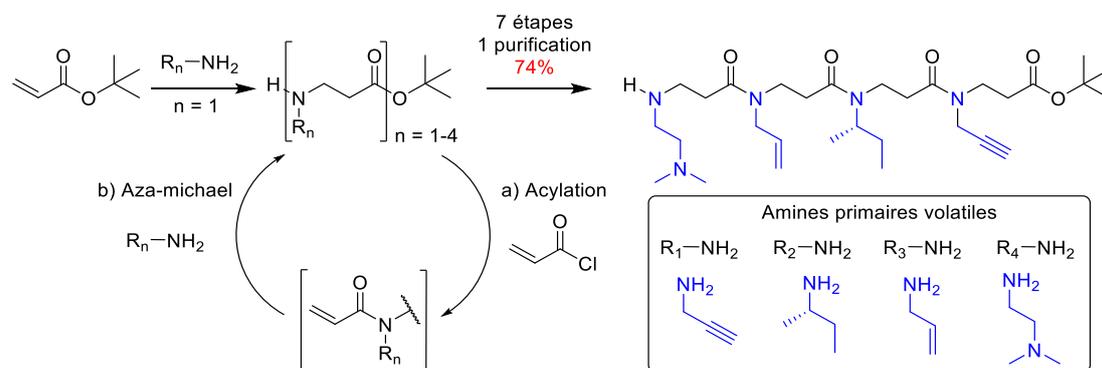
<sup>79</sup> Christian A. Olsen, *ChemBioChem*, **2010**, *11*, 152–60.

<sup>80</sup> Christian A. Olsen, *Biopolymers*, **2011**, *96*, 561–66.

<sup>81</sup> Steven W. Shuey, William J. Delaney, Mukesh C. Shah, Mark A. Scialdone, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 1245–48.

approche, des  $\beta$ -peptoïdes ont été obtenus avec des longueurs jusqu'à 20 unités et cela en moins d'une journée grâce à l'automatisation de la synthèse et l'utilisation de micro-ondes.<sup>82</sup>

Néanmoins, par une optimisation des conditions réactionnelles et l'utilisation uniquement d'amines primaires volatiles, notre équipe est parvenue à réaliser, en 7 étapes sans purification intermédiaire, des tétramères à l'échelle du gramme<sup>72</sup> (**Schéma I-7**).



**Schéma I-7** Exemple de  $\beta$ -tétramère synthétisé par l'approche « submonomère » en solution.<sup>72</sup>

### 3.2.3. Autres composés apparentés

Les peptoïdes  $\alpha$  et  $\beta$  sont les deux types de peptoïdes les plus présents dans la littérature, mais il ne s'agit pas des seuls. En effet, il existe d'autres familles, notamment les  $\alpha,\beta$ -peptoïdes alternés, décrits pour la première fois par notre équipe en 2009,<sup>71</sup> obtenus en combinant les méthodes de synthèses des  $\alpha$ -peptoïdes et des  $\beta$ -peptoïdes. Il existe également les arylopeptoïdes,<sup>83</sup> les *N*-hydroxy<sup>84</sup> et *N*-alcoxy-peptoïdes,<sup>85</sup> les azapeptoïdes<sup>86</sup>, les uréopeptoïdes,<sup>87</sup> ou encore les aminooxypeptoïdes<sup>88</sup> (**Figure I-19**).

<sup>82</sup> Joseph C. Furgal, Julius M. van Dijk, Samuel C. Leguizamon, Timothy F. Scott, *Eur. Polym. J.*, **2019**, *118*, 306–11.

<sup>83</sup> Thomas Hjelmggaard, Sophie Faure, Emiliana De Santis, Dan Staerk, Bruce D. Alexander, Alison A. Edwards, Claude Taillefumier, John Nielsen, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 4444–54.

<sup>84</sup> J. Aaron Crapster, Joseph R. Stringer, Iliia A. Guzei, Helen E. Blackwell, *Biopolymers*, **2011**, *96*, 604–16.

<sup>85</sup> Peter A. Jordan, Bishwajit Paul, Glenn L. Butterfoss, P. Douglas Renfrew, Richard Bonneau, Kent Kirshenbaum, *Biopolymers*, **2011**, *96*, 617–26.

<sup>86</sup> Bani Kanta Sarma, Muhammed Yousufuddin, Thomas Kodadek, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 10590–92.

<sup>87</sup> John A.W. Kruijtzter, Dirk J. Lefeber, Rob M.J. Liskamp, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 5335–38.

<sup>88</sup> Injae Shin, Kisoo Park, *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 869–72.

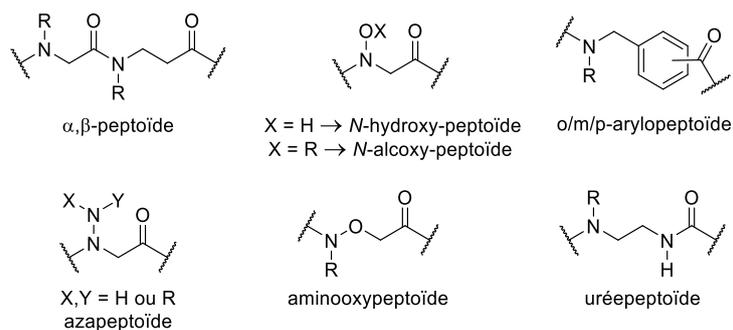


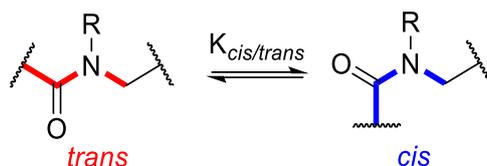
Figure I-19 Structures des autres classes de peptoïdes.

### 3.3. Aspects structuraux des peptoïdes

#### 3.3.1. Influence des fonctions amides *N,N*-disubstitués.

Dans la nature, les peptides et les protéines sont capables d'adopter une grande variété de structures secondaires ordonnées et bien définies. Cependant, de nombreux mécanismes de repliement utilisés par ces oligomères naturels sont absents chez les peptoïdes. En effet, le squelette des peptoïdes est dépourvu de groupement NH donneur de liaisons hydrogène, l'empêchant donc de réaliser des liaisons hydrogène étendues similaires à celles observables avec les peptides. De plus, comme le squelette peptoïde est achiral, les peptoïdes ne bénéficient pas des propriétés structurales que peuvent apporter la présence de centres stéréogènes. Enfin, la position des chaînes latérales sur les peptoïdes conduit à l'obtention de fonctions amides *N,N*-disubstitués, il est donc possible d'observer deux conformations différentes pour ces derniers, à savoir les conformations *cis* et *trans*, très proches énergétiquement, se traduisant par un équilibre en les deux conformères (**Figure I-20**). De ce fait, un peptoïde composé de  $n$  monomères possède  $2^{n-1}$  isomères différents ( $2^n$  si le peptoïde est acylé en position *N*-terminale) pouvant tous coexister en équilibre au sein d'une même solution. Bien que les deux conformations soient proches énergétiquement, il est possible de les discerner par analyse RMN du fait de la faible vitesse d'isomérisation des liaisons amides peptoïdes.<sup>89</sup> Malgré la plus grande flexibilité intrinsèque de leur squelette, les peptoïdes sont tout de même capables de conduire à des structures secondaires bien définies et stables, suscitant de plus en plus d'intérêt pour le développement de mimes peptidiques. Cela implique un contrôle de la conformation des fonctions amides, ce qui repose notamment sur le développement de chaînes latérales capables d'établir des interactions non covalentes avec le squelette, et ainsi influencer la géométrie *cis* ou *trans* des fonctions amides du squelette. Ces interactions peuvent être d'ordre stérique ou électronique.

<sup>89</sup> Qiang Sui, Dan Borchardt, Dallas L. Rabenstein, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 12042–48.

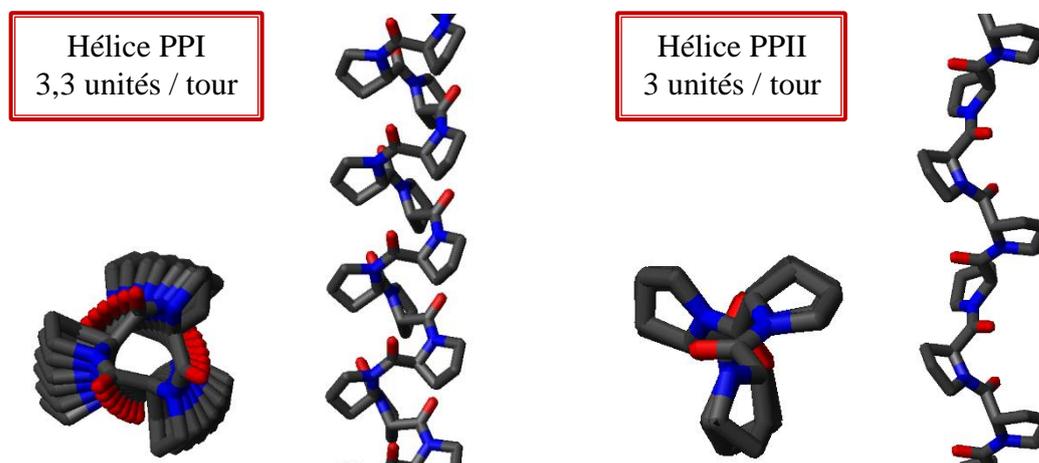


**Figure I-20** Conformations *trans* et *cis* adoptées pour les fonctions amides.  
R = chaîne latérale

Parmi les structures secondaires décrites avec les peptoides, l'hélice est la plus répandue, mais il a également été possible d'obtenir des coudes ou encore des feuillettes. De plus, des structures plus originales ont également été décrites et seront présentées dans la suite de ce manuscrit.

### 3.3.2. Structures hélicoïdales

De façon similaire aux polyprolines, dont les fonctions amides sont également tertiaires et conduisent à des hélices polyproline I (PPI) ou polyproline II (PPII) (**Figure I-21**), les peptoides peuvent également adopter ces deux types de structures hélicoïdales. Le repliement des chaînes peptoides en hélice de type PPI a été le plus étudié et il a été notamment montré une excellente stabilité thermique ou aux agents chaotropiques, par comparaison aux peptides.<sup>90</sup> L'obtention de l'une ou l'autre hélice est dépendante de la géométrie des fonctions amides : la première est caractérisée par l'ensemble des fonctions amides en conformation *cis* tandis que la seconde est caractérisée par des fonctions amides *trans*.



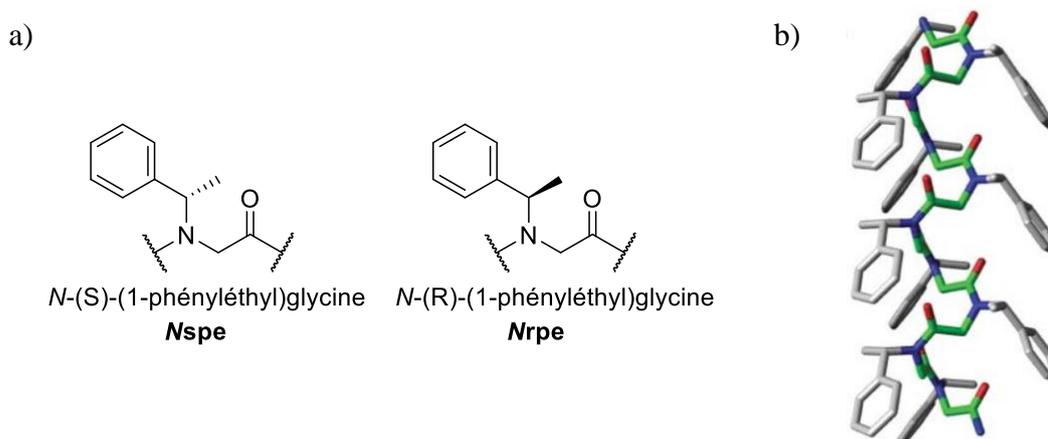
**Figure I-21** Représentations des deux hélices polyprolines.

#### 3.3.2.1. L'hélice de type PPI

La première hélice peptoides de type PPI, caractérisée par l'ensemble des fonctions amides en conformation *cis*, a été obtenue avec une chaîne latérale  $N\alpha$ -chirale : la chaîne

<sup>90</sup> Susan M. Miller, Reyna J. Simon, Simon Ng, Ronald N. Zuckermann, Janice M. Kerr, Walter H. Moos, *Drug Dev. Res.*, **1995**, 35, 20–32.

1-phényléthyle, également notée (*pe*) et qui en fonction de la configuration absolue du carbone asymétrique, sera notée (*spe*) et (*rpe*) respectivement pour les configurations *S* et *R* (**Figure I-22 a**). Les unités monomères correspondantes sont notées *Nspe* et *Nrpe*. Cette notation sera utilisée dans l'intégralité de ce mémoire pour décrire les séquences peptoides. En réalisant une étude de dynamique moléculaire avec la chaîne (*pe*), l'équipe de Zuckermann a décrit une structure hélicoïdale adoptée par les octamères *Nspe*<sub>8</sub> et *Nrpe*<sub>8</sub>.<sup>91</sup> Par la suite, l'équipe de Blackwell a modélisé le décimère *Nspe*<sub>10</sub> à partir des valeurs des angles dièdres obtenus par Zuckermann<sup>92</sup> (**Figure I-22 b**).



**Figure I-22 a)** Structure des monomères *Nspe* et *Nrpe*. **b)** Modélisation de la structure de l'oligomère *Nspe*<sub>10</sub>.<sup>92</sup>

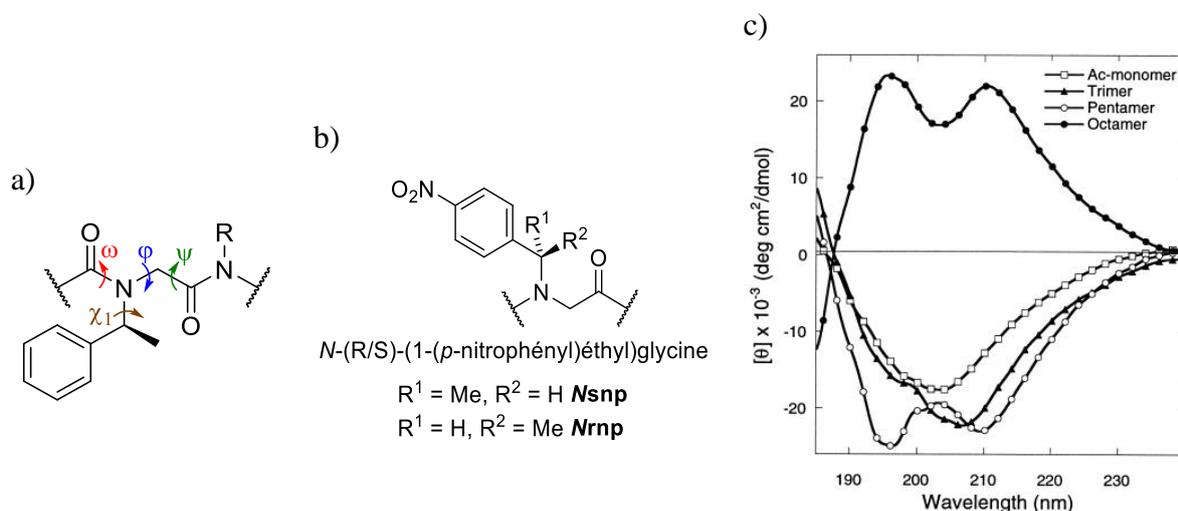
À la suite des travaux sur les oligomères *Nspe*, il a été montré que l'utilisation de chaînes latérales *Nα*-chirales stériquement encombrées permet d'induire une structure hélicoïdale en solution et cela pour des peptoides dont la longueur est aussi courte que 5 résidus.<sup>93</sup> Du fait du caractère achiral du squelette, c'est la configuration des centres stéréogènes qui permet de déterminer l'hélicité, gauche ou droite de l'hélice obtenue. Ainsi, pour les homooligomères *Nspe*, des hélices droites sont obtenues, dont les angles dièdres issus de la modélisation moléculaire ont pour valeurs  $\omega = 0^\circ$ ,  $\Phi = 75^\circ$ ,  $\psi = 170^\circ$  et  $\chi_1 = -120^\circ$  (**Figure I-23 a**), confirmant également l'analogie avec les hélices de type PPI ( $\omega = 0^\circ$ ,  $\Phi = -75^\circ$  et  $\psi = 160^\circ$ ). Une hélice gauche serait caractérisée par un angle dièdre  $\Phi = -75^\circ$ . L'hélicité est également observable par dichroïsme circulaire puisque l'analyse d'oligomères *Nsnp* et *Nrnp* (1-(*p*-nitrophényl)éthyl) indique une inversion de la courbe entre les oligomères *Nrnp* et *Nsnp* (**Figure I-23 c**). De plus,

<sup>91</sup> Philippe Armand, Kent Kirshenbaum, Alexis Falicov, Roland L. Dunbrack, Ken A. Dill, Ronald N. Zuckermann, Fred E. Cohen, *Fold. Des.*, **1997**, 2, 369–75.

<sup>92</sup> Sarah A. Fowler, Helen E. Blackwell, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 1508–24.

<sup>93</sup> Kent Kirshenbaum, Annelise E. Barron, Richard A. Goldsmith, Philippe Armand, Erin K. Bradley, Kiet T.V. Truong, Ken A. Dill, Fred E. Cohen, Ronald N. Zuckermann, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, 95, 4303–8.

ces spectres ont la particularité d'avoir une très grande similitude avec le spectre d'une hélice  $\alpha$  peptidique avec la présence d'une bande positive aux environs de 180 nm ainsi que deux bandes négatives vers 195 et 210 nm.<sup>93</sup>



**Figure I-23** a) Représentation des angles dièdres sur une unité  $N_{sp\epsilon}$ . b) Structure d'un résidu 1-(*p*-nitrophényl)éthylglycine. c) Spectres DC à 25°C des oligomères Ac- $N_{snp}$  ( $\square$ ),  $N_{snp}_3$  ( $\blacktriangle$ ),  $N_{snp}_5$  ( $\circ$ ) et  $N_{rnp}_8$  ( $\bullet$ ) dans l'acétonitrile à une concentration de 2 mg/mL.<sup>93</sup>

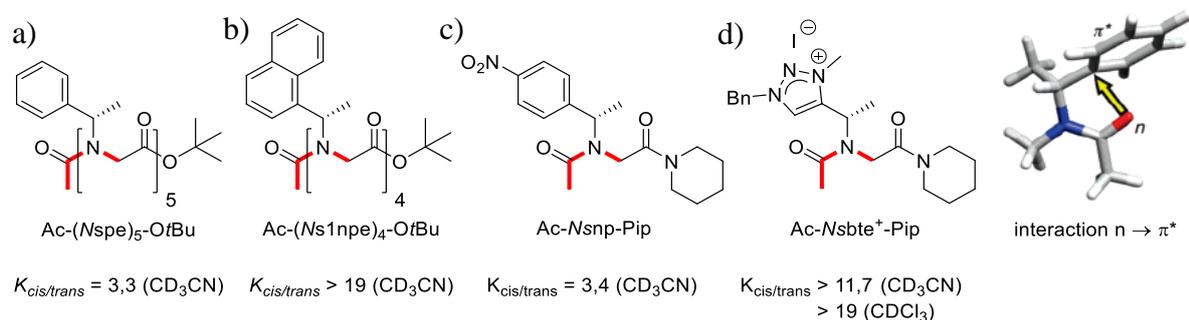
Ajoutée à cela, une étude réalisée par l'équipe de Zuckermann a permis de mettre en évidence un effet coopératif dans l'intensité des signaux de dichroïsme circulaire lorsque la longueur du peptoïde augmente.<sup>94</sup> De plus, ils ont montré que dans le cas de peptoïdes dont la longueur est inférieure à 12 unités, il est possible d'obtenir une structure hélicoïdale stable de type PPI lorsque la séquence d'un peptoïde est composée d'au moins 50% de chaînes latérales  $N\alpha$ -chirales. Aussi, la présence de résidus aromatiques en position  $i$  et  $i+3$  (correspondant au pas de l'hélice et conduisant ainsi à l'obtention d'une face aromatique) permet de stabiliser davantage l'hélice grâce à des interactions  $\pi$  entre les différents noyaux aromatiques. De plus, l'ajout d'une chaîne latérale  $N\alpha$ -chirale à l'extrémité  $C$ -terminale permet de favoriser l'obtention d'hélice. Tout cela permet donc de développer des peptoïdes ayant une structure hélicoïdale tout en conservant la possibilité d'incorporer des résidus achiraux fonctionnalisables si besoin.<sup>95</sup> Plus récemment, des travaux réalisés par l'équipe de J. Seo ont montré qu'il était possible de moduler l'hélicité de peptoïdes composés de 5 à 9 unités achirales

<sup>94</sup> Cindy W. Wu, Tracy J. Sanborn, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 2958–63.

<sup>95</sup> Cindy W. Wu, Tracy J. Sanborn, Kai Huang, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 6778–84.

Npm (phénylméthyle) ou benzyle par le positionnement judicieux de seulement une ou deux unités chirales  $N_{spe}$ .<sup>96</sup>

La caractérisation de la conformation adoptée par les fonctions amides contenus dans un peptoïde est réalisée par la détermination de la constante d'équilibre  $K_{cis/trans}$  qui définit le ratio entre les fonctions amides *cis* et *trans*. À titre d'exemple, le pentamère  $N_{spe}_5$  (**Figure I-24 a**) possède une constante d'équilibre  $K_{cis/trans}$  de 3,3 dans l'acétonitrile, ce qui correspond à une présence en moyenne de 77% de conformation *cis* dans le squelette et indique une certaine hétérogénéité conformationnelle. En revanche, les oligomères d'unités (*S*)-1-naphtyléthyle ( $sInpe$ ) développée par l'équipe de Blackwell sont caractérisées par une constante dans l'acétonitrile supérieure à 19 à partir du tétramère (**Figure I-24 b**), ce qui indique que l'ensemble des fonctions amides présent dans le peptoïde sont dans leur conformation *cis* et que plus aucune fonction amide *trans* n'est détecté en RMN.<sup>97</sup> À noter que dans le cas d'oligomères utilisant les chaînes (*pe*), (*Inpe*) et (*np*) (1-(*p*-nitrophényl)éthyl) (**Figure I-24 c**), ainsi que pour tout l'ensemble des chaînes latérales  $N\alpha$ -chirales de nature benzylique, l'obtention de la structure hélicoïdale PPI ne repose pas uniquement sur des facteurs stériques, mais aussi sur des interactions  $n \rightarrow \pi^*$  entre les groupements carbonyles du squelette (unité *i-1*) et les noyaux aromatiques (unité *i*), stabilisant davantage la conformation *cis*. Sur le même principe, notre équipe a développé en 2012 une nouvelle chaîne latérale  $N\alpha$ -chirale, présentant un noyau triazolium. Cette unité, notée  $Nsbte^+$  pour *N*-(*S*)-1-(1-benzyl-3-méthyl-1,2,3-triazolium)éthyle (**Figure I-24 d**), conduit à une constante d'équilibre  $K_{cis/trans}$  supérieure à 19 dès le monomère (dans le chloroforme), faisant de cette chaîne latérale l'une des meilleures pour favoriser la conformation *cis* à la fois dans les solvants protiques et aprotiques.<sup>98</sup>



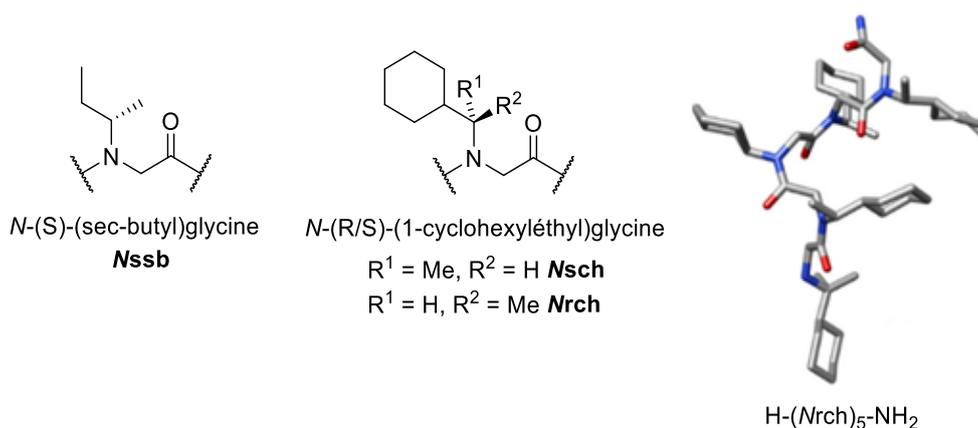
**Figure I-24** Chaînes latérales  $N\alpha$ -chirales aromatiques et  $K_{cis/trans}$  associés.

<sup>96</sup> Hye Min Shin, Chang Muk Kang, Myung Han Yoon, Jiwon Seo, *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 4465–68.

<sup>97</sup> Joseph R. Stringer, J. Aaron Crapster, Ilia A. Guzei, Helen E. Blackwell, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 15559–67.

<sup>98</sup> Hafida Aliouat, Cécile Caumes, Olivier Roy, Mohamed Zouikri, Claude Taillefumier, Sophie Faure, *J. Org. Chem.*, **2017**, 82, 2386–98.

Au début des années 2000, des études ont également été réalisées sur les chaînes latérales  $N\alpha$ -chirales aliphatiques.<sup>99</sup> Ainsi, des homooligomères composés d'unités *Nsch*, *Nrch* et *Nssb* ont été synthétisés (**Figure I-25**). Ces oligomères ont été analysés par dichroïsme circulaire et les spectres obtenus indiquent que les chaînes (*sch*) et (*rch*) adoptent une structure hélicoïdale similaire à l'hélice polyproline de type I, mais aussi similaire à celle obtenue avec les chaînes latérales  $N\alpha$ -chirales aromatiques. Une structure cristalline de l'oligomère *Nrch*<sub>5</sub> a été décrite (**Figure I-25**), confirmant l'obtention d'une hélice de type PPI avec l'ensemble des liaisons amides dans leurs conformations *cis*.



**Figure I-25** Structure des unités *Nssb*, *Nsch* et *Nrch*. Structure cristalline obtenue pour l'oligomère *Nrch*<sub>5</sub>.<sup>99</sup>

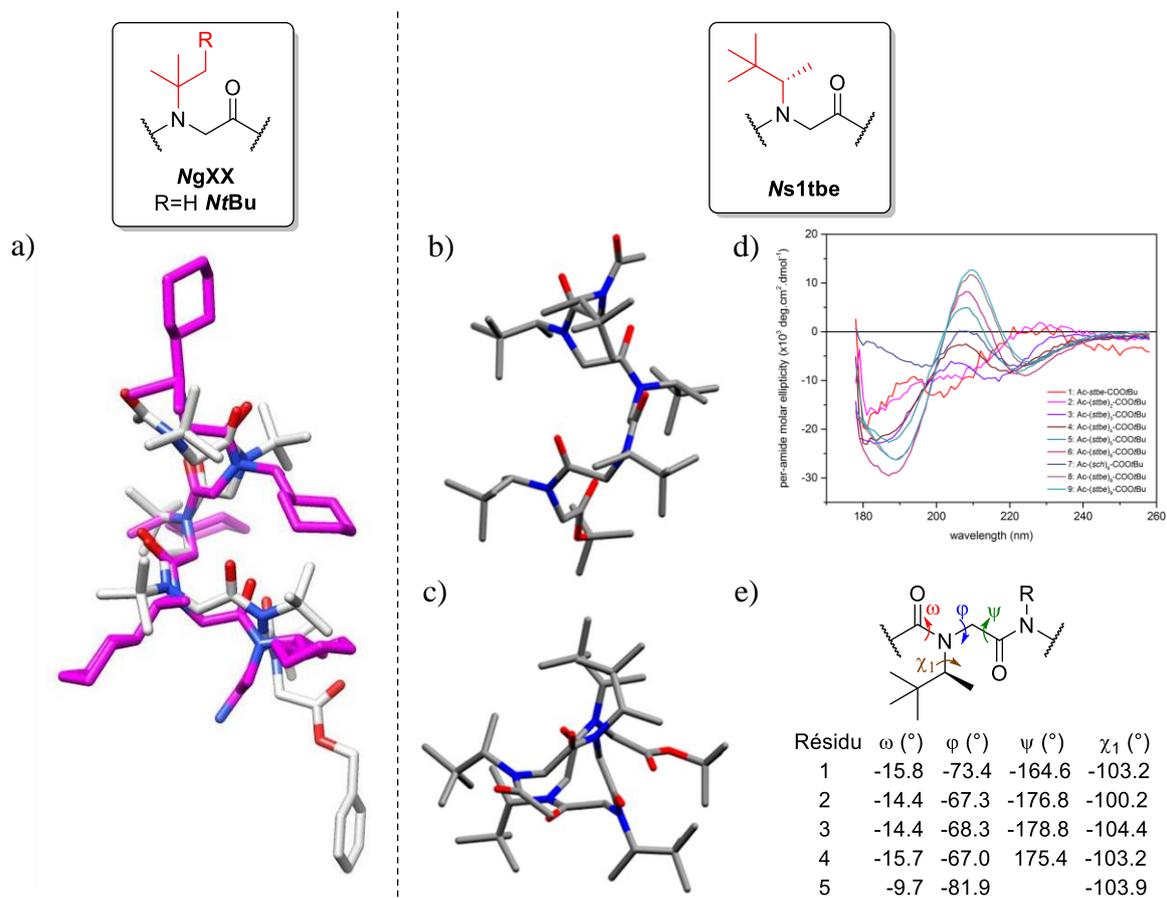
Dans une optique de développement de nouvelles chaînes latérales structurantes, notre équipe a proposé deux chaînes latérales aliphatiques stériquement encombrées : la première est la chaîne *tert*-butyle (*tBu*), une chaîne achirale capable de verrouiller les fonctions amides de peptoides en conformation *cis* dès le monomère et ce, quel que soit le solvant (organique ou aqueux) (**Figure I-26**).<sup>73</sup> Cette chaîne latérale, ou plus généralement les chaînes  $N\alpha$ -*gem*-diméthyles très encombrées<sup>100</sup> (notées *NgXX*) sont les seules connues à ce jour possédant ce contrôle total sur l'isomérisation dès le monomère. La seconde, décrite pour la première fois en 2017, est la chaîne (*S*)-1-*tert*-butyléthyle (*sItbe*), une chaîne  $N\alpha$ -chirale qui permet également de favoriser l'obtention de fonctions amides *cis* dès le tétramère dans le chloroforme et le méthanol<sup>101</sup>. Les analyses cristallographiques des homooligomères utilisant ces deux chaînes latérales ont montré qu'elles conduisent à l'obtention d'hélices de type PPI (**Figure I-26** a, b et

<sup>99</sup> Cindy W. Wu, Kent Kirshenbaum, Tracy J. Sanborn, James A. Patch, Kai Huang, Ken A. Dill, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 13525–30.

<sup>100</sup> Radhe Shyam, Lionel Nauton, Gaetano Angelici, Olivier Roy, Claude Taillefumier, Sophie Faure, *Biopolymers*, **2019**, *110*, e23273.

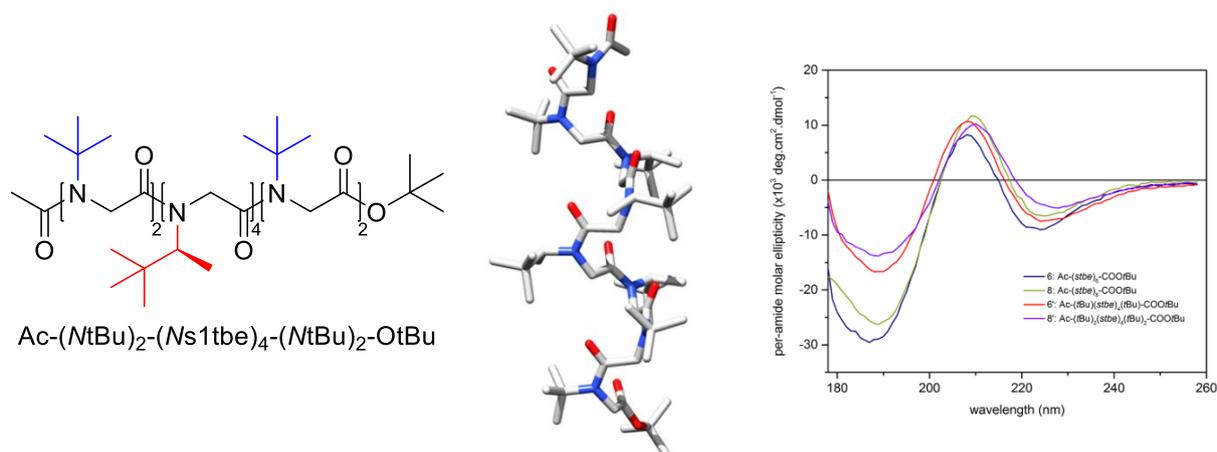
<sup>101</sup> Olivier Roy, Geoffrey Dumonteil, Sophie Faure, Laurent Jouffret, Alexandre Kriznik, Claude Taillefumier, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 13533–40.

c). Pour les oligomères *NtBu*, malgré l'absence de chiralité, l'hélice obtenue est similaire à celle obtenue avec le pentamère *Nrch<sub>5</sub>* et est stabilisée notamment grâce à des interactions faibles de type London entre les chaînes *tert*-butyle des résidus *i* et *i*+3 cumulées à des interactions hydrogène faibles CH---O=C tout le long du squelette<sup>102</sup> (**Figure I-26 a**). Dans le cas des unités *Ns1tbe*, l'analyse cristallographique du pentamère a mis en évidence une structuration en hélice droite dont les angles dièdres coïncident avec ceux obtenus pour des hélices PPI peptoides et peptides (**Figure I-26 b, c et e**). Les homooligomères d'unités *Ns1tbe* de longueur allant de 1 à 9 unités ont été analysés par dichroïsme circulaire et les spectres obtenus indiquent un effet coopératif similaire aux homooligomères d'unités *Nα*-chirales benzyliques (**Figure I-26 d**).



<sup>102</sup> Gaetano Angelici, Nicholas Bhattacharjee, Olivier Roy, Sophie Faure, Claude Didierjean, Laurent Jouffret, Franck Jolibois, Lionel Perrin, Claude Taillefumier, *Chem. Commun.*, **2016**, 52, 4573–76.

Par la suite, des oligomères mixtes mélangeant ces deux nouvelles chaînes latérales ont été décrits par notre équipe, permettant de conclure que l'ajout d'une unité *NtBu*, notamment à l'extrémité *C*-terminale d'une séquence composée d'unités *Ns1tbe* permet de supprimer complètement les rotamères *trans* ( $K_{cis/trans} > 49$ ). Dans des séquences contenant un faible ratio de chaînes latérales chirales (33-50%), il a été possible grâce au placement de deux unités *NtBu* à chaque extrémité, d'obtenir une structuration en hélice stable et homogène, notamment dans le méthanol et l'acétonitrile<sup>101,103</sup> (**Figure I-27**). Il a été ainsi possible d'obtenir une structure cristallographique pour l'octamère  $Ac-(NtBu)_2-(Ns1tbe)_4-(NtBu)_2-OtBu$ , qui est à ce jour l'hélice peptoïde la plus longue résolue à l'état solide. Ainsi, une synergie est observable entre ces deux chaînes puisque les unités *NtBu* contraignent l'obtention de fonctions amides *cis* tandis que les unités *Ns1tbe* réalisent un transfert de chiralité afin de conduire à des structures hélicoïdales d'hélicité contrôlée.<sup>101</sup>



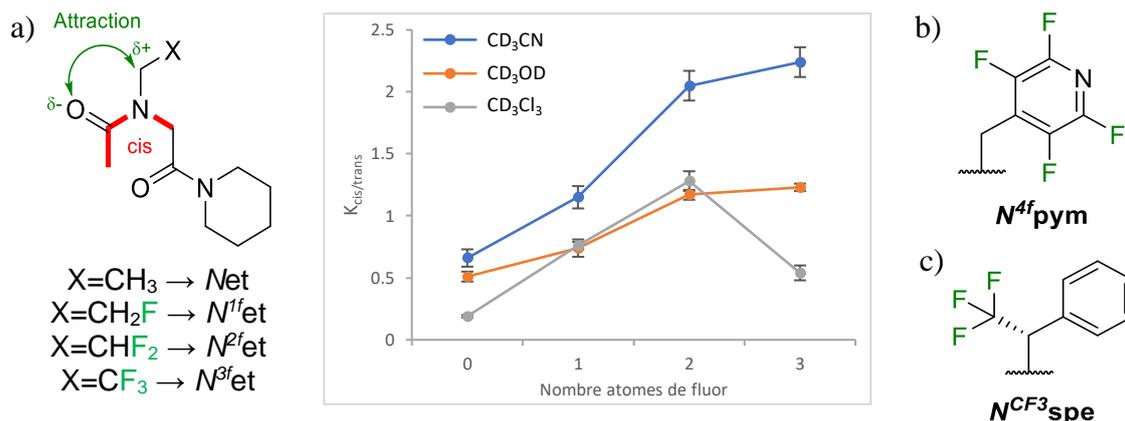
**Figure I-27** Structure cristallographique de l'octamère et spectres DC dans l'acétonitrile à 500  $\mu$ M de différents hétérooligomères utilisant les unités *NtBu* et *Ns1tbe*.<sup>101</sup>

Très récemment, l'équipe de S. L. Cobb a publié plusieurs études indiquant que l'ajout d'atomes de fluor sur la chaîne latérale permet d'améliorer considérablement la constante  $K_{cis/trans}$  en faveur du *cis*.<sup>104,105</sup> La raison de cette préférence *cis* a été attribuée à l'effet électronique induit par l'atome de fluor qui conduit à l'attraction entre l'atome d'oxygène partiellement chargé négativement du carbonyle et l'atome de carbone partiellement chargé positivement attaché à l'atome de fluor (**Figure I-28**).

<sup>103</sup> Maha Rzeigui, Mounir Traikia, Laurent Jouffret, Alexandre Kriznik, Jameleddine Khiari, Olivier Roy, Claude Taillefumier, *J. Org. Chem.*, **2020**, 85, 2190–2201.

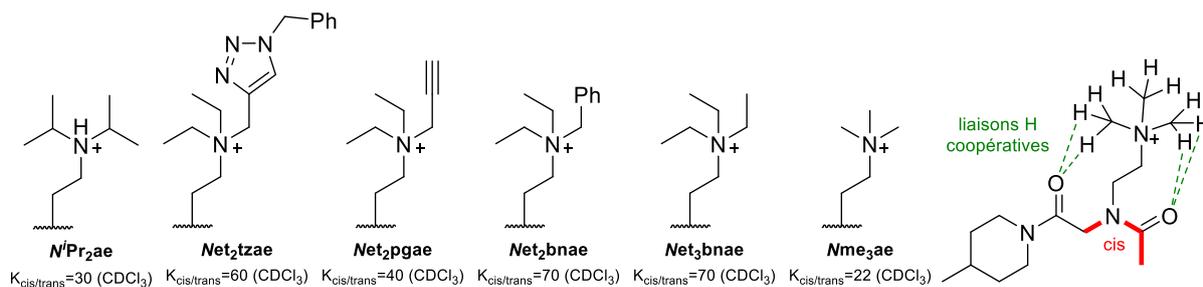
<sup>104</sup> Diana Gimenez, Juan A. Aguilar, Elizabeth H.C. Bromley, Steven L. Cobb, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2018**, 57, 10549–53.

<sup>105</sup> Diana Gimenez, Guangfeng Zhou, Matthew F.D. Hurley, Juan A. Aguilar, Vincent A. Voelz, Steven L. Cobb, *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141, 3430–34.



**Figure I-28** a) Structure des monomères étudiés et valeurs des  $K_{cis/trans}$  en fonction du solvant et du nombre d'atomes de fluor.<sup>104</sup> b) Chaîne (tetrafluoropyridinyl)methanamine (<sup>4f</sup>pym) et c) analogue  $\alpha$ -trifluorométhyle de la chaîne (spe).<sup>105</sup>

En 2019, l'équipe de Zuckermann a publié une étude sur des chaînes latérales cationiques achirales.<sup>106</sup> Au cours de cette étude, 16 monomères modèles ont été synthétisés avec différentes chaînes latérales cationiques alkylammonium. Les études RMN en solution ont montré que ces chaînes latérales induisent une conformation *cis* des fonctions amides. Pour expliquer cela, les auteurs ont proposé que la stabilisation de la conformation *cis* soit liée à la présence d'un ensemble de liaisons hydrogène intramoléculaires coopératives entre le carbonyle du squelette et les atomes d'hydrogène  $\alpha$  ou  $\beta$  des groupements ammonium. De plus, l'obtention de structures RX a permis de confirmer la présence de ces liaisons hydrogène coopératives.

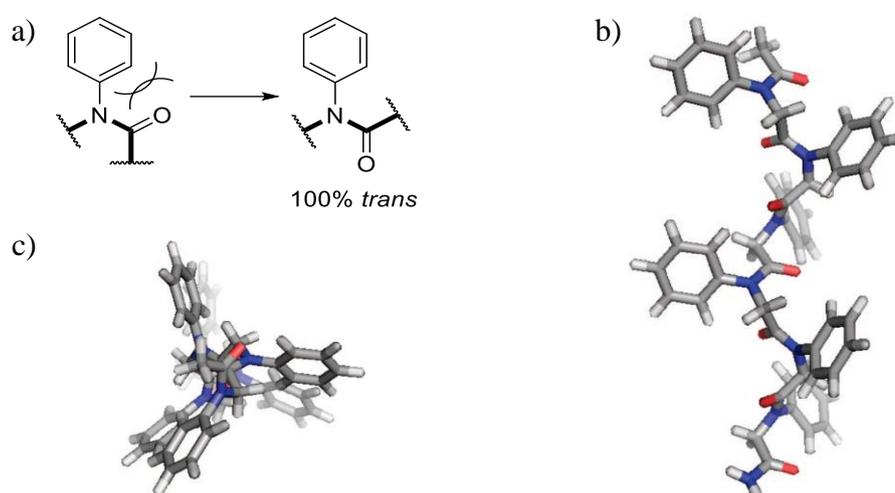


**Figure I-29** Exemples de chaînes latérales cationiques testées par l'équipe de Zuckermann et représentation des liaisons hydrogène coopératives.<sup>106</sup>

<sup>106</sup> Andrew W. Wijaya, Andy I. Nguyen, Leah T. Roe, Glenn L. Butterfoss, Ryan K. Spencer, Nan K. Li, Ronald N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*, 19436–47.

### 3.3.2.2. L'hélice peptidique de type PPII.

En ce qui concerne les hélices de type PPII, il est intéressant de noter c'est une structure secondaire très utilisée comme motif de reconnaissance par les protéines,<sup>107</sup> donc pouvoir mimer ce type d'hélice devient très intéressant dans l'optique d'inhiber des interactions protéine-protéine. Cependant, une majorité des hélices décrites dans la littérature sont obtenues avec les fonctions amides en conformation *cis* et par conséquent, conduisent le plus souvent à une hélice de type PPI. De ce fait, de nombreux efforts sont réalisés afin de concevoir de nouvelles chaînes latérales favorisant la conformation *trans* et par conséquent une potentielle structuration en hélices de type PPII. Pour cela, la chaîne latérale la plus décrite est la chaîne aryle, qui favorise l'obtention de fonctions amides *trans* du fait de la répulsion électronique entre le noyau aromatique et le carbonyle de la fonction amide.<sup>108</sup>



**Figure I-30** a) Représentation de la chaîne latérale aryle et de l'effet de la répulsion électronique. Structure de l'hexamère obtenue par modélisation moléculaire b) vue de face et c) vue de dessus.<sup>108</sup>

Par la suite, les unités *N*-hydroxy glycine<sup>84</sup> et *N*-alcoxy glycine<sup>85</sup> ont été décrites comme des chaînes favorisant également la conformation *trans* des fonctions amides, tout comme la chaîne *N*-azaacycle (aza-peptoides)<sup>86</sup> (**Figure I-31**).



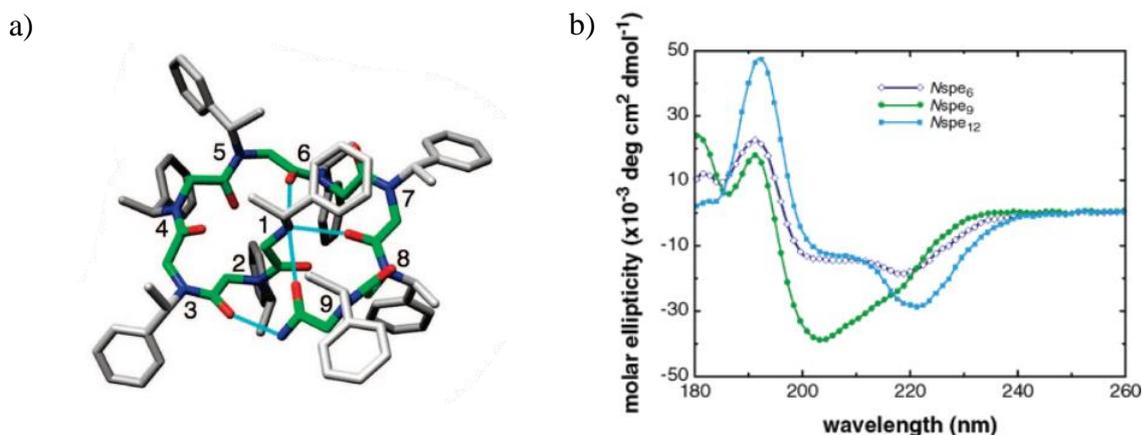
**Figure I-31** Représentations des chaînes latérales hétéroatomiques favorisant la conformation *trans*.

<sup>107</sup> Alexei A. Adzhubei, Michael J.E. Sternberg, Alexander A. Makarov, *J. Mol. Biol.*, **2013**, 425, 2100–2132.

<sup>108</sup> Neel H Shah, Glenn L Butterfoss, Khanh Nguyen, Barney Yoo, Richard Bonneau, Dallas L Rabenstein, Kent Kirshenbaum, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 16622–32.

### 3.3.3. La conformation « threaded loop »

Lors des analyses par dichroïsme circulaire des oligomères *Nspe* dans l'acétonitrile, un spectre anormal a été observé concernant uniquement le nonamère *Nspe*<sub>9</sub>. En effet, ce dernier ne possède pas les signaux caractéristiques d'une hélice (**Figure I-32 b**). L'analyse RMN (CD<sub>3</sub>CN) a permis de mettre en lumière une conformation singulière plane appelée « threaded loop ». <sup>109</sup>



**Figure I-32 a)** Structure « threaded loop » décrite pour le nonamère *Nspe*<sub>9</sub>. <sup>110</sup> **b)** Spectres DC (CH<sub>3</sub>CN) à 60 μM des homooligomères *Nspe* de longueurs 6, 9 et 12. <sup>109</sup>

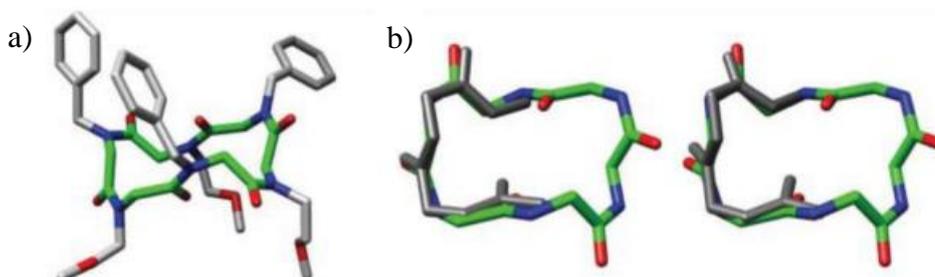
Il s'agit d'une boucle dont l'extrémité *N*-terminale, positivement chargée, est orientée vers le centre de cette boucle. Celle-ci est stabilisée par 4 liaisons hydrogène dont 3 interviennent entre l'extrémité *N*-terminale et les carbonyles des résidus **5**, **7** et **9** (**Figure I-32 a**). Une quatrième liaison hydrogène entre les résidus **2** et **9** permet de verrouiller la boucle. De plus, des interactions hydrophobes entre les chaînes latérales et le solvant semblent renforcer la conformation, notamment avec la chaîne à l'extrémité *N*-terminale permettant de l'orienter vers l'intérieur de la boucle. Cette structure reposant principalement sur des liaisons hydrogène, le choix du solvant est très important. Dans des solvants plus polaires comme le méthanol, une structure hélicoïdale est obtenue.

<sup>109</sup> Kai Huang, Cindy W. Wu, Tracy J. Sanborn, James A. Patch, Kent Kirshenbaum, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, Ishwar Radhakrishnan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 1733–38.

<sup>110</sup> Sarah A. Fowler, Rinrada Luechapanichkul, Helen E. Blackwell, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 1440–49.

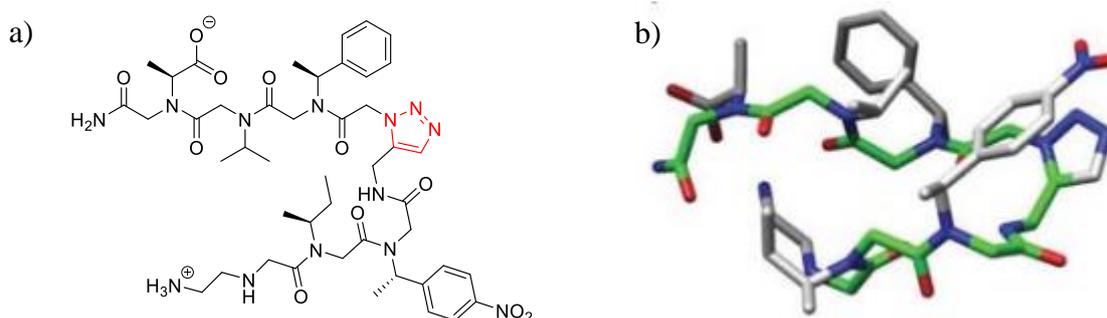
### 3.3.4. Structuration en coude

Il existe différentes approches dans la littérature pour obtenir des coudes, notamment la macrocyclisation d'oligomères composés alternativement de résidus aromatiques et alkyles. L'analyse des hexamères et octamères cycliques a mis en évidence que les deux types de chaînes latérales se retrouvent en opposition de face du macrocycle avec les fonctions amides composant le coude en conformation *cis* tandis que les autres sont en conformation *trans*. La comparaison avec la structure des coudes pouvant être obtenus avec des peptides a permis de constater que les coudes obtenus avec les peptoides ont une structure proche des coudes  $\beta$  de type I et III comme le montre la **Figure I-33 b**.<sup>111</sup>



**Figure I-33** a) Structure cristallographique d'un hexamère cyclique modèle et b) la superposition du squelette peptoidique (en vert) avec les structures des coudes  $\beta$  de type I (à gauche) et de type III (à droite), toutes les deux en gris.<sup>92</sup>

La seconde possibilité est d'insérer un monomère capable de mimer la structure d'un coude. Le groupement triazole a par exemple été utilisé à cet effet du fait de la contrainte induite par sa structure géométrique qui est suffisante pour créer un coude. La structure obtenue, décrite par J. K. Pokorski, prend la forme d'une épingle à cheveux (« hairpin »).<sup>112</sup>



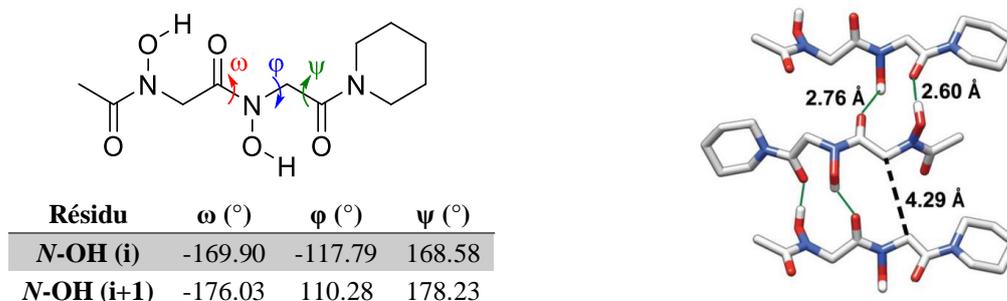
**Figure I-34** a) Structure du peptoidé décrit par Pokorski comportant le groupement triazole (en rouge) et b) sa structure RX montrant la conformation en épingle à cheveux.<sup>112</sup>

<sup>111</sup> Sung Bin Y. Shin, Barney Yoo, Louis J. Todaro, Kent Kirshenbaum, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 3218–25.

<sup>112</sup> Jonathan K. Pokorski, Lisa M. Miller Jenkins, Hanqiao Feng, Stewart R. Durell, Yawen Bai, Daniel H. Appella, *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 2381–83.

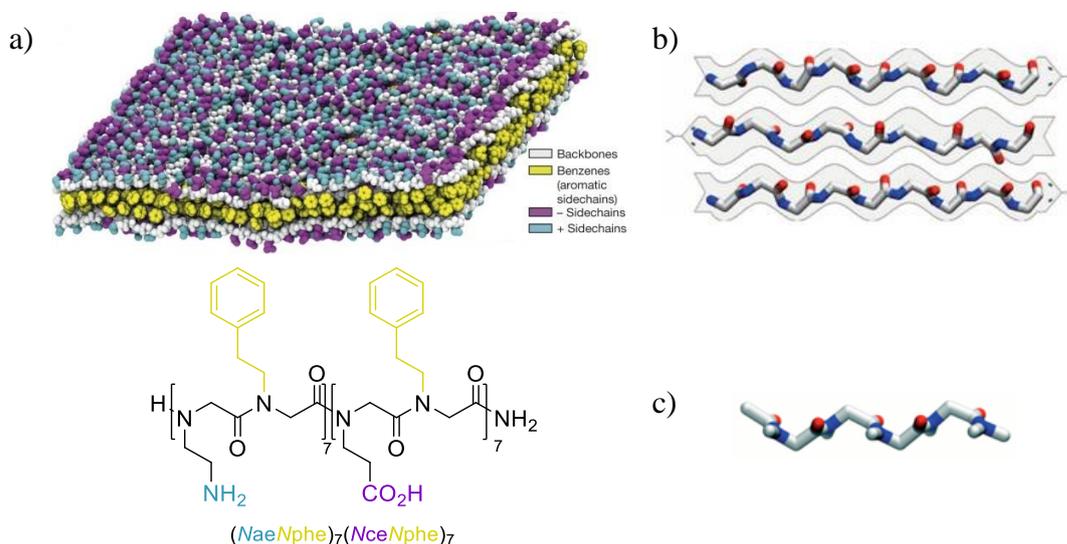
### 3.3.5. Structuration en feuillet

Lors de l'étude des homooligomères *N*-hydroxy glycine, et plus précisément du dimère, l'équipe d'H. E. Blackwell a mis en évidence, en plus de la conformation *trans*, la présence d'interactions hydrogène intermoléculaires conduisant à l'obtention d'une structure tridimensionnelle similaire à des feuillets<sup>84</sup> (**Figure I-35**).



**Figure I-35** Conformation adoptée par les dimères hydroxylamide et valeur des angles dièdres.<sup>84</sup>

Plus récemment, l'équipe de Zuckermann a montré la capacité des peptoïdes à former des nanofeuillets.<sup>60,113,114</sup> Or, lors de l'étude de ces nanomatériaux par dynamique moléculaire, il a été observé que le peptoïde mis au point pour l'obtention de ces nanofeuillets adopte une conformation qui n'a jamais été observée dans la nature. Cette structure, appelée feuillet  $\Sigma$ , est caractérisée par une forme linéaire sans torsions en forme de zigzag<sup>115</sup> (**Figure I-36**).



**Figure I-36** a) Nanofeuillets obtenus par Zuckermann. b) Structure du feuillet  $\Sigma$  observée c) structure d'un brin  $\Sigma$  obtenue par minimisation.<sup>115</sup>

<sup>113</sup> Romas Kudirka, Helen Tran, Babak Sanii, Ki Tae Nam, Philip H. Choi, Neeraja Venkateswaran, Ritchie Chen, Stephen Whitelam, Ronald N. Zuckermann, *Pept. Sci.*, **2011**, 96, 586–95.

<sup>114</sup> Babak Sanii, Romas Kudirka, Andrew Cho, Neeraja Venkateswaran, Gloria K. Olivier, Alexander M. Olson, Helen Tran, R. Marika Harada, Li Tan, Ronald N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 20808–15.

<sup>115</sup> Ranjan V. Mannige, Thomas K. Haxton, Caroline Proulx, Ellen J. Robertson, Alessia Battigelli, Glenn L. Butterfoss, Ronald N. Zuckermann, Stephen Whitelam, *Nature*, **2015**, 526, 415–20.

## 4. Objectifs de l'étude

Depuis la description des peptoïdes en 1992 par Zuckermann, plusieurs groupes de recherches travaillant sur les peptoïdes s'intéressent au contrôle de l'isomérisation *cis/trans* des fonctions amides présentes sur le squelette peptoïde afin d'obtenir une structure secondaire stable et définie. Ainsi, plusieurs chaînes latérales structurantes chirales, achirales, aliphatiques ou encore aromatiques ont été décrites dans la littérature, dont la plupart permettant d'obtenir une structure hélicoïdale de type PPI. Parmi ces chaînes latérales structurantes, la chaîne (*S*)-1-*tert*-butyléthyle (*sItbe*), introduite en 2017 par notre équipe de recherche, a montré avoir une très grande capacité à déplacer l'équilibre en faveur de la conformation *cis* dès le tétramère et ainsi conduire à l'obtention d'une structure secondaire hélicoïdale de type PPI.

Cependant, les résultats obtenus avec cette chaîne n'ont été décrits uniquement pour des homooligomères d'unités  $\alpha$ . De ce fait, l'un des premiers objectifs de ma thèse a été d'étudier l'influence de la chaîne (*sItbe*) sur la conformation d'oligomères possédant un squelette  $\alpha,\beta$ -alterné ainsi que dans le cas de  $\beta$ -peptoïdes. Pour cela, deux séries d'oligomères ont été synthétisées puis analysées par RMN afin d'évaluer les populations *cis* et *trans* au sein de ces oligomères et ainsi conclure concernant l'influence de la chaîne (*sItbe*) sur la conformation des fonctions amides de ces deux squelettes. **Chapitre II**

Par la suite, dans une optique de recherche de nouvelle chaîne latérale structurante, une architecture inédite introduite par une fonction hydrazine a été étudiée par notre équipe dans l'espoir d'obtenir une influence sur les fonctions amides en faveur de la conformation *trans*. Dans ce but, une approche synthétique a dû être élaborée pour cette étude afin d'adapter la méthode « submonomère », qui utilise des amines primaires, avec l'utilisation d'hydrazine. Le développement d'une hydrazine chirale sera aussi présenté. **Chapitre III**

Enfin, notre équipe de recherche s'intéressant également aux domaines d'applications des peptoïdes, notamment en chimie médicinale, un projet en partenariat avec le laboratoire Neuro-Dol a été initié dans le but d'alléger voire supprimer les douleurs neuropathiques provoquées par les traitements par chimiothérapie à base d'oxaliplatine. Pour cela, une série de peptoïdes hybrides a été synthétisée dans l'optique d'optimiser un mime développer avant le début de mes travaux et présentant des résultats intéressants dans l'inhibition de l'interaction entre le canal HCN et sa protéine partenaire TRIP8b, intervenant dans le mécanisme de déclenchement de ces douleurs. **Chapitre IV**

Chapitre II : Synthèse et étude  
conformationnelle de peptoïdes constitués  
d'unités  $\beta$  et  $\alpha,\beta$ -alternées portant la chaîne  
latérale (*S*)-1-*tert*-butyléthyle (*s1tbe*)



Dans ce chapitre, sont présentés les travaux réalisés au début de ma thèse. Il s'agissait ici de continuer les travaux réalisés par notre équipe sur la synthèse et l'étude conformationnelle de peptoïdes portant la chaîne (S)-1-tert-butyléthyle (*s1tbe*). L'influence de cette chaîne latérale sur l'isomérisation *cis/trans* des fonctions amides d'oligomères  $\beta$ - et  $\alpha,\beta$ -peptoïdes a été étudiée.

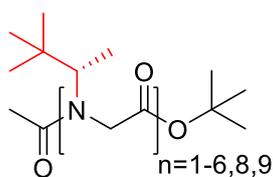
Après une rapide introduction sur la structuration des  $\beta$ -peptoïdes et  $\alpha,\beta$ -peptoïdes, nous nous intéresserons à la synthèse et l'étude RMN d'une première série d' $\alpha,\beta$ -peptoïdes alternés portant la chaîne (*s1tbe*).

Dans un second temps, nous nous intéresserons au squelette  $\beta$ -peptoïde portant la chaîne *s1tbe*. Une série de  $\beta$ -peptoïdes obtenue après optimisation de l'approche synthétique sera présentée, suivie par l'étude conformationnelle de ces composés par RMN.



## 1. Contexte

La première partie de mes travaux de thèse s'est intéressée à la synthèse et l'étude conformationnelle de peptoïdes possédant des squelettes  $\beta$  et  $\alpha,\beta$ -alternés et ayant comme chaîne latérale la chaîne (S)-1-tert-butyléthyle (*s1tbe*), décrite par notre équipe peu de temps avant le début de ma thèse.<sup>101</sup> Ainsi, le travail décrit dans ce chapitre s'inscrit dans la continuité de l'étude menée sur cette chaîne latérale. Comme cela a déjà été indiqué dans le premier chapitre de ce mémoire, la chaîne *s1tbe* est une chaîne  $\alpha$ -chirale aliphatique qui favorise la conformation *cis* des fonctions amides des peptoïdes (**Figure II-1**). Un phénomène coopératif a été observé puisqu'à partir du tétramère Ac-(Ns1tbe)<sub>4</sub>-OtBu une valeur de la constante  $K_{cis/trans}$  supérieure à 19 dans le chloroforme et le méthanol est mesurée, alors qu'elle se trouve aux alentours de 2-3 pour le trimère Ac-(Ns1tbe)<sub>3</sub>-OtBu (**Table II-1**). Une valeur de  $K_{cis/trans}$  supérieure à 19 correspond à la présence de plus de 95% de fonctions amides *cis* dans le peptoïde tandis que la population de fonctions amide *cis* n'est que de 75% dans le trimère. De plus, des cristaux ont été obtenus pour le pentamère Ac-(Ns1tbe)<sub>5</sub>-OtBu par évaporation lente d'une solution dans l'isopropanol, permettant d'obtenir une structure cristallographique par diffraction des rayons X (DRX) et révélant une structuration en hélice droite dont les angles dièdres du squelette correspondent à ceux des hélices PPI. La structuration en hélice PPI a également été confirmée par l'analyse de dichroïsme circulaire des oligomères allant du monomère au nonamère qui a montré une signature identique à celle des polyprolines dans le propan-1-ol.



**Figure II-1** Peptoïdes synthétisés au cours de l'étude<sup>101</sup>

Lors de cette étude, notre équipe s'est intéressée uniquement à l'influence de cette chaîne latérale sur le squelette peptoïde  $\alpha$ . Des travaux ont également été réalisés avec la chaîne *tert*-butyle afin d'étudier la synergie entre les deux chaînes. Cette étude a permis de conclure que l'ajout d'une unité *N-tert*-butyle glycine dans une séquence composée d'unités *Ns1tbe* permet de supprimer les rotamères *trans* tandis que les unités *Ns1tbe* réalisent un transfert de chiralité, permettant d'obtenir des structures hélicoïdales d'hélicité contrôlée.<sup>103</sup> A la suite de cela, mon travail a consisté à étudier le comportement de la chaîne (*s1tbe*) lorsqu'elle se trouve sur un squelette peptoïde  $\beta$  ou  $\alpha,\beta$ -alterné.

**Table II-1** Constantes  $K_{cis/trans}$  mesurées par intégration RMN pour les homooligomères *Ns1tbe*. Structure RX du pentamère Ac-(*Ns1tbe*)<sub>5</sub>-OtBu vue de face et de dessus.

Longueur	Séquences	$K_{cis/trans}$ moyens calculés			Structure RX Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>5</sub> -OtBu
		CDCl <sub>3</sub>	CD <sub>3</sub> CN	CD <sub>3</sub> OD	
1	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>1</sub> -OtBu	0,6	0,7	0,8	
2	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>2</sub> -OtBu	1,0	1,6	1,7	
3	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>3</sub> -OtBu	1,9	2,6	3,0	
4	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>4</sub> -OtBu	>19	10,9	>19	
5	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>5</sub> -OtBu	18,9	8,0	>19	
6	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>6</sub> -OtBu	>19	10,4	>19	
8	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>8</sub> -OtBu	>19	8,1	>19	
9	Ac-( <i>Ns1tbe</i> ) <sub>9</sub> -OtBu	>19	12,1	>19	

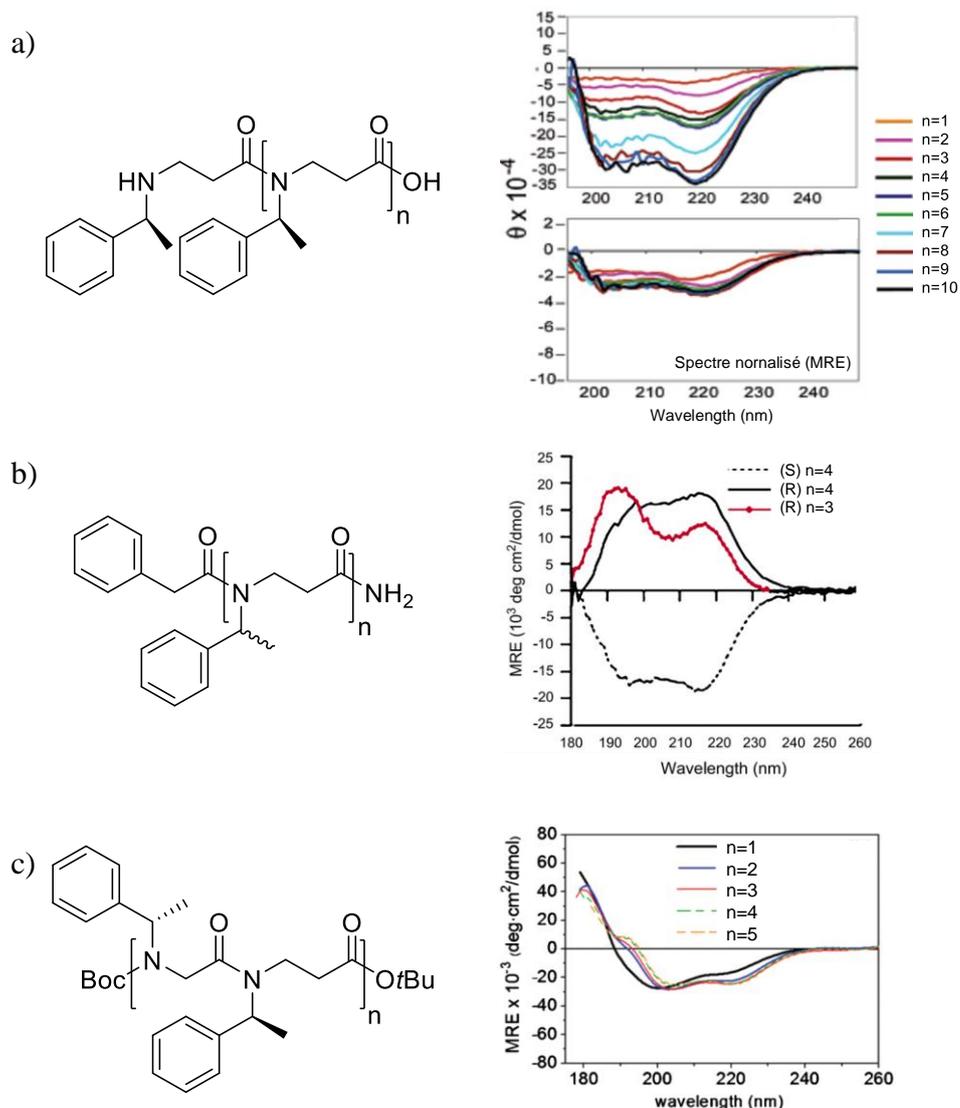
## 2. L'hélice $\beta$ -peptoïde

De façon similaire aux  $\alpha$ -peptoïdes, des recherches ont été réalisées avec les  $\beta$ -peptoïdes dans l'optique d'obtenir des structures tridimensionnelles bien définies, à l'instar de tous les développements réalisés avec le squelette  $\beta$ -peptide. Ainsi, une première étude de modélisation du squelette  $\beta$ -peptoïde a été réalisée au début des années 2000. Ces calculs ont mis en évidence que des oligomères  $\beta$  peuvent conduire à 10 structures hélicoïdales différentes (6 avec l'ensemble des liens amides en conformation *trans* et 4 lorsqu'ils sont en conformation *cis*).<sup>116</sup>

Les premières études conformationnelles d'oligomères  $\beta$ -peptoïdes ont été réalisées avec la chaîne (*spe*) par P. I. Arvidsson<sup>77</sup> et C. A. Olsen.<sup>78</sup> Différents homooligomères constitués d'unités  $\beta Nspe$  ont été analysés par dichroïsme circulaire (**Figure II-2**). Les spectres obtenus semblent indiquer une structure en hélice puisque, de façon similaire aux spectres DC d'homooligomères  $\alpha$  utilisant cette chaîne latérale, des signaux à 200 et 220 nm ont été observés (**Figure II-2** a et b). Dans le cas des oligomères étudiés par Arvidsson, les spectres DC indiquent l'absence d'effet coopératif, révélant une faible stabilité de la structure tandis que les oligomères conçus par Olsen, possédant une fonction amide à l'extrémité C-terminale à la place d'un acide, se structurent à partir du tétramère et présentent un effet coopératif lors de l'augmentation de la longueur de chaîne. Dans notre groupe, la chaîne (*spe*) a également été utilisée pour développer la première génération d'oligomères avec un squelette composé d'une

<sup>116</sup> Carsten Baldauf, Robert Günther, Hans Jörg-Hofmann, *Phys. Biol.*, **2006**, 3, S1-9.

alternance d'unités  $\alpha$ - et  $\beta$ -peptide<sup>117</sup> (**Figure II-2 c**). Pour cette famille d'oligomères alternés, il a été observé par DC une absence d'effet coopératif et une influence significative des groupements aux extrémités sur la préférence conformationnelle.

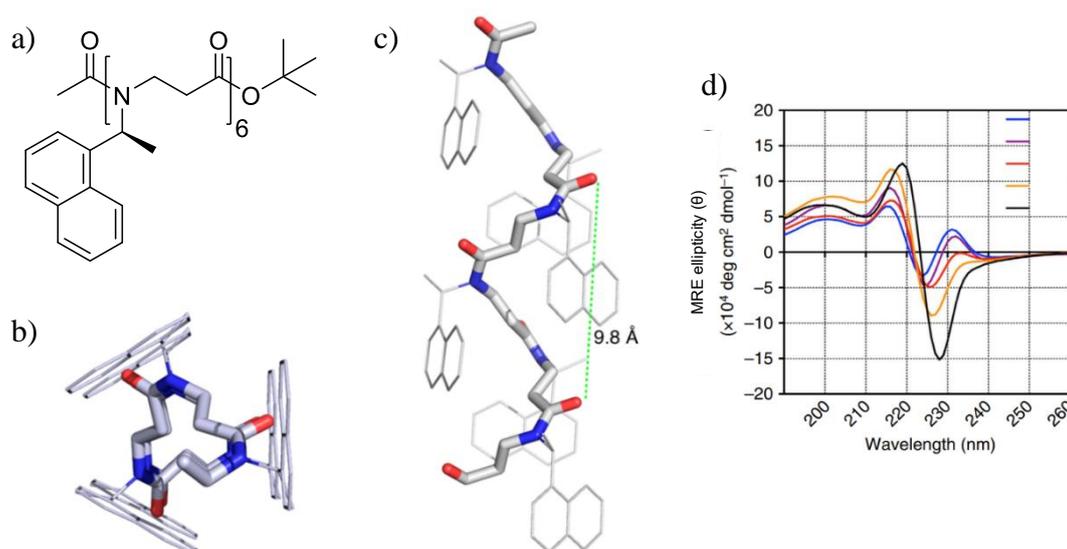


**Figure II-2** a) Spectres DC (MeOH) classique et normalisé (MRE) des homooligomères  $\beta$  préparés par l'équipe d'Arvidsson (100 $\mu$ M).<sup>77</sup> b) Spectres DC MRE (60 $\mu$ M) des oligomères BnCO-( $\beta$ Nspe)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, BnCO-( $\beta$ Nrpe)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>, et BnCO-( $\beta$ Nrpe)<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> obtenus dans le TFE.<sup>78</sup> c) Spectres DC (MRE) Boc-( $\alpha$ Nspe- $\beta$ Nspe)<sub>n</sub>, n=1-5 dans l'acétonitrile (concentrations variants de 150 $\mu$ M à 2.3mM).<sup>117</sup>

Plus récemment, la chaîne *N*-1-naphtyléthyle développée par H. E. Blackwell, l'une des plus efficaces pour induire des fonctions amides en conformation *cis* a été utilisée par Olsen sur un squelette  $\beta$  (**Figure II-3 a**). Une analyse DRX de l'hexamère ( $\beta$ Ns1npe)<sub>6</sub>, obtenue par

<sup>117</sup> Emiliana De Santis, Thomas Hjelmgard, Cécile Caumes, Sophie Faure, Bruce D. Alexander, Simon J. Holder, Giuliano Siligardi, Claude Taillefumier, Alison A. Edwards, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, *10*, 1108–22.

recristallisation dans un mélange MeOH/CHCl<sub>3</sub>, a révélé une structure secondaire hélicoïdale unique en forme de prisme triangulaire avec l'ensemble des fonctions amides en conformation *cis* ainsi qu'un pas relativement long d'environ 9,8 Å (**Figure II-3** b et c). De plus, les analyses par dichroïsme circulaire révèlent l'apparition d'un nouveau maximum vers 232 nm à partir du tétramère et qui augmente avec la longueur de l'oligomère. Ce maximum disparaît lors d'addition de méthanol ou avec l'élévation de la température, ce qui semble indiquer que ce maximum soit lié à l'apparition d'une structuration tridimensionnelle.<sup>118</sup>



**Figure II-3** a) Structure de l'hexamère Ac-( $\beta$ -N<sub>s</sub>1npe)<sub>6</sub>-OtBu b) Vue de dessus de la structure RX à partir de l'extrémité C-terminale. c) Vue de côté. d) Spectres DC MRE dans l'acétonitrile (60 μM).<sup>118</sup>

Olsen a également approfondi ses recherches sur les unités  $\beta$ -N<sub>s</sub>1npe en développant une approche synthétique pour réaliser des hélices fonctionnalisées reposantes sur le squelette  $\beta$ .<sup>119</sup>

### 3. Synthèse et étude conformationnelle des oligomères (*s1tbe*) $\alpha,\beta$ -alternés

La chaîne (*s1tbe*) étant très efficace sur le squelette  $\alpha$ -peptoidé, nous avons souhaité déterminer si l'ajout d'unités  $\beta$  de manière alternée avec les unités  $\alpha$  permettait toujours de favoriser l'obtention de fonctions amides de conformation *cis*. Nous avons donc réalisé la synthèse d'une première série de molécules (**Table II-2**).

<sup>118</sup> Jonas S. Laursen, Pernille Harris, Peter Fristrup, Christian A. Olsen, *Nat. Commun.*, **2015**, 6, 1–10.

<sup>119</sup> Isabelle Wellhöfer, Karla Frydenvang, Simona Kotesova, Andreas M. Christiansen, Jonas S. Laursen, Christian A. Olsen, *J. Org. Chem.*, **2019**, 84, 3762–79.

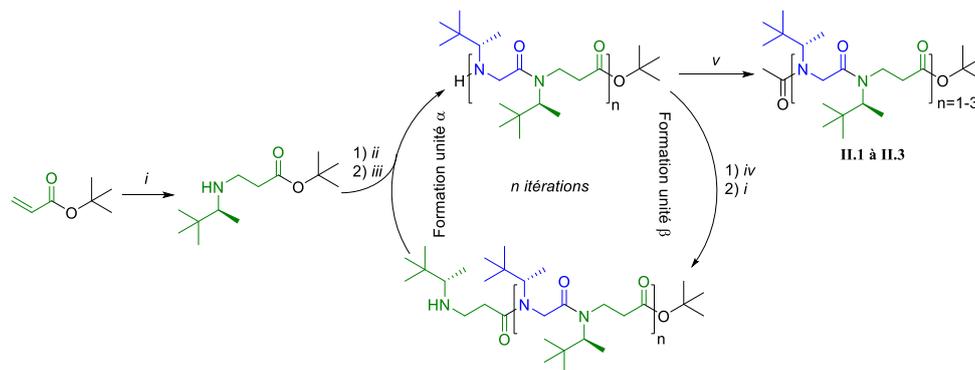
**Table II-2** Liste des oligomères synthétisés, purifiés (HPLC) et masses expérimentales déterminées par LC/MS

	séquences	étapes	rendement global <sup>a</sup>	pureté <sup>b</sup>	masses observées
<b>II.1</b>	Ac- <i>Ns</i> 1tbe- $\beta$ <i>Ns</i> 1tbe- <i>Or</i> Bu	4	30%	98%	413.3364 [M+H] <sup>+</sup>
<b>II.2</b>	Ac-( <i>Ns</i> 1tbe- $\beta$ <i>Ns</i> 1tbe) <sub>2</sub> - <i>Or</i> Bu	8	20%	98%	709.5824 [M+H] <sup>+</sup>
<b>II.3</b>	Ac-( <i>Ns</i> 1tbe- $\beta$ <i>Ns</i> 1tbe) <sub>3</sub> - <i>Or</i> Bu	12	15%	66%	1005.8278 [M+H] <sup>+</sup>

<sup>a</sup> Calculé par rapport à la quantité initiale d'acrylate de *tert*-butyle. <sup>b</sup> Déterminée par HPLC à 220 nm.

### 3.1. Synthèse des oligomères

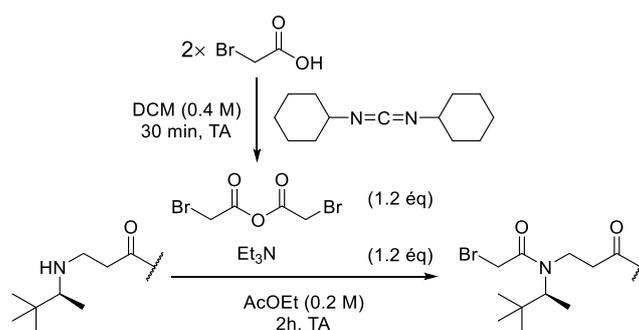
Pour la synthèse de ces oligomères, nous nous sommes inspirés des travaux réalisés au sein de l'équipe lors de l'étude de composés  $\alpha,\beta$ -alternés cycliques.<sup>120</sup> Nous avons donc utilisé les conditions réactionnelles publiées dans cette étude pour la synthèse de nos composés. Ainsi, la synthèse des oligomères **II.1** à **II.3** a été réalisée en solution selon l'approche « submonomère », permettant l'ajout d'une unité  $\alpha$  ou  $\beta$  en deux étapes. En démarrant de l'acrylate de *tert*-butyle, la première unité  $\beta$  est obtenue par une réaction d'aza-Michael avec la (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine. Ensuite, les unités  $\alpha$  sont insérées par réaction du bromure de bromoacétyle suivie de l'introduction de la chaîne latérale par une substitution du brome par l'amine chirale, tandis que les unités  $\beta$  sont obtenues par couplage du chlorure d'acryloyle suivi par une réaction d'aza-Michael comme pour la première unité. Enfin, une fois la longueur souhaitée atteinte, les peptoides sont acétylés en présence d'anhydride acétique (**Schéma II-1**).



**Schéma II-1** Conditions réactionnelles : **i)** (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine (2.5 éq.), MeOH (0.4 M), 50 °C, nuit ; **ii)** BrCH<sub>2</sub>COBr (1.2 éq.), Et<sub>3</sub>N (1.2 éq.), THF (0.2 M), -10 °C, 15 min ; **iii)** (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine (3.0 éq.), Et<sub>3</sub>N (2.0 éq.), AcOEt (0.2 M), TA, nuit ; **iv)** Chlorure d'acryloyle (1.2 éq.), Et<sub>3</sub>N (1.4 éq.), THF (0.4 M), 1h, 0 °C → TA, Argon ; **v)** Anhydride acétique (8.0 éq), Et<sub>3</sub>N (4.0 éq.), AcOEt (0.2 M), TA, 48h.

<sup>120</sup> Cécile Caumes, Carlos Fernandes, Olivier Roy, Thomas Hjelmgaard, Emmanuel Wenger, Claude Didierjean, Claude TAILLEFUMIER, Sophie Faure, *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 3626–29.

En fait, lors des tout premiers essais de synthèse, nous avons essayé de réaliser l'étape de bromoacétylation par réaction avec l'anhydride bromoacétique, cependant, un faible rendement était obtenu après cette étape du fait de la formation de plusieurs sous-produits (**Schéma II-2**). Néanmoins, nous sommes tout de même parvenus à obtenir le dimère Ac-Ns1tbe- $\beta$ Ns1tbe-OtBu **II.1** avec un rendement global de 30% sur 4 étapes.



**Schéma II-2** Bromoacétylation avec l'anhydride bromoacétique.

De ce fait, nous avons souhaité comparer ces conditions avec celles décrites par notre équipe lors de la synthèse des composés  $\alpha,\beta$ -alternés cycliques.<sup>120</sup> Elles consistent à réaliser l'acylation par réaction du bromure de bromoacétyle ( $\text{BrCH}_2\text{COBr}$ ) à la place de l'anhydride bromoacétique, qui possède en plus l'inconvénient de devoir être préparé juste avant l'étape d'acylation. Cette nouvelle approche nous permet d'avoir une légère amélioration du rendement, celui-ci passant d'environ 50% à 60-80% (en fonction de la purification), tout en étant plus rapide (15 minutes contre plus de 2h pour l'anhydride) (**Table II-3**). Nous avons donc poursuivi la synthèse de nos oligomères avec cette nouvelle approche comme décrit dans le **Schéma II-1**.

**Table II-3** Conditions comparées pour l'étape d'acylation

	Méthode 1	Méthode 2
Conditions	(BrAc) <sub>2</sub> O (1.2 éq.) Et <sub>3</sub> N (1.2 éq.) AcOEt (0.2 M) 2h à TA	BrCH <sub>2</sub> COBr (1.2 éq.) Et <sub>3</sub> N (1.2 éq.) THF anhydre (0.2 M) 15 min à -10 °C
Observations	Obtention de 3 taches en CCM	Une seule impureté plus polaire
Rendement	~50%	60-80%

Dans ces conditions, nous avons poursuivi la synthèse de nos composés  $\alpha,\beta$ -alternés avec la chaîne (*s1tbe*) mais malgré tout, nous étions confrontés à de faibles rendements. Nous avons tout de même réalisé la synthèse des dimère, tétramère et hexamère **II.1**, **II.2** et **II.3**, respectivement (**Table II-2**). Par la suite, lors de la réalisation d'analyses LC/MS, nous avons compris que les faibles rendements pouvaient s'expliquer par l'étape d'aza-Michael qui n'était

pas purifiée puisque l'amine en excès étant volatile ( $T_{\text{éb}} = 103\text{ °C}$ ), sa simple évaporation aurait dû suffire pour continuer la synthèse. D'autant plus que la purification d'une amine est relativement difficile du fait de la polarité du peptoides. Cependant, les analyses LC/MS ont indiqués que la réaction n'était pas complète et qu'il restait de l'acrylate, diminuant donc fortement le rendement de l'étape d'aza-Michael.

### 3.2. Étude conformationnelle

L'ensemble des composés synthétisés ont été analysés par RMN  $^1\text{H}$  et par RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY. Les composés **II.1** et **II.2** ont été également analysés par RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC. Cependant, dès les premières analyses RMN  $^1\text{H}$ , nous avons constaté que l'étude des spectres de ces composés alternés allait être difficile, notamment pour déterminer la constante  $K_{\text{cis/trans}}$  (**Figure II-4**). Plusieurs éléments permettent d'expliquer un nombre important de signaux : tout d'abord la chiralité de la chaîne latérale qui conduit à des systèmes AB pour l'ensemble des signaux. Ajouté à cela la présence de plusieurs conformères du fait de l'isomérisation *cis/trans* qui conduit à une multiplication des signaux. De plus, l'unité  $\beta$  possédant un groupement méthylène supplémentaire, cela rajoute des signaux dans la zone des  $\text{CH}_2$ .

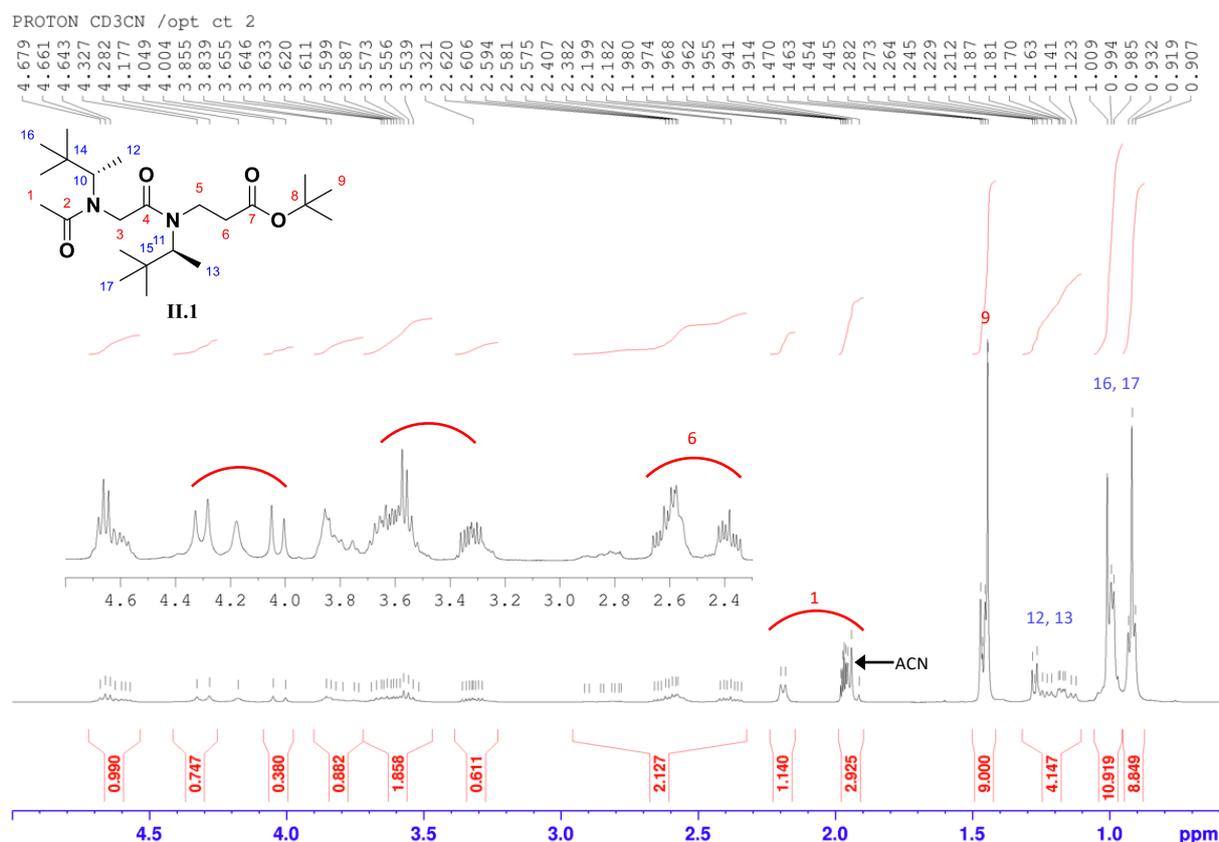
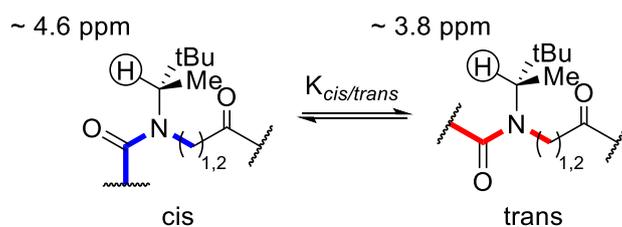


Figure II-4 Spectre RMN (400 MHz) obtenu pour le monomère ( $\alpha$ - $\beta$ ) **II.1** dans l'acétonitrile à 25mM.

L'une des étapes les plus importantes lors de l'étude conformationnelle des peptoides est la détermination de la constante  $K_{cis/trans}$ , indiquant la proportion entre la population de fonctions amides de conformation *cis* par rapport aux fonctions amides *trans*. Pour cela, nous avons utilisé les travaux réalisés par notre équipe. En effet, lors de l'étude des oligomères  $\alpha$  (*s1tbe*), la constante  $K_{cis/trans}$  était déterminée par intégration des signaux RMN correspondant au proton méthyne de la chaîne latérale, ce dernier étant caractérisé par un déblindage de presque 1 ppm pour la conformation *cis* par rapport à la conformation *trans* (**Figure II-5**). Ainsi, ce proton se situe vers 4.6 ppm pour une fonction amide *cis* tandis qu'il se trouve vers 3.8 ppm pour une fonction amide *trans*. Il est notamment plus simple d'observer le signal correspondant à la conformation *cis* puisque ce dernier se situe dans une zone du spectre où il n'y a aucun autre signal. En revanche pour le signal *trans*, il se situe dans la zone où se trouvent également les signaux des groupements méthylènes du squelette. Ainsi, pour le dimère ( $\alpha$ - $\beta$ ) **II.1**, l'intégration des signaux des protons méthyne indique un  $K_{cis/trans}$  de 1.10 dans l'acétonitrile, correspondant à 52% de fonctions amides *cis*. Concernant le tétramère **II.2** et l'hexamère **II.3**, il n'a pas été possible de déterminer précisément la constante  $K_{cis/trans}$  du fait de la superposition des signaux, néanmoins avec la seule intégration du signal des protons méthyne de la conformation *cis*, nous avons pu observer qu'il n'y avait pas de préférence en faveur de cette dernière, contrairement aux oligomères  $\alpha$ . Afin de pouvoir déterminer le rapport *cis/trans*, d'autres approches peuvent être utilisées.



**Figure II-5** Déplacements chimiques du proton méthyne en fonction de la conformation de la fonction amide.

Ainsi, pour contourner le problème lié à la superposition des signaux, il est possible de se tourner vers la RMN 2D, notamment avec l'analyse  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (CORrelation SpectroscopY) (**Figure II-6**). De cette manière, nous avons pu estimer le rapport *cis/trans* par intégration des signaux COSY correspondant au couplage scalaire entre les protons méthynes et les protons des groupements méthyles de la chaîne latérale (**Table II-4**). Ces analyses ont été réalisées pour les 3 oligomères dans le chloroforme.

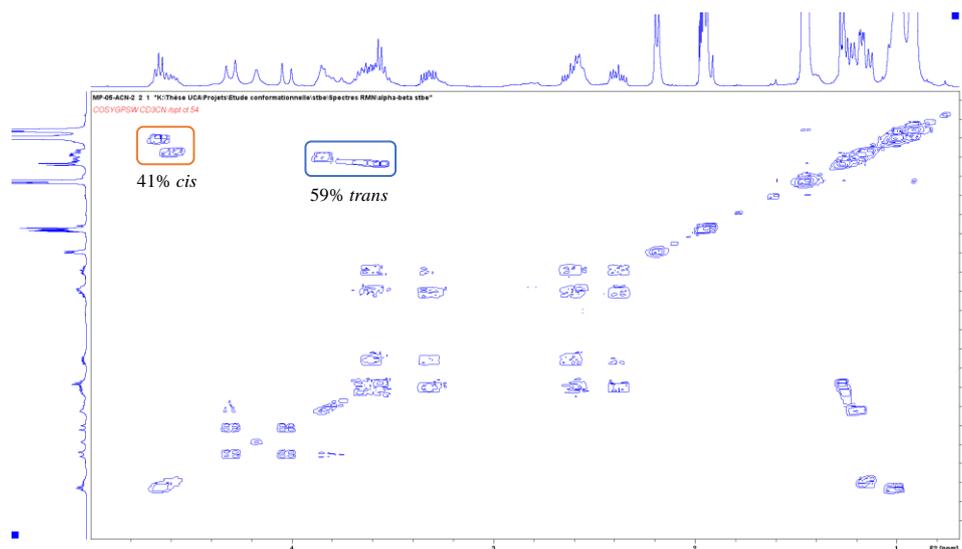


Figure II-6 Spectre COSY du dimère ( $\alpha\beta$ ) **II.1** dans l'acétonitrile et intégration des signaux correspondant aux conformations *cis* et *trans*.

Table II-4 Valeurs des rapports *cis/trans* déterminées par RMN  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY dans le chloroforme

	<i>l</i>	Séquences	$\text{CDCl}_3 K_{cis/trans}$	% <i>cis</i>
<b>II.1</b>	2	Ac- <i>Ns1tbe</i> - $\beta$ <i>Ns1tbe</i> -OrBu	0.5110	34%
<b>II.2</b>	4	Ac-( <i>Ns1tbe</i> - $\beta$ <i>Ns1tbe</i> ) <sub>2</sub> -OrBu	0.8881	47%
<b>II.3</b>	6	Ac-( <i>Ns1tbe</i> - $\beta$ <i>Ns1tbe</i> ) <sub>3</sub> -OrBu	0.7889	44%

Cependant, les valeurs obtenues semblent assez différentes de ce qui est observé lors de l'intégration des signaux du spectre  $^1\text{H}$ , puisque dans le cas du composé **II.1**, l'analyse  $^1\text{H}$  dans l'acétonitrile indique une population de 52% de fonction amides *cis* tandis qu'elle n'est que de 41% lors de l'analyse COSY dans le même solvant. Ces deux approches n'étant pas quantitative, elles nous permettent seulement d'estimer les proportions *cis/trans*, expliquant donc les disparités observées entre les deux méthodes.

Une approche beaucoup plus quantitative pour déterminer la constante  $K_{cis/trans}$  aurait été de réaliser des analyses RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQCAD (Heteronuclear Single Quantum Coherence ADiabatic), comme cela a été réalisé lors de l'étude des oligomères  $\alpha$  (*s1tbe*). Cependant, aux vues des spectres RMN  $^1\text{H}$  obtenus pour les oligomères synthétisés et à l'intégration du signal correspondant aux protons méthine en conformation *cis* (vers 4.6 ppm), nous avons constaté qu'au stade de l'hexamère( $\alpha\beta$ ), il n'y a toujours pas de tendance en faveur de la conformation *cis* ou *trans*. Or, pour la plupart des chaînes latérales structurantes, cette préférence est déjà observable à cette longueur. De ce fait, nous avons fait le choix de ne pas réaliser les analyses RMN HSQCAD ainsi que de ne pas continuer la synthèse de ces oligomères.

Bien que les oligomères  $\alpha,\beta$ -alternés ne semble pas donner de résultats concluants concernant une éventuelle structuration, nous avons souhaité savoir si cela était également le cas avec des oligomères composés uniquement d'unités  $\beta$ .

## 4. Synthèse et étude des oligomères $\beta$ (*s1tbe*)

Pour cette étude, nous avons étudié le comportement d'homooligomères  $\beta$  portant la chaîne latérale (*s1tbe*). Pour cela, nous avons réalisé la synthèse d'une série de peptoïdes allant du monomère à l'hexamère (**Table II-5**).

**Table II-5** Liste des oligomères synthétisés, puretés (HPLC) et masses expérimentales déterminées par LC/MS

	séquences	étapes	rendement global <sup>a</sup>	pureté <sup>b</sup>	masses observées
<b>II.4</b>	Ac- $\beta$ Ns1tbe-OrBu	2	97%	>99%	272.2220 [M+H] <sup>+</sup>
<b>II.5</b>	Ac-( $\beta$ Ns1tbe) <sub>2</sub> -OrBu	4	88%	99%	427.3523 [M+H] <sup>+</sup>
<b>II.6</b>	Ac-( $\beta$ Ns1tbe) <sub>3</sub> -OrBu	6	81%	98%	582.4640 [M+H] <sup>+</sup>
<b>II.7</b>	Ac-( $\beta$ Ns1tbe) <sub>4</sub> -OrBu	8	42%	96%	737.6151 [M+H] <sup>+</sup>
<b>II.8</b>	Ac-( $\beta$ Ns1tbe) <sub>5</sub> -OrBu	10	31%	95%	892.7461 [M+H] <sup>+</sup>
<b>II.9</b>	Ac-( $\beta$ Ns1tbe) <sub>6</sub> -OrBu	1	56%	>99%	1047.8771 [M+H] <sup>+</sup>

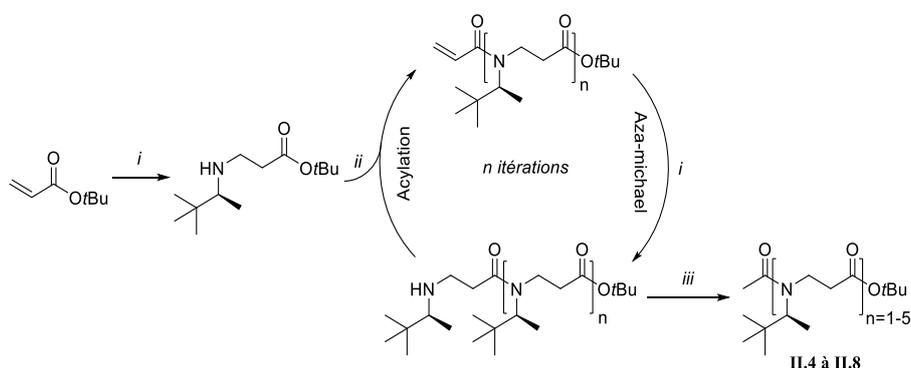
<sup>a</sup> Calculé par rapport à la quantité initiale d'acrylate de *tert*-butyle. <sup>b</sup> Déterminée par HPLC à 214 nm.

### 4.1. Synthèse des oligomères

#### 4.1.1. Synthèse linéaire en solution

Pour la synthèse de ces oligomères, nous avons également choisi une approche « submonomère ». Nous avons donc d'abord utilisé les mêmes conditions que pour la synthèse des composés  $\alpha,\beta$ -alternés. Cependant, dès les premières synthèses, nous avons de nouveau observé une conversion incomplète de l'étape d'aza-Michael puisque l'acrylamide intermédiaire est observé en LC/MS ainsi qu'en RMN. Pour corriger cela, nous nous sommes intéressés aux travaux de P. I. Arvidsson sur la synthèse de  $\beta$ -peptoïdes avec des chaînes latérales  $\alpha$ -chirales.<sup>77</sup> Au cours de cette étude, différents solvants ont été testés, notamment l'isopropanol, qui a permis d'obtenir un rendement de 98% pour l'étape d'aza-Michael. Nous avons donc essayé ce solvant pour nos synthèses. Ainsi, en laissant la réaction pendant 48h à 75 °C, il a été possible d'obtenir le dimère **II.5** avec un rendement global de 88% sans purification intermédiaire. Nous avons donc réalisé la synthèse de la série allant du monomère **II.4** jusqu'au pentamère **II.8** avec ces nouvelles conditions (**Schéma II-3**). De plus, lors de dernières synthèses, nous avons également testé deux solvants pour l'étape d'aza-Michael inspirés des travaux d'Arvidsson dans l'optique de diminuer le temps de réaction : THF/H<sub>2</sub>O

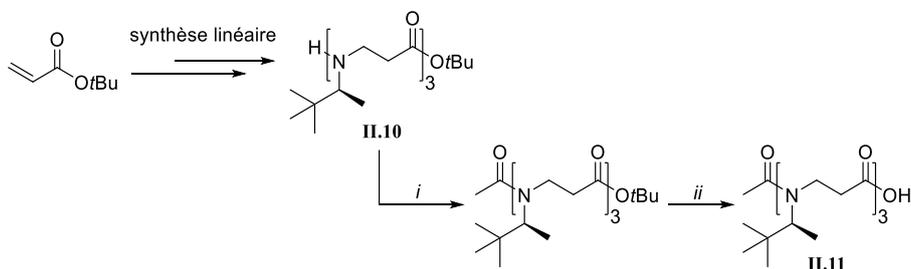
4:1 et *i*PrOH/H<sub>2</sub>O 1:1. Ces deux solvants ont pour point commun la présence d'eau, connue pour accélérer la réaction d'aza-Michael.<sup>121</sup> Pour le premier système, nous avons observé une conversion complète de l'acrylamide en 42h à 60 °C pour l'obtention du dimère, soit une très faible amélioration par rapport à l'isopropanol seul. En revanche, pour le second système (*i*PrOH/H<sub>2</sub>O 1:1), nous avons obtenu une conversion complète de l'acrylamide en l'espace d'une nuit à 60 °C, correspondant à une diminution du temps de réaction de plus de 60%. L'efficacité de ces conditions a également été confirmée lors de la formation du trimère. Ainsi, ces conditions ont été utilisées pour la suite du projet.



**Schéma II-3** Conditions réactionnelles : **i**) (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine (2.5 éq.), *i*PrOH/H<sub>2</sub>O (0.4 M), 60 °C, nuit ; **ii**) Chlorure d'acryloyle (1.2 éq.), Et<sub>3</sub>N (1.4 éq.), THF (0.4 M), 1h, 0 °C → TA, Argon ; **iii**) Anhydride acétique (8.0 éq.), Et<sub>3</sub>N (4.0 éq.), AcOEt (0.2 M), TA, 48h.

#### 4.1.2. Obtention de l'hexamère II.9 par couplage (3+3)

Bien qu'il ait été possible d'améliorer le rendement ainsi que le temps de réaction, nous avons souhaité étudier la possibilité d'une approche par couplage. Nous avons donc cherché à obtenir l'hexamère **II.9** par couplage (3+3). Pour cela, nous avons préparé le trimère acide **II.11** par acétylation puis déprotection de l'ester de *tert*-butyl du trimère amine **II.10** (Schéma II-4).



**Schéma II-4** Obtention du trimère acide **II.11** à partir du trimère amine **II.10** : **i**) Anhydride acétique (8.0 éq), Et<sub>3</sub>N (4.0 éq.), AcOEt (0.2 M), TA, 48h. **ii**) TFA/DCM 1:1, 30 min, 0 °C → TA.

<sup>121</sup> Brindaban C. Ranu, Subhash Banerjee, *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 141–43.

Une fois les deux trimères obtenus, nous avons réalisé le couplage dans des conditions déjà utilisées au sein de l'équipe et bien connues en synthèse peptidique, reposant sur le réactif de couplage HATU,<sup>122</sup> qui en présence de DIPEA, permet de convertir l'acide carboxylique en ester activé. Ainsi, il a été possible d'obtenir l'hexamère **II.9** avec un rendement de 56%.

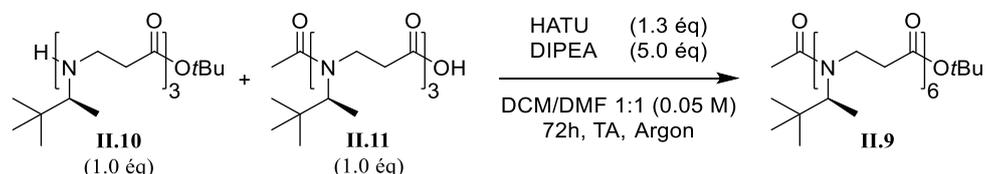


Schéma II-5 Obtention de l'hexamère par couplage (3+3)

## 4.2. Étude conformationnelle

Les 6 oligomères synthétisés ont été analysés et caractérisés par RMN  $^1\text{H}$  et par RMN 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC. Pour déterminer le rapport *cis/trans*, nous avons analysé les spectres  $^1\text{H}$  ainsi que COSY. Cependant, les valeurs obtenues lors de l'intégration des différents signaux des spectres COSY n'étaient pas cohérentes avec celles obtenues par RMN proton et n'ont donc pas été utilisées. Ainsi, pour le monomère **II.4**, où les signaux sont bien distincts et ne se superposent pas, nous avons obtenu lors de l'analyse  $^1\text{H}$  dans l'acétonitrile un rapport *cis/trans* de 0.43 soit une population de fonctions amides *cis* d'environ 30% (**Figure II-7**). Étant donné qu'il n'était pas évident d'obtenir une valeur précise pour les signaux *trans*, nous avons déterminé la constante  $K_{cis/trans}$  en réalisant la moyenne des signaux dont l'intégration était réalisable (**Table II-6**).

