



HAL
open science

Synthèse supportée d'hétérocycles en milieux éco-compatibles : étude des conditions par lots et en flux continu. Purification par ultrafiltration en phase aqueuse

Nicolo Prosa

► **To cite this version:**

Nicolo Prosa. Synthèse supportée d'hétérocycles en milieux éco-compatibles : étude des conditions par lots et en flux continu. Purification par ultrafiltration en phase aqueuse. Autre. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT : 2011PA112139 . tel-00664999

HAL Id: tel-00664999

<https://theses.hal.science/tel-00664999>

Submitted on 1 Feb 2012

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.

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS SUD 11

Spécialité : **Chimie Organique**

Présentée par : **Nicolò Prosa**

Pour obtenir le grade de :

Docteur en Sciences de l'Université Paris-Sud 11

Synthèse supportée d'hétérocycles en milieux éco-compatibles : Etude des conditions par lots et en flux continu. Purification par ultrafiltration en phase aqueuse

Soutenance le 27 Septembre 2011, devant la commission d'examen :

Dr. Frédéric Lamaty

Université Montpellier 2

Pr. Nadège Lubin Germain

Université de Cergy-Pontoise

Pr. Denis Merlet

Université Paris-Sud

Dr. Veronique Michelet

Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris

Pr. Marie-Christine Scherrmann

Université Paris-Sud

Remerciements

Je voudrais commencer en remerciant le Prof. Marie-Christine Scherrmann pour m'avoir encadré pendant ces années de thèse, depuis mon arrivé en France (quand je ne parlais pas français) jusqu'à la fin, même si parfois c'était un peu compliqué, nous avons réussi à bien nous comprendre afin de réaliser ce travail. Et merci aussi pour toutes les corrections de ce manuscrit que vous avez fait avec beaucoup de patience.

Je remercie le Prof. Cyrille Kouklovsky de m'avoir accueilli dans son équipe du Laboratoire de Chimie des Procédés et Substances Naturelles de l'ICMMO, et d'avoir toujours été très gentil et disponible à donner des conseils.

Je remercie le Dr. Veronique Michelet, le Dr. Frédéric Lamaty, le Pr. Nadège Lubin-Germain et le Pr. Denis Merlet d'avoir aimablement accepté de juger mon travail.

Je remercie le Dr. Gianfranco Fontana pour m'avoir permis de connaître Marie-Christine afin de pouvoir réaliser ma thèse avec elle.

Je remercie également Riccardo pour tout son aide, surtout au début quand je ne parlais pas français, pour la recherche d'un appartement et pour faire tous les papiers pour l'inscription (c'était long et difficile), mais aussi pour avoir travaillé à côté de moi pendant ces trois années et pour m'avoir expliqué beaucoup de chimie. Grazie davvero.

Je remercie le Dr. Jonathan Farjon pour les expériences réalisées en RMN, pour sa patience et pour le temps qu'il m'a consacré.

Ensuite j'aimerais remercier tous les "anciens" et les nouveaux du laboratoire pour l'ambiance dans laquelle vous m'avez permis de travailler (et vivre) pendant ces années à Orsay, vu que pour moi c'était très difficile de m'adapter à l'absence de la mer et au climat parisien. Donc merci à Raphael, Francelin, Fabien, Pierre (Porto), Gilles, Didier, Alice, Thoa, Freddy, Morgan, Sophie, Valérie, Guillaume, Isabelle, Matthieu Branca, Jean-Pierre Férézou, Nejk (mon stagiaire), Annie, Alain, Dominique. Et les personnes de l'Institut avec qui j'ai passé des très beaux moments Aurèlie Baron, Aurèlie Lemetais, Matthieu, Audrey, Angie, Nathalie, Florian, Valérie Declerck, Jean-Pierre Baltaze, Amandine, Yannick, Delphine, Tania.

En particulier je remercie Myriam, non seulement pour les soirées et les pots mais aussi pour avoir corrigé toute ma thèse. MERCI !

Merci à tous pour m'avoir aidé et soutenu pendant ces années chacun à sa façon....

Un grazie ai miei genitori per avermi aiutato e sostenuto anche nei momenti difficili durante questi anni...

1	INTRODUCTION	5
1.1	LA SYNTHÈSE EN PHASE AQUEUSE	10
1.2	LA SYNTHÈSE SUPPORTÉE	15
1.2.1	<i>Synthèse sur support soluble</i>	17
1.2.2	<i>Méthodes de purification du polymère</i>	18
1.2.3	<i>Les supports solubles</i>	18
1.2.4	<i>Le polyéthylène glycol</i>	18
1.2.5	<i>Les PEGs : supports solubles pour la synthèse</i>	22
1.2.6	<i>Synthèse supportée sur PEG de polypeptides</i>	23
1.2.7	<i>Synthèse supportée sur PEG d'oligonucléotides</i>	23
1.2.8	<i>Synthèse supportée sur PEG d'oligosaccharides</i>	24
1.2.9	<i>Synthèse supportée sur PEG de petites molécules</i>	27
1.2.10	<i>Méthodes d'analyse des adduits supportés sur PEG</i>	31
1.3	L'OBJECTIF DU TRAVAIL	34
1.4	L'ULTRAFILTRATION	35
1.5	MICROREACTEURS ET FLUX CONTINU	39
2	RESULTATS ET DISCUSSION	47
2.1	LE LIEN ET L'ESTERIFICATION DU PEG	49
2.2	REACTION DE BIGINELLI	56
2.2.1	<i>La réaction de Biginelli dans l'eau</i>	63
2.2.2	<i>Réaction de Biginelli en flux continu</i>	65
2.3	REACTION DE BAYLIS-HILLMAN ET APPLICATIONS ENVISAGÉES	67
2.3.1	<i>La réaction de Baylis-Hillman en flux continu</i>	71
2.3.2	<i>L'adduit de BH pour la synthèse d'hétérocycles</i>	76
2.4	LA SYNTHÈSE DES TÉTRAZOLES	78
2.4.1	<i>La réduction de l'adduit de BH</i>	80
2.4.2	<i>La formation du tétrazole</i>	82
2.4.3	<i>La formation du tétrazole en flux continu</i>	84
2.4.4	<i>La fonctionnalisation de 16</i>	85
2.4.5	<i>Etude RMN de l'adduit 20a</i>	86
2.4.6	<i>La synthèse des analogues</i>	90
2.5	LA SYNTHÈSE DE 1,4 OXAZEPIN-3-ONES	92
2.5.1	<i>L'acétylation de l'adduit de BH</i>	94
2.5.2	<i>La réaction de Tsuji-Trost</i>	97
2.5.3	<i>La cyclisation de l'adduit 22</i>	100
2.6	LA SYNTHÈSE DE TETRAHYDROPYRIMIDONES	102

2.6.1	<i>La formation de l'amide</i>	102
2.6.2	<i>Les réactions sur l'adduit 30 et la cyclisation</i>	104
2.7	LA SYNTHÈSE DES TETRAHYDRO-1,3-OXAZINES	107
2.7.1	<i>Etude RMN ¹H des tétrahydro-1,3-oxazines</i>	110
2.7.2	<i>L'optimisation en flux continu</i>	113
3	CONCLUSION GÉNÉRALE	117
4	PARTIE EXPÉRIMENTALE	121

1 Introduction

Bien que la chimie soit indispensable au développement des sociétés modernes, son image auprès de la majeure partie de la population est celle d'une industrie polluante et dangereuse. Depuis la prise de conscience des répercussions des activités économiques sur les systèmes naturels qui a conduit la première conférence mondiale sur l'environnement en juin 1972 à Stockholm, divers programmes de recherches visant à réduire la pollution ont été mis en place. En ce qui concerne la chimie, ce n'est qu'en 1991 que P. T. Anastas qui était alors le responsable de la Direction Générale de la Chimie Industrielle à l'Agence pour la Protection de l'Environnement des Etats-Unis, a énoncé le concept de « Green Chemistry ». L'objectif de la chimie verte, également nommée « chimie en faveur du développement durable » ou encore « chimie éco-compatible », est de prévenir la pollution en concevant des produits et procédés chimiques permettant de réduire ou d'éliminer à la source l'utilisation et la synthèse de substances dangereuses.¹ En 1998, Anastas et Warner² ont proposé 12 principes pour mettre en pratique cette chimie moderne :

1. Prévention : il vaut mieux limiter la production de déchets plutôt qu'investir dans leur élimination.
2. Economie d'atomes : les procédés chimiques doivent être conçus afin d'incorporer le maximum des atomes des produit de départ dans la molécule finale.
3. Synthèses chimiques moins nocives : les méthodes de synthèse doivent être conçues afin de créer et d'utiliser des substances non toxiques pour l'être humain et pour l'environnement.
4. Conception de produits chimiques plus sûrs : les produits chimiques doivent être conçus pour effectuer leur action principale en minimisant leur toxicité.
5. Solvants et auxiliaires plus sûrs : les auxiliaires doivent être éliminés si possible ou, si nécessaires pour la synthèse, ils doivent être inoffensifs.
6. Amélioration du rendement énergétique : la quantité d'énergie utilisée pendant le processus doit être minimisée.
7. Utilisation de matières premières renouvelables lorsque possible.

¹ P. T. Anastas, M. M. Kirchoff, *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 686.

² P. Anastas, J. Warner, *Green Chemistry : Teory and Practice*. Oxford University Press : New York, **1998**.

8. Réduction des dérivés : toutes les réactions non nécessaires (par exemple protection/déprotection) doivent être minimisées car chaque étape nécessite des réactifs supplémentaires et produit des déchets.
9. Catalyse : l'utilisation des catalyseurs, mieux si sélectifs, est préférée à l'utilisation de réactifs stœchiométriques.
10. Conception de substances non persistantes : les produits chimiques doivent être conçus pour se transformer en produits de dégradation inoffensifs après leur utilisation.
11. Analyse en temps réel pour la prévention de la pollution : la réalisation de méthodes d'analyse en temps réel de la production de déchets est nécessaire.
12. Chimie essentiellement sécuritaire afin de prévenir les accidents : les produits utilisés dans un processus et leur forme doivent être étudiés afin de limiter les rejets, les incendies les explosions et tous les accidents chimiques en général.

Cette approche a été complétée en 2003 par les 12 principes de la « Green Engineering »³ (Ingénierie verte) définie comme étant :

"La conception, la commercialisation, et l'utilisation de procédés et de produits, qui sont économiquement réalisables et qui minimisent d'une part la génération de pollution à la source et d'autre part les risques pour la santé humaine et l'environnement"

1. Le concepteur doit veiller à ce que toutes les matières, les énergies et les produits utilisés soient intrinsèquement les moins dangereux possible.
2. Il est préférable d'éviter la production de déchets à la source plutôt que de collecter et de traiter les déchets.
3. Les opérations de séparation et de purification doivent être conçues de façon à minimiser la consommation d'énergie et les quantités de matières utilisées.
4. Les procédés doivent être conçus de manière à obtenir la meilleure efficacité en termes de quantités de matières, d'énergie, d'espace et de temps.

³ P. T. Anastas, J. B. Zimmerman, *Environ. Sci. Technol.*, **2003**, 37, 94A.

5. Les procédés doivent être dimensionnés par les quantités à produire (*output pulled ou flux tiré*) et non par les quantités entrantes disponibles (*input pushed ou flux poussé*), tant pour ce qui concerne l'énergie que les matières.
6. Le choix du recyclage, de la réutilisation ou de la valorisation doit être basé sur la complexité et l'investissement.
7. Lors de la conception, la durabilité - et non la pérennité - doit être un objectif.
8. Une capacité superflue est à considérer comme défaut de conception lors de la conception d'un procédé (*le concept « une taille unique suffit pour tout » est à rejeter*).
9. La diversité des matières mises en œuvre dans les produits doit être réduite autant que faire se peut afin d'en faciliter la déconstruction et la valorisation.
10. La conception des procédés doit intégrer et interconnecter les flux d'énergie et de matières disponibles.
11. L'évaluation du cycle de vie d'un produit doit tenir compte de son devenir après utilisation (recyclage, réutilisation, biodégradabilité,...).
12. Les matières premières et les énergies doivent être renouvelables plutôt qu'épuisables (ex. énergie d'origine fossile).

L'application de tous ces principes de façon concomitante est très difficile et est un challenge pour les chimistes.

Parallèlement au développement de ces principes, des outils d'évaluation de l'efficacité des réactions ou des procédés ont été proposés. Celle-ci n'est plus mesurée seulement grâce au rendement chimique, mais prend en compte les quantités de produit obtenu, réactifs non utilisés et sous-produits formés.

L'économie d'atome (*atom economy*) AE introduite par Trost⁴ mesure le pourcentage d'incorporation (en masse) des atomes des produits de départ dans le produit final.

$$AE(\%) = \frac{M_{\text{produit}}}{\Sigma(M_{\text{réactifs}})} \times 100$$

⁴ B. M. Trost, *Science*, **1991**, 254, 1471.

Bien que cette valeur ne tienne pas compte des conditions réelles de mise en œuvre d'une réaction (solvants, excès de réactifs, traitement...), elle est très utile pour la conception de la stratégie de synthèse qui devrait se faire en choisissant des réactions dont l'économie d'atome est maximale.

Le facteur environnemental (E) défini par Sheldon⁵ est une mesure de la quantité des rejets lors de tout le procédé :

$$E = \frac{\text{Kg de déchets}}{\text{Kg de produit}}$$

Tout ce qui n'est pas recyclé dans le processus, comme réactifs en excès, solvants, catalyseurs, support de chromatographie... est pris en compte dans ce calcul.

D'autres qui considèrent aussi la toxicité des composés utilisés⁶ ont également été proposés mais sont moins utilisés car la toxicité des composés chimiques n'est pas toujours connue.

Augé⁷ a généralisé le calcul de ces métriques pour les différentes réactions organiques :

- Conditions stœchiométriques, solvants et catalyseurs recyclés.
- Conditions non-stœchiométriques, solvants et catalyseur recyclés
- Conditions non-stœchiométriques, solvants et catalyseur non recyclés.
- Conditions stœchiométriques, solvants et catalyseurs non recyclés.

1.1 La synthèse en phase aqueuse

Bien que la première synthèse organique qui consistait en la préparation de l'urée par chauffage d'une solution d'isocyanate d'ammonium ait été réalisée dans l'eau par Wöhler dès 1828, ce solvant a été évité pendant de nombreuses années et le chimiste organicien a travaillé dans des conditions anhydres. Les principales raisons sont que la plupart des molécules organiques sont faiblement solubles, voire insolubles, dans l'eau et de nombreux réactifs ne

⁵ R. A. Sheldon, *Chem Tech.*, **1994**, 24, 38.

⁶ (a) *Green Chemistry Metrics*, A. Lapkin (Ed), D. Constable (Ed), Wiley-Blackwell : Weinheim, **2008** ; (b) A. D. Curzons, D. J. C. Constable, D. N. Mortimer, V. L. Cunningham, *Green Chem.* **2001**, 3, 1 ; (c) M. Eissen, J. O. Metsger, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 3581.

⁷ (a) J. Augé, *Actual. Chim.*, **2007**, 314, 44. (b) J. Augé, *Green Chem.* **2008**, 10, 225.

sont pas stables en milieu aqueux. En 1980, Rideout et Breslow⁸ publièrent une étude montrant que la réaction de Diels-Alder était considérablement accélérée dans l'eau par rapport aux solvants organiques et également plus sélective en faveur de l'isomère *endo*. L'origine de cette accélération et de cette sélectivité accrue a été attribuée à l'effet hydrophobe, agrégation d'origine entropique de molécules apolaires, ou de parties apolaires d'une même molécule pour minimiser les interactions défavorables avec l'eau.⁹ De nombreux travaux impliquant l'effet hydrophobe ont été menés par la suite.¹⁰ La solubilité des substrats dans l'eau n'est pas toujours requise pour pouvoir mener les réactions dans ce solvant. Sharpless et son équipe¹¹ ont élaboré le concept de chimie "sur l'eau" (on water). Après avoir réalisé plusieurs expériences de cycloaddition dans différents solvants et, suite à une analyse des réactions réalisées dans l'eau publiées dans la littérature, ils sont arrivés à la conclusion que plusieurs effets permettent l'accélération de certaines réactions pour lesquelles l'eau est utilisée comme solvant.

L'effet hydrophobe joue un rôle important, mais autres effets dont la présence de liaisons hydrogène permet d'accélérer les réactions entre molécules insolubles. Cet effet a été rationalisé par Jung et Marcus.¹²

De nombreuses réactions peuvent ainsi être menées avantageusement sur l'eau.¹³

Après l'étude de Sharpless et les différentes autres terminologies utilisées pour décrire les réactions dans lesquelles l'eau était impliquée, Hayashi¹⁴ a proposé une différente façon de nommer ces réactions. Il a proposé d'appeler "réactions dans l'eau" (in water) les réactions dont les réactifs sont dissous de façon homogène dans l'eau, et réactions "en présence d'eau", celles dont les réactifs sont solubilisés dans un solvant organique et l'eau représente une deuxième phase ; donc les réactions "sur l'eau" de Sharpless font partie des réactions "en présence d'eau".

⁸ D. C. Rideout, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816.

⁹ (a) R. Breslow *Structure and reactivity in aqueous solution*, Ed. C. J. Cramer, D. G. Truhlar, American Chem. Soc., Washington DC, **1994** ; (b) R. Breslow *Organic reactions in water*, Ed. M. Lindstrom, Blackwell Oxford, **2007**.

¹⁰ (a) M.C. Scherrmann, S. Norsikian, A. Lubineau, *Advances in Organic Synthesis*, Vol. 1, Ed. Atta-ur-Rahman, Bentham Science Publishers, **2005**, 341-401 ; (b) M.C. Scherrmann, *Chimie dans l'eau*, Les techniques de l'Ingénieur, **2008**, K 1 210.

¹¹ S. Narayan, J. Muldoon, M. G. Finn, V. V. Fokin, H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3275.

¹² Y. Jung, R. A. Marcus, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5492.

¹³ A. Chanda, V. V. Fokin, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 725.

¹⁴ Y. Hayashi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8103.

Parallèlement à ces études théoriques pour expliquer les effets observés dans l'eau, diverses équipes ont utilisé ce solvant pour réaliser des synthèses à partir de substrats hydrophobes¹⁵ ou hydrophiles comme les sucres.¹⁶ Une méthode efficace permettant de préparer des C-glycosides en une seule étape a, en particulier, été développée à l'Institut (Schéma 1).¹⁷ Cette méthodologie a été utilisée par l'Oréal pour produire un composé anti-âge selon les principes de la chimie verte.¹⁸

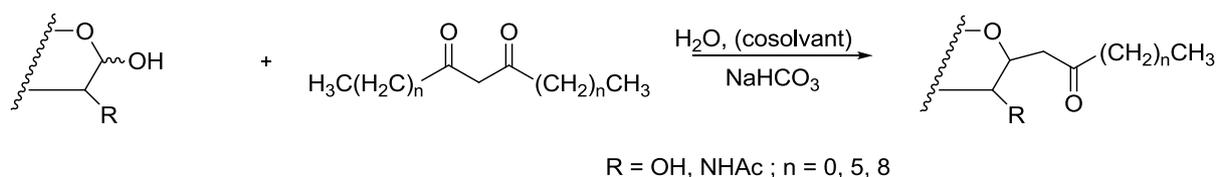


Schéma 1

Parmi les domaines de la chimie organique pour lesquels l'utilisation de l'eau a conduit à d'importants développements industriels, la chimie organométallique occupe une place prépondérante.¹⁹ L'utilisation de l'eau comme solvant des réactions catalysées par des métaux de transition, souvent dans des conditions biphasiques, permet de récupérer les produits plus facilement et de recycler les catalyseurs. Les réactions sont le plus souvent catalysées par des métaux chélatés par des ligands hydrosolubles portant des groupements ioniques, parmi lesquels la triphénylphosphine trisulfonée (tppts)²⁰ qui est certainement le plus utilisé. (Figure 1).

¹⁵ *Organic reactions in water*, Ed. M. Lindstrom, Blackwell Oxford, **2007**.

¹⁶ (a) M.C. Scherrmann, A. Lubineau, Y. Queneau. in *Handbook of Green Chemistry Series : Water as a Green Solvent*. (P. Anastas, C.-J. Li) Eds ; John Wiley & Sons, **2010**, 291 ; (b) M.C. Scherrmann, *Top. Curr. Chem.* **2010**, 295, 1.

¹⁷ (a) F. Rodrigues, Y. Canac, A. Lubineau, *Chem. Commun.* **2000**, 2049 ; (b) Y. Hersant, R. Abou-Jneid, Y. Canac, A. Lubineau, M. Philippe, D. Semeria, X. Radisson, M.-C. Scherrmann. *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 741 ; (c) N. Bagnier, M.-C Scherrmann. *Synthesis*, **2005**, 5, 814.

¹⁸ (a) A. Cavezza, C. Boule, A. Guéguinat, P. Pichaud, S. Trouille, L. Ricard, M. Dalko-Csiba, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 845 ; (b) M. Dalko, L. Breton (L'Oréal) *International patent* **2002**, WO 2002051828; (c) A. Cavezza, S. Trouille, P. Pichaud (L'Oréal) *European patent* **2005**, EP 1589010, 2005.

¹⁹ L. Leseurre, J. P. Genêt, V. Michelet "Coupling Reactions in Water" in *Handbook of Green Chemistry Series : Water as a Green Solvent*. (P. Anastas, C.-J. Li) Eds ; John Wiley & Sons, **2010**, 151.

²⁰ E. G. Kuntz (Rhône Poulenc), *French patent* **1975**, FR 2314910 ; Rhône Poulenc, *French patent* **1976**, FR 2349562 ; Rhône Poulenc, *French Patent* **1976**, FR 2366237.

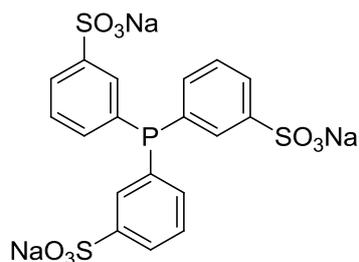


Figure 1

L'importance des réactions en milieu aqueux biphasique est illustrée par l'industrialisation de plusieurs procédés basés sur l'utilisation de la tpts dont on donnera deux exemples majeurs:²¹

- La télomérisation du butadiène avec l'eau dans un mélange eau/sulfolane conduisant majoritairement au 2,7-octadiène-3-ol selon le procédé Kuraray. Le site de production se situe au Japon et le tonnage annuel est d'environ 5 000 tonnes.

- L'hydroformylation du propylène en butanal et butènes en pentanal en milieu biphasique. Les sites de production se situent en Allemagne et en Corée. La production annuelle du procédé Ruhrchemie Rhône-Poulenc est de un million de tonnes.