<sup>122</sup> Louis A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4397–98.

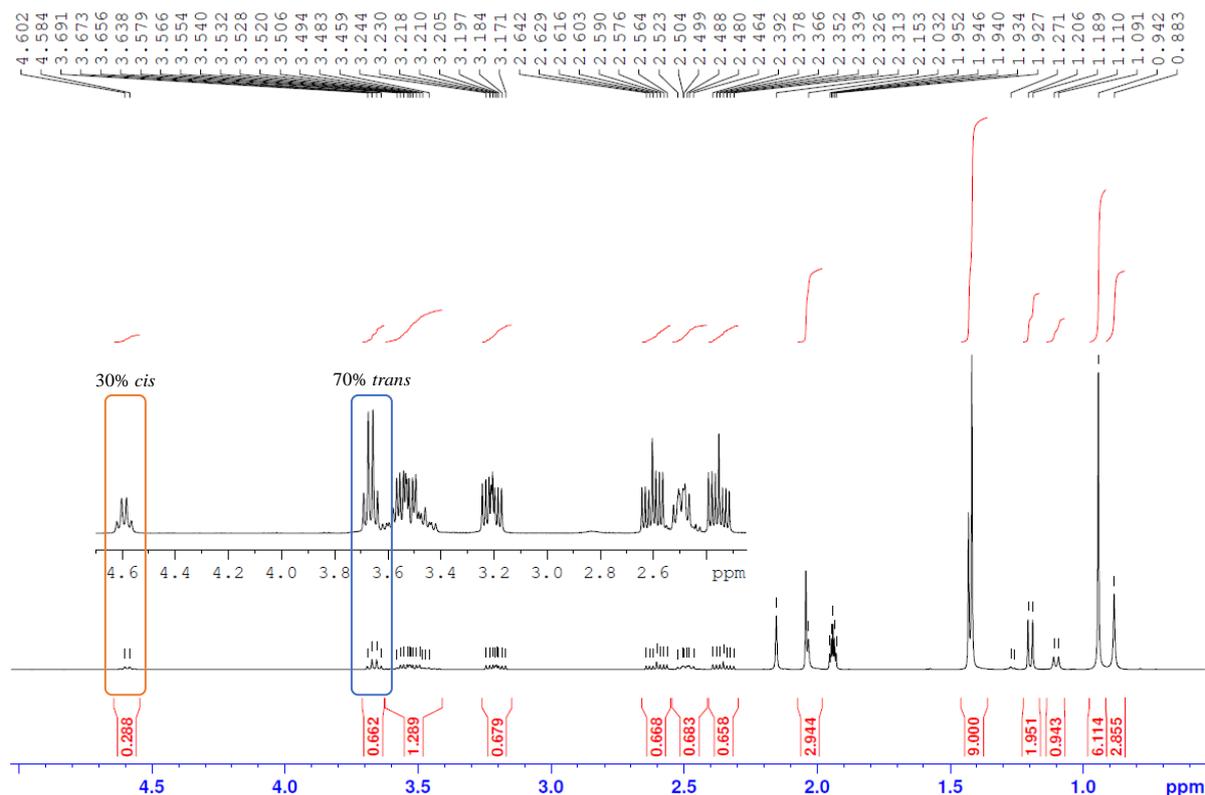


Figure II-7 Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans l'acétonitrile (25mM) du monomère **II.4** avec indication des populations *cis* et *trans*.

Table II-6  $K_{cis/trans}$  moyens calculés dans différents solvants pour la série  $\beta$

Peptide	Longueur	Séquences	$K_{cis/trans}$ moyens calculés		
			$\text{CDCl}_3$	$\text{CD}_3\text{CN}$	$\text{CD}_3\text{OD}$
<b>II.4</b>	1	Ac-( $\beta\text{Ns1tbe}$ ) <sub>1</sub> -OrBu	0.52 <sup>a</sup>	0.46 <sup>a</sup>	0.45 <sup>a</sup>
<b>II.5</b>	2	Ac-( $\beta\text{Ns1tbe}$ ) <sub>2</sub> -OrBu	0.31 <sup>b</sup>	0.47 <sup>b</sup>	<sup>c</sup>
<b>II.6</b>	3	Ac-( $\beta\text{Ns1tbe}$ ) <sub>3</sub> -OrBu	0.30 <sup>b</sup>	0.49 <sup>b</sup>	<sup>c</sup>
<b>II.7</b>	4	Ac-( $\beta\text{Ns1tbe}$ ) <sub>4</sub> -OrBu	0.29 <sup>b</sup>	0.55 <sup>b</sup>	0.39 <sup>b</sup>
<b>II.8</b>	5	Ac-( $\beta\text{Ns1tbe}$ ) <sub>5</sub> -OrBu	0.26 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	<sup>c</sup>
<b>II.9</b>	6	Ac-( $\beta\text{Ns1tbe}$ ) <sub>6</sub> -OrBu	0.23 <sup>b</sup>	0.54 <sup>b</sup>	0.29 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Calculé par intégration de 3 signaux. <sup>b</sup> Calculé par intégration de 2 signaux. <sup>c</sup> non mesuré.

En plus de cela, une analyse 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQCAD a été réalisée sur le dimère **II.5** dans l'acétonitrile (**Figure II-8**), indiquant un rapport *cis/trans* de 0.45, soit 31% de fonctions amides *cis*. Cette valeur est suffisamment proche de celle obtenue par le calcul moyen pour considérer les valeurs calculées dans la **Table II-6** comme étant suffisamment fiables.

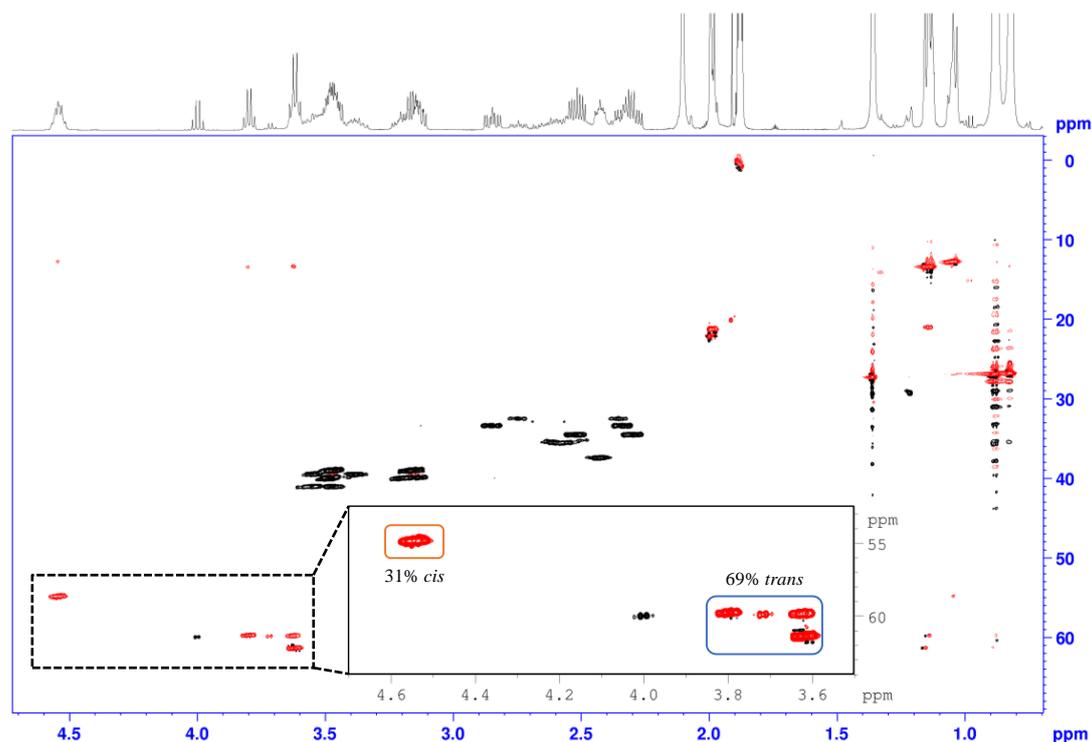


Figure II-8 Spectre HSQCAD obtenu pour le dimère **II.5** dans l'acétonitrile

Ainsi, comme l'indique les données recueillies au cours des différentes analyses RMN, aucune tendance en faveur de la conformation *cis* n'a été observée. Il s'agit même du contraire puisque dans le cas de l'acétonitrile, une moyenne de 33% de fonctions amides *cis* est observée, soit 67% de fonctions amides *trans*. Dans le chloroforme ainsi que le méthanol, la tendance est même en faveur de la conformation *trans* avec une diminution de la population en fonctions amides *cis* avec l'augmentation de la longueur de la chaîne. Cependant, ces variations étant relativement faibles, nous pouvons dire qu'aucune structuration n'est observée pour les oligomères ( $\beta$ Ns1tbe).

## 5. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons souhaité étudier l'influence de la chaîne (*S*)-1-tert-butyléthyle (*s1tbe*) sur l'isomérisation *cis/trans* lorsqu'elle est utilisée sur des squelettes  $\beta$  et  $\alpha,\beta$ -alternés. Pour cela, deux séries d'homooligomères ont été synthétisées, la première, composée de 3 peptoides correspondant au dimère, tétramère et hexamère ( $\alpha,\beta$ ) (composés **II.1** à **II.3**) tandis que la seconde est constituée des homooligomères  $\beta$  allant du monomère à l'hexamère (composés **II.4** à **II.9**). Pour parvenir à ces deux séries, une légère optimisation a été nécessaire pour améliorer le rendement de l'étape d'aza-Michael permettant d'obtenir les unités  $\beta$ . De plus, pour la seconde série, l'hexamère **II.9** a été obtenu par couplage (3+3),

montrant ainsi une approche alternative permettant d'obtenir des oligomères de longueur plus importante avec un gain de temps important. Après synthèse, ces deux séries ont été analysées par RMN 1D et 2D afin de déterminer la constante  $K_{cis/trans}$  de chaque oligomère. Ces analyses ont permis de déterminer que la chaîne (S)-1-tert-butyléthyle (*sItbe*) ne permet pas de favoriser la conformation *cis* pour ces squelettes. En effet, pour les peptoïdes  $\alpha,\beta$ -alternés, nous observons un ratio entre les populations *cis* et *trans* de quasiment 1 pour 1, et ce jusqu'à l'hexamère. Tandis que pour les homooligomères  $\beta$ , la population la plus haute en fonctions amides *cis* est obtenue dans l'acétonitrile avec une moyenne de 33% ainsi qu'une faible variation avec l'augmentation de la longueur du peptoïde (31% pour le monomère **II.4** jusqu'à 35% pour l'hexamère **II.9**).



Chapitre III : Développement et étude d'une  
nouvelle chaîne latérale *trans*-inductrice : la  
chaîne méthylamino (*NMe*)



Ce chapitre concerne l'étude d'une nouvelle chaîne latérale structurante dans l'optique de contrôler l'isomérisation des fonctions amides en faveur de la conformation *trans*. Après une rapide présentation des chaînes décrites dans la littérature permettant l'obtention de fonctions amides *trans* ainsi que du motif azaalkyl que nous souhaitons étudier, nous nous intéresserons à la mise au point et à l'optimisation de la synthèse par la méthode « submonomère » d'oligomères de *N*-méthylaminoglycines. Nous aborderons également la mise au point d'une voie de synthèse par couplage. Puis, une approche synthétique sur support solide sera présentée.

La seconde partie de ce chapitre s'intéresse à l'étude conformationnelle de ces peptoides, au travers d'analyses RMN 1D et 2D, diffraction des rayons X, infrarouge ou encore par microscopie électronique en transmission.

Enfin, nous présenterons les travaux réalisés sur le développement d'une chaîne latérale azaalkyl chirale.

À noter qu'à l'approche de la fin de mes travaux sur cette nouvelle chaîne latérale qui n'avait jamais été étudiée, des travaux réalisés par l'équipe de C. Proulx ont été publiés. Ces derniers se sont intéressés à l'étude d'unités *N*-imino- et *N*-alkylamino glycines afin de développer des peptoides avec des fonctions amides *trans*.<sup>123</sup> Cependant, cette étude décrit une approche synthétique différente puisque leurs composés sont obtenus sur support solide par utilisation d'hydrazones qui peuvent ensuite, en fonction des conditions de clivage, être réduites en hydrazines, permettant donc d'obtenir des unités *N*-alkylamino glycine. Dans cette étude, les unités *N*-azaalkyl-glycines n'ont pas été introduites de façon consécutive mais tous les deux ou trois résidus. De ce fait, les travaux présentés dans ce chapitre possèdent tout de même la particularité d'être la première étude de peptoides contenant exclusivement des unités *N*-azaalkyl glycine.

---

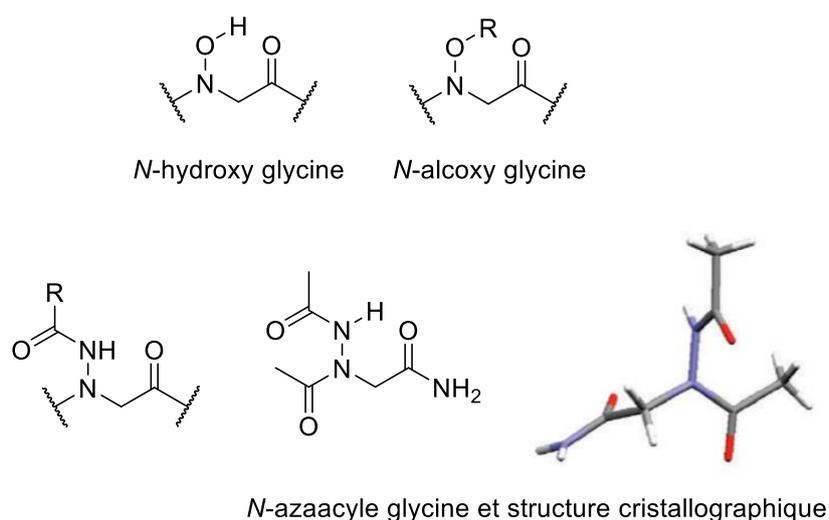
<sup>123</sup> Carolyn M. Davern, Brandon D. Lowe, Adam Rosfi, Elon A. Ison, Caroline Proulx, *Chem. Sci.*, **2021**, *12*, 8401–10.



## 1. Contexte

Au sein de notre équipe, une partie des recherches sont dédiées au développement de nouvelles chaînes latérales structurantes. Cela a notamment été le cas avec les chaînes *tert*-butyle (*tBu*)<sup>102</sup>, (*S*)-1-*tert*-butyléthyle (*s1tbe*)<sup>101</sup> ou encore la chaîne (*S*)-1-(1-benzyl-3-méthyl-1,2,3-triazolium)éthyle (*sbte*<sup>+</sup>)<sup>98</sup>. Cependant, il est important de constater que ces chaînes latérales, ainsi que la majeure partie de celles présentées au début de ce mémoire favorisent l'obtention de fonctions amides *cis*, ce qui peut être exploité pour le repliement de chaînes peptoides en hélice de type PPI.

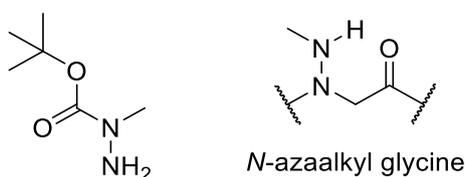
Pour l'obtention de fonctions amides *trans*, très peu de chaînes latérales ont été décrites. La première et la plus utilisée est la chaîne aryle.<sup>108</sup> Par la suite, l'équipe de Blackwell a décrit deux chaînes latérales permettant de favoriser la conformation *trans* : les chaînes hydroxy et alcoxy.<sup>84,85</sup> La même année, Kodadek a publié les résultats qu'il a obtenu en étudiant des unités *N*-azaacycle glycine par chimie combinatoire. Il indique que des oligomères utilisant cette chaîne latérale conduisent à l'obtention à plus de 90% de rotamères *trans*.<sup>86</sup> A noter que cette conclusion est réalisée en se basant sur le fait qu'un conformère très majoritaire est observé en RMN <sup>1</sup>H et que la structure cristallographique (obtenue par recrystallisation dans un mélange MeOH/DCM 2:1) d'un des monomères synthétisés révèle une conformation *trans* pour les deux fonctions amides du composé (**Figure III-1**).



**Figure III-1** Structures de monomères favorisant l'obtention de fonctions amides *trans* et structure cristallographique du monomère obtenu par Kodadek.<sup>86</sup>

En se basant sur ces différents travaux, nous nous sommes étonnés de l'absence d'études sur la chaîne azaalkyl, comme cela a été fait avec la chaîne alcoxy. De ce fait, nous avons

souhaité étudier l'influence de cette chaîne latérale sur l'isomérisation *cis/trans* d'homooligomères. Ainsi, afin d'éviter tout risque de réaction parasite pendant la synthèse, il est nécessaire de protéger le groupement NH présent sur la chaîne latérale. De ce fait, nous avons opté pour une protection par un groupement Boc afin de pouvoir réaliser les synthèses sans risque de déprotection en cours de synthèse et ainsi enlever l'ensemble des groupements protecteurs par traitement acide en fin de synthèse. Notre choix s'est porté sur la 1-Boc-1-méthyle hydrazine (également appelée *tert*-butyl 2-methylcarbazate selon les fournisseurs), qui a l'avantage d'être disponible commercialement (**Figure III-2**). Le choix de cette hydrazine nous permet de réaliser une première étude sans avoir à mettre au point une approche de synthèse pour l'hydrazine. Par la suite, en fonction des résultats obtenus avec cette hydrazine, la synthèse de nouvelles chaînes latérales pourra être envisagée.



**Figure III-2** Structures de la 1-Boc-1-méthyle hydrazine et de l'unité *N*-azaalkyl glycine obtenue après déprotection

Mon travail a donc consisté à mettre au point une méthode de synthèse permettant d'obtenir des homooligomères utilisant cette nouvelle chaîne latérale puis de réaliser l'étude conformationnelle des peptoides obtenus

## 2. Synthèse des homooligomères

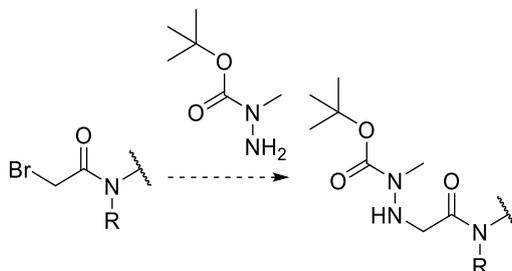
Dans cette partie, nous décrivons la mise au point de l'approche synthétique et l'obtention d'une série d'oligomères avec la chaîne latérale (*NMe*), allant du monomère jusqu'à l'hexamère. Les peptoides obtenus sont rassemblés dans la **Table III-1**.

**Table III-1** Liste des oligomères synthétisés

	séquence
<b>III.1</b>	Ac-(NMe)-OBn
<b>III.2</b>	Ac-(NMe) <sub>2</sub> -OBn
<b>III.3</b>	Ac-(NMe) <sub>3</sub> -OBn
<b>III.4</b>	Ac-(NMe) <sub>4</sub> -OBn
<b>III.5</b>	Ac-(NMe) <sub>5</sub> -OBn
<b>III.6</b>	Ac-(NMe) <sub>6</sub> -OBn

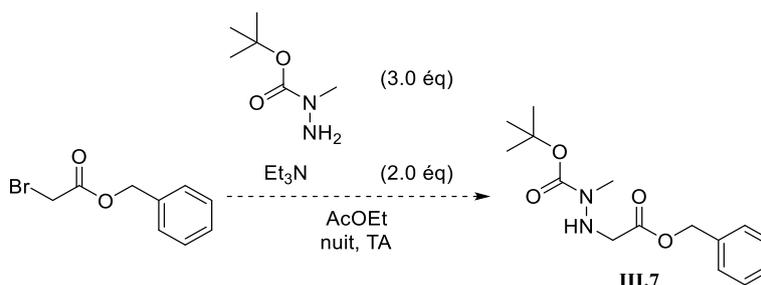
## 2.1. Premiers essais de synthèses et optimisation de l'approche synthétique

Étant donné que nous n'avions jamais utilisé de carbazates dans l'approche « submonomère », nous ne savions pas si ce réactif bis-azoté allait se comporter de façon similaire à une amine primaire lors des étapes de substitution (**Schéma III-1**).



**Schéma III-1** Étape de substitution avec la 1-Boc-1-méthyle hydrazine

Puisque l'hydrazine est protégée par un groupement Boc qui sera retiré en fin de synthèse, il n'est pas possible d'utiliser le bromoacétate de *tert*-butyle (habituellement utilisé pour les synthèses de peptoides en solution<sup>27</sup> comme substrat de départ puisque l'étape de déprotection des groupements Boc conduirait à l'hydrolyse de l'ester de *tert*-butyle. Ainsi, notre choix s'est porté sur le bromoacétate de benzyle. Un premier essai de préparation du monomère **III.7** a donc été réalisé dans les conditions classiques de synthèse des peptoides (Et<sub>3</sub>N, AcOEt, TA) avec l'utilisation de seulement 3 équivalents d'hydrazine comme c'était le cas avec la (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine utilisée pour introduire la chaîne (*sItbe*) car l'hydrazine a un coût assez élevé (**Schéma III-2**).



**Schéma III-2** Conditions habituelles pour l'étape de substitution

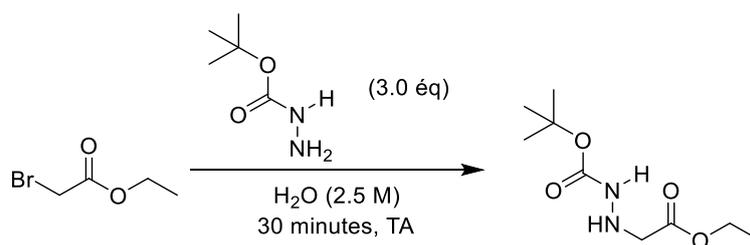
Dans ces conditions, il a été observé une faible conversion après 24h de réaction, malgré l'ajout de triéthylamine et la mise en place d'un chauffage à 50 °C. De plus, l'ajout de triéthylamine provoque l'apparition d'un gel, conduisant également à un ralentissement de la réaction. De plus, l'hydrazine possède la particularité d'être peu polaire du fait de la présence du groupement Boc, conduisant à des CCM où réactifs et produits sont relativement proches en termes de rapports frontaux. Les conditions habituelles de synthèse des peptoides n'étant pas

adaptées, nous avons donc testé différentes conditions afin de voir s'il était possible d'améliorer la vitesse de conversion de cette première étape de substitution (**Table III-2**).

**Table III-2** Conditions réactionnelles testées

	Conditions	Durée / Température	Résultats
Conditions habituelles	Hydrazine 3.0 éq Et <sub>3</sub> N 2.0 éq AcOEt (0.2 M)	24h à TA	Peu de conversion et formation d'un gel
Essai 1	Hydrazine 3.0 éq Et <sub>3</sub> N 2.0 éq THF (0.2 M)	24h à TA puis 24h à 50 °C	Réaction lente et nombreux sous-produits
Essai 2	Hydrazine 1.0 éq Et <sub>3</sub> N 4.0 éq THF (0.2 M)	24h à TA puis 24h à 50 °C	Réaction lente et nombreux sous-produits

Ces différentes modifications, dont un changement de solvant et un chauffage à 50 °C, n'ont malheureusement pas apporté d'améliorations. Nous avons alors tenté un protocole de la littérature décrivant la réaction entre le bromoacétate d'éthyle et le *tert*-butyl carbamate<sup>124</sup> (**Schéma III-3**). La particularité de ce protocole est que la réaction a lieu en milieu aqueux et à forte concentration (2.5 M contre 0.2 M lors de la synthèse de peptoïde).



**Schéma III-3** Conditions réactionnelles issues dans la littérature.<sup>124</sup>

Dans ces conditions, nous sommes parvenus à obtenir une conversion complète après 24h de réaction. Le monomère **III.7** est obtenu par extraction à l'AcOEt, suivi par plusieurs lavages à l'eau afin de retirer une partie de l'hydrazine en excès. Ce protocole a permis d'isoler le monomère **III.7** sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 88%. Un test d'acétylation a ensuite été réalisé sur un échantillon de monomère dans les conditions habituelles que nous utilisons pour la synthèse de peptoïde (Ac<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, AcOEt, TA). Après 48 heures, la réaction est totale, et le composé **III.8** est obtenu avec un rendement de 98%. Pour finir, le groupement Boc est retiré par traitement pendant 30 minutes par une solution à 50% de

<sup>124</sup> Nian Huang, Rohit Kolhatkar, Yvonne Eyobo, Leonardo Sorci, Irina Rodionova, Andrei L. Osterman, Alexander D. MacKerell, Hong Zhang, *J. Med. Chem.*, **2010**, 53, 5229–39.

TFA dans du DCM. Le monomère **III.1** est obtenu avec un rendement de 57%, soit un rendement global de 49%.

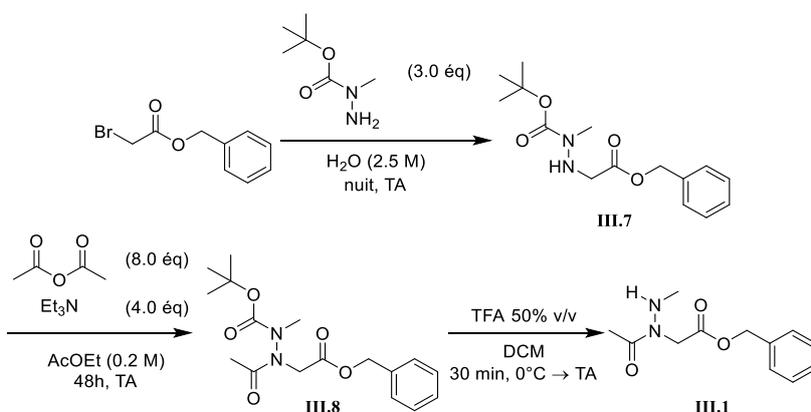


Schéma III-4 Premier essai de synthèse du monomère **III.1** avec les nouvelles conditions

La synthèse a été poursuivie à partir de **III.7** en vue de l'obtention d'un dimère. Pour cela, le monomère **III.7** a été bromoacétylé (composé **III.9**) dans les conditions habituelles avec le bromure de bromoacétyle en présence de triéthylamine. La réaction se déroule sans le moindre problème. La réaction étant complète, le bromoacétamide a été réengagé directement dans l'étape de substitution. Pour cela, les mêmes conditions de substitution que celles utilisées pour la synthèse du monomère ont été employées. Cependant, le composé **III.9** n'étant pas soluble dans l'eau, la formation d'un gel a été observé lors de la réaction, ce qui se traduit par un faible rendement (30% sur 2 étapes). Ce faible rendement peut également s'expliquer par la difficulté à séparer le composé attendu **III.10** et l'hydrazine introduite en excès, mais aussi par l'utilisation du composé **III.9** sans purification, ce qui a conduit à l'apparition de sous-produits. Une quantité suffisante de dimère **III.10** a tout de même été obtenue donc la synthèse a été menée à son terme avec l'acétylation de l'extrémité *N*-terminale (composé **III.11**) et le retrait des groupements Boc. Le dimère **III.2** a été obtenu avec un rendement global de 7% (Schéma III-5).

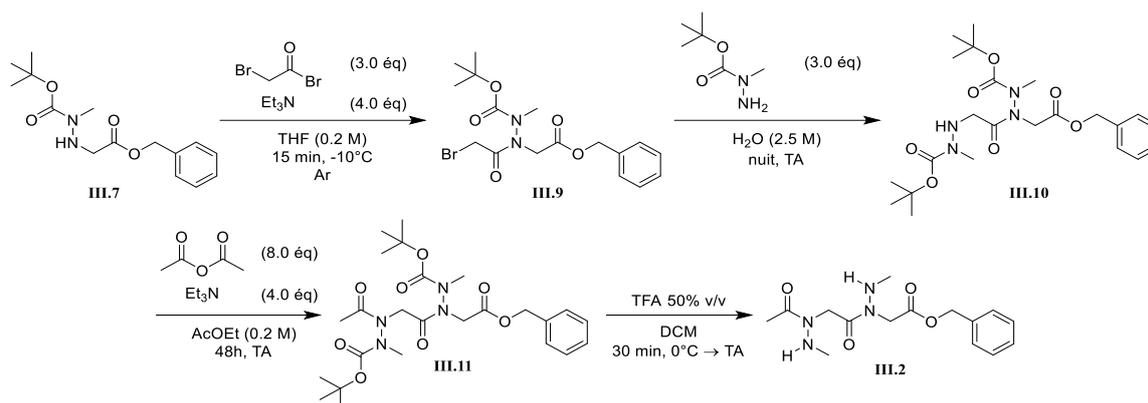


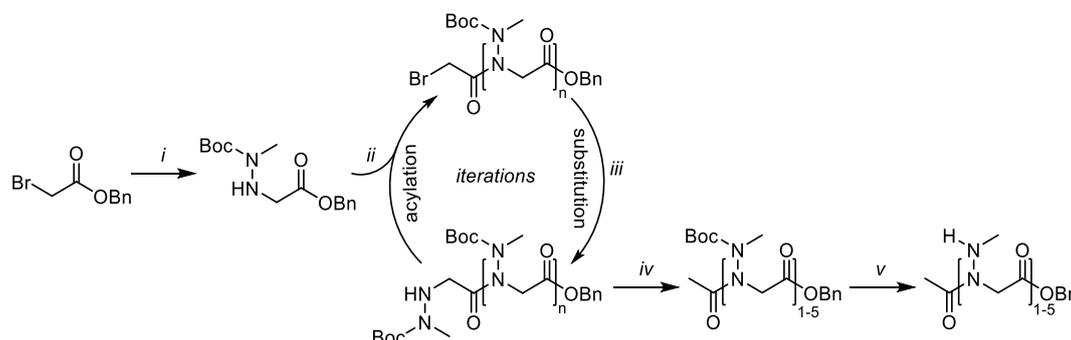
Schéma III-5 Synthèse du dimère

La synthèse du dimère **III.2** a donc révélé un problème pour l'étape de substitution. Puisqu'un problème de solubilisation de **III.9** est observé, des essais d'optimisation ont consisté à ajouter un solvant organique au milieu réactionnel. Deux solvants ont été envisagés : le méthanol, conduisant à un mélange homogène, et l'acétate d'éthyle, à un milieu hétérogène. En parallèle de ces deux essais, un test de chauffage a été réalisé dans l'eau (**Table III-3**). Ainsi, l'ajout d'un solvant organique dans le milieu réactionnel permet d'éviter la formation du gel observée dans l'eau, cependant la réaction reste lente que ce soit dans le mélange H<sub>2</sub>O/MeOH (essai 1) ou H<sub>2</sub>O/AcOEt (essai 3) puisqu'elle n'était toujours pas complète après 48h à température ambiante. En revanche, une accélération de la réaction a été observée par chauffage. Ainsi, une conversion totale a été observée après une nuit à 60 °C (essais 2 et 4). Malgré le problème de solubilisation dans l'eau, une consommation complète de **III.9** est observée en une nuit avec un chauffage à 70 °C (essai 5). Cela a été également observé lorsque les essais 1 & 2 ont été chauffés à 60 °C pendant une nuit. À la suite de cela, un dernier test combinant la présence d'un solvant organique (méthanol) et le chauffage à 60 °C a permis d'obtenir des conditions réactionnelles sans problème de solubilisation et avec une conversion complète en une nuit sans formation de sous-produits.

**Table III-3** Conditions testées pour l'étape de substitution

	Conditions	Température	Résultat
Essai 1	Hydrazine 3.0 éq H <sub>2</sub> O / MeOH 1:1 (1.25 M)	TA	Conversion observée mais lente
Essai 2	Hydrazine 3.0 éq H <sub>2</sub> O / MeOH 1:1 (1.25 M)	60 °C	Conversion complète en une nuit
Essai 3	Hydrazine 3.0 éq H <sub>2</sub> O / AcOEt 1:1 (1.25 M)	TA	Conversion observée mais lente
Essai 4	Hydrazine 3.0 éq H <sub>2</sub> O / MeOH 1:1 (1.25 M)	60 °C	Conversion complète en une nuit
Essai 5	Hydrazine 3.0 éq H <sub>2</sub> O (2.5 M)	70 °C	Solubilisation difficile mais conversion complète après 18h

Dans ces nouvelles conditions, le dimère **III.10** a été obtenu avec un rendement 75% pour l'étape de substitution et la synthèse du trimère est donc poursuivie. Le dimère est donc bromoacétylé puis la substitution est réalisée avec les nouvelles conditions. Comme pour le dimère, une conversion complète est observée en une nuit. Cette approche est donc adaptée à la synthèse de nos homooligomères (**Schéma III-6**). La synthèse du trimère est ainsi menée à son terme et il est obtenu avec un rendement global de 17%.



**Schéma III-6** Approche synthétique : **i**) 1-Boc-1-méthyle hydrazine (3.0 éq.), H<sub>2</sub>O (2.5 M), TA, nuit ; **ii**) BrCH<sub>2</sub>COBr (1,5 éq.), Et<sub>3</sub>N (2.0 éq.), THF (0.2 M), -10 °C, 30 min à 2 h ; **iii**) 1-Boc-1-méthyle hydrazine (3.0 éq.), H<sub>2</sub>O/MeOH 1:1 (1.25 M), 60 °C, nuit ; **iv**) Anhydride acétique (8.0 éq), Et<sub>3</sub>N (4.0 éq.), AcOEt (0.2 M), TA, 48h ; **v**) TFA/DCM 1:1, 0 °C à TA, 30 min.

## 2.2. Optimisation des conditions de purification

Un autre problème a été rencontré lors de la synthèse des homooligomères, notamment à partir du trimère. En effet, les analyses CCM ont mis en évidence que les produits obtenus après substitution possèdent une polarité proche de celle du carbazate. Cette proximité a rendu difficile la purification des composés issues de la substitution puisque de nombreuses fractions de mélange sont obtenus. Or, nous avons observé que si l'on poursuit la synthèse avec ces fractions de mélange, cela n'améliore pas la séparation des composés à l'étape suivante et

entraîne une surconsommation de réactifs. Par conséquent, de faible rendement ont été obtenus lors des premières synthèses. Par la suite, nous avons essayé de trouver une méthode pour retirer un maximum d'hydrazine avant purification. Des essais de précipitation par l'utilisation de différents solvants organiques ont été réalisés mais n'ont pas été efficaces. Pour améliorer la purification, nous nous sommes concentrés sur les conditions de purification plutôt que sur une méthode pour retirer l'hydrazine du brut. Ainsi, pour l'étape de substitution, après évaporation du méthanol, 3 extractions de la phase aqueuse sont réalisées à l'acétate d'éthyle, suivies par 5 lavages de la phase organique à l'eau. De cette manière, nous retirons l'hydrazine de façon suffisante pour permettre une purification dans de bonnes conditions. Avec les différentes synthèses et resynthèses, nous avons pu optimiser nos conditions de purification pour les étapes de substitution. La première modification apportée a été le choix de l'éluant. En effet, nous avons diminué l'éluant à 90/10 cyclohexane/AcOEt avec une augmentation progressive vers 80/20 voire 70/30 si besoin, permettant de ralentir la vitesse d'élution de nos produits ainsi que de l'hydrazine, augmentant la séparation des deux composés. Pour le monomère et le dimère, cette modification est suffisante afin d'obtenir une séparation quasi-complète des deux composés. En revanche pour le trimère, les deux composés sont plus proches en CCM ( $\Delta R_f < 0.1$ ), de ce fait, pour contourner le problème, la hauteur de gel de silice dans la colonne a été augmentée de 20 cm à 30 cm, augmentant la durée de la purification mais permettant de bien séparer le produit de l'hydrazine en limitant le nombre de fractions de mélange. De plus, nous avons souhaité savoir s'il était possible d'améliorer la qualité de la purification grâce à l'utilisation d'un système de purification flash automatisée. Pour cela, nous avons utilisé un appareil Büchi C-815 Flash Pure équipé d'une colonne Flash Pure Silica. Ainsi, nous avons étudié 3 possibilités de purification pour le trimère, à savoir par l'approche manuelle classique, par l'approche automatisée avec injection liquide et par dépôt solide (**Table III-4**). Ainsi, par l'utilisation de la Flash combiné au dépôt solide, il a été possible d'obtenir le trimère avec un rendement 75% pour l'étape de substitution et l'absence complète de l'hydrazine. La purification n'a pas été aussi efficace avec l'injection liquide puisque l'injection se fait directement dans la colonne, entraînant une perte d'environ 15 à 20 % de la hauteur de silice contenue dans la colonne et donc diminuant la qualité de la séparation. En ce qui concerne les conditions de purification, nous avons réalisé un gradient allant de 15% à 40% en acétate d'éthyle dans le cyclohexane pendant 40 minutes, suivi par un plateau à 60% en acétate d'éthyle pendant 15 minutes afin de rincer la colonne et s'assurer que tout le produit soit sorti de la

colonne. Dans ces conditions, on observe d'abord une sortie de l'hydrazine suivi par notre produit.

**Table III-4** Rendements obtenus avec les différentes conditions de purification

Purification	Manuelle	Automatique avec injection liquide	Automatique avec dépôt solide
Rendement	75%	68%	75%
Mélange ?	oui	oui	non

Ainsi, grâce à ces différentes modifications, il a été possible de resynthétiser la série allant du monomère au pentamère de façon linéaire et avec des rendements et des puretés plus intéressants que lors de leur première synthèse (**Table III-5**).

**Table III-5** Rendements et puretés finales des homooligomères après optimisation

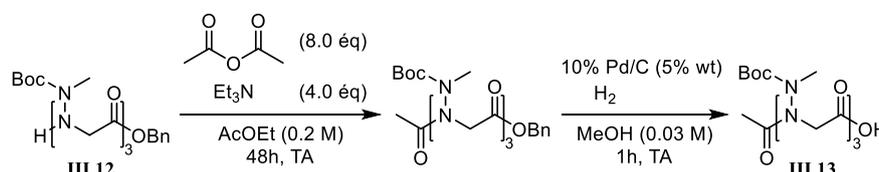
<i>l</i>	séquence	étapes	rendement <sup>a</sup>	pureté <sup>b</sup>	masse expérimentale	
<b>III.1</b>	1	Ac-(NMe)-OBn	3	83%	>99%	237.1234 [M+H] <sup>+</sup>
<b>III.2</b>	2	Ac-(NMe) <sub>2</sub> -OBn	5	34%	99%	323.1714 [M+H] <sup>+</sup>
<b>III.3</b>	3	Ac-(NMe) <sub>3</sub> -OBn	7	27%	98%	409.2194 [M+H] <sup>+</sup>
<b>III.4</b>	4	Ac-(NMe) <sub>4</sub> -OBn	9	13%	93%	495.2674 [M+H] <sup>+</sup>
<b>III.5</b>	5	Ac-(NMe) <sub>5</sub> -OBn	11	11%	92%	581.3152 [M+H] <sup>+</sup>

<sup>a</sup> Calculé par rapport à la quantité initiale de bromoacétate de benzyle. <sup>b</sup> Déterminée par HPLC à 214 nm.

En parallèle de ces optimisations, du fait des problèmes de purification rencontrés au début du projet, nous avons cherché à mettre au point une voie de synthèse par couplage, notamment pour obtenir l'hexamère.

### 2.3. Premiers essais d'obtention de l'hexamère par couplage

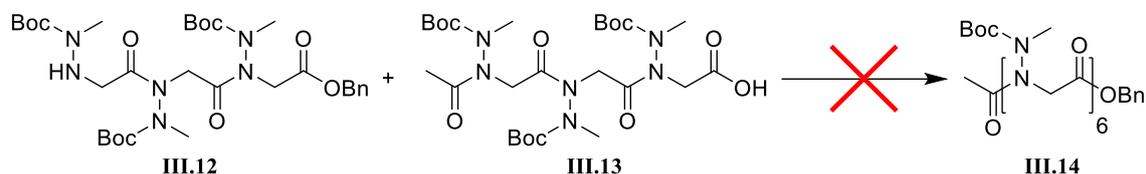
Pour obtenir l'hexamère, nous avons souhaité réaliser un couplage (3+3). Pour cela, nous avons préparé le partenaire acide **III.13** à partir du trimère **III.12** (**Schéma III-7**).



**Schéma III-7** Synthèse du partenaire acide **III.13** à partir du partenaire hydrazine **III.12**.

Une fois les deux trimères obtenus, nous avons réalisé un test de couplage dans les mêmes conditions que celles utilisées dans le chapitre précédent (HATU, DIPEA, DCM/DMF 1:1). Malheureusement, après plusieurs jours de réactions, la formation de l'hexamère protégé **III.14** n'est pas observée. À la suite de cela, une nouvelle tentative a été réalisée avec l'ajout d'Oxyma

Pure, équivalent non explosif de HOBt, couramment utilisé en synthèse peptidique et réputé pour améliorer le rendement des couplages,<sup>125</sup> mais de façon similaire au premier essai, une absence totale de réaction a été observée (**Schéma III-8**).

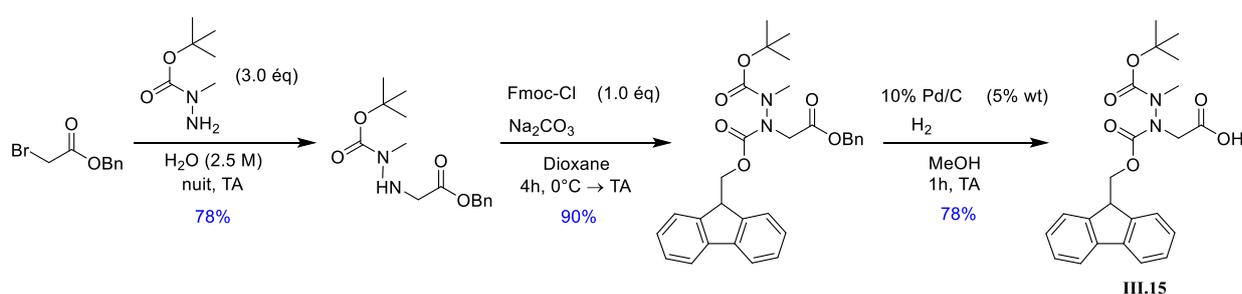


**Schéma III-8** Conditions testées : **a**) 1.0 éq de chaque trimère, HATU (1.3 éq), DIPEA (5.0 éq), DCM/DMF 1:1 (0.05 M), TA, 72h sous argon. **b**) 1.0 éq de chaque trimère, HATU (1.3 éq), Oxyma Pure (1.3 éq), DIPEA (5.0 éq), DCM/DMF 1:1 (0.05 M), TA, 72h sous argon.

Nous avons dans un premier temps pensé que cette absence de réactivité pouvait être liée à l'encombrement assez important des deux trimères. De ce fait, nous avons voulu voir si ce problème était également observé lors du couplage de deux monomères, ou du moins lorsque le partenaire acide est seulement un monomère.

## 2.4. Essais de couplage de monomères

L'idée est donc d'essayer une approche monomère similaire à la synthèse des peptides. Pour cela, nous avons synthétisé le monomère partenaire acide **III.15** qui sera utilisé dans cette approche. Ainsi, la substitution est réalisée sur le bromoacétate de benzyle, puis le monomère est protégé par un groupement fluorénylméthoxycarbonyle (Fmoc) avant de déprotéger l'ester de benzyle (**Schéma III-9**).

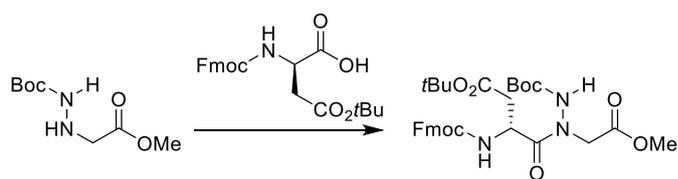


**Schéma III-9** Synthèse du composé **III.15**

<sup>125</sup> Ramon Subirós-Funosas, Rafei Prohens, Rafael Barbas, Ayman El-Faham, Fernando Albericio, *Chem. – A Eur. J.*, **2009**, *15*, 9394–9403.

### 2.4.1. Approche par couplage peptidique

Une fois le composé **III.15** obtenu, nous avons testé différentes conditions de couplage avec le monomère **III.7**. Dans un premier temps, nous avons réalisé des tests dans les mêmes conditions que pour l'hexamère (**Schéma III-8**), à savoir en présence d'HATU puis avec l'ajout d'Oxyma Pure, mais malheureusement, une fois encore, aucune conversion n'a été observée. De plus, après avoir réalisée une étude bibliographique afin de trouver des conditions de couplage qui pourraient fonctionner, une étude réalisée par J. R. Del Valle en 2014 a montré qu'il était difficile de réaliser des couplages peptidiques sur une unité hydrazinopeptoïde<sup>126</sup> (**Figure III-3**). Les auteurs sont néanmoins parvenus à obtenir le produit de couplage souhaité en utilisant le couple HATU/HOBt.



Conditions de couplage	Rendement isolé (%)
EDC, HOBt, Et <sub>3</sub> N, DCM	0
DIC, DMAP, Et <sub>3</sub> N, DCM	0
HBTU, DIPEA, DMF	0
HATU, HOBt, DIPEA, DMF	53
PyBOP, Et <sub>3</sub> N, DCM	0
COMU, Et <sub>3</sub> N, DCM	0
TFFH, DIPEA, DMF	0

**Figure III-3** Conditions testées par l'équipe de Del Valle.<sup>126</sup>

En plus de cela, cette étude nous a permis de voir qu'il était potentiellement possible de réaliser le couplage par d'autres approches comme la formation d'un chlorure d'acide ou d'un anhydride mixte.

### 2.4.2. Approche par formation du chlorure d'acide

La première méthode décrite par l'équipe de Del Valle consiste à réaliser le chlorure d'acide *in situ* avec du triphosgène en présence de collidine. L'utilisation du triphosgène comme agent de couplage a montré son efficacité notamment dans le cas de couplage d'acides aminés *N*-alkylés.<sup>127,128</sup> Nous n'avons pas étudié cette approche afin d'éviter l'utilisation de triphosgène, hautement toxique. La seconde approche décrite est la formation du chlorure d'acide par action du chlorure de thionyle. Nous avons donc testé cette approche dans les conditions identiques à celles décrites par le groupe de Del Valle (**Schéma III-10**). Nous avons

<sup>126</sup> Chang Won Kang, Sujeewa Ranatunga, Matthew P. Sarnowski, Juan R. Del Valle, *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 5434–37.

<sup>127</sup> Eliezer Falb, Tamar Yechezkel, Yoseph Salitra, Chaim Gilon, *J. Pept. Res.*, **1999**, *53*, 507–17.

<sup>128</sup> Bernd Thern, Joachim Rudolph, Günther Jung, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 5013–16.

observé en CCM la consommation du bloc **III.15**. Après ajout du partenaire amine au milieu, la réaction a été poursuivie pendant 48h mais aucune conversion n'a été observée. L'analyse HRMS a confirmé l'absence totale du produit de couplage **III.16**. L'analyse CCM a permis également de constater la présence du partenaire acide (**III.15**) indiquant une possible instabilité du chlorure d'acide.

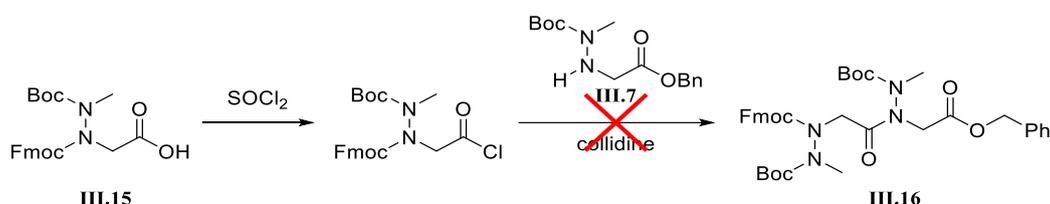


Schéma III-10 Formation du chlorure d'acide et réaction avec le monomère.

Avant de réaliser des études supplémentaires concernant cette approche, nous avons décidé de nous intéresser à la dernière approche décrite par le groupe de Del Valle.

### 2.4.3. Approche par formation d'un anhydride mixte

Cette dernière approche décrite par Del Valle consiste en la formation d'un anhydride mixte par réaction de l'acide carboxylique avec le chloroformiate d'isobutyle (Schéma III-11).<sup>126</sup> Les conditions utilisées par ce dernier sont inspirées d'une étude réalisée par T. R. Burke au cours de laquelle il réalise le couplage de la Fmoc-alanine sur une unité hydrazinopeptidique.<sup>129</sup>

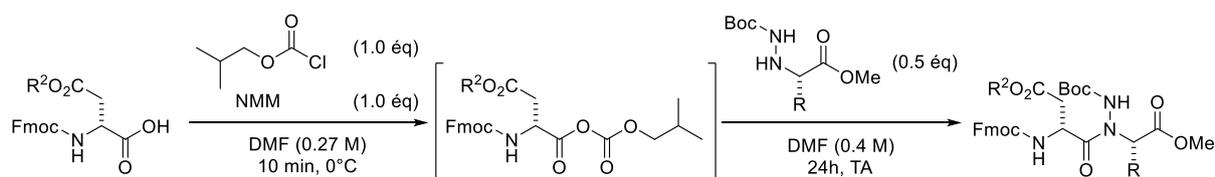


Schéma III-11 Conditions réactionnelles décrites par Del Valle.<sup>126</sup>

Nous avons donc essayé ces conditions sur notre bloc **III.15** pour former l'anhydride mixte **III.17** (Schéma III-13 étape A) puis pour réaliser le couplage sur le monomère **III.7** (Schéma III-13 étape B). Cependant, dans ces conditions (Table III-6 entrée 1), l'analyse LC/MS révèle une faible présence du produit **III.16** ainsi que la présence de sous-produits, notamment la formation d'un uréthane issu de la réaction entre le chloroformiate d'isobutyle et le monomère **III.7** (Schéma III-12).

<sup>129</sup> Fa Liu, Andrew G. Stephen, Catherine S. Adamson, Karine Gousset, M. Javad Aman, Eric O. Freed, Robert J. Fisher, Terrence R. Burke, *Org. Lett.*, **2006**, 8, 5165–68.

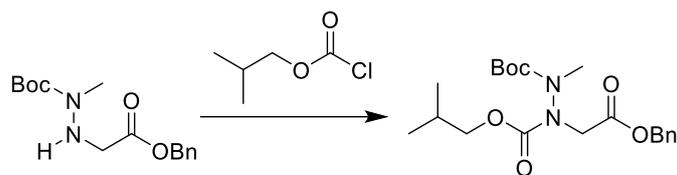


Schéma III-12 Structure de l'uréthane observé

Par l'ajout d'un léger excès de bloc **III.15** d'environ 5% (**Table III-6** entrée 2), comme réalisé par Burke,<sup>129</sup> il a été possible de supprimer la formation de ce sous-produit. De plus, du fait de la faible conversion vers le produit de couplage, la réaction est chauffée à 50 °C après quelques heures de réaction. De cette manière, nous avons pu observer conversion complète du composé **III.7** vers un produit majoritaire. Cependant, l'analyse LC/MS indique que le produit obtenu correspond au produit de couplage dépourvu du groupement Fmoc **III.18** (**Schéma III-13**).

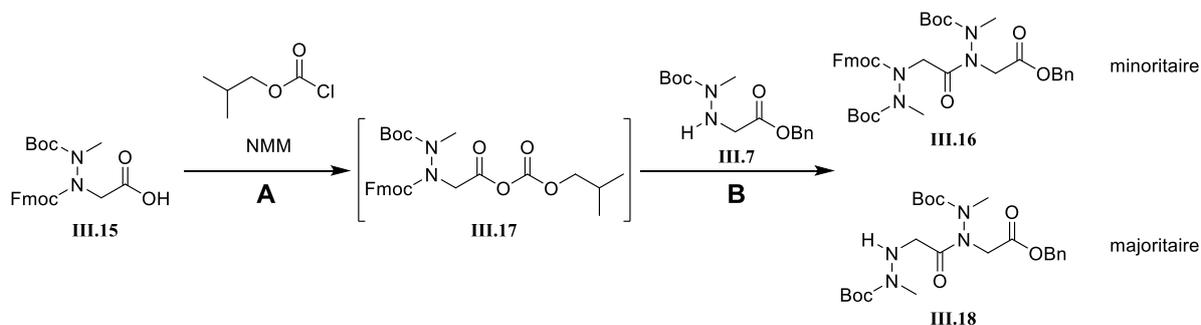


Schéma III-13 Couplage par formation d'un anhydride mixte avec le chloroformiate d'isobutyle

De ce fait, différentes conditions réactionnelles ont été étudiées afin de voir s'il était possible d'éviter la déprotection de l'extrémité *N*-terminale. Nous avons dans un premier temps pensé que la déprotection avait lieu du fait de conditions basiques. Nous avons remplacé la NMM par de la triéthylamine (entrée 3) (**Table III-6**). Il a été observé une rapide conversion vers le produit de couplage déprotégé **III.18** et une très faible présence du produit attendu **III.16**, voire dans certains cas une absence totale du composé **III.16**. De plus, en vérifiant le pH du milieu réactionnel, nous avons constaté que celui-ci n'était pas basique mais aux alentours de 6, ce qui n'est pas compatible avec une déprotection du groupement Fmoc uniquement du fait de la présence de la base. Ainsi, dans un second temps, le chauffage a été remis en cause. De ce fait, deux nouveaux essais ont été réalisés avec l'étape B réalisée à température ambiante (entrées 4 et 5). Pour l'essai 4, nous avons utilisé comme précédemment et comme décrit par Del Valle et Burke 2 équivalents d'anhydride mixte alors que pour l'essai 5, les 2 partenaires ont été utilisés en quantité stoechiométrique.

**Table III-6** Conditions testées pour le couplage par formation d'un anhydride mixte

	Conditions étape A	Conditions étape B	Résultat
1	<b>III.15</b> 1.0 éq IBCF 1.0 éq NMM 1.0 éq DMF (0.27 M) 10 min à 0 °C	<b>III.7</b> 0.5 éq DMF (0.4 M) 24h à TA	Faible présence du produit <b>III.16</b> et présence de l'uréthane
2	<b>III.15</b> 1.05 éq IBCF 1.0 éq NMM 1.0 éq DMF (0.27 M) 20 min à 0 °C	<b>III.7</b> 0.5 éq DMF (0.4 M) 7h à TA puis Week-end à 50 °C	Produit <b>III.18</b> majoritaire
3	<b>III.15</b> 1.05 éq IBCF 1.0 éq Et <sub>3</sub> N 1.0 éq DMF (0.27 M) 10 min à 0 °C	<b>III.7</b> 0.5 éq DMF (0.4 M) 24h à TA	Produit <b>III.18</b> majoritaire
4	<b>III.15</b> 1.05 éq IBCF 1.0 éq NMM 1.0 éq DMF (0.27 M) 10 min à 0 °C	<b>III.7</b> 0.5 éq DMF (0.4 M) 24h à TA	Produit <b>III.16</b> obtenu avec un rendement de 78% après purification
5	<b>III.15</b> 1.05 éq IBCF 1.0 éq NMM 1.0 éq DMF (0.27 M) 10 min à 0 °C	<b>III.7</b> 1.0 éq DMF (0.4 M) 24h à TA	Produit <b>III.16</b> observé mais conversion lente (> 5J) Rendement d'environ 45%

En ce qui concerne le test à température ambiante avec 2 équivalents d'anhydride mixte **III.17** (entrée 4), nous avons observé une conversion complète vers le produit de couplage **III.16** avec une absence totale du produit déprotégé **III.18**. Après purification, un rendement de 78% est obtenu, indiquant une bonne efficacité de l'approche. En ce qui concerne l'approche équimolaire (entrée 5), la conversion est également observée, mais à une vitesse plus faible que lorsque 2 équivalents d'anhydride sont présents dans le milieu réactionnel, et après 5 jours de réactions, le monomère **III.7** est toujours observé en CCM. Après purification, l'analyse RMN des produits isolés indique que dans les conditions décrites par l'entrée 5, une proportion d'environ 2 pour 1 entre le produit de couplage **III.16** et le monomère **III.7** est observée, correspondant à un rendement d'environ 45%. De ce fait, il semble difficile d'utiliser cette approche puisqu'il est nécessaire soit d'utiliser un grand excès de bloc **III.15** afin d'obtenir une réaction complète en l'espace de 24h, soit mettre en place un chauffage, chose qui n'est pas envisageable puisque cela favorise la déprotection du groupement Fmoc. Par conséquent, nous ne continuerons pas avec cette approche de couplage.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux travaux réalisés par J. Morimoto sur la synthèse d'oligomères d'alanines *N*-substituées puisqu'il a mis en avant une approche de synthèse par bloc reposant sur l'utilisation de *N*-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ), qui permet la formation d'un anhydride mixte *in situ*.<sup>130</sup> Cela permet à l'anhydride d'être consommé aussitôt qu'il est formé, permettant ainsi de limiter au maximum le risque de formation de sous-produits. Les premiers essais de réaction ont mis en évidence la formation du produit de couplage **III.16** mais aussi d'un sous-produit correspondant au produit issu de l'estérification du bloc acide **III.15** (Schéma III-14 composé **III.19**). Cette estérification semble être liée à la libération d'éthanol lors de la formation de l'anhydride. La réaction étant chauffée, nous avons également réalisé un test à température ambiante mais la même observation a été réalisée, indiquant donc une formation rapide du sous-produit. Nous avons également essayé de piéger l'éthanol qui se formait avec l'utilisation de tamis moléculaire 4 Å, mais aucune différence n'a été observée. Néanmoins, malgré la formation de ce sous-produit, il est tout de même possible d'obtenir une conversion complète du monomère **III.7** vers le dimère **III.16** en augmentant la quantité de bloc acide **III.15** dans le milieu réactionnel à 1.5 éq voire 2.0 éq (Schéma III-14) et ainsi obtenir le dimère **III.16** avec un rendement de 95% après purification. Cette voie de synthèse semble envisageable, mais conduit à la perte de 0.5 équivalents de bloc acide ce qui n'est bien sûr pas intéressant d'un point de vue de l'économie d'atomes et nous semble rédhibitoire pour des couplages de blocs acide oligomériques (dimère, trimère...)

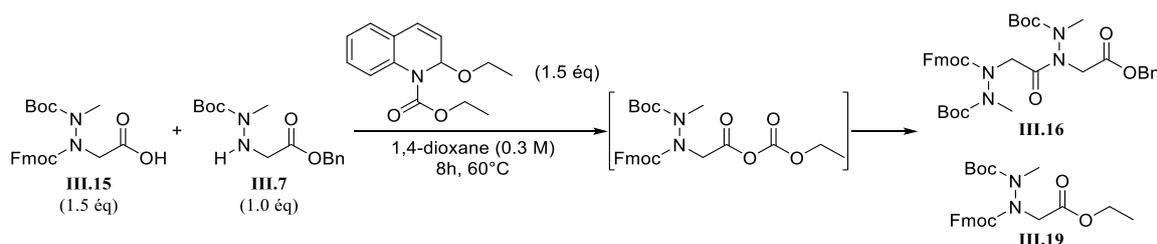


Schéma III-14 Couplage par formation d'un anhydride mixte *in situ* avec l'EEDQ

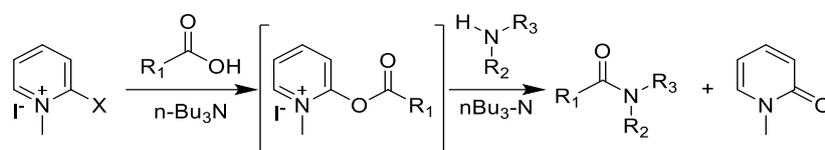
#### 2.4.4. Approche par couplage de Mukaiyama

Une dernière approche envisagée pour la synthèse d'homooligomères par bloc à laquelle nous avons pensé est la réalisation d'un couplage de Mukaiyama.<sup>131</sup> Cette méthode est

<sup>130</sup> Jumpei Morimoto, Yasuhiro Fukuda, Daisuke Kuroda, Takumu Watanabe, Fumihiko Yoshida, Mizue Asada, Toshikazu Nakamura, Akinobu Senoo, Satoru Nagatoishi, Kouhei Tsumoto, Shinsuke Sando, *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*, 14612–23.

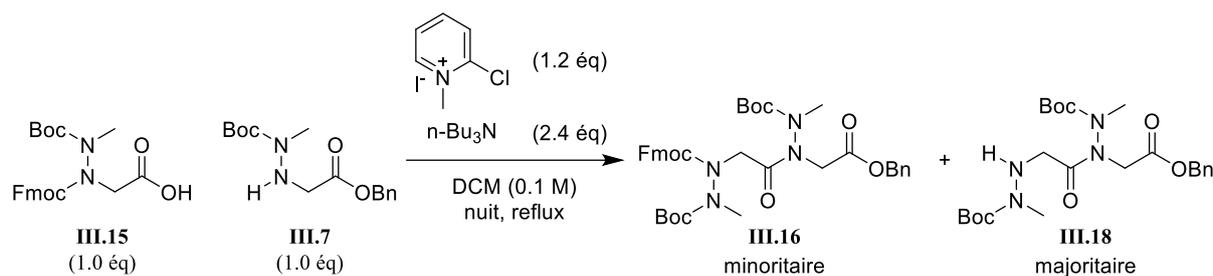
<sup>131</sup> Edward Bald, Kazuhiko Saigo, Teruaki Mukaiyama, *Chem. Lett.*, **1975**, 1163–66.

notamment intéressante dans le cadre de partenaires stériquement encombrés, ce qui est le cas de nos peptoides.



**Schéma III-15** Formation de lien amide par couplage de Mukaiyama.<sup>131</sup>

Nous avons donc essayé les conditions décrites par Mukaiyama<sup>131</sup> avec les composés **III.15** et **III.7** avec comme réactif de Mukaiyama le iodure de 2-chloro-1-méthylpyridinium (CMPI) et, comme dans les cas précédents, la perte du groupement Fmoc est observée. Seule une portion très faible du produit **III.16** est observée en LC/MS (**Schéma III-16**). Ceci semble donc confirmer que la présence de base et le chauffage du milieu réactionnel contribuent à la perte du groupement Fmoc. En l'absence de chauffage, une faible et lente conversion est obtenue après plusieurs jours de réaction.



**Schéma III-16** Formation du dimère dans les conditions décrites par Mukaiyama.<sup>131</sup>

Suite à cela, nous nous sommes intéressés à d'autres travaux réalisés par Mukaiyama au cours desquels il réalise le couplage en présence de la 3,4-dihydro-2H-pyrido[1,2-a]pyrimidinone qui est utilisée comme capteur de proton acide.<sup>132</sup> Cela permet donc de diminuer la quantité de base présente dans le milieu réactionnel à seulement 1 équivalent. De plus, la réaction est réalisée à température ambiante (**Schéma III-17**). Au cours de ce test, nous avons pu observer la formation du produit **III.16** par CCM et par analyse LC/MS. Cependant, la conversion est relativement lente puisque le partenaire **III.7** est toujours présent en quantité importante d'après l'analyse CCM après 5 jours de réaction. De ce fait, un essai de chauffage à reflux a été réalisé pendant 24h, entraînant une diminution de l'intensité de la tâche caractéristique du produit **III.16** et conduisant à l'augmentation de l'intensité d'une autre tâche

<sup>132</sup> Teruaki Mukaiyama, Yukiko Aikawa, Susumu Kobayashi, *Chem. Lett.*, **1976**, 57–60.

pouvant être celle du sous-produit **III.18** par comparaison avec le premier test réalisé dans les conditions classiques décrite par Mukaiyama.

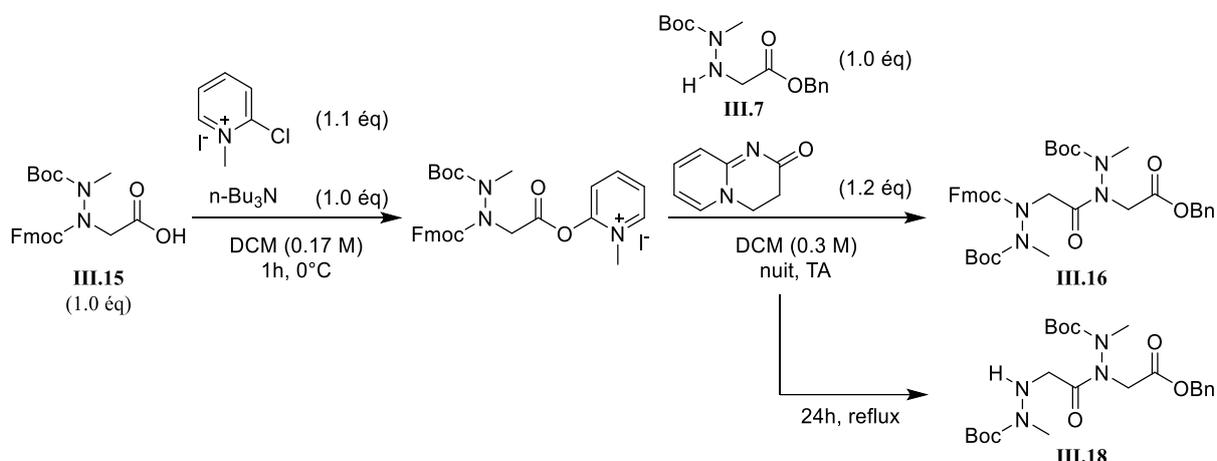


Schéma III-17 Couplage dans les conditions alternatives décrites par Mukaiyama.<sup>132</sup>

#### 2.4.5. Obtention de l'hexamère pour couplage de Mukaiyama

Bien que le couplage de Mukaiyama ne soit pas complètement adapté à l'approche monomère, nous avons souhaité savoir s'il était possible d'obtenir l'hexamère en réalisant un couplage (3+3), puisque notre partenaire acide **III.13** est acétylé et non pas protégé par un groupement Fmoc. L'avantage du couplage de Mukaiyama étant que la réaction est réalisée dans des conditions équimolaires. Pour cela, les deux trimères **III.12** et **III.13** ont été engagé dans la réaction de couplage de Mukaiyama, réalisée avec le iodure de 2-chloro-1-méthylpyridinium (Schéma III-18). Après 5h de réaction, l'analyse LC/MS indique une conversion quasi complète. La réaction est tout de même laissée toute la nuit pour s'assurer de la conversion totale. L'hexamère protégé **III.14** est ainsi obtenu avec un rendement de 71% après purification. Pour finir, les groupements Boc sont retirés, cependant, lors de l'analyse RMN de l'hexamère **III.6**, il a été observé la présence de tributylamine. Le retrait de cette dernière a donc nécessité une seconde purification, conduisant à un rendement de 66% pour l'étape de déprotection, soit un rendement global de 47% pour l'obtention de l'hexamère **III.6**.

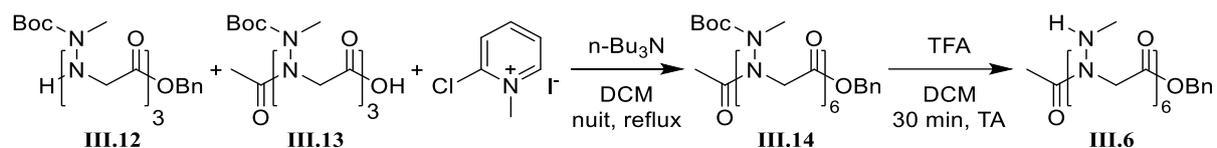


Schéma III-18 Obtention de l'hexamère par couplage de Mukaiyama.

Pour essayer de contourner le problème, des essais ont été réalisés en remplaçant la tributylamine par la triéthylamine, possédant l'avantage d'être une amine volatile, comme cela a déjà été fait dans notre équipe.<sup>133</sup> Une variante avec ajout de DMAP en quantité catalytique a également été réalisée.<sup>134</sup> Cependant, ces essais n'ont pas été concluants puisque une très faible conversion a été observée dans les deux cas.

## 2.5. Essai d'adaptation de l'approche synthétique à la synthèse supportée

Du fait des différents problèmes observés lors de la synthèse en solution, nous avons rapidement souhaité vouloir adapter la méthode de synthèse mise au point vers une approche sur support solide. La mise au point d'une voie de synthèse sur support solide nous permettra de supprimer les problèmes de purification rencontrés lors des étapes de substitutions puisque l'hydrazine en excès sera juste éliminée par filtration de la résine.

Pour cela, il a été nécessaire de réfléchir dans un premier temps à la résine que nous allons utiliser puisque les étapes de substitution se font en présence d'eau. Il est important de noter qu'un des facteurs importants lors de la mise en place d'une synthèse sur support solide est le gonflement de la résine. En effet, au cours de la synthèse, la cinétique de réaction est contrôlée par la diffusion.<sup>135</sup> Par conséquent, une résine qui gonfle plus aura un taux de diffusion plus élevé des réactifs dans le cœur de la matrice, conduisant à des temps de réaction plus courts et de meilleures conversions.<sup>136</sup> Ainsi, notre choix s'est porté vers la résine TentaGel HL (*High Loading* / haute capacité), qui correspond à un bon compromis entre gonflement dans l'eau, le DCM, le DMF et capacité puisqu'elle permet de préparer 0.5 à 0.6 mmol par gramme de résine (**Figure III-4**). Ainsi, nous avons opté pour la résine TentaGel PHB HL Wang, possédant une fonction alcool à l'extrémité et permettant d'obtenir l'acide carboxylique au niveau de l'extrémité C-terminale après décrochage du peptoïde de la résine.

---

<sup>133</sup> Geoffrey Dumonteil, Nicholus Bhattacharjee, Gaetano Angelici, Olivier Roy, Sophie Faure, Laurent Jouffret, Franck Jolibois, Lionel Perrin, Claude Taillefumier, *J. Org. Chem.*, **2018**, 83, 6382–96.

<sup>134</sup> Masato Matsugi, Misaki Suganuma, Shoko Yoshida, Shohei Hasebe, Yoko Kunda, Kotaro Hagihara, Sayaka Oka, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 6573–74.

<sup>135</sup> Johnny N. Naoum, Israel Alshanski, Agata Gitlin-Domagalska, Moshe Bentolila, Chaim Gilon, Mattan Hurevich, *Org. Process Res. Dev.*, **2019**, 23, 2733–39.

<sup>136</sup> Pugh KC, York EJ, Stewart JM, *Int. J. Pept. Protein Res.*, **1992**, 40, 208–13.

resin \ solvent	Water	MeOH	EtOH	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Toluene	DMF	MeCN	THF	Dioxane	Ether	NMP
Polystyrene 1% DVB	--	1.6	1.7	7.5	7.5	4.1	2.0	7.5	7.0	3.5	7.0
TentaGel XV 0.2 - 0.4 mmol/g	3.6	6.2	2.2	18.0	12.6	13.2	8.6	13.4	14.2	2.0	14.4
TentaGel R 0.18 - 0.23 mmol/g	2.9	3.7	1.8	6.8	3.4	5.0	4.5	4.9	5.3	1.9	5.0
TentaGel S 0.25 - 0.3 mmol/g	3.6	3.6	2.9	6.3	4.8	4.7	4.2	5.0	5.4	1.9	4.9
TentaGel HL 0.5 - 0.6 mmol/g	3.1	3.6	3.5	5.7	4.1	4.6	3.9	4.2	4.8	2.4	4.7
HypoGel 200 0.7 - 0.9 mmol/g	1.8	2.8	2.6	7.0	5.1	6.0	3.0	6.5	6.4		
HypoGel 400 0.6 - 0.8 mmol/g	1.8	2.9	2.8	6.9	5.5	5.2	4.6	5.3	5.6	2.6	
TentaPore 0.5 - 1.0 mmol/g	2.8	2.8	3.0	3.8	3.2	3.1					
ScavengePore 0.5- 3.3 mmol/g	2.7	2.3	2.2	4.7	4.2	3.5	2.7	4.1	4.2		

Figure III-4 Gonflement de différentes résines en fonction des solvants.

### 2.5.1. Mise au point des conditions de couplage de l'acide bromoacétique

La résine étant choisie, la première étape a consisté à mettre au point les conditions pour réaliser le couplage de l'acide bromoacétique sur la résine. Pour cela, deux approches ont été envisagées : la première consiste à coupler l'acide bromoacétique à l'aide du couple DIC / Oxyma Pure tandis que la seconde consiste à coupler l'anhydride bromoacétique (**Schéma III-19**). Pour tester cela, nous avons préparé un monomère avec une chaîne latérale benzyle.

Table III-7 Conditions réactionnelles testées

Couplage de l'acide bromoacétique

Couplage de l'anhydride bromoacétique

Acide bromoacétique 3.0 éq  
Oxyma Pure 6.0 éq  
DIC 3.0 éq  
DMF (0.15 M)  
30 min, TA (répété une seconde fois)

Anhydride bromoacétique 12.0 éq  
DIPEA 12.0 éq  
DMF (0.15 M)  
1h, TA

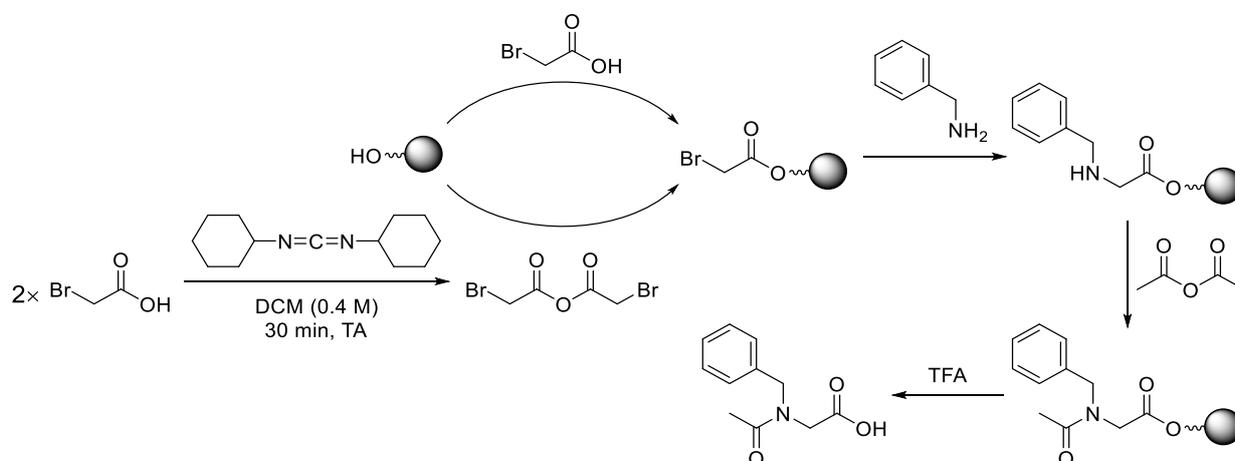


Schéma III-19 Approches envisagées pour le couplage de l'acide bromoacétique.

Les analyses LC/MS révèlent que les deux approches permettent d'obtenir le monomère Ac-NBn-OH avec une pureté similaire. En revanche, l'approche par couplage de l'anhydride permet d'obtenir une masse plus importante de produit. De ce fait, cette approche est choisie par rapport au couplage de l'acide bromoacétique.

### 2.5.2. Mise au point des conditions de substitution

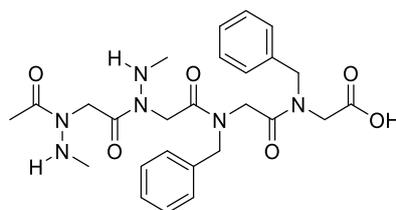
Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à la mise au point des conditions de substitution avec la Boc-méthylhydrazine. Pour cela, nous avons essayé de synthétiser un dimère. En ce qui concerne les conditions réactionnelles, nous avons dans un premier temps tenté la substitution avec 10 équivalents d'hydrazine et 10 équivalents de triéthylamine dans un mélange DMF/H<sub>2</sub>O 1:3 (1 M) pendant 2h sous agitation à 40 °C. Ces conditions ont été utilisées pour les deux étapes de substitution. Malheureusement, l'analyse LC/MS du produit obtenu après clivage indique une absence totale du dimère, indiquant donc un échec de l'étape de substitution. Pour nos nouveaux essais, nous nous sommes intéressés aux travaux de Kodadek qui, lors de son étude de la chaîne azaacycle, a engagé une quantité beaucoup plus importante d'hydrazine à une concentration élevée (60 équivalents à 2.0 M).<sup>86</sup> Nous avons donc réalisé deux nouvelles synthèses de dimère selon des conditions inspirées de Kodadek (**Table III-8**).

**Table III-8** Conditions réactionnelles testées inspirées de celles de Kodadek

<i>Substitution dans les conditions de Kodadek</i>	<i>Substitution dans des conditions alternatives</i>
Hydrazine 60 éq DMF (2.0 M) 1h, 37 °C	Hydrazine 60 éq DMF/H <sub>2</sub> O 1:1 (2.0 M) 1h, 37 °C

Dans les deux cas, l'analyse LC/MS montre que le produit est élué au cours de la première minute d'analyse. De ce fait, afin de voir si le produit est obtenu en grande quantité, une analyse RMN <sup>1</sup>H des bruts est réalisée et les spectres obtenus sont comparés à celui du composé **III.2**. Les analyses indiquent l'absence totale de signaux caractéristique du dimère, indiquant donc que ce dernier a été obtenu seulement à l'état de trace aux cours de ces deux tests.

Pour la suite de la mise au point des conditions, nous avons décidé de réaliser la synthèse d'un tétramère composés de, pour les deux premières unités d'une chaîne benzyle et de notre chaîne méthylamino pour les deux suivantes (**Figure III-5**). La synthèse de ce tétramère permet à la fois de vérifier que les conditions de substitution sont valables et qu'il est possible de former le bromoacétamide sur une extrémité N-terminale composée de la chaîne hydrazine.



Chemical Formula:  $C_{26}H_{34}N_6O_6$   
Exact Mass: 526.2540

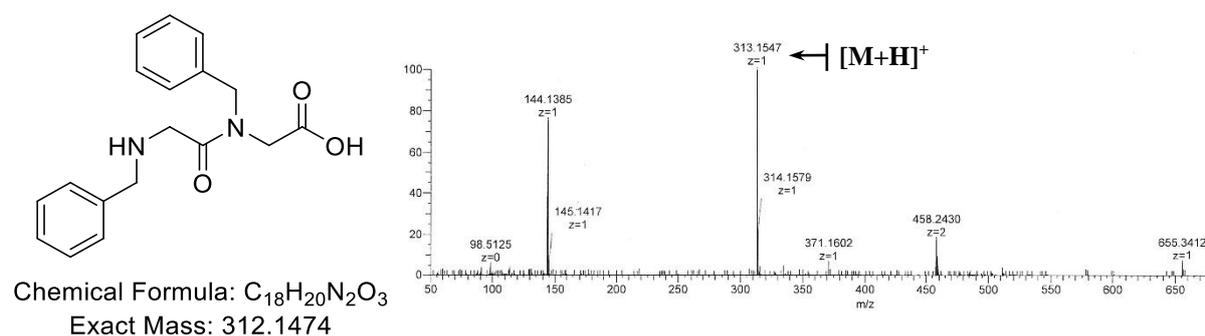
**Figure III-5** Structure du tétramère préparé lors des futures synthèses.

En ce qui concerne les conditions de substitution avec l'hydrazine, nous avons réalisé 4 tests afin d'évaluer 4 solvants : DMF, DMF/H<sub>2</sub>O 1:1, iPrOH et iPrOH/H<sub>2</sub>O 1:1. Nous avons également allongé le temps de réaction à 24h avec un chauffage à 60 °C.

**Table III-9** Conditions testées pour la substitution de l'hydrazine

Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4
Hydrazine 60 éq DMF/H <sub>2</sub> O 1:1 (2.0 M) 24h, 60 °C	Hydrazine 60 éq DMF (2.0 M) 24h, 60 °C	Hydrazine 60 éq iPrOH/H <sub>2</sub> O 1:1 (2.0 M) 24h, 60 °C	Hydrazine 60 éq iPrOH (2.0 M) 24h, 60 °C

Après clivage, les huiles obtenues sont analysées par LC/MS et les spectres obtenus sont très similaires et indiquent une absence totale du produit. En revanche, il a été possible d'observer le dimère avec les deux groupements benzyle (**Figure III-6**). Il est surprenant de ne pas trouver le même dimère mais acétylé, indiquant donc un potentiel problème avec les conditions d'acétylation. Nous nous sommes d'abord concentrés sur la mise au point des conditions de substitution avant de nous intéresser à l'acétylation.



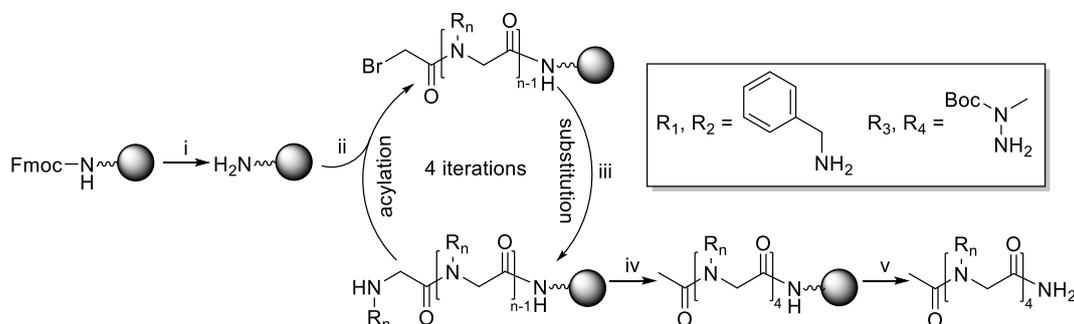
**Figure III-6** Dimère obtenu après les essais de synthèses de tétramère et analyse HRMS.

Malgré de nombreuses tentatives, il semble impossible de parvenir à réaliser l'étape de substitution avec l'hydrazine. Ainsi, nous avons émis l'hypothèse qu'il pouvait s'agir d'un problème lié à la résine, qui pourrait être soit incompatible avec les conditions réactionnelles, soit trop vieille et donc dégradée au fil des années.

### 2.5.3. Essais de synthèse sur la résine Fmoc-Rink amide MBHA

Nous avons donc voulu voir si le même problème était observé avec la résine Rink amide MBHA, très couramment utilisée en synthèse supportée mais qui conduit à l'obtention d'une fonction amide au lieu d'un acide carboxylique au niveau de l'extrémité C-terminale.

Pour ce nouvel essai, nous avons réalisé la synthèse du tétramère Ac-NNMe-NNMe-NBn-NBn-NH<sub>2</sub>. Pour cela, nous avons légèrement modifié les conditions d'acylation en augmentant la concentration de la solution d'anhydride bromoacétique à 0.5 M et en réalisant la réaction à 50 °C. De plus, pour les étapes d'acylation sur l'hydrazine, la réaction est réalisée 3 fois pendant une heure à 60 °C, comme indiqué par Del Valle dans ses travaux avec le *tert*-butylcarbazate<sup>126</sup> (Schéma III-20). Par soucis d'économie, le nombre d'équivalents d'hydrazine a été abaissé à 30, au lieu de 60 précédemment, pour l'étape de substitution. Une fois la synthèse réalisée, le produit est analysé par LC/MS et cette fois-ci, le spectre indique la présence de différents composés, dont le tétramère attendu. En plus de ce dernier, nous observons la présence du tétramère non acétylé ainsi que du trimère sous la forme acétylé et libre. Cela nous permet donc de constater que la synthèse semble réalisable mais qu'il est encore nécessaire d'optimiser les conditions.



**Schéma III-20** Conditions réactionnelles : **i**) 50% v/v pipéridine, DMF, 2x15 min 50 °C ; **ii**) Anhydride bromoacétique (12.0 éq), DIPEA (12.0 éq), DMF (0.5 M), 1h à 50 °C (répétée 2 fois lorsque réalisé sur une hydrazine) ; **iii**) R<sub>n</sub>-NH<sub>2</sub> (20.0 éq pour R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> et 30.0 éq pour R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>), DMF (2 M), 1h à 50 °C pour R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> et 24h à 60 °C pour R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> ; **iv**) Anhydride acétique (20.0 éq), DIPEA (12.0 éq), DMF (1 M), 1h30 à TA ; **v**) TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS 96/2/2, 1h à TA.

Avant de nous intéresser au problème de l'étape d'acétylation, nous avons souhaité optimiser les conditions d'acylation sur l'hydrazine. Pour cela, nous avons ajouté au mélange réactionnel de la DMAP, possédant un pouvoir catalytique important pour les réactions d'acylation.<sup>137</sup> Ainsi, pour ce nouvel essai, nous avons ajouté 0.1 éq. de DMAP avec

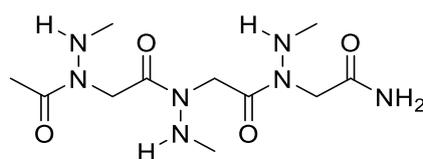
<sup>137</sup> Gerhard Höfle, Wolfgang Steglich, Helmut Vorbrüggen, *Angew. Chemie Int. Ed. English*, **1978**, *17*, 569–83.

l'anhydride bromoacétique. Le reste des conditions indiquées dans le **Schéma III-20** restent inchangées. Ainsi, il a été possible d'observer la quasi-disparition du trimère, confirmant l'influence de la DMAP. Cependant, nous observons toujours la présence du tétramère libre, indiquant donc la nécessité d'optimiser les conditions d'acétylation (**Table III-10**).

**Table III-10** Conditions testées pour l'étape d'acétylation

<i>Anciennes conditions d'acétylation</i>	<i>Nouvelles conditions d'acétylation</i>
Anhydride bromoacétique 12.0 éq DIPEA 12.0 éq DMF (0.15 M) 1h, TA	Anhydride bromoacétique 12.0 éq DIPEA 12.0 éq DMAP 0.1 éq DMF (0.15 M) 1h, TA

Souhaitant toujours parvenir à réaliser la synthèse avec la résine Wang, nous avons réalisé un test avec les conditions mises au point sur la Rink amide MBHA mais aucune trace de tétramère n'a été observée. De ce fait, nous avons continué notre étude avec la résine Rink amide MBHA et nous avons donc réalisé la synthèse d'un trimère avec uniquement la chaîne méthylamino (**Figure III-7**). Comme pour toutes les autres synthèses, l'huile obtenue après traitement par le TFA est analysée par LC/MS et le spectre obtenu indique la présence du trimère dans le pic d'injection. Malheureusement, en sortant aussi tôt, il est difficile de quantifier la quantité de trimère obtenu puisque plusieurs produits sont élués en début d'analyse. Cependant, le spectre de spectrométrie de masse semble indiquer que le trimère n'est pas majoritaire dans ce pic d'injection.



Chemical Formula: C<sub>11</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>  
Exact Mass: 317.1812

**Figure III-7** structure du trimère synthétisé sur la résine Rink amine MBHA

Bien qu'il semble possible de mettre au point une voie de synthèse sur support solide avec d'autres conditions d'analyse LC/MS ou bien par la réalisation d'analyses RMN, nous avons décidé de mettre de côté le développement de cette approche afin de nous concentrer sur l'analyse conformationnelle des oligomères obtenus en solution.

### 3. Étude conformationnelle

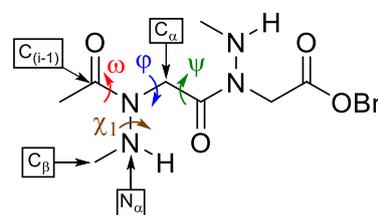
L'étude conformationnelle de nos oligomères a consisté à déterminer, par analyse RMN 1D et 2D, les différents conformères observés et déterminer leurs proportions. Ajouté à cela, une structure haute résolution a été obtenue par diffraction des rayons X ainsi que des images de microscopie électronique en transmission mettant en évidence un auto-assemblage d'un de nos composés.

#### 3.1. Diffraction des rayons X

Après de nombreux essais de recristallisation, nous sommes parvenus à obtenir des cristaux du dimère **III.2** par évaporation lente de chloroforme (**Figure III-8**). La structure cristalline obtenue confirme la géométrie *trans* des deux liaisons amides. La maille contient huit molécules, dont deux groupes de quatre molécules identiques, la conformation du premier groupe (Conformation A ; **Figure III-8 c**) étant l'image miroir de celle observée pour le second groupe de molécules (Conformation B ; **Figure III-8 c**). La structure cristallographique est caractérisée par les angles dièdres ( $\omega$ ,  $\varphi$ ,  $\psi$ ,  $\chi_1$ ) définis de la manière suivante :  $\omega$  [ $C_{\alpha(i-1)}$  ;  $C_{(i-1)}$  ; N ;  $C_{\alpha}$ ] ;  $\varphi$  [ $C_{(i-1)}$  ; N ;  $C_{\alpha}$  ; C] ;  $\psi$  [N ;  $C_{\alpha}$  ; C ;  $N_{(i+1)}$ ]. De plus, l'angle  $\chi_1$  caractérise l'angle de la chaîne latérale et est défini par [ $C_{(i-1)}$  ; N ;  $N_{\alpha}$  ;  $C_{\beta}$ ]. Les valeurs obtenues dans le cristal sont rassemblées dans la **Table III-11**. De plus, nous avons observé que dans le cristal, chaque molécule réalise 4 liaisons hydrogène intermoléculaires CO---HN. En ce qui concerne le groupement accepteur, seul le carbonyle inter-résidu contribue (atome d'oxygène noté O2 dans la **Figure III-8 c**). Il établit deux liaisons hydrogène avec deux molécules différentes et des groupes NH différents (notés H10 et H11, **Figure III-8 c**).

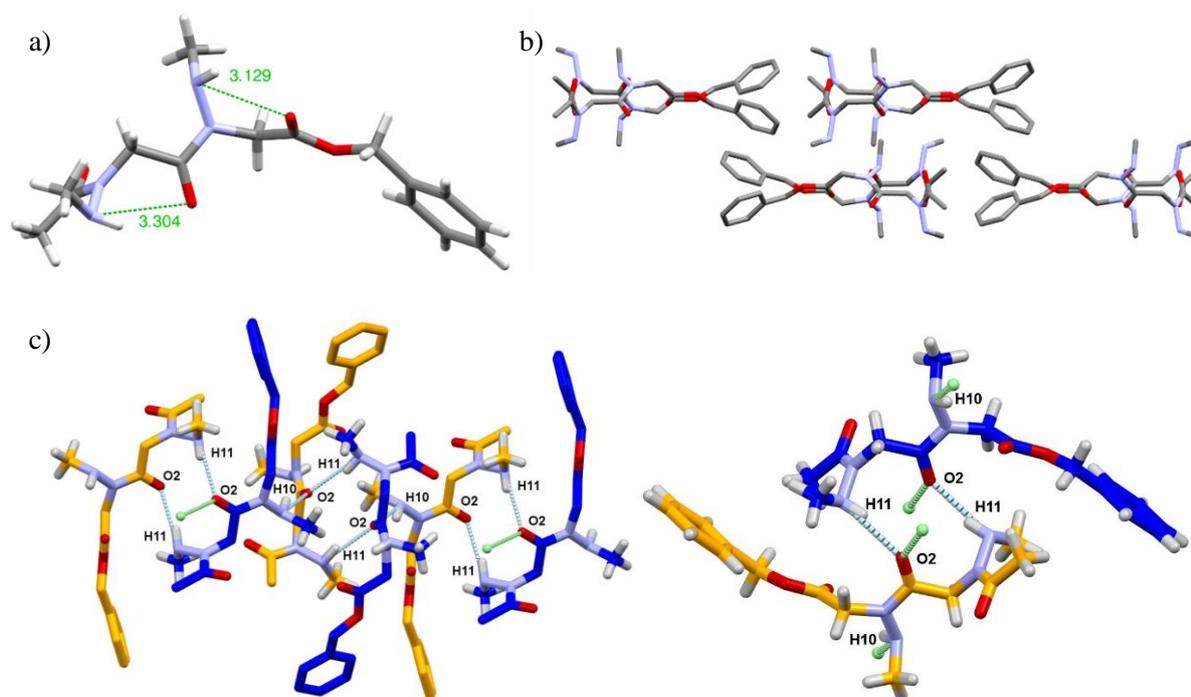
**Table III-11** Valeurs des angles dièdres calculés à partir de la structure cristalline

	résidu	$\omega$ (°)	$\varphi$ (°)	$\psi$ (°)	$\chi_1$ (°)
Conformation A	1	-176.5	-87.7	166.7	-111.6
	2	-173.7	-103.3	167.1	-116.1
Conformation B	1	176.5	87.7	-166.7	111.6
	2	173.7	103.3	-167.1	116.1



Concernant les valeurs obtenues avec notre dimère **III.2**, les angles  $\varphi$  et  $\psi$  possèdent des valeurs comparables à celles mesurées par diffraction des rayons X avec les monomères portant la chaîne benzylamino<sup>123</sup> et également avec les dimères *N*-aryl<sup>108</sup> et *N*-hydroxy<sup>84</sup>. De plus, le dernier dimère possède des valeurs d'angles  $\varphi$  de signes opposés, conduisant à l'obtention d'une

structure secondaire unique sous forme de feuillet.<sup>84</sup> Par modélisation moléculaire, il a été également possible d'observer que des homooligomères utilisant la chaîne *N*-aryl avec l'ensemble des monomères dans la même conformation, comme c'est le cas avec le dimère **III.2**, pourraient adopter une structuration en hélices droites ou gauches similaires à l'hélice de type polyproline II. De plus, les angles  $\chi_1$  ont pour valeurs  $-111,6^\circ$  et  $-116,1^\circ$ , respectivement pour les résidus 1 et 2 de la conformation A, indiquant une position du groupement méthyle presque à la perpendiculaire du plan du squelette. Cette valeur de  $\chi_1$  se trouve dans la gamme des valeurs observées par cristallographie pour les unités *N*-aryl glycine,<sup>108</sup> et avec le même signe que l'angle  $\phi$ . Il en résulte une bonne orientation des groupes NH et CO du même résidu pour établir une liaison H intramoléculaire, bien que les distances N...O de 3,13 et 3,30 Å soient légèrement supérieures aux seuils acceptés.

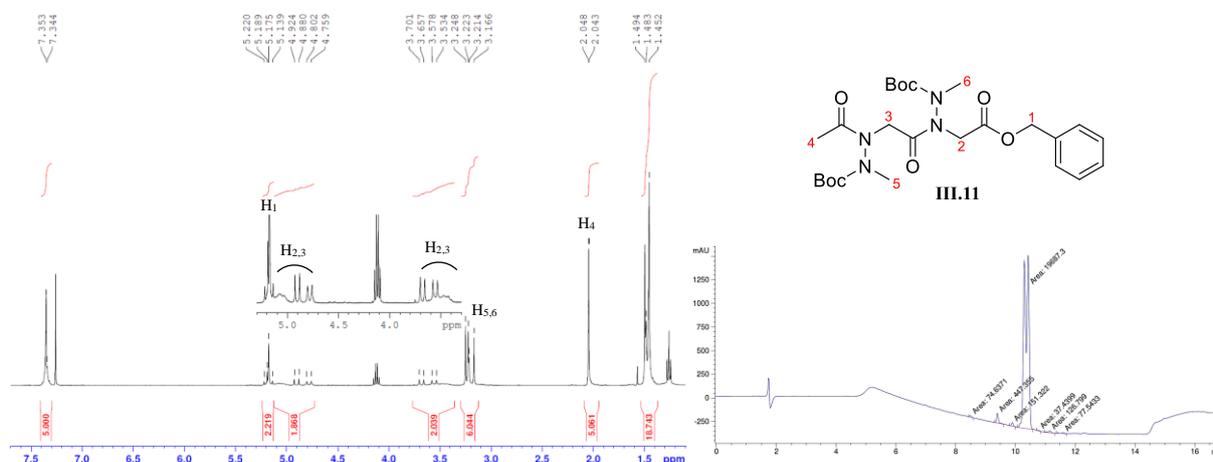


**Figure III-8** Structure cristalline du dimère **III.2** : **a)** molécule seule et **b)** maille (les atomes d'hydrogènes sont retirés par soucis de clarté). **c)** Aperçu du réseau de liaisons hydrogène (conformation A représentée en bleu, conformation B en orange), liaisons hydrogène (lignes pointillées bleu clair et vert clair)

### 3.2. Étude conformationnelle RMN

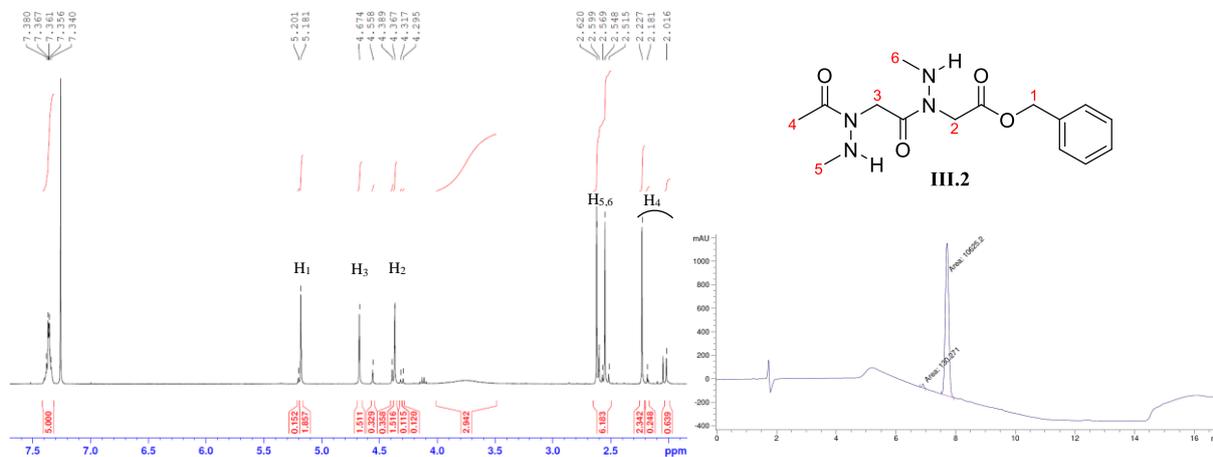
Au cours de nos synthèses, nous avons observé un phénomène un peu particulier lors des analyses RMN ainsi qu'en LC/MS. En effet, lorsque le peptoïde est protégé par les groupements Boc, nous observons un dédoublement de l'ensemble des signaux. Ce phénomène est notamment le plus visible dans la zone correspondant aux groupements méthylène du squelette

(3.3-5.3 ppm). De plus, lors de l'analyse LC/MS, nous observons la présence de plusieurs pics correspondant au peptotide synthétisé (**Figure III-9**). Étonnamment, le nombre de pics obtenus en LC/MS ou HPLC correspond au nombre d'unités présentes dans le peptoides.



**Figure III-9** Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et courbe HPLC du dimère protégé **III.11**

En revanche, une fois la déprotection des groupements Boc réalisée, ce phénomène disparaît et nous obtenons les signaux attendus pour nos peptoides en RMN  $^1\text{H}$  ainsi qu'un seul pic en LC/MS (**Figure III-10**).

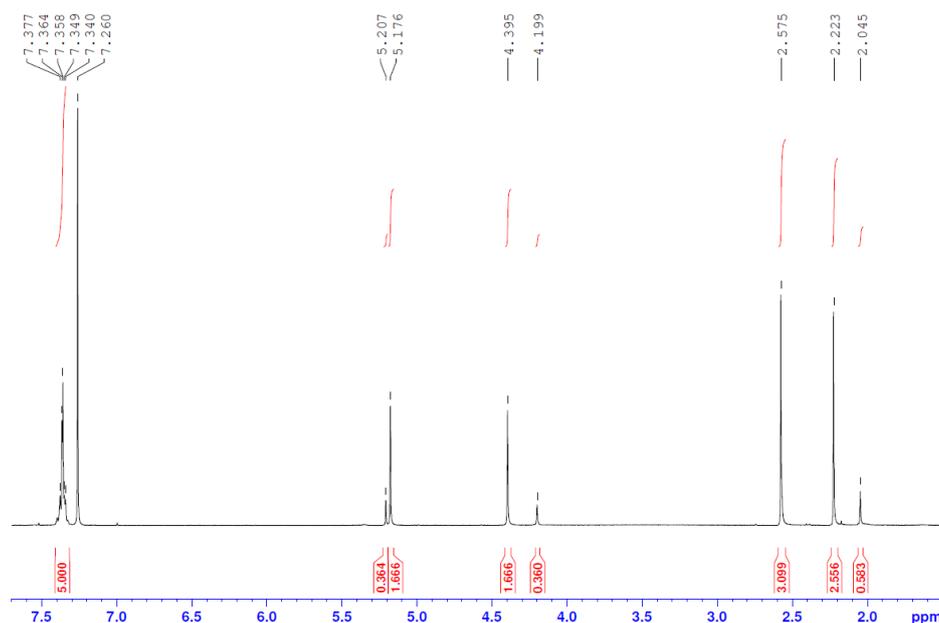


**Figure III-10** Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et courbe HPLC du dimère déprotégé **III.2**

Nous pensons que ce phénomène peut être dû à l'encombrement du groupement Boc qui restreint la rotation de la liaison N-N ou à l'isomérisation *cis/trans* des fonctions carbazates, entraînant l'obtention de rotamères, ce qui pourrait expliquer le dédoublement des signaux en RMN. Cependant, cette explication ne nous permet pas d'expliquer complètement l'obtention en LC/MS ou HPLC d'un nombre de pics correspondant au nombre d'unités présentes sur le squelette.

Concernant les composés finaux, l'ensemble des peptoïdes synthétisés ont été analysés et caractérisés par RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC ainsi que  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC à l'exception de l'hexamère **III.6** qui n'a pas été analysé par RMN  $^{13}\text{C}$  du fait de la faible quantité obtenue.

Lors de l'analyse RMN  $^1\text{H}$  du monomère **III.1**, nous avons observé la présence de deux ensembles de résonance (**Figure III-11**). N'ayant pas de références concernant l'influence de l'hydrazine sur le squelette peptoïde et donc sur les signaux observés en RMN, nous avons réalisé une analyse 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY afin de confirmer la structure des deux conformères.



**Figure III-11** Spectre RMN  $^1\text{H}$  du monomère **III.1** montrant la présence de deux ensembles de résonance ( $\text{CDCl}_3$ , 8 mM)

Ainsi, l'analyse NOESY du monomère **III.1** nous a permis d'identifier les deux conformères comme étant les rotamères *cis* et *trans* de la fonction amide du squelette (**Figure III-12**). Plus précisément, dans le  $\text{DMSO-}d_6$ , le rotamère prédominant est caractérisé par une tâche de corrélation entre l'acétamide *N*-terminal ( $\text{H}_3$ ) et le groupement méthyle de la chaîne latérale ( $\text{H}_4$ ), indiquant une géométrie *trans* de la liaison amide. Une corrélation entre le groupement méthylène du squelette ( $\text{H}_2$ ) et le groupement méthyle de la chaîne latérale ( $\text{H}_4$ ) est également observé dans ce rotamère *trans*, indiquant par la même occasion que le groupement méthyle de la chaîne latérale se retrouve dans une position presque perpendiculaire au plan du squelette. Cette dernière est également observée avec le conformère minoritaire *cis* mais avec une intensité très moindre. De plus, nous observons une absence totale de tâche de corrélation entre l'acétamide terminal ( $\text{H}_3$ ) et le groupement méthylène du squelette ( $\text{H}_2$ ), confirmant la non-conformation *cis* de la liaison amide. En revanche, cette corrélation  $\text{H}_2$ - $\text{H}_3$  est bien présente

pour le deuxième ensemble de résonances, indiquant bien la présence d'une liaison amide *cis*. De façon similaire, les mêmes corrélations ont été observées lors de l'analyse NOESY du dimère **III.2** et du trimère **III.3**, confirmant que la conformation majoritaire observée correspond à celle où l'ensemble des fonctions amides sont *trans* (Figure III-13).

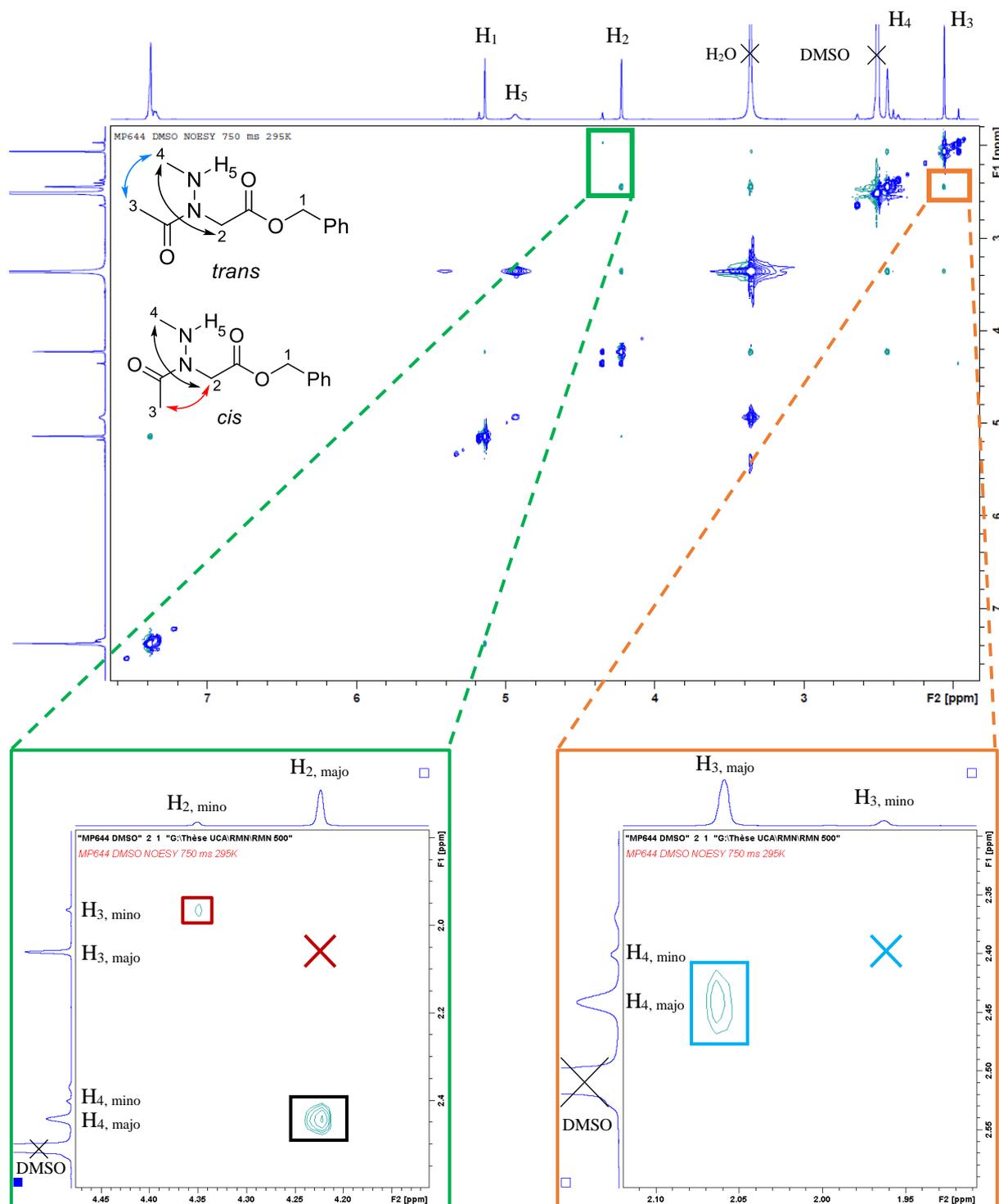
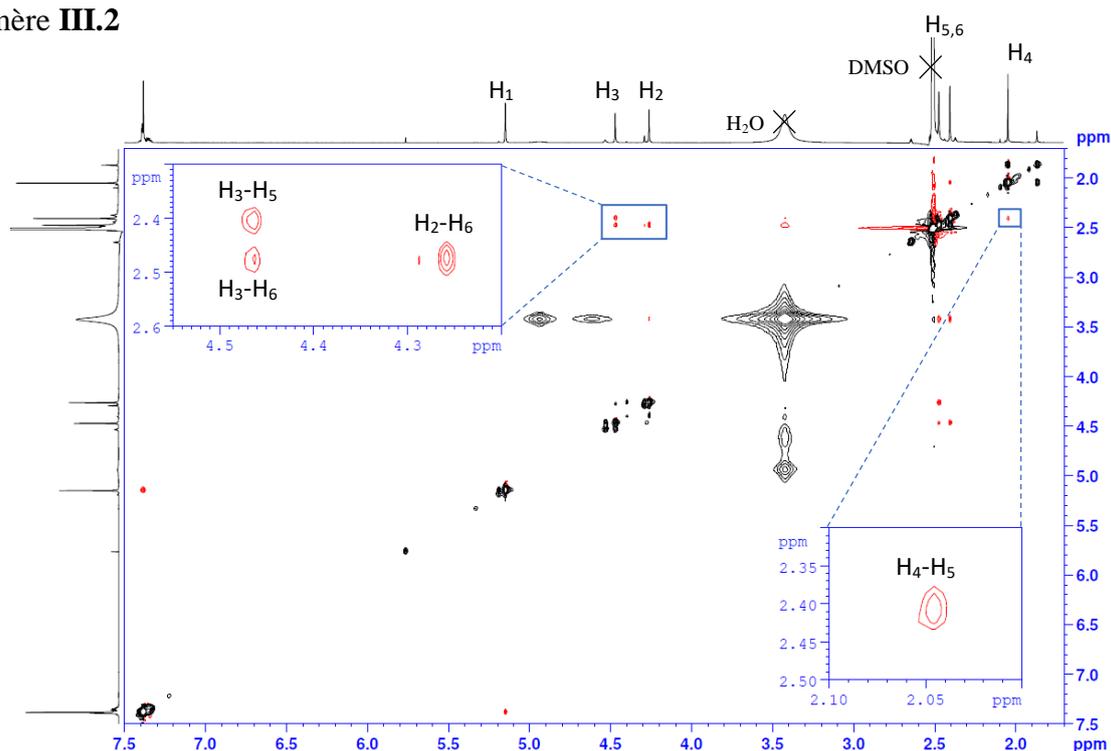
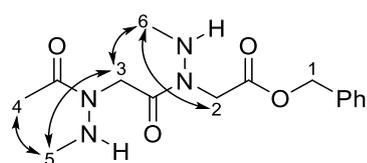
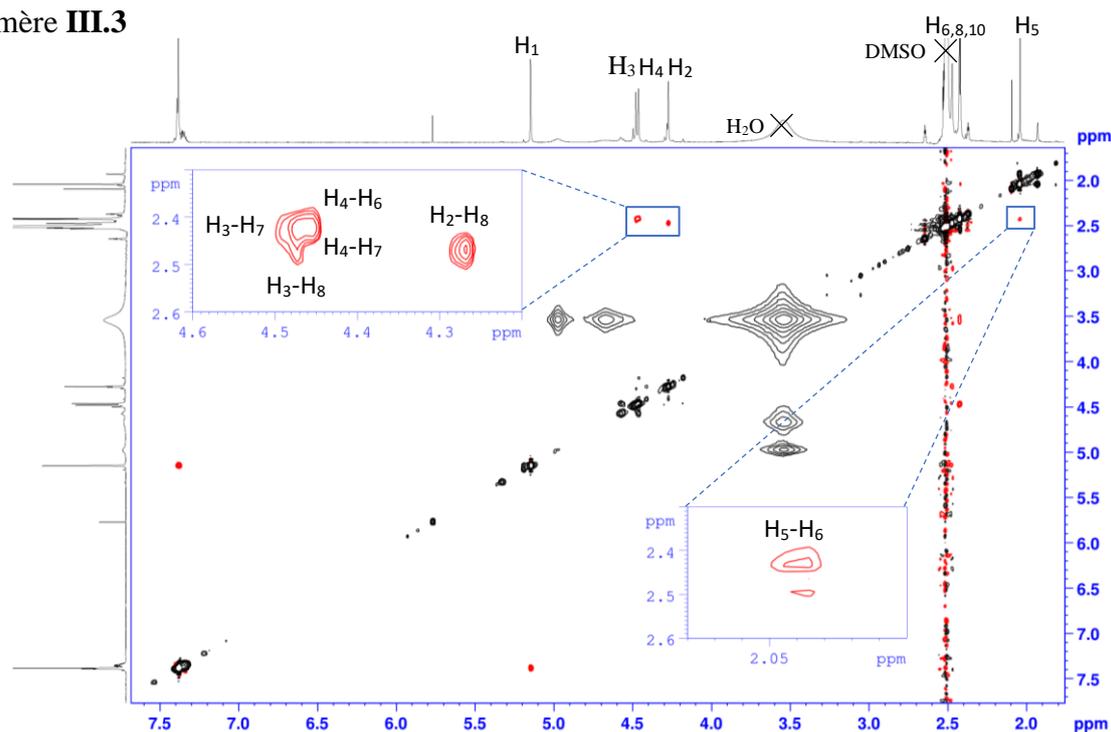


Figure III-12 Spectre 2D NOESY du monomère **III.1** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 8.3 mM) et agrandissements des zones d'intérêts.

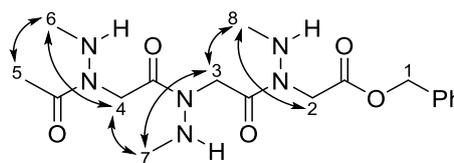
Dimère **III.2**



Trimère **III.3**



Dimère **III.2** - *trans-trans*



Trimère **III.3** - *trans-trans-trans*

Figure III-13 Spectres 2D NOESY du dimère **III.2** et du trimère **III.3** (DMSO- $d_6$ , 8 mM) et représentations des corrélations observées

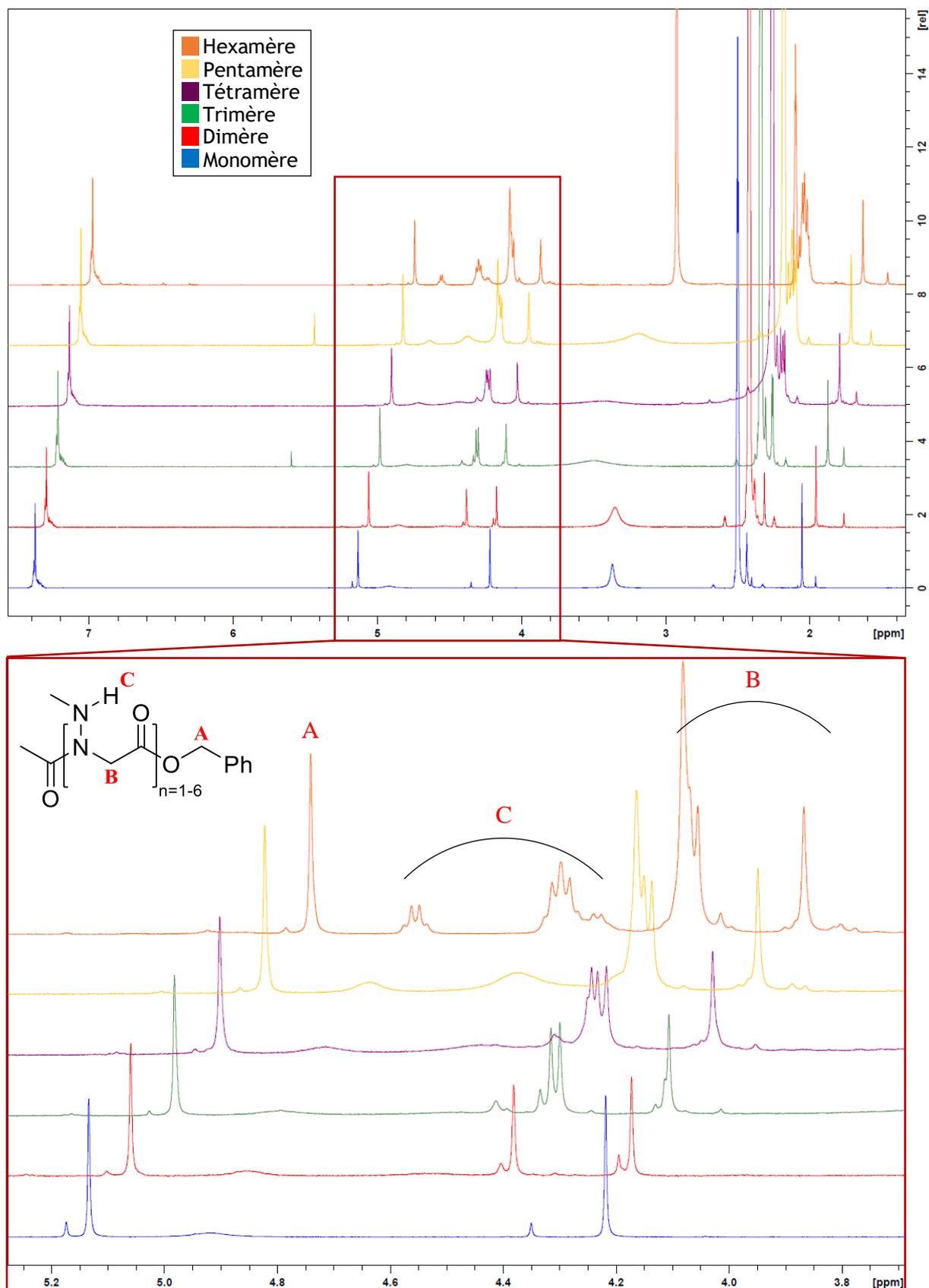
Nous avons ensuite calculé la constante  $K_{cis/trans}$  du monomère **III.1** et du dimère **III.2** dans plusieurs solvants :  $CDCl_3$ ,  $CD_3CN$ ,  $C_6D_6$ ,  $CD_3OD$ ,  $D_2O$ , et  $DMSO-d_6$ . Pour cela, nous avons calculé la moyenne des intégrations des signaux interprétables. Ainsi, jusqu'à 4 signaux ont été moyennés pour la détermination du rapport *cis/trans*. Pour le monomère **III.1**, nous avons ainsi calculé des proportions allant de 75:25 à 90:10 en faveur du conformère *trans* (**Table III-12**).

**Table III-12** Proportions moyennes de rotamères *trans* (% *trans*) et valeurs  $K_{cis/trans}$  pour les composés **III.1** et **III.2**, calculées à partir de l'intégration des spectres RMN  $^1H$  dans divers solvants (8 mM).

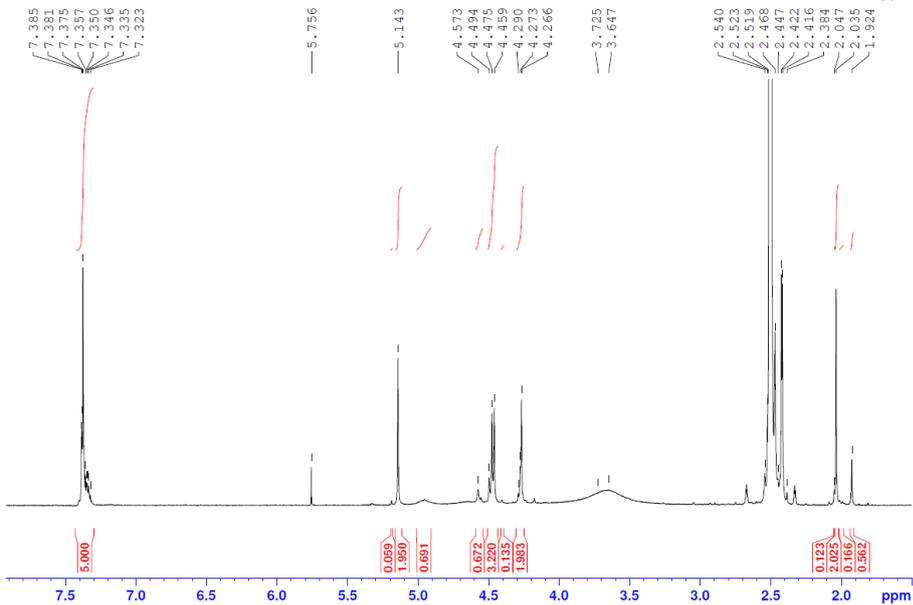
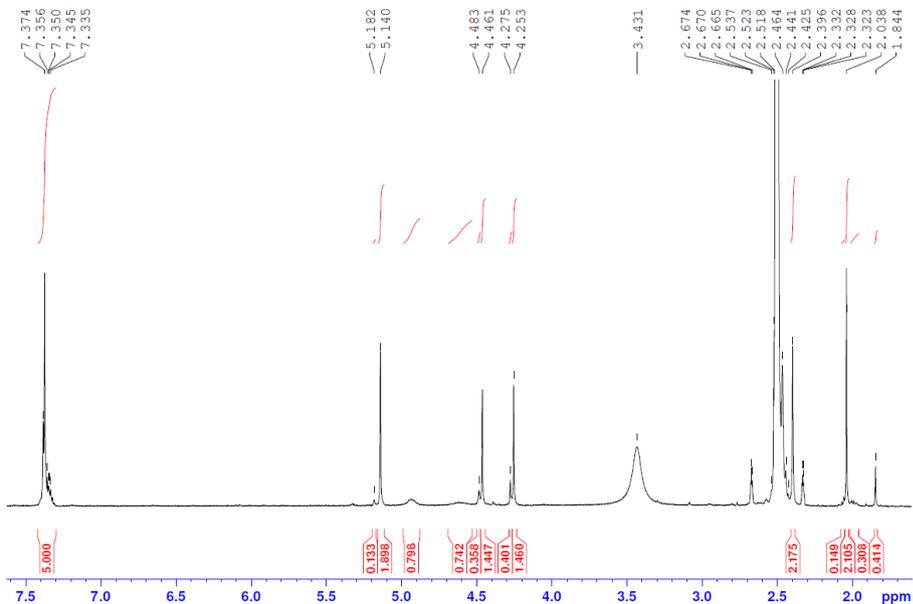
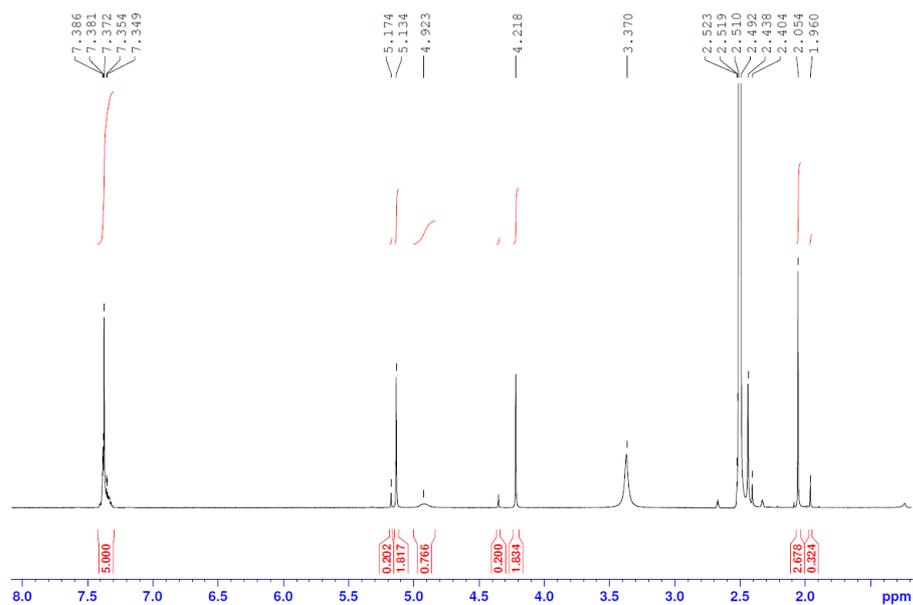
	$CDCl_3$		$C_6D_6$		$(CD_3)_2SO$		$CD_3CN$		$CD_3OD$		$D_2O$	
	% <i>trans</i>	$K_{cis/trans}$										
<b>III.1</b>	82	0.22 <sup>b</sup>	84	0.18 <sup>b</sup>	90	0.11 <sup>b</sup>	85	0.17 <sup>c</sup>	89	0.13 <sup>b</sup>	75	0.34 <sup>a</sup>
<b>III.2</b>	77	0.31 <sup>b</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	79	0.26 <sup>b</sup>	78	0.29 <sup>b</sup>	75	0.33 <sup>b</sup>	61	0.63 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> calculé en faisant la moyenne des intégrations de 4 signaux du spectre RMN. <sup>b</sup> calculé en faisant la moyenne des intégrations de 3 signaux du spectre RMN. <sup>c</sup> calculé en faisant la moyenne des intégrations de 2 signaux du spectre RMN. <sup>d</sup> non mesurable.

Lors des analyses protons, nous avons également observé que les deux fonctions amides du dimère **III.2** ont approximativement le même rapport *cis/trans* dans le chloroforme ( $CDCl_3$ ), l'acétonitrile ( $CD_3CN$ ), le  $DMSO-d_6$  et le méthanol ( $CD_3OD$ ). Cela suggère qu'il peut en être de même pour les oligomères plus longs. À mesure que l'oligomère s'allonge, des épaulements représentant différents rotamères en petites proportions apparaissent dans les spectres RMN, mais un isomère reste présent de manière prédominante (**Figure III-14**). Plus spécifiquement, dans le cas du trimère **III.3**, du tétramère **III.4**, du pentamère **III.5** et de l'hexamère **III.6**, nous avons pu, par exemple, établir que le rotamère majoritaire est présent respectivement à 70%, 84%, 80% et 86% dans le  $DMSO-d_6$ , sur la base de l'intégration des signaux des différents groupements méthylène du squelette. Globalement, le  $DMSO$  semble être le solvant le plus structurant pour ces oligomères, suivi de très près par le méthanol et l'acétonitrile (**Figure III-15**).



**Figure III-14** Superposition des spectres RMN 1H à 400 MHz du monomère à l'hexamère et zoom de la zone 3.7-5.3 ppm. 8 mM dans le DMSO-*d*<sub>6</sub> sauf pour l'hexamère (15 mM).



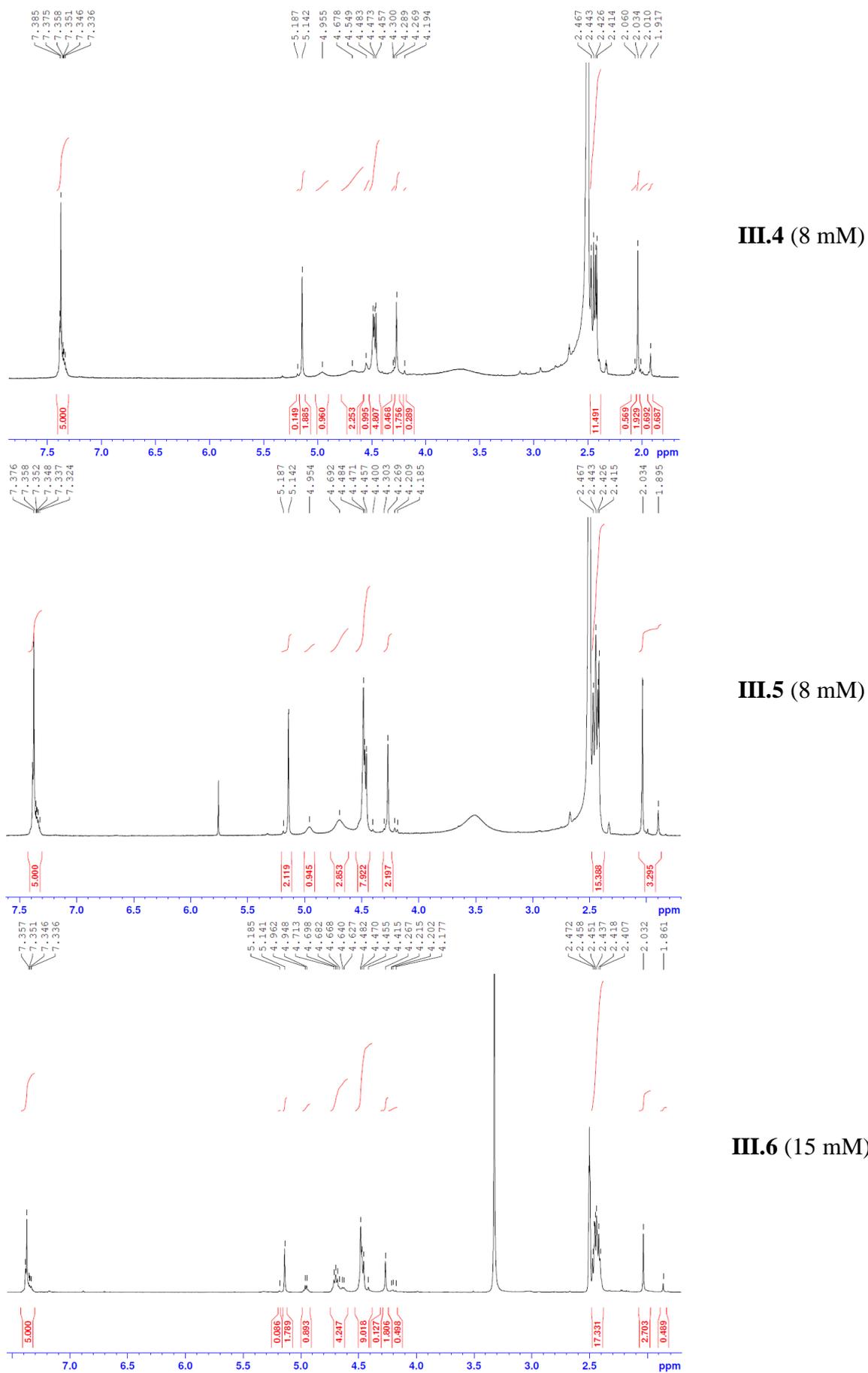
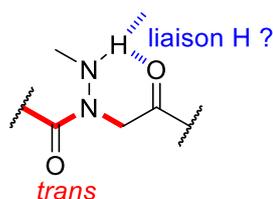


Figure III-15 Spectres RMN  $^1\text{H}$  des composés III.1 à III.6 dans le  $\text{DMSO-}d_6$ .

Avec ces analyses, nous avons la confirmation que les oligomères *N*-méthylaminoglycine conduisent à l'obtention de fonctions amides *trans*. Cette preuve est arrivée en même temps que la publication des travaux de l'équipe de C. Proulx. Dans ces travaux est décrit le développement d'une méthode de synthèse « submonomère » sur support solide d'oligomères utilisant une chaîne latérale introduites par des hydrazones. Ces hydrazones peuvent ensuite être réduites en hydrazine, conduisant donc à une chaîne similaire à la nôtre.<sup>123</sup> Au cours de cette étude, Proulx a notamment réalisé une étude en concentration afin d'étudier l'influence sur la position du signal correspondant au N-H de la chaîne latérale. Nous avons donc souhaité réaliser cette étude en concentration avec notre chaîne latérale afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux obtenus par l'équipe de Proulx. De plus, l'étude des groupements N-H nous permet également de savoir si ces derniers sont impliqués dans la structuration de nos peptoides par la formation de liaisons hydrogène inter- ou intramoléculaire. En effet, la structure de nos peptoides suggère une possibilité de liaison hydrogène entre la chaîne latérale est les carbonyles du squelette.

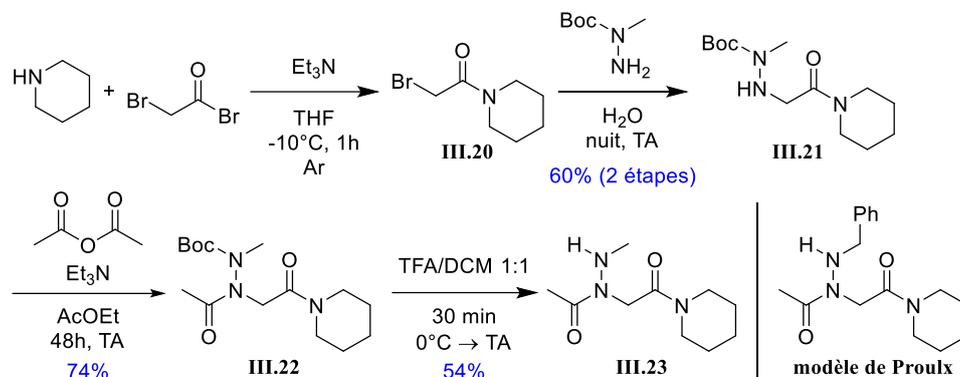


**Figure III-16** Positions des éventuelles liaisons hydrogène inter- ou intramoléculaire

Dans le cadre de nos peptoides, les groupements N-H présentent des signaux larges à température ambiante dans le CDCl<sub>3</sub>. Ceci est probablement dû à un échange de protons entre les différents groupements N-H dans les solvants faiblement polaires ou à des échanges entre les protons N-H et les protons H<sub>2</sub>O qui peuvent être présents en faible quantité dans nos solvant RMN. Dans les solvants aprotiques faiblement polaires comme le chloroforme (CDCl<sub>3</sub>), l'élargissement du signal peut également être dû à une interaction intermoléculaire. Le déplacement chimique des protons donneurs (D-H) impliqués dans les liaisons hydrogène intermoléculaires est généralement très sensible au changement de concentration, expliquant donc l'intérêt de l'étude en concentration.

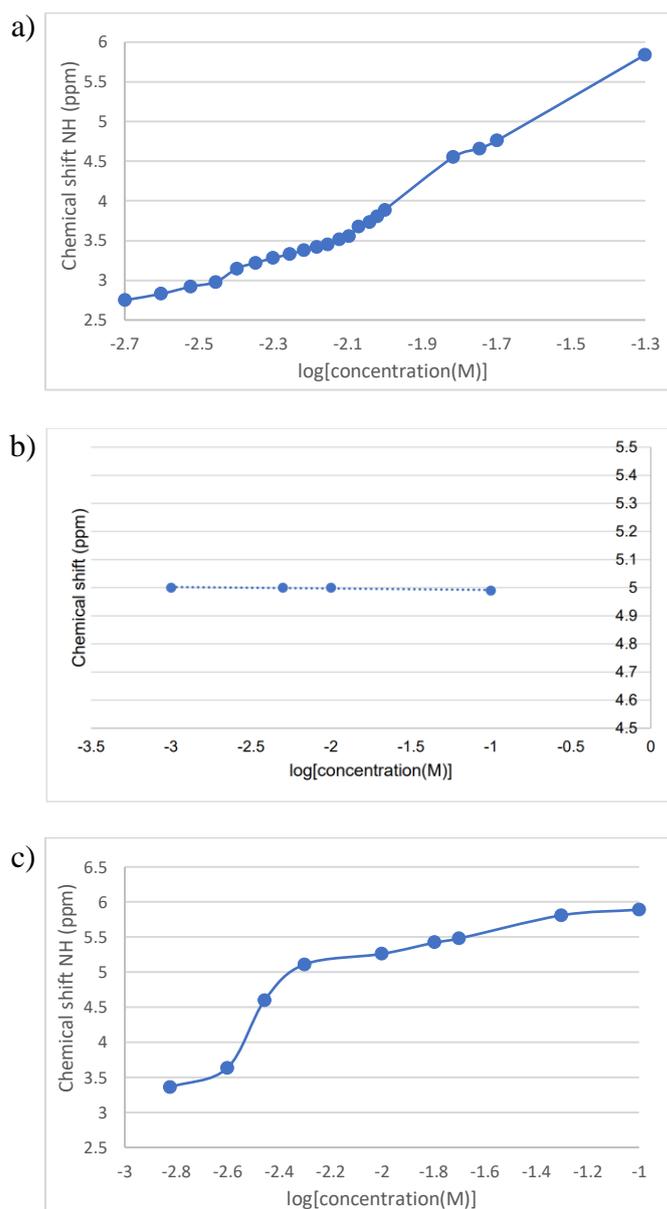
Afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux de Proulx, nous avons synthétisé un monomère similaire à celui utilisé par cette dernière. Il s'agit d'un monomère possédant un pipéridinyl-amide à l'extrémité C-terminale en remplacement de l'ester de benzyle.<sup>123</sup> Pour synthétiser ce monomère (**Schéma III-21**), la fonction amide C-terminal est obtenu par réaction

de la pipéridine avec le bromure de bromoacétyle (composé **III.20**). À la suite de cela, la chaîne latérale est introduite par substitution dans les conditions développées au cours de ce chapitre (composé **III.21**), avant d'être acétylé (composé **III.22**) puis déprotégé (composé **III.23**).



**Schéma III-21** Approche synthétique pour obtenir le monomère **III.23** et structure du modèle de Proulx.<sup>123</sup>

La position du signal du groupement NH de notre monomère a donc été évalué dans une gamme de concentration allant de 50 mM à 2 mM dans le chloroforme ( $\text{CDCl}_3$ ). Le graphe obtenu (**Figure III-17**) indique une importante variation du déplacement chimique du signal NH dans le cas de notre monomère, tandis que celui de Proulx n'entraîne qu'une variation de  $\Delta\delta = 0.01$  ppm sur une gamme allant de 100 mM à 1 mM. Une autre différence dans l'étude réalisée par Proulx est que le signal caractéristique du NH est, dans le chloroforme, un singulet fin, contrairement à notre monomère qui possède un signal large dans ce même solvant. Tout cela tend à conclure que le monomère de Proulx possède une liaison hydrogène intramoléculaire. Pour notre monomère (composé **III.23**), l'augmentation du déplacement chimique du groupement N-H avec la concentration est en accord avec la formation de liaisons hydrogène intermoléculaires. Le même comportement a été observé lors de l'étude en concentration du trimère **III.3**, conduisant à une variation de  $\Delta\delta = 2.61$  ppm sur une gamme allant de 100 mM à 1 mM, suggérant donc également la formation de liaisons intermoléculaires, probablement favorisées par le faible encombrement stérique de la chaîne latérale. Ce phénomène d'interactions intermoléculaire a notamment été observé avec les oligomères *N*-hydroxyglycine, qui ont même conduit à la découverte d'une structuration de ces peptoïdes en feuillets.<sup>84</sup> Dans le DMSO, en revanche, nous observons des signaux NH beaucoup mieux résolus, notamment à concentration élevée, ce qui est cohérent avec le fait que ce solvant possède de fortes capacités de liaison hydrogène et de solvation qui réduisent considérablement les échanges de protons.

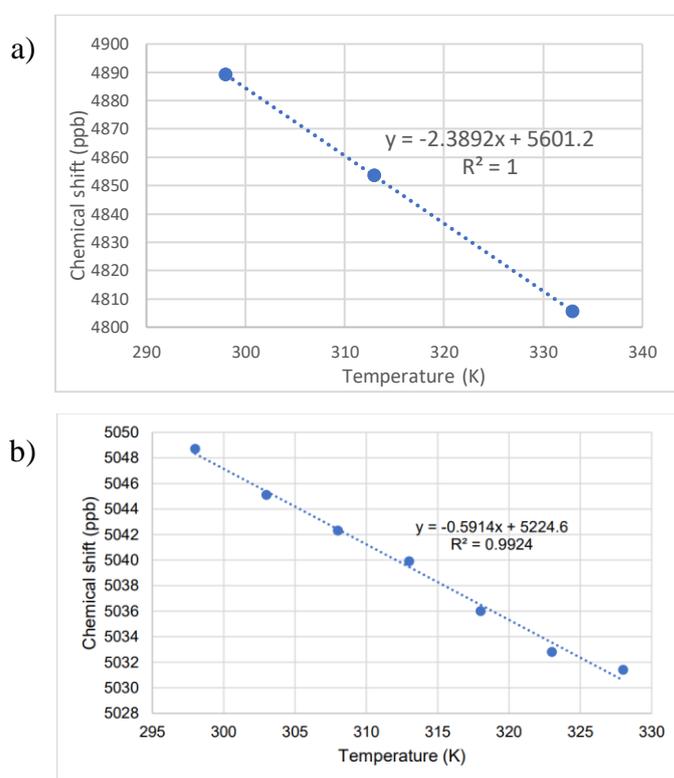


**Figure III-17** Étude en concentration dans le chloroforme (CDCl<sub>3</sub>) a) de notre monomère **III.23**, b) de celui de l'équipe de Proulx<sup>123</sup> et c) du trimère **III.3**.

En plus de cette étude en concentration, Proulx a réalisé une étude du déplacement chimique du groupement NH de son monomère en fonction de la température dans le DMSO-*d*<sub>6</sub>. L'objectif de cette étude étant de déterminer la pente de la droite liant le déplacement chimique et la température. En effet, d'après une étude de T. Cierpicki sur des peptides et des protéines, la valeur de la pente semble pouvoir indiquer la présence ou non de liaisons hydrogène intramoléculaires.<sup>138</sup>

<sup>138</sup> Tomasz Cierpicki, Jacek Otlewski, *J. Biomol. NMR*, **2001**, 21, 249–61.

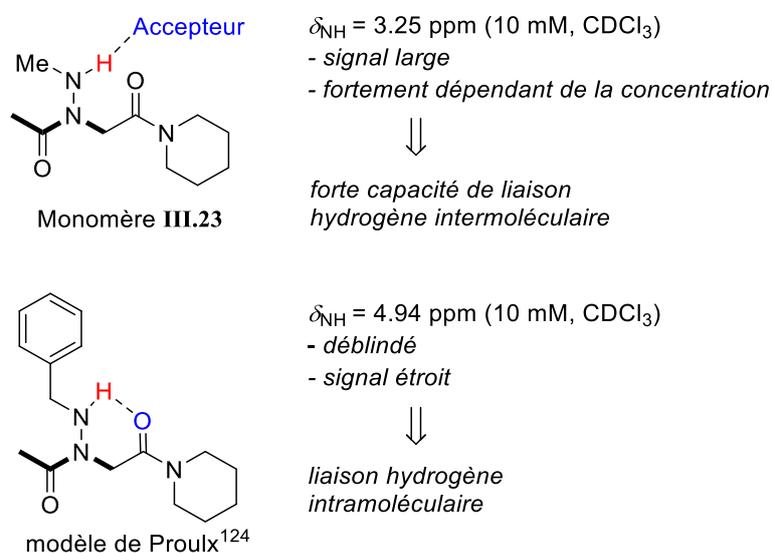
Nous avons donc également réalisé cette étude sur le monomère **III.1**. Pour cela, nous avons réalisé une analyse RMN  $^1\text{H}$  dans le DMSO- $d_6$  à 25 °C, 40 °C et 60 °C. Les résultats obtenus ainsi que ceux de C. Proulx sont rassemblés dans la **Figure III-18**. D'après les explications de Cierpicki, lorsque la pente de droite est comprise entre 0 ppb/K et -5 ppm/K, le peptide ou la protéine possède des liaisons hydrogène intramoléculaires.<sup>138</sup> Cependant, la limite de cette règle est qu'elle s'applique aux peptides et protéines. Or, nous ne savons pas si elle s'applique également aux peptoides, bien que C. Proulx l'utilise pour appuyer son propos. Dans tous les cas, les résultats obtenus avec le monomère **III.1** sont bien différents de ceux obtenus par Proulx puisque nous obtenons une pente 4 fois plus importante, tout en restant dans la gamme correspondant aux liaisons intramoléculaires. Néanmoins, les résultats de cette étude ne seront pas utilisés comme arguments pour indiquer la présence ou non de liaisons hydrogène intramoléculaires.



**Figure III-18** Étude en température dans le DMSO- $d_6$  à 17 mM a) du monomère **III.1** et b) de celui de Proulx.<sup>123</sup>

Globalement, cette étude RMN suggère que le monomère **III.23** et les oligomères *N*-méthylaminoglycine, en plus de conduire à l'obtention d'un conformère majoritaire dont l'ensemble des fonctions amides sont *trans*, ont une forte propension à former des liaisons hydrogène intermoléculaires, une propriété intéressante et recherchée pour l'auto-assemblage

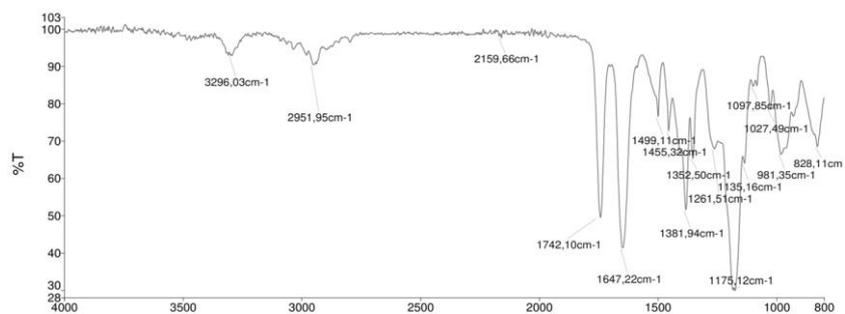
et l'interaction avec des cibles biologiques, contrairement à la chaîne latérale décrite par C. Proulx qui conduit à l'obtention de liaisons hydrogène intramoléculaires (**Figure III-19**).



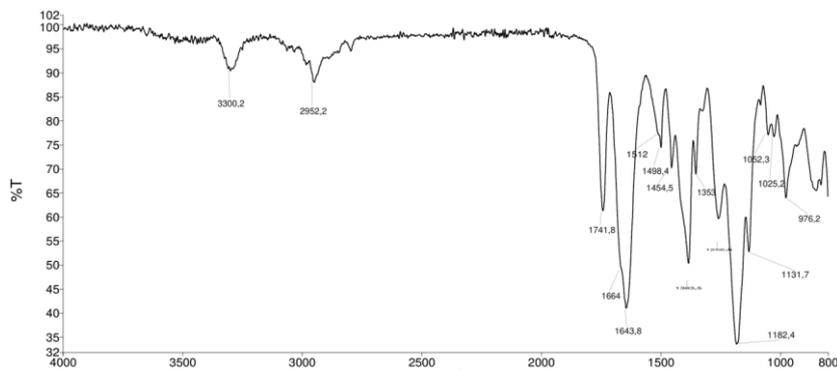
**Figure III-19** Comparaison du monomère **III.23** et du modèle de Proulx concernant leur capacité à former des liaisons hydrogène inter- et intramoléculaires.

### 3.3. Analyses infrarouges

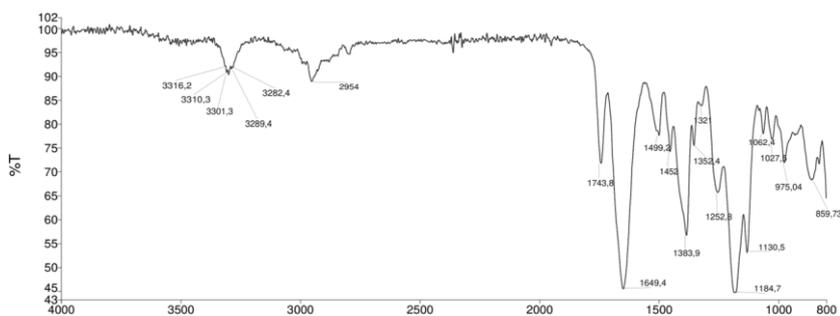
En complément des études RMN et DRX, nous avons également analysés nos peptoides par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (**Figure III-20**). Nous aurions souhaité pouvoir utiliser cette méthode d'analyse afin de pouvoir déterminer la présence ou non de liaison hydrogène. Malheureusement, bien qu'il existe de nombreuses études infrarouges de groupements amides (notamment avec les peptides) permettant d'obtenir des fréquences de référence pour déterminer si une fonction amide est libre ou lié par liaison hydrogène, il n'y a pas de références pour des composés comportant un groupements hydrazides. Néanmoins, nous avons tout de même réalisé l'analyse infrarouge de nos composés afin d'obtenir les fréquences ainsi que l'allure des signaux correspondant aux élongations N-H.



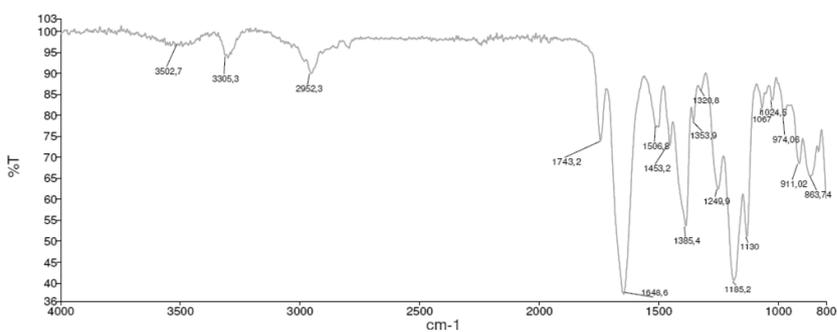
**III.1**



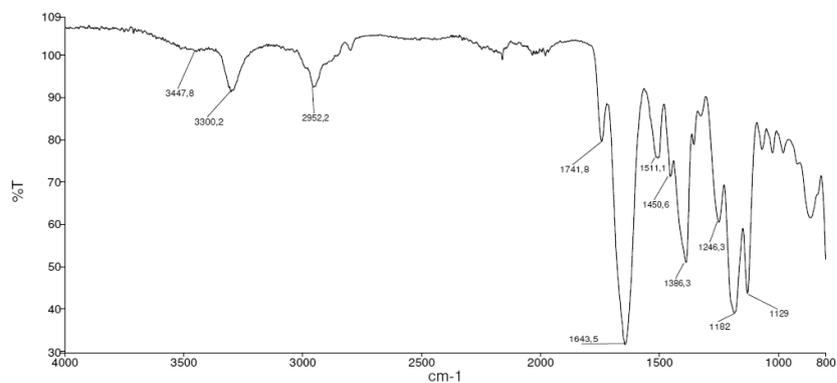
**III.2**



**III.3**



**III.4**



**III.5**

Figure III-20 Spectres infrarouges dans  $\text{CHCl}_3$  (10 mM) des composés III.1-III.5.

Les spectres montrent deux bandes d'étirement N-H distinctes dans la région 3500-3200  $\text{cm}^{-1}$  dont l'intensité relative varie avec l'allongement de la chaîne. Une première bande, la plus intense des deux, est observée à environ 3300  $\text{cm}^{-1}$ . Une bande d'énergie plus élevée et d'intensité beaucoup plus faible, à environ 3450-3500  $\text{cm}^{-1}$ , est également observée, notamment au stade du trimère **III.3**. Nous pouvons supposer que les bandes de plus faible énergie (3300  $\text{cm}^{-1}$ ) sont dues à des N-H liés par liaison hydrogène alors que les bandes de plus forte énergie pourraient être attribuées à des NH libres. Cette observation peut indiquer que tous les NH ne peuvent pas former des liaisons hydrogène au sein d'un assemblage, et que cela dépend de la taille des oligomères. De plus, la région des spectres correspondant à l'étirement C=O (1800-1600  $\text{cm}^{-1}$ ) montre une bande autour de 1740  $\text{cm}^{-1}$  correspondant à l'étirement C=O de l'ester et une bande aux alentours de 1660-1640  $\text{cm}^{-1}$  qui augmente avec la longueur de l'oligomère, correspondant à l'étirement C=O des fonctions amides des oligomères *N*-méthylamino.

### 3.4. Microscopie électronique en transmission

À la suite des observations réalisées lors de l'étude RMN  $^1\text{H}$  en concentration, nous avons conclu que les oligomères *N*-méthylaminoglycine favorisent l'obtention de liaisons hydrogène intermoléculaires à haute concentration comme observé dans le cristal. Nous en déduisons donc qu'il peut y avoir une éventuelle formation d'agrégats (**Figure III-8**). Ainsi, nous nous sommes rapprochés de la plateforme CYSTEM (CYtometry, Sort & Transmission Electronic Microscopy), située au LMGE (Laboratoire Microorganismes : Génome Environnement) afin de pouvoir réaliser de l'imagerie par microscopie électronique en transmission (TEM). Grâce à cela, les propriétés d'auto-assemblage de cette famille d'oligomères sont illustrées par les images de microscopie électronique en transmission recueillies à partir du dimère **III.2** (1% en poids dans l'eau) montrant des structures multicouches auto-assemblées ordonnées (**Figure III-21**). Cependant, à ce stade, nous ne pouvons pas encore proposer un mode d'interaction qui explique la formation de ces assemblages. De plus, il n'est pas possible de dire si la structure du composé **III.2** dans ces assemblages est la même que dans le cristal, c'est-à-dire avec les deux monomères dans la même conformation. En effet, on sait, par exemple, qu'un dimère *N*-hydroxy qui s'auto-assemble en une structure de type feuillet a deux unités dans des conformations miroir. Dans tous les cas, il est intéressant de noter que c'est l'un des rares exemples de structure peptoïde, avec celle des *N*-hydroxypeptoïdes, à présenter un auto-

assemblage basé sur des liaisons hydrogène, et non sur un empilement aromatique (interactions  $\pi-\pi$ )<sup>139</sup> ou des chaînes latérales de charge opposée<sup>140</sup>.

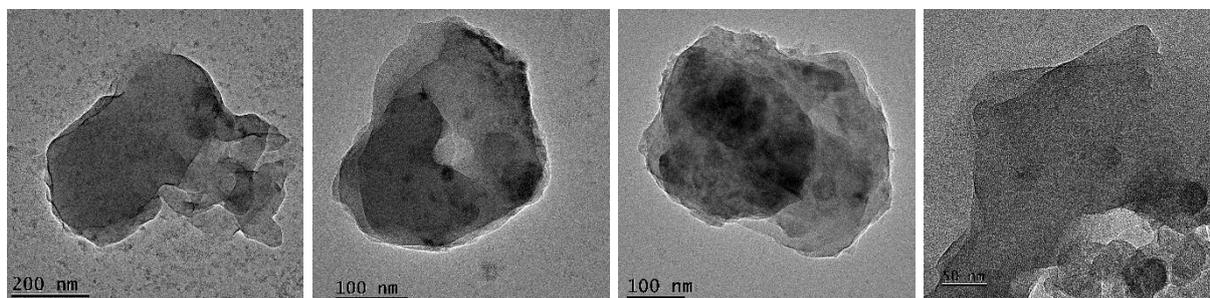


Figure III-21 Images TEM des assemblages obtenus avec le dimère III.2 à 10 mg.mL<sup>-1</sup> dans l'eau.

#### 4. Modélisation moléculaire

En complément des études réalisées en solution et dans le cristal, nous avons réalisé des calculs théoriques. L'objectif étant d'étudier comment pourrait se comporter des oligomères plus long. Pour cela, nous avons utilisés les données de diffraction des rayons X du monocristal du dimère III.2. En revanche, afin de faciliter les calculs, nous avons réalisé les différentes simulations sur des oligomères possédants un groupement diméthylamide à l'extrémité C-terminale à la place de l'ester de benzyle (Ac-N(NMe)<sub>n</sub>-NMe<sub>2</sub>) (Figure III-22). En effet, lors des premières simulations avec l'ester de benzyle, il a été observé un comportement étrange de l'extrémité C-terminale, conduisant à des torsions non attendues du squelette.

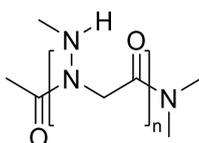


Figure III-22 Structure des oligomères modèles étudiés par modélisation moléculaire.

Pour les oligomères modèles, les optimisations géométriques ont été effectuées avec l'ensemble de base B3LYP/6-31G(d,p) tel qu'implémenté dans Gaussian 16, en utilisant des critères de convergence serrés (opt=tight) dans le chloroforme (scrf=(solvent=chloroform)). Ces études ont pu être réalisées grâce à la mise à disposition des ressources informatiques nécessaires par le Mésocentre de l'Université Clermont Auvergne.

<sup>139</sup> Valeria Castelletto, Ann M. Chippindale, Ian W. Hamley, Sarah Barnett, Abshar Hasan, King Hang Aaron Lau, *Chem. Commun.*, **2019**, 55, 5867–69.

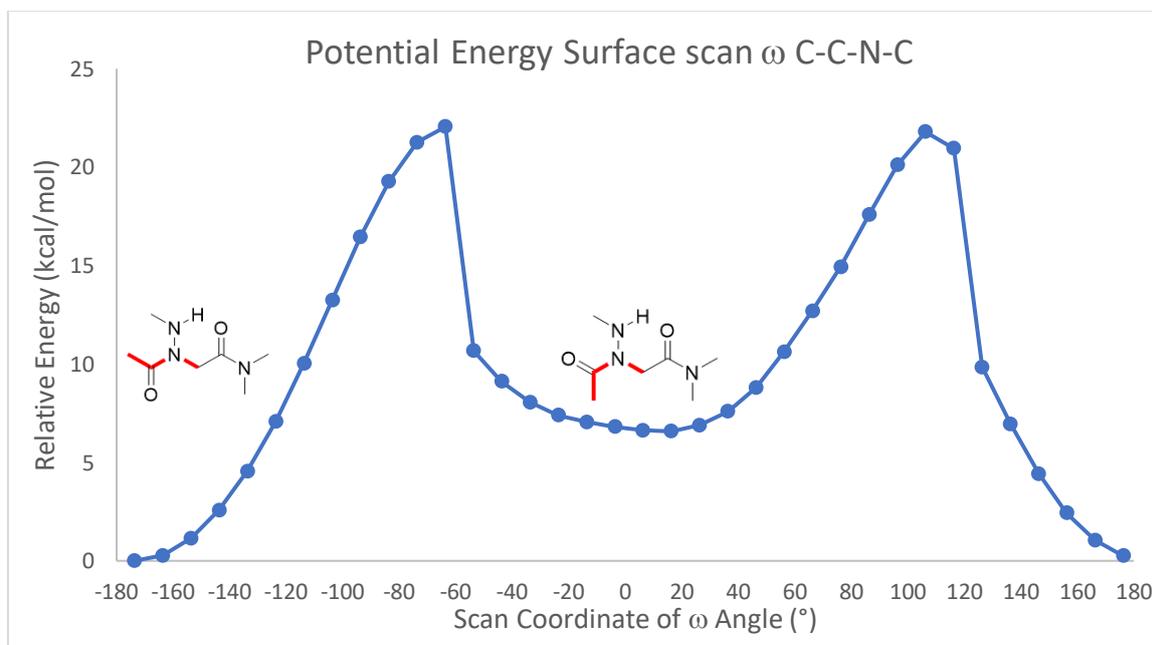
<sup>140</sup> Ki Tae Nam, Sarah A. Shelby, Philip H. Choi, Amanda B. Marciel, Ritchie Chen, Li Tan, Tammy K. Chu, Ryan A. Mesch, Byoung Chul Lee, Michael D. Connolly, Christian Kisielowski, Ronald N. Zuckermann, *Nat. Mater.*, **2010**, 9, 454–60.

Dans un premier temps, nous avons réalisé l'optimisation de la géométrie du monomère Ac-MNMe-NMe<sub>2</sub> (**Table III-13**). Sur ce monomère, nous avons examiné la géométrie privilégiée de la liaison amide par un scan de l'énergie potentielle en fonction de la valeur de l'angle dièdre  $\omega$  avec un intervalle de balayage de 10° en 35 étapes de -180° à 180° (**Figure III-23**). L'énergie minimale globale a été observée à -174° et +176°, avec une préférence énergétique de 6.5 kcal.mol<sup>-1</sup> pour la conformation *trans*. Ce qui confirme donc les observations réalisées en RMN et par DRX.

**Table III-13** Angles dièdres, distance N...O et angle NHO mesurés dans le monomère modèle

Conformation <sup>a</sup>	$\omega$ (°)	$\varphi$ (°)	$\psi$ (°)	$\chi_1$ (°)	d N...O (Å)	$\angle$ NH...O (°)
p	-173.71	101.36	-175.71	124.59	2.88	125.71

<sup>a</sup>La conformation est notée p lorsque l'angle  $\varphi$  est positif.



**Figure III-23** Scan autour de l'angle dièdre  $\omega$  avec 35 intervalles de 10°.

Dans un second temps, nous avons réalisé un scan autour de l'angle  $\chi_1$  afin de comprendre comment s'oriente la chaîne latérale au sein d'oligo-MNMe. Ce scan a également été réalisé sur le monomère Ac-MNMe-NMe<sub>2</sub> (**Figure III-24**). Ainsi, l'énergie la plus basse a été trouvée pour une valeur de  $\chi_1 = 124^\circ$ , valeur légèrement supérieure à celle mesurée dans la structure cristallographique du dimère **III.2** (112° et 116° pour la conformation B ; **Table III-11**). Cette différence peut être le résultat de la liaison hydrogène intramoléculaire formée dans le modèle monomère (d N...O = 2.88 Å,  $\angle$ N-H...O = 125°). Cette observation se confirme dans le cas du

dimère Ac-N(NMe)<sub>2</sub>-NMe<sub>2</sub> puisque deux liaisons hydrogène étaient présentes lors de l'optimisation de la géométrie.

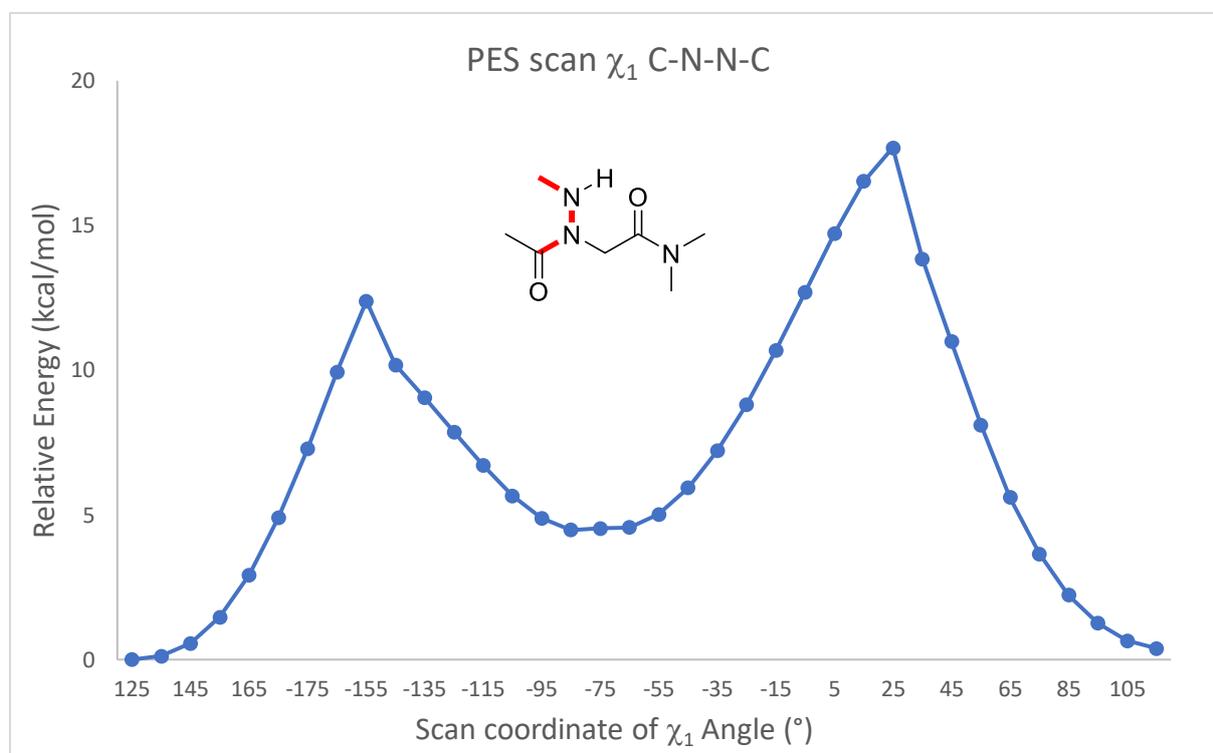
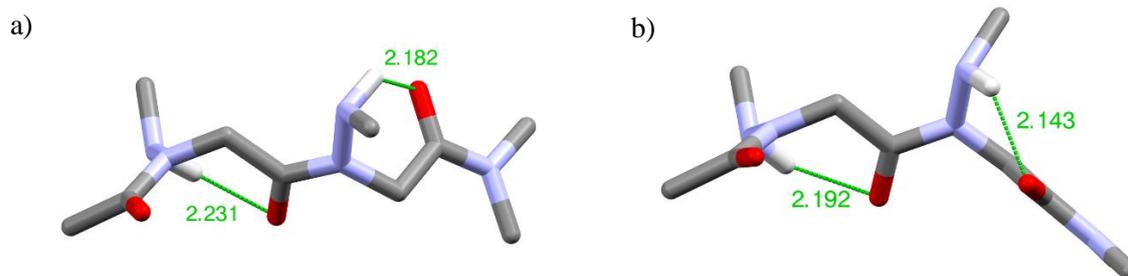


Figure III-24 Scan autour de l'angle dièdre  $\chi_1$  avec 35 intervalles de 10°.

Autre observation réalisée dans la structure cristallographique du dimère **III.2** : les deux monomères constitutifs d'une molécule sont dans la même conformation avec soit deux valeurs positives de l'angle  $\phi$  (conformation B), soit deux valeurs négatives pour la conformation miroir A (Table III-11). Ces deux conformations locales pourraient exister pour chaque position des monomères, conduisant à un mélange potentiel de structures secondaires. Nous avons donc calculé la différence d'énergie relative entre la structure d'un dimère composé de deux monomères dans la même conformation (pp ; « plus-plus ») et celle d'une structure de dimère avec des monomères dans deux conformations d'image miroir différentes (pm ; « plus-moins ») (Figure III-25). Nous avons constaté que la conformation répétitive (pp) n'est favorisée que de 0,65 kcal.mol<sup>-1</sup> par rapport à la conformation alternée (pm), ce qui suggère que ces deux conformations peuvent coexister en solution. De plus, le modèle dimère (pm) adopte une structure analogue à la structure à l'état solide d'un dimère N-hydroxy, avec des angles dièdres très similaires ainsi qu'une opposition de signes entre les valeurs des deux unités.<sup>84</sup>



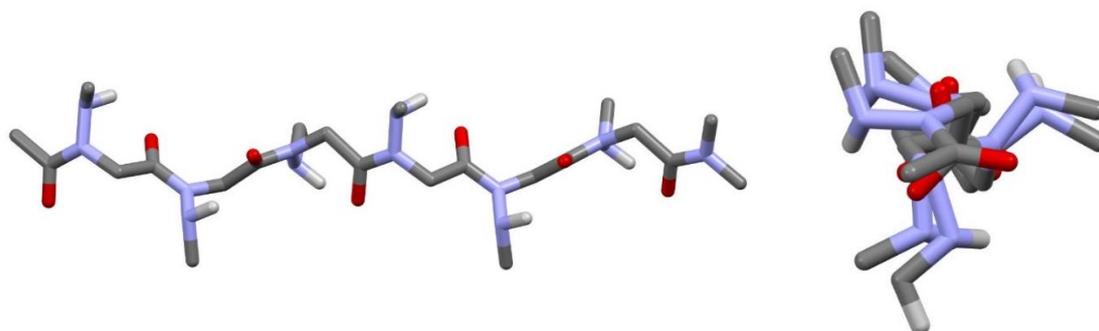
**Figure III-25** Structures des deux dimères modèles Ac-N(NMe)<sub>2</sub>-NMe<sub>2</sub> : **a**) en conformation répétée (pp) et **b**) en conformation alternée (pm).

**Table III-14** Angles dièdres, distance N...O et angle NHO mesurés dans les dimères modèles (pp) et (pm).

Conformation <sup>a</sup>	résidu	$\omega$ (°)	$\varphi$ (°)	$\psi$ (°)	$\chi_1$ (°)	$d_{N...O}$ (Å)	$\angle NH...O$ (°)	Énergie relative (kcal/mol)
pp	i	-173.70	97.70	-173.59	125.60	2.93	124.36	0
	i+1	-173.22	101.62	-176.48	123.49	2.89	124.93	
pm	i	-175.06	107.94	177.71	-114.7	2.91	125.60	0.65
	i+1	175.54	-104.68	176.11	112.88	2.09	126.35	

<sup>a</sup>La conformation est notée p lorsque l'angle dièdre  $\varphi$  est de signe positif et m lorsqu'il est négatif.

Le calcul a également été effectué pour l'hexamère modèle en considérant uniquement les conformations régulières répétitives (p)<sub>6</sub> et alternées (pm)<sub>3</sub> (**Figure III-26**). Il en résulte que la conformation répétitive (p)<sub>6</sub> est plus stable de 2.9 kcal.mol<sup>-1</sup> et forme une structure hélicoïdale droite étendue avec des valeurs d'angle de torsion du squelette ( $\varphi$ ,  $\psi$ ) proches de (100°, -173°), environ 3 résidus par tour et un pas d'hélice de 10 Å. La structure ressemble à l'hélice de polyproline de type II, avec un pas légèrement plus grand (**Table III-15**).



**Figure III-26** Structures de l'hexamère modèle Ac-N(NMe)<sub>6</sub>-NMe<sub>2</sub> en conformation répétée (p)<sub>6</sub>. Vue de côté (gauche) et vue perpendiculaire à l'axe de l'hélice (droite).

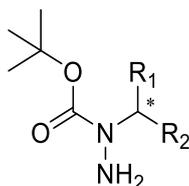
**Table III-15** Angles dièdres, distance N...O et angle NHO mesurés dans les hexamères modèles (p)<sub>6</sub> et (pm)<sub>3</sub>.

Conformation <sup>a</sup>	résidu	$\omega$ (°)	$\varphi$ (°)	$\psi$ (°)	$\chi_1$ (°)	$d\text{N...O}$ (Å)	$\angle\text{NH...O}$ (°)	Énergie relative (kcal/mol)
(p) <sub>6</sub>	i	-173.54	97.97	-173.40	-111.24	2.92	124.78	0
	i+1	-173.44	100.96	-173.06	-113.98	2.92	124.93	
	i+2	-173.32	101.23	-174.42	-113.78	2.92	124.74	
	i+3	-172.77	100.17	-173.64	-113.21	2.92	124.66	
	i+4	-172.99	98.95	-173.46	-112.87	2.93	123.97	
	i+5	-172.67	101.02	-176.69	-112.56	2.89	124.80	
(pm) <sub>3</sub>	l	-175.51	111.45	177.77	-116.76	2.89	126.61	2.9
	i+1	177.22	-110.39	-179.84	115.05	2.88	126.83	
	i+2	-176.58	109.71	178.91	-114.59	2.88	126.61	
	i+3	175.93	-109.46	179.77	114.66	2.88	126.84	
	i+4	-175.14	104.56	-179.82	-112.10	2.90	125.63	
	i+5	173.98	-103.92	173.71	112.98	2.86	126.88	

<sup>a</sup>La conformation est notée p lorsque l'angle dièdre  $\varphi$  est de signe positif et m lorsqu'il est négatif.

## 5. Mise au point d'oligomères chiraux

Comme indiqué au début de ce mémoire, il est possible d'obtenir des informations structurales supplémentaires lorsqu'un peptoïde possède une chaîne latérale chirale, notamment grâce à l'analyse par dichroïsme circulaire. De ce fait, le développement et l'étude d'une chaîne latérale chirale a toujours fait partie du projet. L'objectif étant de voir si la chiralité présente sur la chaîne induit une influence sur la structuration des homooligomères. En effet, le centre asymétrique se trouvant un atome plus loin de la fonction amide que les chaînes chirales habituelles, nous ne pouvons pas confirmer par avance qu'il exercera une quelconque influence sur la structuration. Pour étudier cela, il est d'abord nécessaire de parvenir à développer une méthode de synthèse permettant de préparer une hydrazine avec une chaîne chirale ainsi que le groupement Boc, afin d'obtenir le groupement NH comme précédemment (**Figure III-27**).



**Figure III-27** Structure de l'hydrazine souhaitée (les groupements R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> étant à déterminer)

## 5.1. Synthèse de l'hydrazine chirale

Après différentes recherches dans la littérature, nous avons constaté que l'approche la plus simple pour réaliser la synthèse d'une hydrazine chirale est de l'obtenir à partir de l'alcool chiral correspondant. Pour cela, nous nous sommes tournés vers les travaux de B. Jamart-Grégoire, qui a mis au point une voie de synthèse d'alkylhydrazine.<sup>141</sup> Cette dernière repose sur une réaction de Mitsunobu pour alkyler la Boc-hydrazine (*tert*-butylcarbazate).

En ce qui concerne l'alcool utilisé pour notre étude, nous avons opté pour le (*S*)-1-Phényléthanol, alcool permettant d'obtenir la chaîne latérale similaire à (*rpe*) du fait de l'inversion de chiralité lors de la réaction de Mitsunobu. Cela nous permet de pouvoir comparer l'influence de la chaîne latérale (*rpe*) par rapport à son équivalent hydrazine. De plus, l'alcool correspondant possède l'avantage d'être économiquement abordable (environ 70€ les 25g) contrairement à son énantiomère dont le prix est proche des 200€ pour 25g. Il nous semblait peut envisageable de réaliser l'équivalent hydrazine de la chaîne (*sItbe*) du fait du fort encombrement engendré par le groupement *tert*-butyle.

Concernant l'obtention de l'hydrazine chirale, la première étape consiste en la protection de la Boc-hydrazine par l'anhydride tétrachlorophthalique (composé **III.24**), suivie par l'alkylation de l'hydrazine par réaction de Mitsunobu avec l'alcool chiral (conduisant au composé **III.25**) et enfin la déprotection de l'hydrazine par réaction avec l'éthylènediamine, permettant d'obtenir l'hydrazine souhaitée (**Schéma III-22** composé **III.26**). Nous nous sommes également inspiré des travaux de Jamart pour les conditions réactionnelles. Ainsi, avec simplement un ajustement de la durée des différentes étapes, nous avons pu obtenir l'hydrazine souhaitée avec un rendement global de 64%.

---

<sup>141</sup> Maria Fatima Pinto, Nicolas Brosse, Brigitte Jamart-Grégoire, *Synth. Commun.*, **2002**, 32, 3603–10.

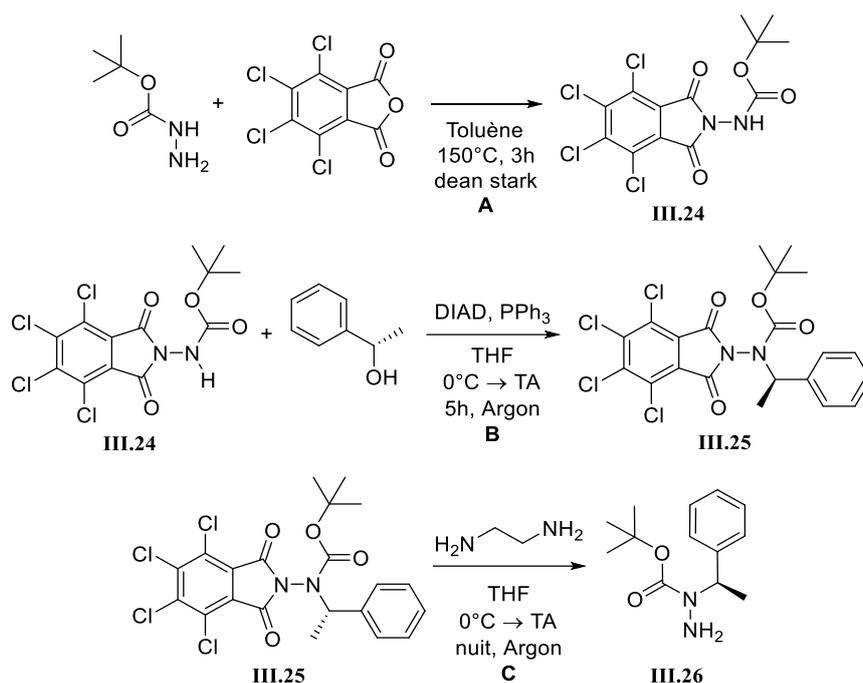


Schéma III-22 Approche synthétique pour l'obtention de l'hydrazine chirale

## 5.2. Synthèses d'homooligomères

### 5.2.1. Synthèse du monomère

Dans un premier temps, nous avons essayé d'obtenir le monomère afin de voir s'il est possible d'utiliser l'hydrazine **III.26** pour la synthèse d'oligomères chiraux (Schéma III-23). Nous avons donc réalisé un premier essai dans les conditions utilisées avec la Boc-méthylhydrazine pour essayer d'obtenir le composé **III.27**. La première observation que nous avons pu faire est que dans les conditions utilisées avec la chaîne (NMe), l'hydrazine chirale est insoluble, et ce malgré l'ajout de méthanol dans le milieu réactionnel. Néanmoins, nous avons laissé la réaction se dérouler en espérant qu'avec l'agitation, la substitution puisse avoir lieu. Malheureusement, après plus de 72h de réaction, ajout de chauffage ainsi que de triéthylamine, le bromoacétate de benzyle est toujours visible en CCM. Néanmoins, l'analyse LC/MS indique une légère formation du monomère **III.27**. Une optimisation des conditions de substitution a donc été nécessaire.

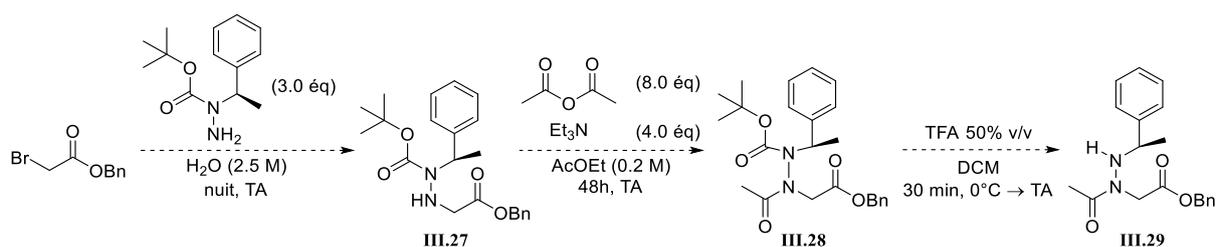


Schéma III-23 Approche synthétique envisagée pour le monomère chirale

### 5.2.1.1. Mise au point des conditions de substitution

Dans un premier temps, nous avons testé les conditions habituelles de synthèse des peptoides (Et<sub>3</sub>N, AcOEt) à la différence près que la réaction est réalisée à concentration élevée (1.25 M, au lieu de 0.2 M habituellement) et avec chauffage à 60 °C. Après une nuit de réaction, il est difficile d'estimer si la réaction est complète puisque malgré les essais de différents éluants, le bromoacétate de benzyle, l'hydrazine chirale et le monomère **III.27** sont très proches en CCM. De plus, malgré les différentes tentatives d'éluants, un phénomène de trainée est observé en CCM, rendant difficile la lecture des analyses et par conséquent de l'avancement de la réaction. Une tentative de purification a été réalisée mais un rendement de seulement 15% a été obtenu pour le composé **III.27**.

À la suite de ces tests, nous avons décidé de comparer différents solvants dans des conditions identiques : 1.0 éq de bromoacétate de benzyle solubilisé dans le solvant étudié à une concentration de 0.5 M, 3.0 éq d'hydrazine chirale **III.26**, 2.0 éq de triéthylamine à TA (**Table III-16**). Nous avons donc observé l'avancement de chaque réaction par CCM à 2h, 4h, 7h, 22h, 39h et 46h. Lors de ces analyses, il est possible de voir une diminution de l'intensité de la tache du bromoacétate de benzyle. Cette diminution d'intensité est relativement lente pour les tests B, C, E et F. Le méthanol et l'acétonitrile semble donc être de bons candidats puisque nous observons une consommation rapide du bromoacétate de benzyle. Cependant, du fait du phénomène de trainée observé avec l'hydrazine, nous n'observons pas de formation de nouvelles taches (surement sous la trainée de l'hydrazine chirale).

**Table III-16** Liste des solvants testés pour l'étape de substitution

Test	A	B	C	D	E	F
Solvant	MeOH	2-MeTHF	2-MeTHF/H <sub>2</sub> O 1:1	ACN	ACN/H <sub>2</sub> O 1:1	DCM

Malgré le résultat mitigé de ces tests, nous avons opté dans un premier temps pour l'acétonitrile, qui a été le solvant où la consommation du bromoacétate a été la plus rapide. Entre temps, l'hydrazine n'a pas été utilisée pendant environ un mois (fermeture estivale du laboratoire) et nous avons remarqué à notre retour que le phénomène de trainée en CCM n'était plus présent et qu'à la place, une simple tâche était observée, rendant donc plus facile les analyses.

Nous avons donc réalisé un nouveau test avec l'acétonitrile, séché sur tamis moléculaire 4Å. Au cours de ce premier test, nous avons également essayé de voir s'il était possible de

n'utiliser qu'un seul équivalent de l'hydrazine en compensant par l'ajout de 2 équivalents de triéthylamine. Nous observons en CCM une consommation complète du bromoacétate de benzyle mais l'analyse RMN ne permet pas de confirmer complètement que la réaction a bien eu lieu. Malgré tout, l'acétylation est réalisée sur ce brut. Une conversion complète est obtenue, en revanche, l'analyse RMN permet cette fois de confirmer que le composé obtenu n'est pas celui attendu puisqu'il s'agit seulement de l'hydrazine acétylée. Aucun signal caractéristique de l'unité  $\alpha$  n'a été observée, indiquant donc un échec de l'étape de substitution. Les mêmes observations sont réalisées avec l'utilisation de 2 équivalents d'hydrazine. Bien que le bromoacétate soit complètement consommé, cela n'est pas au profit du produit de substitution. Il semble donc y avoir une dégradation liée au solvant. Des essais supplémentaires ont été réalisés avec des solvants différents ainsi que des bases différentes (**Table III-17**). Cependant, le temps de réaction est très long et lorsque le chauffage est mis en place, de la dégradation est observée.

**Table III-17** Conditions réactionnelles testées pour la substitution

<i>Conditions testées</i>	<i>Observations</i>
<b>III.26</b> (1.0 éq.) Et <sub>3</sub> N (2.0 éq.) ACN (2.0 M) 60 °C	Absence du produit et dégradation du bromoacétate de benzyle après une nuit
<b>III.26</b> (1.0 éq.) Et <sub>3</sub> N (2.0 éq.) <i>i</i> PrOH (2.0 M) 60 °C	Absence du produit et dégradation du bromoacétate de benzyle après une nuit
<b>III.26</b> (1.1 éq.) DIPEA (1.1 éq.) CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> anhydre (2.0 M) TA	62% de rendement après purification après plus de 7 jours de réaction
<b>III.26</b> (1.1 éq.) K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1.1 éq.) Toluène (2.0 M) 110 °C	49% de rendement après purification en une nuit. Lorsque la réaction est laissée plus longtemps (>24h), une dégradation importante est observée
<b>III.26</b> (1.1 éq.) K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1.1 éq.) CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> anhydre (2.0 M) 50 °C	24% de rendement après purification après 7 jours de réaction

Pour accélérer la réaction, nous avons essayé de réaliser la substitution sous stimulation micro-ondes. Pour cela, le micro-ondes a été configuré de la façon suivante : température cible :

100 °C, durée de la rampe : 5 min, durée de réaction : 15 min, puissance : 200 W, descente à 50 °C en fin de programme. Les différents essais sont réalisés dans des tubes scellés afin de permettre une montée en pression du milieu réactionnel. Dans ces conditions, différents tests ont été réalisés (**Table III-18**). Cependant, il a été nécessaire de répéter de très nombreuses fois le programme micro-ondes (entre 15 à 20 fois en moyenne) afin d'obtenir une conversion correcte du bromoacétate de benzyle ou de l'hydrazine lorsque le bromoacétate est utilisé en excès. En revanche, nous avons observé que les conditions utilisées ne sont pas reproductibles et que d'un essai à l'autre, des rendements différents ont été obtenus (entre 0 et 53%).

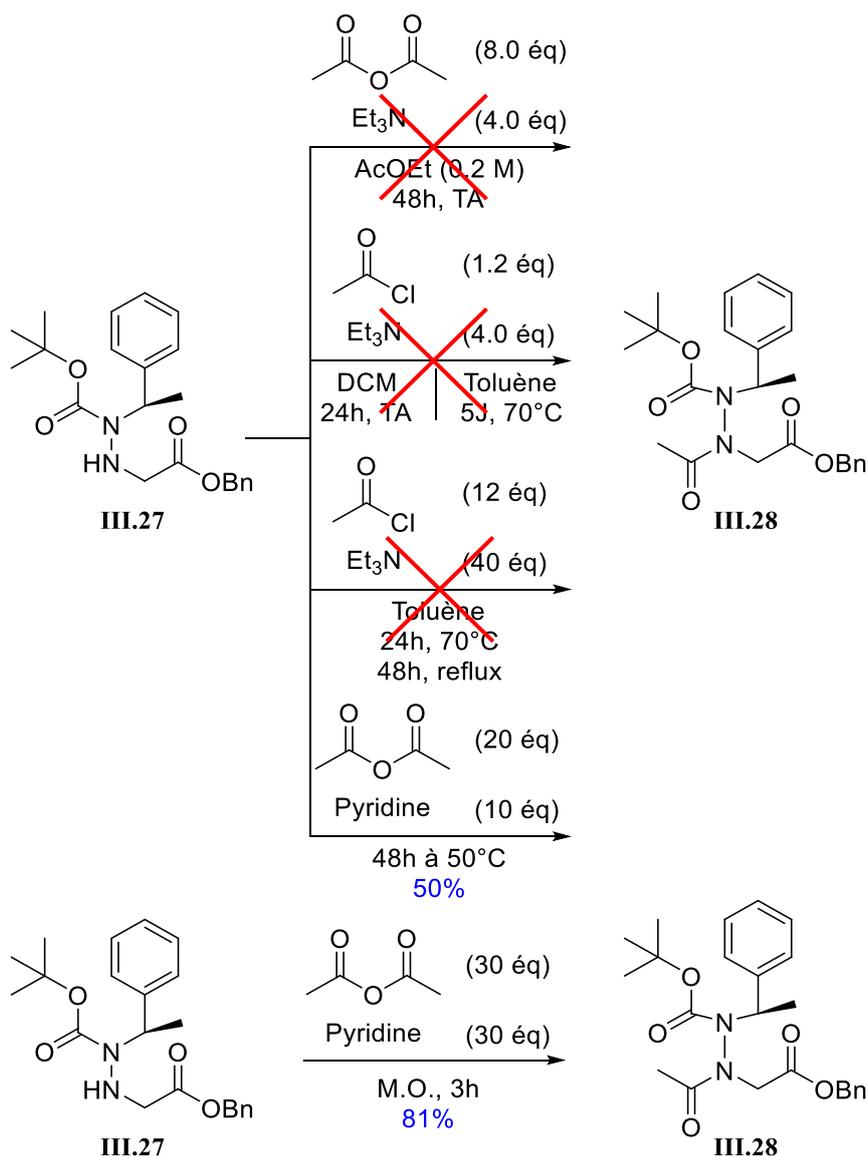
**Table III-18** Conditions réactionnelles testées avec stimulation micro-onde.

<i>Conditions testées</i>	<i>Observations</i>
<b>III.26</b> (1.1 éq.) DIPEA (1.1 éq.) DCM (2.0 M) Bromoacétate de benzyle (2.5 éq)	Conversion complète quasi complète observée soit 5h de réaction. Rendement de 53% obtenu après purification
<b>III.26</b> (1.0 éq.) DIPEA (2.5 éq.) DCM (2.0 M) Bromoacétate de benzyle (2.5 éq)	L'augmentation du volume de DCM diminue la capacité du milieu à être stimulé par micro-ondes Peu efficace
<b>III.26</b> (1.0 éq.) K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (2.5 éq.) DCM (2.0 M)	La présence de K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (solide) a permis d'exposer le milieu aux micro-ondes pendant une durée plus longue du fait d'une montée en température plus lente Conversion incomplète après 5h

Malgré les différents essais d'optimisation, nous ne sommes pas parvenus à obtenir un rendement convenable pour l'obtention du monomère chiral **III.27**. Néanmoins, nous avons souhaité continuer la synthèse avec la quantité obtenue au cours des différents essais.

#### **5.2.1.2. Mise au point des conditions d'acétylation**

Pour obtenir le monomère chiral, nous avons réalisé un test d'acétylation dans les conditions habituelles (Ac<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, AcOEt) pour obtenir le composé **III.28** mais aucune conversion n'a été observée. Nous avons donc réalisé d'autres essais avec notamment le chlorure d'acétyle mais aucun des tests avec ce dernier n'a été concluants. Nous nous sommes donc tournés vers une approche utilisée pour acétyler les peptides, à savoir par addition d'anhydride acétique dans la pyridine. Ces conditions nous ont permis d'obtenir un rendement de 50% en 48h à 50 °C et même 81% lorsque la réaction est également soumise aux micro-ondes (**Schéma III-24**).



**Schéma III-24** Conditions testées pour l'étape d'acétylation du monomère **III.27**.

Une fois le produit acétylé **III.28** obtenu, nous avons réalisé la déprotection du groupement Boc par réaction avec le TFA. Ainsi, le monomère **III.29** a été obtenu avec un rendement global de 53% après purification.

### 5.2.2. Synthèses d'oligomères plus longs

À partir du monomère **III.27**, nous avons souhaité savoir s'il était possible d'obtenir des oligomères plus longs au vu des difficultés rencontrées lors de l'acétylation. Dans les conditions habituelles d'acylation (BrAcBr, Et<sub>3</sub>N, THF anhydre), aucune conversion n'a été observée. Nous avons donc testé différentes conditions (**Table III-19**). Cependant, aucune des approches testées n'a été vraiment concluante puisque le rendement maximum obtenu pour l'acylation a été de 14%, indiquant un réel problème de réactivité de l'hydrazine chirale.

**Table III-19** Conditions réactionnelles testées pour l'étape de bromoacétylation

Conditions testées	Observations
Acide bromoacétique (2.0 éq.) DIC (4.0 éq.) THF anhydre (0.2 M) 24h à TA, Argon	Echec
Anhydride bromoacétique (10 éq.) Pyridine (20 éq.) 24h à 50 °C	Réaction violente lors du mélange de l'anhydride et de la pyridine. Ajout de DCM pour solubiliser l'ensemble Rendement de 6% après purification
Anhydride bromoacétique (10 éq.) Pyridine (20 éq.) DCM à -20 °C 24h à TA puis 24h à 50 °C	Echec
Acide bromoacétique (1.0 éq.) CMPI (1.2 éq.) n-Bu <sub>3</sub> N (2.4 éq.) DCM (0.1 M) 50 °C	Aucune conversion observée après plusieurs jours de réaction
BrAcBr (1.5 éq.) Pyridine (10 éq.) DMAP (0.1 éq.) THF (2 M) 0 °C puis TA	Après 48h, obtention d'un rendement de 14% après purification

Aux vues des résultats obtenus, nous avons pris la décision de ne pas continuer l'étude de cette chaîne latérale. Les faibles rendements obtenus pour l'étape de substitution et de bromoacétylation semblent indiquer une réactivité moindre de l'hydrazine chirale, probablement due à un encombrement stérique important du fait la présence du groupement Boc ainsi que du noyau aromatique, qui peuvent être également à l'origine d'une désactivation du groupement NH<sub>2</sub>.

## 6. Conclusion

L'objectif de ce chapitre était de mettre au point une nouvelle chaîne latérale permettant de contrôler l'isomérisation *cis/trans* des fonctions amides en faveur de la conformation *trans*. En nous basant sur ce qui a déjà été étudié, nous nous sommes intéressés aux unités *N*-azaalkyl glycine, qui n'avait jamais été étudié aux débuts de mes travaux. Pour cela, nous avons utilisé la 1-Boc-1-méthyle hydrazine comme réactif pour l'intégration de notre chaîne latérale. Nous avons donc réalisé une série d'homooligomères allant du monomère à l'hexamère (composés **III.1** à **III.6**). Pour obtenir cette série, il a été nécessaire de réaliser une optimisation des conditions de l'étape de substitution, permettant d'obtenir un rendement entre 56 et 76% par unité (correspondant au rendement de l'étape d'acylation et de substitution). De plus, pour

l'obtention de l'hexamère, différentes méthodes de couplage ont été étudiées, indiquant que dans une optique d'économie de réactifs, l'approche par couplage de Mukaiyama semble être la plus intéressante, bien que le rendement ne soit pas optimal. Dans un second temps, nous avons souhaité adapter cette approche de synthèse à la synthèse sur support solide, nous permettant d'éviter les étapes de purifications qui étaient assez problématiques lors de la synthèse en solution. Cependant, de nombreuses difficultés ont été rencontrées, notamment sur le choix de la résine, et bien qu'il semble possible de développer cette approche avec davantage de temps, nous avons préféré nous concentrer sur l'étude conformationnelle de nos composés.

Ainsi, nos 6 peptoïdes ont été étudiés par RMN 1D et 2D, mettant en évidence l'obtention d'un conformère majoritaire où l'ensemble des fonctions amides sont *trans*. De plus, des cristaux obtenus pour le dimère **III.2** ont permis de réaliser une analyse par diffraction des rayons X, confirmant la conformation *trans* également dans le solide. En plus de cela, lors des études RMN, nous avons constaté une influence importante de la concentration sur le déplacement chimique du signal du groupement NH de la chaîne latérale, indiquant la formation d'interaction hydrogène intermoléculaire et suggérant donc une éventuelle agrégation de nos composés à haute concentration. Pour observer cela, des analyses de microscopie électronique en transmission du dimère **III.2** a permis de mettre en évidence une structure multi-couches auto-assemblée, rappelant fortement les résultats obtenus avec les *N*-hydroxy-peptoïdes.<sup>84</sup> Bien qu'il y ait eu la publication des travaux de C. Proulx concernant les unités *N*-azaalkyl glycine, aucune étude d'homooligomères n'avait été réalisée jusqu'à mes travaux, conduisant à une publication intitulée "First series of *N*-alkylamino peptoid homooligomers: Solution phase synthesis and conformational investigation".<sup>142</sup>

Enfin, nous avons réalisé la synthèse d'une hydrazine possédant une chaîne chirale dans l'optique d'obtenir des peptoïdes chiraux et ainsi montrer les possibilités de diversité concernant la chaîne latérale mais aussi pour pouvoir réaliser des études de dichroïsme circulaire. Malheureusement, à l'exception du monomère **III.29**, il nous a été impossible d'obtenir des peptoïdes plus long. Cela ne signifie pas qu'il est impossible d'obtenir de la diversité ou de la chiralité au niveau de la chaîne latérale, mais il semble nécessaire d'avoir une réflexion supplémentaire sur l'influence de la chaîne sur la réactivité de l'hydrazine

---

<sup>142</sup> Maxime Pypec, Laurent Jouffret, Claude Taillefumier, Olivier Roy, *Beilstein J. Org. Chem.*, **2022**, *18*, 845-854.



Chapitre IV : Inhibition de l'interaction  
protéine-protéine HCN-TRIP8b comme  
stratégie contre des douleurs neuropathiques  
chimio-induites



Dans ce chapitre, nous commencerons par une introduction bibliographique sur le cancer du côlon, son traitement ainsi que les effets secondaires engendrés par ce dernier, notamment les douleurs neuropathiques. Puis, nous aborderons les canaux HCN (*Hyperpolarisation-activated Cyclic Nucleotide-gated Channels*), impliqués dans le déclenchement de ces douleurs ainsi que la difficulté d'obtenir des inhibiteurs sélectifs d'une seule classe de canaux HCN. Ensuite, nous montrerons comment la découverte de la protéine partenaire TRIP8b a permis d'obtenir une voie d'accès pour le développement d'inhibiteur sélectifs de canaux HCN présents dans le cerveau, conduisant également à la découverte du premier inhibiteur sélectif : NUCC-5953.

Dans un second temps, nous aborderons les premiers travaux réalisés au début du projet, à savoir les études de dynamiques moléculaires réalisées par Lionel Nauton, du service de modélisation moléculaire de l'ICCF, ainsi que le développement des premiers mimes, conduisant à l'obtention d'un mime tête de série : YC-55.

Ensuite, nous nous intéresserons à l'optimisation de la voie de synthèse mise en place lors des premières synthèses. Enfin, le développement de nouveaux mimes pour améliorer l'affinité du mime tête de série obtenu au début du projet sera présenté.

Il est important de noter que peu après mon arrivée, un financement a été obtenu sur le sujet permettant ainsi le recrutement d'un personnel dédié à son développement. Mes travaux sur le sujet ont ainsi été réalisés pendant un peu moins d'un an.



## 1. Introduction bibliographique

### 1.1. Cancer du côlon & traitement

Le cancer du côlon est l'un des cancers les plus courant (respectivement 3<sup>ème</sup> et 2<sup>ème</sup> cancer le plus fréquent chez l'homme et la femme en France) et tout particulièrement chez les populations de plus de 50 ans (source : Institut National du Cancer). Il s'agit d'un cancer se développant à partir des cellules constituant la paroi interne du colon et le plus souvent, il provient d'une tumeur bénigne, appelée polype adénomateux ou adénome. Néanmoins, le cancer du côlon est un cancer qui se développe, dans la majorité des cas, lentement puisqu'il faut en moyenne 10 ans pour qu'un adénome devienne cancéreux (source : Société Française de Gériatrie et de Gérontologie). Cependant, si elle n'est pas traitée, cette tumeur bénigne peut se propager aux autres couches du colon et ainsi devenir cancéreuse (stade I et II, **Figure IV-1**). Dans les cas les plus avancés, la tumeur se propage aux ganglions lymphatiques les plus proches (stade III) avant de se propager dans le réseau lymphatique et développer des métastases principalement dans le foie et les poumons (stade IV). Le plus souvent, la tumeur est asymptomatique et est donc souvent détectée assez tardivement, notamment chez les personnes de moins de 50 ans du fait de l'absence de campagne de dépistage. Pour les 50-74 ans, un test de dépistage est proposé tous les 2 ans par l'assurance maladie.

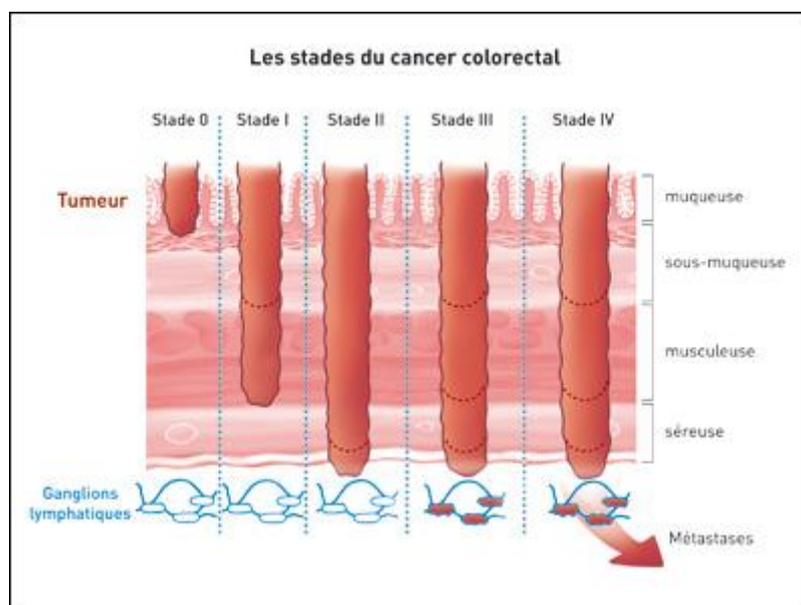


Figure IV-1 Les stades du cancer colorectal<sup>143</sup>

<sup>143</sup> Institut National du Cancer, *Les traitements du cancer du côlon*, 2010.

En ce qui concerne son traitement, celui-ci dépend du stade et de la localisation de la tumeur. En cas de stade précoce du cancer (stade 0 ; tumeur *in situ*) ou peu avancé (stades I et II), une chirurgie d'ablation du ou des polypes, d'une portion de tissu sain autour de la tumeur ainsi que du relais ganglionnaire le plus proche peut être suffisante pour éliminer le cancer. Dans certains cas, une chimiothérapie dite adjuvante (ou post-opératoire) peut être ajoutée pour prévenir tout risque de récurrence (notamment avec des tumeurs de stade III). Malheureusement, du fait de son caractère asymptomatique, la tumeur est souvent dans un stade avancé lors de son diagnostic et par conséquent, une opération chirurgicale devient difficile sans la mise en place d'une chimiothérapie dite néo-adjuvante (pré-opératoire), dont l'objectif est de faire diminuer la taille de la tumeur.<sup>144</sup> Dans tous les cas, le protocole FOLFOX est prescrit pour traiter le cancer du côlon et est considéré comme le choix de référence. Ce protocole repose sur l'administration de deux médicaments : le 5-fluorouracile (5-FU) (en combinaison avec l'acide folinique) et l'oxaliplatine (**Figure IV-2**).<sup>145</sup> En fonction de la sévérité du cancer, un troisième médicament peut être ajouté aux deux premiers : l'irinotécan (protocole FOLFIRINOX). Enfin, uniquement pour les cancers de stade IV, des thérapies ciblées à base d'anticorps monoclonaux peuvent être ajoutés à la chimiothérapie.<sup>146</sup> Il s'agit de thérapies bloquant certains récepteurs présents à la surface des cellules cancéreuses, empêchant ces dernières de grandir. Néanmoins, la chimiothérapie reste une approche thérapeutique agressive et pour obtenir une efficacité optimale, les doses utilisées sont souvent à la limite de la tolérance, entraînant donc de façon quasi-systématique une iatrogénie médicamenteuse. Parmi les effets secondaires les plus connus et les plus redoutés par les patients se trouvent les nausées et les vomissements, l'alopécie (chute des cheveux) ou encore la neutropénie (diminution importante de la quantité de globules blancs neutrophiles entraînant un plus grand risque d'infection en cas d'exposition à un agent pathogène). De plus, certains médicaments possèdent des toxicités qui leur sont propres.

---

<sup>144</sup> Kelley M. Kidwell, Greg Yothers, Patricia A. Ganz, Stephanie R. Land, Clifford Y. Ko, Reena S. Cecchini, Jacek A. Kopec, Norman Wolmark, *Cancer*, **2012**, *118*, 5614–22.

<sup>145</sup> George P Kim, Charles Erlichman, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, **2007**, *3*, 281–94.

<sup>146</sup> David Bai, *Target. Ther. Oncol.*, **2017**, *6*.

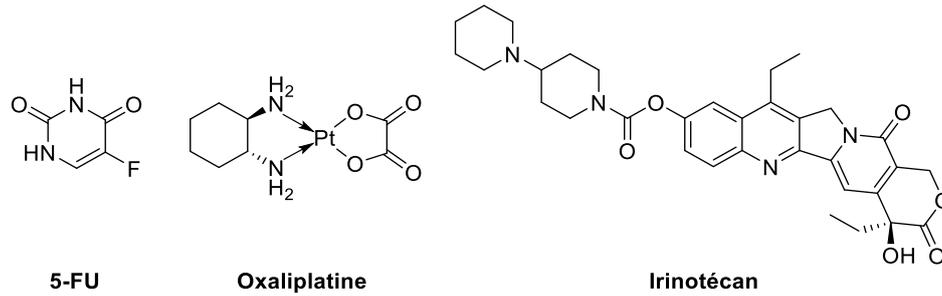


Figure IV-2 Structure du 5-fluorouracile, de l'oxaliplatine et de l'irinotécan.

Dans le cadre du protocole FOLFOX, les nausées et les vomissements sont bien maîtrisés grâce à l'administration d'antiémétiques combinés à des corticoïdes, l'alopécie n'est que très rarement observée chez les patients sous ce protocole et la neutropénie peut être contrôlée par l'administration de facteurs de croissance (comme par exemple le Pegfilgrastim<sup>147</sup>) provoquant une surproduction de leucocytes neutrophiles par la moelle osseuse et permettant ainsi d'éviter cette carence en globules blancs. Cependant, un effet secondaire moins connu et propre à seulement quelques classes de médicaments utilisées en chimiothérapie comme les taxanes ou les agents à base de platine sont les neuropathies périphériques chimio-induites (NPCI).<sup>148</sup> Or dans le cadre du protocole FOLFOX, l'oxaliplatine est un agent à base de platine et provoque donc très souvent une très grande neurotoxicité<sup>149</sup> puisque 90% des patients traités avec de l'oxaliplatine développent une toxicité neurosensorielle aiguë dans l'heure ou les jours suivant l'injection du médicament.<sup>150</sup> Ces atteintes du système nerveux périphérique peuvent se caractériser par des paresthésies (troubles du sens du toucher comme des fourmillements, des picotements...), des hypoesthésies (diminution de la sensibilité au toucher) ou encore des dysesthésies (sensations anormales provoquées par un stimulus ou le contact).<sup>151</sup> Une hypersensibilité au froid (phénomène de Raynaud) est également souvent décrite par les patients traités par oxaliplatine et semble être un élément déclencheur important des NPCI.<sup>152</sup> Ces troubles affectent en premier lieu les mains et les pieds mais peuvent aussi évoluer vers une atteinte de la bouche ou encore provoquer des détresses respiratoires. Ces effets secondaires sont d'abord de faible intensité mais peuvent devenir chroniques et de ce fait être beaucoup plus

<sup>147</sup> Riccardo Ricotta, Giulio Cerea, Iliaria Schiavetto, Maria Rosaria Maugeri, Paolo Pedrazzoli, Salvatore Siena, *Futur. Oncol.*, **2006**, 2, 667–76.

<sup>148</sup> Kelly A. Aromolaran, Peter A. Goldstein, *Mol. Pain*, **2017**, 13.

<sup>149</sup> Lara Maria Pasetto, Mario Rosario D'Andrea, Elena Rossi, Silvio Monfardini, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2006**, 59, 159–68.

<sup>150</sup> Robert J Cersosimo, *Ann. Pharmacother.*, **2005**, 39, 128–35.

<sup>151</sup> Andrea A. Argyriou, Roser Velasco, Chiara Briani, G. Cavaletti, J. Bruna, P. Alberti, M. Cacciavillani, S. Lonardi, C. Santos, D. Cortinovis, M. Cazzaniga, H. P. Kalofonos, *Ann. Oncol.*, **2012**, 23, 3116–22.

<sup>152</sup> Gregory D Leonard, Maurice A Wright, Mary G Quinn, Suzanne Fioravanti, Nancy Harold, Barbara Schuler, Rebecca R Thomas, Jean L Grem, *BMC Cancer*, **2005**, 5, 116.

handicapant et douloureux après de multiples expositions au médicament. Les seules solutions pour limiter ces effets secondaires, aux dépens de l'efficacité du traitement, sont de réduire les doses d'oxaliplatine mais avec une durée de perfusion plus longue ou encore l'arrêt prématuré du traitement. Néanmoins, même si les neuropathies périphériques aiguës sont plus ou moins limitables, 50 à 70 % des patients ayant reçu de l'oxaliplatine de manière répétée développent des neuropathies périphériques chroniques handicapantes dans leur vie de tous les jours.<sup>153</sup> C'est dans ce contexte qu'émerge le besoin de développer une approche thérapeutique afin de lutter contre ces neuropathies douloureuses. Ces recherches, ayant pour objectif d'améliorer la qualité de vie après traitement des patients ayant reçu une chimiothérapie, s'inscrivent dans l'objectif 8 « Réduire les risques de séquelles et de second cancer » du Plan cancer 2014-2019 et plus précisément, cela fait partie de l'action 8.3 : « Améliorer la prise en compte des séquelles physiques des traitements des cancers ».<sup>154</sup> Le souhait de limiter les effets secondaires est toujours présent dans la stratégie décennale de lutte contre les cancers 2021-2030 puisque l'un des 4 axes présents est intitulé : « Limiter les séquelles et améliorer la qualité de vie ». Cet axe est constitué de 14 actions dont la moitié sont dédiées à la prise en charge des séquelles liées aux traitements.<sup>155</sup>

Au cours des vingt dernières années, des recherches ont permis de mettre en évidence l'implication de canaux ioniques dans le développement des NPCI.<sup>148</sup> Des études plus approfondies, notamment réalisées par le laboratoire Neuro-Dol à Clermont-Ferrand, ont mis en évidence une surexpression des canaux HCN (*Hyperpolarisation-activated Cyclic Nucleotide-gated channels*) lors du déclenchement des douleurs neuropathiques provoquées par l'oxaliplatine.<sup>156</sup>

## 1.2. Canaux HCN & douleurs neuropathiques

Les canaux HCN sont une famille de canaux cationiques non sélectifs composés de 4 isoformes (HCN1 à HCN4). Ces canaux sont également appelés canaux pacemaker du fait qu'ils interviennent notamment dans la régulation du rythme cardiaque.<sup>157</sup>

---

<sup>153</sup> Cindy Tofthagen, <https://Home.Liebertpub.Com/Jpm>, **2010**, 13, 1389–91.