Le facteur E du procédé Ruhrchemie Rhône-Poulenc biphasique a été estimé à 0,04, soit dix fois moins élevé que les autres procédés d'hydroformylation.²²

Comme nous venons de le voir, l'utilisation de l'eau comme solvant peut constituer une alternative intéressante dans le cadre de la chimie verte.²³ Les travaux de recherches menées dans ce domaine ont permis de montrer que de nombreuses réactions de la chimie de synthèse peuvent être menées dans ce solvant ce qui permet de limiter l'utilisation de solvants organiques sources de pollution. Leurs vapeurs contribuent à l'effet de serre et peuvent catalyser la destruction de la couche d'ozone ; de plus ils sont souvent toxiques pour l'homme, les animaux et les plantes et même si en principe tous les solvants peuvent être capturés et purifiés, en réalité une partie est toujours perdue dans l'environnement.²⁴

²¹ (a) J. B. Bozzel *Green Chemistry in Practice* in Handbook of green chemistry and technology, Blackwell Publishing, **2002** ; (b) F. Joó, A. Kathó, *Water as a Green Solvent for Bulk Chemicals* in Handbook of Green Chemistry Series : Water as a Green Solvent. (P. Anastas, C.-J. Li) Eds ; John Wiley & Sons, **2010**, 385-408.

²² B. Cornils, *Org. Proc. Res. Dev.*, **1998**, 2, 121.

²³ R. N. Butler, A. G. Coyne, *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 6302.

²⁴ R. Breslow, *The Principles of and Reason for Using Water as a Solvent for Green Chemistry* in Handbook of Green Chemistry Series : Water as a Green Solvent. (P. Anastas, C.-J. Li) Eds ; John Wiley & Sons, **2010**, 1-30.

Si l'eau, solvant très abondant, bon marché, non toxique et ininflammable, peut apparaître comme le solvant "vert" idéal pour réaliser des réactions, il convient de tenir compte de l'ensemble du procédé. Blackmond et al. ont ré-analysé ce concept dans le cadre des réactions organocatalysées.²⁵ Le traitement des réactions réalisées dans l'eau nécessite souvent une importante quantité de solvants organiques (extraction et purification), donc au final la réalisation d'une réaction dans les solvants organique est plus éco-compatible que celle réalisée dans l'eau.

Nous avons choisi d'utiliser l'eau comme solvant pour développer des synthèses éco-compatibles, mais afin d'éviter problèmes de solubilité des substrats ou problèmes de récupération des produits finaux, nous avons utilisé le PEG comme support soluble et il nous a permis de solubiliser toutes les molécules dans l'eau et de le récupérer facilement, grâce à une méthode qui emploie l'eau comme seul solvant : l'ultrafiltration, qui sera décrite en détail plus tard.

Nous nous intéressons également au développement de ces réactions en microréacteurs utilisés en flux continu afin de limiter la quantité d'intermédiaires pouvant être dangereux et d'avoir des meilleurs transferts d'énergie. Nous nous sommes intéressés à la possibilité de pouvoir coupler le flux continu à l'ultrafiltration, afin de pouvoir "automatiser" le processus et de pouvoir développer, en flux, une synthèse éco-compatible qui limite au maximum l'utilisation de solvants organiques pendant la réaction et également pendant la purification.

²⁵ D. G. Blackmond, A ; Armstrong, V. Coombe, A. Wells, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3798.

1.2 La synthèse supportée

La synthèse supportée a été développée pour la première fois en 1963 par Merrifield²⁶ pour la synthèse de peptides. Jusqu'à ce moment, toutes les synthèses de peptides étaient réalisées de manière classique avec des difficultés pour isoler les composés, notamment lorsque de larges excès de réactifs doivent être employés pour avoir une conversion totale. Lors de la première synthèse supportée, une résine solide de polystyrène/divinyl-benzène a été employée comme support. La résine a été fonctionnalisée par chloro-méthylation afin de pouvoir greffer le premier acide aminé, puis les couplages peptidiques ont successivement été réalisés et chaque intermédiaire a été isolé par filtration. A la fin de la synthèse, le peptide a été coupé du support par saponification en milieu basique et isolé.

La synthèse supportée présente de nombreux avantages. Elle permet de travailler avec un large excès de réactif, facilement éliminable en fin de réaction par filtration, et facilite la purification de chaque intermédiaire. En effet, la purification n'est plus effectuée par recristallisation mais par filtration, procédé beaucoup plus rapide. En utilisant la synthèse supportée, en 1969, Gutte et Merrifield²⁷ ont réussi à synthétiser la ribonucléase A pancréatique bovine, une enzyme constituée de 124 acide aminés. Grâce à ces travaux, Merrifield a été lauréat du Prix Nobel de chimie en 1984.

Suite aux travaux de Merrifield la synthèse supportée a été beaucoup étudiée. Ainsi, plusieurs équipes ont étudié et développé différentes résines et différents liens qui possèdent des propriétés différentes et qui peuvent être utilisés selon le type de synthèse envisagée.

Merrifield a étudié différentes résines dont la plus efficace est constituée de polystyrène / 2% divinylbenzène (aujourd'hui appelée résine de Merrifield). Cette résine solide permet une bonne pénétration des réactifs, alors qu'un taux différent de divinylbenzène la rend trop solide ou trop rigide. Cette résine ne gonfle pas en milieu aqueux et ne peut donc pas être utilisée pour la synthèse supportée dans l'eau. Virgilio et Ellman,²⁸ en 1994, ont développé un support constitué de PEG et polystyrène (Tentagel), qui gonfle bien dans l'eau et est donc utilisable comme support pour réaliser des réactions en milieu aqueux. Plusieurs types de résine ont

²⁶ R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149.

²⁷ B. Gutte, R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 501.

²⁸ A. A. Virgilio, J. A. Hellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 11580.

également été testés comme des copolymères polystyrène/divinylbenzène hautement branchés non gonflants, des polyéthylènes, la cellulose ou encore des polyacrylamides.

La synthèse supportée a été successivement appliquée à la préparation de différents types de molécules comme les oligonucleotides²⁹ et les oligosaccharides.³⁰ L'application sur les petites molécules a été décrite pour la première fois en 1978, par Leznoff.³¹ Cette méthode a aussi été employée pour la synthèse de benzodiazépines³² et pour la synthèse totale de produits naturels.³³

Ces polymères ont aussi été utilisés en catalyse hétérogène pour supporter les catalyseurs et permettre leur récupération et leur recyclage. Différents ligands de métaux ont été supportés afin de pouvoir réaliser des réactions de métathèse, de cycloaddition, de Suzuki,... Des oxydants et des réducteurs ont également été supportés.³⁴

Cette approche supportée souffre néanmoins de quelques limites. L'hétérogénéité du milieu rend les réactions beaucoup plus lentes. Ce problème avait déjà été remarqué par Merrifield dans son premier travail. Outre le problème de cinétique, il existe aussi un problème de suivi de la réaction car le support est insoluble dans le milieu réactionnel ce qui rend les analyses classiques difficilement applicables. Même si des méthodes d'analyse ont été développées, comme la RMN en phase gel,³⁵ il faut souvent couper le substrat du support pour analyser les produits greffés.

Afin d'éviter ces problèmes de la chimie supportée, un nouveau type de supports a été employé : les supports solubles. Ces supports sont le plus souvent linéaires et non branchés au contraire des supports solides et sont solubles dans certains solvants. Cette méthodologie permet d'éviter les difficultés rencontrées avec les supports solides tout en gardant ses avantages. Par rapport aux supports solides, la simple filtration du milieu réactionnel après la réaction n'est plus suffisante, il faut précipiter les supports puis filtrer la solution, ou utiliser des méthodes qui permettent de séparer les molécules en fonction de leur taille (dialyse, chromatographie d'exclusion,...).³⁶

²⁹ A. P. Guzaev, M. J. Manoharan, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2380.

³⁰ P. H. Seeberger, M. J. Manoharan, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4349.

³¹ C. C. Leznoff, *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11*, 327.

³² B. A. Bunin, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10997.

³³ J. P. Nandy, M. Prakesch, S. Khadem, P. T. Reddy, U. Sharma, P. Arya, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 1999.

³⁴ C. A. McNamara, M. J. Dixon, M. Brandley, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3275.

³⁵ G. C. Look, C. P. Holmes, J. P. Chinn, M. A. Gallop, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7588.

³⁶ K. E. Geckeler, *Adv. Polym. Sci.* **1995**, *121*, 31

1.2.1 Synthèse sur support soluble

Ce type de chimie a été beaucoup développé et étudié au cours des dernières années et a fait l'objet de plusieurs revues.³⁷

Dans la littérature, deux termes différents ont été utilisés pour ce type de stratégie de synthèse : « synthèse en phase liquide » et « synthèse sur support soluble ». Nous utiliserons le second car il est moins ambigu.

Le support pour ce type de synthèse doit avoir les caractéristiques suivantes :

- Etre commercial ou simple à synthétiser.
- Etre soluble dans le solvant choisi, afin de bien solubiliser les molécules branchées.
- Etre stable (chimiquement et mécaniquement) dans les conditions de synthèse utilisées.
- Avoir des groupements fonctionnels adaptés pour permettre un greffage simple des molécules.
- Permettre le développement d'une méthodologie de synthèse générale indépendante des propriétés physico-chimiques du produit final.

Souvent, les supports solubles sont des polymères ne possédant pas une masse bien définie et sont polydispersés, c'est-à-dire constitués de différentes chaînes de polymères de longueurs variables et de masses différentes. La polydispersité de ces composés peut être déterminée par différentes techniques dont la MALDI-TOF-MS. La polydispersité doit être contrôlée afin d'avoir une distribution de masses molaires limitée. La masse du support est un paramètre important car elle doit être assez élevée pour que le support soit à l'état solide à température ambiante mais pas trop élevée pour permettre une bonne solubilisation, et pour avoir une capacité de charge correcte. La capacité de charge est la quantité de sites d'accroche par gramme de polymère et est mesurée en millimoles par gramme.

Le polymère choisi pour la synthèse sur support soluble résulte d'un compromis entre la capacité de charge du polymère et sa capacité de solubilisation. Généralement, la capacité de solubilisation diminue si la capacité de charge augmente. Si une quantité élevée de molécules est branchée au polymère, les propriétés physico-chimiques du système polymère-molécules branchées sont plus proches de celles de la molécule supportée que de celles du support.

³⁷ (a) T. J. Dickerson, N. N. Reed, K. D. Janda, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3325 ; (b) D. J. Gravert, K. D. Janda, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 489 ; (c) P. J. Wentworth, K. D. Janda, *Chem. Commun.* **1999**, 1917.

1.2.2 Méthodes de purification du polymère

Afin de pouvoir séparer le polymère du reste des produits présents dans le milieu réactionnel, différentes méthodes de purification ont été développées. Ces méthodes exploitent les propriétés physico-chimiques du polymère qui sont différentes de celle de petites molécules. Souvent, la purification est faite par simple addition d'un solvant permettant la précipitation de la macromolécule qui est ensuite filtrée et séparée du reste des produits. Si de petites molécules ont précipité avec le polymère, une recristallisation peut être faite en utilisant des solvants différents afin d'éliminer les impuretés issues de la précipitation. D'autres méthodes sont connues pour permettre une purification du système polymère-molécule comme la dialyse,³⁸ l'ultrafiltration, la chromatographie d'exclusion stérique ou la centrifugation.³⁶

Toutes ces méthodes permettent d'isoler le polymère des impuretés solubles, mais pas d'éliminer les sous-produits liés au support ou de séparer le produit de départ du produit final. Il est donc nécessaire d'optimiser les conditions de réaction afin d'avoir une conversion complète et d'éviter la formation de sous-produits.