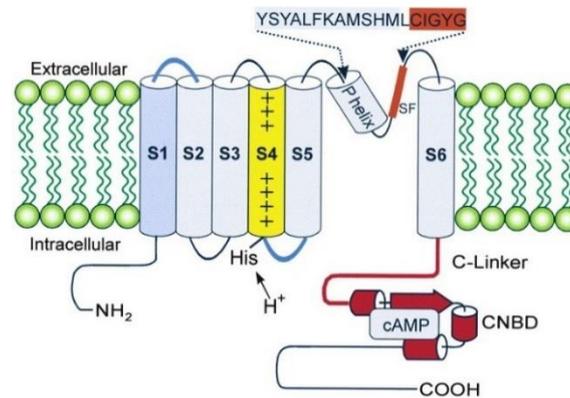
<sup>154</sup> République Française, Institut National du Cancer, *Plan cancer 2014-2019*, **2010**, 1–8.

<sup>155</sup> République Française, Institut National du Cancer, *Stratégie décennale de lutte contre les cancers 2021-2030*, **2021**, 1–128.

<sup>156</sup> Juliette Descoeur, Vanessa Pereira, Anne Pizzoccaro, Amaury Francois, Bing Ling, Violette Maffre, Brigitte Couette, Jérôme Busserolles, Christine Courteix, Jacques Noel, Michel Lazdunski, Alain Eschalier, Nicolas Authier, Emmanuel Bourinet, *EMBO Mol. Med.*, **2011**, 3, 266–78.

<sup>157</sup> Martin Biel, Angela Schneider, Christian Wahl, *Trends Cardiovasc. Med.*, **2002**, 12, 206–13.

D'un point de vue structural, il s'agit de tétramères dont chaque monomère est composé de 6 hélices transmembranaires dont l'une d'elle est chargée positivement et joue le rôle de détecteur de tension. L'espace entre les hélices S5 et S6 permet le passage des ions (**Figure IV-3**). Au sein de la famille des canaux HCN, le noyau (région s'étalant de S1 à l'extrémité C-terminale du domaine CNBD (*Cyclic Nucleotide Binding Domain*)) est très similaire entre les 4 canaux. Les disparités de structure se trouvent principalement au niveau des domaines C- et N-terminaux.<sup>157</sup>



**Figure IV-3** Schéma de la structure d'un monomère d'un canal HCN<sup>157</sup>

L'ensemble de ces isomères sont présents dans le système nerveux central (SNC) et périphérique (SNP), cependant, les isomères 1 et 2 sont les formes dominantes au sein des neurones sensoriels tandis que HCN4 est abondant dans le nœud sinusal, une région appartenant à l'atrium droit du cœur commandant le rythme cardiaque. Plus précisément, HCN1 est majoritairement présent dans les neurones à large diamètre alors que HCN2 est présent principalement dans les nocicepteurs, récepteurs sensoriels de la douleur.<sup>158</sup> Concernant HCN3, il est uniquement présent dans les neurones et coexiste avec HCN2 dans les nocicepteurs.<sup>159,160</sup>

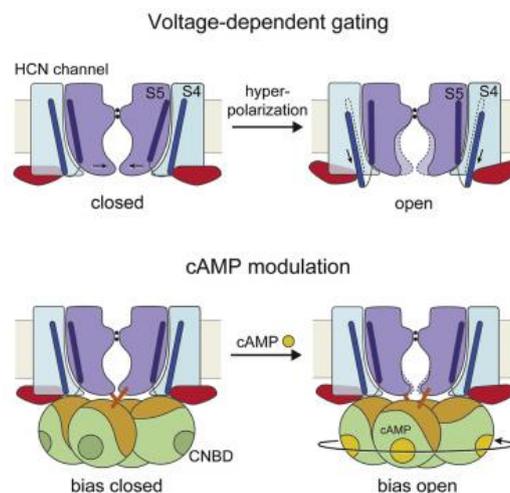
Les 4 isomères HCN sont activés par l'hyperpolarisation de leurs membranes, une propriété unique de ces canaux puisque que tous les autres canaux ioniques tensiodépendants reposent sur une dépolarisation de la membrane. Cette activation permet la génération d'un courant appelé  $I_h$  (h pour *hyperpolarisation*) pour les canaux présents dans le cerveau et appelé  $I_f$  (f pour *funny*, amusant) pour les canaux présents dans le cœur, qui, en plus de jouer un rôle important dans la régulation du rythme cardiaque, joue un rôle important dans l'excitabilité des

<sup>158</sup> Gareth T. Young, Edward C. Emery, Elizabeth R. Mooney, Christoforos Tsantoulas, Peter A. McNaughton, *Pain*, **2014**, 155, 1708–19.

<sup>159</sup> Sven Moosmang, Juliane Stieber, Xiangang Zong, Martin Biel, Franz Hofmann, Andreas Ludwig, *Eur. J. Biochem.*, **2001**, 268, 1646–52.

<sup>160</sup> Edward C. Emery, Gareth T. Young, Esther M. Berrocoso, Lubin Chen, Peter A. McNaughton, *Science*, **2011**, 333, 1462–66.

neurones.<sup>161</sup> Ajouté à cela, les formes HCN2 et HCN4 sont dépendantes de l'adénosine monophosphate cyclique (cAMP). De ce fait, en l'absence de cette dernière, l'extrémité C-terminale du canal HCN et plus précisément le domaine CNBD interagit avec le noyau du domaine transmembranaire et déplace l'activation à une tension nécessitant une hyperpolarisation plus importante, inhibant ainsi le fonctionnement de ces canaux. Or, l'interaction de cAMP avec le domaine CNBD provoque un changement conformationnel du domaine CNBD (**Figure IV-4**) et dissipe ainsi l'inhibition du canal HCN, permettant le fonctionnement de ce dernier. Pour HCN1 et HCN3, la modulation avec cAMP n'a que peu d'incidence sur l'activité du canal. Autrement dit, la tension d'activation est déplacée à un niveau toujours inférieur à celle provoquée par l'hyperpolarisation de sa membrane.<sup>157,162,163</sup>



**Figure IV-4** Schéma de fonctionnement des canaux HCN.<sup>164</sup>

Au cours des deux dernières décennies, de nombreuses recherches ont permis de montrer l'implication des canaux HCN1 et HCN2 dans le développement de douleurs neuropathiques.<sup>165,166</sup> Cependant, ces recherches ont également montré la difficulté de trouver un inhibiteur sélectif de l'un de ces deux canaux puisque les inhibiteurs existants comme l'ivabradine (unique molécule inhibitrice des canaux HCN autorisée par la FDA), ne sont pas sélectifs et inhibent plusieurs voire l'ensemble des canaux (dans le cas de l'ivabradine, les canaux HCN1, 2 et 4 sont affectés par la molécule). Le défi de ce projet est donc de parvenir à développer une approche thérapeutique ciblant les canaux HCN présents dans le cerveau

<sup>161</sup> U Benjamin Kaupp, Reinhard Seifert, *Annu. Rev. Physiol.*, **2001**, 63, 235–57.

<sup>162</sup> Brian J. Wainger, Matthew DeGennaro, Bina Santoro, Steven A. Siegelbaum, Gareth R. Tibbs, *Nature*, **2001**, 411, 805–10.

<sup>163</sup> Jing Wang, Shan Chen, Steven A. Siegelbaum, *J. Gen. Physiol.*, **2001**, 118, 237–50.

<sup>164</sup> Chia-Hsueh Lee and Roderick MacKinnon, *Cell*, **2017**, 168, 111-120.

<sup>165</sup> Yu-Qiu Jiang, Qian Sun, Hui-Yin Tu, You Wan, *Neurochem. Res.*, **2008**, 33, 1979–89.

<sup>166</sup> Aliakmal Momin, Hervé Cadiou, Adrian Mason, Peter A. McNaughton, *J. Physiol.*, **2008**, 586, 5911–29.

(HCN 1 et 2 de préférence) sans risquer de cibler HCN4. La recherche de nouveaux inhibiteurs sélectifs de ces canaux pourra entre autres reposer sur la structure cristallographique de HCN1 décrite avec et sans complexation avec cAMP en 2017 par CH. Lee.<sup>164</sup>

### 1.3. Une protéine auxiliaire uniquement exprimée dans le cerveau : TRIP8b

Une des pistes permettant de cibler les canaux présents dans le cerveau est de s'intéresser à TRIP8b, une unité auxiliaire de HCN présente uniquement dans le cerveau et régulant notamment le fonctionnement de ces canaux.<sup>167</sup> Cette protéine auxiliaire semble jouer un rôle important puisque des études réalisées par D. M. Chetkovic et coll. ont montrées que la suppression génétique de la protéine TRIP8b sur des souris perturbe le fonctionnement normal des canaux HCN dans les neurones<sup>168</sup> sans pour autant perturber les canaux HCN cardiaques.<sup>169</sup> Il semble donc possible d'altérer le fonctionnement des canaux HCN de manière indirecte en inhibant l'interaction entre TRIP8b et HCN et donc ainsi produire un effet antalgique lors du déclenchement des NPCI. De plus, TRIP8b étant uniquement exprimée dans le cerveau, le développement d'une approche thérapeutique ciblant cette interaction permet de ne pas affecter les canaux HCN présents dans le cœur et donc ainsi ne pas avoir d'incidence sur le rythme cardiaque. Des études ont déjà été menées dans le but d'inhiber les canaux HCN par le biais de l'interaction avec la protéine TRIP8b notamment pour le traitement de la dépression<sup>170</sup> ou encore de l'épilepsie.<sup>171</sup>

Concernant l'interaction entre TRIP8b et HCN, la protéine auxiliaire possède 2 sites d'interaction avec le canal : le premier se trouve entre le domaine CNBD (identiques pour HCN1, HCN2 et HCN4) et une portion de 40 acides aminés de long de TRIP8b tandis que la deuxième interaction se fait entre l'extrémité C-terminale du canal HCN (caractérisée par le peptide SNL, présent chez HCN1, HCN2 et HCN4) et le domaine tétratricopeptide (une séquence de 34 acides aminés organisée en tandem d'hélices  $\alpha$  répétés 6 fois) de TRIP8b.<sup>172</sup>

---

<sup>167</sup> Bina Santoro, Brian J. Wainger, Steven A. Siegelbaum, *J. Neurosci.*, **2004**, *24*, 10750–62.

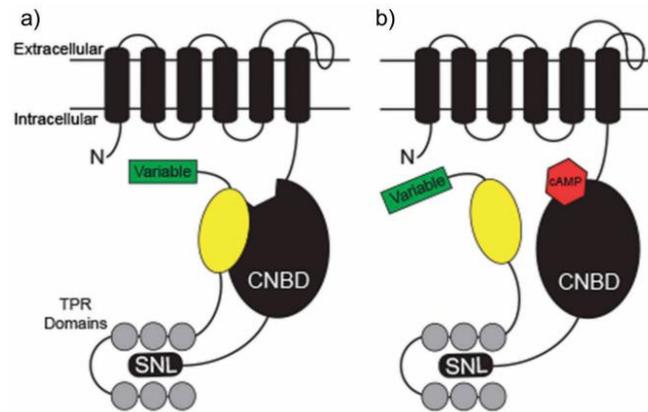
<sup>168</sup> Alan S. Lewis, Sachin P. Vaidya, Cory A. Blaiss, Zhiqiang Liu, Travis R. Stoub, Darrin H. Brager, Xiangdong Chen, Roland A. Bender, Chad M. Estep, Andrey B. Popov, Catherine E. Kang, Paul P. van Veldhoven, Douglas A. Bayliss, Daniel A. Nicholson, Craig M. Powell, Daniel Johnston, Dane M. Chetkovich, *J. Neurosci.*, **2011**, *31*, 7424–40.

<sup>169</sup> Robert J. Heuermann, Thomas C. Jaramillo, Shui Wang Ying, Benjamin A. Suter, Kyle A. Lyman, Ye Han, Alan S. Lewis, Thomas G. Hampton, Gordon M.G. Shepherd, Peter A. Goldstein, Dane M. Chetkovich, *Neurobiol. Dis.*, **2016**, *85*, 81–92.

<sup>170</sup> Kyle A Lyman, Ye Han, Dane M Chetkovich, *Expert Opin. Ther. Targets*, **2017**, *21*, 235–37.

<sup>171</sup> Christopher A. Reid, A. Marie Phillips, Steven Petrou, *Br. J. Pharmacol.*, Wiley-Blackwell, **2012**, 49–56.

<sup>172</sup> John R. Bankston, Stacey S. Camp, Frank DiMaio, Alan S. Lewis, Dane M. Chetkovich, William N. Zagotta, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2012**, *109*, 7899–7904.



**Figure IV-5** Interactions entre TRIP8b et HCN. Le domaine tétratricopeptide (représenté par les cercles gris) est en interaction avec le peptide SNL de l'extrémité C-terminale du canal HCN tandis que le domaine CNBD est en interaction soit **a)** avec TRIP8b, soit **b)** avec cAMP.<sup>172</sup>

Pour inhiber l'interaction entre TRIP8b et HCN, les travaux de Chetkovic ont indiqués que perturber un seul des sites d'interaction altère suffisamment la capacité de TRIP8b à interagir avec HCN pour limiter la fonction du canal.<sup>173</sup> Néanmoins, il semble beaucoup plus judicieux d'inhiber l'interaction entre TRIP8b et le l'extrémité SNL de HCN puisque cibler l'interaction avec le domaine CNBD semble plus risqué du fait que d'autres canaux ioniques présents chez l'Homme possèdent également des sites d'interactions avec des nucléotides cycliques dont l'adénosine monophosphate cyclique et donc inhiber l'interaction entre TRIP8b et HCN au niveau du domaine CNBD peut entraîner l'inhibition de ces autres canaux.<sup>174</sup>

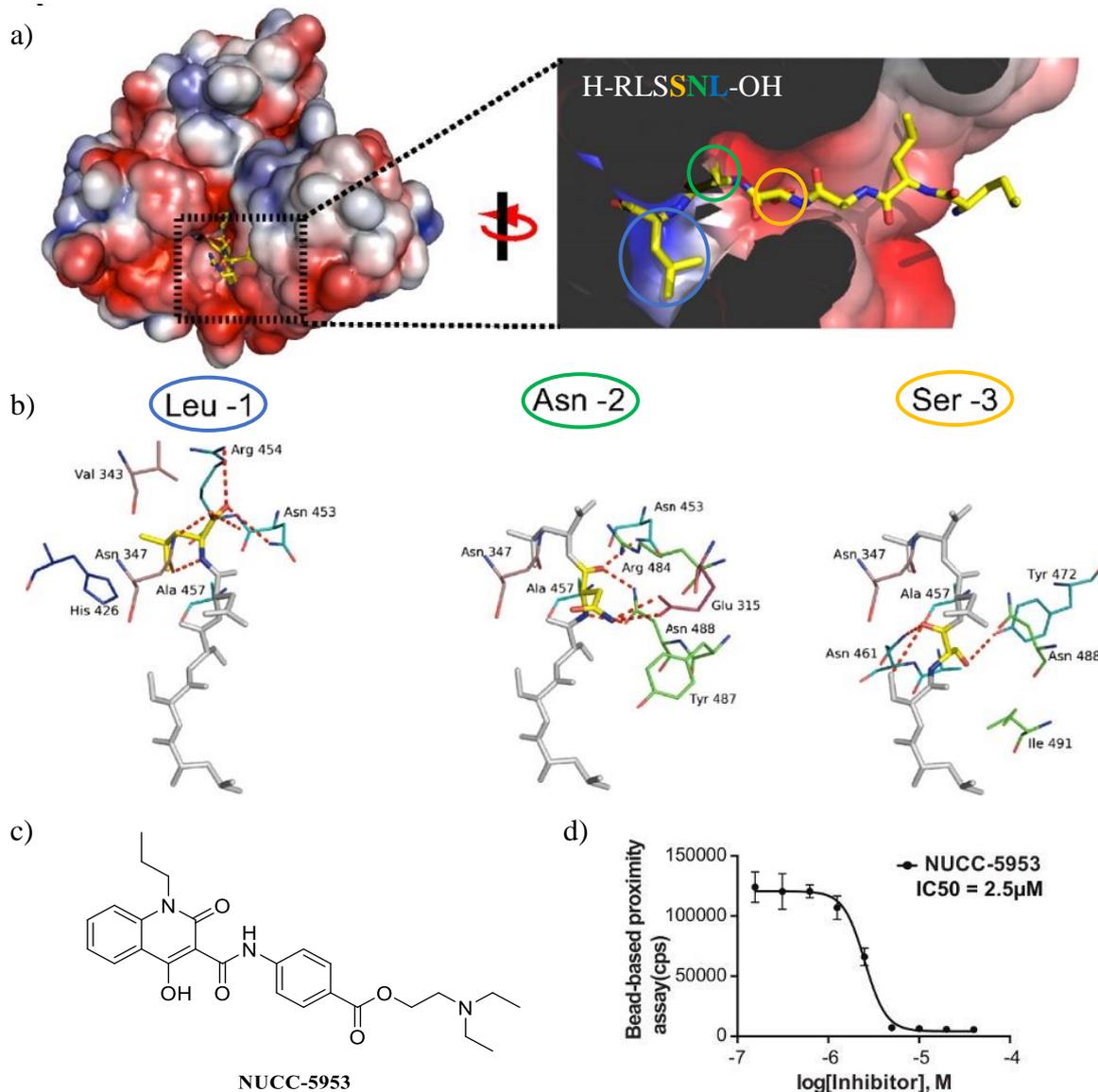
#### 1.4. Premières recherches d'inhibiteurs

Grâce aux travaux de l'équipe de W. N. Zagotta,<sup>172</sup> une structure cristallographique du complexe TRIP8b / peptide SNL de HCN2 est disponible et a permis de mettre en lumière l'interaction entre les deux protéines. De cette façon, il a été possible d'observer que le peptide SNL, représenté dans la structure cristallographique par un hexapeptide dont la séquence est H-RLSSNL-OH, vient s'insérer dans une poche de TRIP8b (**Figure IV-6** a et b). À la suite de ces analyses cristallographiques, un criblage à haut débit de 20 000 petites molécules, réalisé par l'équipe de D. M. Chetkovic, reposant sur un test de déplacement du peptide SNL (inhibition compétitive), a permis d'identifier un composé capable d'inhiber l'interaction avec une  $CI_{50}$  (concentration inhibitrice médiane ; concentration à laquelle est obtenue 50%

<sup>173</sup> Ye Han, Yoav Noam, Alan S. Lewis, Johnie J. Gallagher, Wytse J. Wadman, Tallie Z. Baram, Dane M. Chetkovich, *J. Biol. Chem.*, **2011**, 286, 20823.

<sup>174</sup> Kimberley B. Craven, William N. Zagotta, *Annu. Rev. Physiol.*, *Annu Rev Physiol*, **2006**, 375–401.

d'inhibition) de 2,5  $\mu\text{M}$  : NUCC-5953 (**Figure IV-6 c et d**).<sup>175</sup> Il s'agit du premier inhibiteur de cette interaction décrit dans la littérature. Néanmoins, son mode d'interaction avec TRIP8b est à ce jour inconnu.



**Figure IV-6 a)** Représentation de l'interaction entre le canal HCN2 (représenté par l'hexapeptide H-RLSSNL-OH en bâtons) et la protéine TRIP8b (représentée en surface) PDB : 4EQF. L'agrandissement permet d'observer la poche dans laquelle vient s'insérer l'extrémité de HCN2. **b)** Représentations des interactions entre TRIP8b et chaque acide aminé du tripeptide. Les liaisons hydrogènes sont représentées par des traits en pointillés rouge.<sup>172</sup> **c)** Structure de NUCC-5953 et **d)** courbe d'inhibition de l'interaction en fonction de la concentration en NUCC-5953.<sup>175</sup>

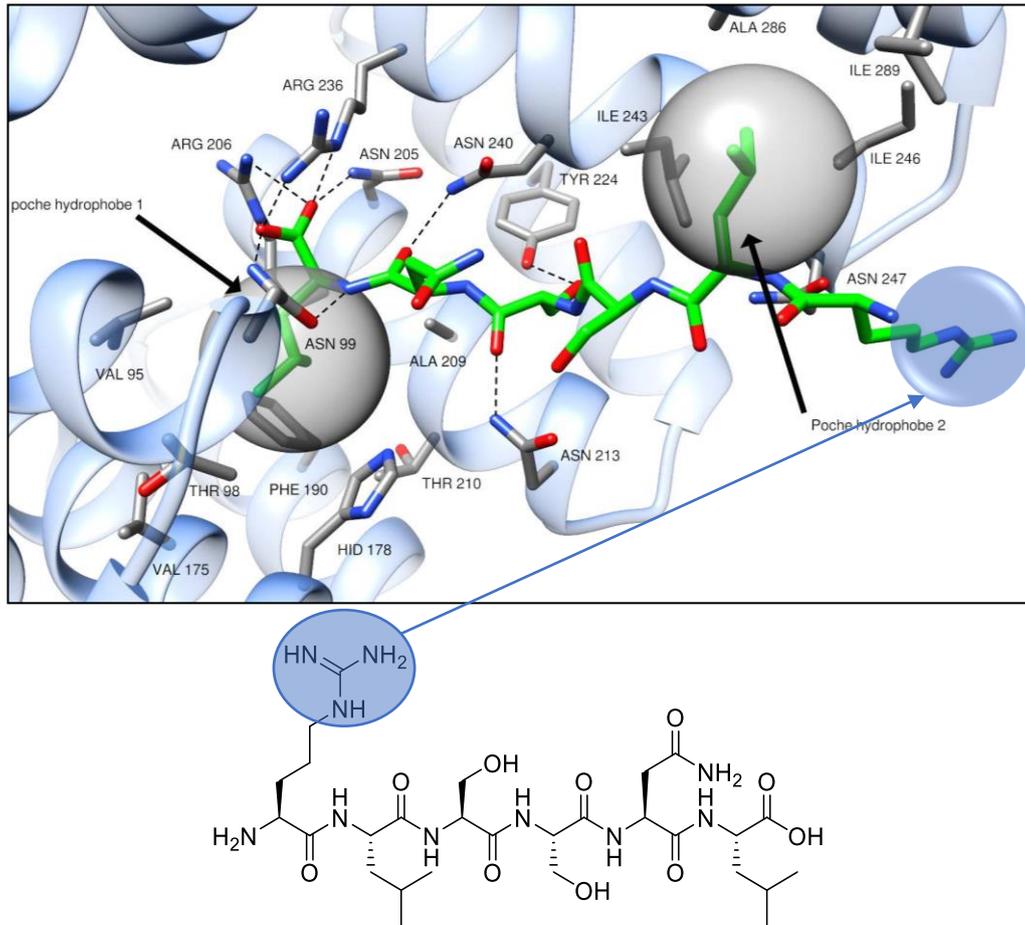
<sup>175</sup> Ye Han, Kyle Lyman, Matt Clutter, Gary E. Schiltz, Quratul-Ain Ismail, Diego Bleifuss Prados, Chi-Hao Luan, Dane M. Chetkovich, *J. Biomol. Screen.*, **2015**, *20*, 1124–31.

## **2. Les débuts du projet : obtention d'un premier mime tête de série**

Bien que NUCC-5953 semble être un inhibiteur intéressant, il n'est pas le plus adapté. En effet, puisque l'interaction entre les deux protéines se fait sur une surface relativement grande, il semble plus intéressant de développer un inhibiteur sous la forme d'un mime du tripeptide SNL, capable de réaliser davantage d'interactions avec TRIP8b. Cependant, du fait de leur faible perméabilité membranaire,<sup>13</sup> un mime 100% peptidique a peu de chance de passer à travers la barrière hématoencéphalique. De plus, il serait soumis aux différents processus de métabolisation du corps humain, diminuant grandement sa biodisponibilité.<sup>13</sup> Par conséquent, l'élaboration d'un mime sous la forme d'un peptoïde devrait permettre d'augmenter la perméabilité membranaire et ainsi pouvoir atteindre la cible dans le cerveau. C'est dans cette optique que le projet a été initié par Neuro-Dol en partenariat avec notre équipe.

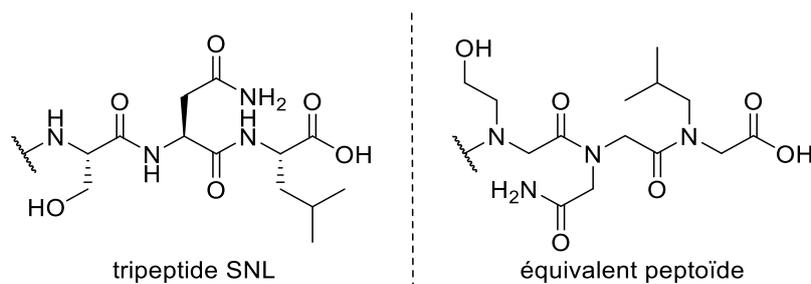
### **2.1. Études de modélisation moléculaire**

Les premiers travaux sur ce projet ont été réalisés dans le cadre du stage de Master 2 de Yoann Cirillo en 2018. Lors de ce stage, des études de modélisation moléculaire ont été réalisées par Lionel Nauton du service de modélisation moléculaire de l'ICCF, à partir de la structure décrite par Bankston (PDB : 4EQF)<sup>172</sup> avec correction de la structure de TRIP8b puisque certaines unités étaient manquantes. Ces études ont permis de mettre en évidence les différentes interactions entre les deux protéines ainsi que la présence de deux poches hydrophobes à l'entrée et au fond de la poche de TRIP8b (**Figure IV-7**). Il est intéressant de constater que les interactions entre l'extrémité C-terminale de HCN (représentée par l'hexapeptide H-RLSSNL-OH) et TRIP8b se font principalement avec les fonctions amides du squelette.



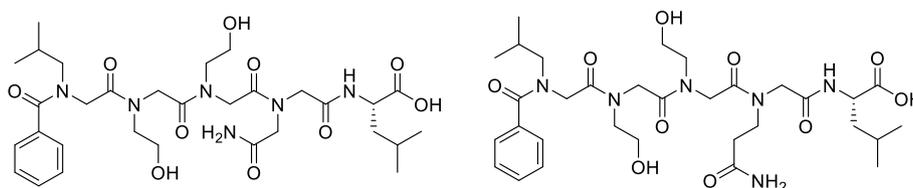
**Figure IV-7** Interactions entre le peptide H-RLSSNL-OH et la protéine TRIP8b et positions des 2 poches hydrophobes.

Par la suite, des études de dynamique moléculaire ont été réalisées sur le peptide SNL ainsi que sur son équivalent peptoïde. Pour cet analogue, la chaîne latérale de la leucine est mimée par l'isobutylamine, celle de l'asparagine pourra être introduite par la glycinamide tandis que pour mimer celle de la sérine, l'amine la plus proche utilisable est l'éthanolamine (**Figure IV-8**). Lors de cette étude, il a notamment été observé que pour le mime de la leucine, que ce soit avec la *N*-isobutyl glycine ou la *N-tert*butyl glycine, de fortes tensions sont présentes dans la structure. Il semble donc important de conserver la leucine à l'extrémité C-terminale.



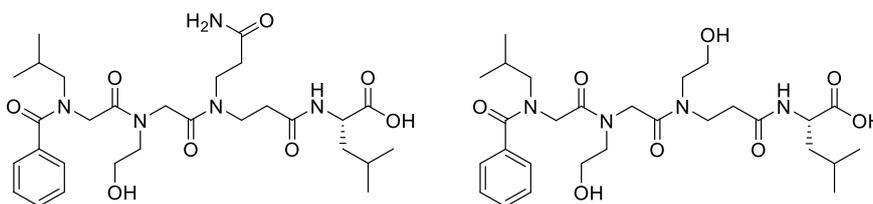
**Figure IV-8** Extrémité C-terminale du peptide SNL et son équivalent peptoïde

De cette façon, la structure de deux mimes a été mise au point (**Figure IV-9**). Ces deux composés permettant de mimer le peptide H-LSSNL-OH. À savoir que la présence du groupement benzoyl à l'extrémité N-terminale avait initialement pour objectif d'ajouter un groupement UV visible afin de faciliter les analyses et purifications par HPLC, tout en permettant de cibler la poche hydrophobe 2.



**Figure IV-9** Premières structures de mimes.

À la suite de cette étude préliminaire, la possibilité d'intégrer une ou plusieurs unités  $\beta$ -peptidique a été envisagée, notamment après la leucine, puisque d'après l'étude de dynamique moléculaire, le mime de l'asparagine ne semble pas avoir de possibilités d'interactions avec les acides aminés aux alentours. De ce fait, l'ajout d'une unité  $\beta$  permettrait de déplacer les chaînes latérales du mime et ainsi pouvoir potentiellement créer de nouvelles interactions avec TRIP8b mais également améliorer les interactions dans la seconde poche hydrophobe. Les résultats de l'étude de dynamique moléculaire indiquent que cet ajout semble être compatible avec le sillon de TRIP8b tout en ne perturbant pas les interactions entre la leucine et la première poche hydrophobe. Cela a donc permis de mettre au point une nouvelle structure intégrant cette unité  $\beta$  après la leucine. Cependant, lors de la synthèse de ce dernier, des problèmes ont été rencontrés lors de préparation de l'unité  $\beta$ , conduisant au changement de la chaîne latérale en faveur d'un mime de sérine (**Figure IV-10**).



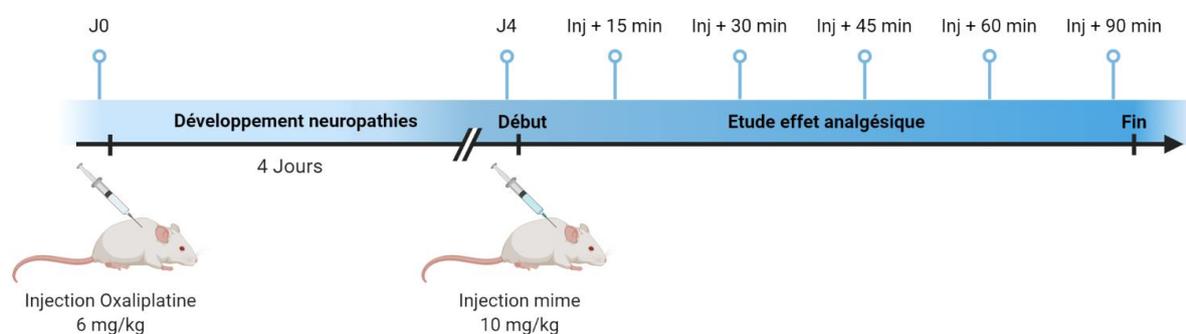
**Figure IV-10** Structures des mimes possédant l'unité  $\beta$

Ainsi, trois mimes ont été obtenus lors du stage de Master 2 puis ont été transmis à Neuro-Dol afin de les tester *in vivo*.

## 2.2. Essais *in vivo*

L'efficacité des différents peptoides synthétisés est évaluée grâce à des tests réalisés dans le respect des directives de l'IASP (*International Association for the Study of Pain*). Ces tests sont réalisés sur des souris blanches (souche CD-1®) placées une semaine au préalable dans un environnement contrôlé (température, humidité, lumière...) afin de les acclimater. L'oxaliplatine provoquant des hypersensibilités, notamment au froid, l'efficacité des peptoides est déterminée en évaluant la réactivité des nocicepteurs (neurones responsables du déclenchement de la douleur) grâce à la mesure du temps mis par la souris pour retirer sa queue ou sa patte immergée dans un bain d'eau froide à 10 °C (temps de rétractation).

Pour cela, une première mesure témoin est réalisée avant le début du test, puis l'oxaliplatine est injectée (6 mg/kg). Une nouvelle mesure est réalisée 90h après injection (J4), correspondant au pic d'hyperalgésie pour la neuropathie aiguë. Le mime à étudier est ensuite injecté (10 mg/kg) et différentes mesures sont réalisées à 15, 30, 45, 60 et 90 minutes post-injection (**Figure IV-11**). L'efficacité globale est déterminée en calculant l'aire sous la courbe (AUC : Area Under the Curve) obtenue pour chaque peptotide.

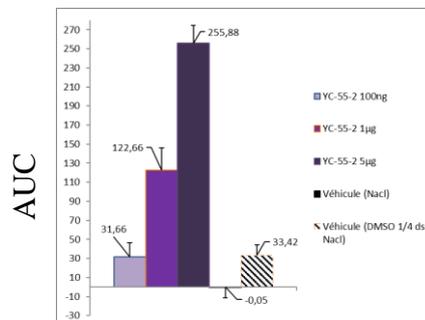
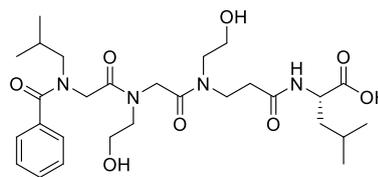
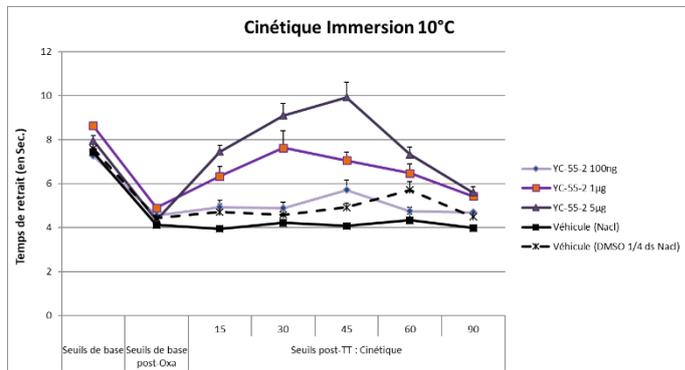


**Figure IV-11** Schéma récapitulatif des tests *in vivo*

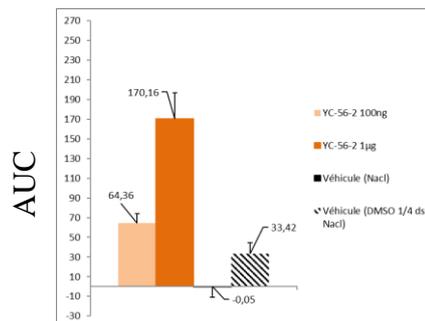
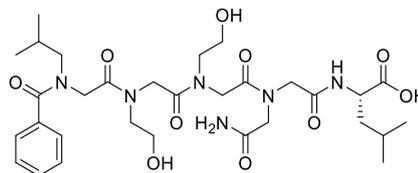
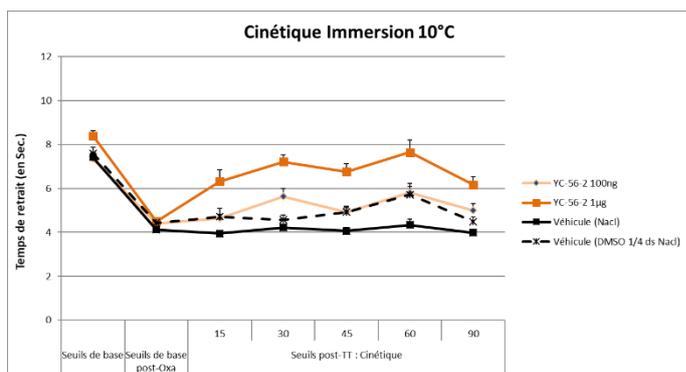
Le peptotide possédant l'efficacité la plus haute correspond donc à celui dont l'aire sous la courbe est la plus grande puisque cela signifie que la souris a été capable de garder sa queue ou sa patte dans l'eau plus longtemps et donc que la douleur a été diminuée. Les résultats obtenus pour les 3 mimes synthétisés sont présentés dans la **Figure IV-12**. Ces résultats ainsi que des tests complémentaires réalisés par Neuro-Dol indiquent que les 3 mimes possèdent une activité analgésique mais aussi que YC-55 semble être le meilleur candidat.

En plus des tests *in vivo*, les mimes ont également été testés *in vitro* afin d'étudier si les effets analgésiques observés chez la souris correspondent bien à une inhibition de l'interaction entre TRIP8b et HCN.

**YC-55**



**YC-56**



**YC-60**

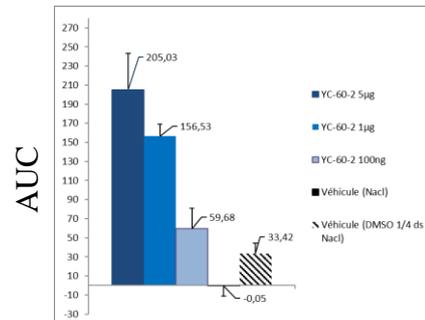
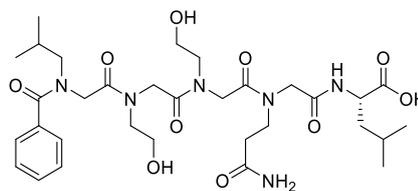
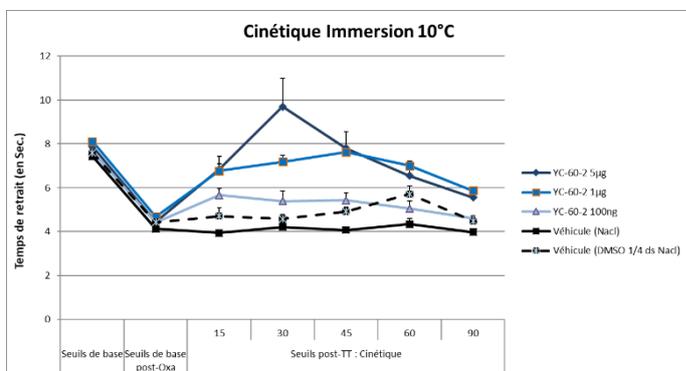
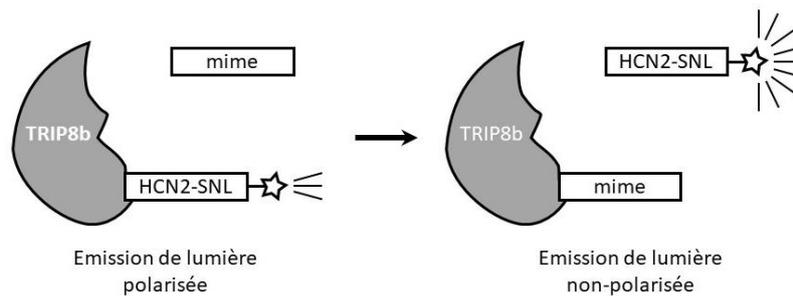


Figure IV-12 Résultats obtenus lors des tests *in vivo* pour les 3 mimes.  
AUC : Aire sous la courbe.

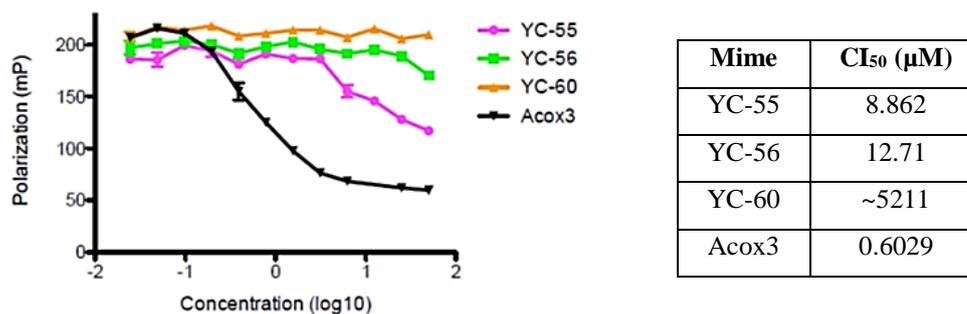
### 2.3. Essais *in vitro*

Les tests *in vitro* sont réalisés par l'équipe de D. M. Chetkovic à l'école de médecine Feinberg à Chicago. Au cours de ces tests, l'interaction entre TRIP8b et les mimes synthétisés est évaluée par polarisation de fluorescence. Pour cela, le test consiste à évaluer la capacité de nos mimes à rompre l'interaction entre TRIP8b et une version du tripeptide SNL possédant un marqueur fluorescent : la fluorescéine (**Figure IV-13**). Ainsi, en réalisant une étude en concentration, il est possible de déterminer la valeur de la  $CI_{50}$ .



**Figure IV-13** Principe des analyses par polarisation de fluorescence

Les 3 mimes YC-55, YC-56 et YC-60 ont été testés par l'équipe de Chetkovic (**Figure IV-14**) et les résultats confirment la tendance observée dans les tests *in vivo* puisque YC-55 semble être un inhibiteur compétitif du peptide SNL de l'extrémité C-terminale de HCN. Par ce test, une valeur de 8.862  $\mu\text{M}$  a été obtenue pour la  $CI_{50}$ . YC-56 possède un pouvoir inhibiteur plus faible avec une  $CI_{50}$  calculée de 12.71  $\mu\text{M}$ , tandis que YC-60 ne semble pas du tout adapté avec une valeur de  $CI_{50}$  calculée supérieure à 5 mM.

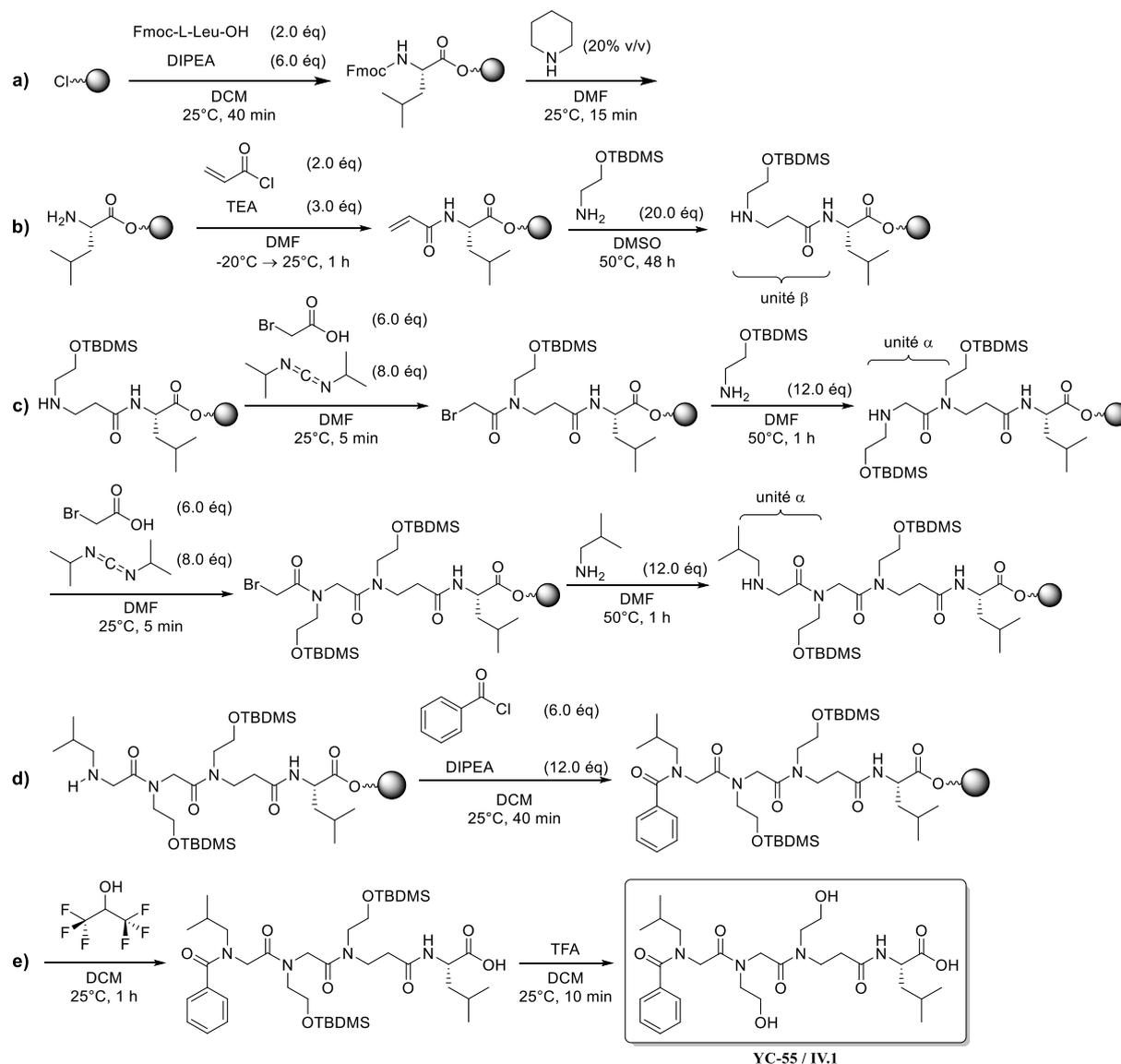


**Figure IV-14** Résultats obtenus pour les 3 mimes réalisés au cours du stage M2. Acox3 servant de contrôle positif.

### 3. Optimisation de l'approche synthétique

Lors de la synthèse des premiers mimes, une approche synthétique a été mise au point. Cette dernière repose sur la synthèse supportée, permettant ainsi d'avoir une méthode de synthèse rapide et sans étape de purification intermédiaire (**Schéma IV-1**). Il est cependant

nécessaire de protéger la fonction alcool de l'éthanolamine par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS) (amine A) afin d'éviter tout risques de réactions parasites sur ces fonctions. La déprotection est réalisée en fin de synthèse par traitement par un acide fort (ici l'acide trifluoroacétique) afin d'obtenir l'alcool libre.



**Schéma IV-1** Stratégie réactionnelle pour l'obtention du mème YC-55 / IV.1. **a)** couplage de la Fmoc-L-Leucine, **b)** obtention de l'unité β, **c)** obtention des 2 unités α, **d)** benzoylation de l'extrémité N-terminale, **e)** clivage et déprotection des chaînes latérales.

Pour la synthèse supportée, le choix du support solide s'est porté sur la résine chlorure de 2-chlorotrytyle (2-CTC), couramment utilisée en synthèse peptidique pour obtenir un acide carboxylique à l'extrémité C-terminale avec l'avantage de ne pas nécessiter de conditions dures pour le décrochage des peptides ou peptoides contrairement à la plupart des autres résines qui eux nécessitent l'utilisation d'un mélange composé au minimum à 90% de TFA. Ainsi, dans le

cas de la résine 2-CTC, un mélange de hexafluoroisopropanol (HFIP) dans le DCM est utilisé. Ceci permet également de préserver la protection des groupements alcools et ainsi permettre de continuer, si besoin, la synthèse en solution ou de réaliser des modifications post-traductionnelles.

Dans un premier temps, la Fmoc-L-Leucine, seul acide aminé du mime tête de série, est couplé à la résine via une réaction de substitution en milieu basique (**Schéma IV-1 a**). S'agissant de la première unité fixée sur la résine, la réaction est répétée une seconde fois afin de s'assurer que l'ensemble de la résine ait réagi. Afin de continuer la synthèse, le groupement Fmoc est retiré par traitement par une solution de pipéridine dans du DMF. Pour les unités peptoides suivantes, la méthode « submonomère » est utilisée. Cela signifie donc que les unités  $\beta$  sont obtenues par acylation de l'amine terminale avec du chlorure d'acryloyle suivie par une réaction d'aza-Michael (**Schéma IV-1 b**) et les unités  $\alpha$  sont obtenues par couplage de l'acide bromoacétique en présence de DIC sur l'amine terminale suivie par une réaction de substitution nucléophile avec l'amine souhaitée (**Schéma IV-1 c**). Pour terminer, l'extrémité N-terminale est benzoylée par réaction du chlorure de benzoyle (**Schéma IV-1 d**). Pour finir, la résine est traitée par une solution d'HFIP (pKa = 9.3) dans du DCM afin de décrocher le mime de la résine puis les fonctions alcools sont déprotégées par traitement par une solution de TFA dans du DCM (**Schéma IV-1 e**). Le produit brut est purifié par HPLC préparative puis lyophilisé, conduisant à l'obtention de YC-55 / **IV.1** sous la forme d'un solide cotonneux blanc.

Cependant, il a été observé que lors de la synthèse, l'obtention de l'unité  $\beta$  et plus précisément l'étape d'aza-Michael était problématique puisque les différentes analyses révèlent une très forte présence de l'acrylamide intermédiaire (**Figure IV-15**). Ainsi, l'un de mes premiers objectifs dans ce projet a été d'optimiser la synthèse mise en place pour le mime tête de série et notamment les conditions réactionnelles de l'étape d'aza-Michael supportée.

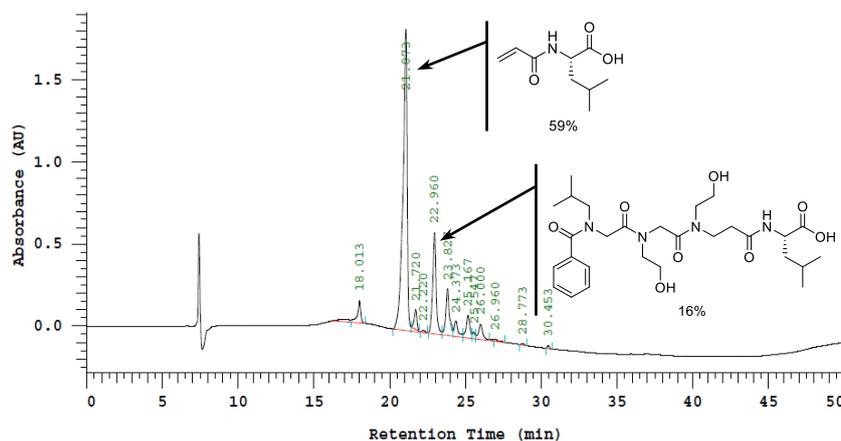


Figure IV-15 Chromatogramme HPLC analytique du produit brut.

Avant mon arrivée, deux solvants avaient été testés pour l'étape d'aza-Michael : le DMF et le DMSO. Il s'agit de deux solvants reportés par B. C. Hamper dans sa publication décrivant la synthèse supportée des  $\beta$ -peptoides.<sup>75</sup> Lors de ces différents essais, le DMF n'a conduit à aucune conversion après 48h à 50 °C tandis que pour un mélange 1:1 DMF/DMSO ou pour le DMSO seul, il a été possible de réaliser la réaction d'aza-Michael. Cependant les résultats obtenus avec le DMSO ne sont pas optimaux. De ce fait, mon travail a tout d'abord consisté à trouver de nouvelles conditions pour la formation de l'unité  $\beta$ . Pour cela, nous avons observé dans la littérature que plusieurs études sur la synthèse d'unités  $\beta$ -peptide indiquent que l'utilisation d'isopropanol permet d'obtenir des résultats satisfaisant pour l'étape d'aza-Michael.<sup>77,81</sup> Nous avons donc réalisé des essais de synthèse du mime YC-55 / **IV.1** en utilisant l'isopropanol pour l'obtention du mime  $\beta$  avec chauffage à 60 °C pendant 24h. La réaction est répétée une seconde fois afin de maximiser la conversion, permettant ainsi, en se basant sur les analyses HPLC et LC/MS, d'obtenir une conversion quasi-complète de l'acrylamide comme le montre la **Figure IV-16**. Avec cette modification, le composé **IV.1** est présent à 54% dans le résidu brut obtenu en fin de synthèse et un rendement global de 15% est obtenu après purification.

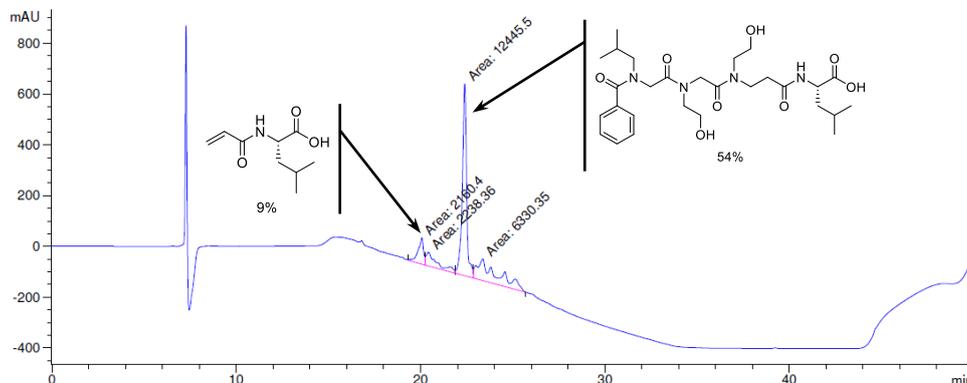


Figure IV-16 Spectre HPLC obtenu après modification du protocole.

#### 4. Conception et synthèse de nouveaux mimes

L'objectif du travail de recherche sur ce projet est de développer de nouveaux mimes reposant principalement sur la structure du mime tête de série dans l'optique d'obtenir de meilleures propriétés inhibitrices (**Figure IV-17**). Hormis la L-Leucine localisée à l'extrémité C-terminale, toutes les chaînes latérales sont modifiables pour l'élaboration de nouveaux composés.

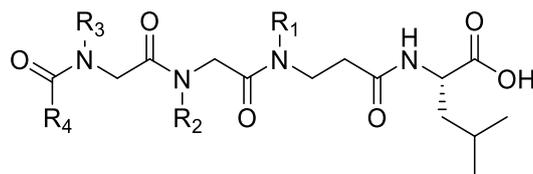


Figure IV-17 : Structure de référence pour l'élaboration des mimes

#### 4.1. Étude de modélisation moléculaire avec le mime YC-55 / IV.1

Avec l'obtention d'une première molécule tête de série donnant des résultats prometteurs, une étude de modélisation moléculaire a été réalisée, par le service de modélisation moléculaire de l'ICCF, afin d'en savoir davantage sur les interactions entre le mime YC-55 / IV.1 et TRIP8b (Figure IV-18 et Figure IV-19). Cette étude semble indiquer que YC-55 adopte une conformation différente de celle de l'extrémité C-terminale de HCN tout en conservant une affinité forte avec TRIP8b (Figure IV-18 a et b). La différence la plus marquée concerne le dernier résidu de YC-55 dont le groupe aromatique à l'extrémité N-terminale cherche une interaction avec la poche hydrophobe 2.

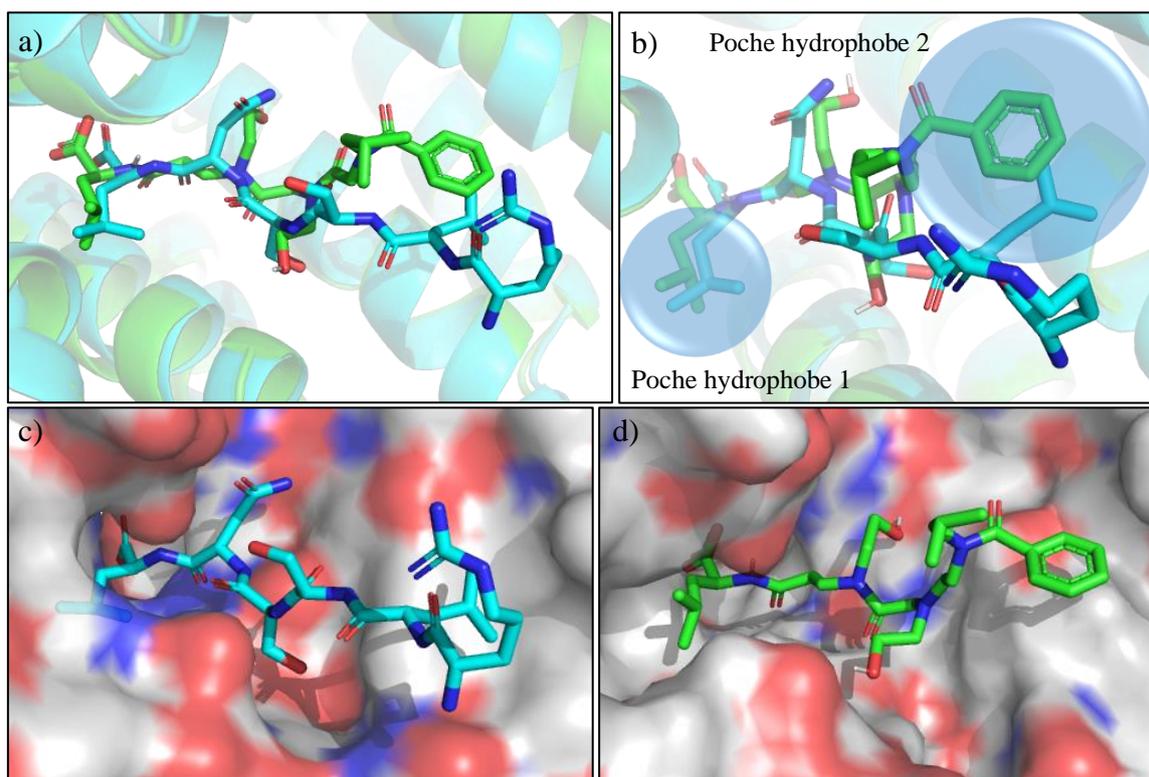
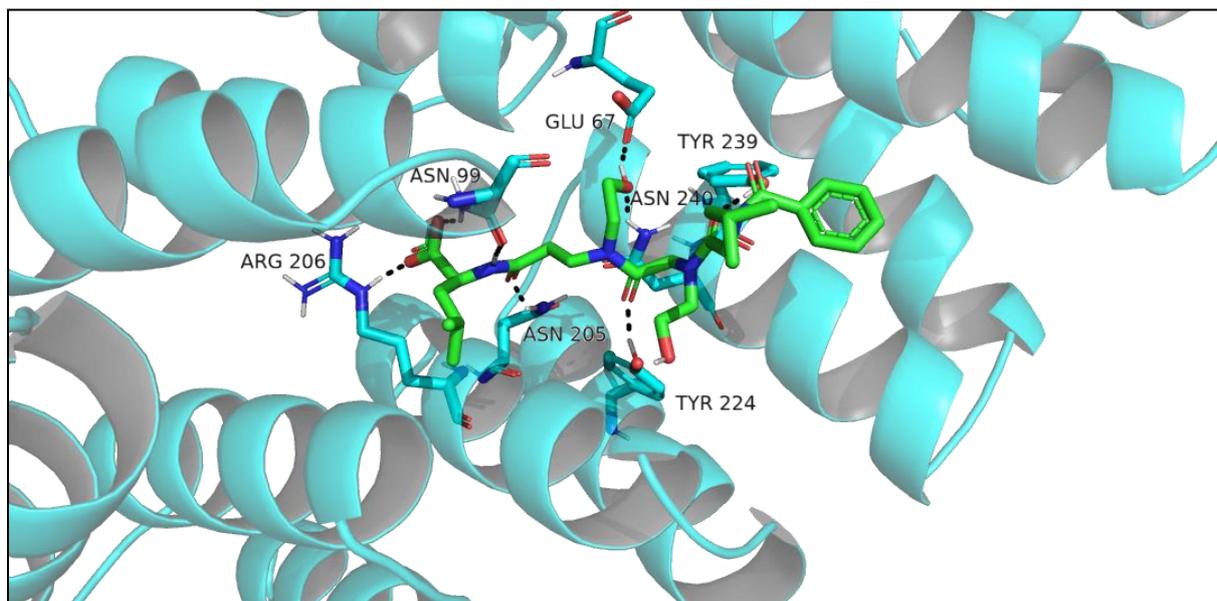


Figure IV-18 Études de modélisation moléculaire des interactions entre TRIP8b avec l'extrémité C-terminale de HCN2 (en bleu) et avec YC-55 (en vert). a) Superposition du peptide et du mime, b) zoom sur la disposition des chaînes latérales dans les poches hydrophobes. Représentation avec TRIP8b en surface c) du peptide de l'extrémité C-terminale de HCN2 et d) du mime YC-55.

En ce qui concerne les interactions entre TRIP8b et YC-55 (**Figure IV-19**), certaines interactions observées entre TRIP8b et le peptide SNL de l'extrémité C-terminale de HCN sont également présente avec YC-55. C'est notamment le cas pour l'ancrage du mime dans le fond de la poche puisque le fait d'avoir conservé la L-Leucine a permis de conserver 2 des 4 interactions présente avec le peptide SNL, à savoir les liaisons hydrogène entre l'acide terminal et les résidus ASN 99 et ARG 206. En revanche, pour les deux autres interactions avec les résidus ARG 236 et ASN 205, les distances avec YC-55 sont trop longues pour considérer des liaisons hydrogène (3.7Å pour ARG 236 et 5.4Å pour ASN 205). Dans les deux cas, la fonction amide de la L-Leucine réalise deux interactions avec TRIP8b, la première entre l'atome d'azote et l'asparagine 99, tandis que le carbonyle réalise une interaction hydrogène avec l'asparagine 240 dans le cas de l'extrémité C-terminale de HCN et avec l'asparagine 205 dans le cas du mime YC-55. Ainsi, avec 4 interactions entre la L-Leucine et TRIP8b, le mime YC-55 reste tout de même bien ancré dans le fond de la poche de TRIP8b, comme cela a été observé avec l'interaction entre HCN et TRIP8b.

En revanche, dans le cas d'YC-55, l'ASN 240 réalise une liaison hydrogène avec la fonction alcool de la chaîne latérale de l'unité  $\beta$ . Cette dernière réalise également une seconde liaison H avec l'acide glutamique 67. Enfin, le peptide SNL et YC-55 ont également en commun une interaction avec la tyrosine 224, à la différence près que pour le peptide SNL, l'interaction se fait avec la chaîne latérale de la sérine tandis que pour YC-55, cette interaction est réalisée avec la fonction amide liant l'unité  $\beta$  et la première unité  $\alpha$ . Pour finir, une dernière interaction est observée entre la fonction amide séparant les deux unités  $\alpha$  et le résidu TYR 239.

Bien que les interactions ne soient pas identiquement les mêmes, nous retrouvons les mêmes acides aminés de TRIP8b qui contribuent au réseau d'interactions hydrogène avec YC-55, confortant la bonne affinité du mime avec la protéine.



**Figure IV-19** Modélisation moléculaire des interactions entre le mime tête de série YC-55 (en vert) et TRIP8b (en cyan). Seuls les acides aminés de TRIP8b en interaction avec YC-55 sont représentés.

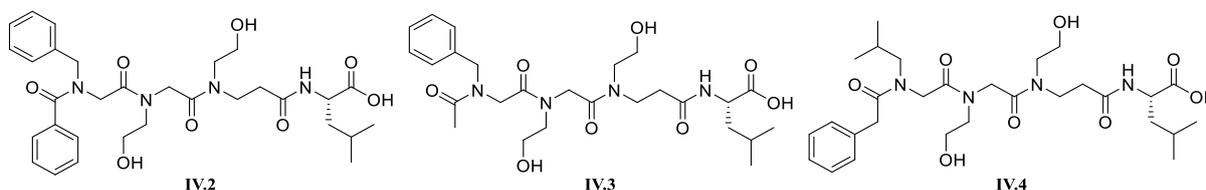
C'est donc à partir de cette étude de modélisation moléculaire que nous avons réfléchi à différentes modifications à envisager concernant la structure du mime YC-55 / **IV.1** avec l'espoir d'améliorer son affinité avec TRIP8b.

#### **4.2. Optimisation des interactions avec la poche hydrophobe 2 (R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub>)**

Par suite de l'étude de modélisation moléculaire réalisée avec YC-55, nous avons pu observer que pour YC-55, le groupement benzoyle semble chercher une interaction avec la poche hydrophobe 2 alors que pour l'extrémité C-terminale de HCN, il s'agit de la chaîne latérale de la L-Leucine en position 5 qui s'insère dans la poche (**Figure IV-5**). Il se peut donc qu'il existe une potentielle compétition entre la chaîne latérale en position (groupement isobutyle dans le cas d'YC-55) et le groupement benzoyle présent à l'extrémité N-terminale.

Ainsi, il nous a donc semblé intéressant d'évaluer l'influence de la position du noyau aromatique entre les positions R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub>. Nous avons donc élaboré 2 analogues : le premier possédant un groupement benzyle, introduite par la benzylamine, en position R<sub>3</sub> et le groupement benzoyle en position R<sub>4</sub> (composé **IV.2**) tandis que le second est acétylé en position R<sub>4</sub> par réaction de l'anhydride acétique en présence de DIPEA sur l'amine secondaire terminale (composé **IV.3**). Enfin, d'après l'étude de modélisation moléculaire, il semble possible de développer de nouveaux mimes en apportant des changements à l'extrémité N-terminale benzoylée. Une des possibilités envisagées a été d'éloigner d'un carbone le noyau aromatique

et donc d'introduire un groupe phénylacétyle à la place du benzoyle présent dans YC-55 (composé **IV.4**).

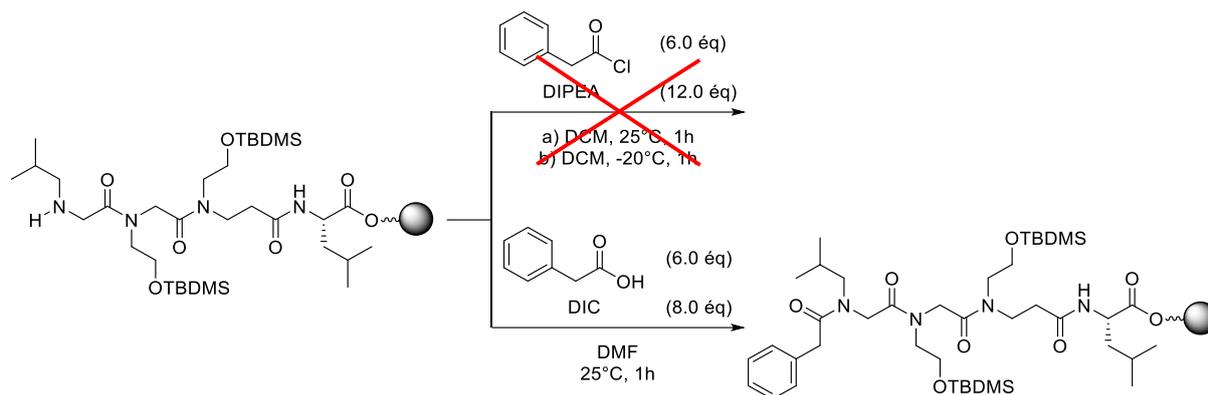


**Figure IV-20** Structures des trois mimes pour l'étude des groupements R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub>.

Pour préparer ce 3<sup>ème</sup> analogue, une acylation par un chlorure d'acide (chlorure de phénylacétyle) en présence de DIPEA a été envisagée, à l'instar de ce qui est réalisé pour benzoyle l'extrémité N-terminale de YC-55 (PhCOCl, DIPEA, DCM). Cependant, lors des premières tentatives de synthèses, il s'est avéré que la réaction entre le chlorure d'acide et DIPEA soit trop violente et exothermique, provoquant des projections de la résine en dehors de la seringue dans laquelle a lieu la synthèse lors de l'ajout du chlorure d'acide.

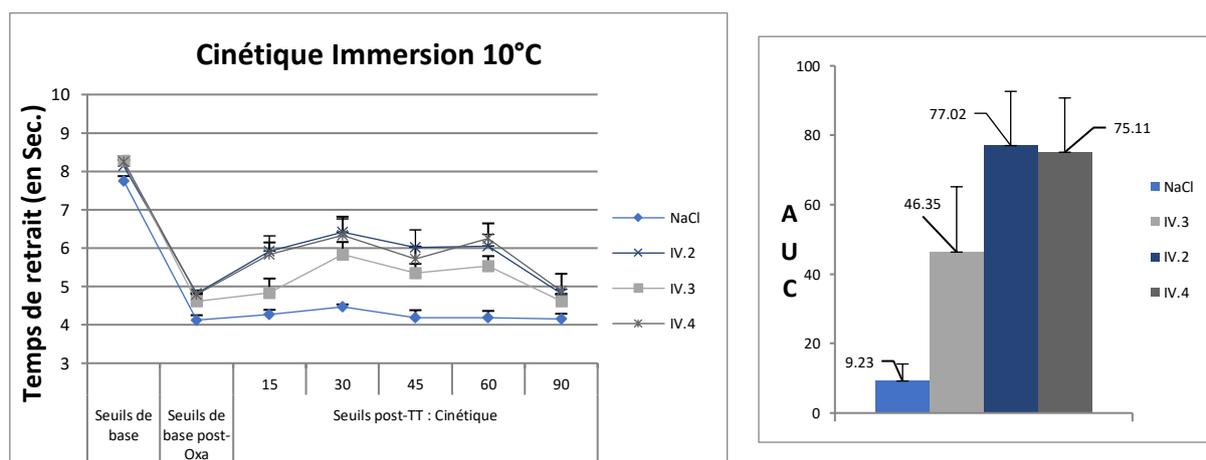
Une nouvelle synthèse a donc été tentée en refroidissant au préalable le milieu réactionnel. Ainsi, la résine est d'abord refroidie grâce à plusieurs lavages avec du DCM à -20 °C puis la solution de DIPEA dans le DCM à -20 °C est versée sur la résine. Enfin, la solution de chlorure de phénylacétyle dans le DCM à -20 °C est lentement ajoutée à la résine. Malgré ces précautions, la réaction reste très exothermique et une importante chaleur se dégage de la seringue, provoquant des projections moindres. L'analyse LC/MS du brut réactionnel indique bien la présence du produit attendu mais une impureté se trouve sous le pic correspondant au peptoïde. La purification semble donc très compliquée.

Avant d'essayer de purifier ce peptoïde, une dernière approche a été testée pour obtenir le composé **IV.4**. Elle repose non plus sur l'utilisation du chlorure de phénylacétyle mais sur le couplage de l'acide phénylacétique (**Schéma IV-2**). Pour cela, les mêmes conditions que celles utilisées pour le couplage de l'acide bromoacétique ont été utilisées. Par cette approche, la réaction s'est déroulée sans aucune complication à TA. Après décrochage de la résine, le résidu brut est analysé par LC/MS et l'analyse indique une bien meilleure pureté que lors du dernier test avec le chlorure de phénylacétyle.



**Schéma IV-2** Approches synthétiques testées pour la réaction d'amidation de l'extrémité N-terminale en vue d'obtenir le peptoïde **IV.4**.

Après synthèse, les 3 peptoïdes ont été purifiés par chromatographie Flash en phase inverse sur des cartouches composées de gel de silice C18 avec comme solvant un gradient de méthanol dans l'eau avec 0,1% de TFA. Une fois purifiés, ils ont été lyophilisés puis ont été confiés à Neuro-Dol afin de les tester *in vivo* (**Figure IV-21**).



**Figure IV-21** Résultats obtenus *in vivo* avec les trois nouveaux mimes (10 mg/kg).

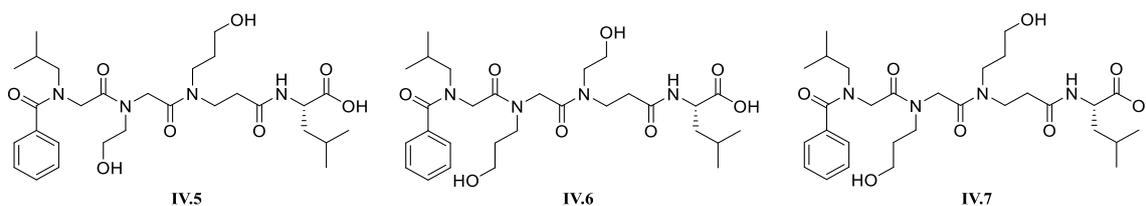
Les résultats obtenus indiquent que l'augmentation de l'encombrement de la chaîne latérale R<sub>3</sub> (composés **IV.2** et **IV.3**) provoque une diminution importante de l'efficacité du mime. Cela est d'autant plus le cas avec l'analogue acétylé (composé **IV.3**) avec une aire sous la courbe de 46, ce qui représente une baisse d'affinité d'environ 80% par rapport au mime tête de série. La position du groupement benzyle sur l'extrémité N-terminale semble donc jouer un rôle assez important dans l'affinité du mime avec TRIP8b. En ce qui concerne le mime **IV.4**, l'allongement de la longueur de la chaîne portant le noyau aromatique ne permet pas d'améliorer les propriétés inhibitrices de notre mime puisque l'affinité avec TRIP8b est divisée par environ 2,5 par rapport à YC-55.

Ainsi, lors de l'ajout du groupement benzyle en position R<sub>3</sub>, les deux noyaux aromatiques étant à égale distance de l'atome d'azote, ils sont tous les deux susceptibles d'occuper la poche hydrophobe 2. Néanmoins, le composé **IV.2** semble conduire à une mauvaise orientation de la chaîne latérale R<sub>3</sub>. De ce fait, la réalisation du mime acétylé **IV.3** aurait pu être une approche permettant de résoudre le conflit, cependant les résultats observés *in vivo* indiquent que l'affinité avec TRIP8b n'est pas améliorée, suggérant donc une meilleure orientation du groupement benzyle dans la poche hydrophobe 2. De même, l'élongation de la chaîne en position R<sub>4</sub> d'un groupement méthylène (composé **IV.4**) ne permet également pas d'améliorer l'affinité du mime tête de série. Nous décidons de conserver les groupes R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> présents sur YC-55 (R<sub>3</sub> = isobutyle, R<sub>4</sub> = benzyle) pour se concentrer davantage sur les chaînes latérales se trouvant à l'intérieur de la poche de TRIP8b, à savoir les chaînes R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>.

### 4.3. Optimisation des chaînes latérales des deux premières unités peptoides (R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>)

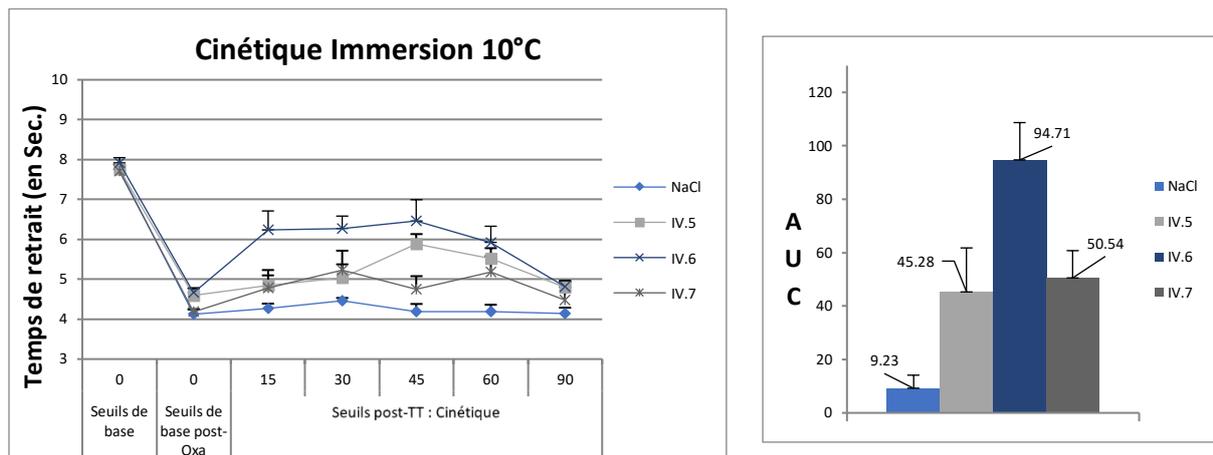
Sur le mime tête de série YC-55, les deux chaînes latérales R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> hydroxyéthyle sont introduites par l'éthanolamine dont la fonction alcool est protégée. La première idée de modification qui peut être apportée est l'homologation de cette chaîne latérale. Pour cela, la nouvelle chaîne latérale serait introduite par le biais du 3-amino-propan-1-ol, également protégé par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (amine B).

Afin d'évaluer l'efficacité de cette nouvelle chaîne latérale aux positions R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>, 3 nouvelles structures de mime ont été élaborées (composés **IV.5**, **IV.6**, **IV.7** Figure IV-22).



**Figure IV-22** Structures des 3 mimes possédant la nouvelle chaîne hydroxypropyle.

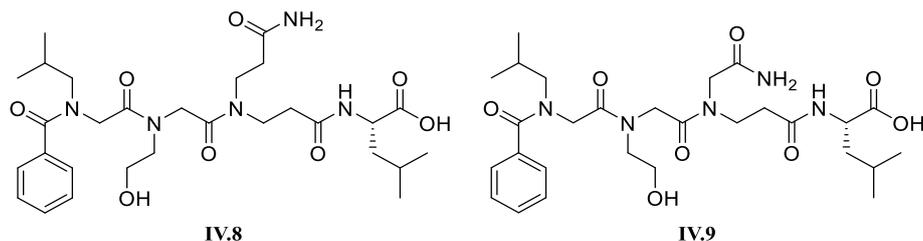
Ces 3 nouveaux mimes ont donc été synthétisés de manière similaire à YC-55 en utilisant l'amine adaptée pour les groupements R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>. Après purification et lyophilisation, leur efficacité a été évaluée *in vivo*. Les résultats obtenus sont rassemblés dans la **Figure IV-23**.



**Figure IV-23** Résultats *in vivo* des 3 nouveaux mimes (10 mg/kg).

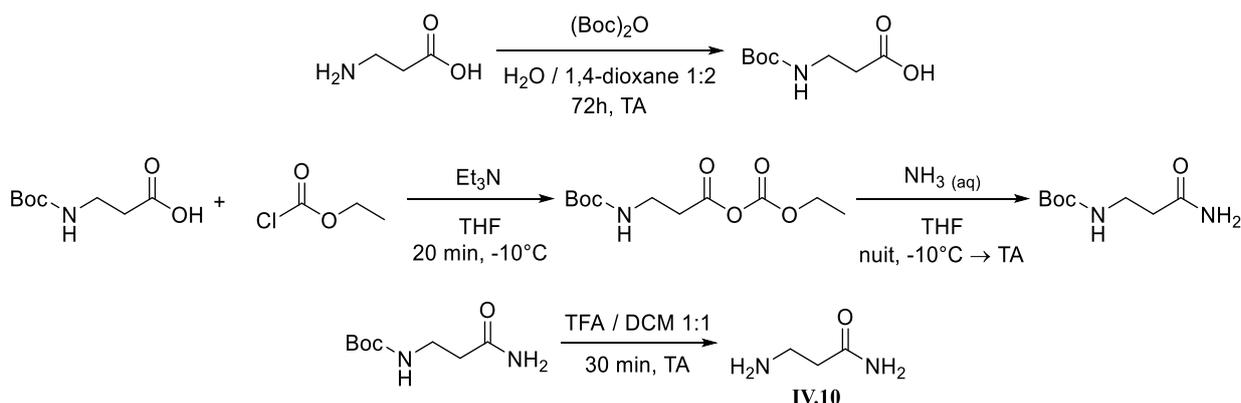
Les résultats *in vivo* indiquent que lorsque la nouvelle chaîne latérale se trouve en position R<sub>1</sub> (composé **IV.5**), l'effet antalgique se retrouve divisé par 4 par rapport au composé tête de série YC-55. La modélisation moléculaire peut donner une potentielle explication de ce résultat puisque en s'intéressant aux interactions entre TRIP8b et YC-55 (**Figure IV-19**), on observe que la chaîne latérale R<sub>1</sub> de YC-55 réalise une liaison hydrogène avec l'acide glutamique 67 de TRIP8b or si cette chaîne latérale est allongée d'un groupement méthylène, cette liaison hydrogène est probablement rompue, diminuant donc l'affinité du mime **IV.5** par rapport au mime tête de série. Quant au mime avec la nouvelle chaîne latérale en position R<sub>2</sub> (composé **IV.6**), l'élongation de chaîne latérale provoque une diminution d'environ 50% de l'affinité du mime avec TRIP8b par rapport à YC-55. Bien que, d'après la modélisation moléculaire, il ne semble pas y avoir d'interaction directe entre la chaîne latérale R<sub>2</sub> et TRIP8b, l'ajout d'un groupement méthylène sur la chaîne latérale déstabilise l'interaction entre le mime et TRIP8b. En ce qui concerne le mime **IV.7**, possédant la nouvelle chaîne latérale à la fois en position R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub>, les résultats obtenus *in vivo* sont en accord avec l'observation faite pour le composé **IV.5**, à savoir la possible suppression d'une interaction hydrogène avec TRIP8b, divisant par 4 l'affinité du mime avec la protéine.

Afin de se rapprocher un peu plus de la structure de l'extrémité C-terminale de HCN, des essais ont ensuite été réalisés afin d'obtenir des composés contenant en position R<sub>1</sub> une chaîne latérale terminée par une fonction amide primaire. Ainsi, deux mimes ont été envisagés, le premier avec un mime de la glutamine (**IV.8**) et le second avec un mime de l'asparagine (**IV.9**) (**Figure IV-24**).



**Figure IV-24** Structures des deux mimes possédant la fonction amide en position R<sub>1</sub>

Pour obtenir le mime **IV.8**, l'amine correspondante (**IV.10**) n'étant pas disponible commercialement, elle est donc obtenue à partir de la β-alanine (**Schéma IV-3**). Pour cela, l'amine est protégée par un groupement Boc puis l'acide est converti en amide par réaction avec le chloroformiate d'éthyle suivie d'une aminolyse par l'ammoniaque. La déprotection de l'amine avec une solution de TFA dans le DCM (1:1) conduit au sel de TFA de l'amine **IV.10**. L'amine libre est obtenue après passage sur une résine échangeuse d'ions.



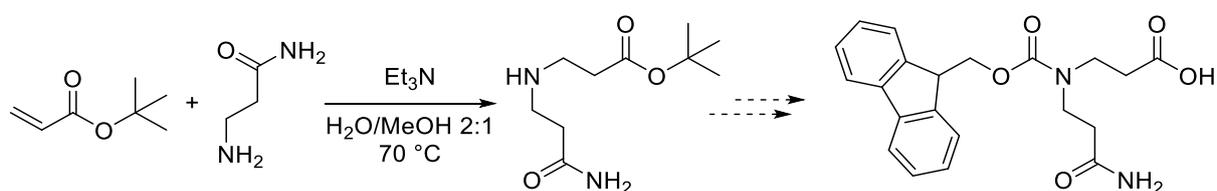
**Schéma IV-3** Synthèse de l'amine mime de la glutamine

Les efforts de synthèses ont été concentrés sur l'obtention du mime **IV.8** puisqu'il s'agit d'une structure ayant montré les meilleurs résultats lors des études de dynamique moléculaire au début du projet. Lors du premier essai de synthèse du mime **IV.8**, des problèmes de solubilisation ont été observés avec l'isopropanol. Malgré l'ajout de 1 mL de DMSO, la solution reste trouble et l'aza-Michael est tout de même lancée. Malheureusement, l'analyse LC/MS réalisée en fin de synthèse révèle une absence totale du produit ainsi que la présence uniquement de l'acrylamide, significatif de l'échec de l'étape d'aza-Michael.

Des tests de solubilisation indiquent que l'amine est principalement soluble de l'eau, cependant la résine utilisée pour les synthèses supportées n'est pas compatible avec l'eau. De ce fait, un mélange 50/50 H<sub>2</sub>O/NMP (solvant souvent employé en synthèse peptidique) est utilisé dans un nouvel essai de synthèse. Cependant, même avec une grande quantité de solvant (3.2 mL), la solubilisation de l'amine n'est pas totale, diminuant la concentration à 0.5 M au

lieu de 2.0 M. Après les 48h de réaction, un micro-clivage (clivage sur un petit échantillon de résine) a été réalisé et a révélé l'échec de la réaction puisque seul l'acrylamide a été observé. Le problème de solubilité observé rend difficile l'étape d'aza-Michael puisque la solubilisation est uniquement possible aux dépens de la concentration, or pour obtenir une conversion correcte, l'étape d'aza-Michael doit être réalisée à forte concentration. De ce fait, il semble difficile d'obtenir l'unité  $\beta$  par cette approche.

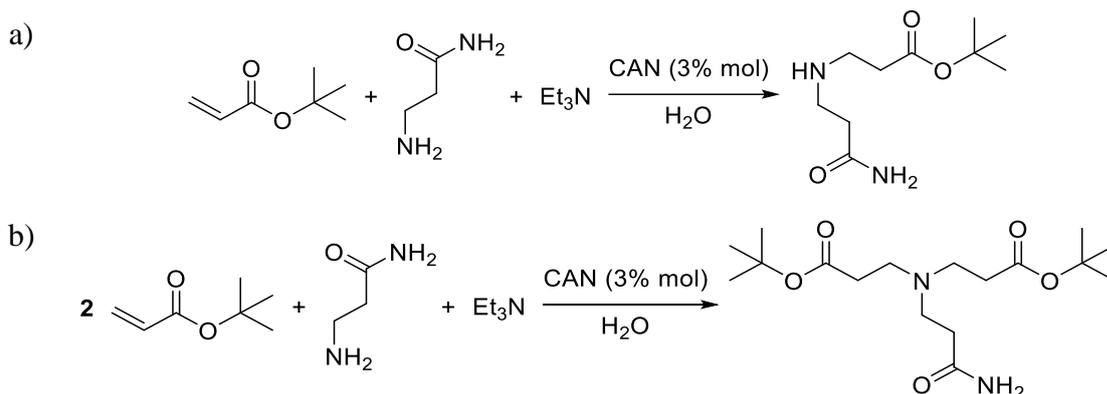
Pour contourner le problème, une solution possible serait de réaliser l'unité  $\beta$  en solution pour ensuite l'intégrer au cours de la synthèse supportée par couplage peptidique classique. Pour cela, l'étape d'aza-Michael pourrait être réalisée sur le bromoacétate de *tert*-butyle suivie par une protection de l'amine secondaire par un groupement Fmoc. Enfin, l'ester de *tert*-butyle serait hydrolysé par traitement acide afin d'obtenir l'acide libre pour le couplage lors de la synthèse supportée (**Schéma IV-4**). Lors de la première tentative de réaction d'aza-Michael avec comme solvant un mélange H<sub>2</sub>O / MeOH 2:1, après 48h de réaction à 70 °C, la formation d'un produit est observée. Cependant, une quantité trop faible de produit a été obtenue, empêchant donc la poursuite de la synthèse.



**Schéma IV-4** Approche synthétique pour l'obtention du mème de la glutamine.

De ce fait, de nouvelles conditions réactionnelles sont envisagées avec l'ajout de nitrate de cérium et d'ammonium (CAN), un réactif connu pour catalyser la réaction d'aza-Michael, et cela même en milieu aqueux.<sup>176</sup> L'objectif de l'ajout de CAN étant de pouvoir favoriser une conversion plus rapide sans pour autant obtenir le produit issu de la double addition. Ainsi, dans ces nouvelles conditions, le CAN est ajouté en quantité catalytique au milieu réactionnel (3% molaire) et la réaction est réalisée dans l'eau à 70 °C. Après 6h de réaction, les analyses CCM indiquant une conversion incomplète, la réaction a été poursuivie toute la nuit. Malheureusement l'analyse par RMN a révélé que le produit isolé n'était pas le produit attendu mais celui issu d'une double réaction aza-Michael, soit une fonction amine ayant réagi avec deux acrylates (**Schéma IV-5**).

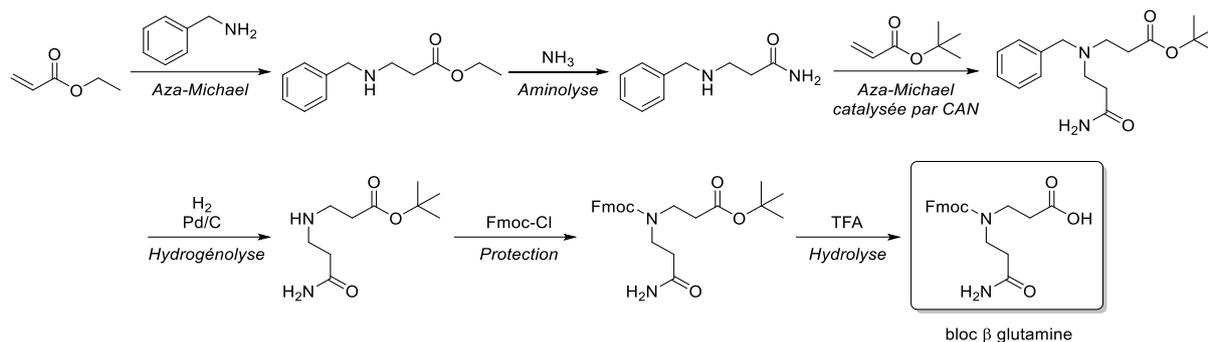
<sup>176</sup> Ravi Varala, Nuvula Sreelatha, Srinivas R. Adapa, *Synlett*, **2006**, 2006, 1549–53.



**Schéma IV-5** Réaction d'aza-Michael catalysée par le CAN : a) produit attendu, b) produit obtenu.

Le suivi par CCM de la réaction indique que le produit issu de la double addition est formé dès le début de la réaction. Une nouvelle tentative a été réalisée en présence d'une plus grande quantité d'amine (4.0 éq au lieu de 2.0) et à température ambiante afin de limiter le risque de double addition. Malheureusement, le produit de double addition est observé dès le début de la réaction. De ce fait, une nouvelle méthode de synthèse a été envisagée, comportant l'ajout d'une étape de protection de l'amine par un groupement benzyle afin de rendre impossible la double addition. De cette façon, la benzylamine est additionnée par réaction d'aza-Michael sur l'acrylate d'éthyle suivie par l'aminolyse de l'ester en présence d'ammoniaque, conduisant à l'obtention de la fonction amide à l'extrémité de la chaîne latérale. Ensuite, l'amine secondaire réagit par réaction d'aza-Michael en présence de CAN sur l'acrylate de *tert*-butyle, puis le groupement benzyle est retiré par hydrogénéolyse avant de protéger l'amine avec un groupement Fmoc. Enfin, le bloc final est obtenu par hydrolyse de l'ester de *tert*-butyle (**Schéma IV-6**). Cette étape de déprotection devrait être réalisée juste avant le couplage afin d'éviter tout risque de dégradation pendant le stockage lorsque le bloc est sous forme acide.

Par cette approche, la synthèse du bloc a été réalisée jusqu'à la protection par le groupement Fmoc avec un rendement global de seulement 7%. De ce fait, cette voie de synthèse ne semble pas utilisable afin de produire le bloc en quantité suffisante. Sachant que plusieurs équivalents doivent être engagés en synthèse supportée afin d'assurer une conversion complète. Cette méthode de synthèse ne sera donc pas utilisée pour l'obtention de l'unité  $\beta$  glutamine.

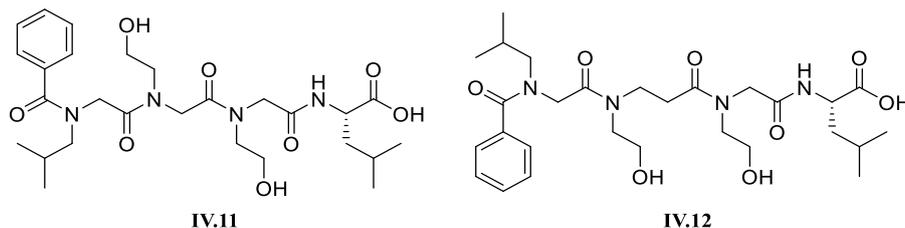


**Schéma IV-6** Nouvelle approche synthétique avec protection par un groupement benzyle.

Les différentes tentatives d'élongation des chaînes latérales R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> indiquent que l'augmentation de la longueur n'est pas favorable à l'amélioration de l'affinité entre le mime et TRIP8b. En s'intéressant de nouveau aux études de dynamique moléculaire réalisées sur YC-55 (**Figure IV-18**), l'espace disponible ne semble donc pas suffisant, notamment pour R<sub>1</sub> et dans le cas de R<sub>2</sub>, l'augmentation de la longueur ne semble pas créer de nouvelle interaction stabilisante. Cependant, pour d'autres chaînes latérales, l'étape d'aza-Michael étant problématique, il a été nécessaire de trouver une voie alternative. C'est notamment le cas pour l'analogue **IV.8**, or, s'agissant du mime ayant montré les meilleurs résultats lors des études de dynamique moléculaire au début du projet, de nombreux efforts ont été réalisés afin de pouvoir l'obtenir. En effet, à la suite de problèmes de solubilité observés avec l'amine, il n'a pas été possible de réaliser l'étape d'aza-Michael en synthèse supportée, contraignant donc à essayer d'obtenir l'unité β en solution. Après plusieurs tentatives, le bloc correspondant a été obtenu avec un faible rendement, rendant difficile la poursuite de la synthèse.

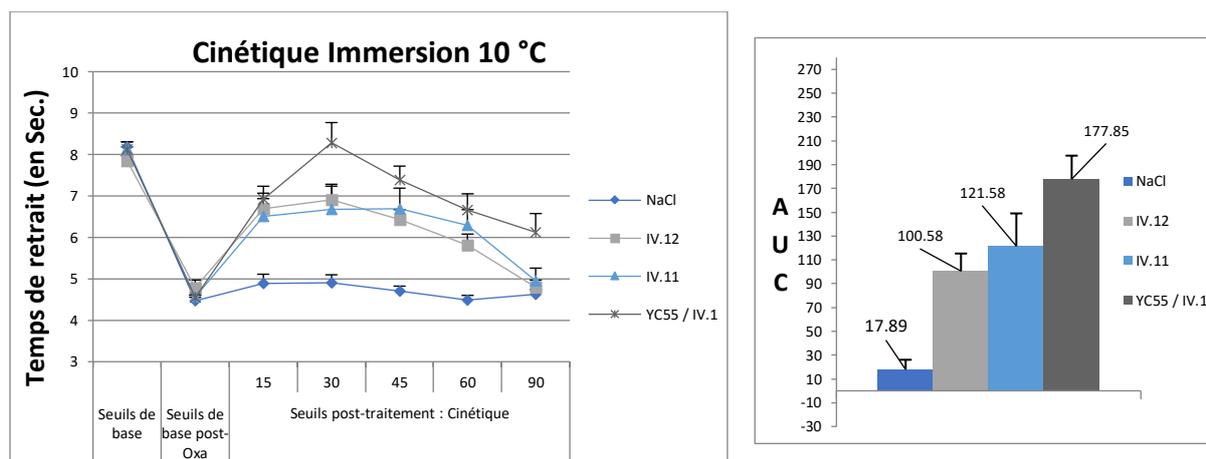
#### 4.4. Validation de la formule de Markush pour le dépôt de brevet

Dans le cadre du dépôt de brevet relatif au projet, deux mimes supplémentaires ont été réalisés. L'intérêt de ces deux mimes étant de confirmer l'importance de l'unité β ainsi que sa position dans le mime. Ainsi, le premier mime correspond à l'analogue où l'ensemble des unités sont α (composé **IV.11**) et le second correspond au mime avec l'unité β déplacée d'une unité, portant donc la chaîne latérale R<sub>2</sub> (composé **IV.12** **Figure IV-25**).



**Figure IV-25** Structures des deux analogues synthétisés pour confirmer la structure de Markush

Ces deux mimes ont donc été synthétisés par synthèse supportée puis testés *in vivo*. Ces derniers révèlent que les deux mimes possèdent une activité analgésique contre les douleurs neuropathiques chimio-induites mais avec une efficacité moindre que le mime tête de série YC-55 (**Figure IV-26**). La présence de l'unité  $\beta$  permet donc un meilleur positionnement des chaînes latérales au sein de TRIP8b, notamment pour la deuxième unité qui semble réaliser des interactions stabilisantes avec l'acide glutamique 67 et l'asparagine 240 d'après les études de dynamique moléculaire (**Figure IV-19**).



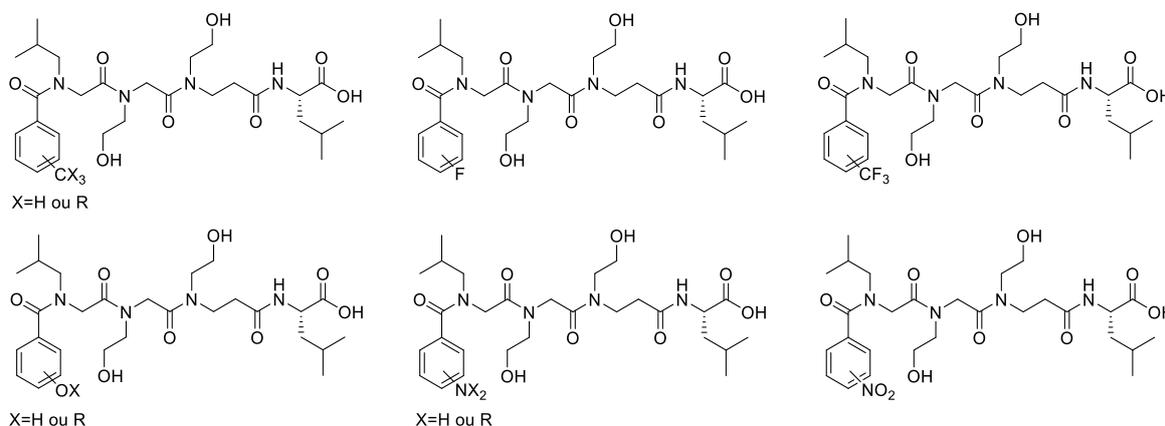
**Figure IV-26** Résultats obtenus *in vivo*.

## 5. Conclusion & suite du projet

À la suite de mes travaux, bien que plusieurs mimes aient été synthétisés, YC-55 reste le mime possédant la meilleure activité analgésique sur la souris. Afin de pouvoir compléter l'étude, des études *in vitro* sont nécessaires. Ces études permettraient de confirmer que l'interaction entre HCN et TRIP8b est bien la cible de nos mimes. Pour cela, les équipes de Neuro-Dol travaillent sur une méthode de production de HCN afin de pouvoir réaliser des tests par polarisation de fluorescence (voir section 2.3) sur l'ensemble des mimes synthétisés.

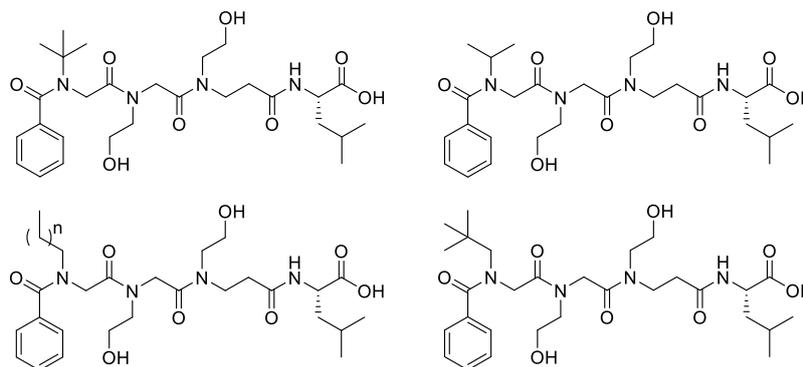
D'autres modifications concernant les chaînes R<sub>3</sub> et R<sub>4</sub> ont été envisagées mais ne seront pas étudiées au cours de mes travaux. Il était notamment envisagé d'étudier l'influence de la

substitution du noyau aromatique en position R<sub>4</sub>. Plus précisément, il serait intéressant d'évaluer l'effet de groupement comportant des atomes de fluor (-F, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>...) sur différentes positions du noyau aromatique puisque la présence d'atome de fluor permet souvent d'améliorer les propriétés physico-chimiques de petites molécules comme l'affinité, la résistance à la métabolisation, la perméabilité membranaire ou encore la biodisponibilité.<sup>177,178,179</sup> D'autres groupements peuvent être envisagés comme par exemple -OX (X=H ou R), -NX<sub>2</sub> (X=H ou R), -NO<sub>2</sub>, -SX (X=H ou R), des halogènes ou encore des chaînes aliphatiques (**Figure IV-27**).



**Figure IV-27** Quelques exemples de modifications du noyau aromatique pour de futurs mimes.

Quant à la chaîne R<sub>3</sub>, il semble possible d'essayer d'autres amines aliphatiques, encombrantes ou non, comme la *tert*-butylamine, l'isopropylamine, la néopentylamine ou encore des amines avec des chaînes linéaires (**Figure IV-28**).



**Figure IV-28** Quelques exemples de modifications de la chaîne R<sub>3</sub> pour de futurs mimes.

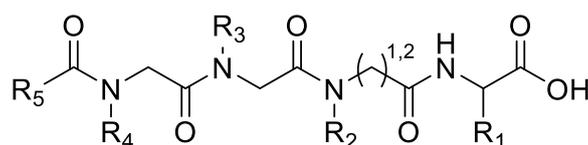
<sup>177</sup> Müller K, Faeh C, Diederich F, *Science*, **2007**, 317, 1881–86.

<sup>178</sup> William K. Hagmann, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 4359–69.

<sup>179</sup> Poonam Shah, Andrew D. Westwell, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2008**, 22, 527–40.

Une grande majorité des molécules présentées ci-dessus ont été réalisées et testées à la suite de mes travaux. De plus, une nouvelle approche de synthèse a également été mise au point après mes travaux afin d'obtenir le mème **IV.8**. À ce jour, YC-55 reste le meilleur candidat pour inhiber l'interaction entre TRIP8b et l'extrémité C-terminale de HCN. Des travaux sont également en cours par Neuro-Dol afin de pouvoir mettre au point un test *in vitro* afin de pouvoir déterminer plus précisément l'efficacité de nos mèmes avec notamment le calcul de la  $CI_{50}$ .

Avec l'ensemble des composés synthétisés au cours de mes travaux et ceux réalisés avant et après mes travaux, une demande de brevet a été déposée au niveau français et européen afin de pouvoir protéger le squelette du mème avec l'acide aminé en première position, suivi par l'unité  $\beta$  et les deux unités  $\alpha$  (**Figure IV-29**). Ces deux demandes ont été acceptées (numéro de brevet français : FR3114739 ; numéro de brevet européen : WO2022074313).



**Figure IV-29** Formule de Markush déposée dans le brevet

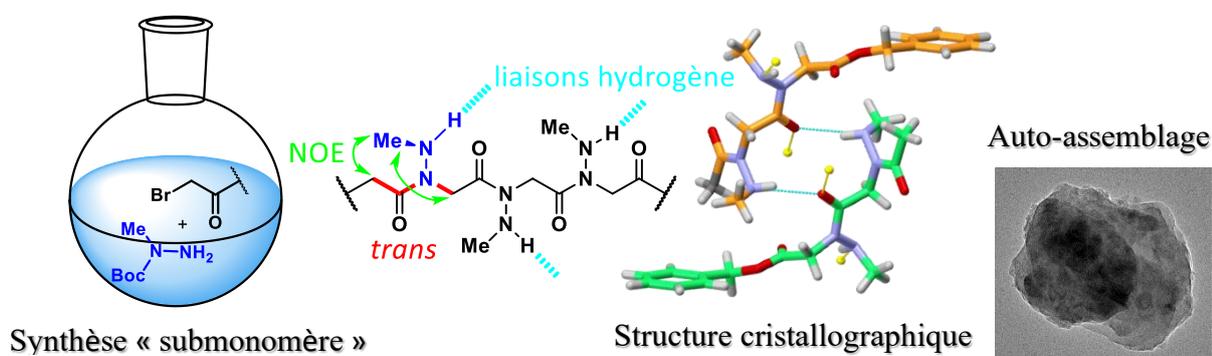
## Conclusion et Perspectives



Cette thèse avait deux objectifs principaux : la synthèse et l'étude de nouvelles architectures peptoïde ainsi que le développement de peptidomimétiques pour lutter contre les douleurs neuropathiques chimio-induites.

Concernant le premier objectif de ces travaux de thèse, nous avons dans un premier temps poursuivi les travaux réalisés sur la chaîne latérale (*S*)-1-*tert*-butyléthyle avec l'étude des  $\beta$ -peptoïdes et des peptoïdes  $\alpha,\beta$ -alternés. Nous avons préparé deux séries d'homooligomères qui ont été analysés par RMN 1D et 2D. Malheureusement, bien que cette chaîne latérale soit très efficace pour conduire à l'obtention de fonctions amides *cis* dans le cadre d'homooligomère  $\alpha$ -peptoïdes, cela n'est pas le cas lors de la présence d'unités  $\beta$ -peptoïdes. En effet, l'étude conformationnelle des deux séries n'a révélé aucune tendance en faveur de la conformation *cis*. Pour les oligomères  $\alpha,\beta$ -alternés, le rapport *cis/trans* des composés **II.1** à **II.3** est aux alentours de 1 en se fondant sur l'analyse RMN  $^1\text{H}$ . Concernant les  $\beta$ -peptoïdes, une moyenne de 33% de fonctions amides *cis* est obtenue pour les composés **II.4** à **II.9**.