1.2.3 Les supports solubles

Les molécules utilisées en tant que supports solubles sont des polymères. Le plus utilisé est sûrement le polyéthylène glycol et ses dérivés, mais d'autres polymères ont également été employés pour la synthèse sur support soluble : l'alcool polyvinylique, l'oxyde de polyméthylène, la cellulose, la polyacrylamide, et autres.^{37(a)}

Pour notre étude, nous avons décidé d'utiliser le polyéthylène glycol (PEG) comme support car notre but est de réaliser des synthèses en phase aqueuse et le PEG est soluble dans ce solvant. Une description détaillée de ce polymère est proposée dans le paragraphe suivant.

1.2.4 Le polyéthylène glycol

Le polyéthylène glycol est un polyéther obtenu par polymérisation anionique de l'oxyde d'éthylène. Selon le type d'initiateur utilisé, des PEGs avec des substituants différents peuvent être obtenus. Les PEGs les plus utilisés comme supports pour la synthèse possèdent deux hydroxyles terminaux ou un hydroxyle et un éther méthylique (Figure 2), mais des

³⁸ J. K. Köster, *Tetrahedron Lett.* **1972**, 13, 1535.

méthodes de polymérisation différentes peuvent être étudiées afin d'obtenir d'autres types de substituants terminaux.³⁹

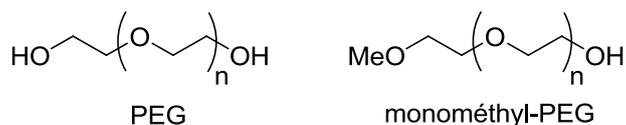


Figure 2

Des études sur la conformation du PEG ont été effectuées et il a été montré, grâce à la diffraction des rayons X, que le PEG cristallisé adopte une structure secondaire hélicoïdale, similaire à celle de certains polypeptides naturels.⁴⁰

La structure du PEG obtenue aux rayons X est représentée en Figure 3.

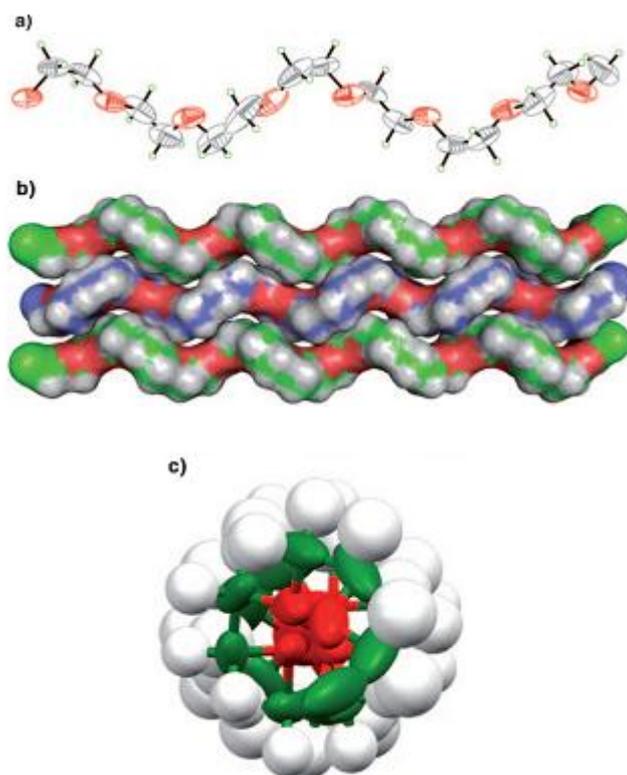


Figure 3 (extrait de la ref 40) Structure RX du PEG₁₆. a) hélice du PEG₁₆ ; O : rouge, C : gris, H : vert. b) trois chaînes de PEG anti-parallèles. c) vue ORTEP du PEG₁₆ montrant le cœur oxygéné entouré par les méthylènes.

Généralement, les polyéthylènes glycols ayant une masse inférieure à 20000 Da sont appelés PEGs, et ceux possédant une masse supérieure sont appelés PEO (polyéthylène oxyde). Normalement, seul les PEGs ayant une masse comprise entre 2000 Da et 20000 Da sont

³⁹ N. N. Reed, K. D. Janda, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5843 et références citées.

⁴⁰ A. C. French, A. L. Thompson, B. G. Davis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 1248.

utilisés comme support de synthèse. En effet, si la masse est inférieure à 2000 Da, le PEG a une température de fusion trop basse ou est liquide à température ambiante. Le point de fusion du PEG est proportionnel à son poids moléculaire aboutissant à un plateau vers 67 °C. (Figure 3).⁴¹

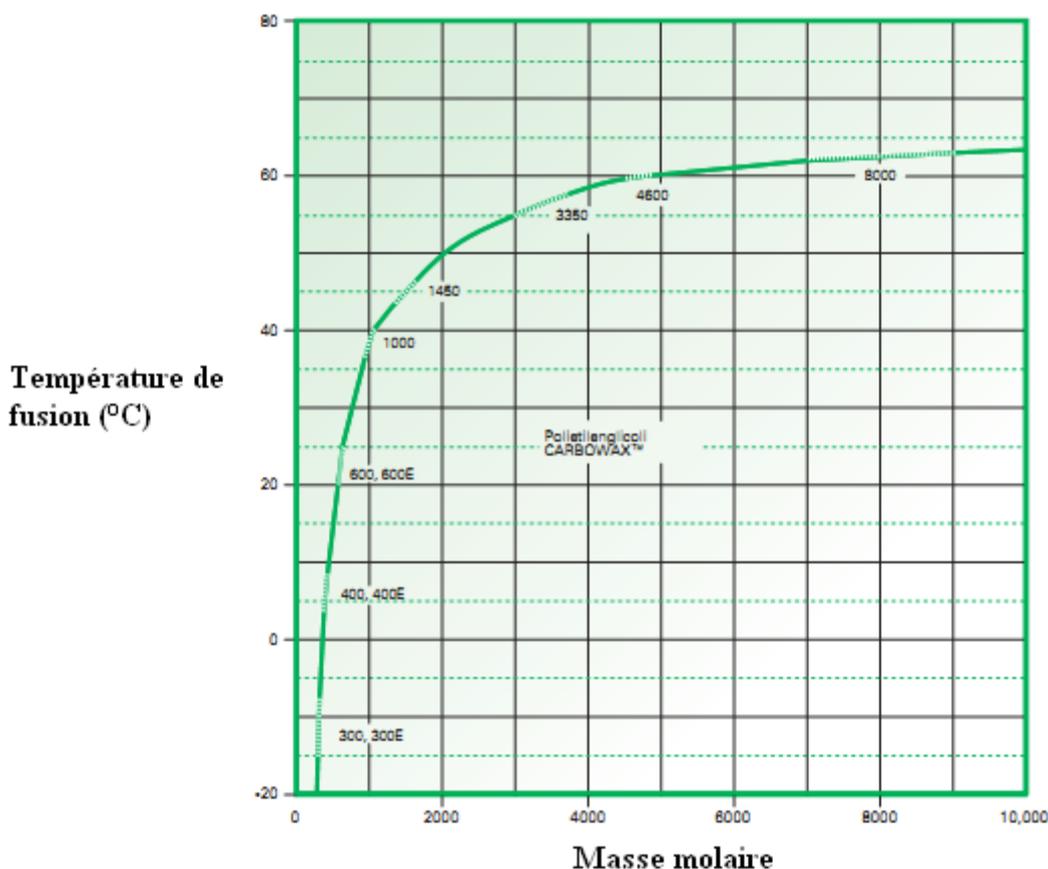


Figure 4 (extrait de la ref. 41)

Par contre, si la masse est supérieure à 20000 Da, la capacité de charge du support est trop basse. La capacité de charge d'un PEG₂₀₀₀ est de 1 mmol/g, tandis que celle d'un PEG₂₀₀₀₀ est de 0,1 mmol/g. Nous avons décidé d'utiliser le PEG₂₀₀₀ et le PEG₄₀₀₀ pour leur haute capacité de charge, le choix entre les deux sera analysé en détail plus tard. Pour développer nos synthèses, nous n'avons pas utilisé le monométhyl-PEG, mais le PEG-dihydroxyles car il a une capacité de charge double par rapport au premier.

Le PEG n'est pas toxique, et cette caractéristique est très importante dans le cadre de la chimie verte.

⁴¹http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_0072/0901b80380072091.pdf?filepath=polyglycols/pdfs/noreg/118-01705.pdf&fromPage=GetDoc

Le PEG est très soluble dans l'eau mais également dans le toluène, le dichlorométhane, la pyridine, le méthanol, l'acétone, l'acétonitrile et le benzène. Il n'est par contre pas soluble dans l'éther éthylique et dans l'isopropanol et c'est pourquoi ces solvants sont souvent utilisés pour induire sa précipitation. Le PEG n'est pas soluble dans l'eau à des températures supérieures à 80 °C, mais nous avons pu remarquer qu'il redevient soluble à des températures supérieures à 140 °C en tube scellé.

Etant soluble dans les solvants organiques et dans l'eau, lorsque l'on travaille dans un système biphasique il est présent dans les deux phases. Le partage n'a pas été étudié en détail, mais il est connu qu'il est en faveur du dichlorométhane dans un système H₂O/CH₂Cl₂, et en faveur de l'eau dans un système H₂O/benzène.⁴² Pour cette raison et afin d'isoler le PEG après une réaction dans l'eau, une extraction doit d'abord être réalisée avec du dichlorométhane suivi de la précipitation par l'éther éthylique ou l'isopropanol qui permet l'isolation du produit.

Une autre propriété du PEG est sa capacité à former des complexes avec les cations métalliques.⁴³ Il fonctionne probablement avec le même mécanisme que les éthers couronne. Ce mécanisme est dû au fait que le PEG, étant flexible, peut adopter une conformation qui lui permet de complexer le métal grâce aux doublets des oxygènes.⁴⁴ Par exemple, Xu et al. proposent une conformation possible d'un complexe de PEG avec le nickel.⁴⁵ (Figure 5).

⁴² J. Milton Harris, *POLY(ETHYLENE GLYCOL) CHEMISTRY Biotechnical and Biomedical Applications* Plenum Press New York and London, **1992**, (Chapitre 1).

⁴³ (a) F. E. Bailey, Jr and J. V. Kolesse, *Poly(Ethylene Oxide)*, Academic Press, New York **1976** ; (b) L. L. Chan, K. H. Wong, J. Smid *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 1955.

⁴⁴ J. C. Hogan, R. D. Gandour, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2865.

⁴⁵ F. Xu, X. Zang, C. Wu, W. Xi, J. Hong, X. Tian, *New J. of Chem.* **2003**, *27*, 1331.

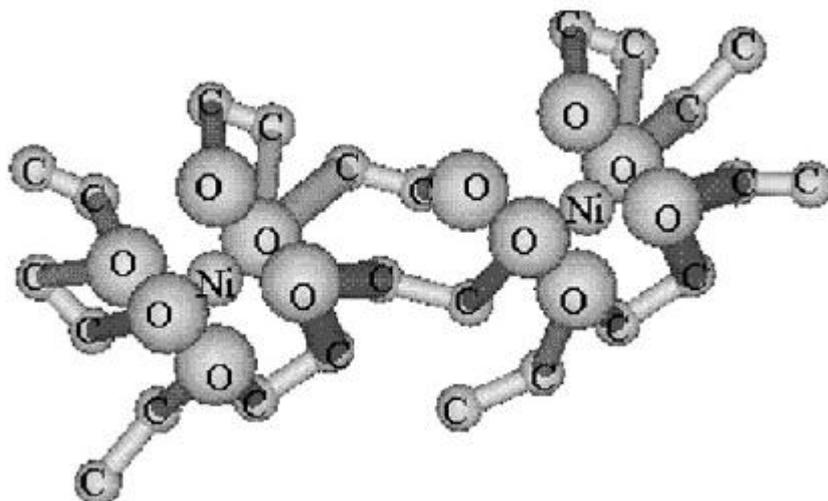


Figure 5 (extrait de la ref. 45)

Grâce à cette propriété, le PEG a été employé en chimie comme catalyseur de transfert de phase.⁴⁶ Dans cette application, le PEG permet le transfert d'un sel, d'une phase solide ou aqueuse vers la phase organique en complexant ou en coordonnant le cation métallique. L'anion correspondant suit le cation afin de maintenir la neutralité de charge. Différentes réactions ont été réalisées en utilisant le PEG comme catalyseur de transfert de phase : réactions de substitution, réactions d'oxydation, de réduction et la réaction de Williamson.

Le PEG a aussi été utilisé comme support de catalyseurs⁴⁷ et comme solvant de réaction.⁴⁸

L'objectif de notre travail, comme précédemment expliqué, est la synthèse sur support soluble de différents hétérocycles dans l'eau afin d'éliminer les solvants organiques utilisés pendant la synthèse et la purification. Le choix du PEG a été fait, non seulement parce que il est bien soluble dans l'eau, mais aussi pour les autres caractéristiques précédemment citées.

1.2.5 Les PEGs : supports solubles pour la synthèse

Le PEG a été utilisé comme support, pour la première fois, en 1971 par l'équipe de Bayer⁴⁹ afin de synthétiser un pentapeptide. Dans ce travail employant le PEG₁₀₀₀₀, le premier acide aminé a été greffé via une réaction d'estérification avec l'hydroxyle du PEG par activation au DCC. Le rendement en couplage obtenu était supérieur à 99 % et les auteurs n'observent pas

⁴⁶ J. Chen, S. K. Spear, J. G. Huddleston, R. D. Rogers, *Green Chem.* **2005**, 7, 64.

⁴⁷ D. E. Bergbreiter, J. Tian, C. Hongfa, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 530.

⁴⁸ (a) E. Santaniello, A. Manzocchi, P. Sozzani, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 4581; (b) N. F. Leininger, J. L. Gainer, D. J. Kirwan, *AIChE J.* **2004**, 50, 511; (c) F. M. Kerton, *Alternative solvents for Green Chemistry* RSC Publishing, U. K. **2009** (Chap. 8, page 170-186).

⁴⁹ E. Bayer, M. Mütter, *Nature (London)* **1972**, 237, 512.

de racémisation. Dans ce cas, le système PEG-peptide a été isolé par ultrafiltration mais ces adduits ont été purifiés par précipitation/cristallisation car cette méthode est plus rapide et souvent plus efficace. La synthèse supportée sur PEG a ensuite été appliquée à la synthèse de peptides, d'oligonucléotides, d'oligosaccharides et de petites molécules.

1.2.6 Synthèse supportée sur PEG de polypeptides

Suite au travail de Bayer, plusieurs groupes se sont intéressés à la synthèse de peptides supportées sur PEG et des peptides de différentes tailles ont été synthétisés.⁵⁰ Des peptides ayant une importance biologique ont ainsi pu être obtenus comme la substance P,⁵¹ un segment de l'insuline⁵² et un segment de l'antibiotique alaméthicine.^{53,37(b)}

La différence principale entre la synthèse de peptide sur support solide et celle sur support soluble est la cinétique de réaction. En effet, la synthèse sur support soluble a une cinétique très similaire à celle de la synthèse classique en solution et ne dépend pas de la taille du PEG utilisé.⁵⁴

1.2.7 Synthèse supportée sur PEG d'oligonucléotides

La première synthèse d'oligonucléotides supportés sur PEG a été réalisée en 1974 par l'équipe de Bayer.⁵⁵

Ce type de synthèse a ensuite été amélioré jusqu'à aboutir à la HELP (High-Efficiency Liquid-Phase), cette méthode permettant la synthèse d'oligonucléotides rapide et à haut rendement en employant le PEG comme support soluble.⁵⁶ Grâce à cette méthode, la synthèse d'oligonucléotides est améliorée :

- Elle est plus rapide par rapport à la synthèse classique en solution car les intermédiaires peuvent être isolés facilement par simple précipitation
- Elle est moins chère par rapport à la synthèse sur support solide.

Cette méthode prévoit un couplage initial du PEG avec un 5'-O-DMT-2'-deoxy-nucléoside-3'-O-succinate par estérification avec DCC, suivi d'une détrytilation et d'une condensation

⁵⁰ (a) H. Z. Hagenmaier, *Physiol. Chem* **1975**, 356, 777. (b) S. A. Rahman, H. Anzinger, M. Mutter, *Biopolymers* **1980**, 19, 173.

⁵¹ E. Bayer, M. Mutter, *Chem Ber.* **1974**, 107, 1344.

⁵² W. Schoknecht, K. Albert, J. Jung, E. Bayer, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 1514.

⁵³ W. Mayr, R. Oekonomopoulos, G. Jung, *Biopolymers* **1979**, 18, 425.

⁵⁴ E. Bayer, M. Mutter, R. Uhmann, J. Polster, H. Mauser, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 7333.

⁵⁵ F. Brandstetter, H. Schott, E. Bayer, *Tetrahedron Lett.* **1974**, 15, 2705.

⁵⁶ G. M. Bonora, *Gazz. Chim. Ital.* **1987**, 117, 379.

avec le nucléoside suivant. La purification est faite par précipitation avec l'éther éthylique. Les autres couplages sont faits de la même manière et à la fin de la réaction, le produit est coupé totalement du PEG par réaction avec l'hydroxyde d'ammonium.⁵⁷ (Schéma 2).

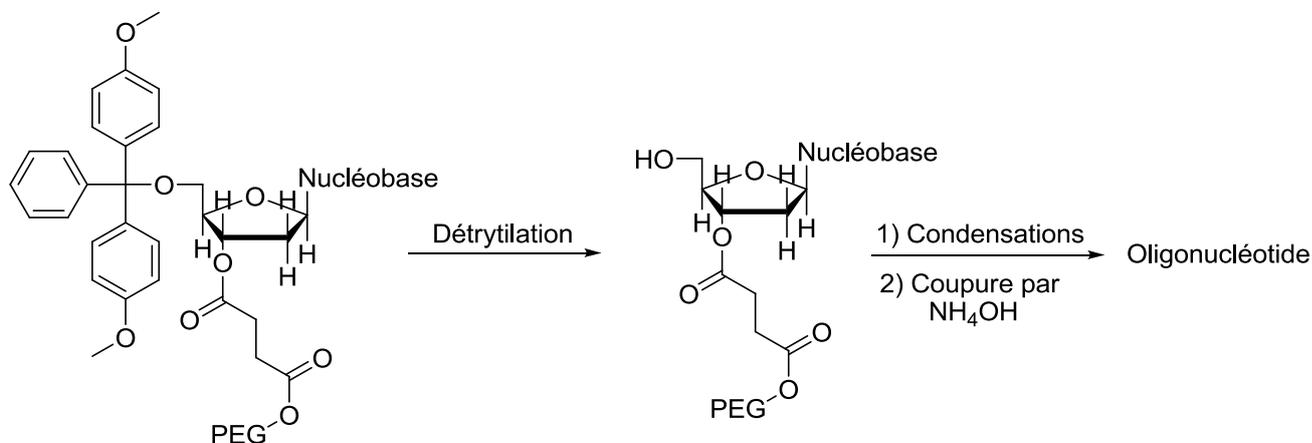


Schéma 2

Grâce à l'utilisation du PEG en tant que support, la HELP a pu être développée. Cette méthode a permis d'améliorer la synthèse d'oligonucléotides et de la rendre plus performante et de mise en œuvre plus simple.

1.2.8 Synthèse supportée sur PEG d'oligosaccharides

Le développement d'une méthode efficace pour la synthèse d'oligosaccharides a été nécessaire afin de mieux comprendre leur rôle dans les procédés biologiques et pour la préparation de composés pouvant être utilisés comme principes actifs. A la différence des peptides et des oligonucléotides, la synthèse des oligosaccharides nécessite un contrôle stéréochimique pendant la formation de la liaison glycosidique. De plus, ces molécules présentent de nombreux groupements fonctionnels similaires, il faut donc que les réactions de formation des liaisons soient très sélectives.⁵⁸ La première synthèse d'oligosaccharides supportée sur PEG a été décrite en 1991 par l'équipe de Krepinsky.⁵⁹ La première unité saccharidique a été branchée au PEG grâce à un lien succinique lié au C-2 ou au C-3. (Figure 6).

⁵⁷ G. M. Bonora, C. L. Scremin, F. P. Colonna, A. Garbesi, *Nucleic Acids Res.* **1990**, *18*, 3155.

⁵⁸ G. J. Boons, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 1095.

⁵⁹ S. P. Douglas, D. M. Whitfield, J. J. Krepinsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5095.

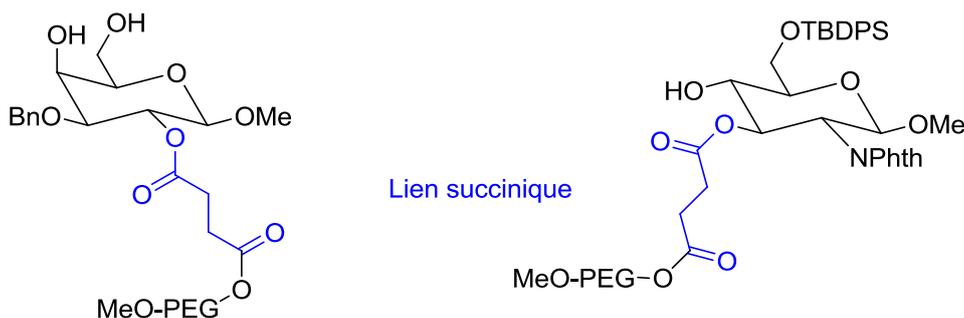


Figure 6

Ce type de liaison présente des limites⁶⁰ :

- instabilité en milieu basique
- migration en milieu acide
- difficulté de réalisation des réactions si il est accroché sur le carbone anomérique.

Pour ces raisons, la même équipe a réalisé un nouveau type de lien, le α,α' -dioxylxylil diéther (DOX). (Figure 7). Ce lien est stable dans les conditions de glycosylation, il peut être lié au sucre par une liaison éther ou O-glycosidique, il peut être coupé par hydrogénolise et il est simple à synthétiser.⁶¹

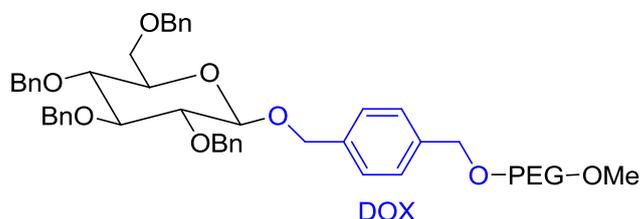


Figure 7

Les synthèses d'oligosaccharides ont été réalisées, non seulement sur le PEG, mais aussi sur des PEG modifiés afin d'avoir une capacité de charge plus élevée.⁶² (Figure 8). A l'ICMMO l'équipe de Lubineau a développé des méthodes de synthèse chimio-enzymatiques d'oligosaccharides en utilisant le PEG hexa allyle (Figure 8) comme support.⁶³

⁶⁰ D. M. Whitfield, S. P. Douglas, J. J. Krepsinsky, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6975.