Dans un second temps, nous avons souhaité développer une nouvelle chaîne latérale *trans*-inductrice. Pour cela, nous avons étudié l'influence de la chaîne *N*-méthylamino sur l'isomérisation *cis/trans* des fonctions amides. La synthèse des homooligomères a nécessité dans un premier temps une optimisation des conditions du protocole de synthèse « submonomère ». L'étude conformationnelle des oligomères met en évidence l'obtention de chaînes peptoïdes présentant très majoritairement des fonctions amides *trans* ainsi qu'une forte capacité des chaînes latérales à réaliser des liaisons hydrogène intermoléculaires. Une structure cristallographique du dimère **III.2** a été résolue, confirmant la même tendance dans le solide. Enfin, des analyses de microscopie électronique en transmission ont permis de mettre en évidence des propriétés d'auto-assemblage de ces oligomères.



En parallèle de ces travaux, nous avons également essayé de développer une chaîne latérale azaalkyl chirale, permettant de réaliser des études supplémentaires, notamment par dichroïsme circulaire, afin de découvrir une éventuelle structuration en hélice de type PPII. Cependant, malgré de nombreuses tentatives d'optimisation de la synthèse des homooligomères chiraux, nous ne sommes pas parvenus à aller plus loin que le monomère. Il reste donc de grande possibilité de développement concernant cette chaîne latérale *trans*-inductrice. Cela passera peut-être par le changement du groupement chiral présent sur l'hydrazine au profit d'un groupement stériquement moins encombrant. Une possibilité qui n'a pas été étudiée mais qui mériterait de l'être est la réalisation de la synthèse des homooligomères avec l'utilisation de l'hydrazine chirale sans le groupement Boc puisque l'encombrement du groupement chiral peut être suffisant pour favoriser la réaction sur l'extrémité moins encombrée de l'hydrazine.

En ce qui concerne le deuxième objectif de cette thèse, nous avons continué les travaux initiés au sein de l'équipe concernant le développement d'un peptotide hybride capable d'inhiber l'interaction entre la protéine canal HCN et sa protéine partenaire TRIP8b, impliquée dans le processus de déclenchement de douleurs neuropathiques chimio-induites par l'oxaliplatine. Pour cela, nous avons réalisé une optimisation de la synthèse mise en place sur support solide avant mes travaux puis nous avons réalisé la synthèse de 8 nouveaux mimes ayant pour objectif d'optimiser le mime tête de série développé précédemment. Ces composés ont été testés *in vivo* mais ont montré une efficacité plus faible que le composé YC-55, qui reste pour le moment, en incluant également les mimes réalisés après mes travaux, le mime le plus efficace pour inhiber l'interaction entre HCN et TRIP8b.

## Experimental section



## 1. Reagents and equipment

All the reagents used during these projects were obtained from commercial sources. DMF, amine free, used in solid phase synthesis or during coupling steps comes from Alfa Aesar, L-leucine comes from Aldrich and for the resins, 2-CTC (2-chlorotrityl chloride) resin comes from Merck (100-200 mesh; 1% DVB; 1.33 mmol/g), Tentagel HL PHB resin was from Iris biotech (0.48 mmol/g) and Fmoc-Rink Amide MBHA resin was from Novabiochem (100-200 mesh; 0.51 mmol/g). Regarding the amines and all other reagents used during the syntheses, they were from one of the following suppliers:

- Sigma-Aldrich
- TCI Europe
- Acros Organics
- Alfa Aesar
- Fluorochem

All these solvents and chemicals did not undergo any additional purification and were stored according to the supplier's recommendations.

Solvent evaporations were carried out using a Büchi R-100 evaporator in combination with a Büchi F-105 recirculating chiller, a Büchi V-100 vacuum pump and a Büchi I-100 vacuum control interface. When evaporating highly volatile compounds such as dichloromethane or trifluoroacetic acid, a water pump was used instead of the Büchi device. During solid phase syntheses, an Advanced ChemTech Europe PLS 4x6 synthesizer was used for stirring reactions with temperature control. However, during the solid phase syntheses of **Chapter III**, a Kamush LP360AMPk stirring system and a Kamush LP500MP pump were used to replace the above-mentioned synthesizer.

## 2. Characterization

### 2.1. Thin Layer Chromatography (TLC)

Progression of reactions was followed, when applicable, by TLC were carried out on silica gel plates ALUGRAM Xtra SIL G/UV254 from Macherey-Nagel. Eluents used are specified in each case. UV fluorescence was observed at 254 nm and revelation were performed with either a vanillin solution in EtOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, a ninhydrin solution in n-BuOH/acetic acid or a phosphomolybdic acid solution in EtOH.

## 2.2. Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

NMR spectra were measured in deuterated solvents ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ) on a Bruker AC-400 spectrometer, using a frequency of 400 MHz for proton ( $^1\text{H}$ ) NMR and 100 MHz for carbon-13 ( $^{13}\text{C}$ ) NMR and in some cases a Bruker AC-500 spectrometer using a frequency of 500 MHz for proton NMR. Chemical shifts ( $\delta$ ) are given in parts per million (ppm) and are relative to the residual solvent peaks, and  $J$  values are given in hertz. To describe signal multiplicities, the following abbreviations are used: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, m = multiplet or massif, ddd = doublet of doublet of doublet. Where possible, proton and carbon-13 NMR peak assignments are based on 2D analyses ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC) and  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY was used to confirm the *cis/trans* conformation. Moreover, for most of the peptoids analysed, it was a mixture of *cis/trans* conformers, explaining for example in  $^{13}\text{C}$  NMR the presence of a greater number of signals than carbons.

## 2.3. Liquid chromatography and mass spectroscopy (HRMS; LC/MS)

HRMS and LC/MS analyses were performed on a Thermo Scientific Q Exactive quadrupole-Orbitrap system. For LC/MS analysis, the quadrupole was linked to an Ultimate 3000 UPLC system, equipped with a Kinetex EVO C18 column (1.7  $\mu\text{m}$ , 100 mm  $\times$  2.1 mm) and using a flow rate of 0.45 mL/min with a linear gradient over 7.5 min ranging from 5% to 95% of an ACN+0.1% formic acid solution in a  $\text{H}_2\text{O}$ +0.1% formic acid solution. The UV signal was detected by a DAD UV/vis 3000 RS.

## 2.4. Analytical high pressure liquid chromatography (HPLC)

HPLC analyses were performed on an Agilent 1100 series system composed of an autosampler G1329A, a G1311A quaternary pump, a TCC-100 thermostated column compartment at 25  $^\circ\text{C}$  and a G1315A Diode Array Detector (DAD). The solvents were connected to a G1379A degasser to ensure the total absence of air bubbles in the system. The column used were an EC 125/4.6 Nucleodur 100-3 C18ec from Macherey-Nagel with a particle size of 3  $\mu\text{M}$  and a pore size of 110  $\text{Å}$ . The solvent used were  $\text{H}_2\text{O}$ +0.1% TFA (solvent A) and acetonitrile (solvent B) with a gradient shown in **Table 1**.

**Table 1** Gradient used for analytical HPLC

<i>Time (min)</i>	<i>%ACN</i>	<i>Flow</i>
0	5%	1.0 mL/min
2	5%	
9	95%	
13	95%	
15	5%	
17	5%	

## 2.5. Infrared spectroscopy (IR)

Infrared spectra were recorded on a SHIMADZU FTIR-8400S spectrometer equipped with a Pike Technologies MIRacle™ ATR. Wave numbers ( $\nu$ ) are expressed in  $\text{cm}^{-1}$ . Spectra were recorded with 16 scans, between 800 and 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2.6. Transmission Electron Microscopy (TEM)

TEM images were acquired using a JEOL 2100Plus TEM microscope (Tokyo, Japan) operating at 200 kV. Particles contained in a 1 wt% solution of the peptoid in water were collected onto 400-mesh Cu electron microscopy grid supported with carbon-coated Formvar (Pelanne Instruments, Toulouse, France) by centrifugation at 20.000g for 30 min. The grids were individually stained with 2% (w/v) uranyl acetate for 30 s, after which they were rinsed with ultrapure water and immediately dried with absorbent paper.

## 3. Purification

### 3.1. Flash Chromatography (FC)

Purifications by flash chromatography were performed either with a VWR NORMASIL 60® silica gel (40-63  $\mu\text{m}$ ) under low air flow (200 to 300 mbar), or with a Büchi C-815 Flash Pure chromatography system equipped with FlashPure cartridge. Two gradients have been created. For the syntheses of **Chapter III**, purifications have been performed with silica gel cartridges. The solvent used were cyclohexane (solvent A) and EtOAc (solvent B) with a gradient shown in **Table 2**. While for the syntheses of HCN mimetics (**Chapter IV**), purifications have been performed in reversed phase with C18 cartridges. The solvent used were  $\text{H}_2\text{O}+0.01\%$  TFA (solvent A) and MeOH (solvent B) as indicated in **Table 2**.

**Table 2** Gradients used for the purification in Chapter III and IV.

Chapter III		Chapter IV	
<i>Time (min)</i>	<i>%EtOAc</i>	<i>Time (min)</i>	<i>%MeOH</i>
0	10%	0	5%
30	30%	2	5%
31	50%	4	40%
50 <sup>a</sup>	50%	19	80%
		24	80%
		25	95%
		30	95%

<sup>a</sup>Can be extend if the compound has not been fully released from the cartridge.

### 3.2. Preparative HPLC

HPLC purifications were performed on a VARIAN Prepstar 218 system coupled to a Prostar 355 RI detector and a Prostar 701 fraction collector. The column used was a VP 250/21 NUCLEODUR 300-5 C4ec from Macherey-Nagel. The solvent used were H<sub>2</sub>O+0.1% TFA (solvent A) and acetonitrile (solvent B) with a gradient shown in **Table 3**

**Table 3** Gradient used for preparative HPLC

<i>Time (min)</i>	<i>%ACN</i>	<i>Flow</i>
0	5%	10.5 mL/min
5	5%	
25	95%	
35	95%	
45	5%	
50	5%	

## 4. Solution phase peptoids synthesis

**General Procedure A** : Obtaining the first  $\beta$  residue: aza-michael step.

To a solution of *tert*-butyl acrylate (1.0 equiv, 0.4 M) in methanol was added the selected primary amine (2.5 equiv). The mixture was stirred overnight at 50 °C. After reaction, the solution was concentrated and dried under vacuum, leading to the desired crude secondary amine.

**General Procedure B** : Obtaining the first  $\alpha$  residue: substitution step.

To a solution of *tert*-butyl bromoacetate (1.0 equiv, 0.2 M) in ethyl acetate was added the chosen primary amine (4.0 equiv unless specified) and TEA (2.0 equiv). The mixture was stirred overnight at room temperature. After reaction, the salts were filtered off and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The remaining salts were removed again by filtration and the new filtrate obtained was dried under vacuum.

**General Procedure C** : Obtaining a  $\beta$ -residue: acrylamide formation step.

To a solution of crude secondary amine (1.0 equiv, 0.4 M) in anhydrous THF was added, under argon and at 0 °C, TEA (1.4 equiv) and acryloyl chloride (1.2 equiv). The mixture was stirred for 20 minutes at 0 °C and then 40 minutes at room temperature. After reaction, the mixture was diluted with ethyl acetate (10 mL per mmol of initial product) and filtered. The collected filtrate was concentrated under reduced pressure and the remaining salts were removed by filtration. The new filtrate was dried under vacuum and flash chromatography on silica gel was used to obtain the acrylamide.

**General Procedure D** : Obtaining a  $\beta$ -residue: aza-michael step.

The amine (2.5 equiv) was added to a solution of acrylamide (1.0 equiv, 0.4 M) in isopropanol and the mixture was stirred for 48 hours at 75 °C. The solvent was then evaporated under vacuum, leading to the secondary amine.

**General Procedure E** : Obtaining an  $\alpha$ -residue: bromoacetylation by bromoacetic anhydride.

Preparation of bromoacetic anhydride: DCC (1.2 equiv) was added to a solution of bromoacetic acid (2.4 equiv, 0.4 M) in DCM. The mixture was then stirred for 30 minutes at room temperature. The salts from the reaction were filtered off and evaporation of the filtrate yields bromoacetic anhydride (which appears as a colourless oil).

To a solution of crude secondary amine (1.0 equiv, 0.2 M) and TEA (1.2 equiv) in ethyl acetate placed under argon was added freshly prepared bromoacetic anhydride (1.2 equiv) dissolved in ethyl acetate. After stirring for 2 hours at room temperature, the obtained solution was filtered and then dried under vacuum. A purification by flash chromatography on silica gel leads to obtain the bromoacetylated amide.

**General Procedure F** : Obtaining an  $\alpha$ -residue: bromoacetylation by bromoacetyl bromide.

To a solution of secondary amine/crude hydrazine (1.0 equiv, 0.2 M) and TEA (1.2 equiv) in anhydrous THF under argon at -10 °C was slowly added bromoacetyl bromide (1.05 to 1.2 equiv) and the reaction was stirred for 15 minutes at -10 °C. After reaction, the mixture was diluted with ethyl acetate (10 mL per mmol of initial product) and filtered. The collected filtrate was concentrated under reduced pressure and the remaining salts were removed by filtration. The filtrate was dried under vacuum and a flash chromatography on silica gel allows to obtain the bromoacetylated amide.

**General Procedure G** : Obtaining an  $\alpha$ -residue: Substitution of the brominated compound.

To a solution of bromoacetylated amide (1.0 equiv, 0.2 M) and TEA (2.0 equiv) in ethyl acetate was added the primary amine (4.0 equiv) then the mixture was placed under stirring overnight at room temperature. After reaction, the salts were removed by filtration. The filtrate was concentrated under reduced pressure. The remaining salts were removed again by filtration and the new filtrate obtained was dried under vacuum.

**General Procedure H** : Acetylation of the *N*-terminus of the peptoid.

To a solution of peptoid (1.0 equiv, 0.2 M) and TEA (4.0 equiv) in ethyl acetate was gradually added acetic anhydride (8.0 equiv). The mixture was stirred for 48 hours at room temperature. If necessary, the medium was diluted in EtOAc followed by 3 washing with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>, 1 washing with water, 3 with a saturated solution of NH<sub>4</sub>Cl, 1 with water and

finally 1 with brine. The organic phase was dried on  $\text{MgSO}_4$ , filtered and finally concentrated under vacuum. The peptoid thus obtained was purified by flash chromatography on silica gel.

**General Procedure I** : Deprotection of Boc-protected amine/hydrazine.

The protected amine was solubilized in a TFA/DCM mixture (1:1) at 0 °C. The mixture was then stirred at room temperature for 30 minutes. After reaction, the medium was concentrated under vacuum then the obtained oil was solubilized in DCM then evaporated under vacuum. This last step was repeated several times to eliminate the remaining traces of TFA. The peptoid thus obtained was purified by flash chromatography on silica gel.

**General Procedure J** : Amine protection by a Fmoc group.

The amine was solubilized in a medium containing a 10%  $\text{NaHCO}_3$  solution and 1,4-dioxane (0.76 M). The medium was cooled in an ice bath at 0 °C then a solution of Fmoc-Cl (1 equiv) in 1,4-dioxane (0.38 M) was added dropwise to the reaction medium. The mixture was stirred for 1 hour at 0 °C then 3 hours at room temperature. The medium was extracted 3 times with EtOAc (15 mL). The organic phase was then dried over  $\text{MgSO}_4$ , the salts were filtered and evaporated under vacuum. A purification on column leads to obtain the protected amine.

**General Procedure K** : Deprotection of Fmoc-protected amines.

The protected amine was treated with a  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{NH}$  (2:1) mixture for a final concentration of 0.025 M at 0 °C under an inert atmosphere (argon) for 30 minutes then at room temperature for 30 minutes. After reaction, the solution was concentrated under vacuum and the excess of diethylamine was removed by repeating solubilization of the obtained oil in 20 mL of DCM then evaporation under vacuum. The residue obtained was purified on column to obtain the deprotected amine.

**General Procedure L** : Deprotection of acid as *tert*-butyl ester ( $\text{CO}_2\text{tBu}$ ).

The *tert*-butyl ester was solubilized in a TFA/DCM mixture (1:1) at 0 °C. The mixture was then stirred at room temperature for 1 hour. After reaction, the solution was concentrated under vacuum and the resulting oil was solubilized in DCM and evaporated under vacuum. This last step was repeated several times in order to eliminate the traces of TFA. The carboxylic acid was used without purification.

**General Procedure M** : Deprotection of acid as benzyl ester ( $\text{CO}_2\text{Bn}$ ).

Benzyl ester was solubilized in methanol (0.03 M) then 10% palladium on carbon was added to the medium (5% wt). Hydrogen was bubbled into the solution until the medium was saturated. The medium was stirred for 30 minutes at room temperature. The palladium on

carbon was filtered on celite and then the methanol was evaporated under vacuum. In case of formation of by-products, the residue obtained can be purified on column.

**General Procedure N** : Peptide coupling with HATU and DIPEA.

The carboxylic acid and HATU (1.3 equiv) were solubilized in a DCM/DMF mixture (4:1) under argon atmosphere at room temperature. DIPEA (2.0 equiv) was added to the medium and the mixture was stirred for 10 minutes to pre-activate the acid. Then, a solution containing free amine (1.0 equiv) in the same solvent was added to the mixture. The mixture was stirred for 72 hours at room temperature. After evaporation of the medium, the residue obtained was dissolved in DCM and then washed 3 times with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>, 1 time with water, 3 times with a saturated solution of NH<sub>4</sub>Cl, 1 time with water and finally 1 time with brine. The organic phase was dried on MgSO<sub>4</sub>, filtered and finally concentrated under vacuum. The final residue was purified on column.

**General Procedure O** : Formation of the first  $\alpha$  hydrazine unit: substitution step.

To a solution of benzyl bromoacetate (1.0 equiv, 2.5 M) in water was added the selected hydrazine (3.0 equiv). The mixture was stirred overnight at room temperature. After reaction, the medium was diluted with water and then the peptoid was extracted 3 times with ethyl acetate. The organic phase was then washed 3 times with water and 1 time with brine. The organic phase was dried on MgSO<sub>4</sub>, filtered and finally concentrated under vacuum. The final residue was purified on silica gel.

**General Procedure P** : Obtaining a residue  $\alpha$  hydrazine: substitution of the bromide.

To a solution of peptoid as hydrazine (1.0 equiv, 1.25 M) in a 1:1 H<sub>2</sub>O/MeOH mixture was added hydrazine (3.0 equiv) and the reaction was stirred overnight at 60 °C. After reaction, the medium was diluted with water and the methanol was evaporated under vacuum. The peptoid was then extracted 3 times with ethyl acetate. The organic phase was then washed 3 times with water and 1 time with brine. The organic phase was dried on MgSO<sub>4</sub>, filtered and finally concentrated under vacuum. The final residue was purified on silica gel.

## 5. Solid phase peptoids synthesis

**General Procedure Q** : Coupling of leucine to 2-chlorotrytile chloride resin.

A solution of 9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)-protected L-leucine (2.0 equiv, 2.2 M) in DCM (0.12 mL) and a solution of DIPEA (5.0 equiv, 0.4 M) in 2 mL of DCM were poured onto the resin. The reaction was then stirred with the synthesizer at 25 °C for 40 minutes. The reaction was repeated a second time. The resin was washed 5 times with DCM (2 mL).

**General Procedure R** : Deprotection of the Fmoc group.

The resin was treated at 25 °C twice with a 20% piperidine solution in DMF (2 mL per 100 mg of resin) for 15 minutes. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL per 100 mg of resin).

**General Procedure S** : Obtaining a  $\beta$ -residue: formation of acrylamide.

The resin was cooled to -20 °C by two washes with DCM at -20 °C and then a solution of acryloyl chloride (2.0 equiv, 0.22 M) in DCM at -20 °C (1.21 mL) and a solution of TEA (3.0 equiv, 0.5 M) in 0.8 mL of DCM at -20 °C were poured onto the resin. The mixture was then stirred for 1 hour at 25 °C. The reaction was then repeated a second time. After reaction, the resin was washed 5 times with DCM (2 mL).

**General Procedure T** : Obtaining a  $\beta$ -residue: aza-michael reaction.

A solution of amine (12.0 equiv, 2.0 M) in isopropanol (0.8 mL) was poured onto the resin. The mixture was stirred for 24 hours at 50 °C. The reaction was repeated a second time and the resin was washed 5 times with isopropanol (2 mL).

**General Procedure U** : Obtaining an  $\alpha$ -residue: bromoacetylation step.

A solution of bromoacetic acid (6.0 equiv, 0.4 M) in DMF (2.0 mL) and a solution of DIC (8.0 equiv, 0.5 M) in DMF (2.13 mL) were poured onto the resin. The reaction was left for 5 min on the stirring platform at 25 °C. Five washes of the resin with DMF were then performed.

**General Procedure V** : Obtaining an  $\alpha$ -residue: bromide substitution.

A solution of amine (20.0 equiv, 2.0 M) in DMF (1.33 mL) was poured on the resin and the vessel was stirred for 1 hour at 40 °C. The resin was then washed 5 times with DMF.

**General Procedure W** : Acetylation of the *N*-terminus.

To the resin were added a solution of DIPEA (12.0 equiv, 2.0 M) in 0.8 mL of DMF and a solution of acetic anhydride (20.0 equiv, 1.7 M) in DMF (1.56 mL). The resin was stirred 1h30 at 25 °C before washing the resin 5 times with DMF.

**General Procedure X** : Benzoylation of the *N*-terminus.

A solution of DIPEA (12.0 equiv, 2.0 M) in DCM (0.8 mL) and a solution of benzoyl chloride (6.0 equiv, 1.0 M) in 0.8 mL of DCM were poured onto the resin. The reaction was then stirred for 40 minutes at 25 °C and the resin was washed 5 times with DCM.

**General Procedure Y** : Coupling of phenylacetic acid to the *N*-terminus.

A solution of phenylacetic acid (6.0 equiv, 0.4 M) in DMF (2.0 mL) and a solution of DIC (8.0 equiv, 0.5 M) in DMF (2.13 mL) were poured onto the resin. The reaction was then stirred for 1 hour at 25 °C and the resin was washed 5 times with DMF.

**General Procedure Z** : Cleavage of the peptoid from the 2-CTC resin.

The resin was treated for 40 minutes to 1 hour at 25 °C with 1.5 mL of a solution of HFIP (2.4 M) in DCM. The filtrate was then collected as well as the filtrates of 5 washes of the resin with DCM. The solvents were then evaporated under reduced pressure and 5 washes with DCM were performed until a yellowish oil was obtained.

**General Procedure AA** : Cleavage of peptoid from a non-2-CTC resin.

The resin was treated for 1 hour at 25 °C with 2 mL of a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS (triisopropylsilane) mixture in the proportions 96/2/2. The filtrate was then collected as well as the filtrates of 3 washes of the resin with TFA. The solvents were then evaporated under reduced pressure followed by 5 washes of the residue with DCM.

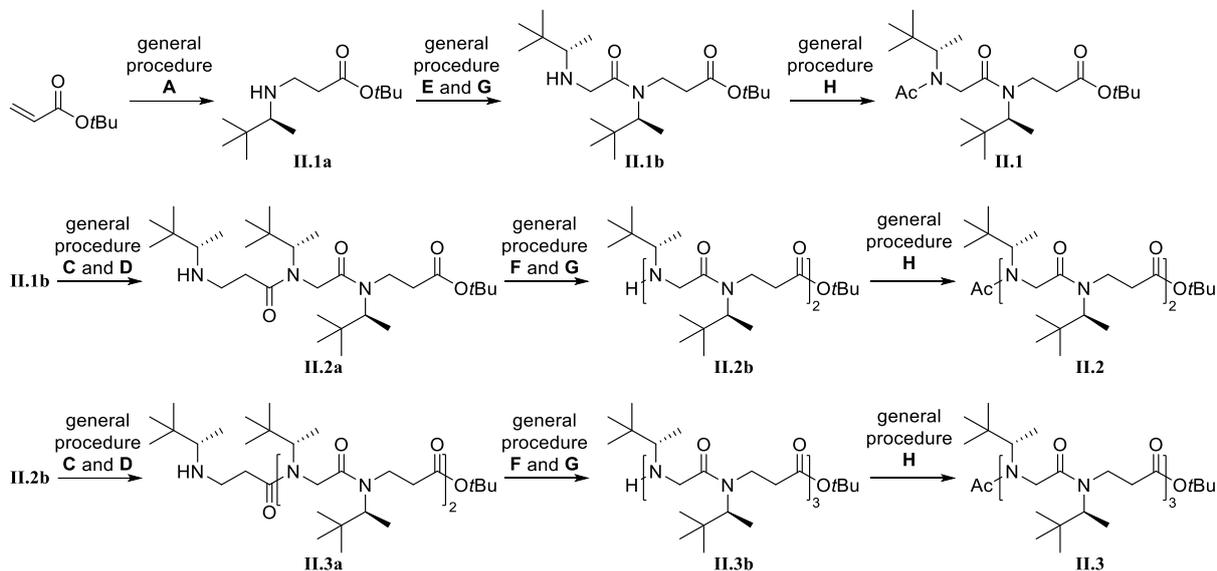
**General Procedure BB** : Deprotection of silylated alcohols.

The oil obtained during the cleavage was solubilized in 2 mL of a 25% TFA solution in DCM. The reaction was left for 10 min and then the medium was diluted with 5 mL of DCM. The solvents were then evaporated under vacuum and the obtained oil was washed 5 times with DCM.

## 6. Experimental procedures

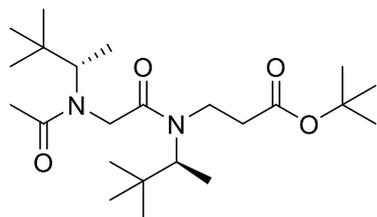
### 6.1. Syntheses of Chapter II

#### 6.1.1. Synthesis of the $\alpha$ - $\beta$ series



Scheme 1 Stepwise synthesis of peptoid **II.1-II.3**

#### Dimer **II.1**



Chemical Formula:  $C_{23}H_{44}N_2O_4$   
Exact Mass: 412,3301

*Tert*-butyl acrylate (1 mL, 6.8 mmol, 1.0 eq) was reacted with (*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine (2.33 mL, 17.1 mmol, 2.5 equiv), following **General Procedure A**, giving monomer **II.1a** without purification. Monomer **II.1a** is then bromoacylated following **General Procedure E**, giving the bromoacetamide intermediate with 50% yield after purification on silica gel (cyclohexane/EtOAc 75:25). The latter was engaged in the substitution step with (*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine according to **General Procedure G**, giving dimer **II.1b**. Acetylation of **II.1b** (**General Procedure H**) gave dimer **II.1** as a yellow oil (0.84 g, 2.04 mmol) in 60% yield over 2 steps after column chromatography ( $SiO_2$ , cyclohexane/EtOAc 7:3), corresponding to an overall yield of 30%.

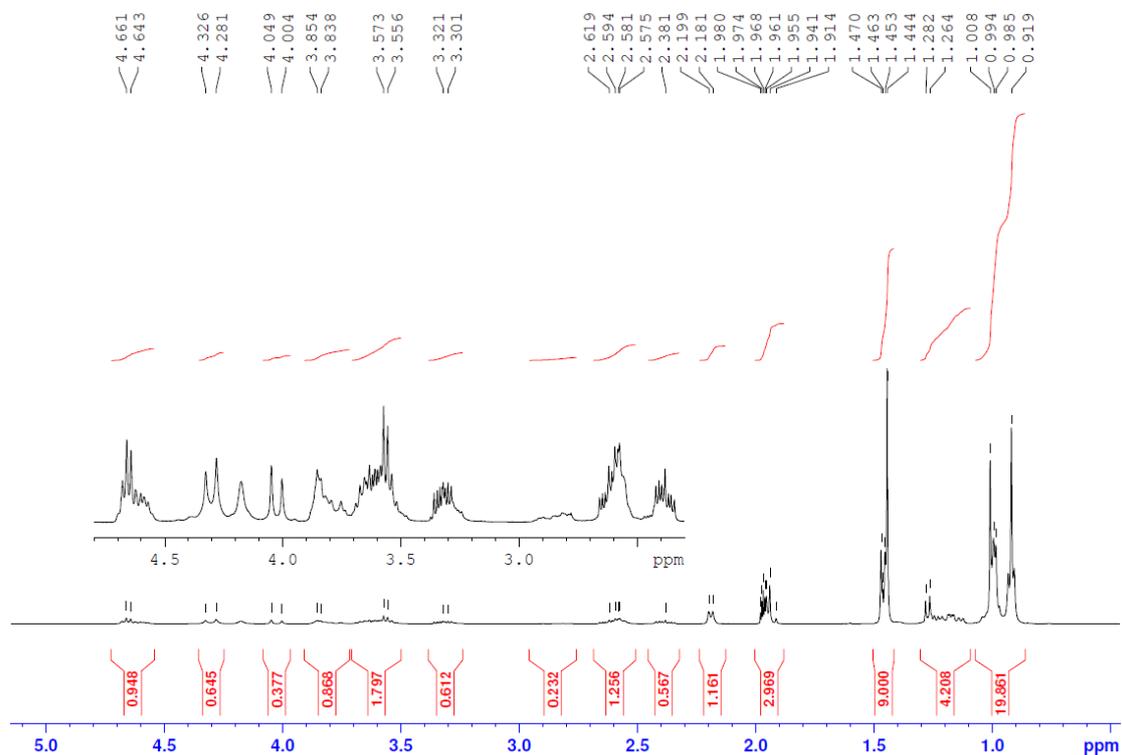
**TLC:**  $R_f = 0.42$  (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>):  $m/z$  calculated for  $C_{23}H_{45}O_4N_2$   $[M+H]^+$  413.3374, found 413.3364.

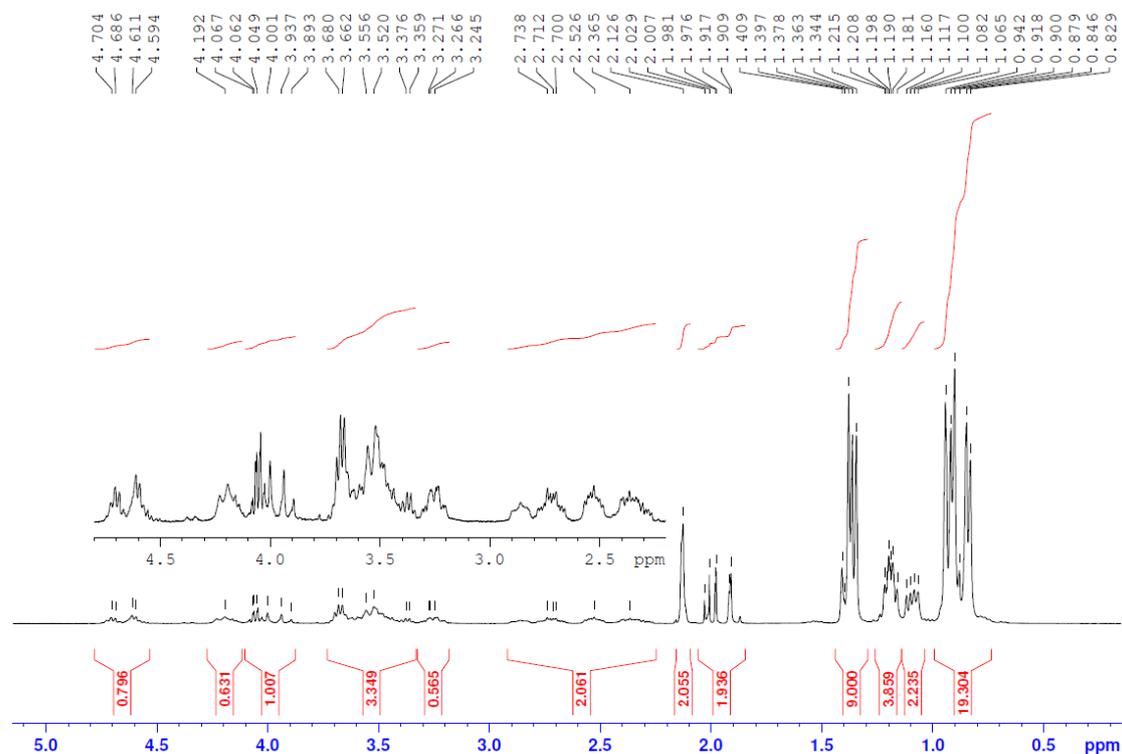
**HPLC** ( $H_2O+0.1\%$  TFA/ACN):  $t_r = 11.01$  min (purity: 98%)

NMR spectra:

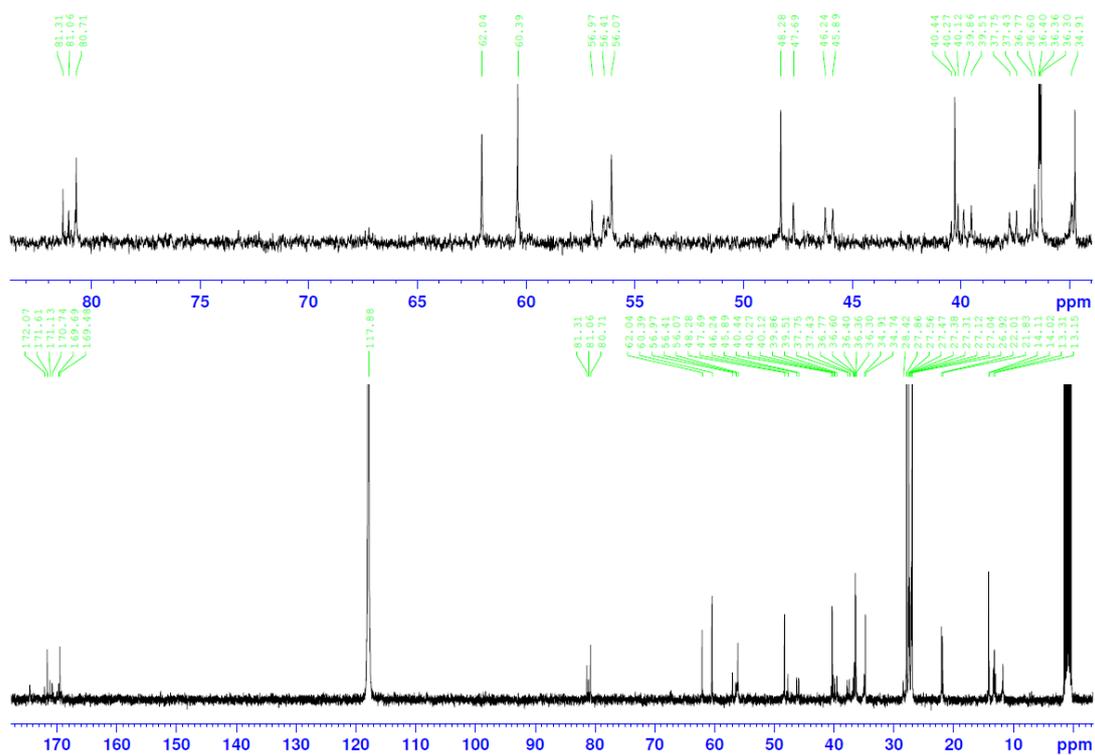
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , 25 mM



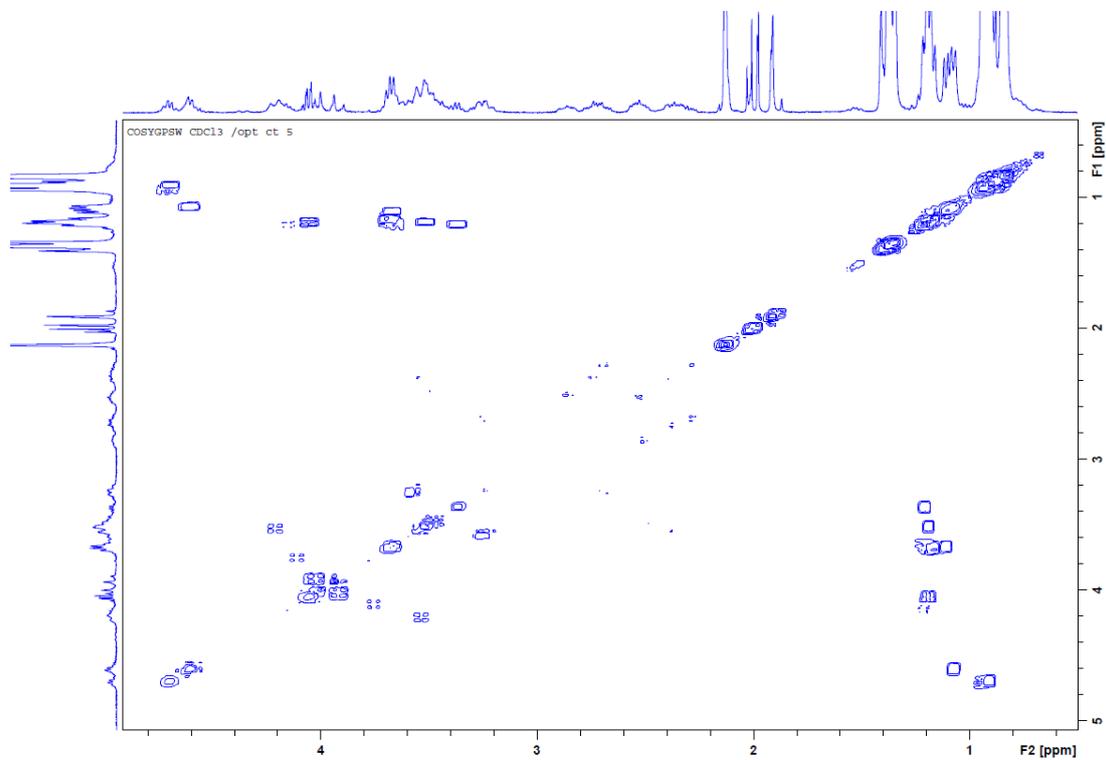
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 25 mM



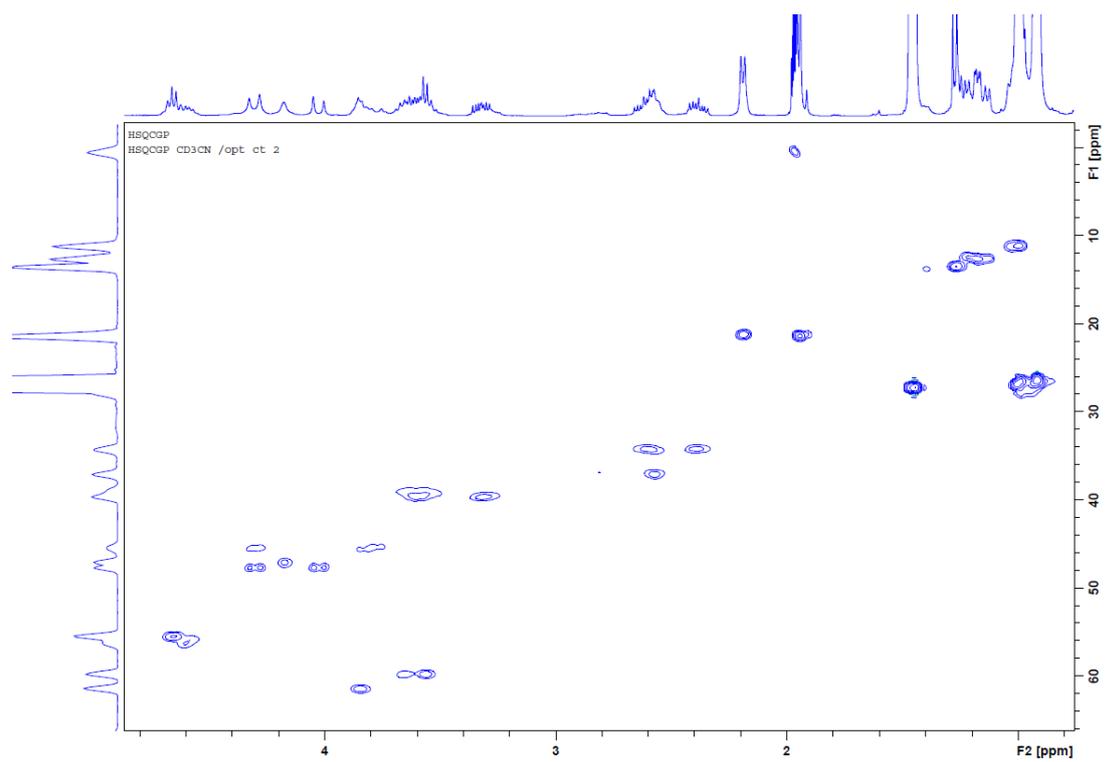
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$



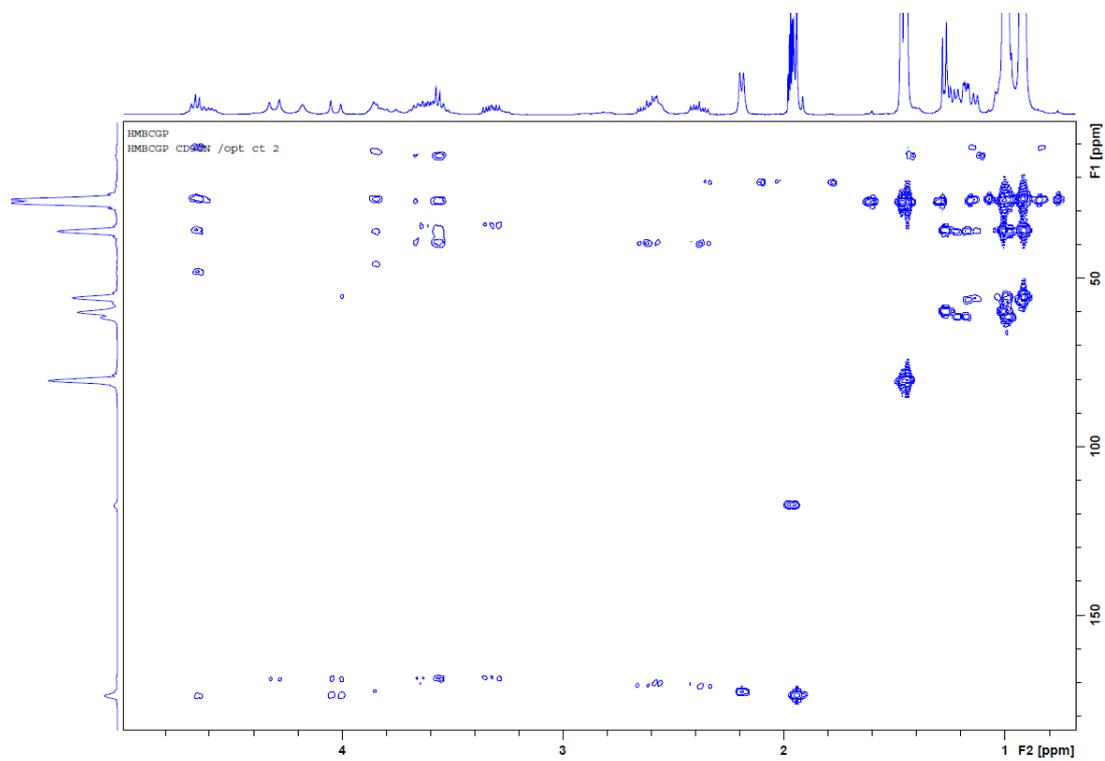
2D COSY NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 25 mM

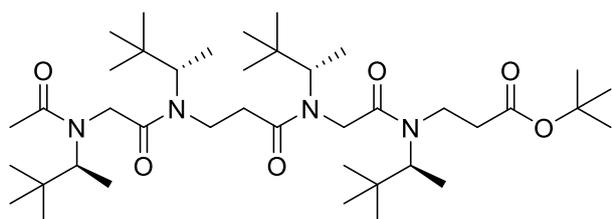


2D HSQC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 25 mM



2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 25 mM



Tetramer **II.2**Chemical Formula: C<sub>40</sub>H<sub>76</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>

Exact Mass: 708,5765

Crude dimer **II.1c** (1.08 g, 2.9 mmol, 1.0 equiv) was acrylated according to **General Procedure C** with a yield of 77% over 2 steps (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 6:4). Next, the formed acrylamide intermediate was engaged in the aza-Michael step with

(*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine according to **General Procedure D**, giving trimer **II.2a**. Trimer **II.2a** was then bromoacylated following **General Procedure F**, yielding the bromoacylated intermediate with a yield of 51% (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 6:4). This intermediate was engaged in the substitution step with (*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine according to **General Procedure G**, giving tetramer **II.2b**. Acetylation of **II.2b** (**General Procedure H**) gave tetramer **II.2** as a yellow oil (0.52 g, 0.73 mmol) in 66% yield over 2 steps after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 5:5), corresponding to an overall yield of 20%.

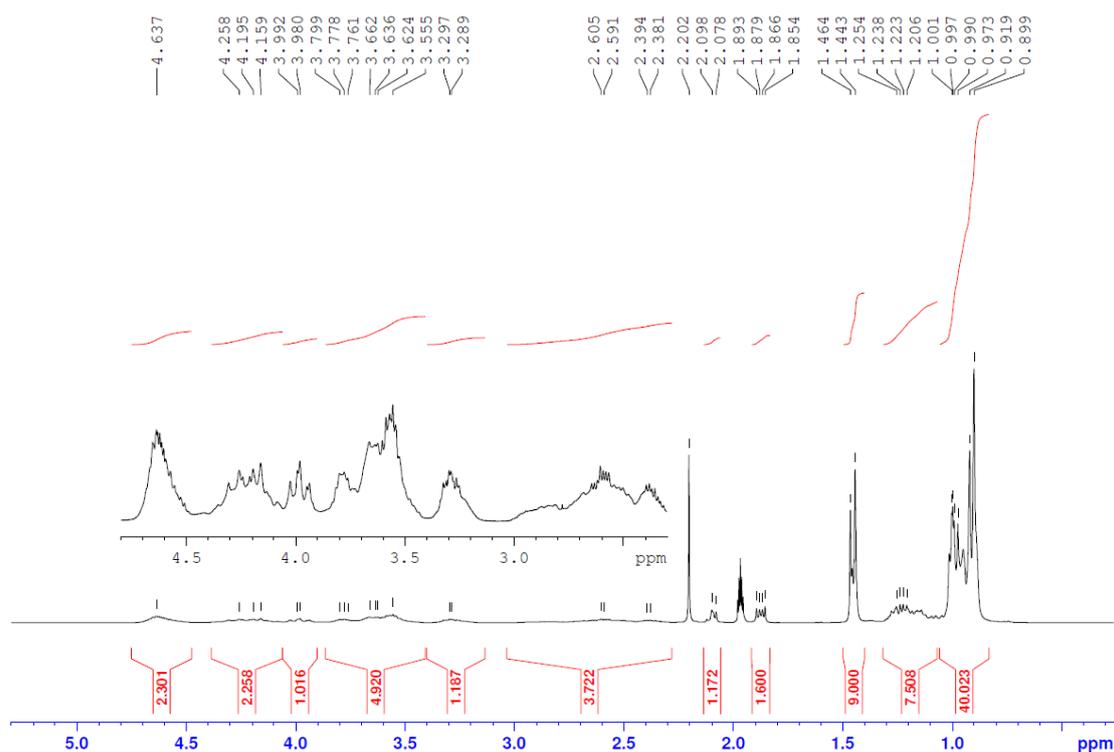
**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.31 (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>40</sub>H<sub>77</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 709.5838, found 709.5824.

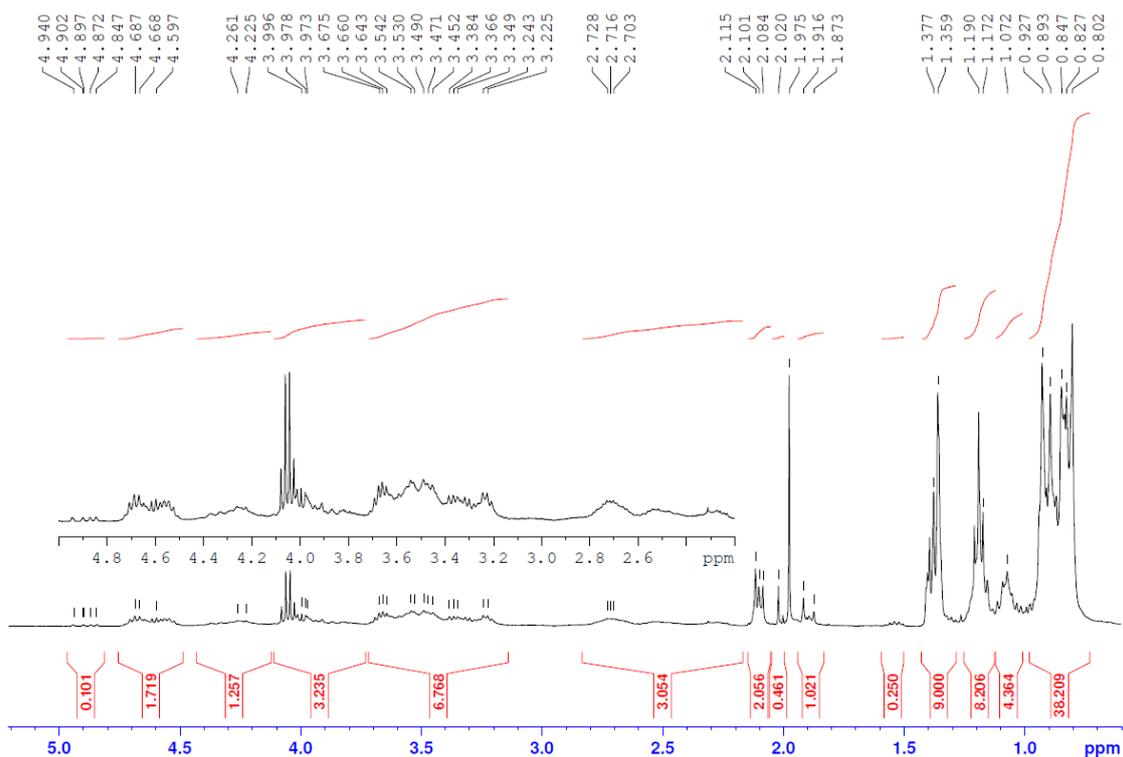
**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 12.45 min (purity: 98%)

**NMR spectra:**

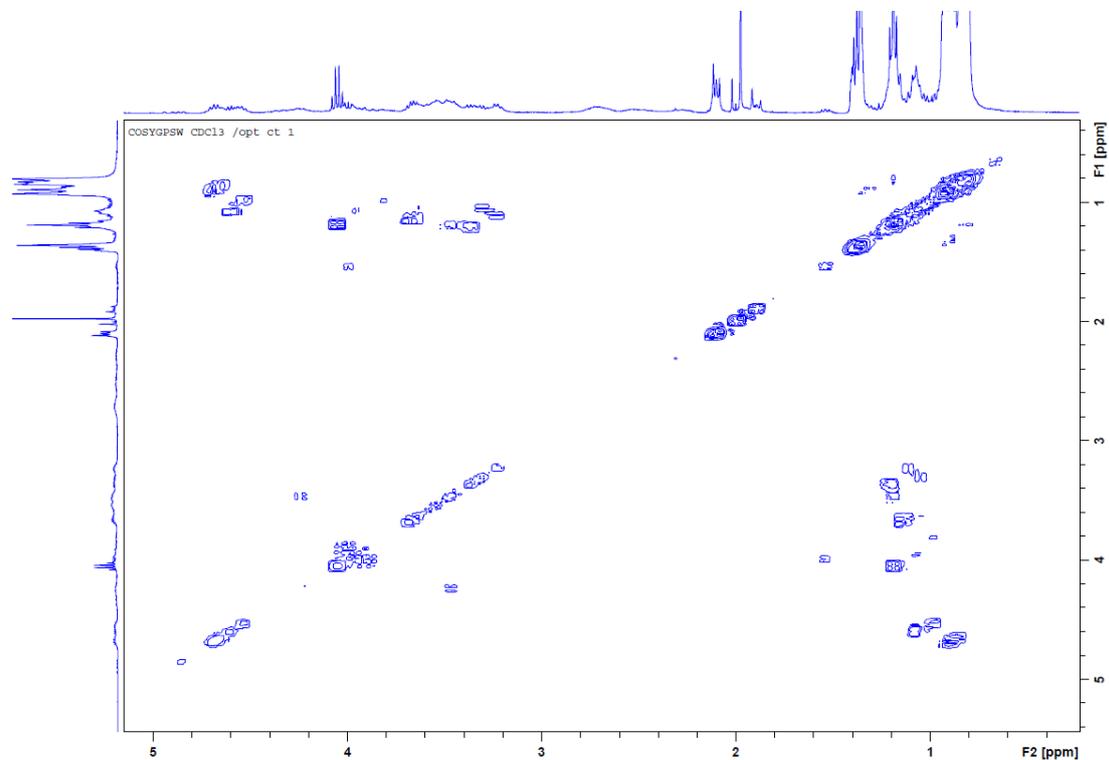
<sup>1</sup>H NMR, CD<sub>3</sub>CN, 15 mM



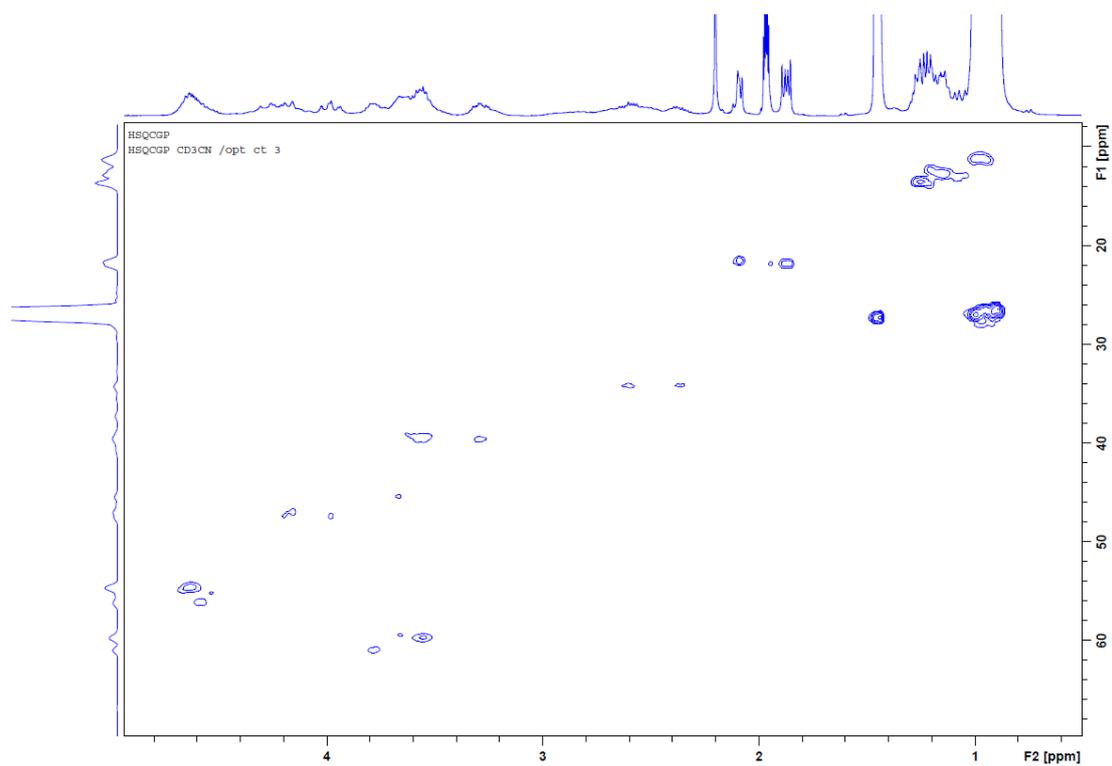
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 15 mM



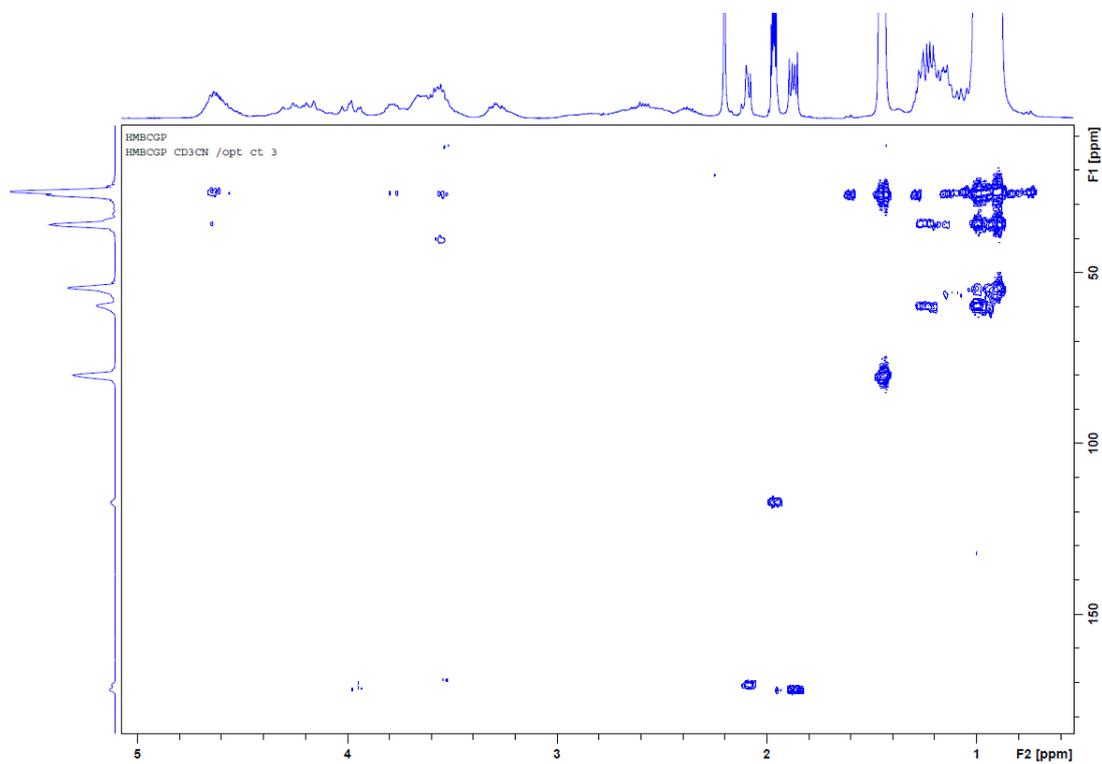
2D COSY NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 15 mM



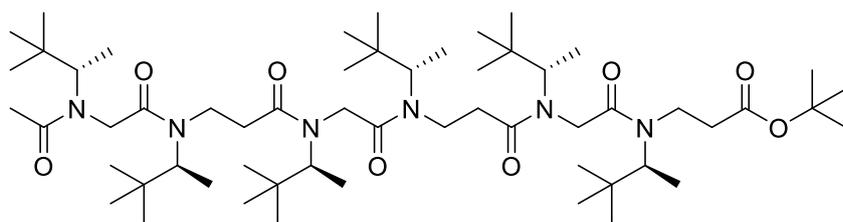
2D HSQC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 15 mM



2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 15 mM



### Hexamer II.3



Chemical Formula: C<sub>57</sub>H<sub>108</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>  
 Exact Mass: 1004,8229

Crude tetramer **II.2b** (0.75 g, 1.12 mmol, 1.0 equiv) was acrylated according to **General Procedure C**. Next, the formed acrylamide intermediate

was engaged in the aza-Michael step with (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine according to **General Procedure D**, giving pentamer **II.3a**. Pentamer **II.3a** was then bromoacylated following **General Procedure F**, yielding the bromoacylated intermediate with a yield of 63% over 4 steps (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 6:4). This intermediate was engaged in the substitution step with (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine according to **General Procedure G**, giving hexamer **II.3b**. Acetylation of **II.3b** (**General Procedure H**) gave tetramer **II.3** as a brown oil (372 mg, 0.37 mmol) in 53% yield over 2 steps after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2), corresponding to an overall yield of 15%.

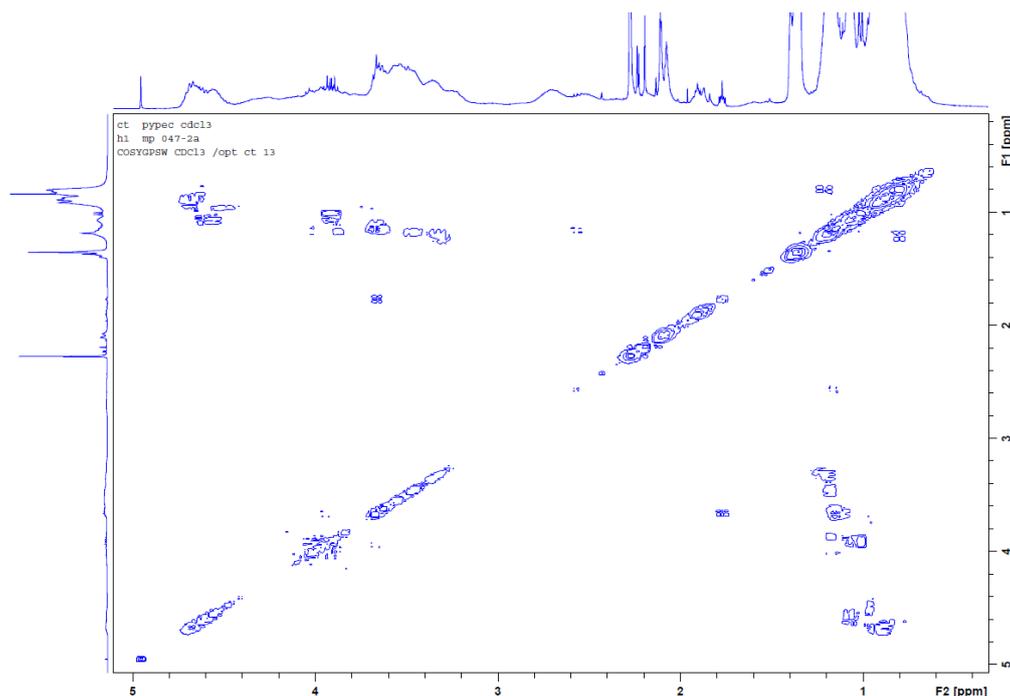
**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.25 (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

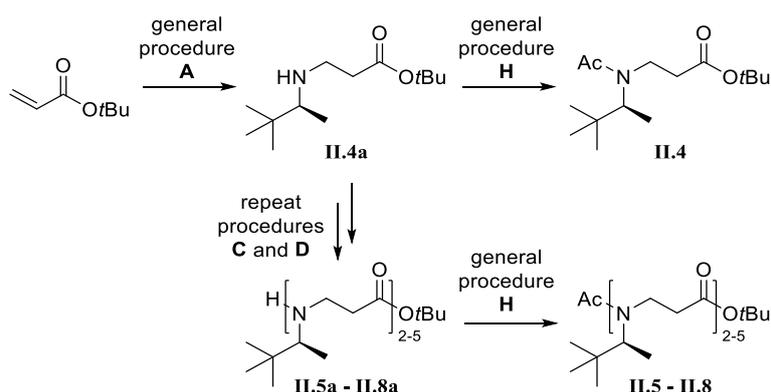
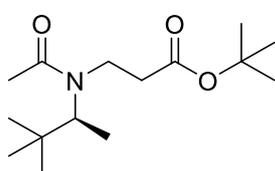
**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>57</sub>H<sub>109</sub>O<sub>8</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 1005.8301, found 1005.8278.

**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 12.92 min (purity: 66%)

#### NMR spectra:

2D COSY NMR, CDCl<sub>3</sub>, 10 mM



6.1.2. Synthesis of the all- $\beta$  seriesScheme 2 Stepwise synthesis of peptoid **II.4-II.8**Monomer **II.4**

Chemical Formula:  $C_{15}H_{29}NO_3$   
Exact Mass: 271.2147

*tert*-butyl acrylate (0.25 mL, 1.71 mmol, 1.0 equiv) was reacted with (*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine (0.58 mL, 4.28 mmol, 2.5 equiv), following **General Procedure A**, giving monomer **II.4a** without purification. The latter was acetylated (**General Procedure H**), yielding monomer **II.4** as a pale-yellow oil (450 mg, 1.66 mmol) in 97% yield after purification on silica gel (cyclohexane/EtOAc 7:3).

**TLC:**  $R_f = 0.56$  (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**$^1H$  NMR** (400 MHz,  $CD_3CN$ ): mixture of 2 rotamers  $\delta$  (ppm): 0.88 (s, 2.86H,  $CHtBu$  *cis* rotamer), 0.94 (s, 6.14H,  $CHtBu$  *trans* rotamer), 1.10 (d,  $J = 7.3$  Hz, 0.98H,  $CHCH_3$  *cis* rotamer), 1.20 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2.02H,  $CHCH_3$  *trans* rotamer), 1.42 and 1.43 (2 $\times$ s, 9H,  $CO_2tBu$ ), 2.03 and 2.04 (2 $\times$ s, 3H, **Ac**), 2.35 (ddd,  $J = 15.7, 10.3, 5.2$  Hz, 0.66H,  $CHHCO_2tBu$  *trans* rotamer), 2.49 (m, 0.68H,  $CH_2CO_2tBu$  *cis* rotamer), 2.60 (ddd,  $J = 15.7, 10.3, 5.2$  Hz, 0.66H,  $CHHCO_2tBu$  *trans* rotamer), 3.21 (ddd,  $J = 13.6, 10.3, 5.3$  Hz, 0.7H,  $(C=O)NCHH$  *trans* rotamer), 3.41 - 3.63 (m, 1.30H,  $(C=O)NCHH$  *trans* rotamer and  $(C=O)NCH_2$  *cis* rotamer), 3.66 (q, 0.69H,  $J = 7.0$  Hz,  $NCH$  *trans* rotamer), 4.59 (q, 0.31H,  $J = 7.3$  Hz,  $NCH$  *cis* rotamer)

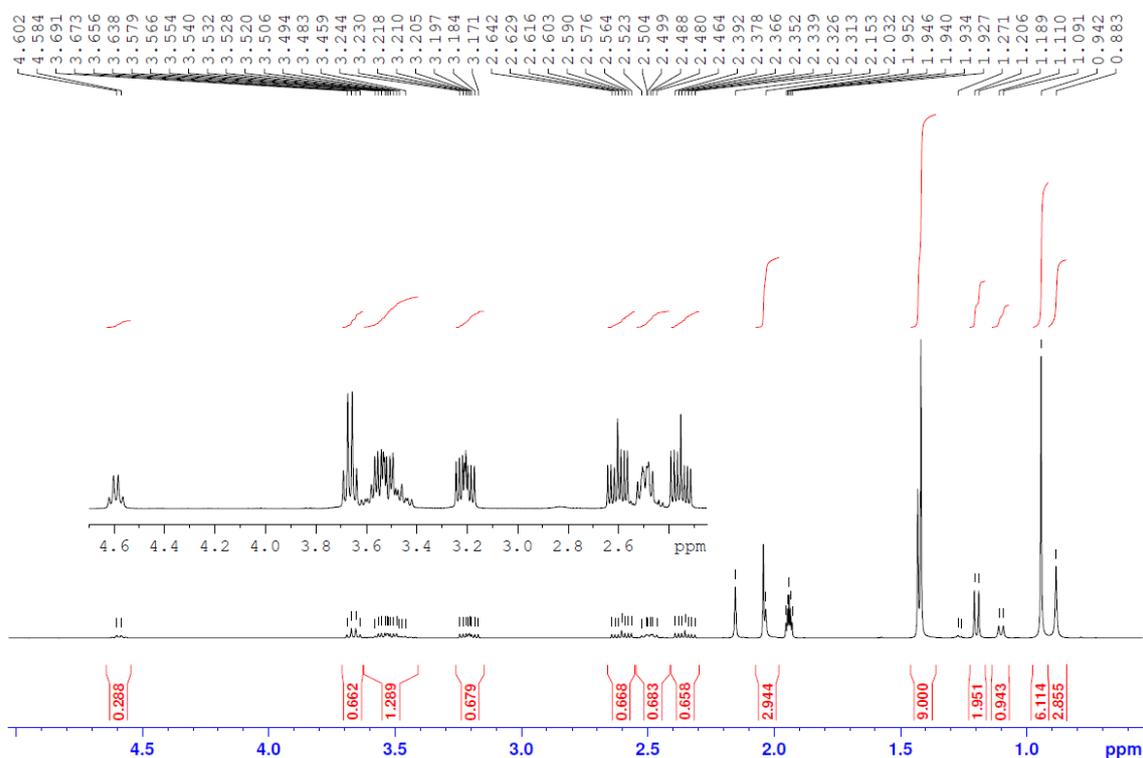
**$^{13}C$  NMR** (100 MHz,  $CD_3CN$ ): mixture of 2 rotamers  $\delta$  (ppm): 13.4 ( $CH_3$ ,  $CHCH_3$ , *cis* rotamer), 14.0 ( $CH_3$ ,  $CHCH_3$ , *trans* rotamer), 21.8 ( $CH_3$ , **Ac**, *cis* rotamer), 22.7 ( $CH_3$ , **Ac**, *trans* rotamer), 27.4 (3 $\times$  $CH_3$ ,  $CHtBu$ , *cis* rotamer), 27.5 (3 $\times$  $CH_3$ ,  $CHtBu$ , *trans* rotamer), 27.9 (3 $\times$  $CH_3$ , *tBu*), 35.1 ( $CH_2$ ,  $CH_2(C=O)N$ , *trans* rotamer), 36.4 ( $CH_2$ ,  $CH_2(C=O)N$ , *cis* rotamer), 39.5 ( $CH_2$ ,  $(C=O)NCH_2$ , *trans* rotamer), 40.9 ( $CH_2$ ,  $(C=O)NCH_2$ , *cis* rotamer), 55.4 ( $CH$ , *cis* rotamer), 61.8 ( $CH$ , *trans* rotamer), 80.4 (2 $\times$ C,  $C(CH_3)_3$ , *trans* rotamer), 81.0 (2 $\times$ C,  $C(CH_3)_3$ , *cis* rotamer), 171.0 - 171.8 (2 $\times$ C,  $C(=O)$ )

HRMS (TOF MS ES+):  $m/z$  calculated for  $C_{15}H_{30}O_3N$   $[M+H]^+$  272.2220, found 272.2215.

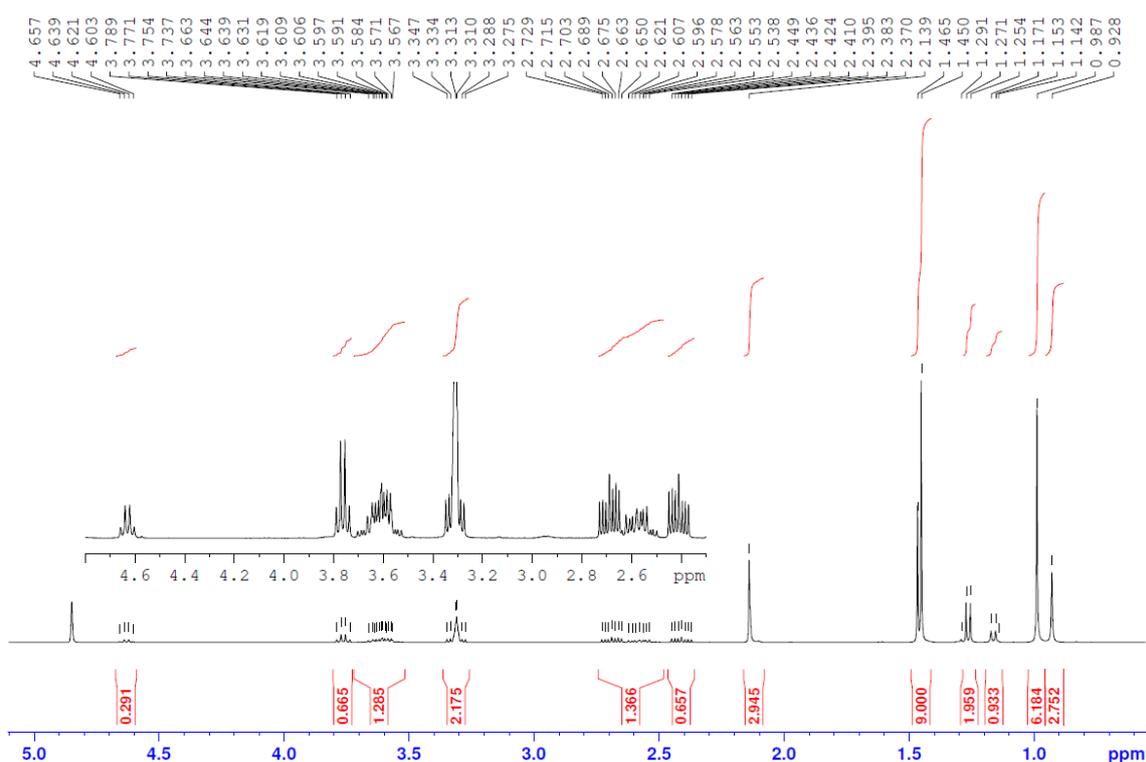
HPLC ( $H_2O+0.1\%$  TFA/ACN):  $t_r = 10.12$  min, purity: 100%

**NMR spectra:**

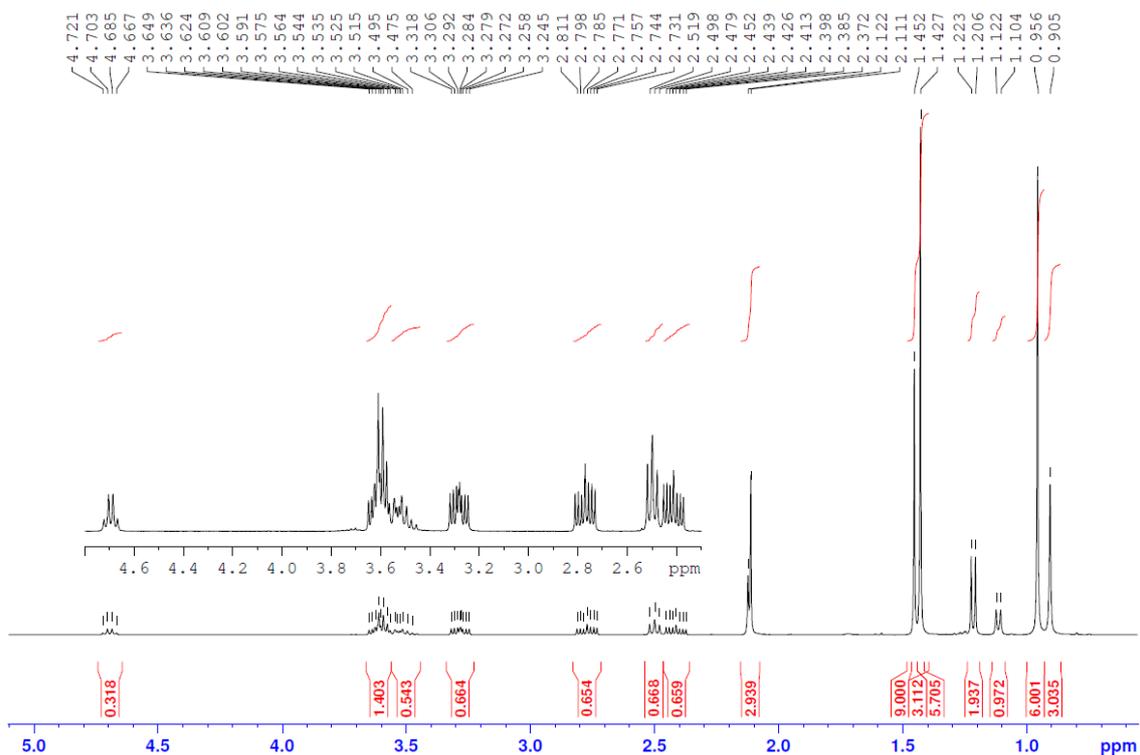
$^1H$  NMR,  $CD_3CN$ , 35 mM



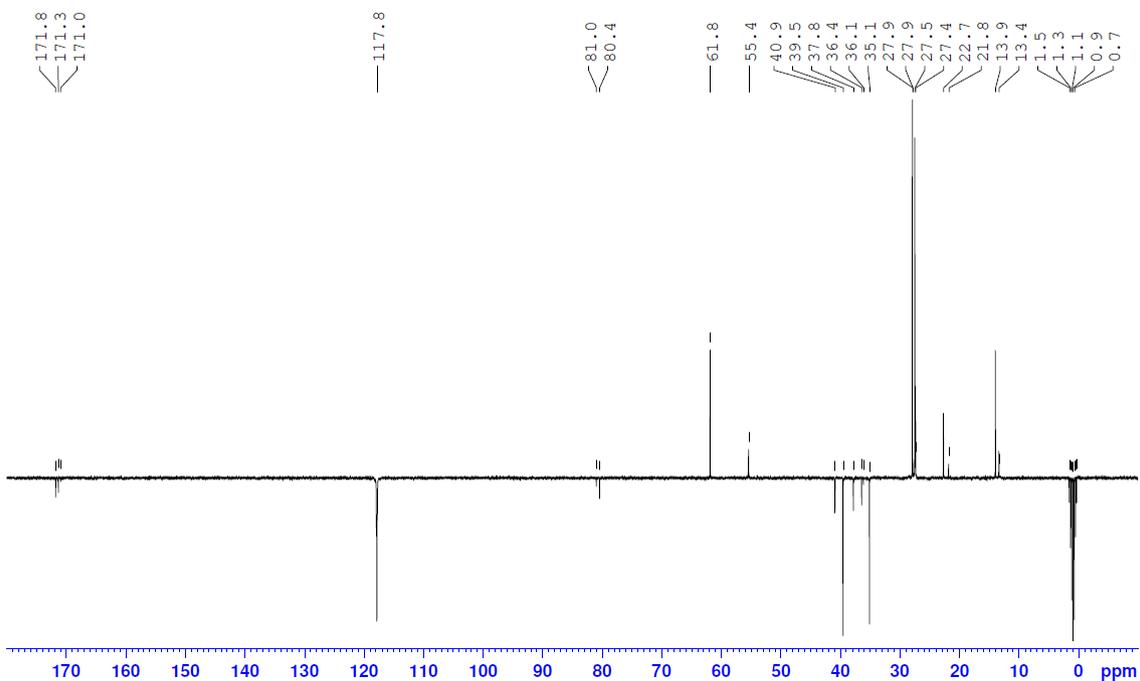
$^1H$  NMR,  $CD_3OD$ , 35 mM



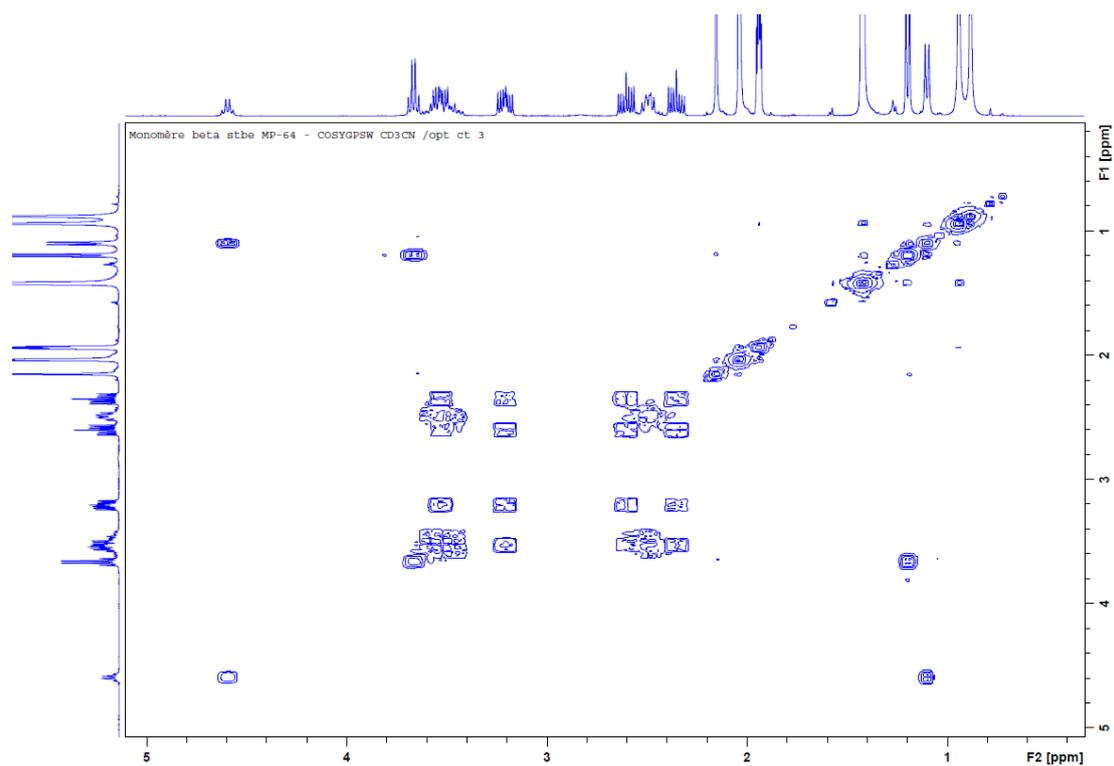
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 35 mM



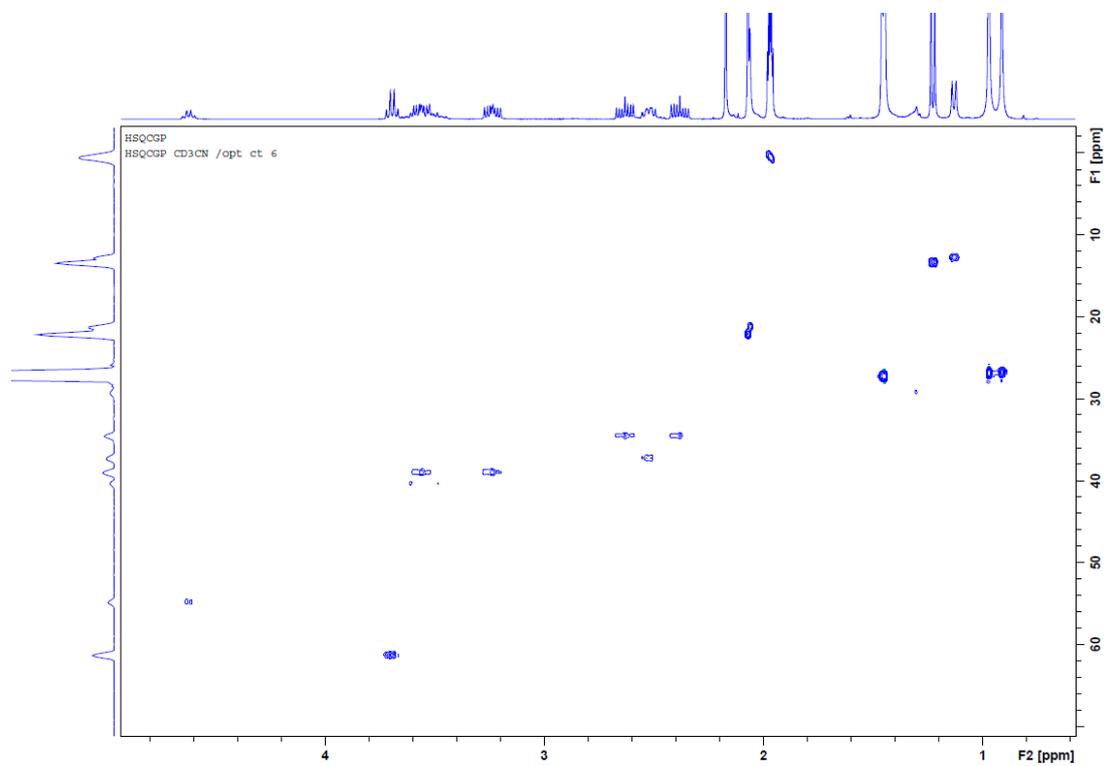
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$



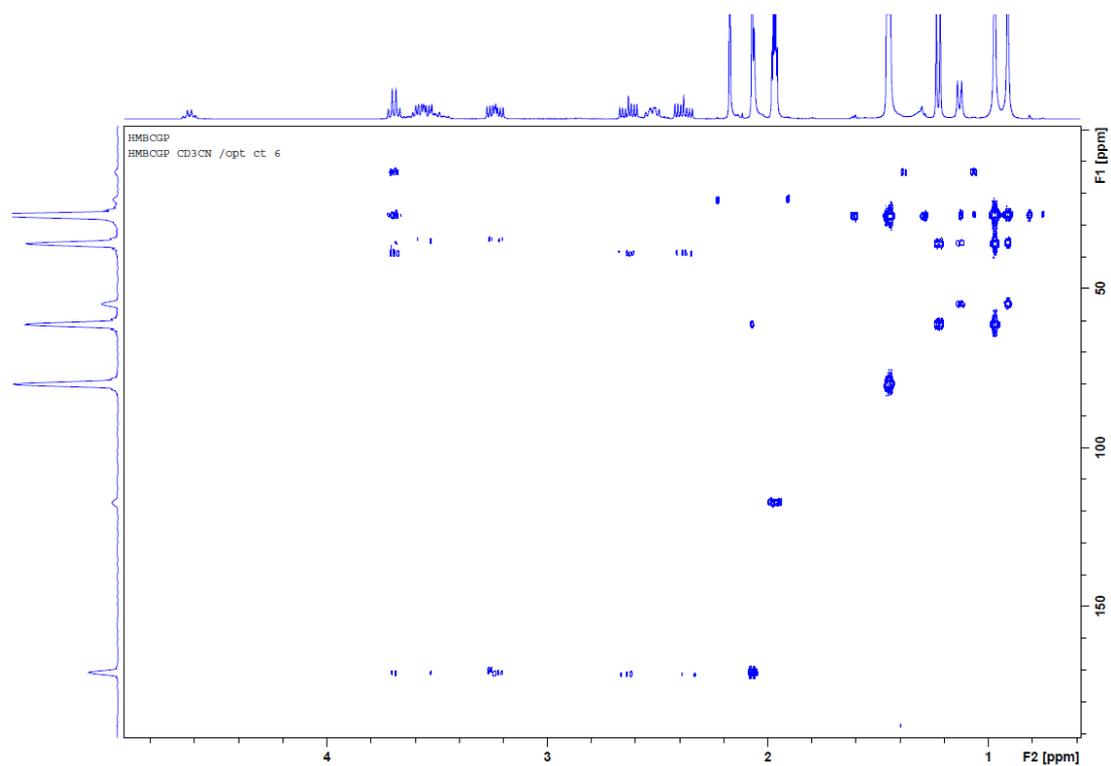
2D COSY NMR, CD<sub>3</sub>CN, 35 mM

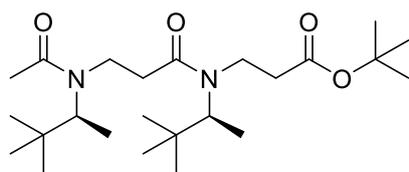


2D HSQC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 35 mM



2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 35 mM



**Dimer II.5**Chemical Formula: C<sub>24</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Exact Mass: 426.3458

Crude monomer **II.4a** (0.89 g, 3.9 mmol, 1.0 equiv) was acrylated according to **General Procedure C**. Next, the formed acrylamide intermediate was engaged in the aza-Michael step with (*S*)-3,3-diméthyl-2-butanamine according to **General Procedure D**, giving dimer **II.5a**. Acetylation of

**II.5a** (**General Procedure H**), gave dimer **II.5** as a pale yellow oil (1.46 g, 3.42 mmol) with 88% yield after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 6:4).

**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.42 (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ (ppm): 0.90 - 0.92 (m, 5.89H, 3×CH<sub>3</sub> CH*t*Bu *cis* rotamer), 0.96 - 0.98 (m, 12.11H, 3×CH<sub>3</sub> CH*t*Bu *trans* rotamer), 1.12 - 1.16 (m, 1.90H, CHCH<sub>3</sub> *cis* rotamer), 1.22 - 1.25 (m, 4.10H, CHCH<sub>3</sub> *trans* rotamer), 1.44 - 1.45 (m, 9H, 3×CH<sub>3</sub> CO<sub>2</sub>*t*Bu), 2.07 and 2.08 (m, 3H, Ac), 2.34 - 2.97 (m, 4H, CH<sub>2</sub>(C=O)N), 3.18 - 3.64 (m, 4H, (C=O)NCH<sub>2</sub>), 3.66 (m, 1.44H, NCH *trans* rotamer), 4.62 - 4.65 (m, 0.56H, NCH *cis* rotamer)

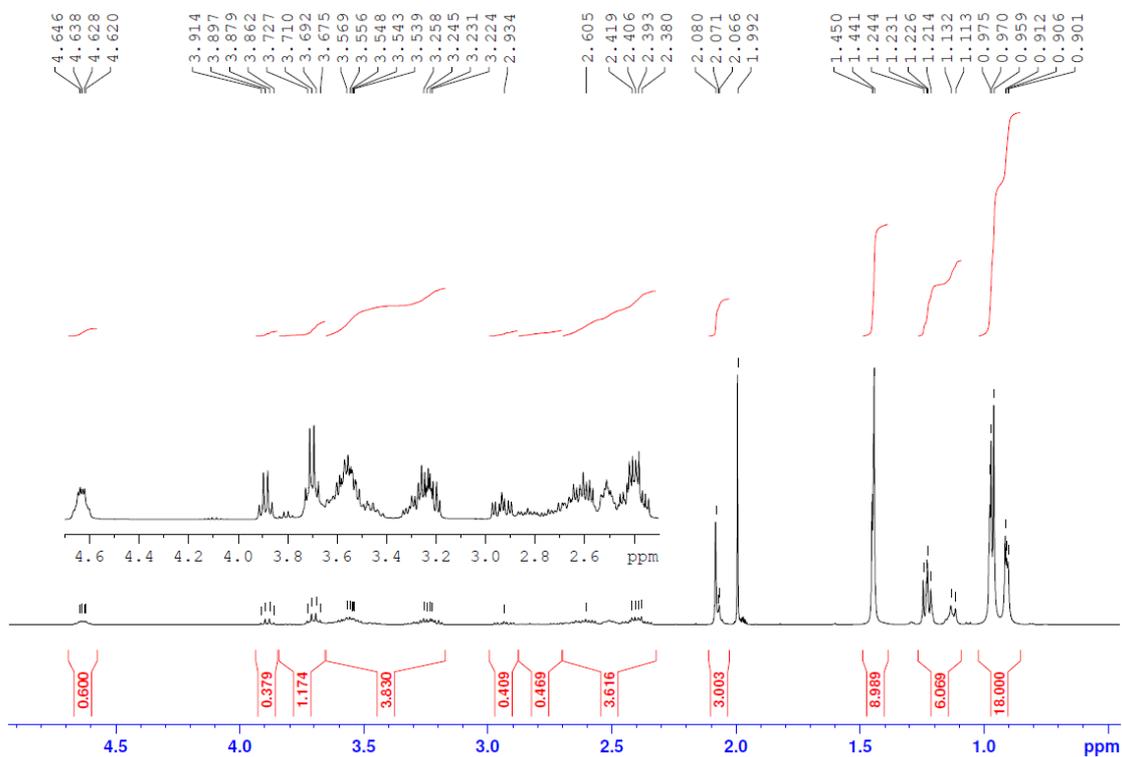
**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN): δ (ppm): 13.4-14.1 (2×CH<sub>3</sub>, CHCH<sub>3</sub>), 21.6-22.7 (CH<sub>3</sub>, Ac), 27.4-27.6 (6×CH<sub>3</sub>, CH*t*Bu), 27.9 (3×CH<sub>3</sub>, *t*Bu), 33.9-36.5 (2×CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>(C=O)N), 38.0-41.6 (2×CH<sub>2</sub>, (C=O)NCH<sub>2</sub>), 55.3-61.9 (2×CH), 80.4-81.0 (3×C, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 171.3 - 172.5 (3×C, C(=O))

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>24</sub>H<sub>47</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 427.3536, found 427.3523.

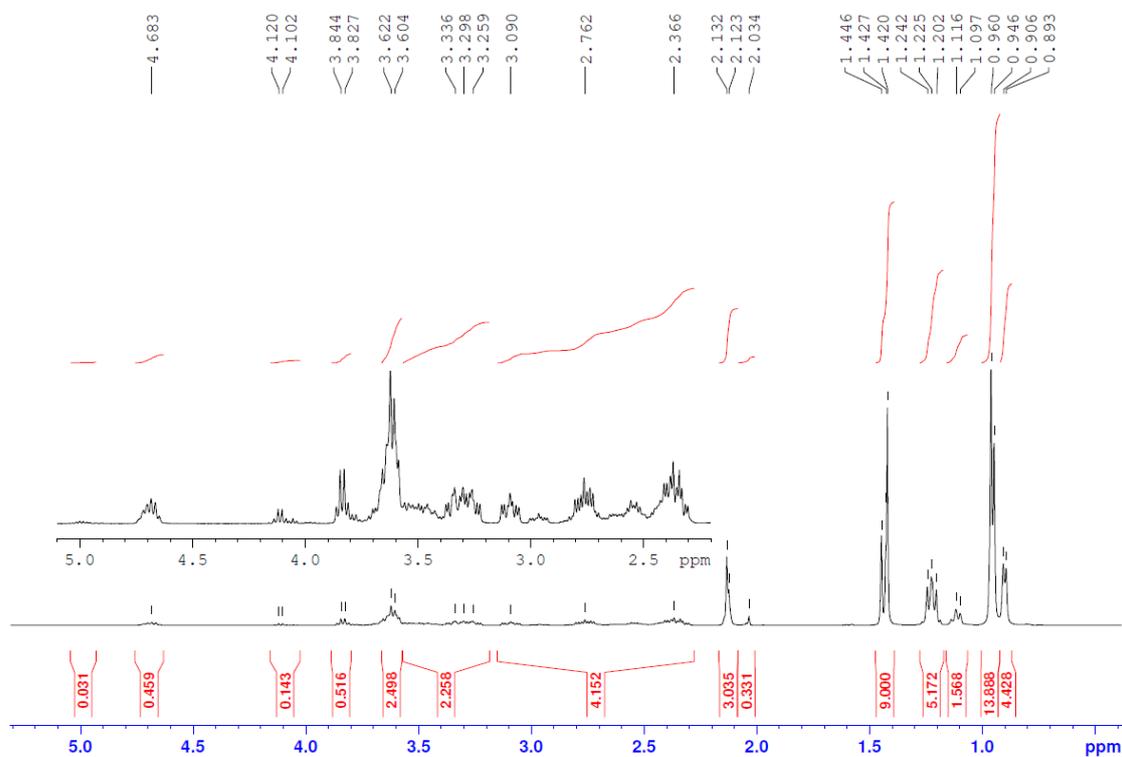
**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 11.06 min, purity: 99%

NMR spectra:

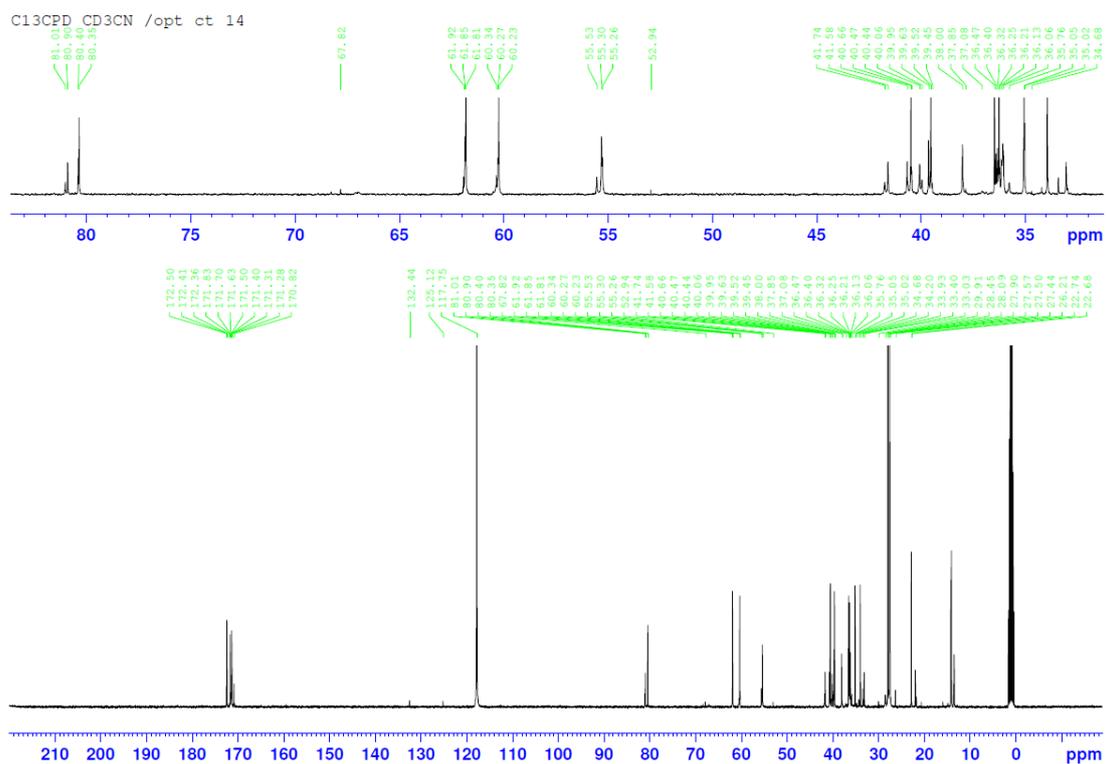
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , 24 mM



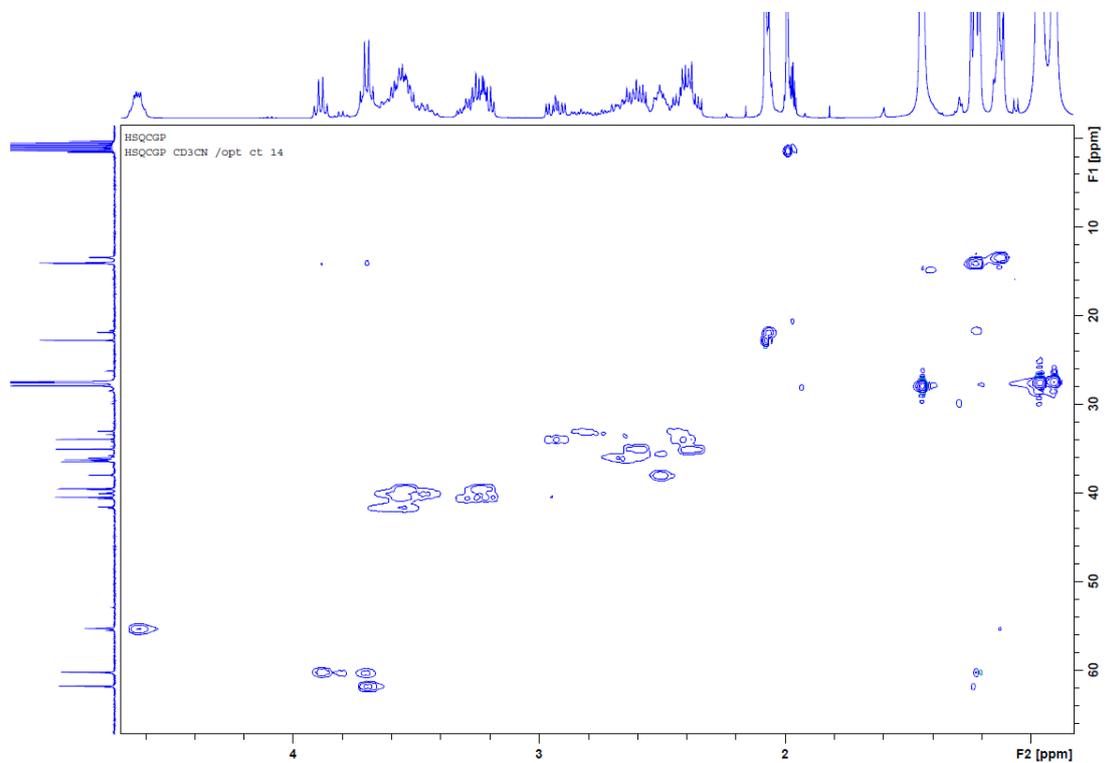
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 24 mM



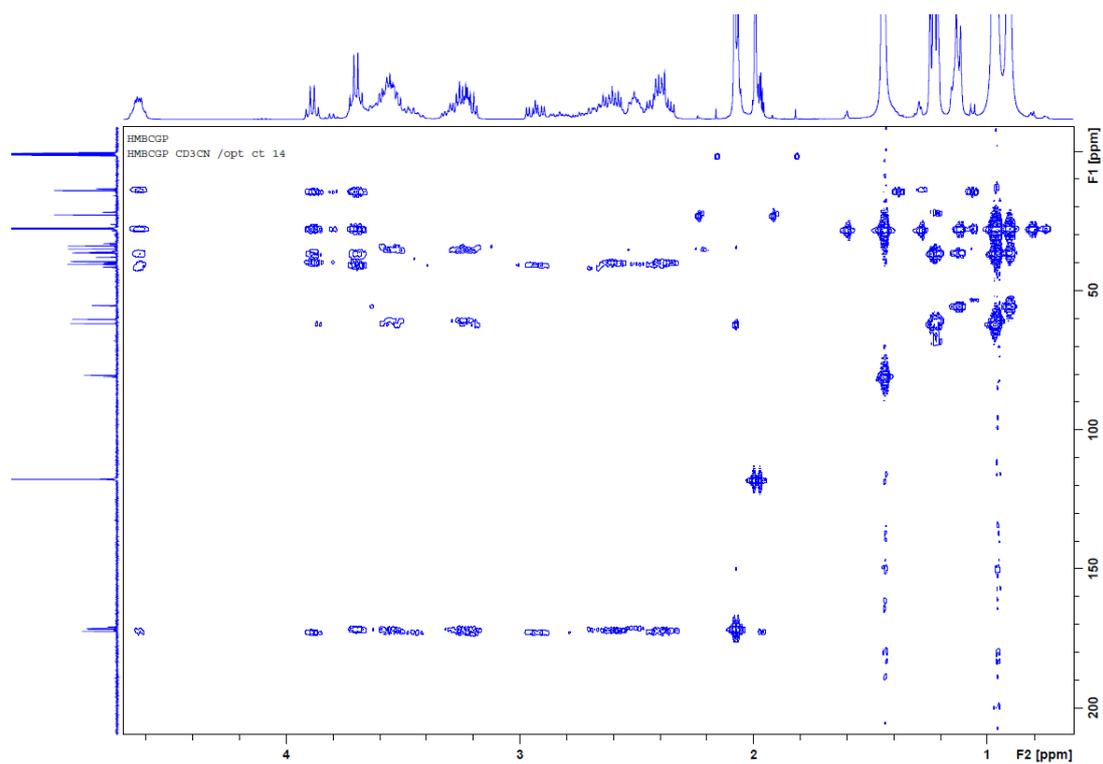
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$



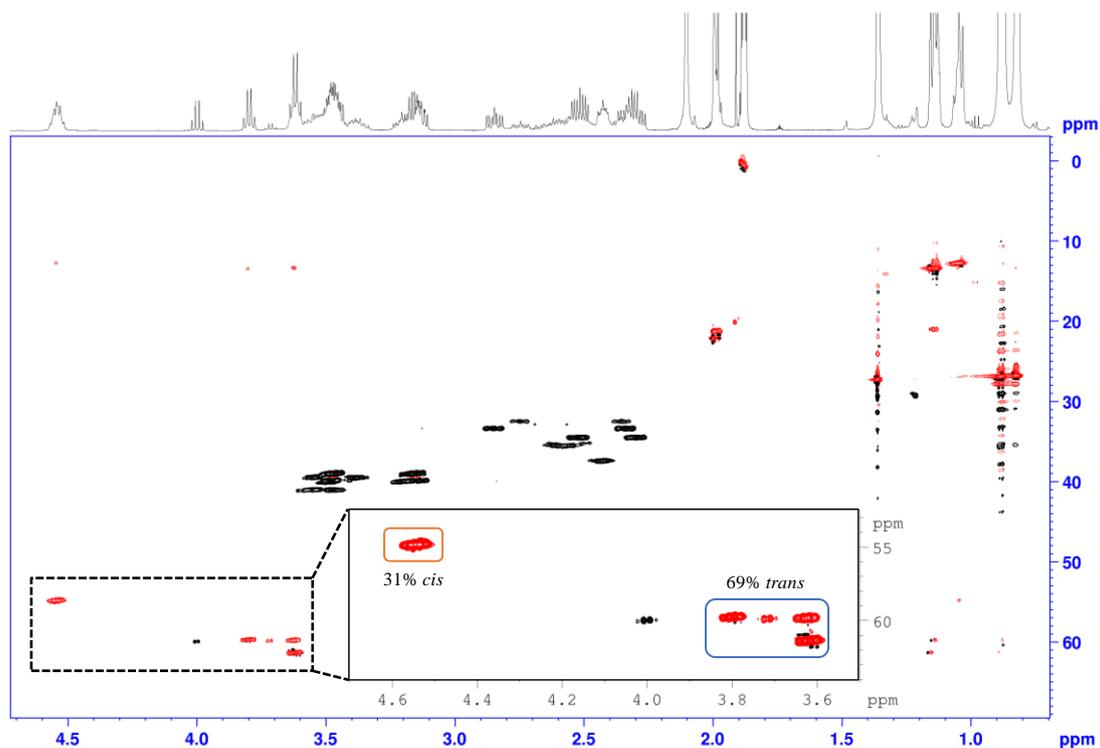
2D HSQC NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , 24 mM



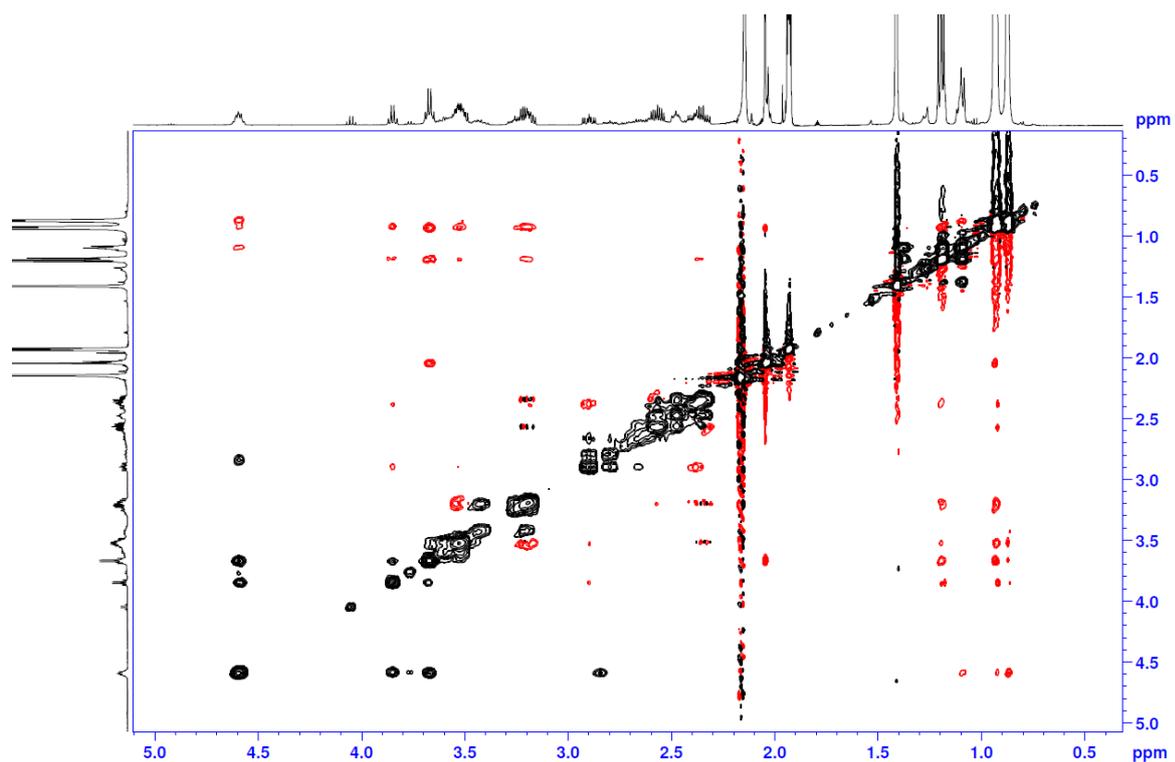
2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 24 mM



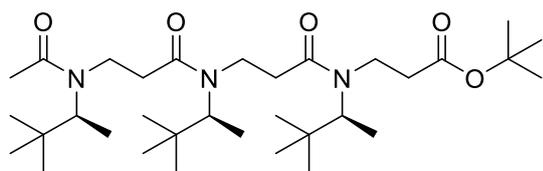
2D HSQCAD NMR, CD<sub>3</sub>CN, 24 mM



2D NOESY NMR, CD<sub>3</sub>CN, 8 mM



## Trimer II.6

Chemical Formula: C<sub>33</sub>H<sub>63</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

Exact Mass: 581.4768

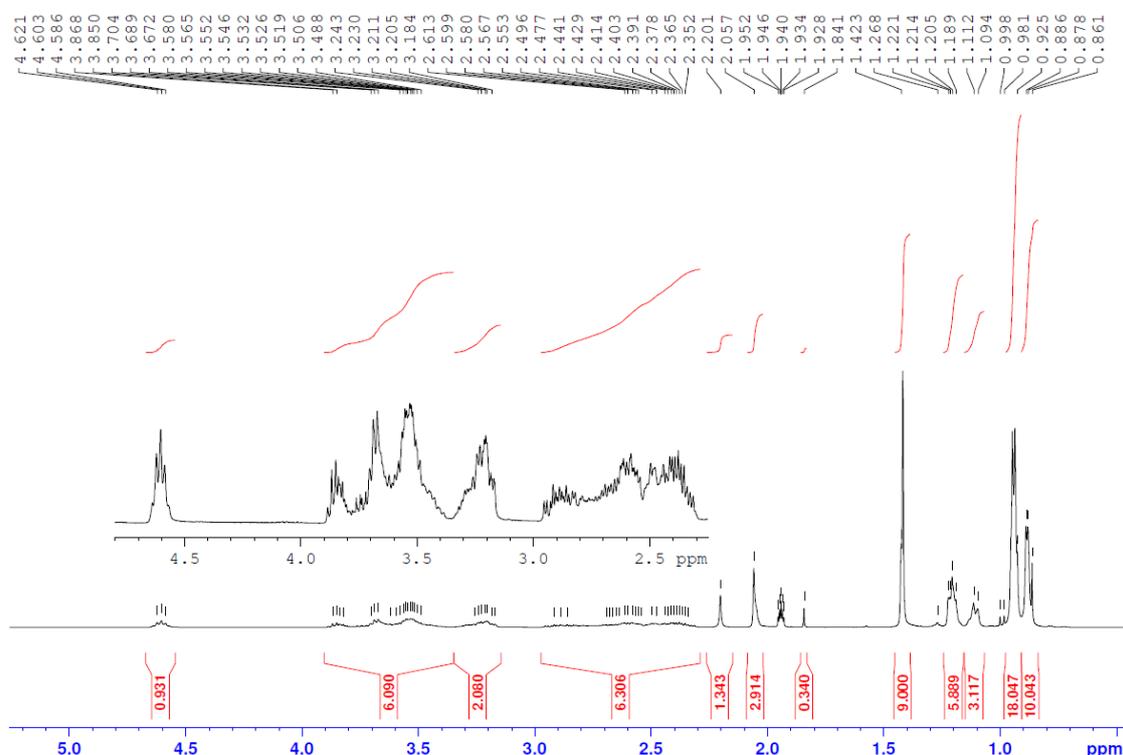
Crude dimer **II.5a** (1.5 g, 3.9 mmol, 1.0 equiv) was acrylated according to **General Procedure C** (purification SiO<sub>2</sub> column, cyclohexane/EtOAc 6:4, yield 86% over 2 steps). Next, the formed acrylamide intermediate was engaged in the aza-

Michael step with (*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine according to **General Procedure D**, giving trimer **II.6a**. Acetylation of **II.6a** (**General Procedure H**), gave trimer **II.6** as a pale yellow oil (1.91 g, 3.28 mmol) with 94% yield (2 steps) after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 6:4). Overall yield was 81%.