⁶¹ S. P. Douglas, D ; M. Whitfileld, J. J. Krepsinsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 2116.

⁶² (a) A. Lubineau, A. Malleron, C. Le Narvor, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 8887 ; (b) D. Majumdar, T. Zhu, G.-J. Boons, *Org. Lett.* **2003**, 5, 3591.

⁶³ (a) A. Malleron, C. Le Narvor, *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 970 ; (b) L. Renaudie, R. Daniellou, C. Augé, C. Le Narvor, *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 693.

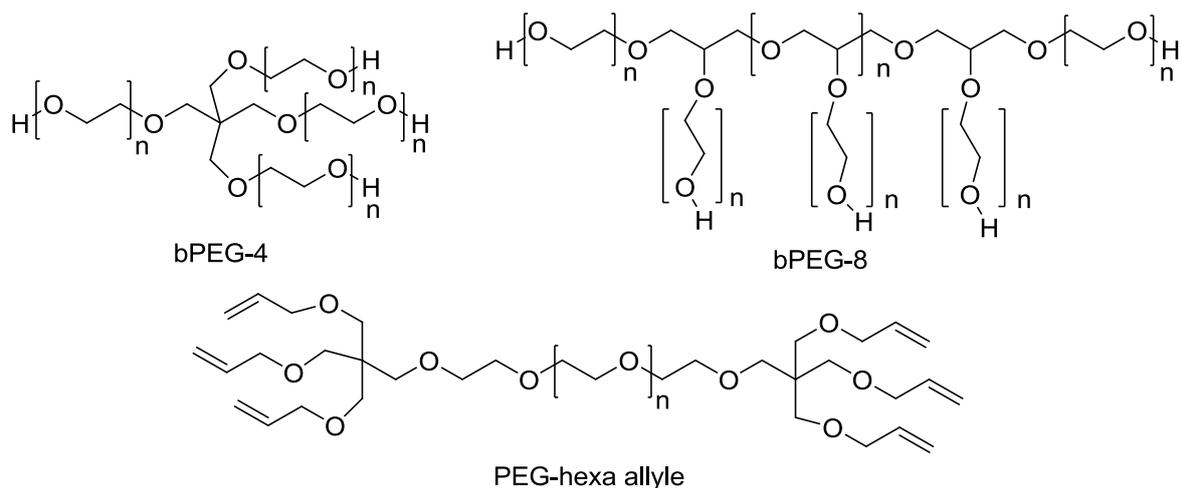


Figure 8 (PEGs modifiés)

En utilisant les PEG modifiés bPEG-4 et bPEG-8, Majumdar et al. ont décrit, en 2003, la synthèse d'un tétrasaccharide supportée. (Schéma 3). Dans ce cas, la purification des intermédiaires a été réalisée par ultrafiltration en utilisant des membranes compatibles avec les solvants organiques.

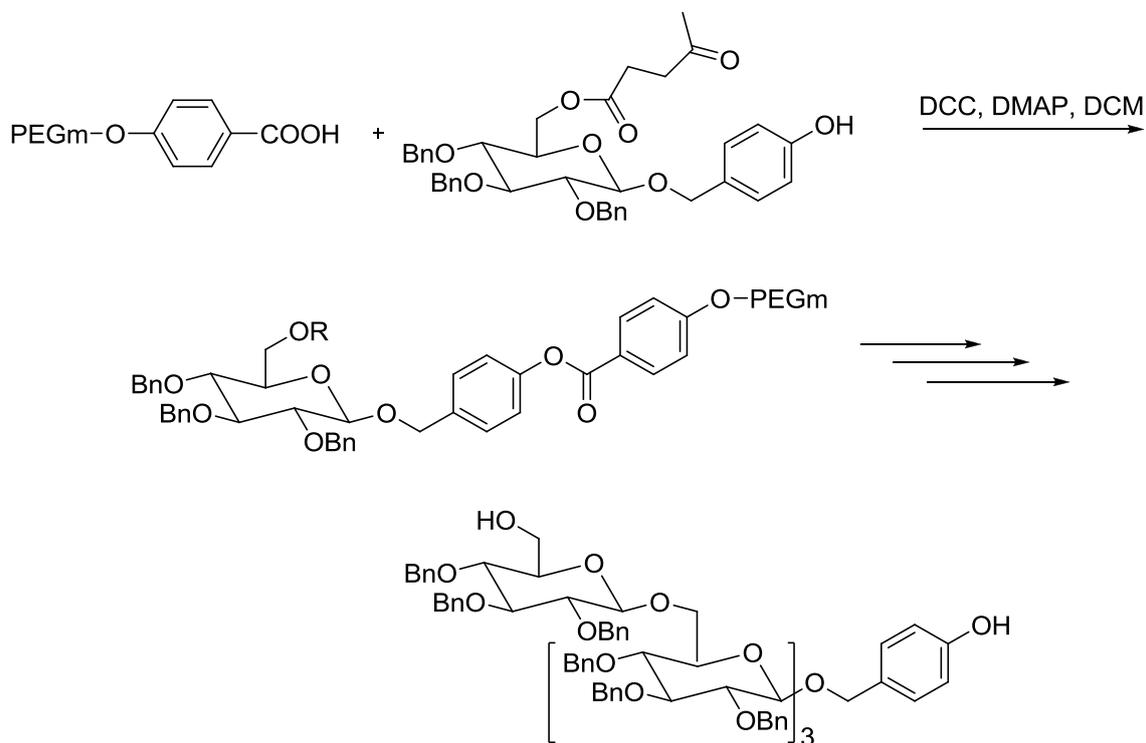


Schéma 3 (PEGm = bPEG-4 et bPEG-8)

Le PEG a donc initialement été utilisé pour la synthèse d'oligonucléotides, de peptides et d'oligosaccharides, mais son utilisation s'est ensuite généralisée à la synthèse de petites molécules.

1.2.9 Synthèse supportée sur PEG de petites molécules

Pour la synthèse de petites molécules, le PEG a été employé pour la première fois en 1995 par l'équipe de Janda.⁶⁴ Dans ce travail, la synthèse de différents sulfonamides a été réalisée. Un méthyl-PEG a été utilisé comme support et la molécule a été liée en faisant réagir l'hydroxyle du PEG avec le groupement isocyanate pour obtenir un carbamate. Des réactions avec différentes amines suivies par une coupure en milieu basique, ont donné une gamme de sulfonamides substitués. (Schéma 4)

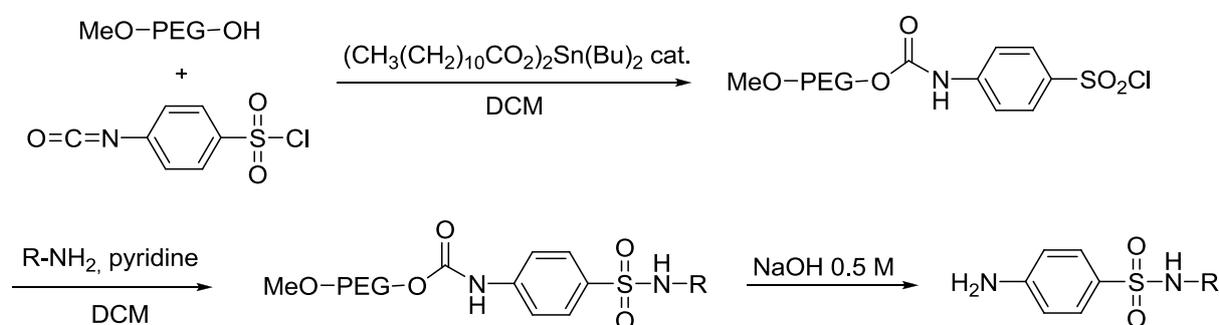


Schéma 4

En 1998, l'équipe de Lamaty⁶⁵ a étudié l'effet du PEG, en tant que catalyseur de transfert de phase, sur des réactions d'alkylation. L'alkylation a été effectuée sur des bases de Schiff en utilisant différents électrophiles. (Schéma 5)

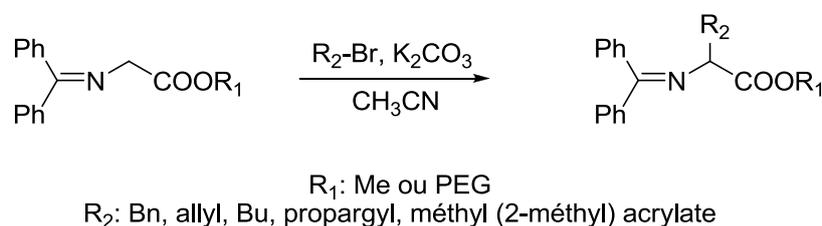


Schéma 5

Ces réactions sont accélérées par la présence d'un agent de transfert de phase comme les sels d'ammonium quaternaires. Les auteurs ont alors utilisé le PEG comme catalyseur de transfert

⁶⁴ H. Han, M. M. Wolfe, S. Brenner, K. D. Janda, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **1995**, 92, 6419.

⁶⁵ B. Sauvagnat, F. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 821.

de phase et la réaction a été testée soit en supportant la base de Schiff sur le PEG soit en mettant du PEG directement dans le milieu réactionnel. Ils ont montré que la présence du PEG accélère ces réactions. L'étude de la vitesse de réaction qui a été effectuée est présentée dans le Tableau 1.

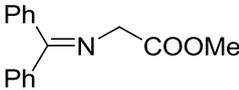
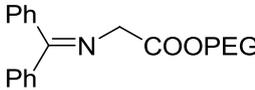
Substrat				
Additif		-	PEG-OMe	-
Conversion (%)	14 h	8	43	23
	24 h	-	80	59
	36 h	23	100	100

Tableau 1

Ces résultats montrent que le PEG agit comme agent de transfert de phase. En effet, en absence de PEG, une conversion de seulement 23 % est obtenue au bout de 36 heures, alors que s'il est présent dans le milieu, la conversion est totale. Cependant, nous pouvons constater que la réaction est plus lente en version supportée qu'en version libre : après 24 heures de réaction, la conversion est de 80 % si la base de Schiff est libre et de 59 % si elle est greffée au support. Les auteurs supposent que ce phénomène est dû à la chélation du potassium par les oxygènes du PEG, qui entraîne une agrégation des chaînes. Dans ce cas, si le PEG est lié à la molécule, il la rend moins accessible par effet stérique, alors que s'il n'est pas lié, aucun effet stérique ne limite l'accessibilité à la base de Schiff. La réaction est donc plus rapide. La même équipe a étudié cette réaction en utilisant une activation par les microondes.⁶⁶ En présence de PEG, la réaction est complète au bout de 40 minutes en utilisant ce mode de chauffage très efficace pour les milieux polaires.

Au cours des dernières années, la synthèse supportée sur PEG de petites molécules a été largement développée et différents types d'hétérocycles ont été synthétisés : benzodiazépinones,⁶⁷ thiazolidinones, pyrimidinones,⁶⁸ En 2010, l'équipe de Sun a décrit, pour la première fois, la synthèse de deux types de produits, les pyrazino- et diazépino-quinoxalinones, en utilisant, pour les deux, une voie de synthèse similaire.⁶⁹ La synthèse a été réalisée en utilisant le PEG₆₀₀₀ comme support. L'adduit clef a été synthétisé comme décrit dans le Schéma 6. Le 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzène (DFDNB) a été utilisé car, grâce à ses

⁶⁶ B. Sauvagnat, F. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6371.

⁶⁷ M. F. Cheng, J. M. Fang, *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 99.

⁶⁸ Z. Liu, Y. Huang, W. Zhang, L. Ma, J. Li, X. Wang, J. Li, J. Shen, *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 632.

⁶⁹ J.-J. Lai, B. Salunke, C.-M. Sun, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2174.

deux groupements fluorés, il permet l'élongation de la structure dans deux directions via des réactions de substitution. L'adduit clef a été utilisé pour développer la synthèse des deux adduits finaux comme décrit dans le Schéma 6. Une hydrogénation catalysée par le zinc permet d'aboutir au dérivé indoline. Cependant, si le palladium est utilisé à la place du zinc, l'adduit indole est obtenu. Dans cette étape, quatre transformations se produisent en même temps :

- la réduction des groupements nitro
- la formation de la liaison amide qui conduit à la coupure du support
- l'oxydation du dérivé indoline à indole (dans le cas où Pd/C est utilisé)
- l'oxydation du dihydroquinoxalinone en quinoxalinone

Il faut remarquer que, dans ce cas, aucun agent oxydant n'a été utilisé.

L'étape finale a été réalisée en utilisant différentes cétones, en présence d'acide trifluoroacétique, dans le chloroforme et de bons rendements ont été obtenus.

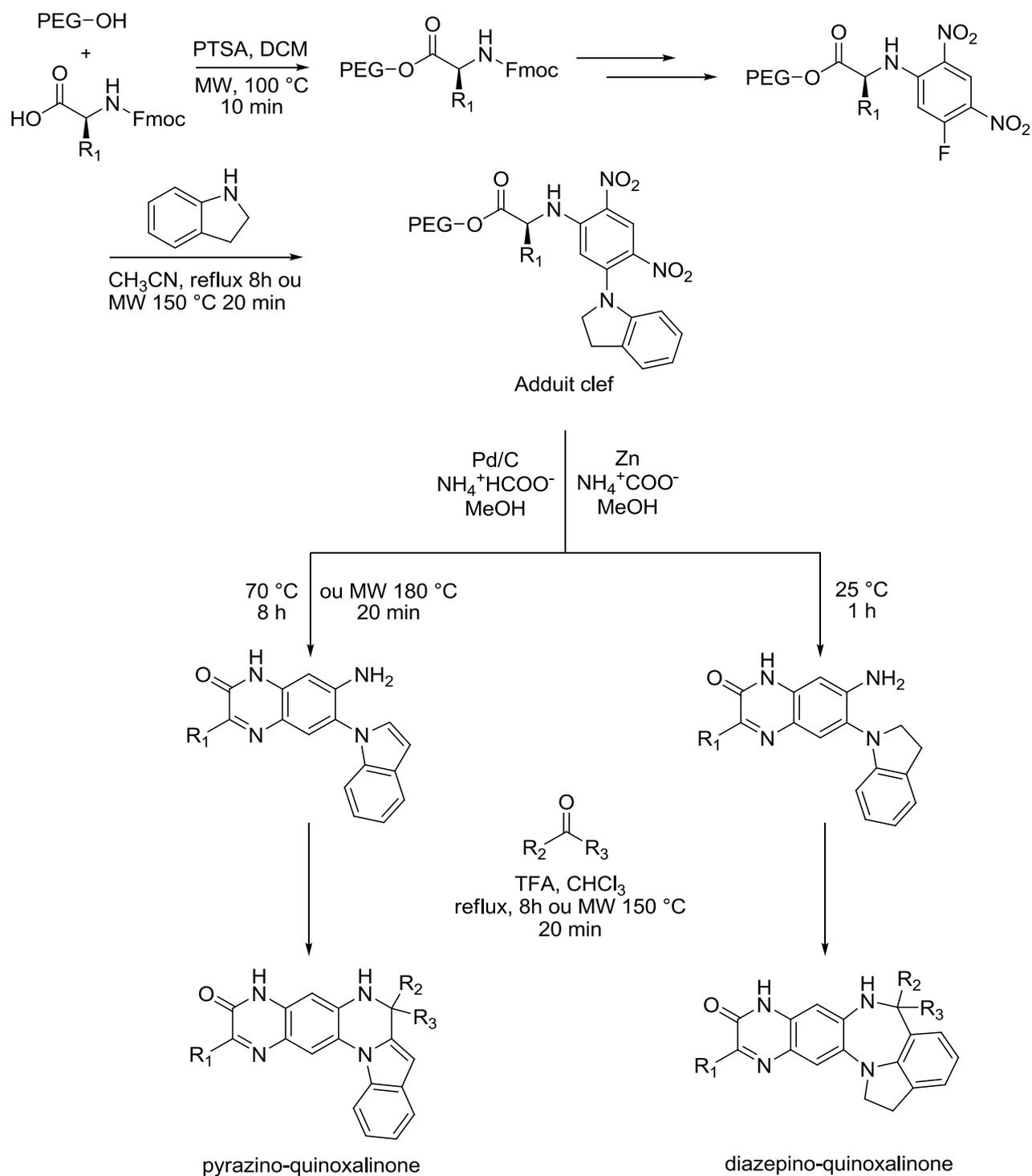


Schéma 6

La plupart des étapes de synthèse a été réalisée en utilisant l'activation microondes et les temps réactionnels ont été considérablement réduits par rapport aux mêmes réactions sans activation microondes.

En conclusion, la synthèse sur support soluble fournit une stratégie alternative à la synthèse des composés organiques en incorporant l'ensemble des aspects positifs de la synthèse "classique" et de la synthèse sur support solide.

Un des avantages de cette stratégie est la possibilité de pouvoir suivre la réaction et d'analyser les intermédiaires sans décrocher le produit du support.

1.2.10 Méthodes d'analyse des adduits supportés sur PEG

Grâce à la solubilité de ce polymère dans un grand nombre de solvants organiques, les adduits supportés peuvent être analysés avec les méthodes classiques d'analyse des solutions :

- résonance magnétique nucléaire
- spectrométrie de masse (ESI, MALDI)
- spectroscopie ultraviolet-visible
- spectroscopie infrarouge

La RMN et la spectrométrie de masse ont été adaptées à ce type de chimie afin de mieux comprendre la structure des adduits supportés.

La RMN des adduits supportés sur PEG avait été déjà réalisée dans les premiers travaux de chimie sur support soluble.^{49, 65, 70} La RMN-¹H permet de suivre la réaction et de connaître le degré de pureté des produits ; c'est sûrement la méthode de routine la plus utilisée.⁷¹ Cependant la présence du PEG fait apparaître, dans le spectre RMN, un signal large à ~3,5 ppm correspondant aux protons méthyléniques du polymère, qui peut "cacher" une partie des protons de la molécule supportée. Afin de pouvoir réduire l'intensité du signal du PEG, l'équipe de Benaglia⁷² a utilisé la méthode de présaturation du signal pour mettre en évidence les signaux de la molécule supportée. Dans le même but, nous avons réalisé des expériences RMN, en collaboration avec le Dr. Jonathan Farjon, qui seront décrites dans le paragraphe 2.4.5.

Des études sur la spectrométrie de masse des adduits supportés ont été réalisées par l'équipe d'Aubagnac.⁷³ Les auteurs se sont intéressés à deux méthodes d'analyse : l'ESI (ionisation

⁷⁰ D. Leibfritz, W. Mayr, R. Oekonomopulos, G. Jung, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 2045.

⁷¹ J.-Y. Shey, C.-M. Sun, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1725.

⁷² M. Benaglia, S. Guizzetti, C. Rigamonti, A. Puglisi, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 12100.

⁷³ (a) F. Nativel, C. Enjabal, F. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, J.-L. Aubagnac, *Eur. Mass Spectrom.* **1998**, *4*, 233 ; (b) C. Enjabal, B. Sauvagnat, F. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, P. Mouchet, F. Roux, J.-L. Aubagnac, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1999**, *13*, 1775.

électrospray) et la MALDI (ionisation par désorption laser assistée par matrice). La spectrométrie ESI fournit des ions multichargés, l'analyse des molécules polaires de masse supérieure à 100 KDa peut donc être réalisée avec des analyseurs de gamme de masse limitée comme l'analyseur quadripolaire. La MALDI permet l'analyse de molécules à haut poids moléculaire et est souvent couplé à un analyseur à temps de vol (Tof). Les spectres du PEG, réalisés avec les deux méthodes, présentent une distribution gaussienne des masses et à chaque pic correspond une chaîne à nombre fixé d'unité d'éthylène glycol. (Figure 9). Dans le spectre MALDI, seul les ions monochargés apparaissent. Par contre, dans le spectre ESI, plusieurs distributions d'ions multichargés apparaissent ce qui complique ce type de spectre.⁷⁴ Pour analyser la masse de nos produits, nous avons décidé d'utiliser seulement la MALDI car le spectre est de plus simple interprétation.

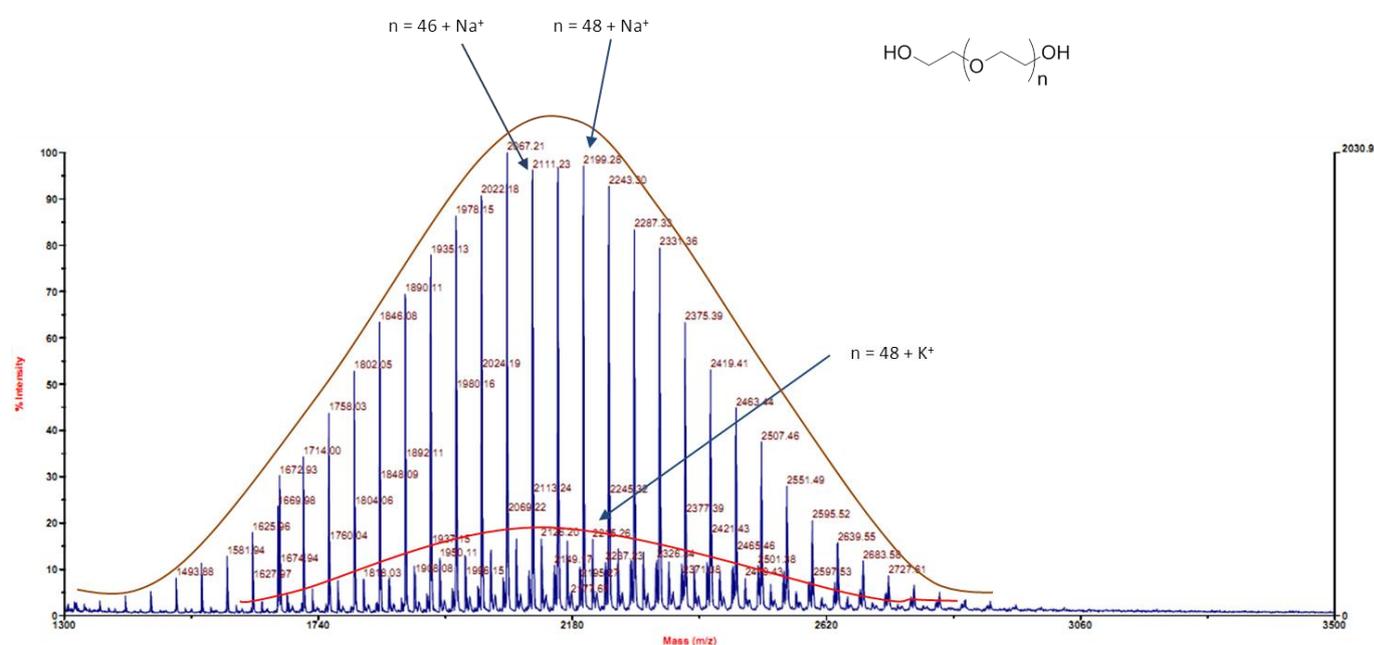


Figure 9 (MALDI du PEG₂₀₀₀ utilisé comme support)

Si plusieurs produits, possédant des masses différentes, sont présents dans l'échantillon, une gaussienne pour chaque produit apparaîtra dans le spectre MALDI.