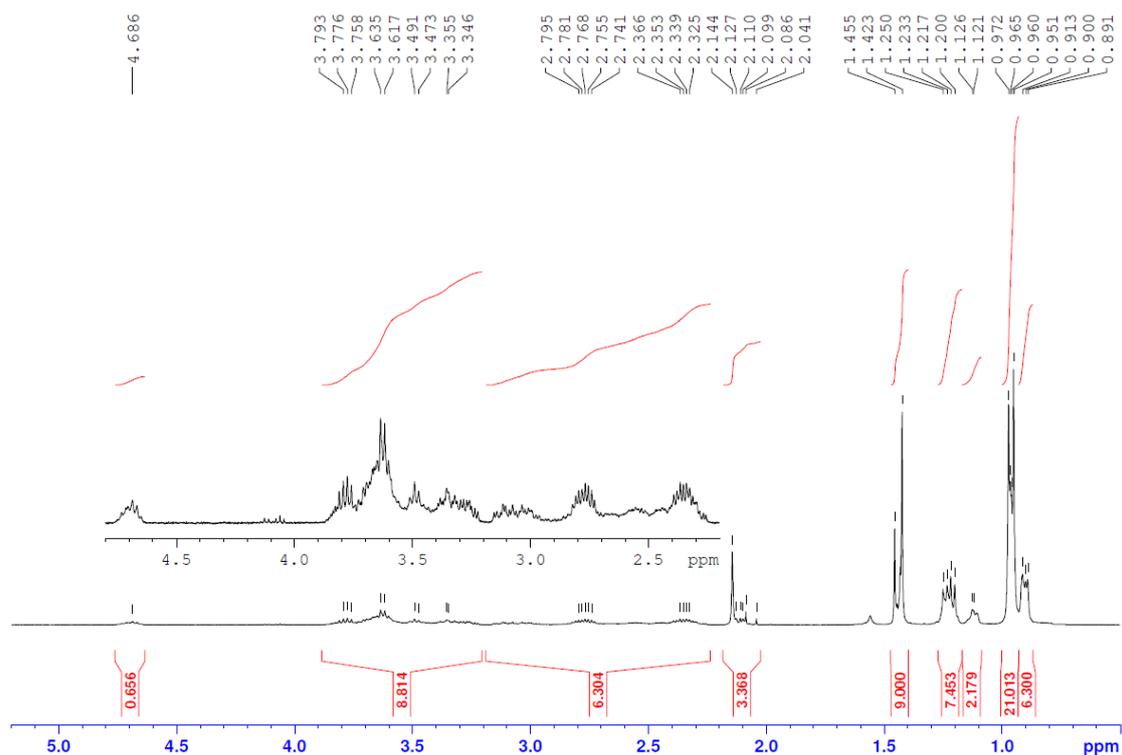
**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.33 (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>33</sub>H<sub>64</sub>O<sub>5</sub>N<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 582.4841, found 582.4825.

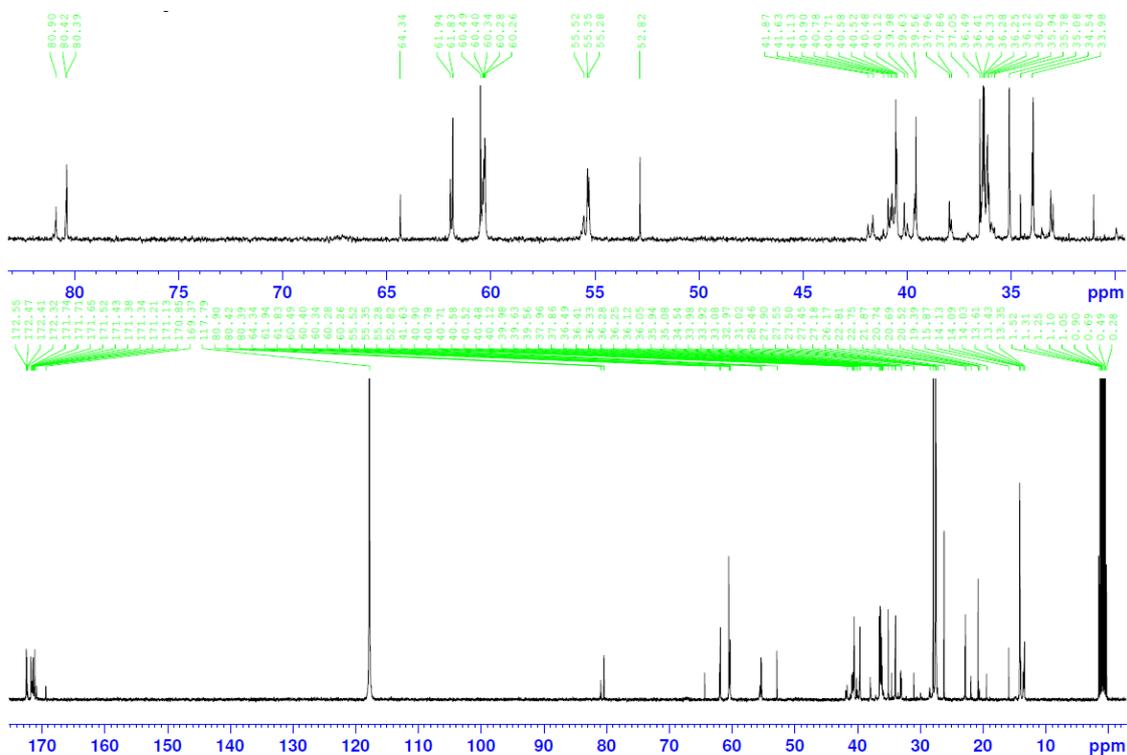
**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 12.03 min, purity: 98%

**NMR spectra:**<sup>1</sup>H NMR, CD<sub>3</sub>CN, 17 mM

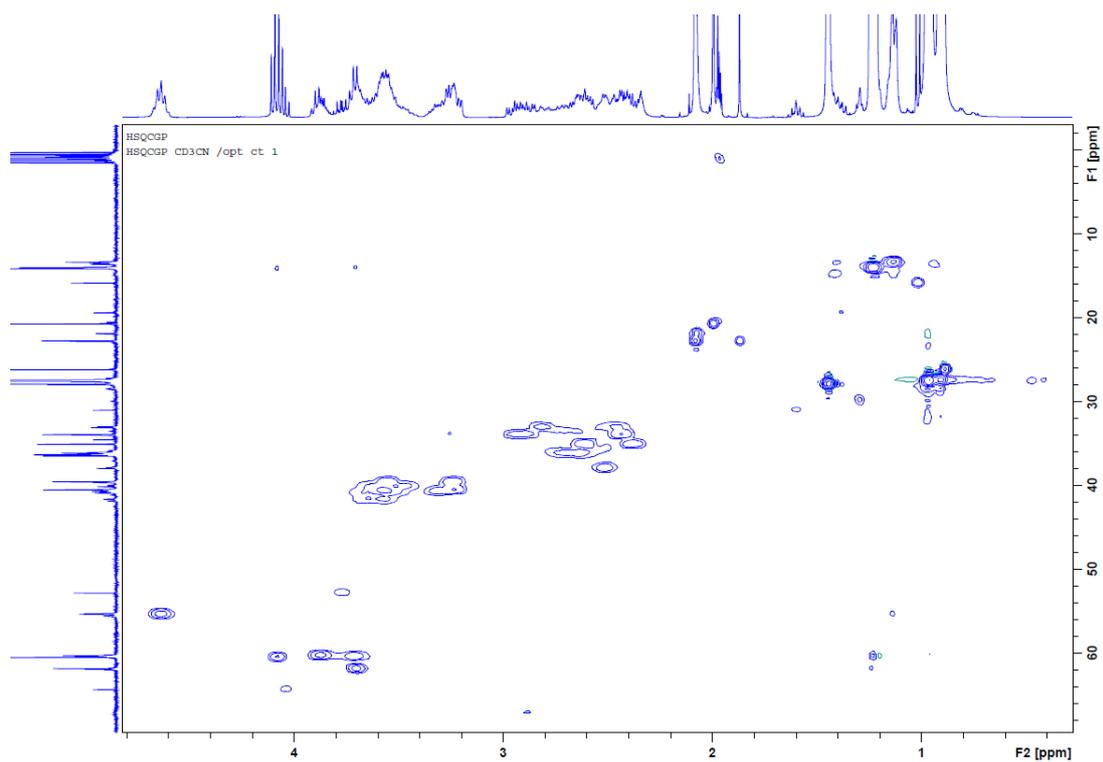
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 17 mM



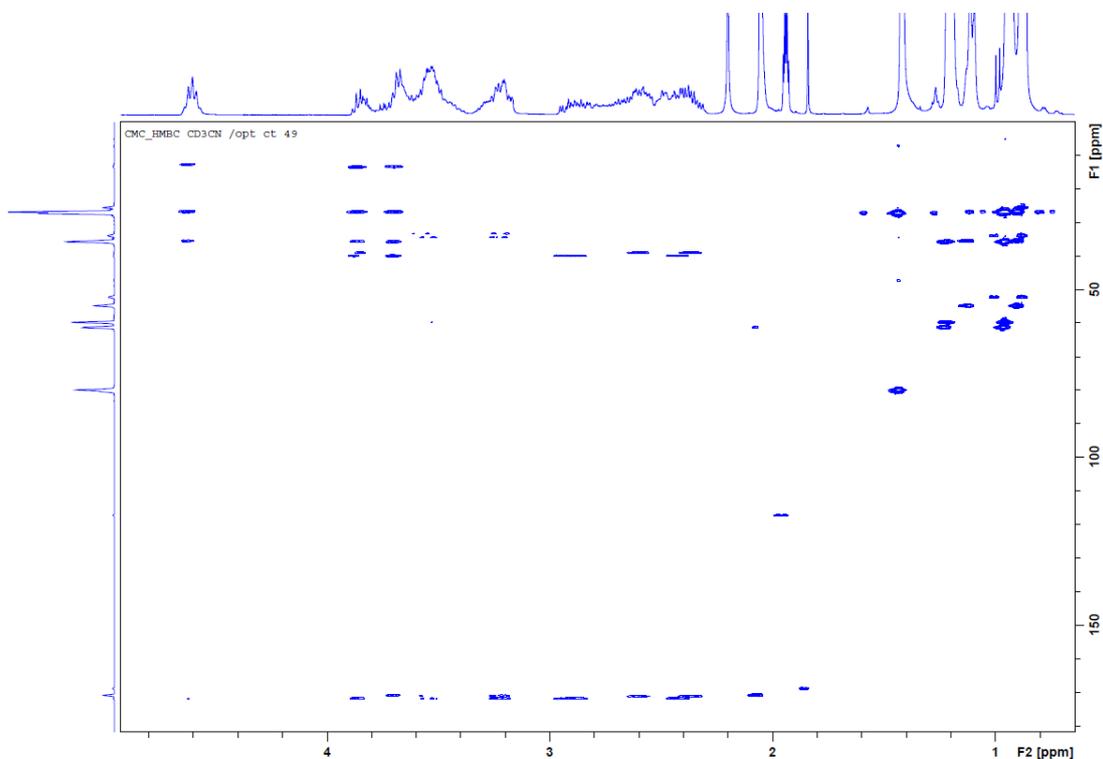
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$

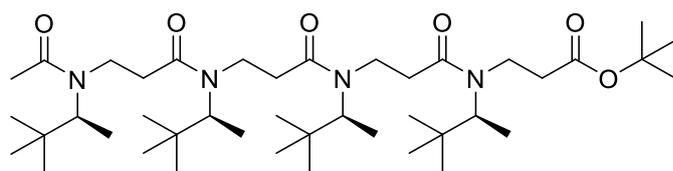


2D HSQC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 17 mM



2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 17 mM



Tetramer **II.7**Chemical Formula: C<sub>42</sub>H<sub>80</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>

Exact Mass: 736.6078

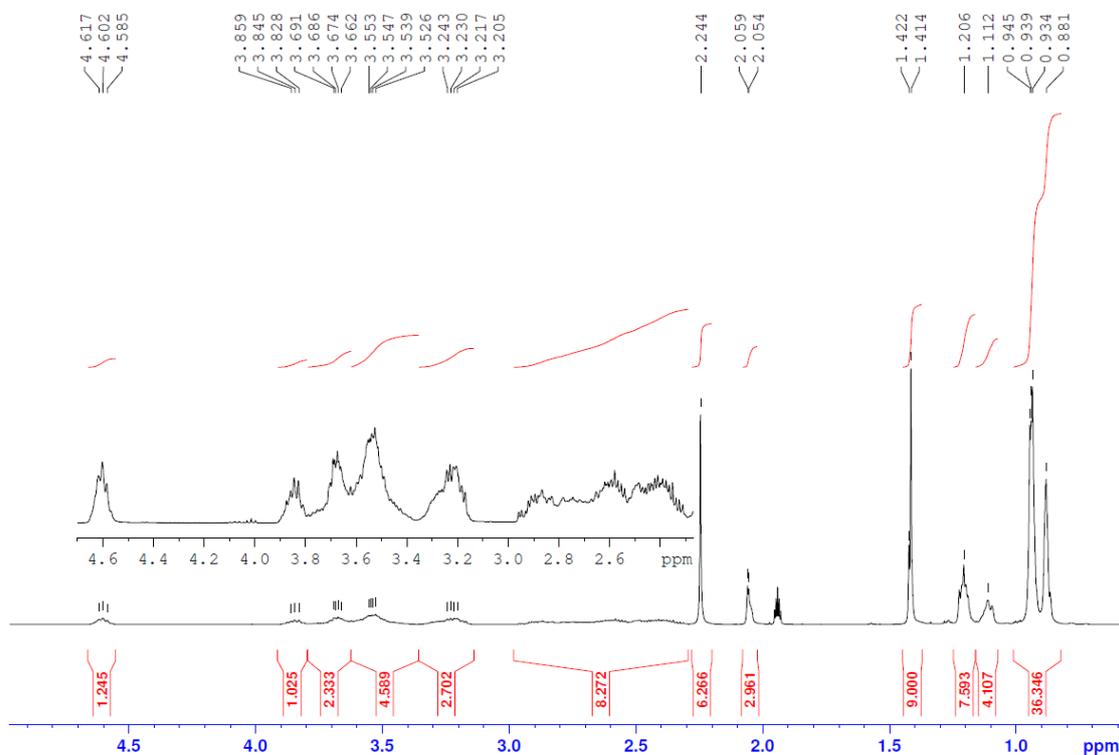
Crude trimer **II.6a** (1.62 g, 3.0 mmol, 1.0 equiv) was acrylated according to **General Procedure C** (purification SiO<sub>2</sub> column, cyclohexane / EtOAc 6:4, yield 98% over 2 steps). Next, the

formed acrylamide intermediate was engaged in the aza-Michael step with (*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine according to **General Procedure D**, giving tetramer **II.7a**. Acetylation of **II.7a** (**General Procedure H**), gave tetramer **II.7** as a pale yellow oil (1.91 g, 3.28 mmol) with 56% yield (2 steps) after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 6:4). Overall yield was 42%.

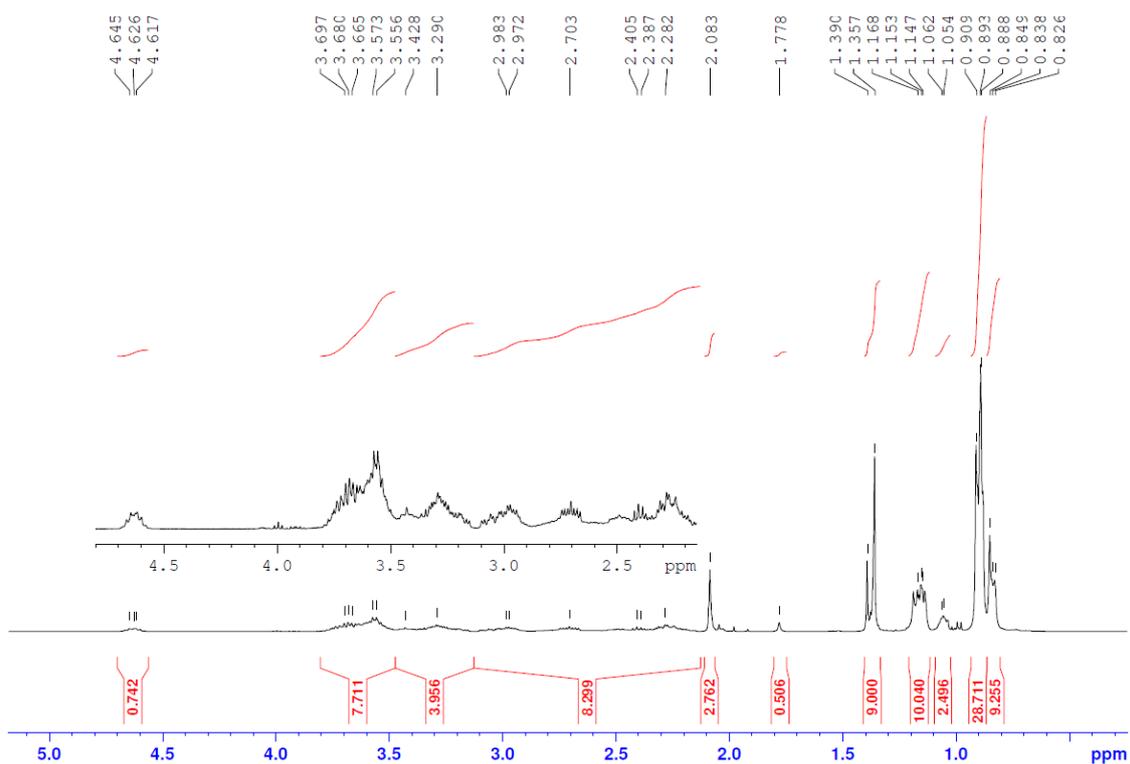
**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.23 (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>42</sub>H<sub>81</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 737.6151, found 737.6148.

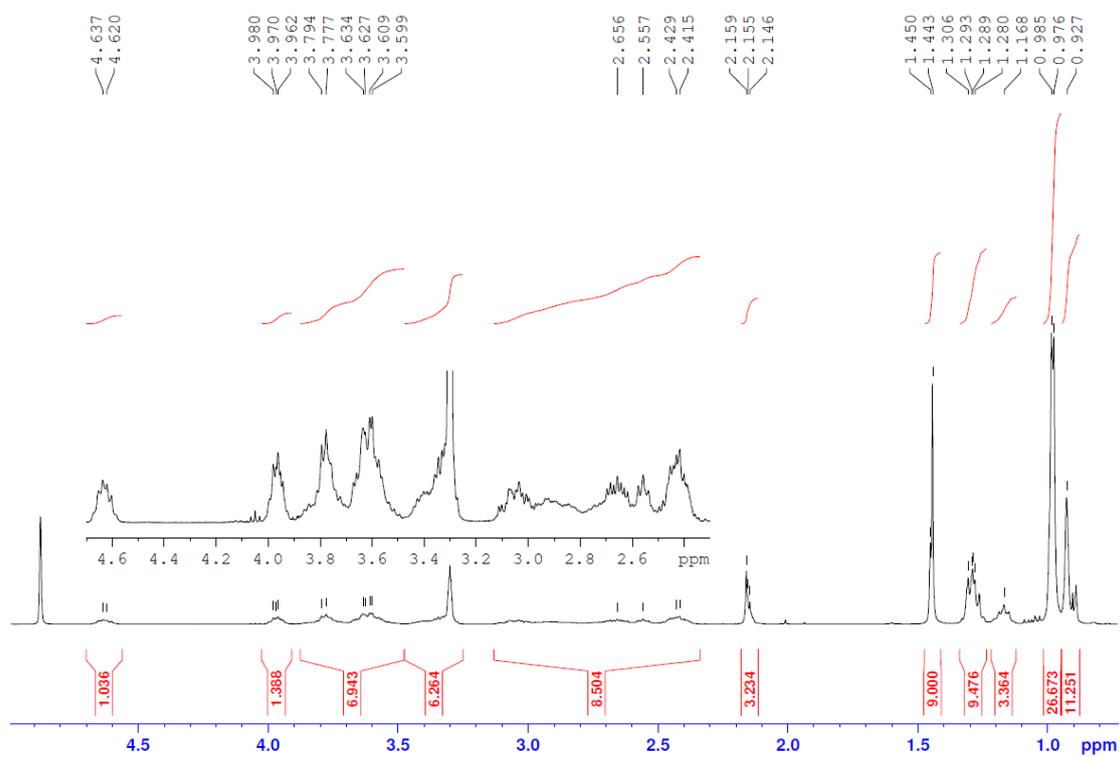
**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 13.27 min, purity: 96%

**NMR spectra:**<sup>1</sup>H NMR, CD<sub>3</sub>CN, 14 mM

$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 14 mM

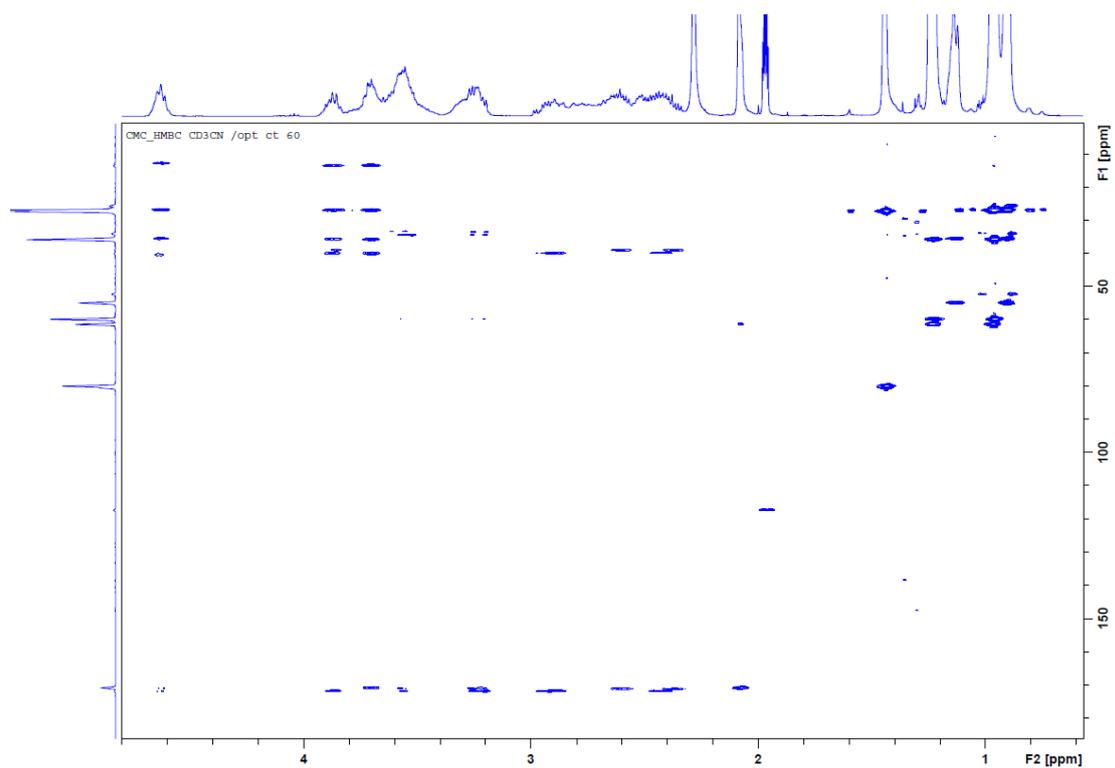


$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 14 mM

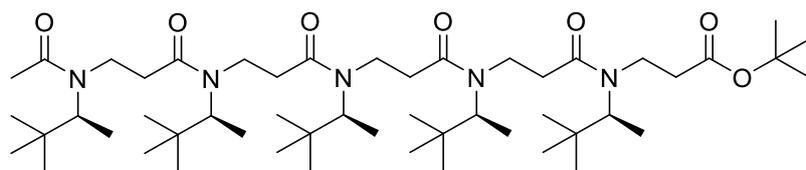




2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 14 mM



## Pentamer II.8

Chemical Formula: C<sub>51</sub>H<sub>97</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>

Exact Mass: 891.7388

Crude tetramer **II.7a** (1.43 g, 2.06 mmol, 1.0 equiv) was acrylated according to **General Procedure C** (purification SiO<sub>2</sub> column,

cyclohexane/EtOAc 6:4, yield 73% over 2 steps). Next, the formed acrylamide intermediate was engaged in the aza-Michael step with (*S*)-3,3-dimethyl-2-butanamine according to **General Procedure D**, giving pentamer **II.8a**. Acetylation of **II.8a** (**General Procedure H**), gave pentamer **II.8** as a pale yellow oil (1.11 g, 1.24 mmol) with 82% yield (2 steps) after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 4:6). Overall yield was 31%.

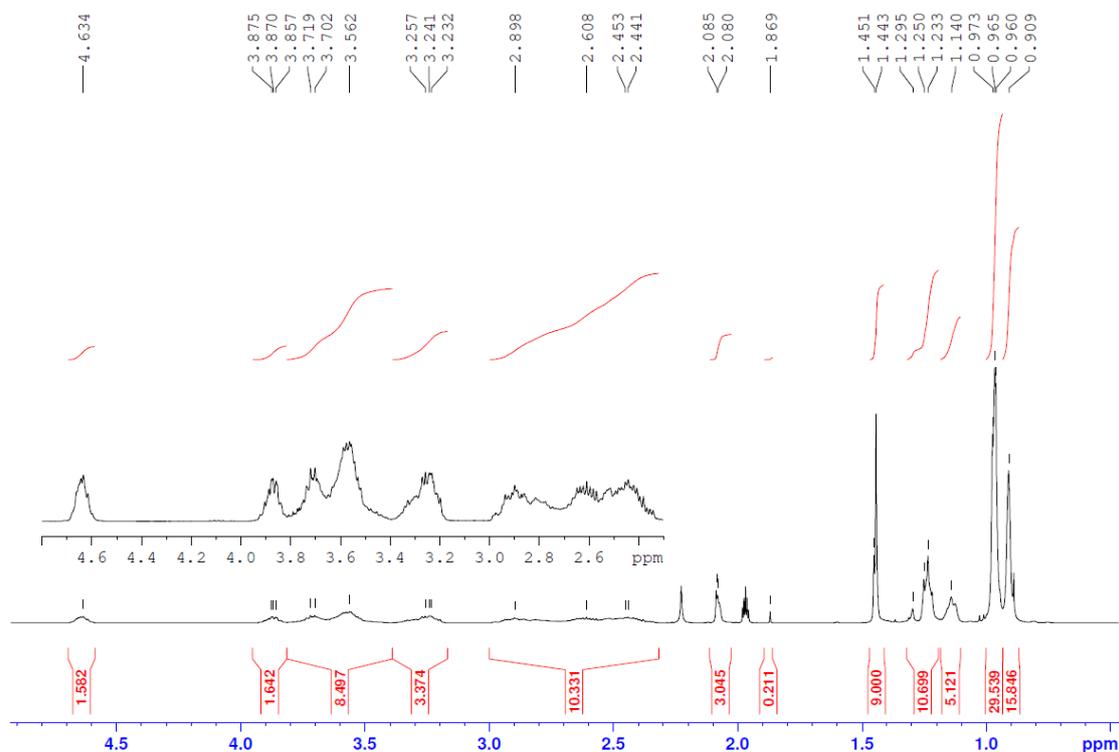
**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.19 (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>51</sub>H<sub>98</sub>O<sub>7</sub>N<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> 892.7461, found 892.7432.

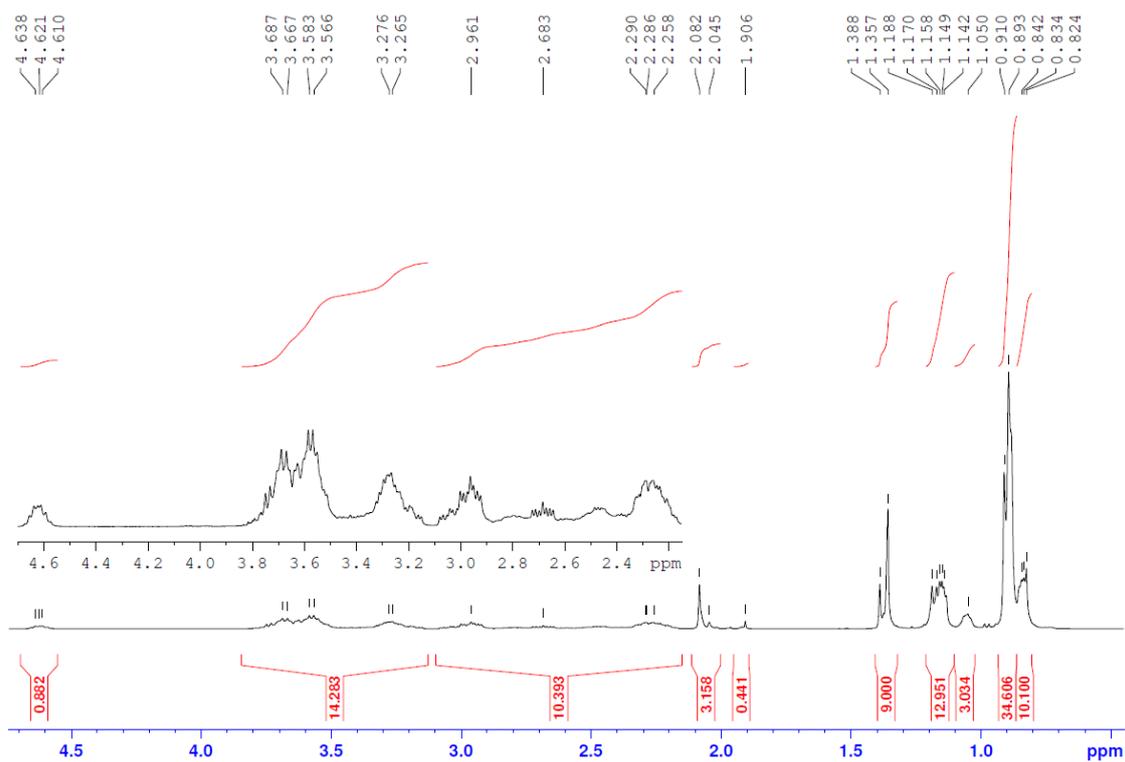
**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 10.69 min, purity: 95%

**NMR spectra:**

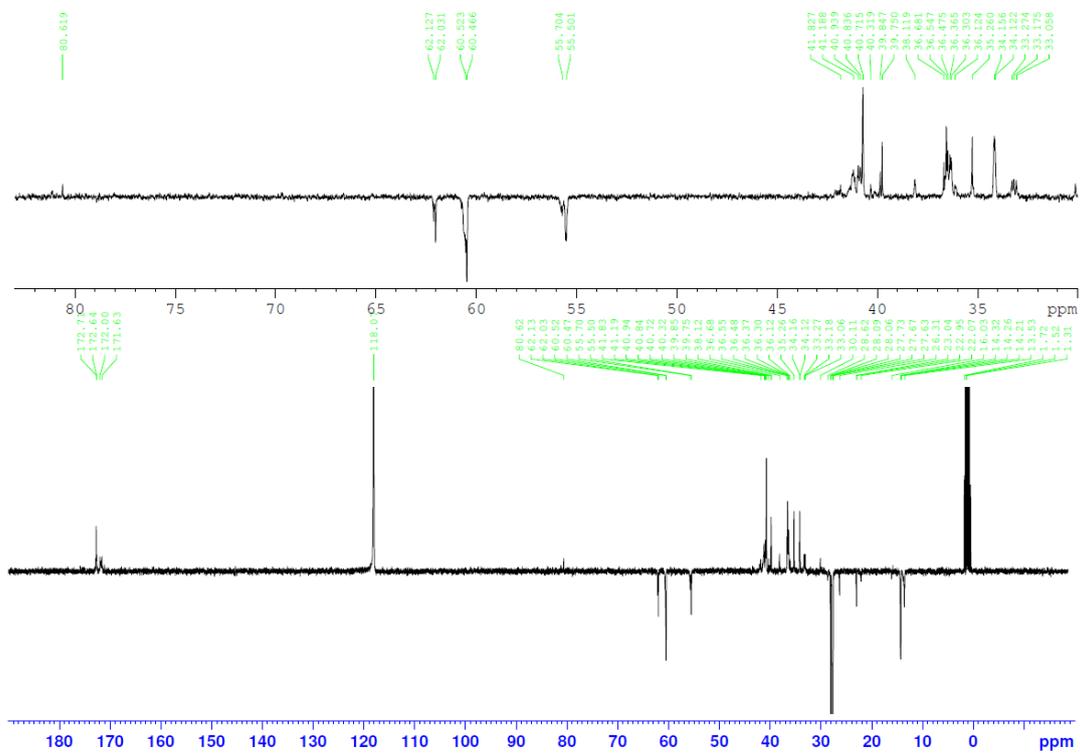
<sup>1</sup>H NMR, CD<sub>3</sub>CN, 11 mM



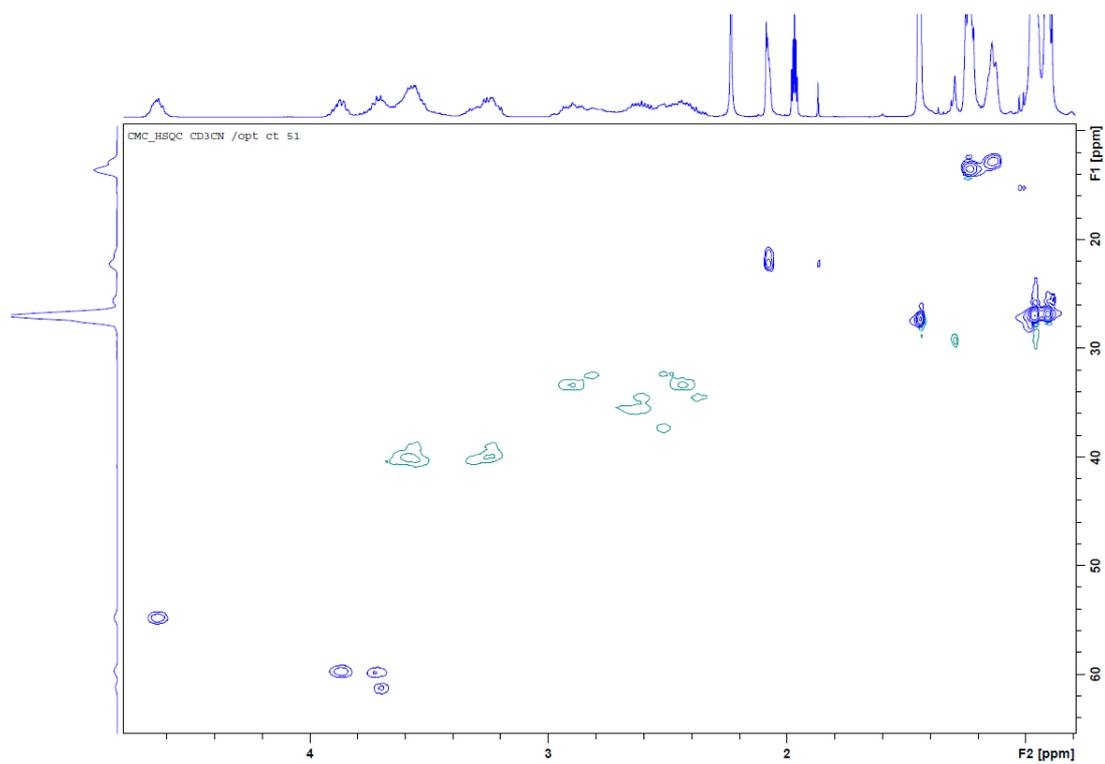
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 11 mM



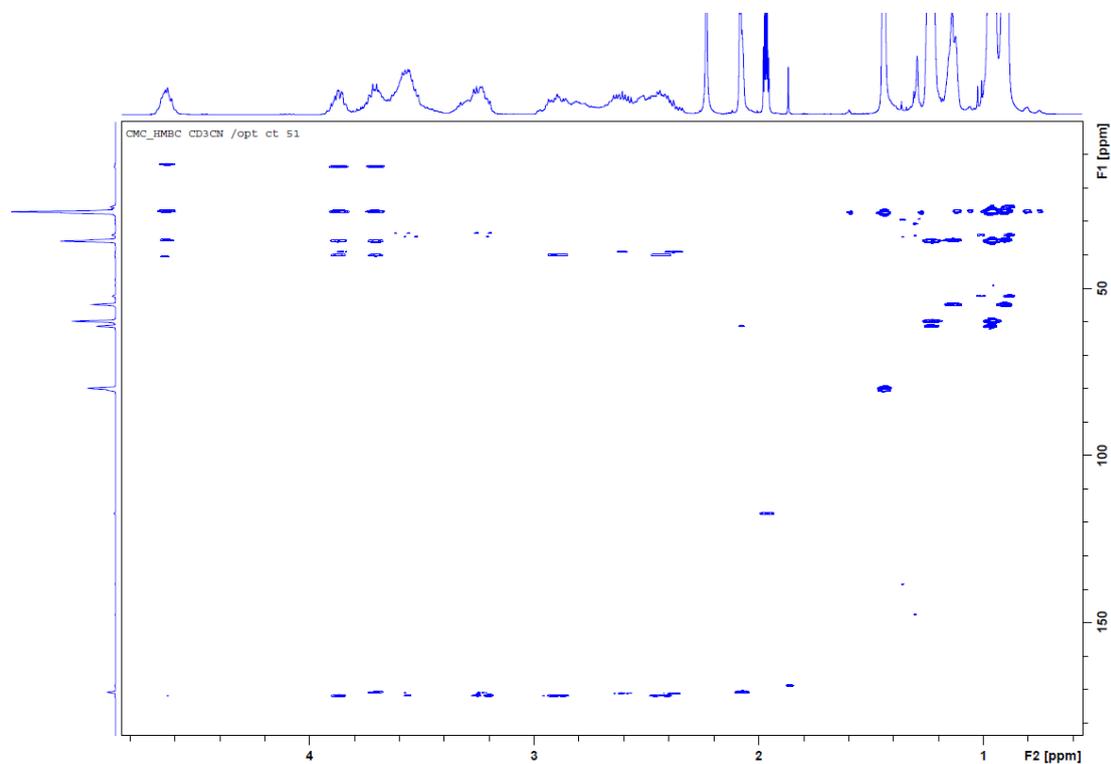
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$



2D HSQC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 11 mM

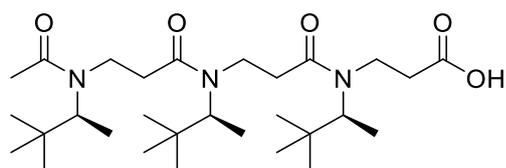


2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 11 mM



## Hexamer II.

### ➤ Synthesis of the acid partner II.11 from trimer II.3a (III.10)

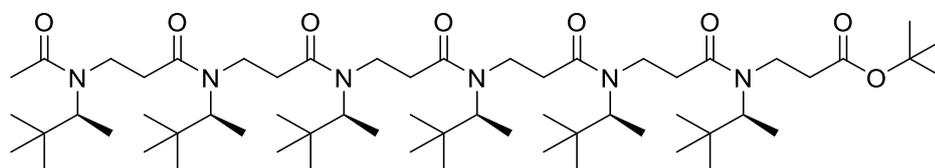


Chemical Formula:  $C_{29}H_{55}N_3O_5$   
Exact Mass: 525.4142

Trimer **II.3a/II.10** (0.48 g, 0.89 mmol) was acetylated according to **General Procedure H** and the crude product was purified on silica gel with Cyclohexane/EtOAc 1:1 as solvent (98% yield). Finally, the benzyl ester was deprotected on a fraction

of the acetylated product (149 mg, 0.26 mmol) following **General Procedure M**, yielding compound **II.11** as a colourless foam (134 mg, 0.26 mmol) with a yield of 98% (67% overall).

### ➤ Coupling of partners II.10 and III.11



Chemical Formula:  $C_{60}H_{114}N_6O_8$   
Exact Mass: 1046.8698

Trimers **II.10** (133 mg, 0.26 mmol, 1.0 equiv) and **II.11** (140 mg, 0.26 mmol, 1.0 equiv)

were engaged together in the coupling following **General Procedure N**, yielding hexamer **II.9** as a colourless oil (175 mg, 0.17 mmol) with a yield of 64% after purification ( $SiO_2$ , EtOAc).

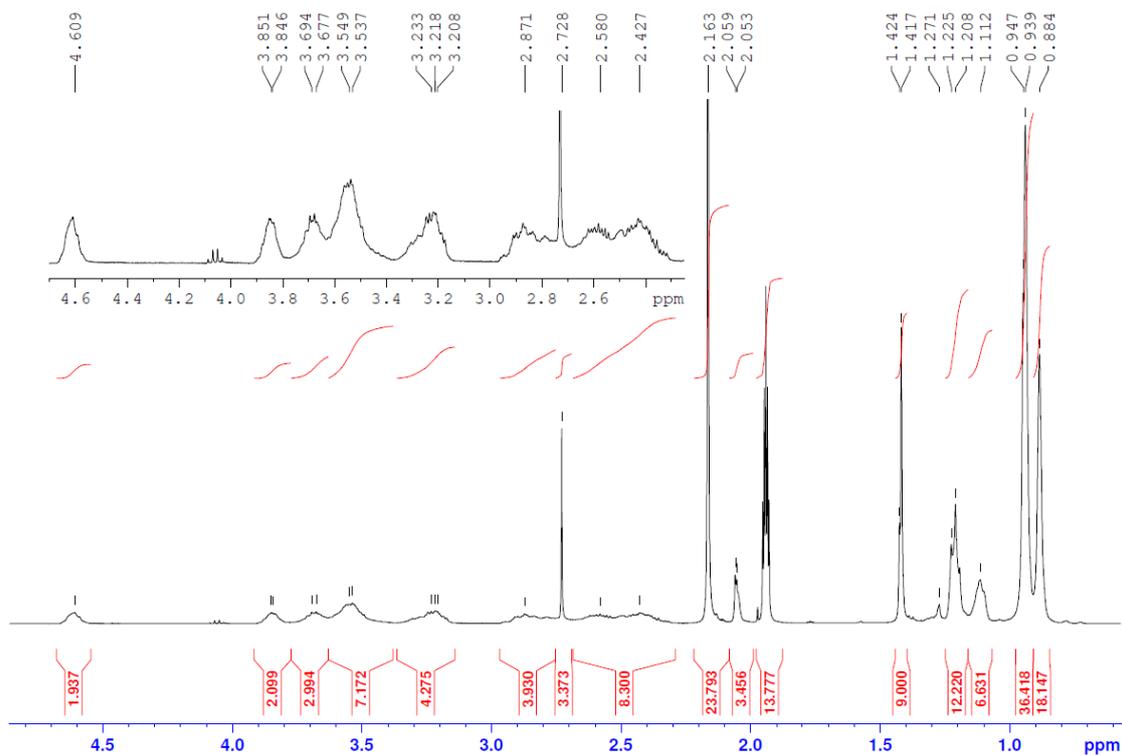
**TLC:**  $R_f = 0.14$  (Cyclohexane/EtOAc 4:6)

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>):  $m/z$  calculated for  $C_{60}H_{115}O_8N_6$   $[M+H]^+$  1047.8771, found 1047.8763.

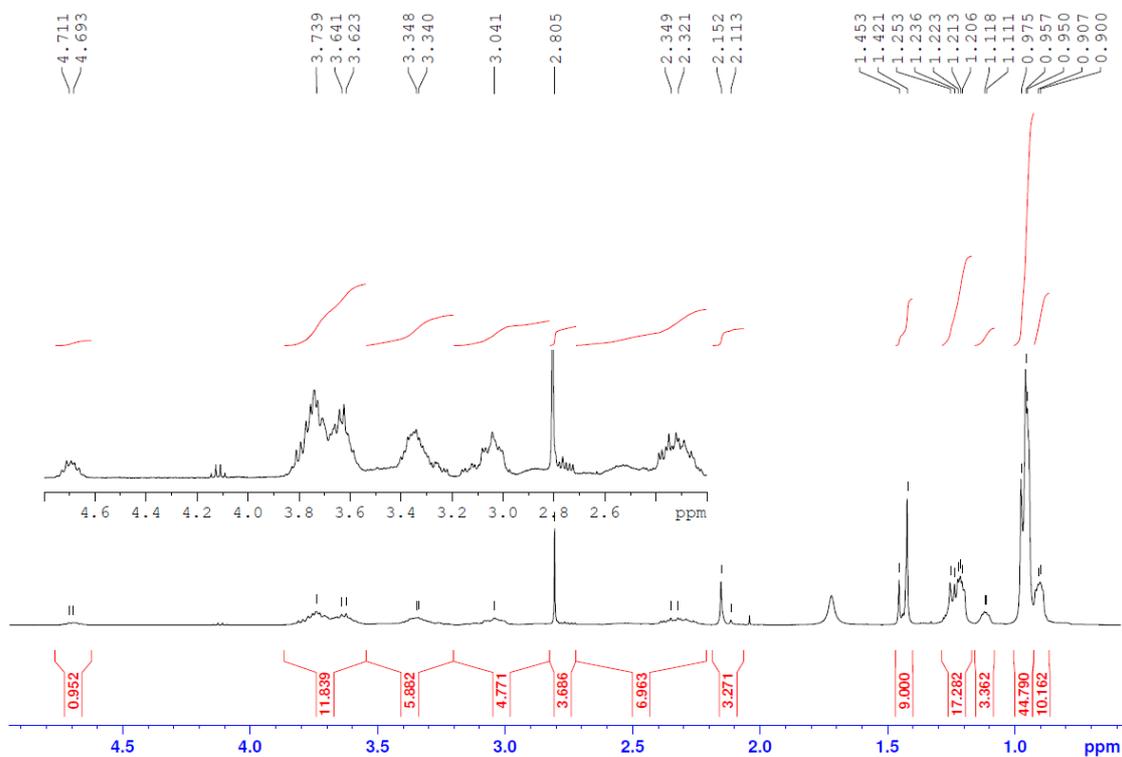
**HPLC** ( $H_2O+0.1\%$  TFA/ACN):  $t_r = 9.96$  min, purity: 100%

NMR spectra:

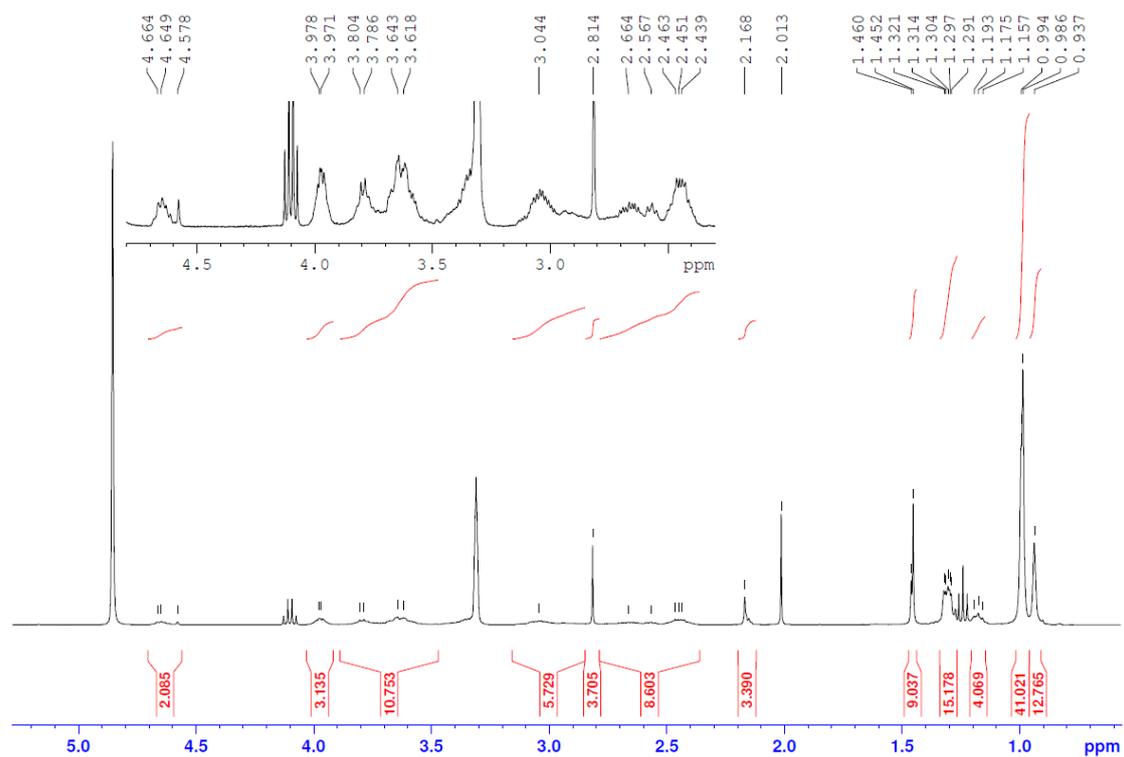
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , 10 mM



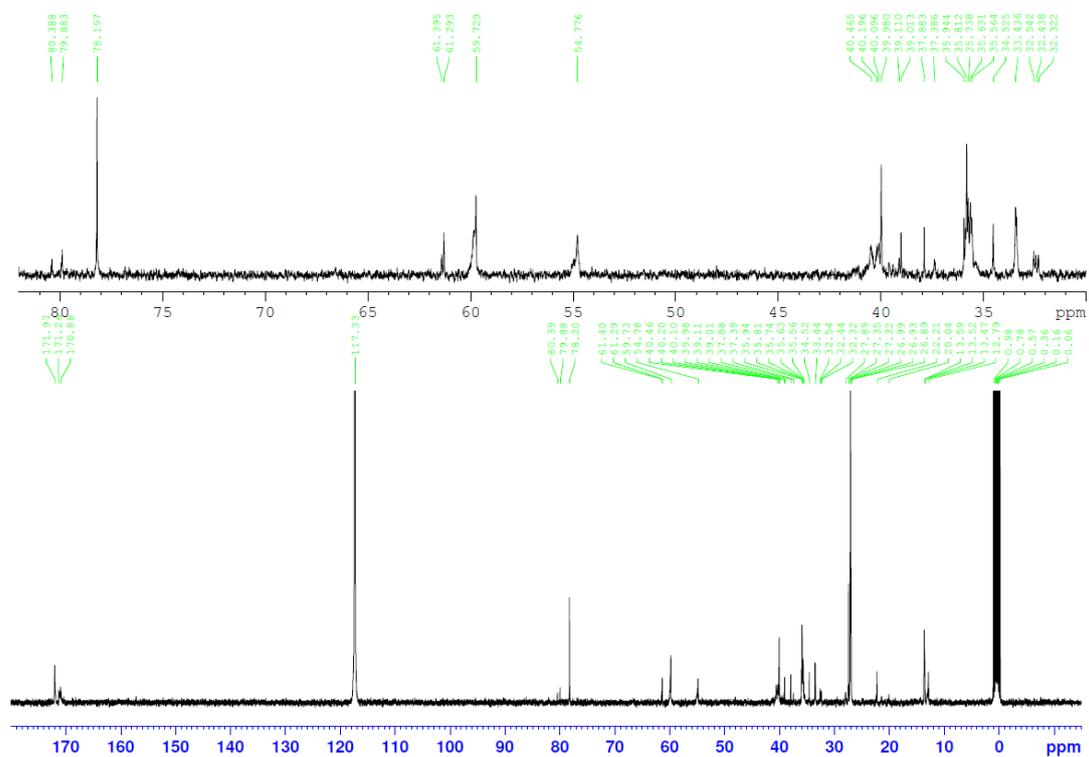
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 10 mM



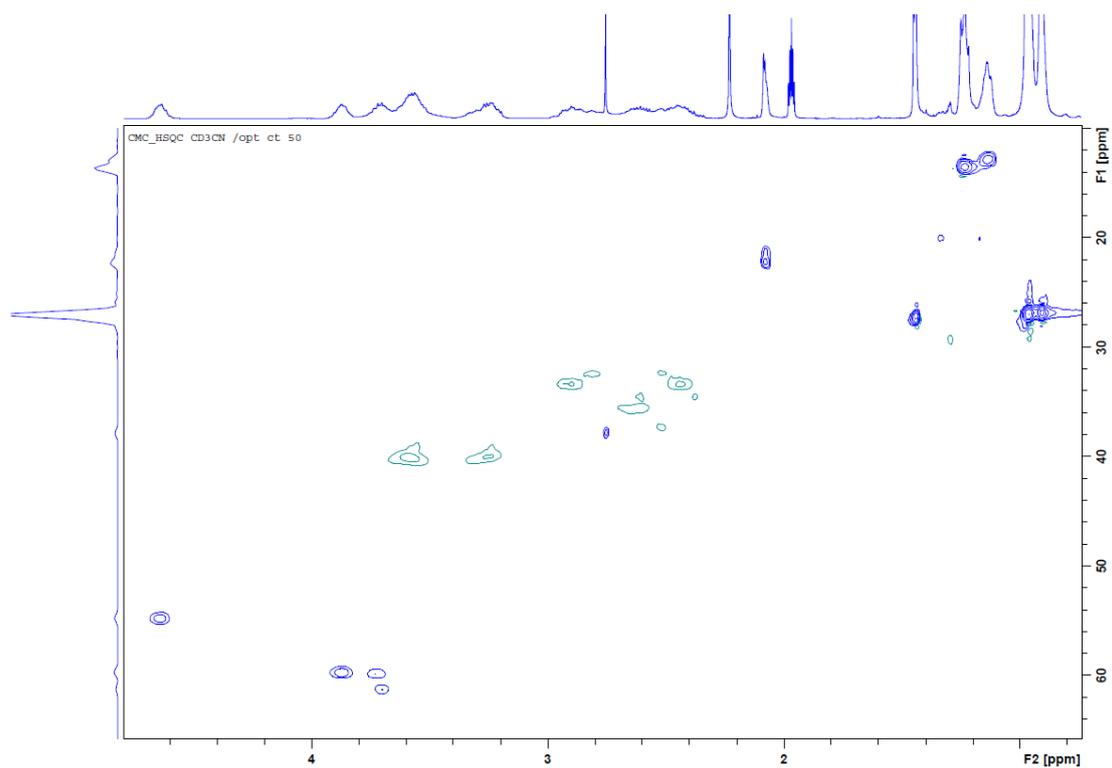
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 10 mM



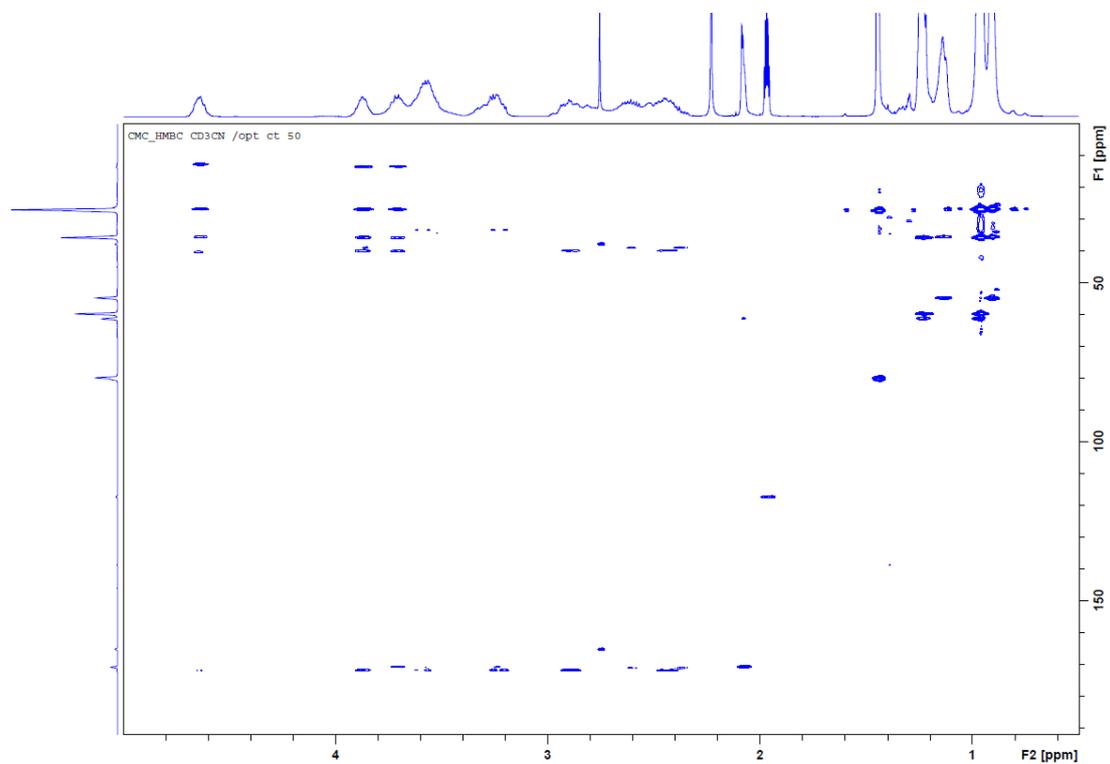
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$



2D HSQC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 10 mM

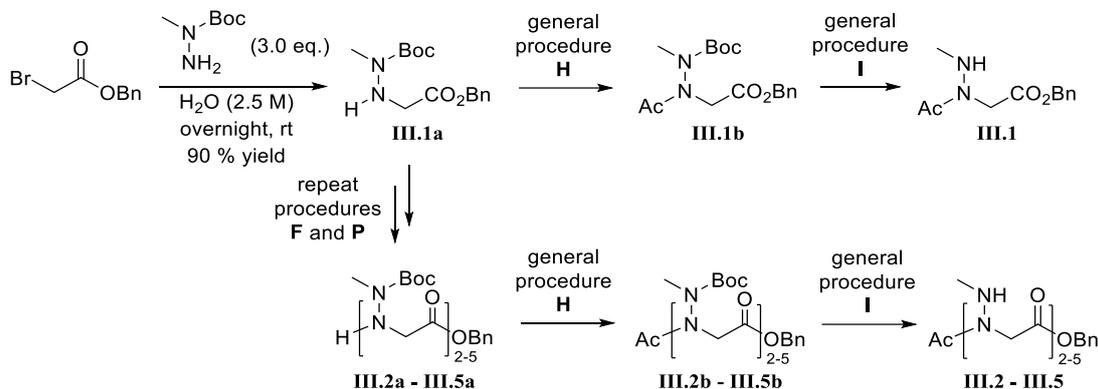


2D HMBC NMR, CD<sub>3</sub>CN, 10 mM



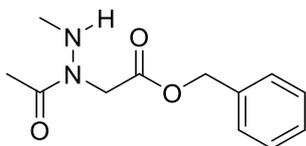
## 6.2. Syntheses of Chapter III

### 6.2.1. Linear synthesis of the achiral oligomers



Scheme 3 Stepwise synthesis of peptoid III.1-III.5

#### Monomer III.1



Chemical Formula:  $C_{12}H_{16}N_2O_3$   
Exact Mass: 236,1161

Benzyl bromoacetate (0.50 mL, 3.14 mmol, 1.0 equiv) was reacted with 1-Boc-1-methylhydrazine (1.4 mL, 9.42 mmol, 3 equiv), following **General Procedure O**. The residue was purified on silica gel (cyclohexane/EtOAc 4:1) to produce 92% of monomer **III.1a**. The latter was acetylated (**General**

**Procedure H**), to yield the Boc-protected monomer **III.1b** in 91% yield after purification on silica gel (cyclohexane/EtOAc 4:1). Finally, the Boc group was removed following **General Procedure I**, yielding monomer **III.1** as a colourless oil (594 mg, 2.52 mmol) in an overall yield of 83% after purification on silica gel (cyclohexane/EtOAc 3:2).

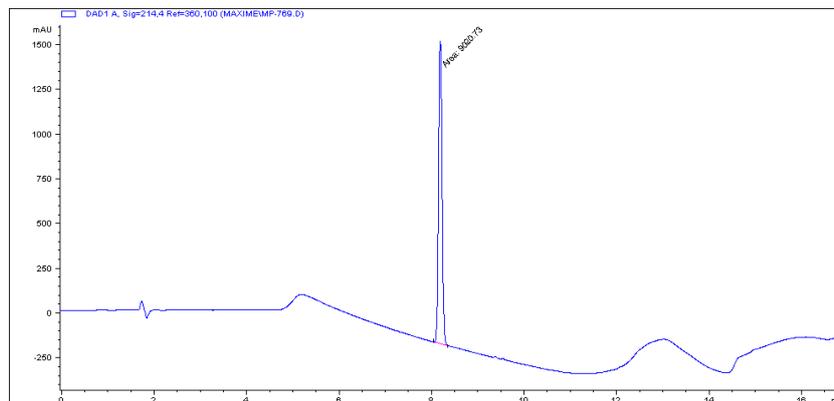
**TLC:**  $R_f = 0,27$  (Cyclohexane/EtOAc 1:1)

**$^1H$  NMR** (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): mixture of 2 rotamers  $\delta$  (ppm): 1.96 (s, 0.32H, **Ac cis** rotamer), 2.05 (s, 2.68H, **Ac trans** rotamer), 2.40 and 2.44 (2 $\times$ s, 3H, **CH<sub>3</sub>NH**), 4.22 (s, 1.80H, **NCH<sub>2</sub>C=O trans** rotamer), 4.35 (s, 0.20H, **NCH<sub>2</sub>C=O cis** rotamer), 4.92 (m, 1H, **NH**), 5.13 (s, 1.80H, **CH<sub>2</sub>Ph trans** rotamer), 5.17 (s, 0.20H, **CH<sub>2</sub>Ph cis** rotamer), 7.35 - 7.37 (m, 5H, **C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>**).

**$^{13}C$  NMR** (100 MHz, DMSO- $d_6$ ): mixture of 2 rotamers  $\delta$  (ppm): 20.5 (**CH<sub>3</sub>**, **Ac trans** rotamer), 21.0 (**CH<sub>3</sub>**, **Ac cis** rotamer), 35.3 (**CH<sub>3</sub>**, **CH<sub>3</sub>NH trans** rotamer), 36.8 (**CH<sub>3</sub>**, **CH<sub>3</sub>NH cis** rotamer), 43.9 (**CH<sub>2</sub>**, **NCH<sub>2</sub>C=O trans** rotamer), 52.3 (**CH<sub>2</sub>**, **NCH<sub>2</sub>C=O cis** rotamer), 67.0 (**CH<sub>2</sub>**, **CH<sub>2</sub>Ph trans** rotamer), 67.4 (**CH<sub>2</sub>**, **CH<sub>2</sub>Ph cis** rotamer), 128.3, 128.5, 128.6 (5 **CH**, **C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>**), 135.2 (**C<sub>ipso</sub>**, **C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>**), 168.9 (**C**, **CO<sub>2</sub>Bn cis** rotamer), 169.3 (**C**, **CO<sub>2</sub>Bn trans** rotamer), 170.3 (**C**, **CH<sub>3</sub>C(=O)N cis** rotamer), 174.4 (**C**, **CH<sub>3</sub>C(=O)N trans** rotamer).

HRMS (TOF MS ES+):  $m/z$  calculated for  $C_{12}H_{17}O_3N_2$   $[M+H]^+$  237.1161, found 237.1234.

HPLC ( $H_2O+0.1\%$  TFA/ACN) :  $t_r$  = 8.18 min, purity: 100%

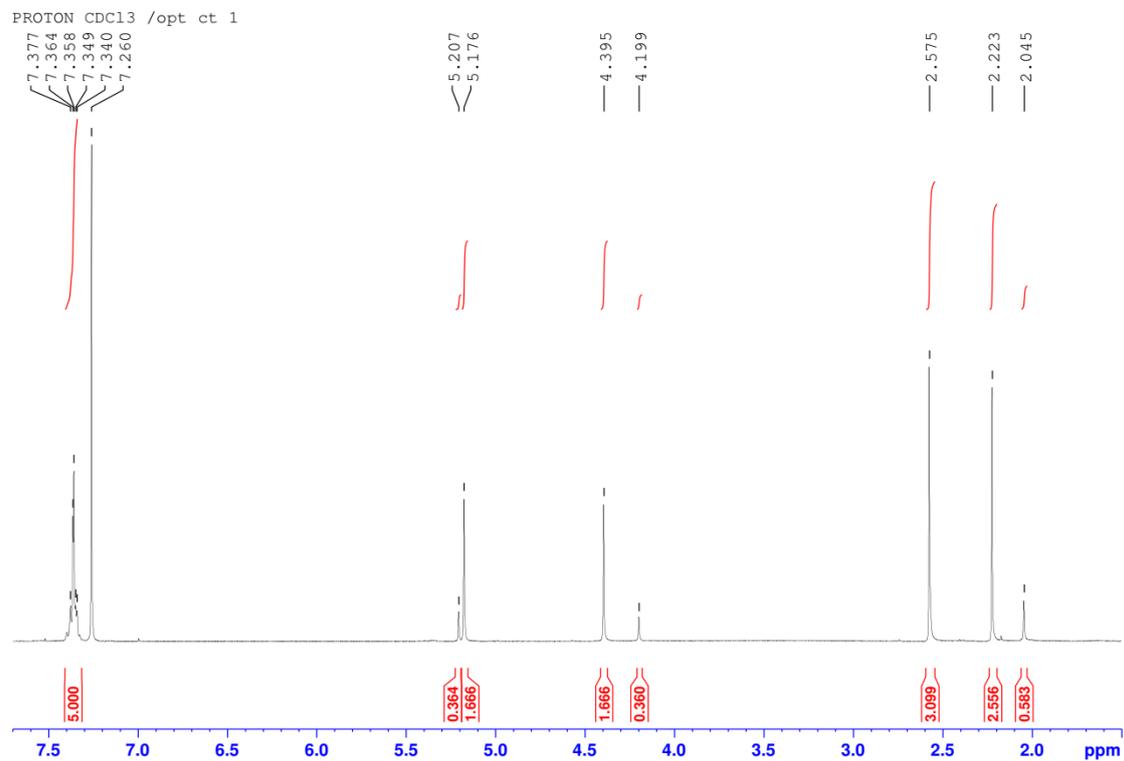


Signal 1: DAD1 A, Sig=214,4 Ref=360,100

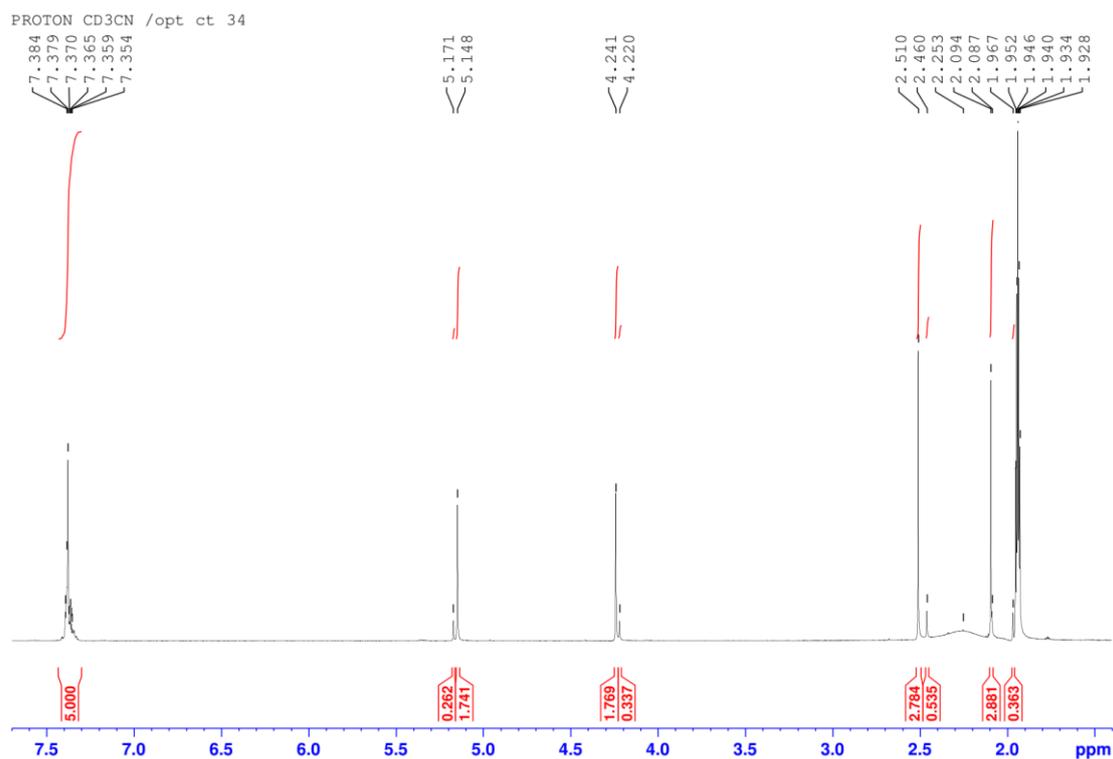
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	8.181	MM	0.0887	9014.04395	1693.61914	100.0000

**NMR spectra:**

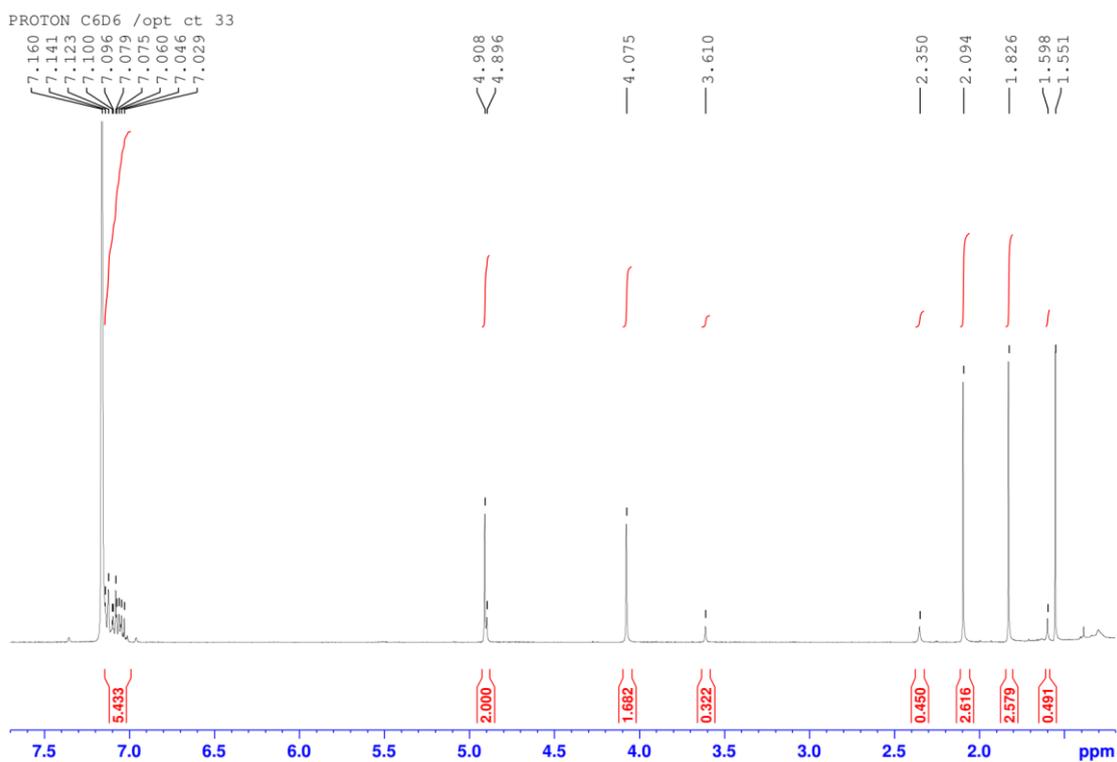
$^1H$  NMR,  $CDCl_3$ , 8 mM



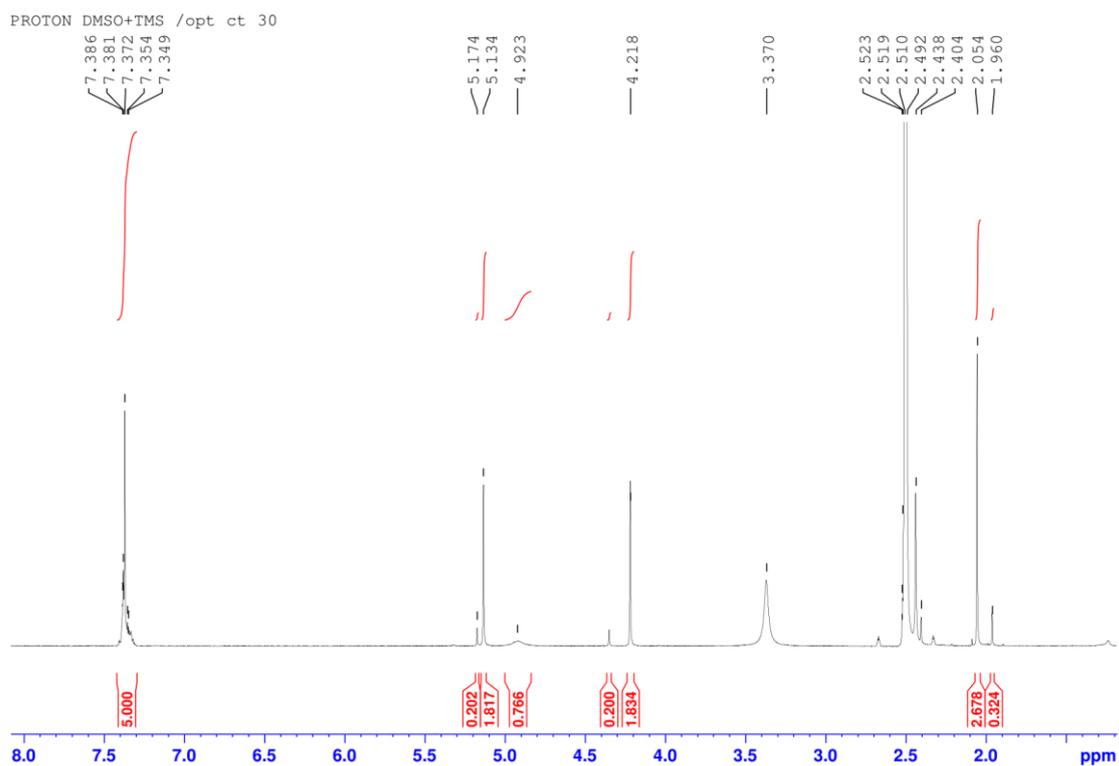
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , 8 mM



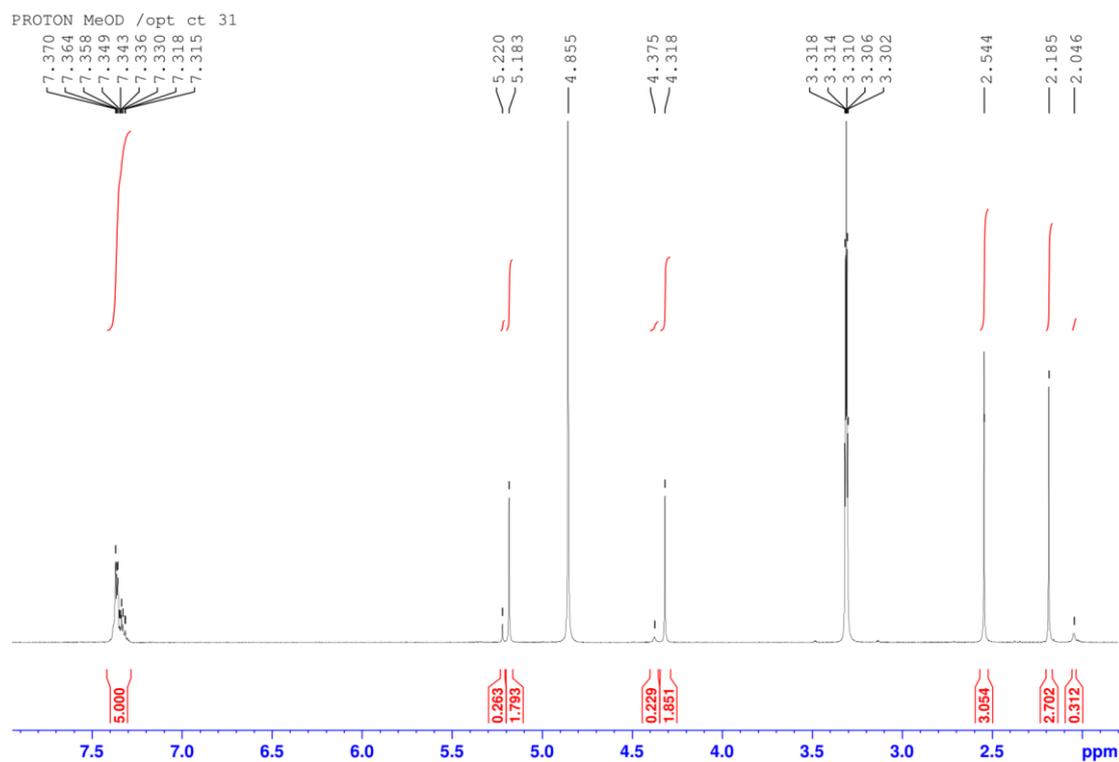
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 8 mM



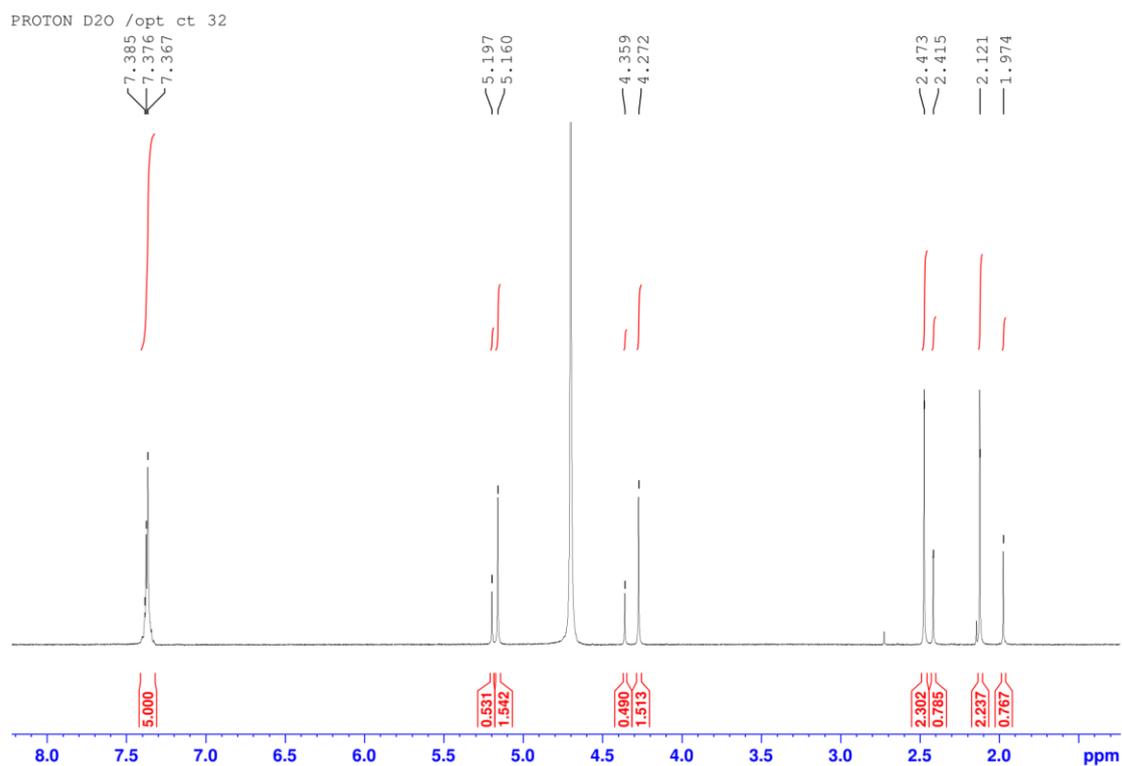
$^1\text{H}$  NMR, DMSO- $d_6$ , 8 mM



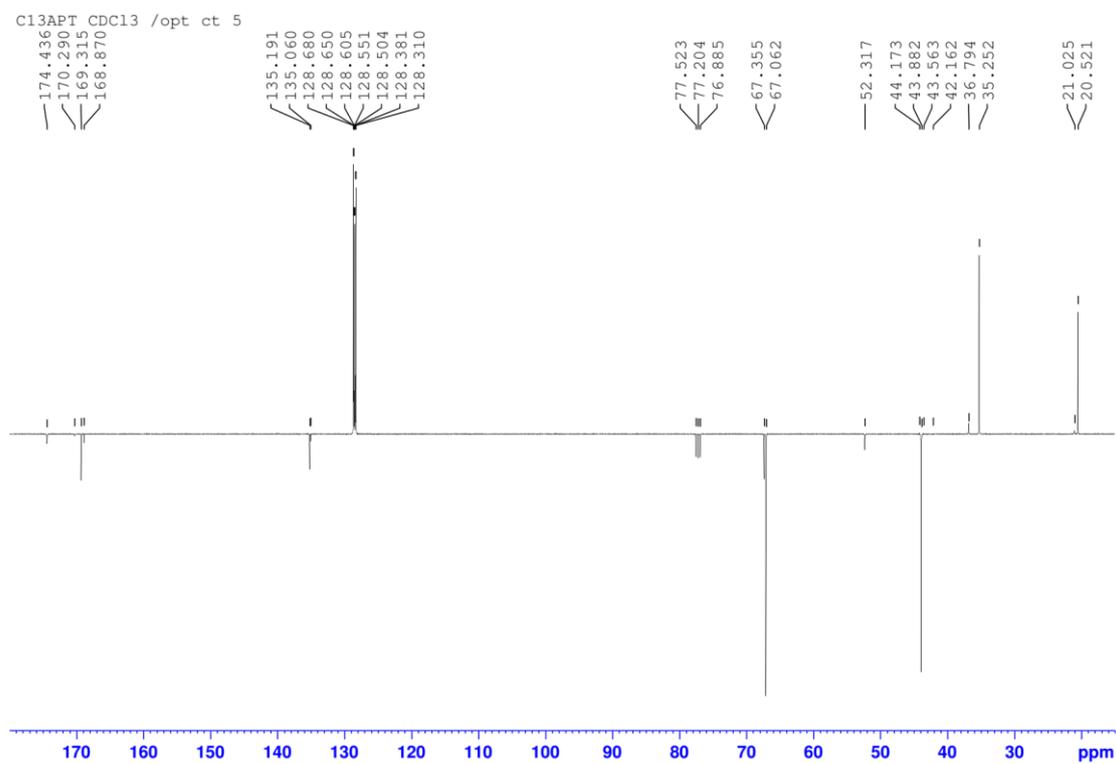
$^1\text{H}$  NMR, CD $_3$ OD, 8 mM



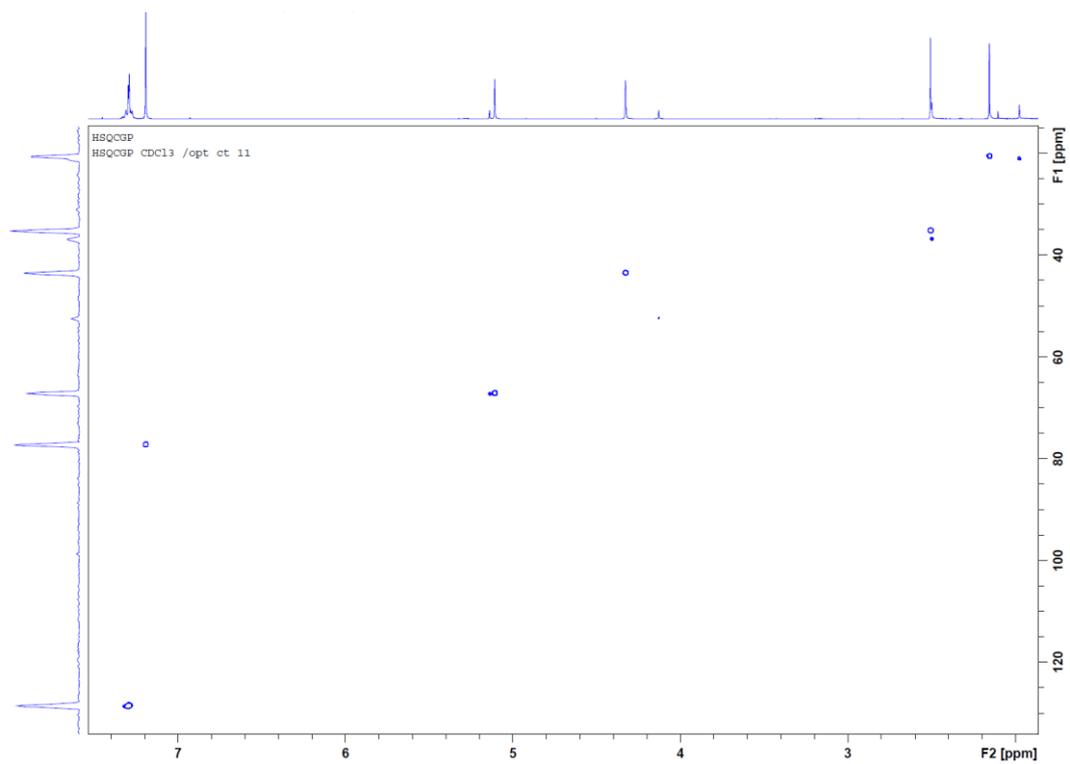
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{D}_2\text{O}$ , 8 mM



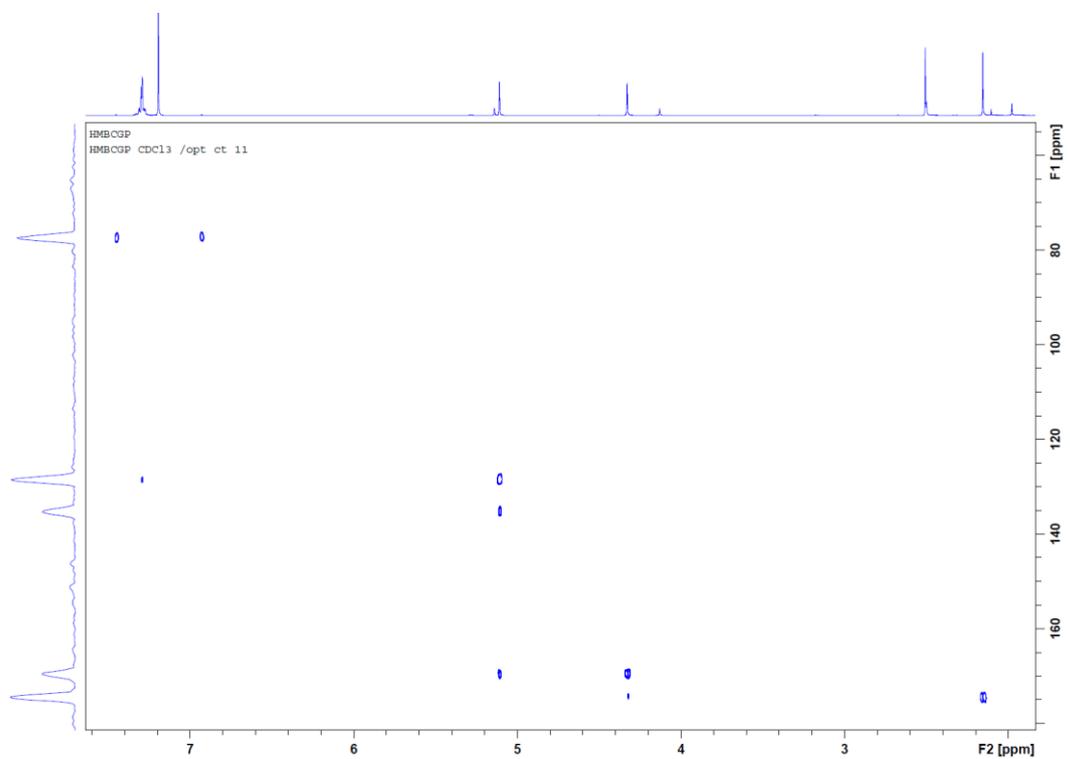
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$

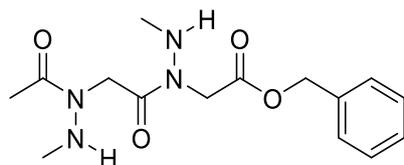


2D HSQC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 5 mM



2D HMBC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 5 mM



**Dimer III.2**

Chemical Formula: C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>  
Exact Mass: 322.1641

Monomer **III.1a** (0.958 g, 2.85 mmol, 1equiv) was bromoacylated according to **General Procedure F** (purification SiO<sub>2</sub> column, cyclohexane/EtOAc 4:1). Next, the formed bromoacetamide intermediate was engaged in the substitution step with 1-Boc-1-methylhydrazine according to **General Procedure P**, yielding dimer **III.2a** in 76% yield (2 steps) after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 4:1). Acetylation of **III.2a** (**General Procedure H**), gave the Boc-protected dimer **III.2b** in 82% yield after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 7:3). Finally, the Boc groups were removed following **General Procedure I**, to give dimer **III.2** as a colourless oil which solidified upon redissolution in chloroform and evaporation (342 mg, 1.06 mmol) in an overall yield of 37% after SiO<sub>2</sub> chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2).

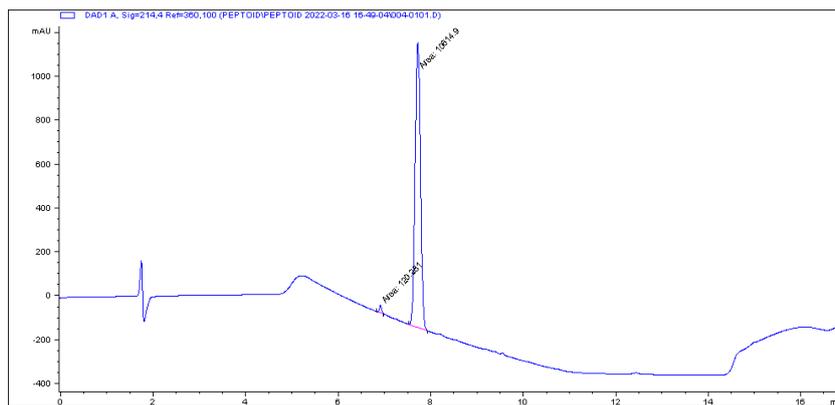
**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.21 (DCM/MeOH 98:2)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ (ppm): 1.84 (s, 0.4H, Ac), 2.03 -2.05 (m, 2.6H, Ac), 2.40 - 2.46 (m, 6H, 2×CH<sub>3</sub>NH), 4.25 - 4.28 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Bn), 4.46 - 4.48 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>C=O), 4.62 (m, 1H, NH), 4.93 (m, 1H, NH), 5.14(s, 1.9H, CH<sub>2</sub>Ph), 5.18 (s, 0.1H, CH<sub>2</sub>Ph), 7.33 - 7.38 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) of the major conformer: δ (ppm): 20.7 (CH<sub>3</sub>, Ac), 34.9, 35.2 (CH<sub>3</sub>, 2×NHCH<sub>3</sub>), 42.7, 44.0 (CH<sub>2</sub>, 2×NCH<sub>2</sub>C=O), 67.3 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph), 128.4, 128.6, 128.7 (5CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 135.0 (C<sub>ipso</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 168.8 (C, CO<sub>2</sub>Bn), 171.7 (C, NCH<sub>2</sub>C(=O)N), 175.0 (C, CH<sub>3</sub>C(=O)N).

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 323.1641, found 323.1714.

**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 7.71 min, purity: 99%

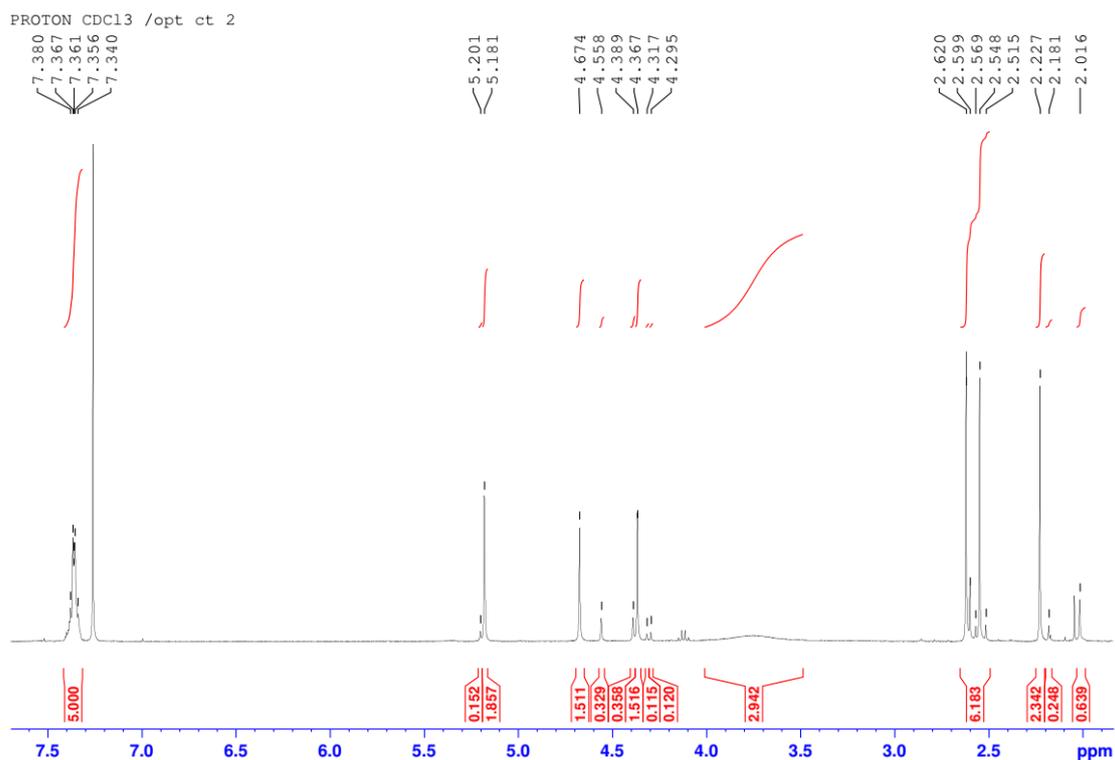


Signal 1: DAD1 A, Sig=214,4 Ref=360,100

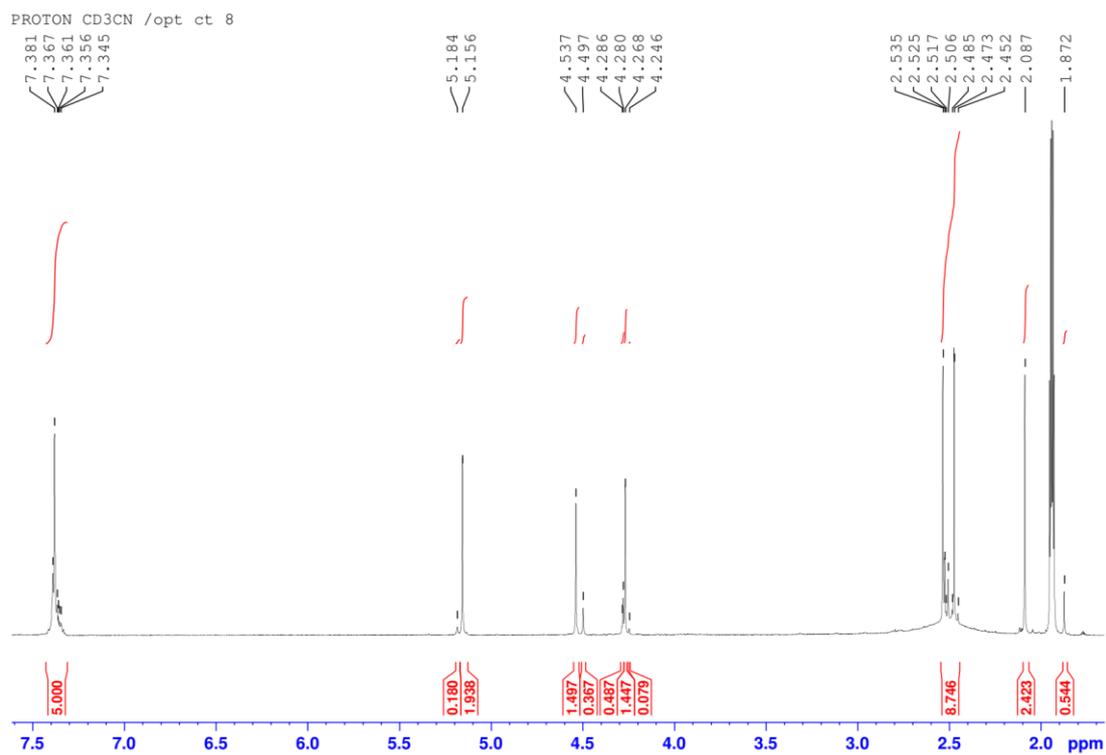
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	6.905	MM	0.0606	130.27127	35.82507	1.2112
2	7.713	MM	0.1363	1.06252e4	1299.44299	98.7888

**NMR spectra:**

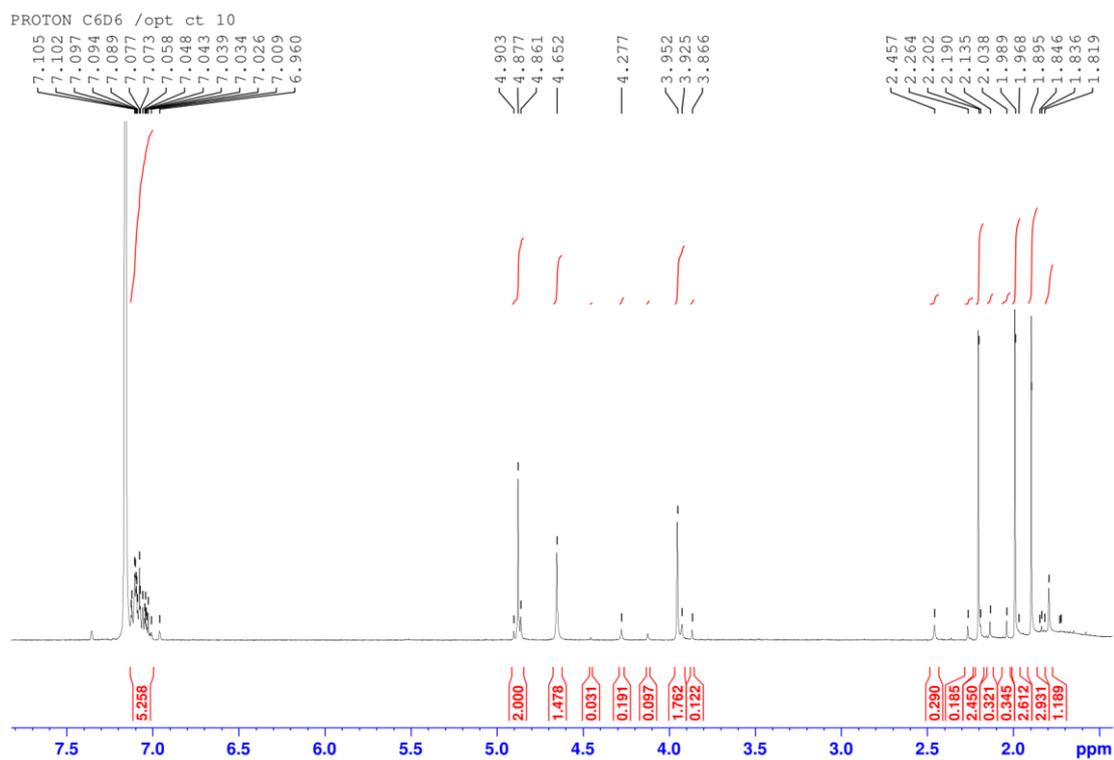
<sup>1</sup>H NMR, CDCl<sub>3</sub>, 8 mM



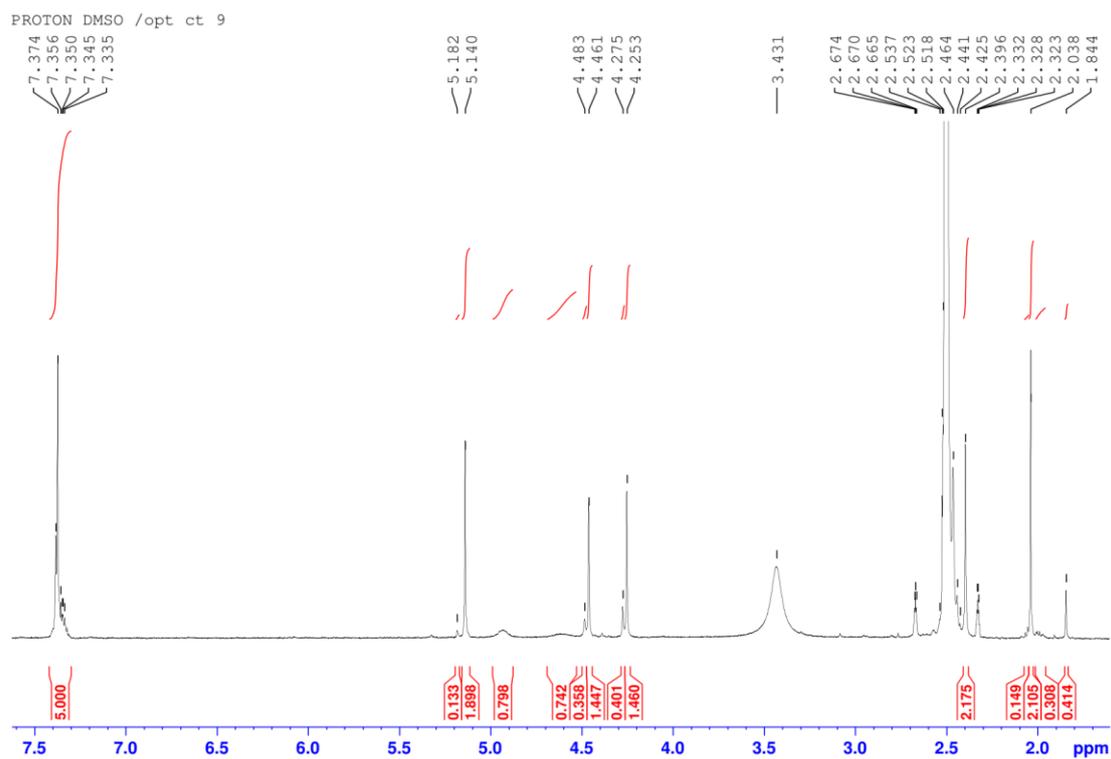
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , 8 mM



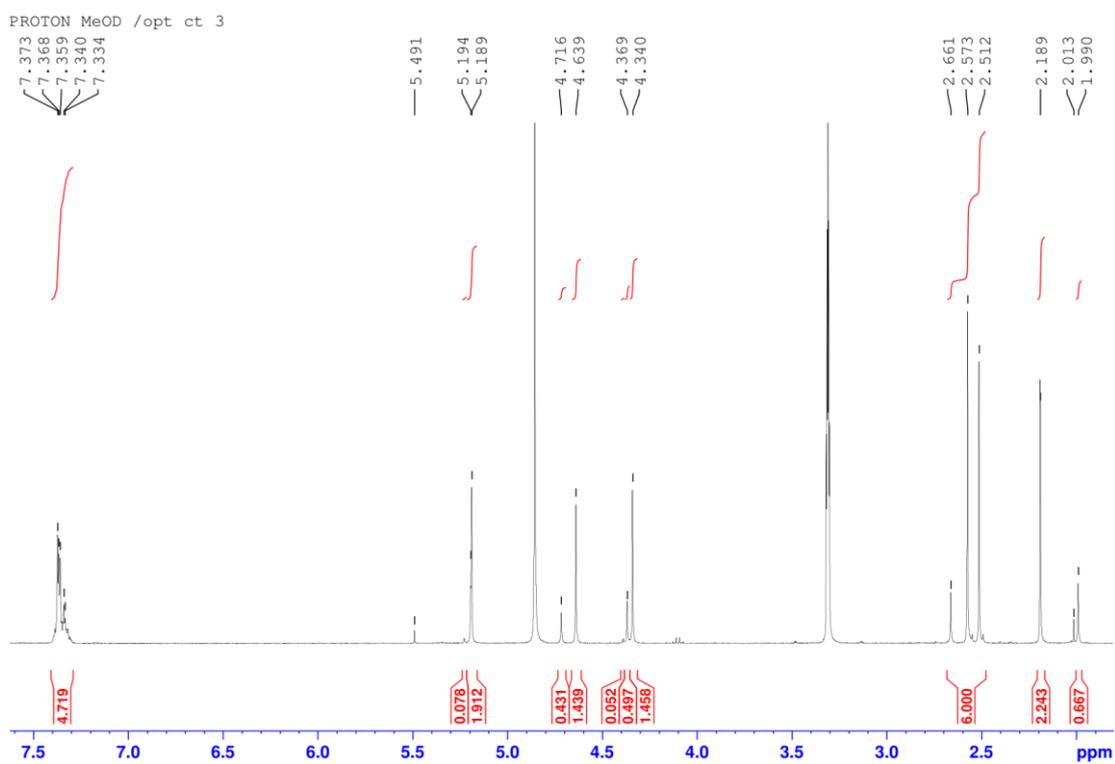
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 8 mM



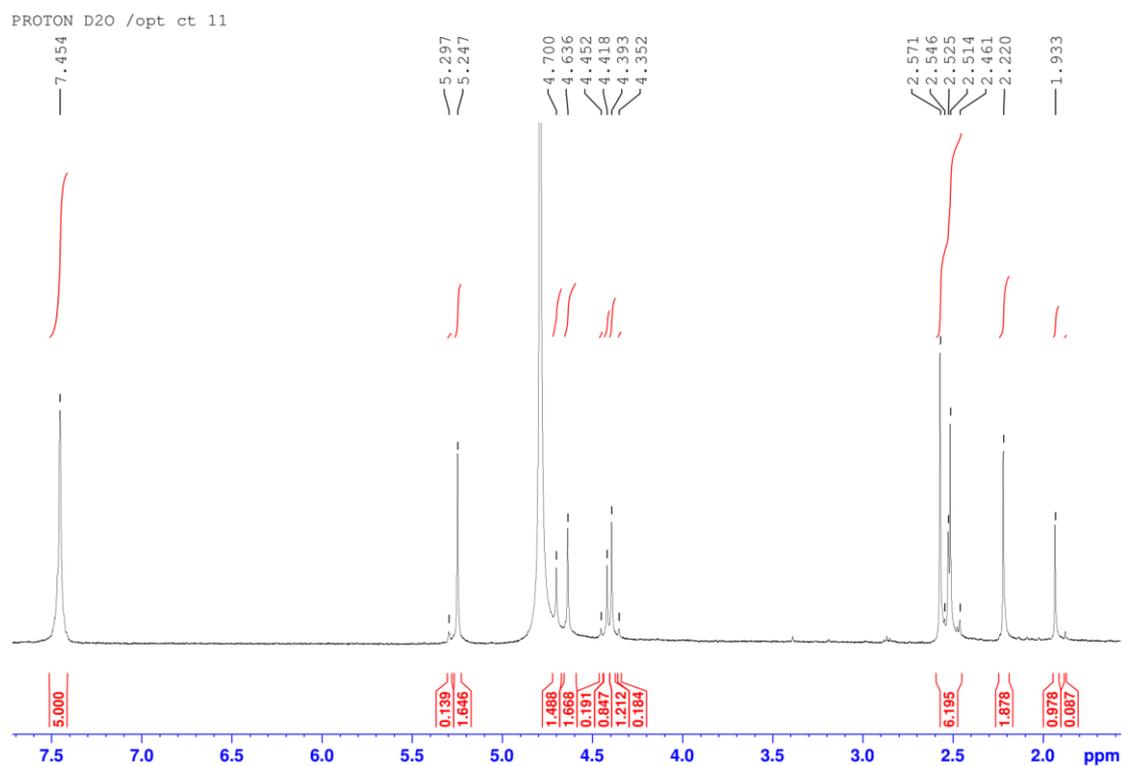
$^1\text{H}$  NMR, DMSO- $d_6$ , 8 mM



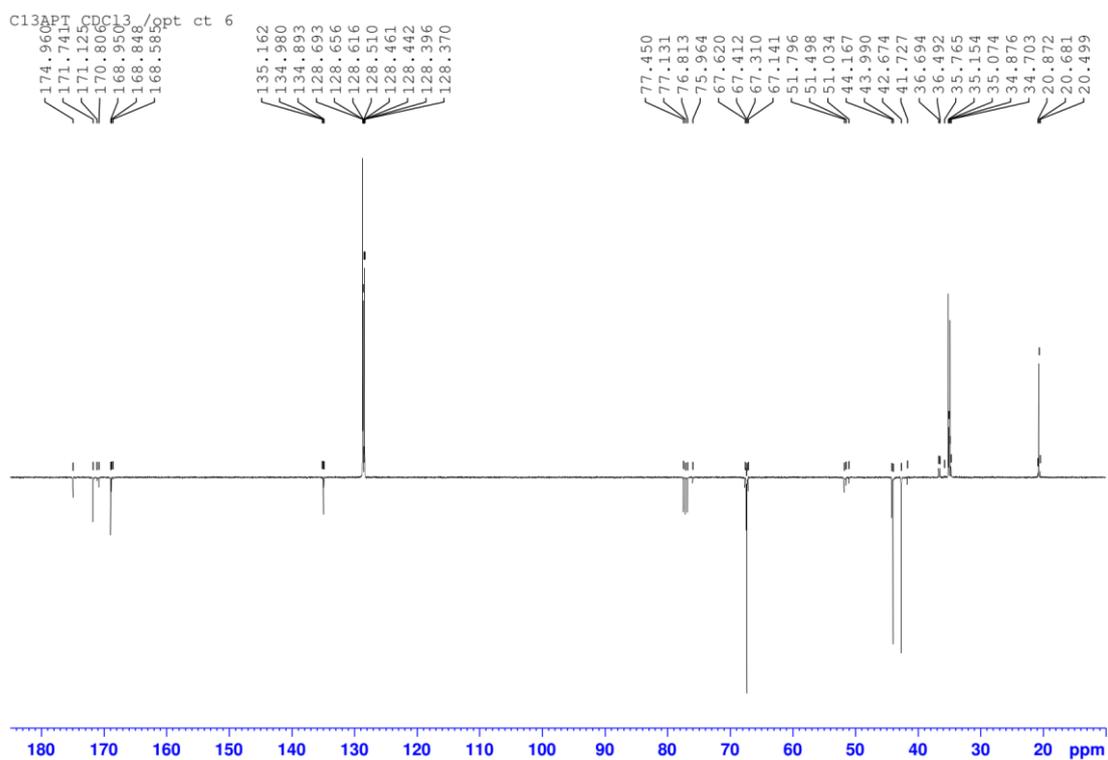
$^1\text{H}$  NMR, CD $_3$ OD, 8 mM



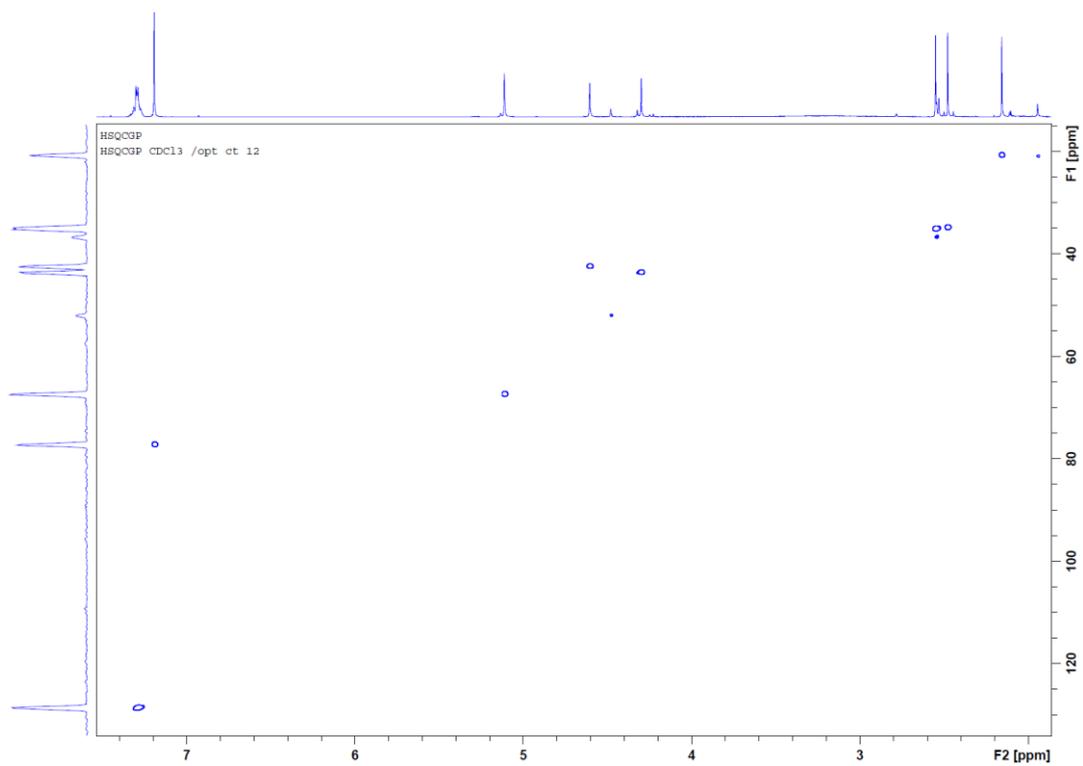
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{D}_2\text{O}$ , 8 mM



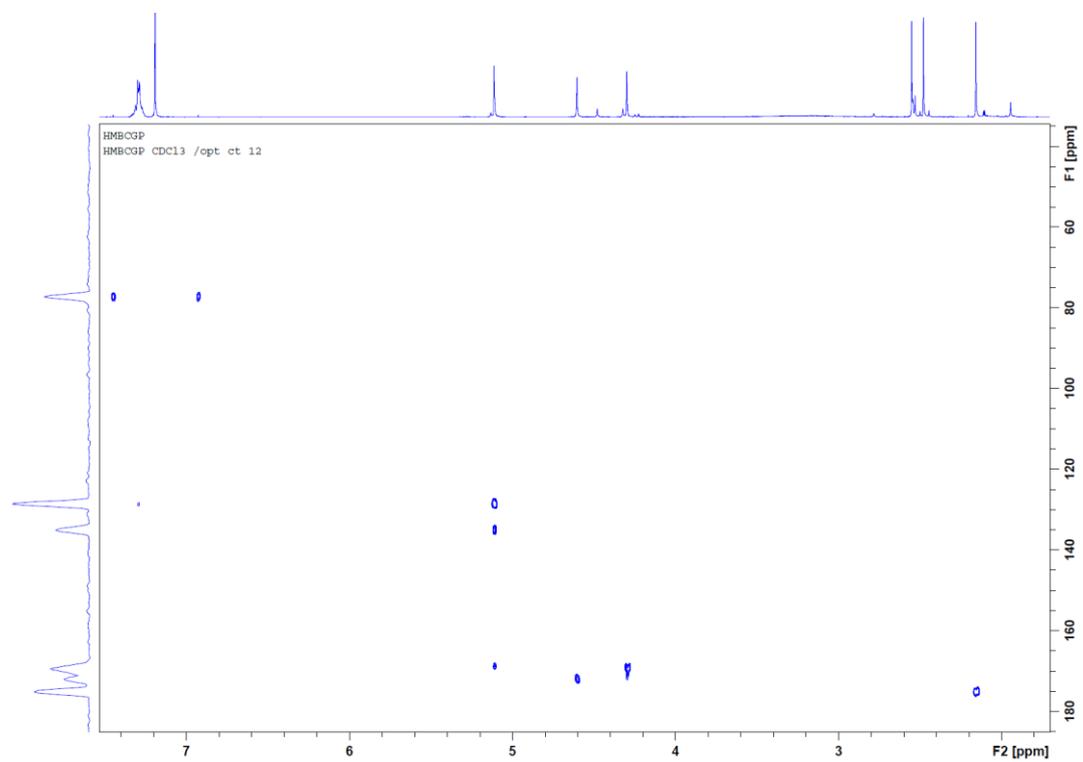
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$

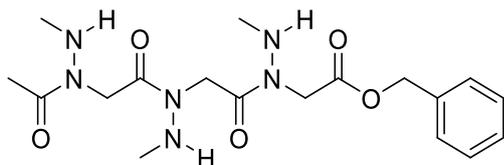


2D HSQC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 5 mM



2D HMBC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 5 mM



**Trimer III.3**Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>

Exact Mass: 408.2121

Dimer **III.2a** (1.356 g, 2.59 mmol, 1equiv) was bromoacylated according to **General Procedure F**, followed by substitution of the bromine atom with 1-Boc-1-methylhydrazine according to **General Procedure P** to produce 67% over two steps of trimer

**III.3a**. Acetylation of **III.3a** (**General Procedure H**), gave the Boc-protected trimer **III.3b** in 84% yield after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 7:3). Finally, the Boc groups were removed following **General Procedure I**, to give trimer **III.3** as a pale-yellow oil (347 mg, 0.850 mmol) in an overall yield of 33% after SiO<sub>2</sub> chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 97:3).

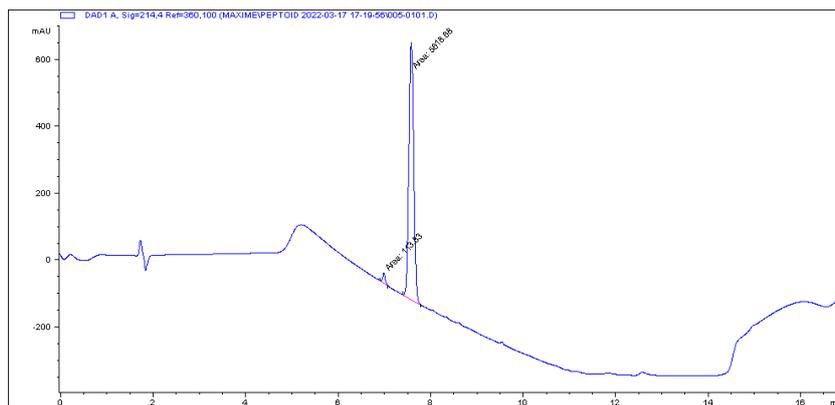
**TLC**: R<sub>f</sub> = 0.13 (DCM/MeOH 98:2)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ (ppm): 1.92 and 2.03 - 2.05 (m, 3H, **Ac**), 2.38 - 2.47 (m, 9H, 3×**CH**<sub>3</sub>NH), 4.27 - 4.29 (m, 2H, **CH**<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Bn), 4.46 - 4.57 (m, 4H, 2×**NCH**<sub>2</sub>C=O), 4.95 (m, 1H, NH), 5.14(s, 1.95H, **CH**<sub>2</sub>Ph), 5.19 (s, 0.05H, **CH**<sub>2</sub>Ph), 7.33 - 7.38 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) of the major conformer: δ (ppm): 20.6 (CH<sub>3</sub>, **Ac**), 34.8, 34.9, 35.1 (CH<sub>3</sub>, 3×NHCH<sub>3</sub>), 43.0, 43.2, 44.1 (CH<sub>2</sub>, 3×NCH<sub>2</sub>C=O), 67.3 (CH<sub>2</sub>, **CH**<sub>2</sub>Ph), 128.4, 128.6, 128.7 (5CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 134.9 (C<sub>ipso</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 168.8 (C, CO<sub>2</sub>Bn), 171.3, 171.8 (C, 2×NCH<sub>2</sub>C(=O)N), 175.1 (C, CH<sub>3</sub>C(=O)N).

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>O<sub>5</sub>N<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup> 409.2121, found 409.2194.

**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 7.57 min, purity: 98%

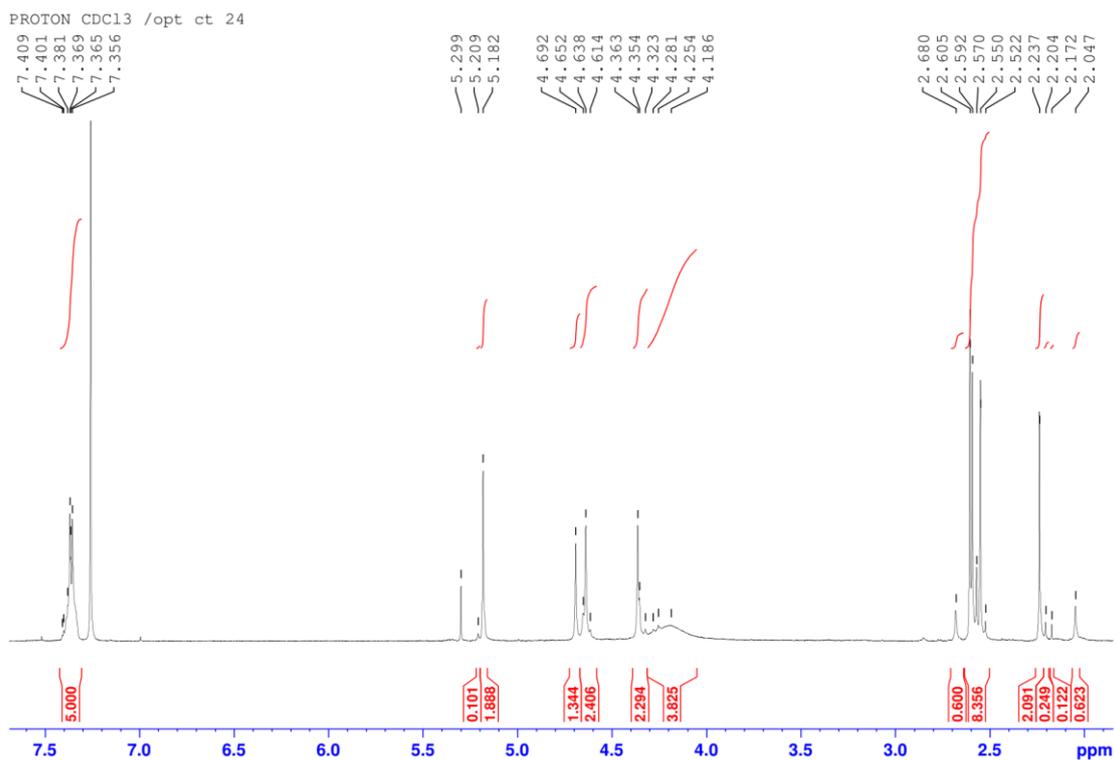


Signal 1: DAD1 A, Sig=214,4 Ref=360,100

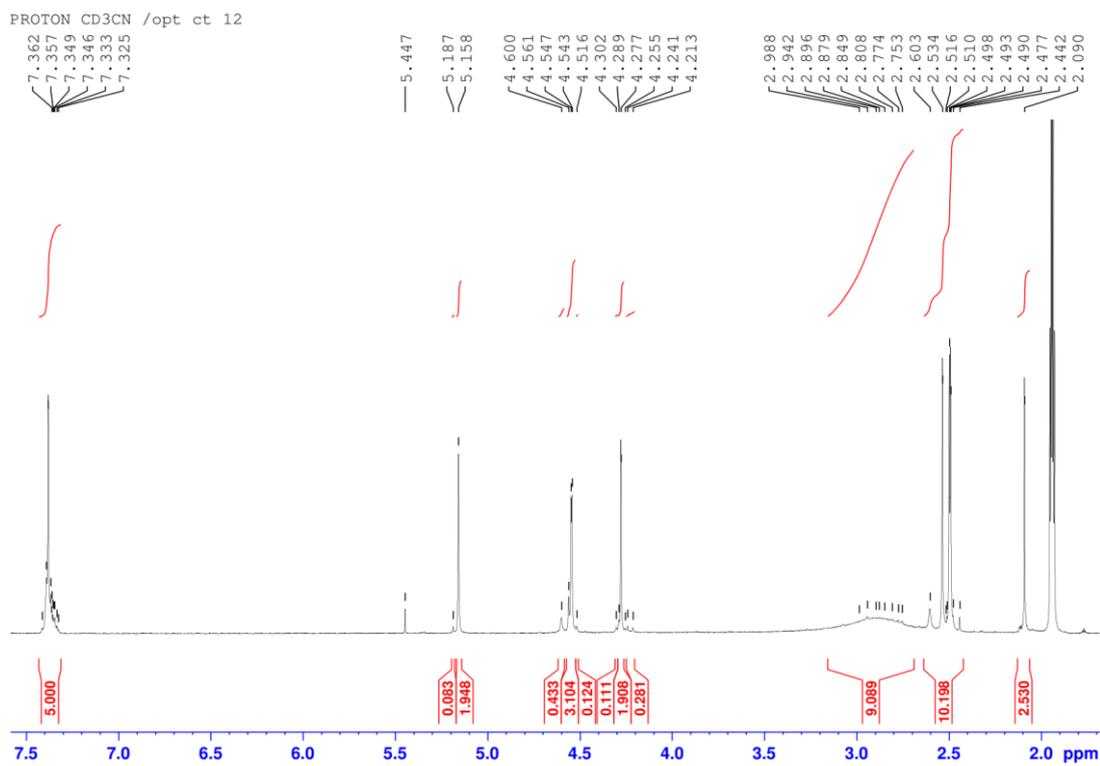
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	6.979	MM	0.0655	128.82013	32.78517	2.2325
2	7.571	MM	0.1222	5641.36621	769.24115	97.7675

**NMR spectra:**

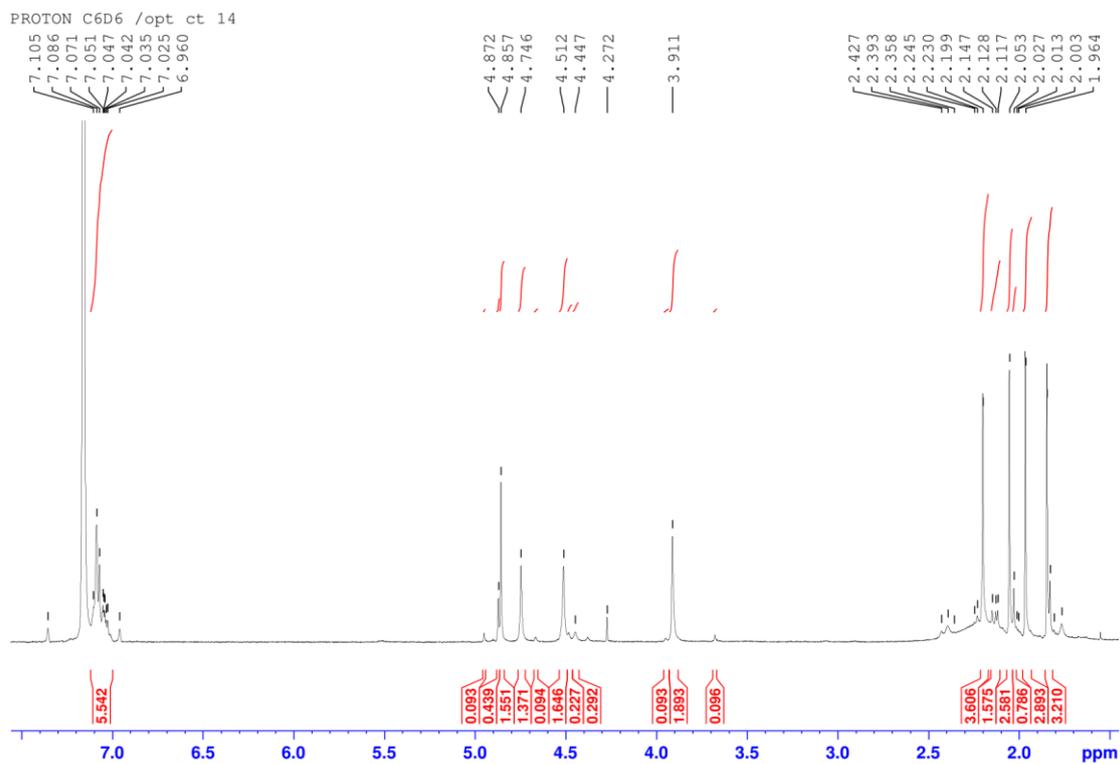
<sup>1</sup>H NMR, CDCl<sub>3</sub>, 8 mM



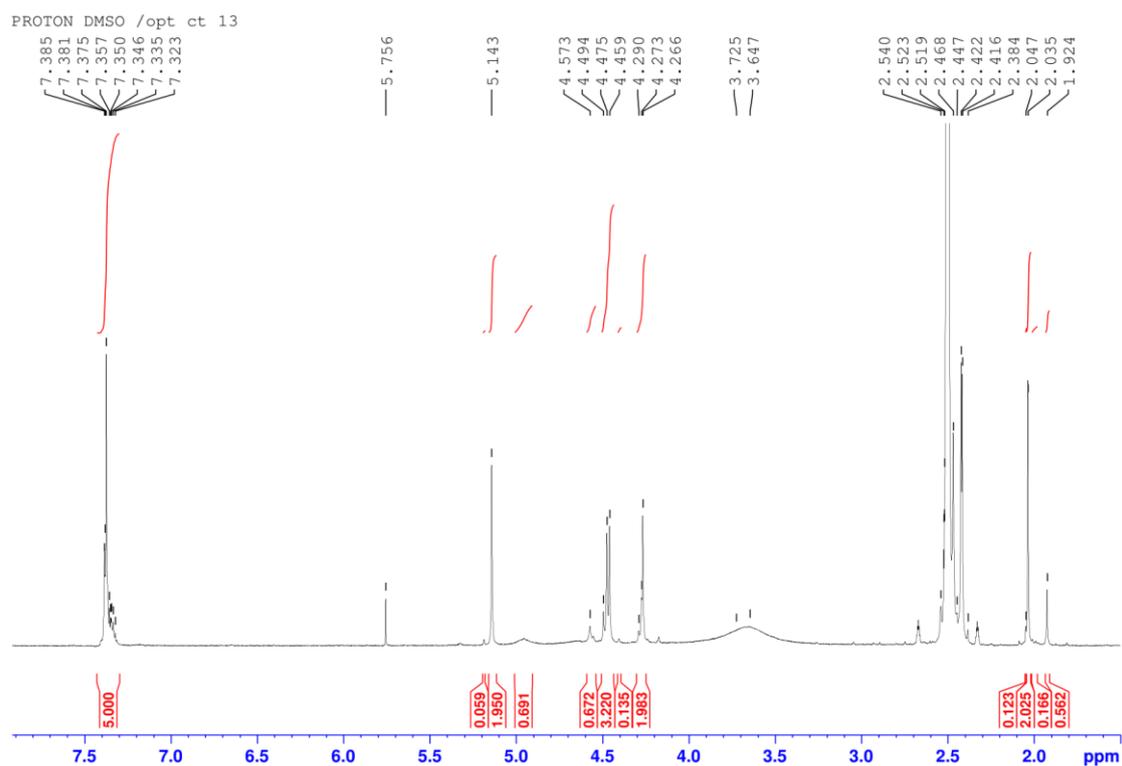
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , 8 mM



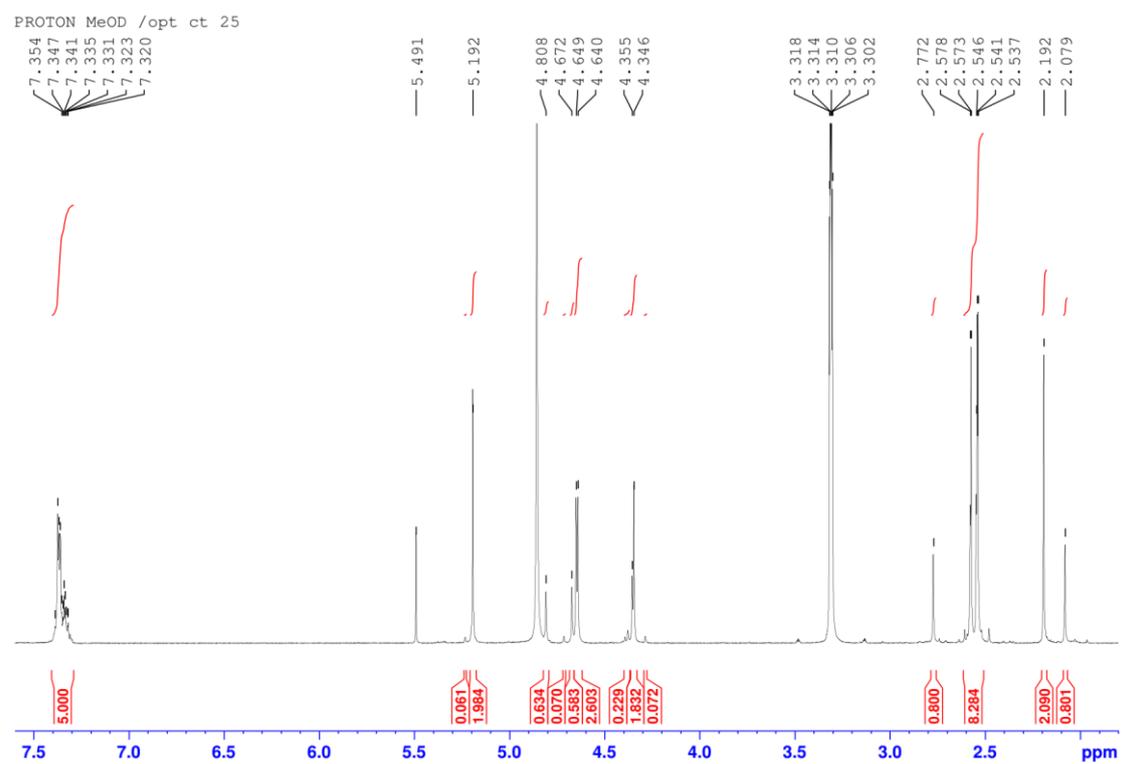
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 8 mM



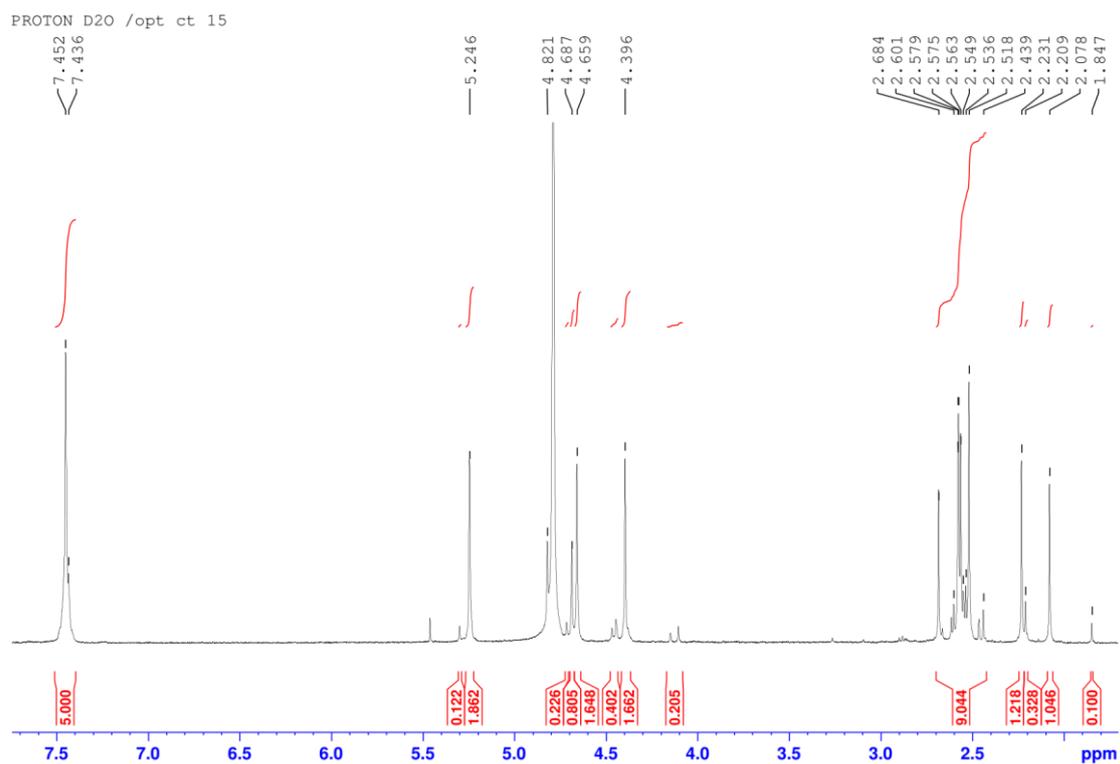
$^1\text{H}$  NMR, DMSO- $d_6$ , 8 mM



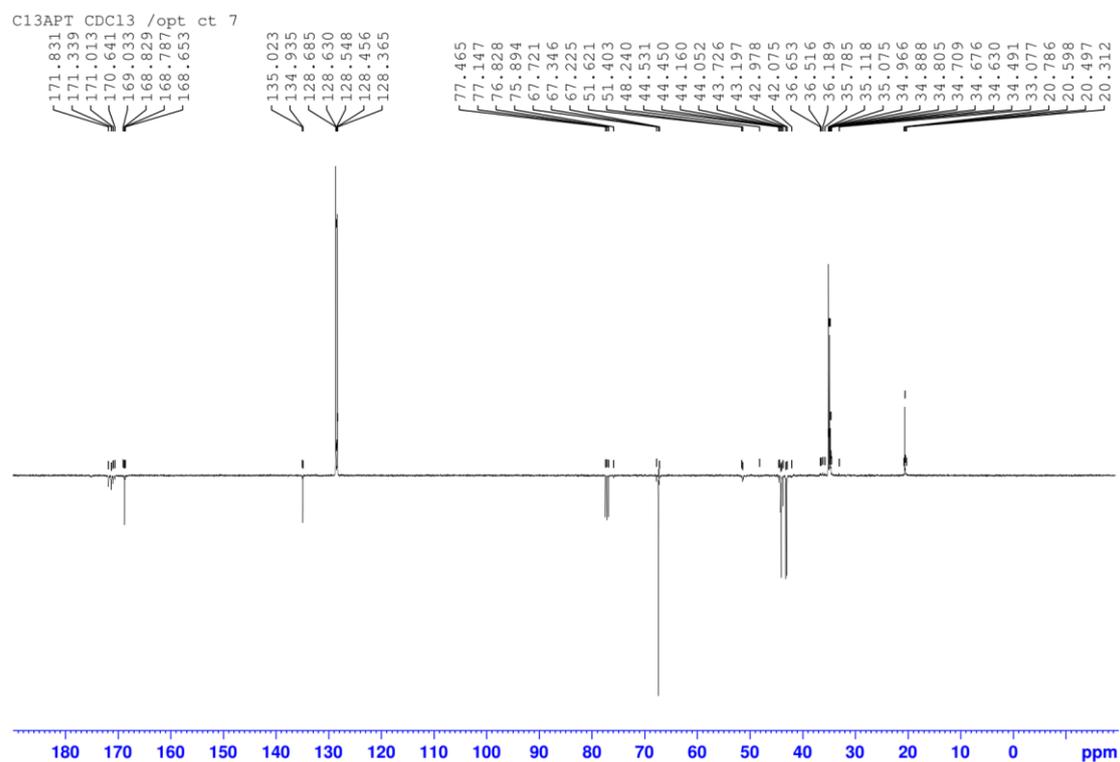
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 8 mM



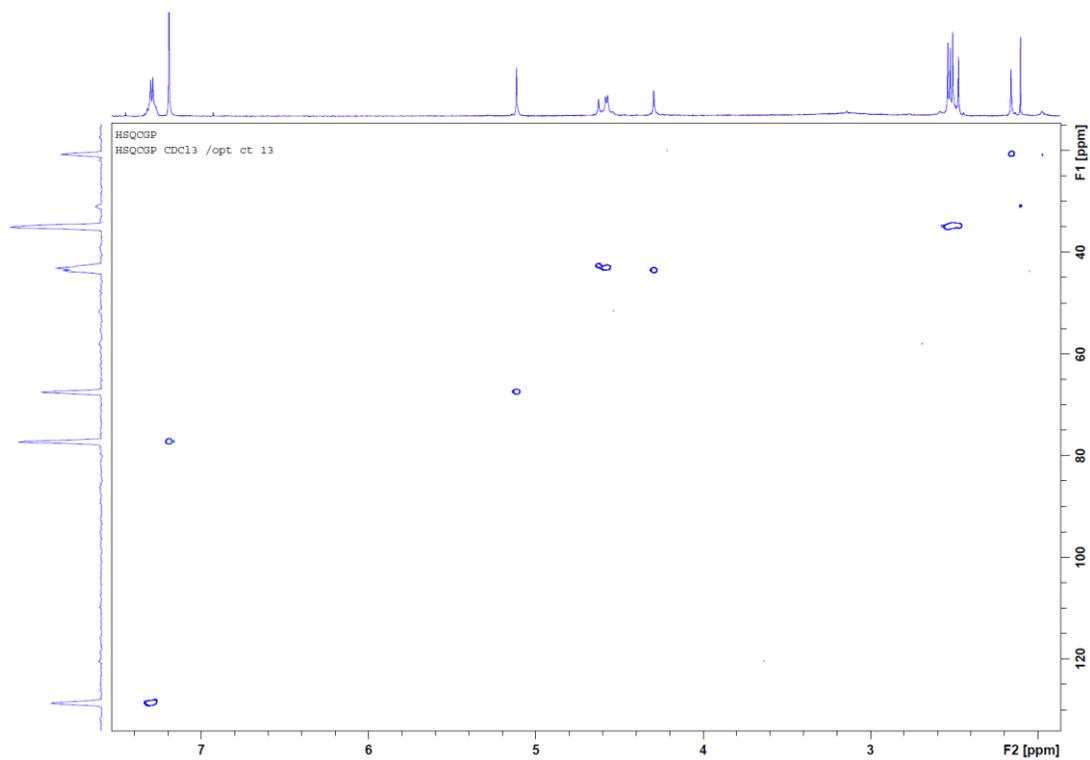
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{D}_2\text{O}$ , 8 mM



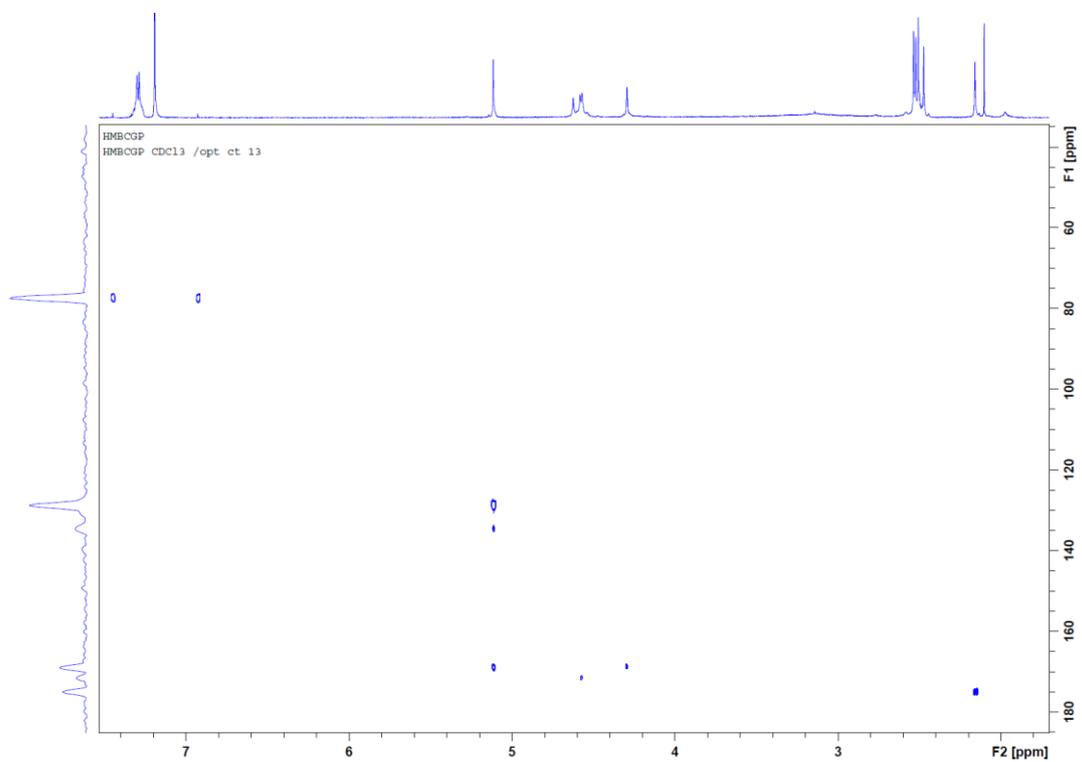
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$

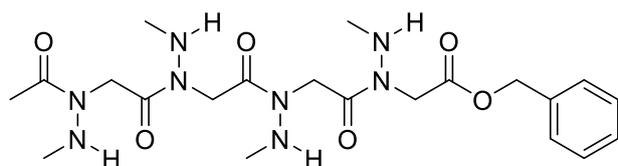


2D HSQC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 5 mM



2D HMBC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 5 mM



**Tetramer III.4**

Chemical Formula: C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>  
Exact Mass: 494.26

Trimer **III.3a** (0.992 g, 1.49 mmol) was bromoacetylated according to **General Procedure F**, followed by substitution of the bromine atom with 1-Boc-1-methylhydrazine according to **General Procedure P** to produce 56% over two steps

of tetramer **III.4a** (0.709 g, 0.83 mmol). Acetylation of **III.4a** (**General Procedure H**), gave the Boc-protected tetramer **III.4b** (0.610 g, 0.68 mmol) in 82% yield after column chromatography (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 7:3). Finally, the Boc groups were removed following **General Procedure I**, to give tetramer **III.4** as a pale-yellow oil (0.207 g, 0.42 mmol) in an overall yield of 29% after SiO<sub>2</sub> chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5).

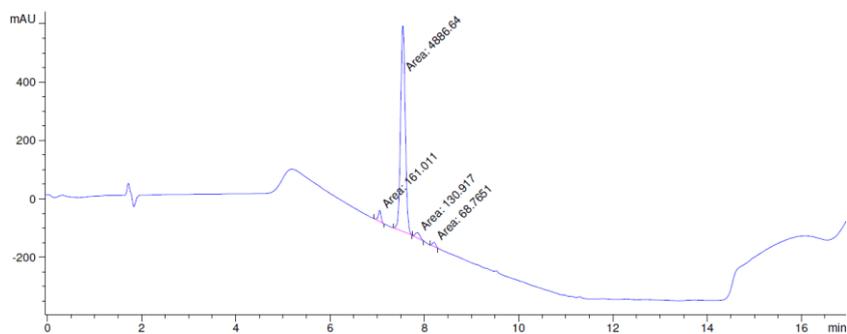
**TLC:** R<sub>f</sub> = 0.26 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ (ppm): 1.92 - 2.06 (m, 3H, Ac), 2.41 - 2.47 (m, 12H, 4×CH<sub>3</sub>NH), 4.19 - 4.30 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Bn), 4.46 - 4.55 (m, 6H, 3×NCH<sub>2</sub>C=O), 4.68 - 4.96 (m, 4H, 4×NH), 5.14 - 5.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7.33 - 7.38 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) of the major conformer: δ (ppm): 20.6 (CH<sub>3</sub>, Ac), 34.8, 34.9, 35.1 (CH<sub>3</sub>, 4×NHCH<sub>3</sub>), 43.0, 43.3, 43.4, 44.1 (CH<sub>2</sub>, 4×NCH<sub>2</sub>C=O), 67.4 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph), 128.4, 128.7 (5CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 134.9 (*C*<sub>ipso</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 168.8 (C, CO<sub>2</sub>Bn), 171.2 (C, 3×NCH<sub>2</sub>C=O).

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>21</sub>H<sub>35</sub>O<sub>6</sub>N<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup> 495.2601, found 495.2674.

**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 7.55 min, purity: 93%

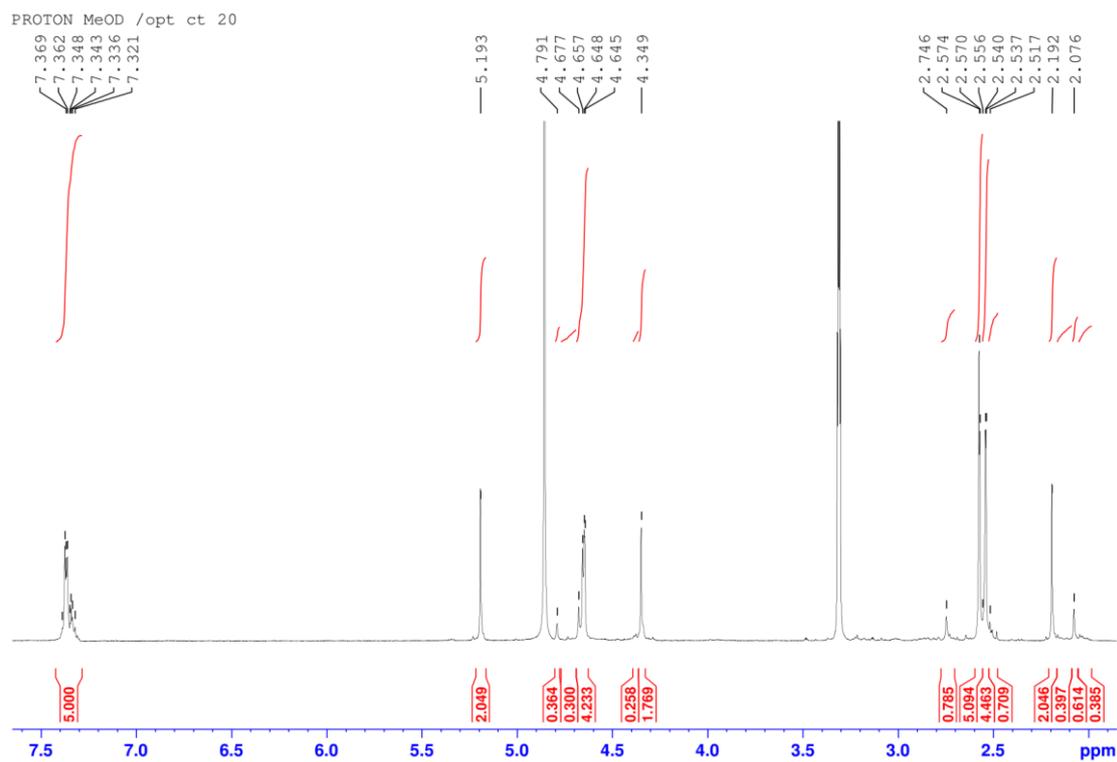


Signal 1: DAD1 A, Sig=214,4 Ref=360,100

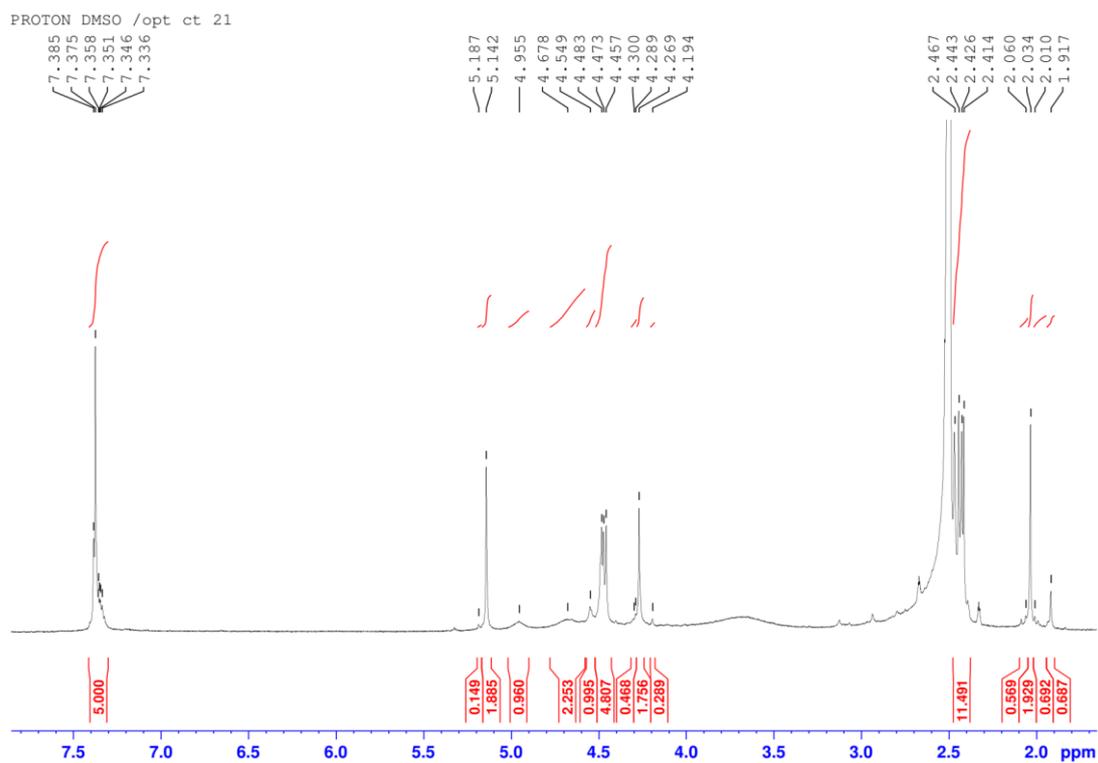
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	7.056	MM	0.0689	161.01077	38.94917	3.0684
2	7.546	MM	0.1153	4886.63672	706.31873	93.1262
3	7.862	MM	0.1166	130.91669	18.71139	2.4949
4	8.209	MM	0.0774	68.76509	14.80008	1.3105

**NMR spectrum:**

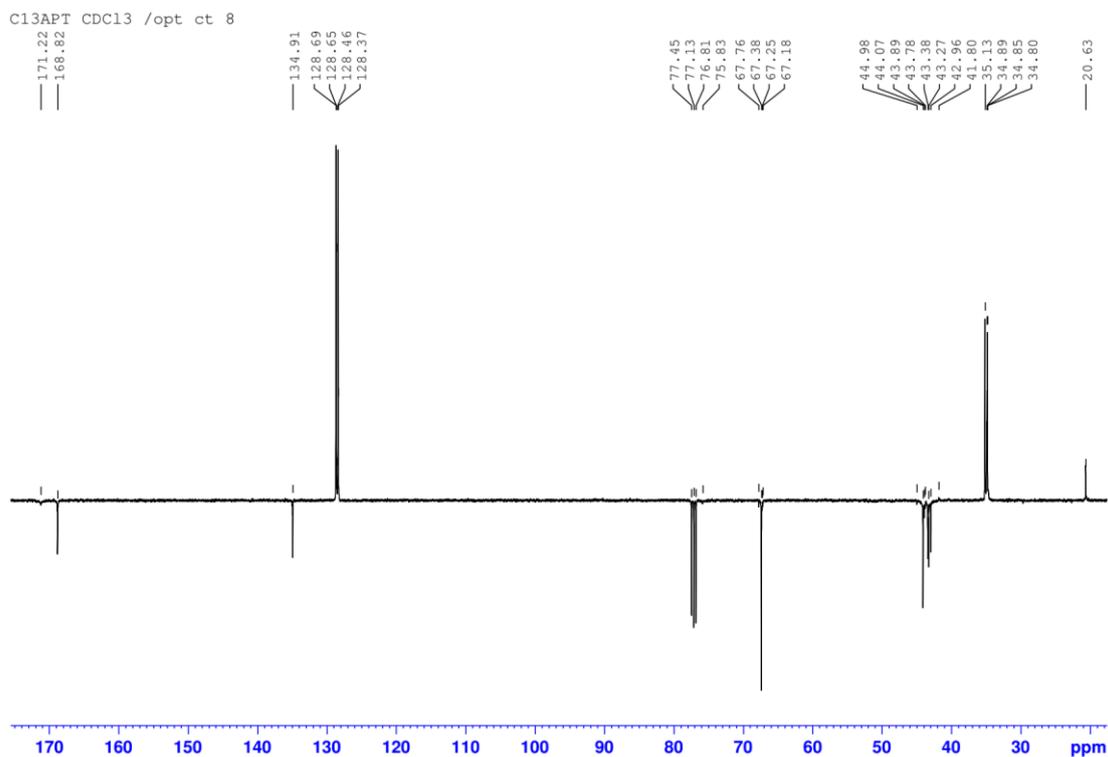
<sup>1</sup>H NMR, CD<sub>3</sub>OD, 8 mM



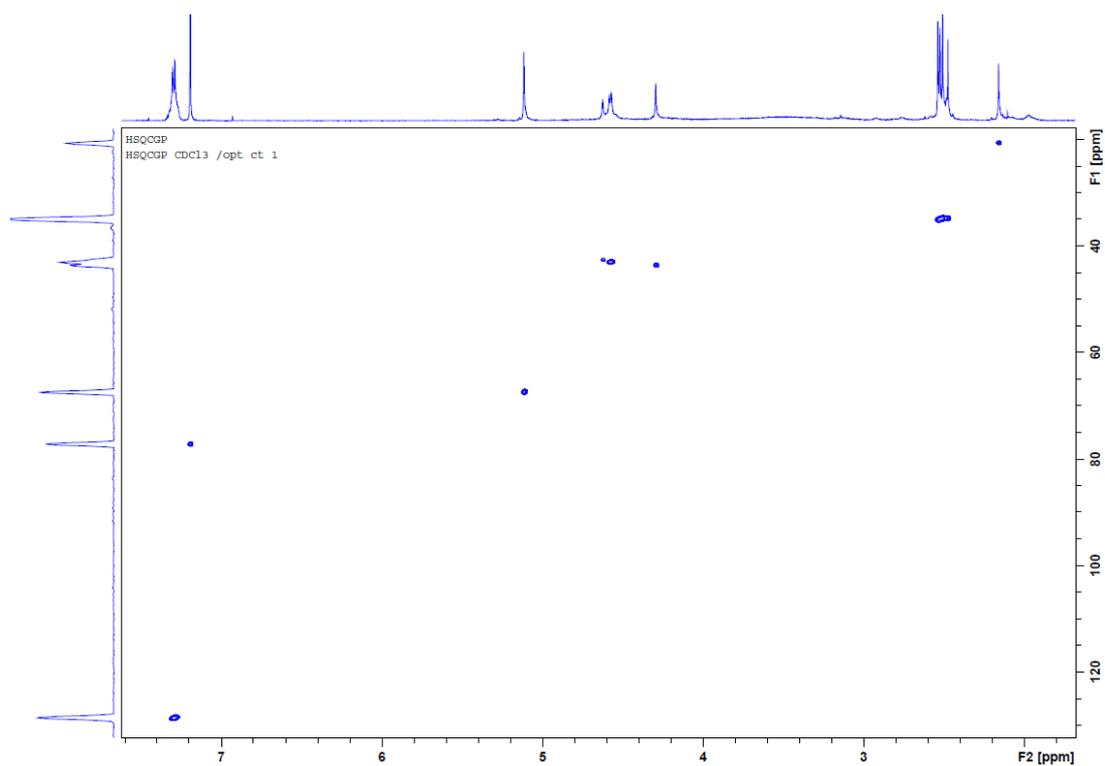
$^1\text{H}$  NMR, DMSO- $d_6$ , 8 mM



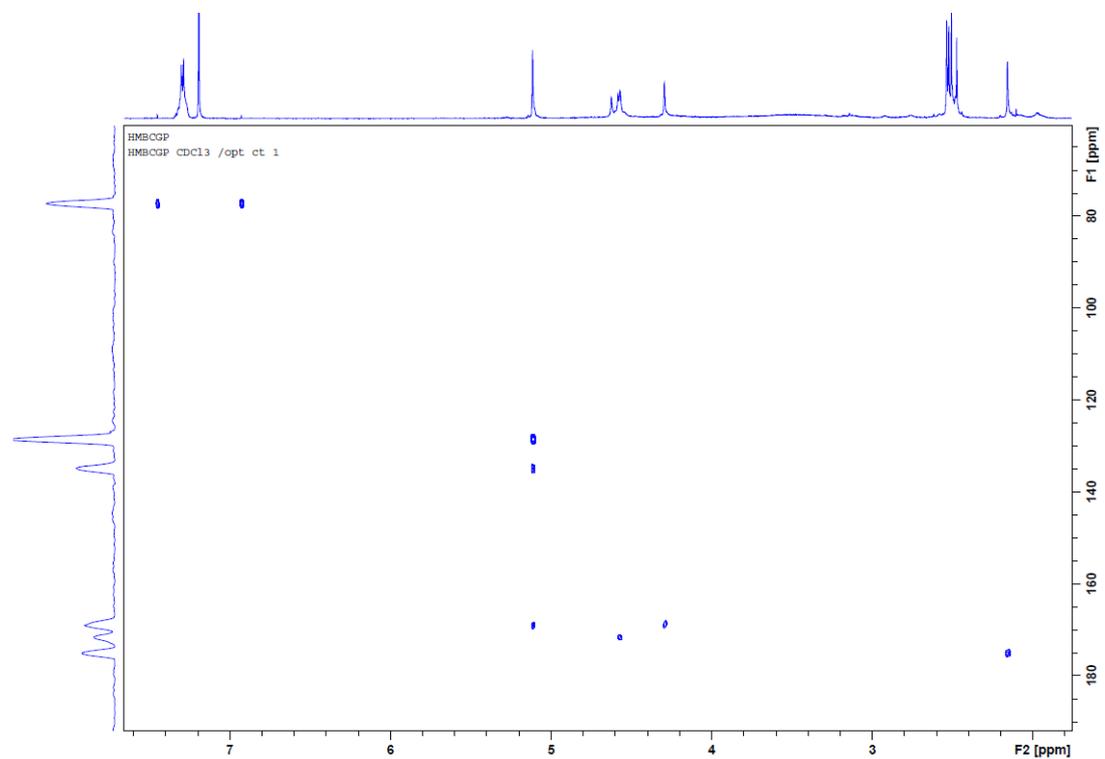
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$

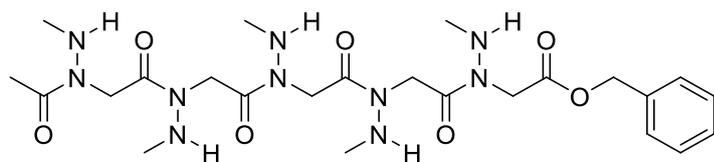


2D HSQC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 8 mM



2D HMBC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 8 mM



**Pentamer III.5**

Chemical Formula:  $C_{24}H_{40}N_{10}O_7$   
Exact Mass: 580,3081

Tetramer **III.4a** (0.913 g, 1.07 mmol) was bromoacetylated according to **General Procedure F**, followed by substitution of the bromine atom with 1-Boc-1-

methylhydrazine according to **General Procedure P** to produce 59% over two steps of pentamer **III.5a** (0.657 g, 0.63 mmol). Acetylation of **III.5a** (**General Procedure H**), gave the Boc-protected pentamer **III.5b** (0.500 g, 0.46 mmol) in 73% yield after column chromatography ( $SiO_2$ , cyclohexane/EtOAc 7:3). Finally, the Boc groups were removed following **General Procedure I**, to give pentamer **III.5** as colourless foam (0.195 g, 0.33 mmol) in an overall yield of 31% after  $SiO_2$  chromatography ( $CH_2Cl_2/MeOH$  95:5).

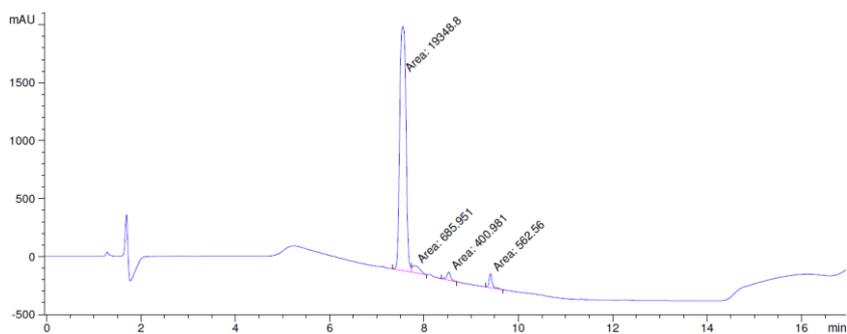
**TLC:**  $R_f = 0.23$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  95:5)

**$^1H$  NMR** (400 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  (ppm): 1.92 - 2.03 (m, 3H, **Ac**), 2.42 - 2.47 (m, 15H,  $5 \times NHCH_3$ ), 4.19 - 4.30 (m, 2H,  $CH_2CO_2Bn$ ), 4.40 - 4.48 (m, 8H,  $4 \times NCH_2C=O$ ), 4.69 - 4.95 (m, 5H,  $5 \times NH$ ), 5.14 - 5.19 (m, 2H,  $CH_2Ph$ ), 7.32 - 7.38 (m, 5H,  $C_6H_5$ ).

**$^{13}C$  NMR** (100 MHz,  $DMSO-d_6$ ) of the major conformer:  $\delta$  (ppm): 20.6 ( $CH_3$ , **Ac**), 34.8, 35.1 ( $CH_3$ ,  $5 \times NHCH_3$ ), 43.6, 43.7, 44.4 ( $CH_2$ ,  $5 \times NCH_2C=O$ ), 67.3 ( $CH_2$ ,  $CH_2Ph$ ), 128.3, 128.6, 128.7 ( $5CH$ ,  $C_6H_5$ ), 135.0 ( $C_{ipso}$ ,  $C_6H_5$ ), 168.9 (C,  $CO_2Bn$ ).

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>):  $m/z$  calculated for  $C_{24}H_{41}O_7N_{10}$   $[M+H]^+$  581.3081, found 581.3152.

**HPLC** ( $H_2O+0.1\%$  TFA/ACN):  $t_r = 7.55$  min, purity: 92%

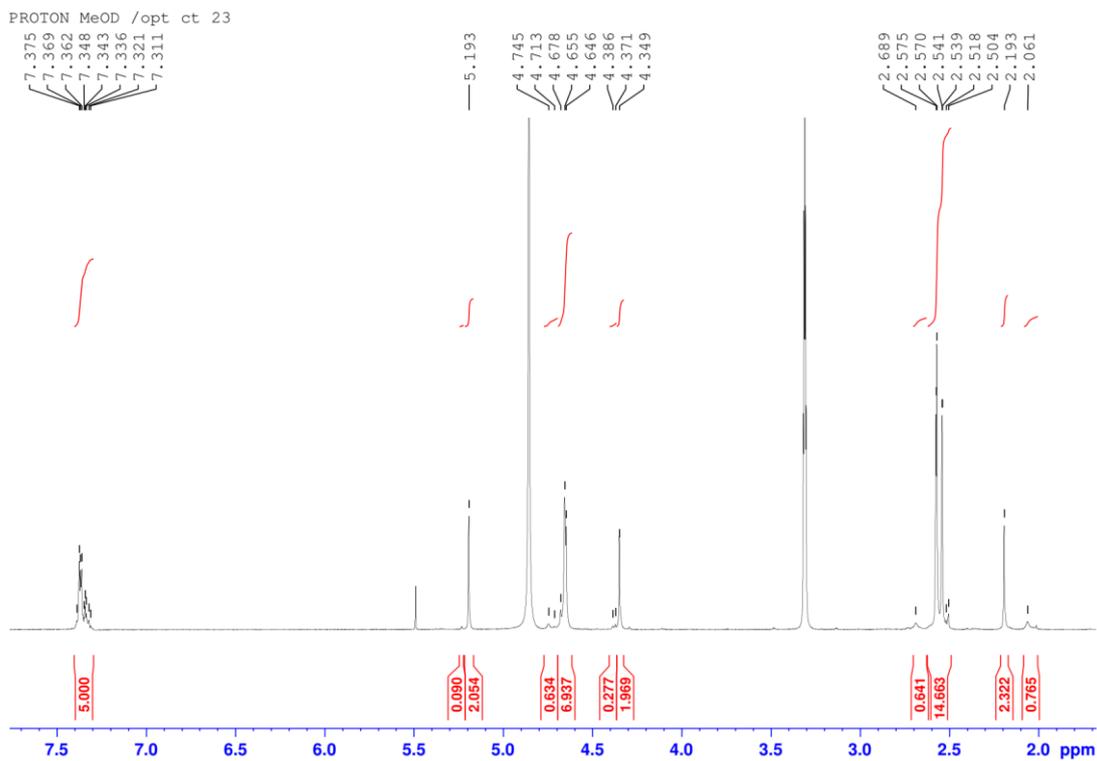


Signal 1: DAD1 A, Sig=214,4 Ref=360,100

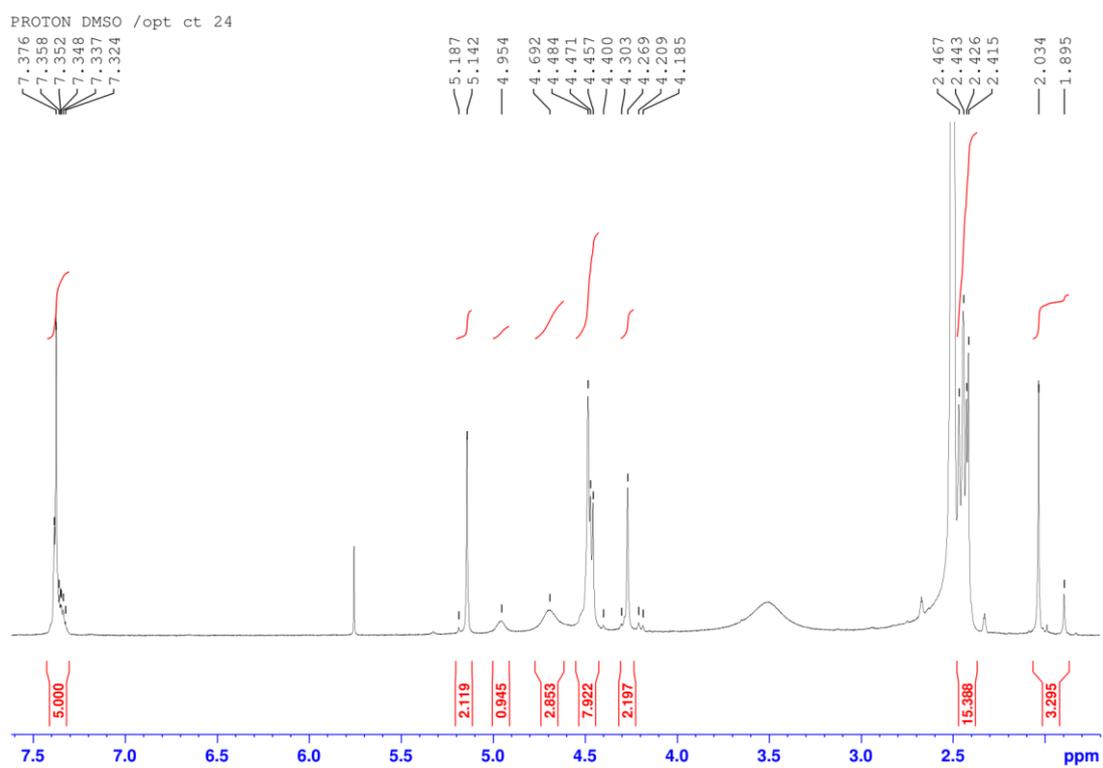
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	7.550	MF	0.1530	1.93488e4	2108.26660	92.1447
2	7.807	FM	0.1862	685.95123	61.41019	3.2667
3	8.527	MM	0.0966	400.98114	69.19804	1.9096
4	9.408	MM	0.0773	562.56024	121.30586	2.6791

**NMR spectrum:**

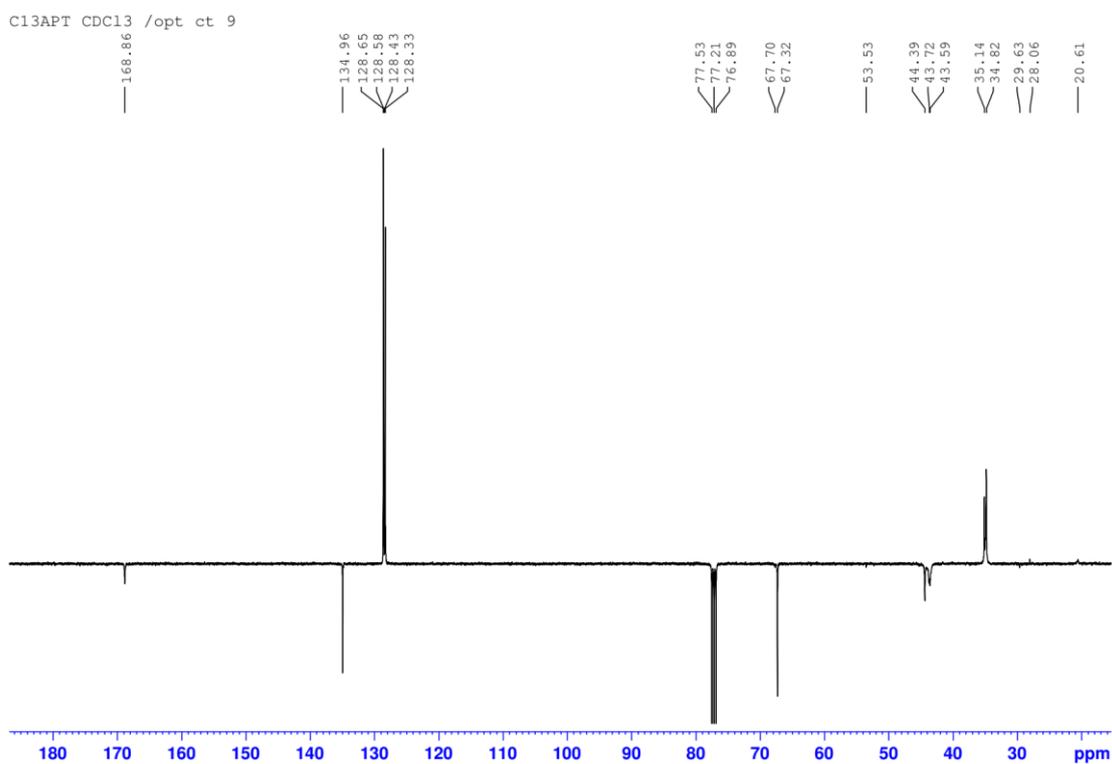
<sup>1</sup>H NMR, CD<sub>3</sub>OD, 8 mM



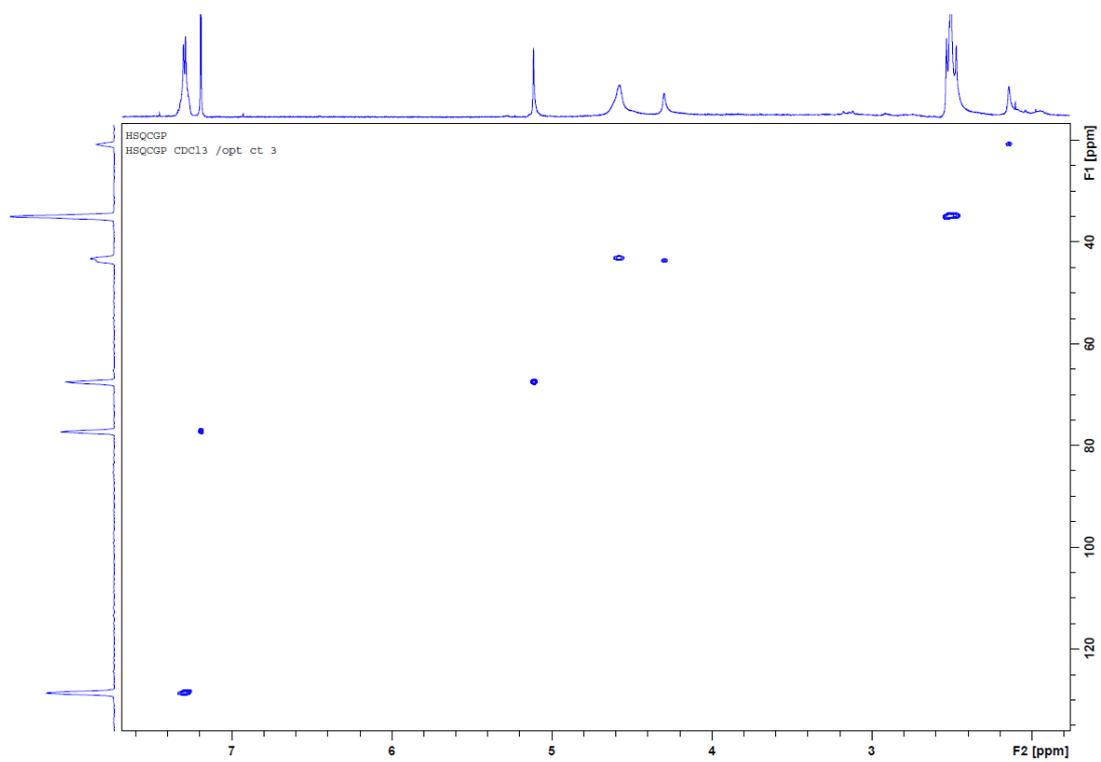
$^1\text{H}$  NMR, DMSO- $d_6$ , 8 mM



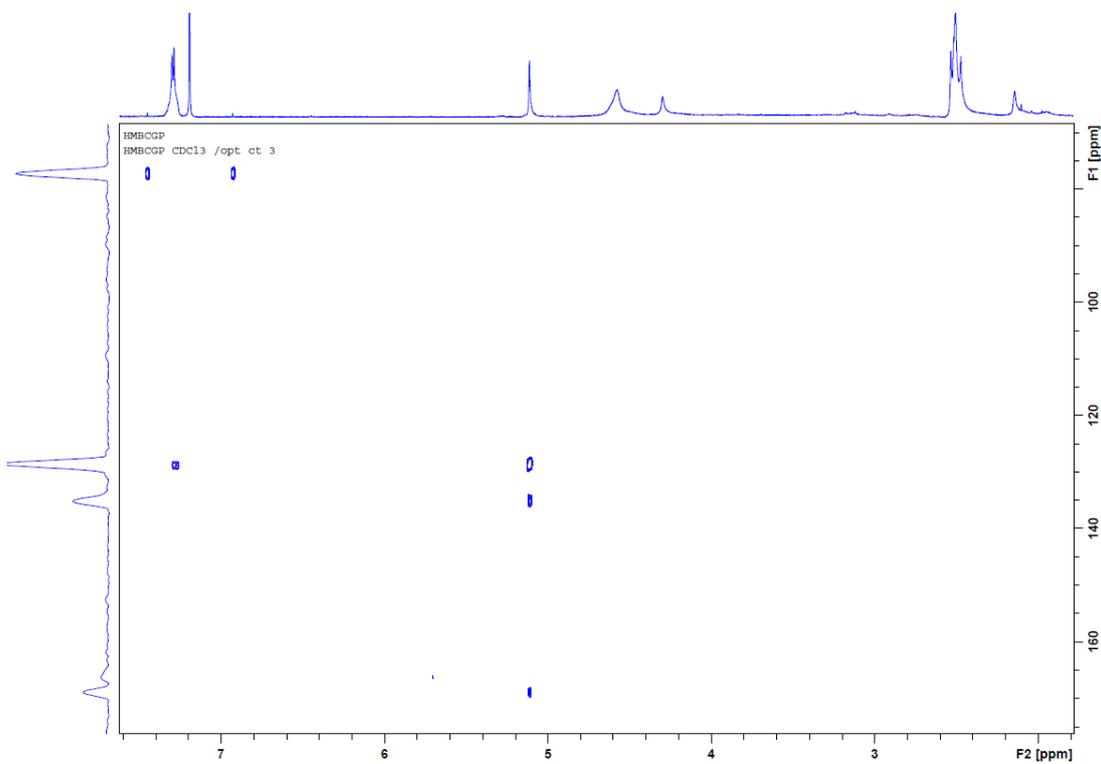
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$



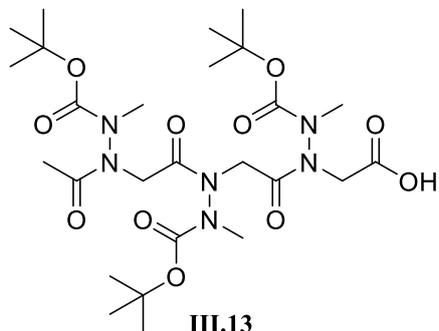
2D HSQC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 8 mM



2D HMBC NMR, CDCl<sub>3</sub>, 8 mM



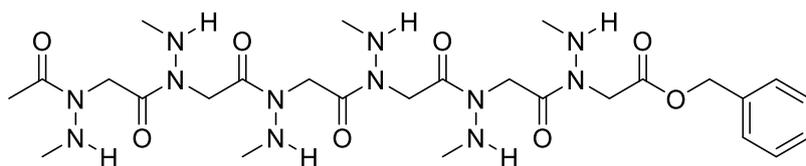
## 6.2.2. Segment approach

Hexamer **III.6**➤ Synthesis of the acid partner **III.13** from trimer **III.3a** (**III.12**)

Chemical Formula: C<sub>26</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>  
Exact Mass: 618.3225

Trimer **III.3a** (1.56 g, 1.04 mmol) was acetylated according to **General Procedure H** and the crude product was purified on silica gel with Cyclohexane/EtOAc 70:30 as solvent (81% yield). Finally, the benzyl ester was deprotected on a portion of the acetylated product (0.6 g, 0.85 mmol) following **General Procedure M**, yielding compound **III.13** as a colourless foam (479 mg, 0.78 mmol) with a yield of 92% (39% overall).

## ➤ Mukaiyama coupling



Chemical Formula: C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub>  
Exact Mass: 666,3562

A solution of **III.3a** (**III.12**) (66.6 mg, 0.1 mmol, 1.0 equiv), **III.13** (61.8 mg, 0.1 mmol, 1.0 equiv) in DCM (1 mL) was poured on

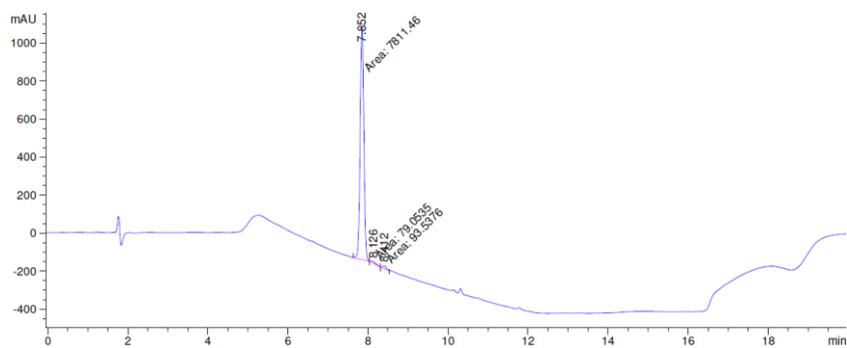
2-chloro-1-methylpyridinium iodide (30.7 mg, 0.12 mmol, 1.2 equiv) under argon atmosphere, followed by the addition of tributylamine (57 μL, 0.24 mmol, 2.4 equiv). The reaction was then stirred 5 hours at 50 °C. After full conversion, the reaction mixture was diluted with 10 mL of DCM and was washed 3 times with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>, 1 time with water, 3 times with a saturated solution of NH<sub>4</sub>Cl and finally 1 time with brine. The organic phase was dried on MgSO<sub>4</sub>, filtered and finally concentrated under vacuum. The Boc-protected hexamer was purified by flash chromatography on silica gel with as eluent a 50/50 cyclohexane/EtOAc mixture. A yellowish oil was obtained (90 mg, 0.071 mmol) with a yield of 71%. The Boc groups were removed following **General Procedure I**. The crude product was purified on silica gel using as solvent a 96:4 DCM/MeOH mixture, with a yield of 66%. The hexamer **III.6** was obtained as a colourless oil (31 mg, 0.047 mmol), giving an overall yield of 47%.

**TLC:** R<sub>f</sub> = 0,34 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ (ppm): 1.86 - 2.03 (m, 3H, Ac), 2.41 - 2.47 (m, 18H, 6×CH<sub>3</sub>NH), 4.18 - 4.27 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Bn), 4.42 - 4.48 (m, 10H, 5×NCH<sub>2</sub>C=O), 4.63 - 4.96 (m, 6H, 6×NH), 5.14 - 5.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7.34 - 7.36 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

HRMS (TOF MS ES+):  $m/z$  calculated for  $C_{27}H_{47}O_8N_{12}$   $[M+H]^+$  667.3634, found 667.3625.

HPLC ( $H_2O+0.1\%$  TFA/ACN):  $t_r = 7.85$  min

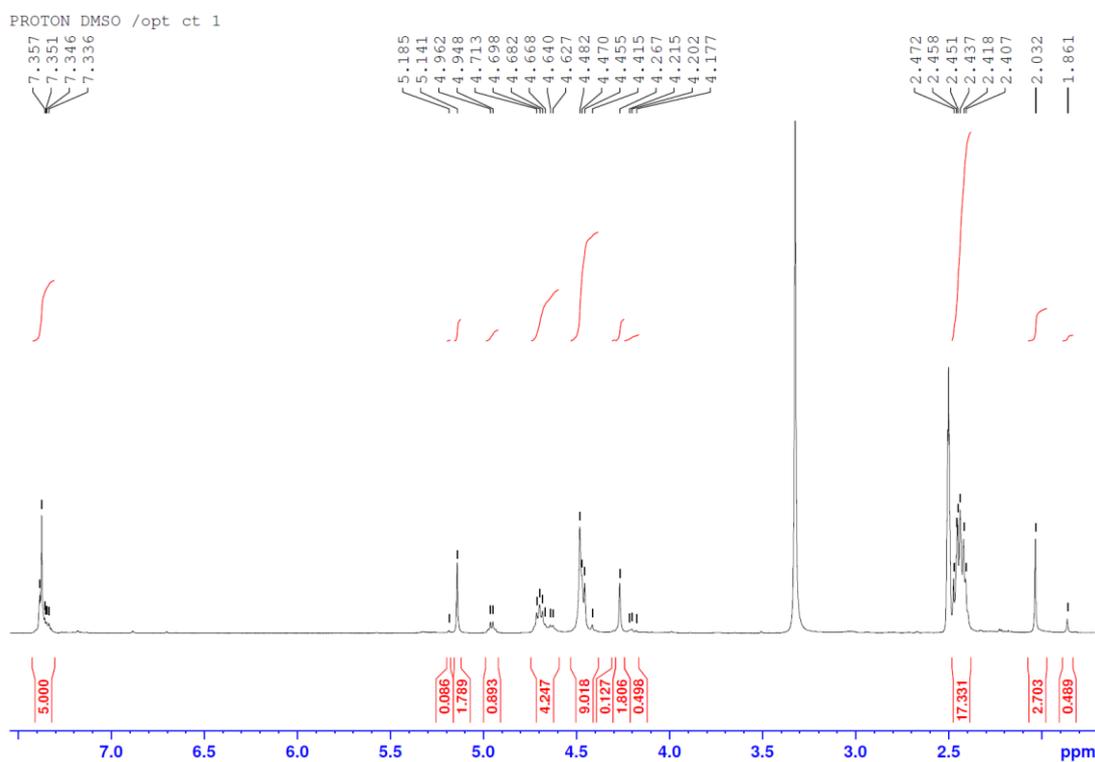


Signal 1: DAD1 A, Sig=214,4 Ref=360,100

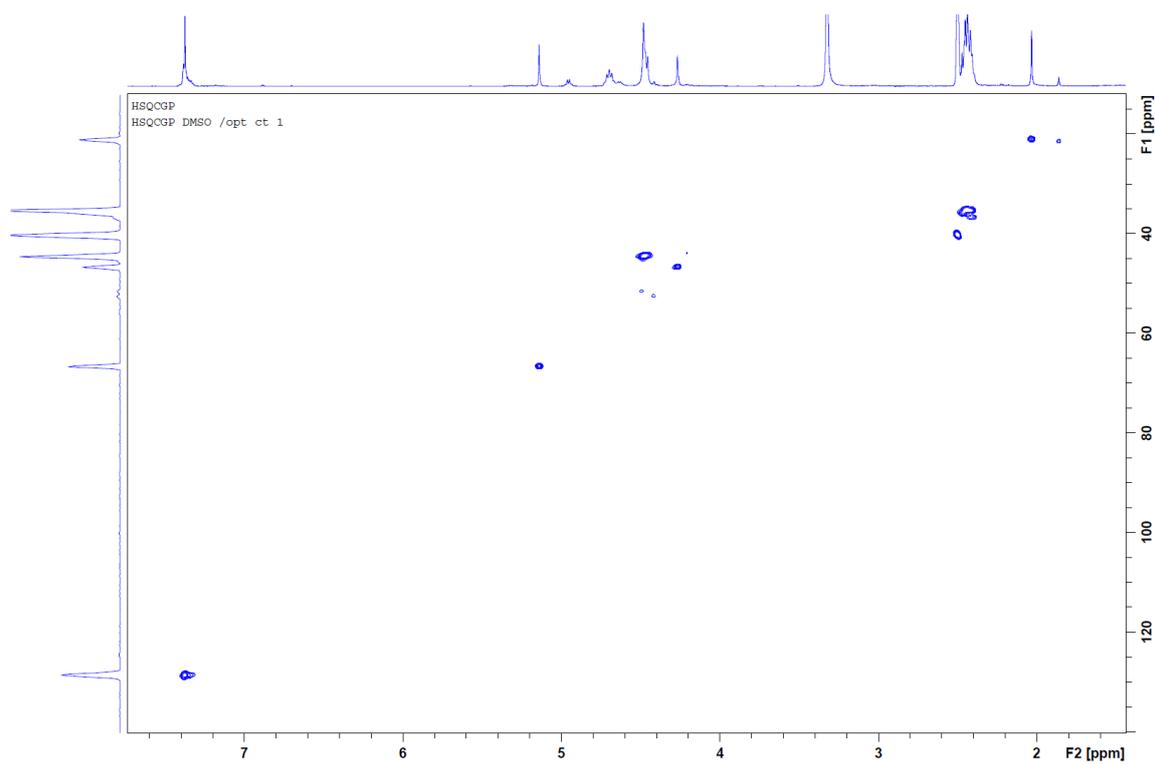
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	7.852	MM	0.1063	7811.45703	1224.27087	97.8383
2	8.126	MM	0.1506	79.05353	8.75064	0.9901
3	8.412	MM	0.1017	93.53758	15.32347	1.1716

**NMR spectrum:**

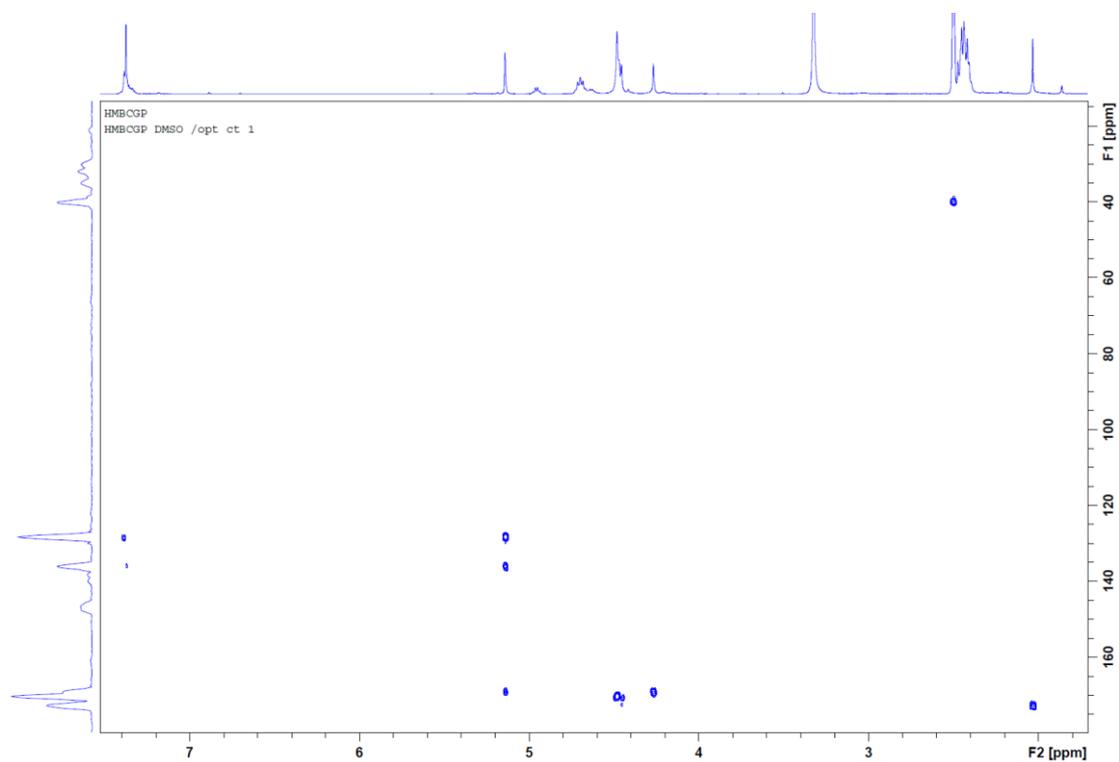
$^1H$  NMR, DMSO- $d_6$ , 15 mM

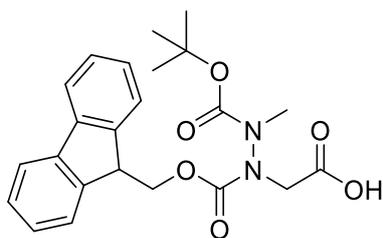


2D HSQC NMR, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 15 mM



2D HMBC NMR, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 15 mM



**Monomer segment III.15**


Chemical Formula:  $C_{23}H_{26}N_2O_6$   
 Exact Mass: 426.1791

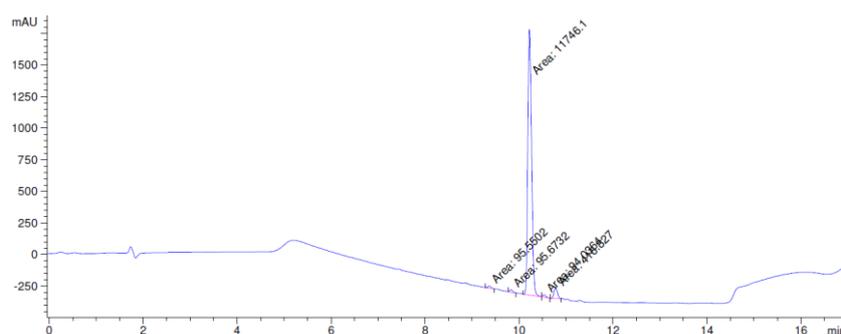
Monomer **III.1a** (1.54 g, 5.23 mmol, 1.0 equiv) was solubilized in dioxane (7 mL) and placed in an ice bath at 0 °C with a solution of  $Na_2CO_3$  at 10% (14 mL). Fmoc-Cl (1.0 equiv, 5.23 mmol, 1.35 g) was solubilized in dioxane (14 mL) then slowly added to the reaction medium. The mixture was stirred for 1 hour at 0 °C and then for 3 hours at room temperature. After reaction, the monomer was extracted with

ethyl acetate then the organic phase was dried on  $MgSO_4$  and evaporated under vacuum. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (liquid deposit, eluent: cyclohexane/EtOAc 8:2; 90% yield). Finally, the benzyl ester was deprotected following **General Procedure M**. The obtained residue was purified on silica gel (cyclohexane/EtOAc 5:5 to 1:9; yield 78%), yielding a colourless solid (1.55 g, 3.64 mmol) with an overall yield of 61%.

**TLC:**  $R_f = 0,26$  (cyclohexane/EtOAc 5:5)

**$^1H$  NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  (ppm): 1.36 - 1.53 (m, 9H, **tBu**), 2.79 and 3.09 (s, 3H, **NCH<sub>3</sub>**), 3.79 - 4.69 (m, 5H,  $2 \times CH_2 + CH$ ), 7.31 - 7.41 (m, 4H, **CH<sub>Ar</sub>**), 7.57 (m, 2H, **CH<sub>Ar</sub>**), 7.76 (m, 2H, **CH<sub>Ar</sub>**)

**HPLC** ( $H_2O + 0.1\%$  TFA/ACN):  $t_r = 10.22$  min, purity: 94%

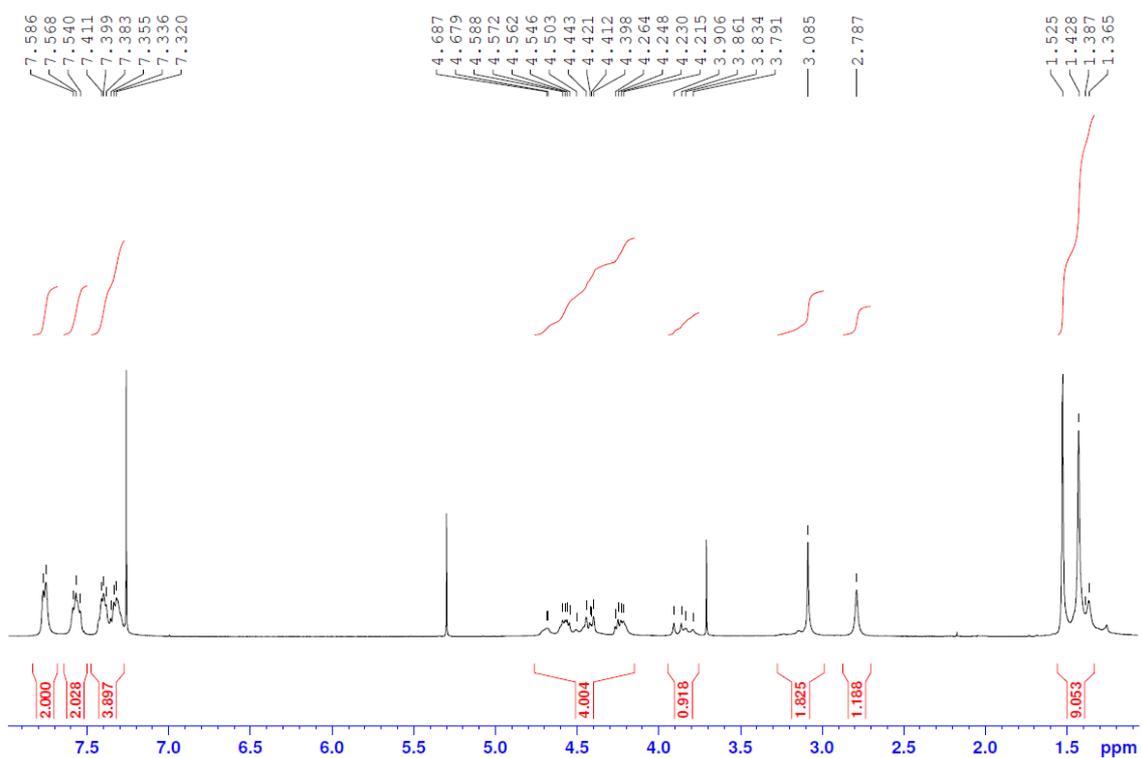


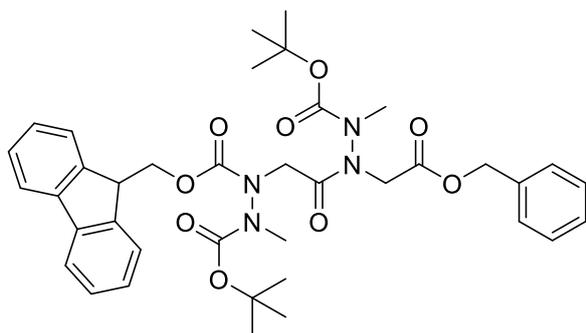
Signal 1: DAD1 A, Sig=214, 4 Ref=360, 100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	9.366	MM	0.0877	95.55018	18.15746	0.7676
2	9.833	MM	0.0828	95.67322	19.26149	0.7686
3	10.222	MM	0.0928	1.17461e4	2110.64062	94.3599
4	10.539	MM	0.0769	94.03641	20.39187	0.7554
5	10.778	MM	0.0858	416.82663	80.93181	3.3485

NMR spectra:

$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 20 mM



Dimer **III.16**

Chemical Formula:  $C_{38}H_{46}N_4O_9$   
Exact Mass: 702.3265

➤ **Via mixed anhydride formation with isobutyl chloroformate**

Dimer **III.16** was obtained starting from segment **III.15** (1.05 equiv, 200 mg, 0.47 mmol). The segment was solubilised in DMF (1.75 mL) and placed in a round bottom flask at  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  under Argon atmosphere. NMM was added (1.0 equiv, 32  $\mu\text{L}$ , 0.45 mmol) followed by isobutyl chloroformate (1.0 equiv, 58  $\mu\text{L}$ , 0.45 mmol). The reaction was stirred 10 min at  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Then a solution of monomer **III.1a/III.7** (0.5 equiv, 66 mg, 0.22 mmol) in DMF (0.56 mL) was added. The mixture was stirred 24h at RT. After full conversion, the medium was diluted in water, followed by 2 extractions with EtOAc. The organic phase was then dried over  $\text{MgSO}_4$ , concentrated under reduced pressure and finally purified on silica gel (cyclohexane/EtOAc 80:20), yielding dimer **III.16** as a colourless oil (121 mg, 0.17 mmol) with a yield of 78%.

➤ **Via mixed anhydride formation with EEDQ**

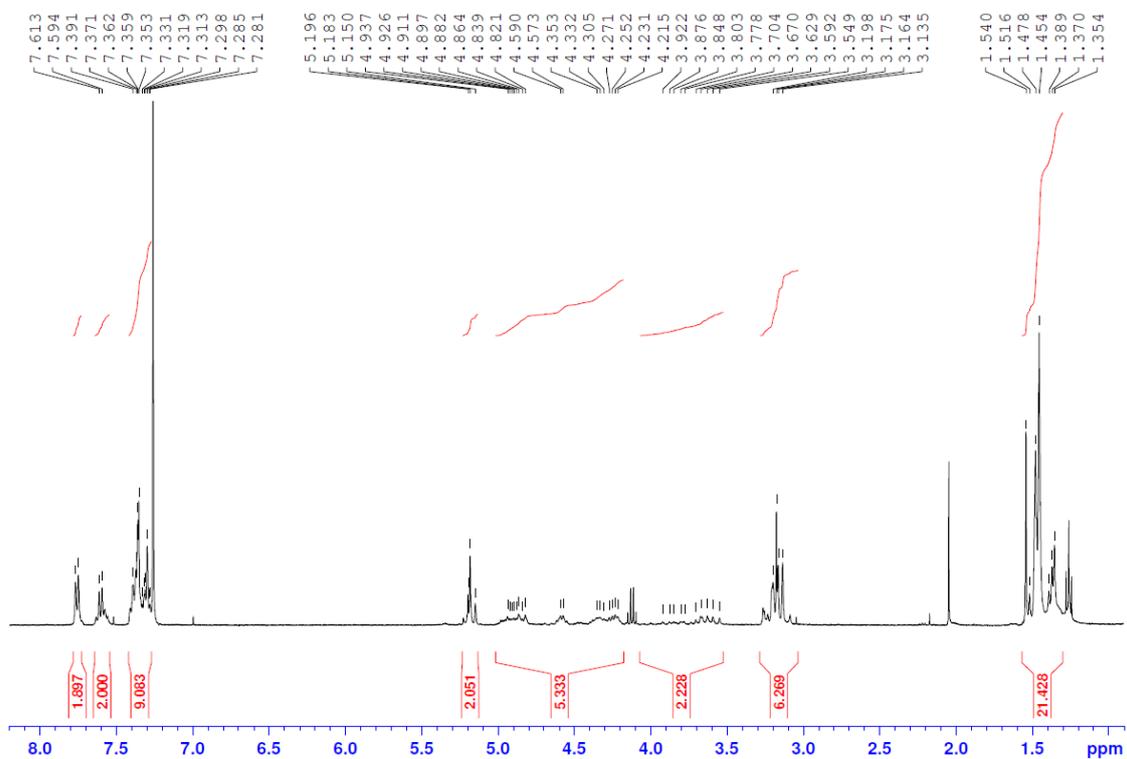
To a round bottom flask was poured a solution of segment **III.15** (1.5 equiv, 652 mg, 1.53 mmol) in 1,4-dioxane (1.5 mL) followed by a solution of monomer **III.1a/III.7** (1.0 equiv, 300 mg, 1.02 mmol) in 1,4-dioxane (1.0 mL). Then, EEDQ was added (1.5 equiv, 378 mg, 1.53 mmol). The mixture was stirred 24h at  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . After completion, the medium was diluted in EtOAc then washed 3 times with a 1M HCl solution, 3 times with a saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$ , 1 time with water and finally 1 time with brine. The organic phase was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtrated and concentrated under vacuum. The obtained residue was purified by flash chromatography on silica gel (cyclohexane/EtOAc 8:2), giving dimer **III.16** as a colourless oil (680 mg, 0.67 mmol) with a yield of 95%.

**TLC:**  $R_f = 0.27$  (cyclohexane/EtOAc 80:20)

**$^1\text{H NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , XX mM):  $\delta$  (ppm): 1.31 - 1.57 (m, 18H,  $2\times t\text{Bu}$ ), 3.08 - 3.27 (m, 6H,  $2\times \text{NCH}_3$ ), 3.52 - 4.07 and 4.20 - 5.00 (m, 7H,  $2\times \text{NCH}_2\text{C}=\text{O} + \text{CHCH}_2\text{O} + \text{CH}$ ), 5.18 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 7.28 - 7.39 (m, 9H,  $\text{CH}_{Ar}$ ), 7.59 (m, 2H,  $\text{CH}_{Ar}$ ), 7.75 (m, 2H,  $\text{CH}_{Ar}$ )

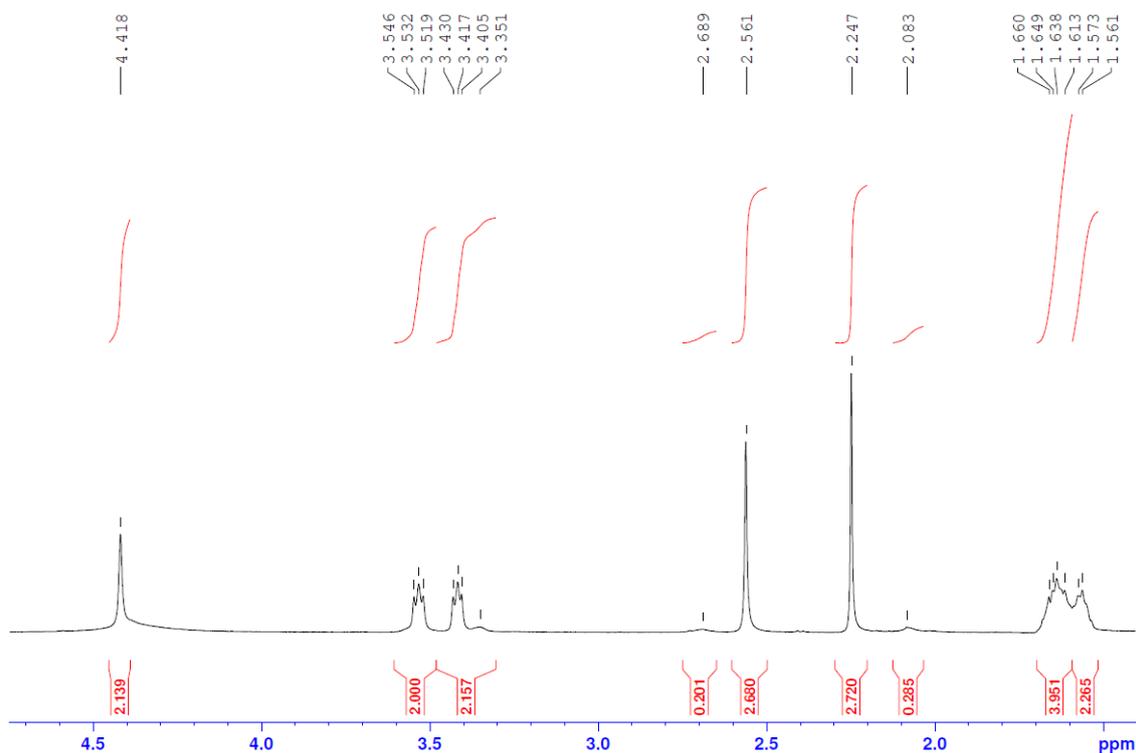
NMR spectra:

$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 20 mM



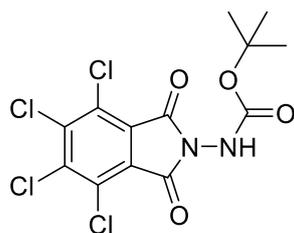


## NMR spectra:

 $^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 20 mM

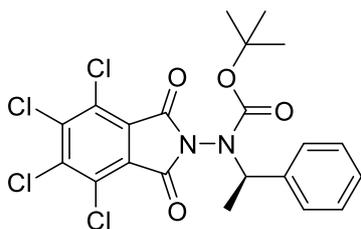
## 6.2.3. Synthesis of the chiral oligomers

## Synthesis of chiral hydrazine ((S)-1-phenylethyl)hydrazine:

Condensation of *tert*-butylcarbazate with tetrachlorophthalic anhydride **III.24**Chemical Formula:  $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}_4$ 

Exact Mass: 397.9395

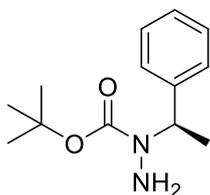
Compound **III.24** was obtained by reaction between *tert*-butylcarbazate (10 g, 75.74 mmol, 1.0 equiv) and tetrachlorophthalic anhydride (21.5 g, 75.74 mmol, 1.0 equiv) in toluene (151 mL) for 3h at 150 °C with the use of a Dean-Stark apparatus. The formation of a white solid was observed during the first hour. After reaction, the reaction medium was cooled in an ice bath at 0 °C and the solid was recovered by filtration before being dried under reduced pressure. The crude product was obtained as a white solid (27.99 g, 70.34 mmol) with 93% yield.

Alkylation of hydrazine (Mitsunobu reaction) **III.25**

Chemical Formula:  $C_{21}H_{18}Cl_4N_2O_4$   
Exact Mass: 502.0021

In a 250 mL round bottom flask placed in an ice bath at 0 °C and topped with an Argon balloon was placed under stirring a mixture of DIAD (1.6 equiv, 4.35 mL, 22.11 mmol) and triphenylphosphine (1.8 equiv, 6.53 g, 24.88 mmol) in anhydrous THF (33 mL). Then a mixture consisting of a fraction of **III.24** (5.5 g, 13.82 mmol, 1.0 equiv) and (S)-1-phenylethanol (1.2 equiv, 2.0 mL, 16.56 mmol) in anhydrous THF (35 mL) was added to the reaction medium. The same volume of anhydrous THF (35 mL) was used to rinse the container. The solution stirred for 5h at RT. After reaction, the solvents were evaporated under vacuum and a clear yellow oil was obtained. A purification on silica gel with solid deposit (purification solvent: Cyclohexane/EtOAc 90/10) allows to obtain the compound **III.25** with the presence of  $PPh_3$ . The yellow oil thus obtained was directly re-used in the next step considering a total conversion.

**TLC:**  $R_f = 0,6$  (Cyclohexane/EtOAc 90/10)

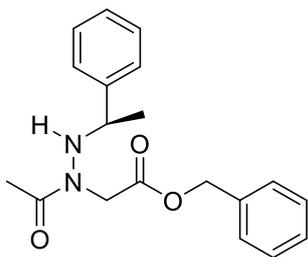
Deprotection of hydrazine **III.26**

Chemical Formula:  $C_{13}H_{20}N_2O_2$   
Exact Mass: 236.1525

To obtain the final hydrazine, compound **III.25** (13.82 mmol, 1.0 equiv) was solubilized in anhydrous THF (69 mL) and placed in an ice bath at 0 °C under inert atmosphere (argon). Ethylenediamine (2.0 equiv, 1.85 mL, 27.64 mmol) was added to the mixture and the solution was stirred overnight at RT. After reaction, a white solid was observed. This solid was filtered over cellite and the filtrate was evaporated under vacuum. The residue was purified on silica gel by solid deposition (purification solvent: Cyclo/EtOAc 90/10) and the hydrazine **III.26** was obtained as a slightly yellowish white solid. The solid was finally dried under reduced pressure. A total of 1.34 g (19.62 mmol) of pure compound was obtained, giving a yield of 69% on the last two steps.

**TLC:**  $R_f = 0,34$  (Cyclohexane/EtOAc 90:10)

**$^1H$  NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  (ppm): 1.49 (s, 9H,  $3 \times CH_3$  tBu), 1.55 (d, 3H,  $CH_3$ ), 3.61 (s, 2H,  $NH_2$ ), 5.29 (q, 1H,  $CH$ ), 7.33 (m, 5H,  $CH_{Ar}$ )

Monomer **III.29**

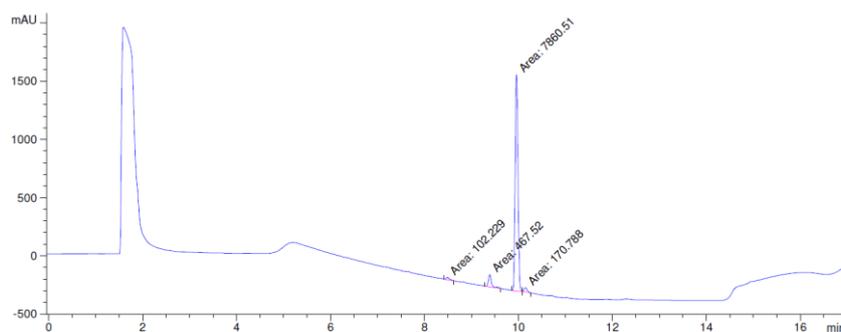
Chemical Formula: C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
Exact Mass: 326.1630

Benzyl bromoacetate (0.035 mL, 0.22 mmol, 1.0 equiv) was solubilized in anhydrous DCM (0.11 mL) before addition of DIPEA (1.1 equiv, 0.042 mL, 0.24 mmol) and the hydrazine **III.26** (57 mg, 0.24 mmol, 1.1 equiv). The reaction was stirred 5 days at room temperature. The residue was purified on silica gel (cyclohexane/EtOAc 9:1) to produce 62% of monomer. The latter was solubilized in pyridine (30 equiv, 0.37 mL, 4.6 mmol), followed by the addition of acetic anhydride (30 equiv, 0.44 mL, 4.6 mmol). The mixture was stirred 3h at 100 °C under microwave at 200W. After reaction, the pyridine was evaporated under vacuum, yielding, after purification (SiO<sub>2</sub>, cyclohexane/EtOAc 9:1), the Boc-protected monomer (46.8 mg, 0.11 mmol) with a yield of 81%. Finally, the Boc group was removed following **General Procedure I**, giving monomer **III.29** as a pale-yellow oil (24.8 mg, 0.076 mmol) in a yield of 69% after purification on silica gel (cyclohexane/EtOAc 3:2), corresponding to an overall yield of 35%.

**TLC:** R<sub>f</sub> = 0,34 (Cyclohexane/EtOAc 90:10)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ (ppm):

**HPLC** (H<sub>2</sub>O+0.1% TFA/ACN): t<sub>r</sub> = 9.96 min, purity: 91%

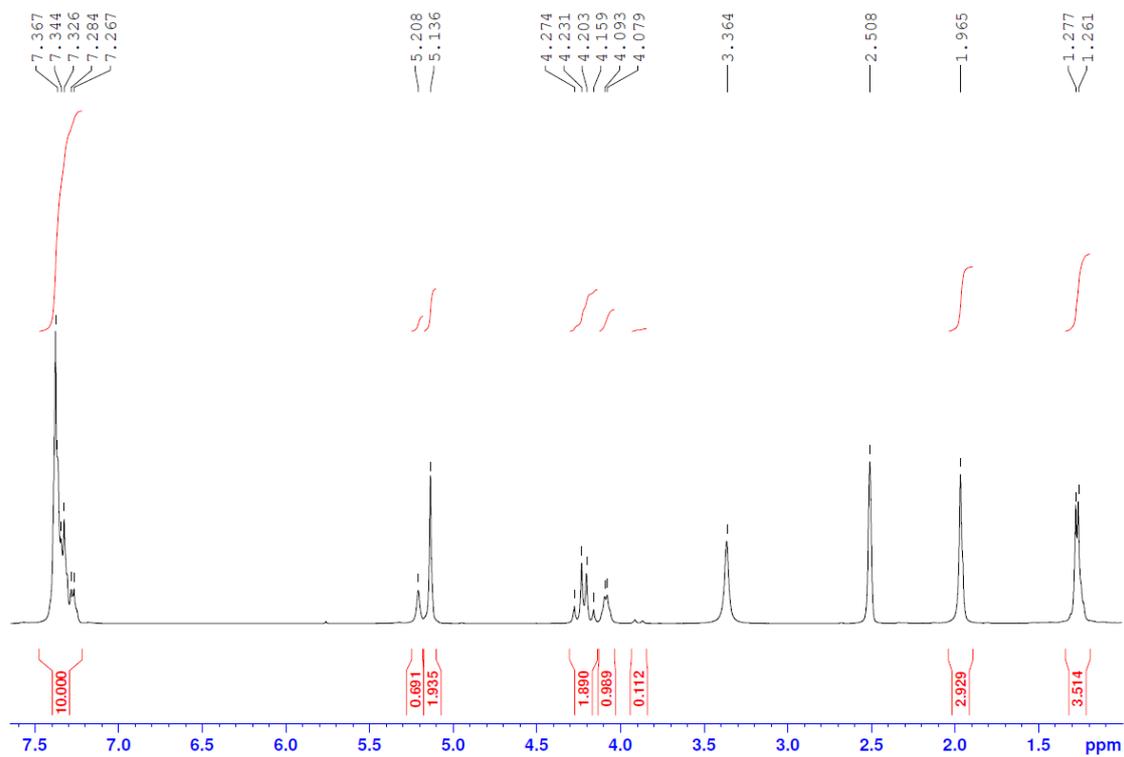


Signal 1: DAD1 A, Sig=214,4 Ref=360,100

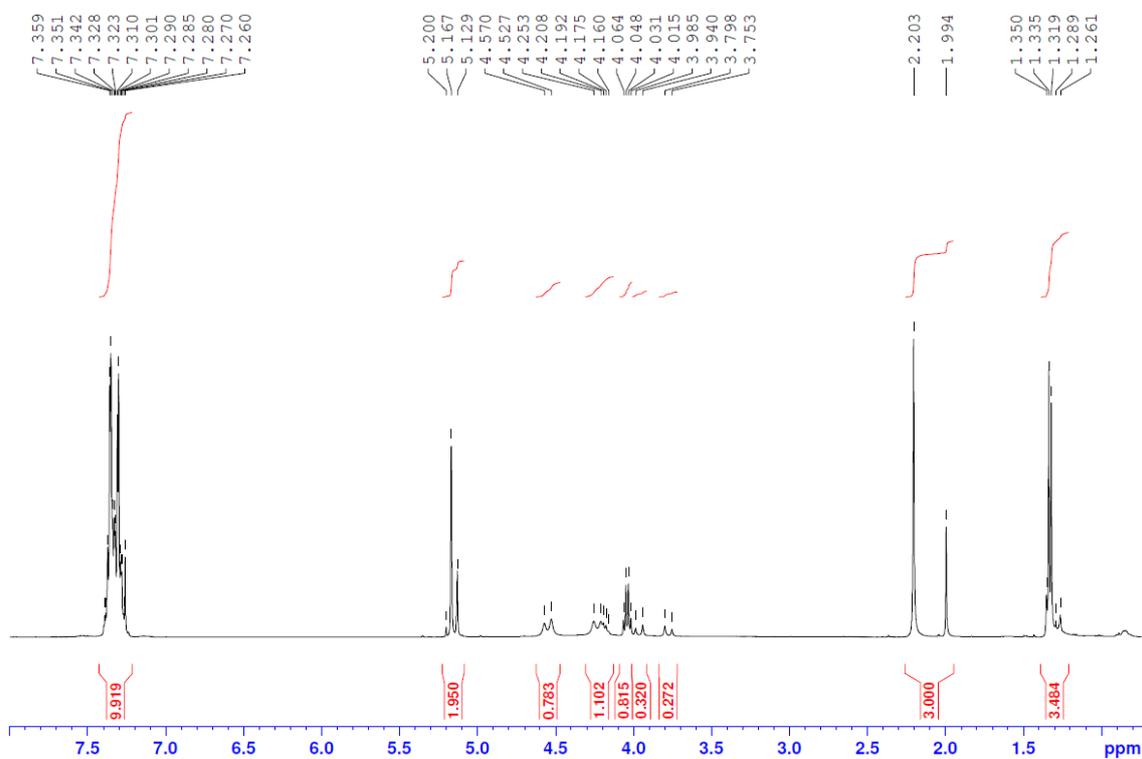
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	8.491	MM	0.0808	102.22947	21.08446	1.1886
2	9.389	MM	0.0743	467.51956	104.87141	5.4356
3	9.959	MM	0.0703	7860.51465	1863.17822	91.3902
4	10.151	MM	0.0770	170.78809	36.96701	1.9857

NMR spectra:

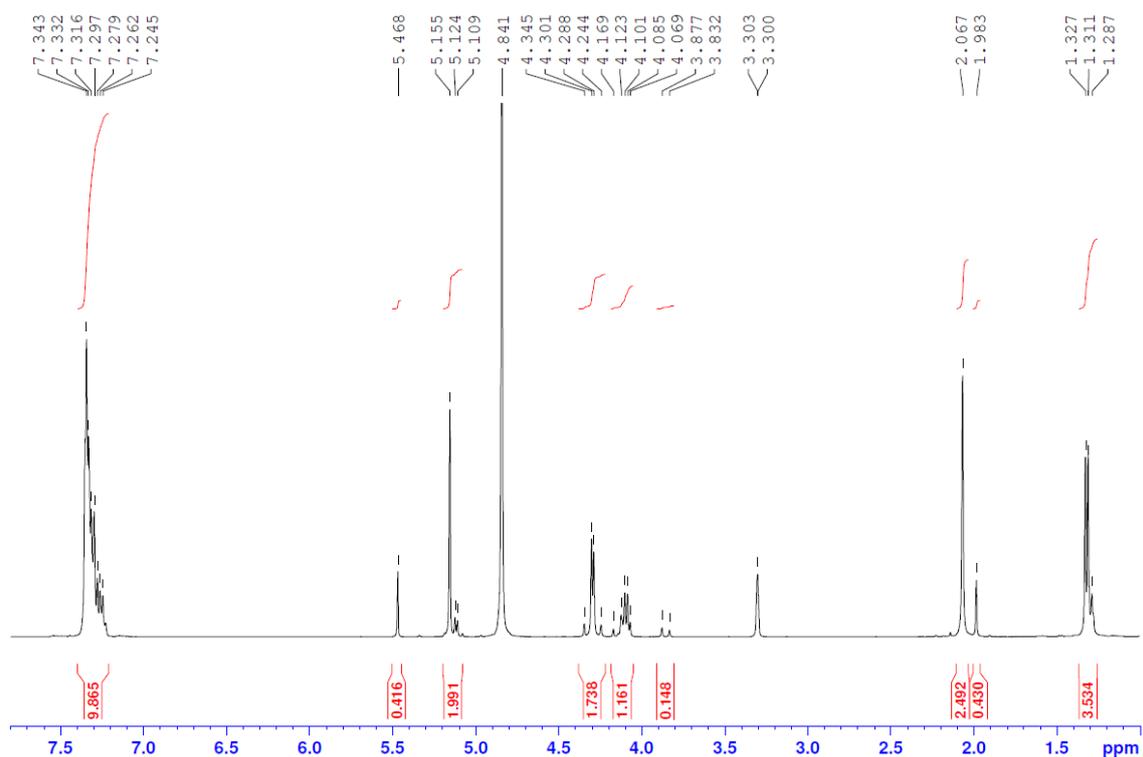
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{DMSO-}d_6$ , 25 mM



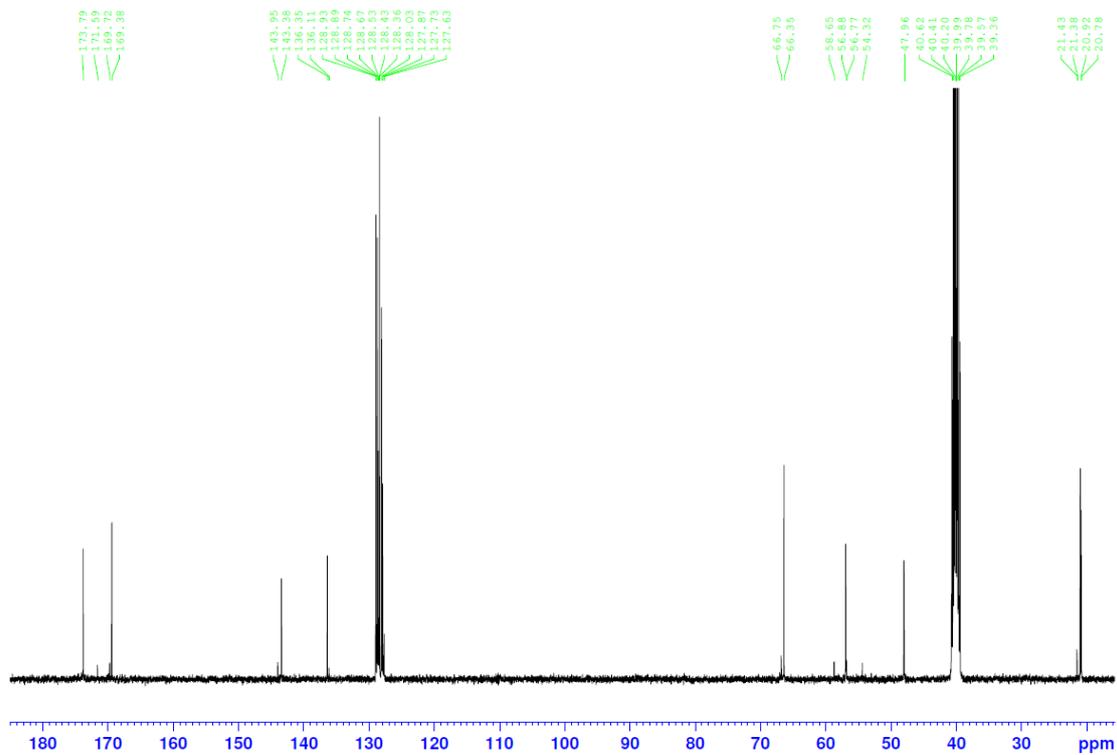
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 25 mM



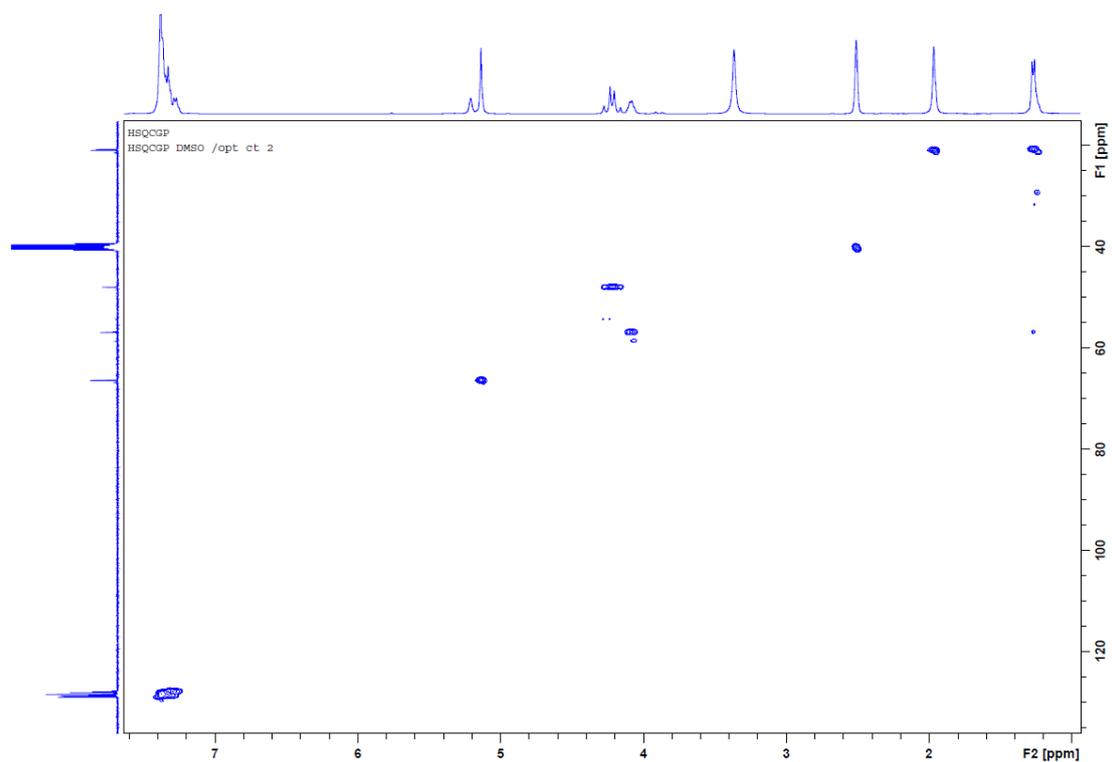
$^1\text{H}$  NMR,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 25 mM



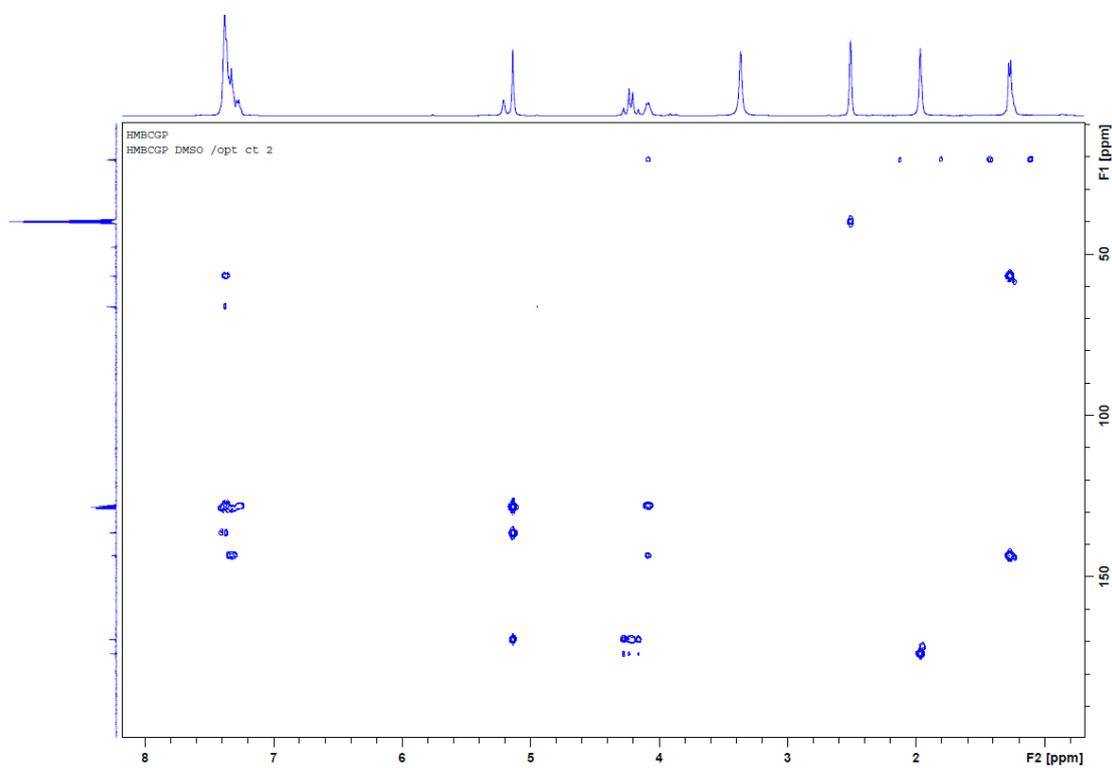
$^{13}\text{C}$  NMR,  $\text{DMSO}-d_6$



2D HSQC NMR, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 25 mM

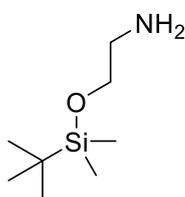


2D HMBC NMR, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 25 mM



### 6.3. Syntheses of Chapter IV

#### Protection of ethanolamine by a TBDMS group (amine A)



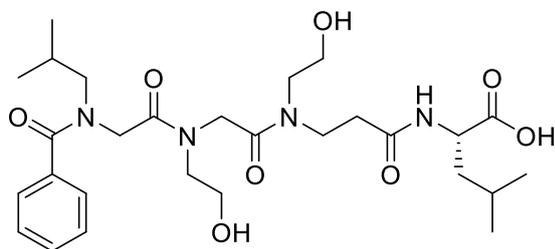
Chemical Formula: C<sub>8</sub>H<sub>21</sub>NOSi  
Exact Mass: 175.1392

In a round bottom flask placed in an ice bath at 0 °C and under inert atmosphere (argon) was placed a solution of ethanolamine (2.67 mL, 44.26 mmol, 1.0 equiv) in DCM (50 mL). In a second step, 4-dimethylaminopyridine (DMAP) was added (0.01 equiv, 54 mg, 0.44 mmol) followed by the addition of TEA (1.0 equiv, 6.15 mL, 44.26 mmol). The mixture was stirred for 10 min at 0 °C before adding *tert*-butyldimethylsilyl chloride (1.01 equiv, 6.74 g, 44.70 mmol). The reaction mixture was stirred for 18h at RT. After reaction, two washes with water were performed and then the organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and finally evaporated under vacuum to give the protected amine as a colourless oil (7.54 g, 97% yield).

<sup>1</sup>H NMR (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm): 0.31 (s, 6H, 2×SiCH<sub>3</sub>), 1.13 (s, 9H, 3×CH<sub>3</sub> *t*Bu), 1.87 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.99 (t, 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3.84 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O).

NMR spectrum was in accordance with those reported in literature.<sup>180</sup>

#### Synthesis of the lead mime YC-55 / IV.1



Chemical Formula: C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>  
Exact Mass: 564.3159

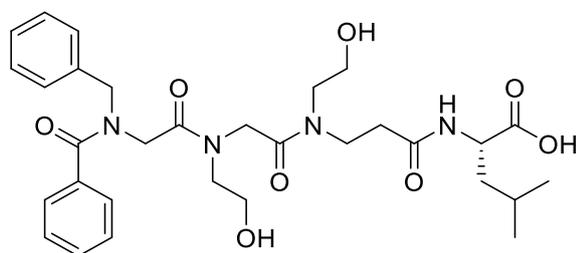
Compound **IV.1** was synthesized on 100 mg of chlorotriyl chloride resin (1.47 mmol.g<sup>-1</sup>), placed in a 5 mL syringe fitted with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (104 mg, 0.29 mmol) was added according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group on the Leucine following **General Procedure R**. Following this, the β-unit was inserted by coupling of acryloyl chloride (24 μL, 0.29 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine A (309 mg, 1.76 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the two α-units were added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (123 mg, 0.88 mmol) followed by **General**

<sup>180</sup> Pei Sze Ng, Brian M. Laing, Ganesan Balasundaram, Maneesh Pingle, Alan Friedman, Donald E. Bergstrom, *Bioconjug. Chem.*, **2010**, *21*, 1545–53.

**Procedure V** with for the first unit the amine A (515 mg, 2.94 mmol) and isobutylamine for the second unit (0.29 mL, 2.94 mmol). The *N*-terminus was finally acetylated by coupling of benzoyl chloride (102  $\mu$ L, 0.88 mmol) according to **General Procedure X**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 12.4 mg was obtained after freeze-drying, giving a yield of 15 %.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>28</sub>H<sub>45</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 565.3232, found 565.3221.

### Synthesis of mime IV.2



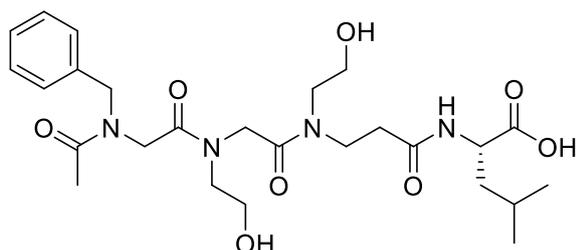
Chemical Formula: C<sub>31</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>  
Exact Mass: 598.3003

Compound **IV.2** was synthesized on 100 mg of chlorotrityl chloride resin (1.47 mmol.g<sup>-1</sup>), placed in a 5 mL syringe fitted with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (104 mg, 0.29

mmol) was added according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group on the Leucine following **General Procedure R**. Following this, the  $\beta$ -unit was inserted by coupling of acryloyl chloride (24  $\mu$ L, 0.29 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine A (309 mg, 1.76 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the two  $\alpha$ -units were added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (123 mg, 0.88 mmol) followed by **General Procedure V** with for the first unit the amine A (515 mg, 2.94 mmol) and benzylamine for the second unit (0.32 mL, 2.94 mmol). The *N*-terminus was finally acetylated by coupling of benzoyl chloride (102  $\mu$ L, 0.88 mmol) according to **General Procedure X**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 5.3 mg was obtained after freeze-drying, giving a yield of 6 %.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>31</sub>H<sub>43</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 599.3075, found 599.3058.

### Synthesis of mime IV.3



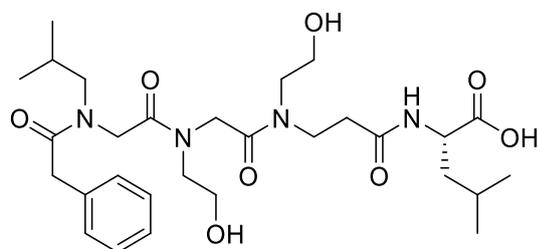
Chemical Formula: C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>  
Exact Mass: 536.2846

Mime **IV.3** was synthesized on 100 mg of chlorotrityl chloride resin (1.47 mmol.g<sup>-1</sup>), placed in a 5 mL syringe equipped with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (104

mg, 0.29 mmol) was added according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group present on Leucine following **General Procedure R**. Following this, the β-unit was inserted by coupling of acryloyl chloride (24 μL, 0.29 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine A (309 mg, 1.76 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the two α-units were added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (123 mg, 0.88 mmol) followed by **General Procedure V** with for the first unit the amine A (515 mg, 2.94 mmol) and benzylamine for the second unit (0.32 mL, 2.94 mmol). The N-terminus was finally acetylated with acetic anhydride (0.28 mL, 2.94 mmol) according to **General Procedure W**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 7.5 mg was obtained after lyophilization, giving a yield of 10%.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>26</sub>H<sub>41</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 537.2919, found 537.2910.

### Synthesis of mime IV.4



Chemical Formula: C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>  
Exact Mass: 578.3316

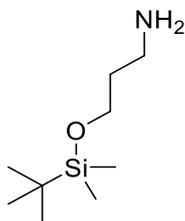
Mime **IV.4** was synthesized on 100 mg of chlorotrityl chloride resin (1.33 mmol.g<sup>-1</sup>), placed in a 5 mL syringe equipped with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (94 mg, 0.27 mmol)

was added according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF

(2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group present on Leucine following **General Procedure R**. Following this, the  $\beta$ -unit was inserted by coupling of acryloyl chloride (22  $\mu$ L, 0.27 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine A (0.28 g, 1.60 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the two  $\alpha$ -units were added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (111 mg, 0.80 mmol) followed by **General Procedure V** with for the first unit the amine A (0.47 g, 2.66 mmol) and benzylamine for the second unit (0.29 mL, 2.66 mmol). The *N*-terminus was finally acetylated by coupling phenylacetic acid (109 mg, 0.80 mmol) according to **General Procedure Y**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified on a flash chromatography system. A mass of 9.2 mg was obtained after lyophilization, giving a yield of 12%.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>29</sub>H<sub>47</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 579.3388, found 579.3384.

#### Protection of 3-amino-1-propanol by a TBDMS group (amine B)



Chemical Formula: C<sub>9</sub>H<sub>23</sub>NOSi  
Exact Mass: 189.1549

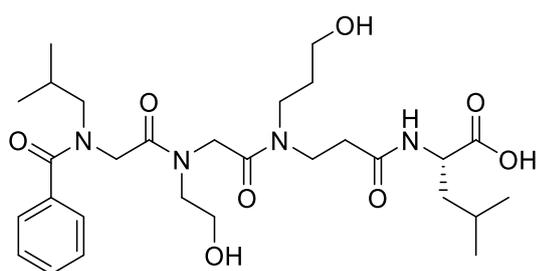
In a round bottom flask placed in an ice bath at 0 °C and under inert atmosphere (argon) was placed a solution of 3-amino-1-propanol (3.0 mL, 39.30 mmol, 1.0 equiv) in DCM (50 mL). In a second step, 4-dimethylaminopyridine (DMAP) was added (0.01 equiv, 48 mg, 0.39 mmol) followed by the addition of TEA (1.0 equiv, 5.46 mL, 39.30 mmol). The mixture was placed under stirring for 10 min at 0 °C before adding *tert*-butyldimethylsilyl chloride (1.01 equiv, 5.98 g, 39.69 mmol). The reaction was stirred for 18h at RT. After reaction, two washes with water were performed and then the organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and finally evaporated under vacuum to give the protected amine as a colourless oil (6.87 g, 92% yield).

<sup>1</sup>H RMN (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm): 0.20 (s, 6H, 2 $\times$ SiCH<sub>3</sub>), 1.03 (s, 9H, *t*Bu), 1.93 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.02 (t, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.88 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O).

NMR spectrum was in accordance with those reported in literature.<sup>181</sup>

<sup>181</sup> P. C. Prabhakaran, Steven J. Gould, Gary R. Orr, James K. Coward, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 5779–84.

## Synthesis of mime IV.5

Chemical Formula: C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>

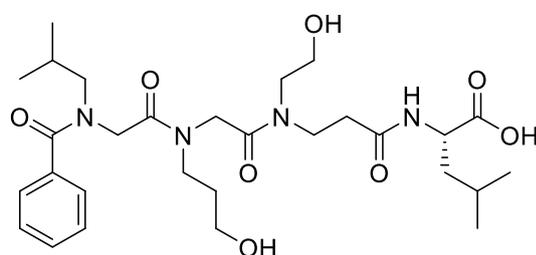
Exact Mass: 578.3316

Mime **IV.5** was synthesized on 100 mg of chlorotriyl chloride resin (1.33 mmol.g<sup>-1</sup>), placed in a 5 mL syringe equipped with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (94 mg, 0.27 mmol) was added

according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group present on Leucine following **General Procedure R**. Following this, the β-unit was inserted by coupling of acryloyl chloride (22 μL, 0.27 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine B (302 mg, 1.60 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the two α-units were added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (111 mg, 0.80 mmol) followed by **General Procedure V** with for the first unit the amine A (0.47 g, 2.66 mmol) and isobutylamine for the second unit (0.26 mL, 2.66 mmol). The N-terminal end was finally acetylated by benzoyl chloride coupling (93 μL, 0.8 mmol) according to **General Procedure X**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 7.3 mg was obtained after lyophilization, giving a yield of 9%.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>): *m/z* calculated for C<sub>29</sub>H<sub>47</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 579.3388, found 579.3375.

## Synthesis of mime IV.6

Chemical Formula: C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>

Exact Mass: 578.3316

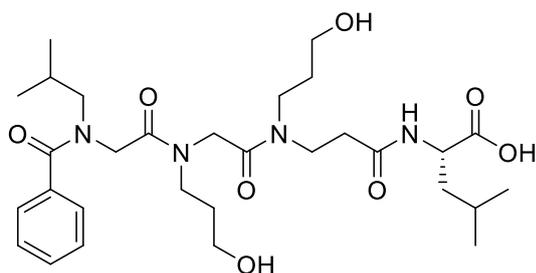
Mime **IV.6** was synthesized on 100 mg of chlorotriyl chloride resin (1.33 mmol.g<sup>-1</sup>), placed in a 5 mL syringe equipped with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (94 mg, 0.27 mmol)

was added according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group present on Leucine following

**General Procedure R.** Following this, the  $\beta$ -unit was inserted by coupling of acryloyl chloride (22  $\mu\text{L}$ , 0.27 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine A (280 mg, 1.60 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the two  $\alpha$ -units were added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (111 mg, 0.80 mmol) followed by **General Procedure V** with for the first unit the amine B (0.50 g, 2.66 mmol) and isobutylamine for the second unit (0.26 mL, 2.66 mmol). The *N*-terminal end was finally acetylated by benzoyl chloride coupling (93  $\mu\text{L}$ , 0.80 mmol) according to **General Procedure X**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 6.5 mg was obtained after freeze-drying, giving a yield of 8 %.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>):  $m/z$  calculated for C<sub>29</sub>H<sub>47</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 579.3388, found 579.3386.

#### Synthesis of mime IV.7



Chemical Formula: C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>  
Exact Mass: 592.3472

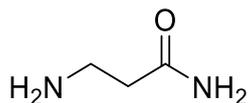
Mime **IV.7** was synthesized on 100 mg of chlorotriyl chloride resin (1.33 mmol.g<sup>-1</sup>), placed in a 5 mL syringe equipped with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (94 mg, 0.27 mmol)

was added according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group present on Leucine following **General Procedure R**. Following this, the  $\beta$ -unit was inserted by coupling of acryloyl chloride (22  $\mu\text{L}$ , 0.27 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine B (302 mg, 1.60 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the two  $\alpha$ -units were added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (111 mg, 0.80 mmol) followed by **General Procedure V** with for the first unit the amine B (0.50 g, 2.66 mmol) and isobutylamine for the second unit (0.26 mL, 2.66 mmol). The *N*-terminal end was finally acetylated by benzoyl chloride coupling (93  $\mu\text{L}$ , 0.80 mmol) according to **General Procedure X**. Finally, the peptoid was separated from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM

(**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 4.5 mg was obtained after lyophilization, giving a yield of 6%.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>):  $m/z$  calculated for C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 593.3545, found 593.3534.

### Preparation of amine **IV.10**

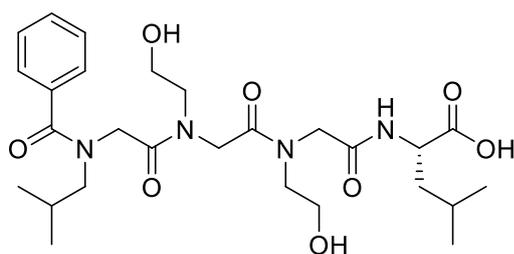


Chemical Formula: C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O  
Exact Mass: 88.0637

Compound **IV.10** was synthesized from 2.2 g of β-alanine (24.69 mmol) solubilized in a 1:2 H<sub>2</sub>O / 1,4-dioxane mixture (40 mL). To this was added sodium hydroxide (1.05 equiv, 1.04 g, 25.93 mmol). The whole was stirred until the solids were completely dissolved and then a solution of *di**tert*-butyl dicarbonate (5.7 g, 25.93 mmol, 1.05 equiv) in H<sub>2</sub>O / 1,4-dioxane 1:2 mixture (40 mL) was added dropwise. After the addition was complete, the whole mixture was stirred all weekend at RT. After reaction, the solvents were evaporated under vacuum and the residue obtained was washed twice with ether before being acidified with HCl and extracted once with ethyl acetate. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and evaporated under vacuum. The resulting oil (4.66 g, 24.64 mmol) was used without purification. Next, the crude Boc-protected β-alanine was solubilized in THF (50 mL) and TEA was added (3.42 mL, 24.64 mmol, 1.0 equiv). The medium was cooled down to -10 °C before the dropwise addition of ethyl chloroformate (2.65 mL, 24.64 mmol, 1.0 eq). The reaction was stirred 20 minutes at -10 °C before the addition of a 20% solution of ammonia (28 mL, 61.61 mmol, 2.5 equiv). The reaction is stirred overnight at room temperature. Solvents were then evaporated under vacuum and the obtained solid was solubilized in boiling EtOAc and filtrated. The cooling of the EtOAc solution led to a solid that was recovered by filtration. Finally, the Boc protecting groups were removed by reaction with a TFA solution in DCM (2:1) for 2 hours at room temperature. Solvents were evaporated under vacuum followed by 5 washes of the residue with DCM, yielding amine **IV.10** as a colourless solid with a yield of 85% (1.84 g, 20.9 mmol)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ (ppm): 2.43 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>), 2.90 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)

### Synthesis of all- $\alpha$ mime IV.11



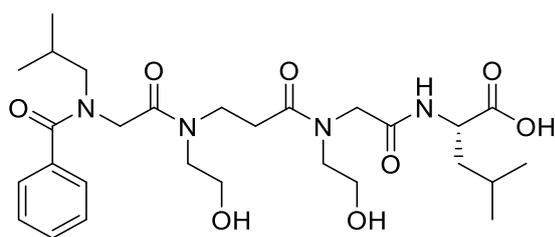
Chemical Formula:  $C_{27}H_{42}N_4O_8$   
Exact Mass: 550.3003

Mime **IV.11** was synthesized on 100 mg of chlorotriyl chloride resin ( $1.33 \text{ mmol.g}^{-1}$ ), placed in a 5 mL syringe equipped with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with DCM. Then Fmoc-L-Leucine (93 mg, 0.27 mmol) was added according to

**General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group present on Leucine following **General Procedure R**. Following this, the 3  $\alpha$ -units were inserted by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (111 mg, 0.80 mmol) followed by **General Procedure V** with for the first two units the amine A (0.47 g, 2.66 mmol) and isobutylamine for the third (0.26 mL, 2.66 mmol). The *N*-terminal end was finally acetylated by benzoyl chloride coupling (93  $\mu\text{L}$ , 0.80 mmol) according to **General Procedure X**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/ $\text{H}_2\text{O}$ /TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 49.8 mg was obtained after lyophilization, giving a yield of 68%.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>):  $m/z$  calculated for  $C_{27}H_{43}O_8N_4$   $[M+H]^+$  551.3075, found 551.3064.

### Synthesis of mime IV.12



Chemical Formula:  $C_{28}H_{44}N_4O_8$   
Exact Mass: 564.3159

Compound **IV.12** was synthesized on 100 mg of chlorotriyl chloride resin ( $1.33 \text{ mmol.g}^{-1}$ ), placed in a 5 mL syringe fitted with a filter. First, the resin was swollen for 30 minutes in DCM (2 mL for 100 mg of resin). The syringe was then emptied, and the resin was washed 3 times with

DCM. Then Fmoc-L-Leucine (93 mg, 0.27 mmol) was added according to **General Procedure Q**. The resin was then washed 5 times with DMF (2 mL for 100 mg of resin) before deprotecting the Fmoc group present on Leucine following **General Procedure R**. Then, the  $\alpha$ -unit was added by coupling bromoacetic acid (111 mg, 0.80 mmol) following the **General Procedure U** followed by the substitution of bromine by amine A (0.47 g, 2.66 mmol) applying the **General Procedure V**. Following this, the  $\beta$ -unit was inserted by coupling of acryloyl chloride

(22  $\mu\text{L}$ , 0.27 mmol) as indicated by **General Procedure S** followed by the Aza-Michael reaction by amine A (280 mg, 1.60 mmol) following **General Procedure T**. The resin was then washed 5 times with DMF then the last  $\alpha$ -unit was added to the peptoids by application of **General Procedure U** using bromoacetic acid (111 mg, 0.80 mmol) followed by **General Procedure V** isobutylamine (0.26 mL, 2.66 mmol). The *N*-terminus was finally acetylated by coupling benzoyl chloride (93  $\mu\text{L}$ , 0.80 mmol) according to **General Procedure X**. Finally, the peptoid was cleaved from the resin and deprotected by treatment with a solution of HFIP in DCM (**General Procedure Z**). Finally, the silylated alcohols were deprotected by reaction with a TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS mixture as described in **General Procedure BB** and the crude residue was purified by preparative HPLC. A mass of 21.5 mg was obtained after lyophilization, giving a yield of 29%.

**HRMS** (TOF MS ES<sup>+</sup>):  $m/z$  calculated for C<sub>28</sub>H<sub>45</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 579.3232, found 579.3224.

## Références bibliographiques



1. Onur Dagliyan, Elizabeth A. Proctor, Kevin M. D’Auria, Feng Ding, Nikolay V. Dokholyan, ‘Structural and Dynamic Determinants of Protein-Peptide Recognition’, *Structure*, **2011**, *19*, 1837–45
2. Dipra Dastider, Dhruvo Jyoti Sen, Sudip Kumar Mandal, Sankhadip Bose, Shubhabrata Ray, Beduin Mahanti, ‘Hand Sanitizers Bid Farewell To Germs On Surface Area Of Hands’, *Eur. J. Pharm. Med. Res.*, **2020**, *7*, 648–56
3. R. Bruce Merrifield, ‘Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide’, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149–54
4. Torsten Wöhr, Franck Wahl, Adel Nefzi, Barbara Rohwedder, Tatsunori Sato, Xicheng Sun, Manfred Mutter, ‘Pseudo-Prolines as a Solubilizing, Structure-Disrupting Protection Technique in Peptide Synthesis’, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 9218–27
5. Yanming Wang, Shiyong Fan, Wu Zhong, Xinbo Zhou, Song Li, ‘Development and Properties of Valine-Alanine Based Antibody-Drug Conjugates with Monomethyl Auristatin E as the Potent Payload’, *Int. J. Mol. Sci.*, **2017**, *18*, 1860
6. Annette F. Dexter, Anton P. J. Middelberg, ‘Peptides As Functional Surfactants’, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2008**, *47*, 6391–98
7. Ling-juan Zhang, Richard L. Gallo, ‘Antimicrobial Peptides’, *Curr. Biol.*, **2016**, *26*, R14–19
8. Reshma J. Nevagi, Istvan Toth, Mariusz Skwarczynski, ‘Peptide-Based Vaccines’, in *Pept. Appl. Biomed. Biotechnol. Bioeng.*, Woodhead Publishing, **2018**, pp. 327–58
9. Sotirios Koutsopoulos, ‘Self-Assembling Peptides in Biomedicine and Bioengineering: Tissue Engineering, Regenerative Medicine, Drug Delivery, and Biotechnology’, in *Pept. Appl. Biomed. Biotechnol. Bioeng.*, Woodhead Publishing, **2018**, pp. 387–408
10. Martin Werle, Andreas Bernkop-Schnürch, ‘Strategies to Improve Plasma Half Life Time of Peptide and Protein Drugs’, *Amino Acids*, **2006**, *30*, 351–67
11. Kumiko Hamamoto, Yutaka Kida, Ye Zhang, Takashi Shimizu, Koichi Kuwano, ‘Antimicrobial Activity and Stability to Proteolysis of Small Linear Cationic Peptides with D-Amino Acid Substitutions’, *Microbiol. Immunol.*, **2002**, *46*, 741–49
12. Jolene L. Lau, Michael K. Dunn, ‘Therapeutic Peptides: Historical Perspectives, Current Development Trends, and Future Directions’, *Bioorganic Med. Chem.*, **2018**, *26*, 2700–2707
13. Zuzana Antosova, Martina Mackova, Vladimir Kral, Tomas Macek, ‘Therapeutic Application of Peptides and Proteins: Parenteral Forever?’, *Trends Biotechnol.*, **2009**, *27*, 628–35
14. Marc H.V. Van Regenmortel, ‘Antigenicity and Immunogenicity of Synthetic Peptides’, *Biologicals*, **2001**, *29*, 209–13
15. Rajesh Singh, Shailesh Singh, James W Lillard, ‘Past, Present, and Future Technologies for Oral Delivery of Therapeutic Proteins.’, *J. Pharm. Sci.*, **2008**, *97*, 2497–2523
16. Joachim Gante, ‘Peptidomimetics—Tailored Enzyme Inhibitors’, *Angew. Chemie Int. Ed. English*, **1994**, *33*, 1699–1720
17. Graham J. Moore, Julian R. Smith, Barry W. Baylis, John M. Matsoukas, ‘Design and Pharmacology of Peptide Mimetics’, *Adv. Pharmacol.*, **1995**, *33*, 91–141

18. Annelise E. Barron, Ronald N. Zuckermann, 'Bioinspired Polymeric Materials: In-between Proteins and Plastics', *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1999**, *3*, 681–87
19. Samuel H. Gellman, 'Foldamers: A Manifesto', **1998**
20. David J. Hill, Matthew J. Mio, Ryan B. Prince, Thomas S. Hughes, Jeffrey S. Moore, 'A Field Guide to Foldamers', *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, 3893–4011
21. Gilles Guichard, Ivan Huc, 'Synthetic Foldamers', *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 5933–41
22. Norma J. Greenfield, 'Using Circular Dichroism Spectra to Estimate Protein Secondary Structure', *Nat. Protoc.*, **2007**, *1*, 2876–90
23. Norma J. Greenfield, Gerald D. Fasman, 'Computed Circular Dichroism Spectra for the Evaluation of Protein Conformation', *Biochemistry*, **1969**, *8*, 4108–16
24. S. Yu Venyaminov, I. A. Baikalov, Zhi Min Shen, Chuen Shang C. Wu, Jen Tsi Yang, 'Circular Dichroic Analysis of Denatured Proteins: Inclusion of Denatured Proteins in the Reference Set', *Anal. Biochem.*, **1993**, *214*, 17–24
25. Ganesh A. Sable, Kang Ju Lee, Hyun-Suk Lim, 'Solid-Phase Synthesis and Circular Dichroism Study of  $\beta$ -ABpeptoids', *Molecules*, **2019**, *24*, 178
26. Dieter Seebach, David F. Hook, Alice Glättli, 'Helices and Other Secondary Structures of  $\beta$ - and  $\gamma$ -Peptides', *Biopolymers*, **2006**, *84*, 23–37
27. Reyna J. Simon, Robert S. Kania, Ronald N. Zuckermann, Verena D. Huebner, David A. Jewell, Steven Banville, Simon Ng, Liang Wang, Steven Rosenberg, Charles K. Marlowe, David C. Spellmeyer, Ruoying Tan, Alan D. Frankel, Daniel V. Santi, Fred E. Cohen, Paul A. Bartlett, 'Peptoids: A Modular Approach to Drug Discovery', *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1992**, *89*, 9367–71
28. Jonas S. Laursen, Jens Engel-Andreasen, Christian A. Olsen, ' $\beta$ -Peptoid Foldamers at Last', *Acc. Chem. Res.*, **2015**, *48*, 2696–2704
29. Jayanta Chatterjee, Chaim Gilon, Amnon Hoffman, Horst Kessler, 'N-Methylation of Peptides: A New Perspective in Medicinal Chemistry', *Acc. Chem. Res.*, **2008**, *41*, 1331–42
30. Anamarija Zega, 'Azapeptides as Pharmacological Agents', *Curr. Med. Chem.*, **2012**, *12*, 589–97
31. Arnaud Salaün, Michel Potel, Thierry Roisnel, Philippe Gall, Philippe Le Grel, 'Crystal Structures of Aza-B $\beta$ -Peptides, a New Class of Foldamers Relying on a Framework of Hydrazinoturns', *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 6499–6502
32. Wilna J. Moree, Gijs A. van der Marel, Rob J. Liskamp, 'Synthesis of Peptidosulfonamides and Peptidosulfonamides: Peptidomimetics Containing the Sulfonamide or Sulfonamide Transition-State Isostere', *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 5157–69
33. Diane Bécart, Vincent Diemer, Arnaud Salaün, Mikel Oiarbide, Yella Reddy Nelli, Brice Kauffmann, Lucile Fischer, Claudio Palomo, Gilles Guichard, 'Helical Oligourea Foldamers as Powerful Hydrogen Bonding Catalysts for Enantioselective C-C Bond-Forming Reactions', *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 12524–32
34. Neville J. Anthony, Stuart L. Schreiber, Masahiko Hagihara, Thomas J. Stout, Jon Clardy, 'Vinyllogous Polypeptides: An Alternative Peptide Backbone', *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 6568–70

35. Charles Y. Cho, Edmund J. Moran, Sara R. Cherry, James C. Stephans, Stephen P.A. Fodor, Cynthia L. Adams, Arathi Sundaram, Jeffrey W. Jacobs, Peter G. Schultz, 'An Unnatural Biopolymer', *Science*, **1993**, *261*, 1303–5
36. Ludwig K.A. Pilsl, Oliver Reiser, ' $\alpha/\beta$ -Peptide Foldamers: State of the Art', *Amino Acids*, **2011**, *41*, 709–18
37. Christian A. Olsen, Gitte Bonke, Line Vedel, Anne Adsersen, Matthias Witt, Henrik Franzyk, Jerzy W. Jaroszewski, 'A-Peptide/B-Peptoid Chimeras', *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 1549–52
38. Daniel H. Appella, Laurie A. Christianson, Isabella L. Karle, Douglas R. Powell, Samuel H. Gellman, ' $\beta$ -Peptide Foldamers: Robust Helix Formation in a New Family of  $\beta$ -Amino Acid Oligomers', *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 13071–72
39. Dieter Seebach, Jennifer L. Matthews, ' $\beta$ -Peptides: A Surprise at Every Turn', *Chem. Commun.*, **1997**, 2015–22
40. Richard P. Cheng, Samuel H. Gellman, William F. DeGrado, ' $\beta$ -Peptides: From Structure to Function', *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, 3219–32
41. Dieter Seebach, Stefan Abele, Karl Gademann, Gilles Guichard, Tobias Hintermann, Bernhard Jaun, Jennifer L. Matthews, Jürg V. Schreiber, Lukas Oberer, Ulrich Hommel, Hans Widmer, ' $\beta$ 2- and  $\beta$ 3-Peptides with Proteinaceous Side Chains: Synthesis and Solution Structures of Constitutional Isomers, a Novel Helical Secondary Structure and the Influence of Solvation and Hydrophobic Interactions on Folding', *Helv. Chim. Acta*, **1998**, *81*, 932–82
42. Tobias Hintermann, Karl Gademann, Bernhard Jaun, Dieter Seebach, ' $\gamma$ -Peptides Forming More Stable Secondary Structures than  $\alpha$ -Peptides: Synthesis and Helical NMR-Solution Structure of the  $\gamma$ -Hexapeptide Analog of H-(Val-Ala-Leu)<sub>2</sub>-OH', *Helv. Chim. Acta*, **1998**, *81*, 983–1002
43. Stephen Hanessian, Xuehong Luo, Robert Schaum, Stephen Michnick, 'Design of Secondary Structures in Unnatural Peptides: Stable Helical  $\gamma$ - Tetra-, Hexa-, and Octapeptides and Consequences of  $\alpha$ -Substitution', *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 8569–70
44. Carsten Baldauf, Robert Günther, Hans-Jörg Hofmann, 'Helix Formation and Folding In  $\gamma$ -Peptides and Their Vinylogues', *Helv. Chim. Acta*, **2003**, *86*, 2573–88
45. Carsten Baldauf, Robert Günther, Hans-Jörg Hofmann, ' $\delta$ -Peptides and  $\delta$ -Amino Acids as Tools for Peptide Structure Design - A Theoretical Study', *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 6214–20
46. Prema G. Vasudev, Sunanda Chatterjee, Shamala Narayanaswamy, Balaram Padmanabhan, 'Structural Chemistry of Peptides Containing Backbone Expanded Amino Acid Residues: Conformational Features of  $\beta$ ,  $\gamma$ , and Hybrid Peptides', *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 657–87
47. Christine Hemmerlin, Michel Marraud, Didier Rognan, Roland Graff, Vincent Semetey, Jean-Paul Briand, Gilles Guichard, 'Helix-Forming Oligoureas: Temperature-Dependent NMR, Structure Determination, and Circular Dichroism of a Nonamer with Functionalized Side Chains', *Helv. Chim. Acta*, **2002**, *85*, 3692–3711

48. Vincent Semetey, Didier Rognan, Christine Hemmerlin, Roland Graff, Jean-Paul Briand, Michel Marraud, Gilles Guichard, 'Stable Helical Secondary Structure in Short-Chain N,N'-Linked Oligoureas Bearing Proteinogenic Side Chains', *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2002**, *41*, 1893–95
49. Nicolo Tonali, Isabelle Correia, Jacopo Lesma, Guillaume Bernadat, Sandrine Ongeri, Olivier Lequin, 'Introducing Sequential Aza-Amino Acids Units Induces Repeated  $\beta$ -Turns and Helical Conformations in Peptides.', *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, *18*, 3452–58
50. Clémence Mocquet, Arnaud Salaün, Paul Claudon, Barbara Le Grel, Michel Potel, Gilles Guichard, Brigitte Jamart-Grégoire, Philippe Le Grel, 'Aza-  $\beta$ 3-Cyclopeptides: A New Way of Controlling Nitrogen Chirality', *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 14521–25
51. Susan M. Miller, Reyna J. Simon, Simon Ng, Ronald N. Zuckermann, Janice M. Kerr, Walter H. Moos, 'Proteolytic Studies of Homologous Peptide and N-Substituted Glycine Peptoid Oligomers', *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 2657–62
52. Yong Uk Kwon, Thomas Kodadek, 'Quantitative Evaluation of the Relative Cell Permeability of Peptoids and Peptides', *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 1508–9
53. John M. Astle, D. Gomika Udugamasooriya, Joan E. Smallshaw, Thomas Kodadek, 'A VEGFR2 Antagonist and Other Peptoids Evade Immune Recognition', *Int. J. Pept. Res. Ther.*, **2008**, *14*, 223–27
54. Ronald N. Zuckermann, Thomas Kodadek, 'Peptoids as Potential Therapeutics.', *Curr. Opin. Mol. Ther.*, **2009**, *11*, 299–307
55. Michelle T. Dohm, Rinki Kapoor, Annelise E. Barron, 'Peptoids: Bio-Inspired Polymers as Potential Pharmaceuticals', *Curr. Pharm. Des.*, **2012**, *17*, 2732–47
56. Prasanna G. Alluri, M. Muralidhar Reddy, Kiran Bachhawat-Sikder, Hernando J. Olivos, Thomas Kodadek, 'Isolation of Protein Ligands from Large Peptoid Libraries', *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 13995–4
57. Radhe Shyam, Nicolas Charbonnel, Aurélie Job, Christelle Blavignac, Christiane Forestier, Claude Taillefumier, Sophie Faure, '1,2,3-Triazolium-Based Cationic Amphipathic Peptoid Oligomers Mimicking Antimicrobial Helical Peptides', *ChemMedChem*, **2018**, *13*, 1513–16
58. Shannon L. Seuryneck-Servoss, Michelle T. Dohm, Annelise E. Barron, 'Effects of Including an N-Terminal Insertion Region and Arginine-Mimetic Side Chains in Helical Peptoid Analogues of Lung Surfactant Protein B', *Biochemistry*, **2006**, *45*, 11809–18
59. Wei Huang, Jiwon Seo, Jennifer S. Lin, Annelise E. Barron, 'Peptoid Transporters: Effects of Cationic, Amphipathic Structure on Their Cellular Uptake', *Mol. Biosyst.*, **2012**, *8*, 2626–28
60. Helen Tran, Sarah L. Gael, Michael D. Connolly, Ronald N. Zuckermann, 'Solid-Phase Submonomer Synthesis of Peptoid Polymers and Their Self-Assembly into Highly-Ordered Nanosheets', *J. Vis. Exp.*, **2011**, 1–7
61. Shimoga D. Ganesh, Nabanita Saha, Oyunchimeg Zandraa, Ronald N. Zuckermann, Petr Sába, 'Peptoids and Polypeptoids: Biomimetic and Bioinspired Materials for Biomedical Applications', *Polym. Bull.*, **2017**, *74*, 3455–66

62. Ki Tae Nam, Sarah A. Shelby, Philip H. Choi, Amanda B. Marciel, Ritchie Chen, Li Tan, Tammy K. Chu, Ryan A. Mesch, Byoung Chul Lee, Michael D. Connolly, Christian Kisielowski, Ronald N. Zuckermann, 'Free-Floating Ultrathin Two-Dimensional Crystals from Sequence-Specific Peptoid Polymers', *Nat. Mater.*, **2010**, *9*, 454–60
63. Toshiaki Hara, Stewart R. Durell, Michael C. Myers, Daniel H. Appella, 'Probing the Structural Requirements of Peptoids That Inhibit HDM2-P53 Interactions', *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 1995–2004
64. Jeffrey A. Schneider, Timothy W. Craven, Amanda C. Kasper, Chi Yun, Michael Haugbro, Erica M. Briggs, Vladimir Svetlov, Evgeny Nudler, Holger Knaut, Richard Bonneau, Michael J. Garabedian, Kent Kirshenbaum, Susan K. Logan, 'Design of Peptoid-Peptide Macrocycles to Inhibit the  $\beta$ -Catenin TCF Interaction in Prostate Cancer', *Nat. Commun.*, **2018**, *9*, 4396
65. Jack T. Nguyen, Margaret Porter, Mehran Amoui, W. Todd Miller, Ronald N. Zuckermann, Wendell A. Lim, 'Improving SH3 Domain Ligand Selectivity Using a Non-Natural Scaffold', *Chem. Biol.*, **2000**, *7*, 463–73
66. Timothy S. Burkoth, Aaron T. Fafarman, Deborah H. Charych, Michael D. Connolly, Ronald N. Zuckermann, 'Incorporation of Unprotected Heterocyclic Side Chains into Peptoid Oligomers via Solid-Phase Submonomer Synthesis', *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 8841–45
67. Adrian S. Culf, Rodney J. Ouellette, 'Solid-Phase Synthesis of N-Substituted Glycine Oligomers ( $\alpha$ -Peptoids) and Derivatives', *Molecules*, **2010**, *15*, 5282–5335
68. Helen E. Blackwell, 'Out of the Oil Bath and into the Oven - Microwave-Assisted Combinatorial Chemistry Heats Up', *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *1*, 1251–55
69. Anne C. Schneider, Daniel Fritz, Joseph K. Vasquez, Sidonie B.L. Vollrath, Helen E. Blackwell, Stefan Bräse, 'Microwave-Facilitated SPOT-Synthesis of Antibacterial Dipeptoids', *ACS Comb. Sci.*, **2017**, *19*, 715–37
70. John E. Murphy, Tetsuo Uno, Janice D. Hamer, Fred E. Cohen, Varavani Dwarki, Ronald N. Zuckermann, 'A Combinatorial Approach to the Discovery of Efficient Cationic Peptoid Reagents for Gene Delivery', *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, *95*, 1517–22
71. Thomas Hjelmgaard, Sophie Faure, Cécile Caumes, Emiliana De Santis, Alison A. Edwards, Claude Taillefumier, 'Convenient Solution-Phase Synthesis and Conformational Studies of Novel Linear and Cyclic  $\alpha,\beta$ -Alternating Peptoids', *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4100–4103
72. Cécile Caumes, Thomas Hjelmgaard, Roland Remuson, Sophie Faure, Claude Taillefumier, 'Highly Convenient Gram-Scale Solution-Phase Peptoid Synthesis and Orthogonal Side-Chain Post-Modification', *Synthesis*, **2011**, *2*, 257–64
73. Olivier Roy, Cécile Caumes, Yannick Esvan, Claude Didierjean, Sophie Faure, Claude Taillefumier, 'The Tert-Butyl Side Chain: A Powerful Means to Lock Peptoid Amide Bonds in the Cis Conformation', *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 2246–49
74. Uttam K. Saha, René Roy, 'Synthesis of New Glycopeptidomimetics Based on N-Substituted Oligoglycine Bearing an N-Linked Lactoside Side-Chain', in *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, The Royal Society of Chemistry, **1995**, 2571–73
75. Bruce C. Hamper, Stephen A. Kolodziej, Angela M. Scates, Ronald G. Smith, Enriqueta Cortez, 'Solid Phase Synthesis of  $\beta$ -Peptoids: N-Substituted  $\beta$ -Aminopropionic Acid Oligomers', *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 708–18

76. Aymeric Genest, Sandra Binauld, Emmanuel Pouget, François Ganachaud, Etienne Fleury, Daniel Portinha, 'Going beyond the Barriers of Aza-Michael Reactions: Controlling the Selectivity of Acrylates towards Primary Amino-PDMS', *Polym. Chem.*, **2017**, *8*, 624–30
77. Anna S. Norgren, Suode Zhang, Per I. Arvidsson, 'Synthesis and Circular Dichroism Spectroscopic Investigations of Oligomeric  $\beta$ -Peptoids with  $\alpha$ -Chiral Side Chains', *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 4533–36
78. Christian A. Olsen, Maja Lambert, Matthias Witt, Henrik Franzyk, Jerzy Witold Jaroszewski, 'Solid-Phase Peptide Synthesis and Circular Dichroism Study of Chiral  $\beta$ -Peptoid Homooligomers', *Amino Acids*, **2008**, *34*, 465–71
79. Christian A. Olsen, 'Peptoid-Peptide Hybrid Backbone Architectures', *ChemBioChem*, **2010**, *11*, 152–60
80. Christian A. Olsen, ' $\beta$ -Peptoid "Foldamers"-Why the Additional Methylene Unit?', *Biopolymers*, **2011**, *96*, 561–66
81. Steven W. Shuey, William J. Delaney, Mukesh C. Shah, Mark A. Scialdone, 'Antimicrobial  $\beta$ -Peptoids by a Block Synthesis Approach', *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 1245–48
82. Joseph C. Furgal, Julius M. van Dijck, Samuel C. Leguizamon, Timothy F. Scott, 'Accessing Sequence Specific Hybrid Peptoid Oligomers with Varied Pendant Group Spacing', *Eur. Polym. J.*, **2019**, *118*, 306–11
83. Thomas Hjelmgaard, Sophie Faure, Emiliana De Santis, Dan Staerk, Bruce D. Alexander, Alison A. Edwards, Claude Taillefumier, John Nielsen, 'Improved Solid-Phase Synthesis and Study of Arylopeptoids with Conformation-Directing Side Chains', *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 4444–54
84. J. Aaron Crapster, Joseph R. Stringer, Ilia A. Guzei, Helen E. Blackwell, 'Design and Conformational Analysis of Peptoids Containing N-Hydroxy Amides Reveals a Unique Sheet-like Secondary Structure.', *Biopolymers*, **2011**, *96*, 604–16
85. Peter A. Jordan, Bishwajit Paul, Glenn L. Butterfoss, P. Douglas Renfrew, Richard Bonneau, Kent Kirshenbaum, 'Oligo(N-Alkoxy Glycines): Trans Substantiating Peptoid Conformations', *Biopolymers*, **2011**, *96*, 617–26
86. Bani Kanta Sarma, Muhammed Yousufuddin, Thomas Kodadek, 'Acyl Hydrazides as Peptoid Sub-Monomers', *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 10590–92
87. John A.W. Kruijtzter, Dirk J. Lefeber, Rob M.J. Liskamp, 'Approaches to the Synthesis of Ureapeptoid Peptidomimetics', *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 5335–38
88. Injae Shin, Kisoo Park, 'Solution-Phase Synthesis of Aminoxy Peptoids in the C to N and N to C Directions', *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 869–72
89. Qiang Sui, Dan Borchardt, Dallas L. Rabenstein, 'Kinetics and Equilibria of Cis/Trans Isomerization of Backbone Amide Bonds in Peptoids', *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 12042–48
90. Susan M. Miller, Reyna J. Simon, Simon Ng, Ronald N. Zuckermann, Janice M. Kerr, Walter H. Moos, 'Comparison of the Proteolytic Susceptibilities of Homologous L-Amino Acid, D-Amino Acid, and N-Substituted Glycine Peptide and Peptoid Oligomers', *Drug Dev. Res.*, **1995**, *35*, 20–32

91. Philippe Armand, Kent Kirshenbaum, Alexis Falicov, Roland L. Dunbrack, Ken A. Dill, Ronald N. Zuckermann, Fred E. Cohen, 'Chiral N-Substituted Glycines Can Form Stable Helical Conformations', *Fold. Des.*, **1997**, *2*, 369–75
92. Sarah A. Fowler, Helen E. Blackwell, 'Structure-Function Relationships in Peptoids: Recent Advances toward Deciphering the Structural Requirements for Biological Function', *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 1508–24
93. Kent Kirshenbaum, Annelise E. Barron, Richard A. Goldsmith, Philippe Armand, Erin K. Bradley, Kiet T.V. Truong, Ken A. Dill, Fred E. Cohen, Ronald N. Zuckermann, 'Sequence-Specific Polypeptoids: A Diverse Family of Heteropolymers with Stable Secondary Structure', *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, *95*, 4303–8
94. Cindy W. Wu, Tracy J. Sanborn, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, 'Peptoid Oligomers with  $\alpha$ -Chiral, Aromatic Side Chains: Effects of Chain Length on Secondary Structure', *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 2958–63
95. Cindy W. Wu, Tracy J. Sanborn, Kai Huang, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, 'Peptoid Oligomers with  $\alpha$ -Chiral, Aromatic Side Chains: Sequence Requirements for the Formation of Stable Peptoid Helices', *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 6778–84
96. Hye Min Shin, Chang Muk Kang, Myung Han Yoon, Jiwon Seo, 'Peptoid Helicity Modulation: Precise Control of Peptoid Secondary Structures via Position-Specific Placement of Chiral Monomers', *Chem. Commun.*, **2014**, *50*, 4465–68
97. Joseph R. Stringer, J. Aaron Crapster, Ilia A. Guzei, Helen E. Blackwell, 'Extraordinarily Robust Polyproline Type I Peptoid Helices Generated via the Incorporation of  $\alpha$ -Chiral Aromatic N-1-Naphthylethyl Side Chains', *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 15559–67
98. Hafida Aliouat, Cécile Caumes, Olivier Roy, Mohamed Zouikri, Claude Tallefumier, Sophie Faure, '1,2,3-Triazolium-Based Peptoid Oligomers', *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*, 2386–98
99. Cindy W. Wu, Kent Kirshenbaum, Tracy J. Sanborn, James A. Patch, Kai Huang, Ken A. Dill, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, 'Structural and Spectroscopic Studies of Peptoid Oligomers with  $\alpha$ -Chiral Aliphatic Side Chains', *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 13525–30
100. Radhe Shyam, Lionel Nauton, Gaetano Angelici, Olivier Roy, Claude Tallefumier, Sophie Faure, 'NC $\alpha$ -Gem-Dimethylated Peptoid Side Chains: A Novel Approach for Structural Control and Peptide Sequence Mimetics', *Biopolymers*, **2019**, *110*, e23273
101. Olivier Roy, Geoffrey Dumonteil, Sophie Faure, Laurent Jouffret, Alexandre Kriznik, Claude Tallefumier, 'Homogeneous and Robust Polyproline Type I Helices from Peptoids with Nonaromatic  $\alpha$ -Chiral Side Chains', *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 13533–40
102. Gaetano Angelici, Nicholas Bhattacharjee, Olivier Roy, Sophie Faure, Claude Didierjean, Laurent Jouffret, Franck Jolibois, Lionel Perrin, Claude Tallefumier, 'Weak Backbone CH $\cdots$ OC and Side Chain tBu $\cdots$ tBu London Interactions Help Promote Helix Folding of Achiral NtBu Peptoids', *Chem. Commun.*, **2016**, *52*, 4573–76
103. Maha Rzeigui, Mounir Traikia, Laurent Jouffret, Alexandre Kriznik, Jameleddine Khiari, Olivier Roy, Claude Tallefumier, 'Strengthening Peptoid Helicity through Sequence Site-Specific Positioning of Amide Cis-Inducing NtBu Monomers', *J. Org. Chem.*, **2020**, *85*, 2190–2201

104. Diana Gimenez, Juan A. Aguilar, Elizabeth H.C. Bromley, Steven L. Cobb, 'Stabilising Peptoid Helices Using Non-Chiral Fluoroalkyl Monomers', *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2018**, *57*, 10549–53
105. Diana Gimenez, Guangfeng Zhou, Matthew F.D. Hurley, Juan A. Aguilar, Vincent A. Voelz, Steven L. Cobb, 'Fluorinated Aromatic Monomers as Building Blocks To Control  $\alpha$ -Peptoid Conformation and Structure', *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*, 3430–34
106. Andrew W. Wijaya, Andy I. Nguyen, Leah T. Roe, Glenn L. Butterfoss, Ryan K. Spencer, Nan K. Li, Ronald N. Zuckermann, 'Cooperative Intramolecular Hydrogen Bonding Strongly Enforces Cis-Peptoid Folding', *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*, 19436–47
107. Alexei A. Adzhubei, Michael J.E. Sternberg, Alexander A. Makarov, 'Polyproline-II Helix in Proteins: Structure and Function', *J. Mol. Biol.*, **2013**, *425*, 2100–2132
108. Neel H Shah, Glenn L Butterfoss, Khanh Nguyen, Barney Yoo, Richard Bonneau, Dallas L Rabenstein, Kent Kirshenbaum, 'Oligo(N-Aryl Glycines): A New Twist on Structured Peptoids', *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 16622–32
109. Kai Huang, Cindy W. Wu, Tracy J. Sanborn, James A. Patch, Kent Kirshenbaum, Ronald N. Zuckermann, Annelise E. Barron, Ishwar Radhakrishnan, 'A Threaded Loop Conformation Adopted by a Family of Peptoid Nonamers', *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 1733–38
110. Sarah A. Fowler, Rinrada Luechapanichkul, Helen E. Blackwell, 'Synthesis and Characterization of Nitroaromatic Peptoids: Fine Tuning Peptoid Secondary Structure through Monomer Position and Functionality', *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 1440–49
111. Sung Bin Y. Shin, Barney Yoo, Louis J. Todaro, Kent Kirshenbaum, 'Cyclic Peptoids', *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 3218–25
112. Jonathan K. Pokorski, Lisa M. Miller Jenkins, Hanqiao Feng, Stewart R. Durell, Yawen Bai, Daniel H. Appella, 'Introduction of a Triazole Amino Acid into a Peptoid Oligomer Induces Turn Formation in Aqueous Solution', *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 2381–83
113. Romas Kudirka, Helen Tran, Babak Sanii, Ki Tae Nam, Philip H. Choi, Neeraja Venkateswaran, Ritchie Chen, Stephen Whitelam, Ronald N. Zuckermann, 'Folding of a Single-Chain, Information-Rich Polypeptoid Sequence into a Highly Ordered Nanosheet', *Pept. Sci.*, **2011**, *96*, 586–95
114. Babak Sanii, Romas Kudirka, Andrew Cho, Neeraja Venkateswaran, Gloria K. Olivier, Alexander M. Olson, Helen Tran, R. Marika Harada, Li Tan, Ronald N. Zuckermann, 'Shaken, Not Stirred: Collapsing a Peptoid Monolayer to Produce Free-Floating, Stable Nanosheets', *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 20808–15
115. Ranjan V. Mannige, Thomas K. Haxton, Caroline Proulx, Ellen J. Robertson, Alessia Battigelli, Glenn L. Butterfoss, Ronald N. Zuckermann, Stephen Whitelam, 'Peptoid Nanosheets Exhibit a New Secondary-Structure Motif', *Nature*, **2015**, *526*, 415–20
116. Carsten Baldauf, Robert Günther, Hans Jörg Hofmann, 'Helices in Peptoids of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Peptides', *Phys. Biol.*, **2006**, *3*, S1-9
117. Emiliana De Santis, Thomas Hjelmgaard, Cécile Caumes, Sophie Faure, Bruce D. Alexander, Simon J. Holder, Giuliano Siligardi, Claude Taillefumier, Alison A. Edwards, 'Effect of Capping Groups at the N- and C-Termini on the Conformational Preference of  $\alpha$ , $\beta$ -Peptoids', *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, *10*, 1108–22

118. Jonas S. Laursen, Pernille Harris, Peter Fristrup, Christian A. Olsen, 'Triangular Prism-Shaped  $\beta$ -Peptoid Helices as Unique Biomimetic Scaffolds', *Nat. Commun.*, **2015**, *6*, 1–10
119. Isabelle Wellhöfer, Karla Frydenvang, Simona Kotesova, Andreas M. Christiansen, Jonas S. Laursen, Christian A. Olsen, 'Functionalized Helical  $\beta$ -Peptoids', *J. Org. Chem.*, **2019**, *84*, 3762–79
120. Cécile Caumes, Carlos Fernandes, Olivier Roy, Thomas Hjelmgaard, Emmanuel Wenger, Claude Didierjean, Claude Taillefumier, Sophie Faure, 'Cyclic  $\alpha,\beta$ -Tetrapeptoids: Sequence-Dependent Cyclization and Conformational Preference', *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 3626–29
121. Brindaban C. Ranu, Subhash Banerjee, 'Significant Rate Acceleration of the Aza-Michael Reaction in Water', *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 141–43
122. Louis A. Carpino, '1-Hydroxy-7-Azabenzotriazole. An Efficient Peptide Coupling Additive', *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4397–98
123. Carolyn M. Davern, Brandon D. Lowe, Adam Rosfi, Elon A. Ison, Caroline Proulx, 'Submonomer Synthesis of Peptoids Containing Trans -Inducing N -Imino- and N -Alkylamino-Glycines ', *Chem. Sci.*, **2021**, *12*, 8401–10
124. Nian Huang, Rohit Kolhatkar, Yvonne Eyobo, Leonardo Sorci, Irina Rodionova, Andrei L. Osterman, Alexander D. MacKerell, Hong Zhang, 'Complexes of Bacterial Nicotinate Mononucleotide Adenylyltransferase with Inhibitors: Implication for Structure-Based Drug Design and Improvement', *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 5229–39
125. Ramon Subirós-Funosas, Rafei Prohens, Rafael Barbas, Ayman El-Faham, Fernando Albericio, 'Oxyma: An Efficient Additive for Peptide Synthesis to Replace the Benzotriazole-Based HOBt and HOAt with a Lower Risk of Explosion', *Chem. – A Eur. J.*, **2009**, *15*, 9394–9403
126. Chang Won Kang, Sujeewa Ranatunga, Matthew P. Sarnowski, Juan R. Del Valle, 'Solid-Phase Synthesis of Tetrahydropyridazinedione-Constrained Peptides', *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 5434–37
127. Eliezer Falb, Tamar Yechezkel, Yoseph Salitra, Chaim Gilon, 'In Situ Generation of Fmoc-Amino Acid Chlorides Using Bis-(Trichloromethyl)Carbonate and Its Utilization for Difficult Couplings in Solid-Phase Peptide Synthesis', *J. Pept. Res.*, **1999**, *53*, 507–17
128. Bernd Thern, Joachim Rudolph, Günther Jung, 'Triphosgene as Highly Efficient Reagent for the Solid-Phase Coupling of N-Alkylated Amino Acids—Total Synthesis of Cyclosporin O', *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 5013–16
129. Fa Liu, Andrew G. Stephen, Catherine S. Adamson, Karine Gousset, M. Javad Aman, Eric O. Freed, Robert J. Fisher, Terrence R. Burke, 'Hydrazone- and Hydrazide-Containing N-Substituted Glycines as Peptoid Surrogates for Expedited Library Synthesis: Application to the Preparation of Tsg101-Directed HIV-1 Budding Antagonists', *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 5165–68
130. Jumpei Morimoto, Yasuhiro Fukuda, Daisuke Kuroda, Takumu Watanabe, Fumihiko Yoshida, Mizue Asada, Toshikazu Nakamura, Akinobu Senoo, Satoru Nagatoishi, Kouhei Tsumoto, Shinsuke Sando, 'A Peptoid with Extended Shape in Water', *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, *141*, 14612–23

131. Edward Bald, Kazuhiko Saigo, Teruaki Mukaiyama, 'A Facile Synthesis Of Carboxamides By Using 1-Methyl-2-Halopyridinium Iodides As Coupling Reagents', *Chem. Lett.*, **1975**, 1163–66
132. Teruaki Mukaiyama, Yukiko Aikawa, Susumu Kobayashi, 'Betaine As An Effective Acid Captor: A Convenient Method For The Synthesis Of Carboxamides', *Chem. Lett.*, **1976**, 57–60
133. Geoffrey Dumonteil, Nicholus Bhattacharjee, Gaetano Angelici, Olivier Roy, Sophie Faure, Laurent Jouffret, Franck Jolibois, Lionel Perrin, Claude Taillefumier, 'Exploring the Conformation of Mixed Cis–Trans  $\alpha,\beta$ -Oligopeptoids: A Joint Experimental and Computational Study', *J. Org. Chem.*, **2018**, 83, 6382–96
134. Masato Matsugi, Misaki Suganuma, Shoko Yoshida, Shohei Hasebe, Yoko Kunda, Kotaro Hagihara, Sayaka Oka, 'An Alternative and Facile Purification Procedure of Amidation and Esterification Reactions Using a Medium Fluorous Mukaiyama Reagent', *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 6573–74
135. Johnny N. Naoum, Israel Alshanski, Agata Gitlin-Domagalska, Moshe Bentolila, Chaim Gilon, Mattan Hurevich, 'Diffusion-Enhanced Amide Bond Formation on a Solid Support', *Org. Process Res. Dev.*, **2019**, 23, 2733–39
136. Pugh KC, York EJ, Stewart JM, 'Effects of Resin Swelling and Substitution on Solid Phase Synthesis', *Int. J. Pept. Protein Res.*, **1992**, 40, 208–13
137. Gerhard Höfle, Wolfgang Steglich, Helmut Vorbrüggen, '4-Dialkylaminopyridines as Highly Active Acylation Catalysts.', *Angew. Chemie Int. Ed. English*, **1978**, 17, 569–83
138. Tomasz Cierpicki, Jacek Otlewski, 'Amide Proton Temperature Coefficients as Hydrogen Bond Indicators in Proteins', *J. Biomol. NMR*, **2001**, 21, 249–61
139. Valeria Castelletto, Ann M. Chippindale, Ian W. Hamley, Sarah Barnett, Abshar Hasan, King Hang Aaron Lau, 'Crystallization and Lamellar Nanosheet Formation of an Aromatic Dipeptoid', *Chem. Commun.*, **2019**, 55, 5867–69
140. Ki Tae Nam, Sarah A. Shelby, Philip H. Choi, Amanda B. Marciel, Ritchie Chen, Li Tan, Tammy K. Chu, Ryan A. Mesch, Byoung Chul Lee, Michael D. Connolly, Christian Kisielowski, Ronald N. Zuckermann, 'Free-Floating Ultrathin Two-Dimensional Crystals from Sequence-Specific Peptoid Polymers', *Nat. Mater.*, **2010**, 9, 454–60
141. Maria Fatima Pinto, Nicolas Brosse, Brigitte Jamart-Grégoire, 'Use of N-Acyl or N-Alkyloxycarbonyl-Aminotetrachlorophthalimides for the Preparation of Alkylhydrazines via the Mitsunobu Protocol', *Synth. Commun.*, **2002**, 32, 3603–10
142. Maxime Pypec, Laurent Jouffret, Claude Taillefumier, Olivier Roy, 'First Series of N-Alkylamino Peptoid Homooligomers: Solution Phase Synthesis and Conformational Investigation', *Beilstein J. Org. Chem.*, **2022**, 18, 845-854
143. Institut National du Cancer, *Les Traitements Du Cancer Du Côlon*, **2010**
144. Kelley M. Kidwell, Greg Yothers, Patricia A. Ganz, Stephanie R. Land, Clifford Y. Ko, Reena S. Cecchini, Jacek A. Kopec, Norman Wolmark, 'Long-Term Neurotoxicity Effects of Oxaliplatin Added to Fluorouracil and Leucovorin as Adjuvant Therapy for Colon Cancer: Results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Trials C-07 and LTS-01.', *Cancer*, **2012**, 118, 5614–22
145. George P Kim, Charles Erlichman, 'Oxaliplatin in the Treatment of Colorectal Cancer', *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, **2007**, 3, 281–94

146. David Bai, 'Guidelines Consider Use of Targeted Therapies in Colorectal Cancer', *Target. Ther. Oncol.*, **2017**, 6
147. Riccardo Ricotta, Giulio Cerea, Ilaria Schiavetto, Maria Rosaria Maugeri, Paolo Pedrazzoli, Salvatore Siena, 'Pegfilgrastim: Current and Future Perspectives in the Treatment of Chemotherapy-Induced Neutropenia', *Futur. Oncol.*, **2006**, 2, 667–76
148. Kelly A. Aromolaran, Peter A. Goldstein, 'Ion Channels and Neuronal Hyperexcitability in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Cause and Effect?', *Mol. Pain*, **2017**, 13
149. Lara Maria Pasetto, Mario Rosario D'Andrea, Elena Rossi, Silvio Monfardini, 'Oxaliplatin-Related Neurotoxicity: How and Why?', *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2006**, 59, 159–68
150. Robert J Cersosimo, 'Oxaliplatin-Associated Neuropathy: A Review', *Ann. Pharmacother.*, **2005**, 39, 128–35
151. Andrea A. Argyriou, Roser Velasco, Chiara Briani, G. Cavaletti, J. Bruna, P. Alberti, M. Cacciavillani, S. Lonardi, C. Santos, D. Cortinovis, M. Cazzaniga, H. P. Kalofonos, 'Peripheral Neurotoxicity of Oxaliplatin in Combination with 5-Fluorouracil (FOLFOX) or Capecitabine (XELOX): A Prospective Evaluation of 150 Colorectal Cancer Patients', *Ann. Oncol.*, **2012**, 23, 3116–22
152. Gregory D Leonard, Maurice A Wright, Mary G Quinn, Suzanne Fioravanti, Nancy Harold, Barbara Schuler, Rebecca R Thomas, Jean L Grem, 'Survey of Oxaliplatin-Associated Neurotoxicity Using an Interview-Based Questionnaire in Patients with Metastatic Colorectal Cancer.', *BMC Cancer*, **2005**, 5, 116
153. Cindy Tofthagen, 'Surviving Chemotherapy for Colon Cancer and Living with the Consequences', *J. Palliat. Med.*, **2010**, 13, 1389–91
154. République Française, Institut National du Cancer, 'Plan Cancer 2014-2019', *Gouvernement*, **2010**, 1–8
155. République Française, 'Stratégie Décennale de Lutte Contre Les Cancers 2021-2030 - Stratégie de Lutte Contre Les Cancers En France', **2021**, 1–128
156. Juliette Descoeur, Vanessa Pereira, Anne Pizzoccaro, Amaury Francois, Bing Ling, Violette Maffre, Brigitte Couette, Jérôme Busserolles, Christine Courteix, Jacques Noel, Michel Lazdunski, Alain Eschalier, Nicolas Authier, Emmanuel Bourinet, 'Oxaliplatin-Induced Cold Hypersensitivity Is Due to Remodelling of Ion Channel Expression in Nociceptors', *EMBO Mol. Med.*, **2011**, 3, 266–78
157. Martin Biel, Angela Schneider, Christian Wahl, 'Cardiac HCN Channels: Structure, Function, and Modulation', *Trends Cardiovasc. Med.*, **2002**, 12, 206–13
158. Gareth T. Young, Edward C. Emery, Elizabeth R. Mooney, Christoforos Tsantoulas, Peter A. McNaughton, 'Inflammatory and Neuropathic Pain Are Rapidly Suppressed by Peripheral Block of Hyperpolarisation-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Ion Channels', *Pain*, **2014**, 155, 1708–19
159. Sven Moosmang, Juliane Stieber, Xiangang Zong, Martin Biel, Franz Hofmann, Andreas Ludwig, 'Cellular Expression and Functional Characterization of Four Hyperpolarization-Activated Pacemaker Channels in Cardiac and Neuronal Tissues', *Eur. J. Biochem.*, **2001**, 268, 1646–52

160. Edward C. Emery, Gareth T. Young, Esther M. Berrocoso, Lubin Chen, Peter A. McNaughton, 'HCN2 Ion Channels Play a Central Role in Inflammatory and Neuropathic Pain', *Science*, **2011**, 333, 1462–66
161. U Benjamin Kaupp, Reinhard Seifert, 'Molecular Diversity of Pacemaker Ion Channels', *Annu. Rev. Physiol.*, **2001**, 63, 235–57
162. Brian J. Wainger, Matthew DeGennaro, Bina Santoro, Steven A. Siegelbaum, Gareth R. Tibbs, 'Molecular Mechanism of cAMP Modulation of HCN Pacemaker Channels', *Nature*, **2001**, 411, 805–10
163. Jing Wang, Shan Chen, Steven A. Siegelbaum, 'Regulation of Hyperpolarization-Activated HCN Channel Gating and cAMP Modulation Due to Interactions of COOH Terminus and Core Transmembrane Regions.', *J. Gen. Physiol.*, **2001**, 118, 237–50
164. Chia-Hsueh Lee, Roderick MacKinnon, 'Structures of the Human HCN1 Hyperpolarization-Activated Channel.', *Cell*, **2017**, 168, 111–120
165. Yu-Qiu Jiang, Qian Sun, Hui-Yin Tu, You Wan, 'Characteristics of HCN Channels and Their Participation in Neuropathic Pain', *Neurochem. Res.*, **2008**, 33, 1979–89
166. Aliakmal Momin, Hervé Cadiou, Adrian Mason, Peter A. Mcnaughton, 'Role of the Hyperpolarization-Activated Current Ih in Somatosensory Neurons', *J. Physiol.*, **2008**, 586, 5911–29
167. Bina Santoro, Brian J. Wainger, Steven A. Siegelbaum, 'Regulation of HCN Channel Surface Expression by a Novel C-Terminal Protein-Protein Interaction', *J. Neurosci.*, **2004**, 24, 10750–62
168. Alan S. Lewis, Sachin P. Vaidya, Cory A. Blaiss, Zhiqiang Liu, Travis R. Stoub, Darrin H. Brager, Xiangdong Chen, Roland A. Bender, Chad M. Estep, Andrey B. Popov, Catherine E. Kang, Paul P. van Veldhoven, Douglas A. Bayliss, Daniel A. Nicholson, Craig M. Powell, Daniel Johnston, Dane M. Chetkovich, 'Deletion of the Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channel Auxiliary Subunit TRIP8b Impairs Hippocampal Ih Localization and Function and Promotes Antidepressant Behavior in Mice', *J. Neurosci.*, **2011**, 31, 7424–40
169. Robert J. Heuermann, Thomas C. Jaramillo, Shui Wang Ying, Benjamin A. Suter, Kyle A. Lyman, Ye Han, Alan S. Lewis, Thomas G. Hampton, Gordon M.G. Shepherd, Peter A. Goldstein, Dane M. Chetkovich, 'Reduction of Thalamic and Cortical Ih by Deletion of TRIP8b Produces a Mouse Model of Human Absence Epilepsy', *Neurobiol. Dis.*, **2016**, 85, 81–92
170. Kyle A Lyman, Ye Han, Dane M Chetkovich, 'Animal Models Suggest the TRIP8b-HCN Interaction Is a Therapeutic Target for Major Depressive Disorder.', *Expert Opin. Ther. Targets*, **2017**, 21, 235–37
171. Christopher A. Reid, A. Marie Phillips, Steven Petrou, 'HCN Channelopathies: Pathophysiology in Genetic Epilepsy and Therapeutic Implications', *Br. J. Pharmacol.*, Wiley-Blackwell, **2012**, 49–56
172. John R. Bankston, Stacey S. Camp, Frank DiMaio, Alan S. Lewis, Dane M. Chetkovich, William N. Zagotta, 'Structure and Stoichiometry of an Accessory Subunit TRIP8b Interaction with Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channels', *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2012**, 109, 7899–7904

173. Ye Han, Yoav Noam, Alan S. Lewis, Johnie J. Gallagher, Wytse J. Wadman, Tallie Z. Baram, Dane M. Chetkovich, 'Trafficking and Gating of Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channels Are Regulated by Interaction with Tetratricopeptide Repeat-Containing Rab8b-Interacting Protein (TRIP8b) and Cyclic AMP at Distinct Sites', *J. Biol. Chem.*, **2011**, 286, 20823
174. Kimberley B. Craven, William N. Zagotta, 'CNG and HCN Channels: Two Peas, One Pod', *Annu. Rev. Physiol.*, *Annu Rev Physiol*, **2006**, 375–401
175. Ye Han, Kyle Lyman, Matt Clutter, Gary E. Schiltz, Quratul-Ain Ismail, Diego Bleifuss Prados, Chi-Hao Luan, Dane M. Chetkovich, 'Identification of Small-Molecule Inhibitors of Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channels', *J. Biomol. Screen.*, **2015**, 20, 1124–31
176. Ravi Varala, Nuvula Sreelatha, Srinivas R. Adapa, 'Ceric Ammonium Nitrate Catalyzed Aza-Michael Addition of Aliphatic Amines to  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Carbonyl Compounds and Nitriles in Water', *Synlett*, **2006**, 2006, 1549–53
177. Müller K, Faeh C, Diederich F, 'Fluorine in Pharmaceuticals: Looking beyond Intuition', *Science*, **2007**, 317, 1881–86
178. William K. Hagmann, 'The Many Roles for Fluorine in Medicinal Chemistry', *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 4359–69
179. Poonam Shah, Andrew D. Westwell, 'The Role of Fluorine in Medicinal Chemistry', *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2008**, 22, 527–40
180. Pei Sze Ng, Brian M. Laing, Ganesan Balasundaram, Maneesh Pingle, Alan Friedman, Donald E. Bergstrom, 'Synthesis and Evaluation of New Spacers for Use as DsDNA End-Caps', *Bioconjug. Chem.*, **2010**, 21, 1545–53
181. P. C. Prabhakaran, Steven J. Gould, Gary R. Orr, James K. Coward, 'Synthesis of Chirally Deuteriated Phthalimidopropanols and Evaluation of Their Absolute Stereochemistry', *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 5779–84









## ***Résumé***

Les peptoïdes, également appelés oligomères de glycines *N*-substituées ; sont une famille de foldamères dont la structuration tridimensionnelle repose sur la géométrie *cis/trans* des liaisons amides tertiaires composant le squelette. Le contrôle de cet isomérisme *cis/trans* et donc du mode de repliement des chaînes peptoïdes dépend principalement des chaînes latérales présentes sur le squelette, permettant ainsi l'obtention de structures tridimensionnelles ordonnées et conformationnellement stables. Dans ce contexte, mon travail a tout d'abord consisté à continuer les travaux réalisés au sein de notre équipe en réalisant l'étude conformationnelle de  $\beta$ -peptoïdes comportant la chaîne latérale (*S*)-1-*tert*-butyléthyle (*sItbe*). Dans un second temps, nous nous sommes intéressés au développement et l'étude conformationnelle de la chaîne méthylamino (*NMe*), permettant d'obtenir des  $\alpha$ -peptoïdes dont les fonctions amides sont préférentiellement en conformation *trans*. Enfin, dans un dernier chapitre, nous nous sommes intéressés à l'utilisation des peptoïdes comme peptidomimétiques avec le développement de composés capables d'inhiber l'interaction entre la protéine canal HCN et sa protéine partenaire TRIP8b, impliquée dans le déclenchement de douleurs neuropathiques périphériques chimio-induites.

**Mots clés**: Foldamères, peptoïdes, amides *trans*, peptidomimétiques, interaction protéine-protéine.

## ***Abstract***

Peptoids, also known as *N*-substituted glycine oligomers, are a family of foldamers whose three-dimensional structuring is based on the *cis/trans* geometry of the tertiary amide linkages on the backbone. The control of this *cis/trans* isomerism and thus of the folding mode of the peptoid chains depends mainly on the side chains present on the backbone, thus leading to ordered and conformationally stable three-dimensional structures. In this context, my work first consisted in continuing the work done within our team by carrying out the conformational study of  $\beta$ -peptoids using the (*S*)-1-*tert*-butylethyl side chain (*sItbe*). In a second time, we were interested in the development and conformational study of the methylamino (*NMe*) side chain, allowing us to obtain  $\alpha$ -peptoids whose amide functions are preferentially in the *trans* conformation. Finally, in a last chapter, we focused on the use of peptoids as peptidomimetics with the development of compounds capable of inhibiting the interaction between the HCN channel protein and its partner protein TRIP8b, involved in the triggering of chemo-induced peripheral neuropathic pain.

**Keywords**: Foldamers, peptoids, *trans*-amides, peptidomimetics, protein-protein interaction.