⁷⁴ B. Sauvagnat, C. Enjalbal, F. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, J.-L. Aubagnac, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1998**, *12*, 1034.

La distance entre deux pics est de 44 qui correspond à la masse d'une unité d'éthylène glycol.⁷⁵ Chaque pic de la gaussienne est en fait un massif, composé de différents pics isotopiques. (Figure 10)

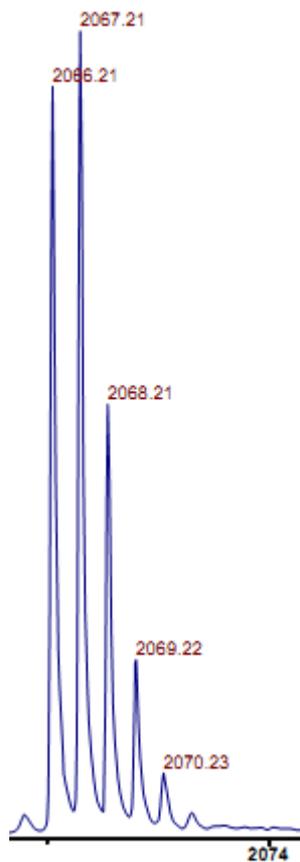


Figure 10

L'addition de trifluoracétate de sodium ou d'iodure de sodium pendant la préparation de la solution de matrice permet une ionisation par cationisation avec le sodium. Chaque pic correspond donc à la masse de la chaîne de PEG plus la masse de l'ion Na^+ . Malgré l'addition de sodium, une gaussienne de plus faible intensité correspondant à $\text{M}+\text{K}^+$ peut être observée dans le spectre car le PEG possède une très forte affinité avec ces deux cations.⁷⁶ (Figure 9).

Afin d'estimer la masse molaire des produits analysés, il faut connaître le type d'ionisation, la masse molaire du produit de départ et donc la quantité d'unités d'éthylène glycol présentes

⁷⁵ R. Thürmer, M. Meisenbach, E. Echner, A. Weiler, R. A. Al-Qawasmeh, W. Voelter, U. Korff, W. Schitt-Sody, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1998**, *12*, 398.

⁷⁶ M. J. Bogan, G. R. Agnes *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2002**, *13*, 177.

dans la molécule. Enjalbal et al. ont élaboré une application (VisualBasic) pour accélérer et faciliter l'interprétation des spectres MALDI des composé synthétisés sur PEG.⁷⁷

L'analyse de chaque produit supporté, dans ce travail, a été réalisée par RMN-¹H et ¹³C, IR et MALDI.

1.3 L'objectif du travail

L'objectif de ce travail est le développement de synthèses écocompatibles d'hétérocycles supportés sur PEG. Nous avons choisi le PEG car il nous permet de solubiliser les molécules dans l'eau afin d'y réaliser nos réactions. Afin d'éviter l'utilisation de solvants organiques pendant la purification, nous avons décidé d'utiliser l'ultrafiltration comme méthode de purification des adduits supportés.

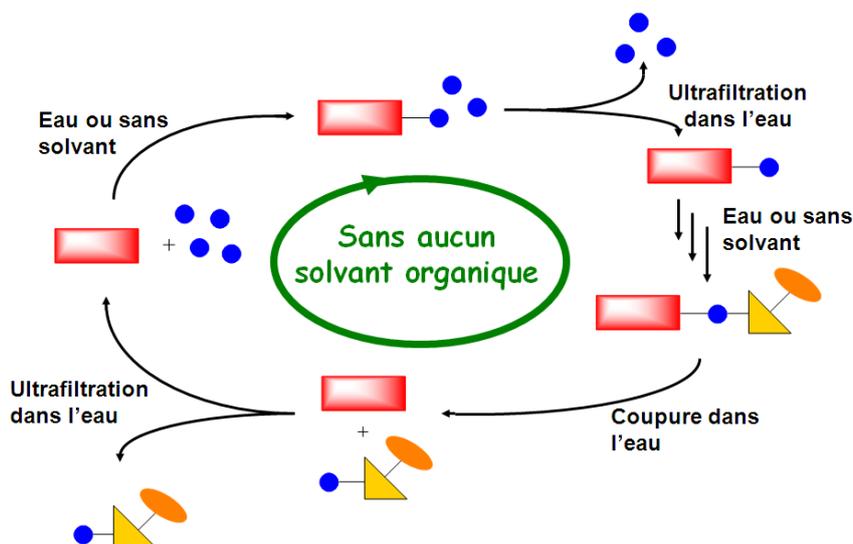


Figure 11

La Figure 11 est une représentation du concept que nous voulons développer. Le rectangle rouge représente le support soluble, donc le PEG. Une première molécule est accrochée au PEG en réalisant la réaction dans l'eau ou sans solvant, ensuite l'excès de réactif est enlevé par ultrafiltration dans l'eau. Puis les autres réactions sont réalisées et le produit obtenu est purifié par ultrafiltration dans l'eau. Enfin, la coupure du produit final est réalisée dans l'eau, le support est séparé de la molécule par ultrafiltration, et réutilisé pour un nouveau cycle de synthèse.

⁷⁷ C. Enjalbal, P. Ribière, F. Lamaty, N. Yadav-Bhatnagar, J. Martinez, J.-L. Aubagnac, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, *16*, 670.

Une fois le cycle optimisé, les réactions seront testées en flux continu avec toujours une purification par ultrafiltration.

Nous allons maintenant discuter plus en détail des méthodes d'ultrafiltration et du flux continu.

1.4 L'ultrafiltration

Dans le domaine de la filtration membranaire, une distinction est faite en fonction de la taille et de la géométrie des particules retenues par la membrane ("cut-off"). Les différences entre les méthodes de filtration membranaire sont mises en évidence dans le tableau ci-dessous.⁷⁸

Procédé	Taille des pores	Pression appliquée	Exemples d'applications
Filtr. conventionnelle	> 10 µm	< 0,5 bar	
Microfiltration	0,1-10 µm	0,2-2 bars	Filtration stérile
Ultrafiltration	1-100 nm	1-10 bars	Concentration de solutions macromoléculaires
Nanofiltration	~1 nm	10-40 bars	Adoucissement des eaux
Osmose inverse	< 0,5 nm	30-80 bars	Déminéralisation des eaux

Tableau 2

L'ultrafiltration peut être utilisée pour la rétention de macromolécules (protéines, polysaccharides, etc.) et d'autres espèces de tailles analogues comme les virus. Toutes les espèces de plus grande dimension sont également retenues.⁷⁹ L'ultrafiltration est, comme la dialyse, une méthode qui permet de séparer les petites molécules des macromolécules. (Figure 12).

⁷⁸ P. Aïmar, P. Bacchin, A. Maurel, Filtration membranaire (OI, NF, UF, MFT) Aspect théoriques : mécanismes de transfert, *Technologies de l'eau-Techniques de l'Ingénieur* **2010**, J2789.

⁷⁹ A. Arzate, Procédés de séparation membranaire et leur application dans l'industrie alimentaire, *ACER*, projet 642, **2008**.

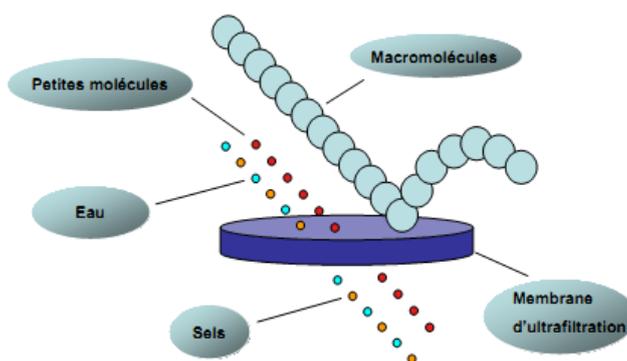


Figure 12

Par rapport à la dialyse, l'ultrafiltration est beaucoup plus rapide (~1-3 heures), car une pression (1-10 bar) est appliquée sur la solution afin de forcer son passage à travers la membrane.⁸⁰ La pression normalement appliquée est le 80 % de la pression limite afin d'éviter le colmatage des pores de la membrane.⁷⁹ Nous avons réalisé nos purifications à une pression de 3,5-3,8 bars.

Il existe une grande diversité de membranes. Elles sont classées par familles, selon leur nature chimique (minérales ou organiques), leur structure (symétriques et asymétriques) ou leur forme physique (poreuses ou denses). Les membranes sont généralement caractérisées par :

- La taille des pores, jamais parfaitement uniforme
- Le seuil de coupure relatif à une masse moléculaire critique. C'est la masse molaire critique pour laquelle 90 % des solutés sont retenus par la membrane, et est mesurée en Dalton. Elle dépend du soluté ainsi que des conditions opératoires. Le seuil de coupure est définie par rapport à un soluté donné (souvent le PEG).
- La sélectivité. C'est une caractéristique de surface qui détermine quels composés de la solution traversent la membrane.
- La perméabilité à l'eau pure. C'est un paramètre qui caractérise la facilité avec laquelle l'eau traverse la membrane.

Il faut noter que, dans le cas des macromolécules, la forme de la molécule est un facteur important, car des molécules flexibles sont retenues moins efficacement que des protéines globulaires par exemple.

⁸⁰ C. C. Tzschucke, C. Markert, W. Bannwarth, S. Roller, A. Hebel, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3964.

Pour purifier nos adduits supportés sur PEG, nous avons utilisé une membrane en cellulose régénérée ayant un seuil de coupure de 1000 Da. Elle peut être soumise à des pH de 3 à 13 et à une température maximale de 50 °C.

Afin de ne pas obstruer la membrane, il est nécessaire d'utiliser une cellule avec agitation ou un système de flux continu, notamment l'ultrafiltration tangentielle (Figure 13).

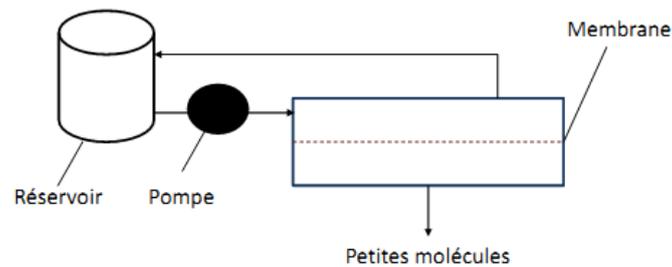


Figure 13

Le système que nous avons utilisé est constitué d'une cellule avec agitation, l'Amicon 8010. (Figure 14).

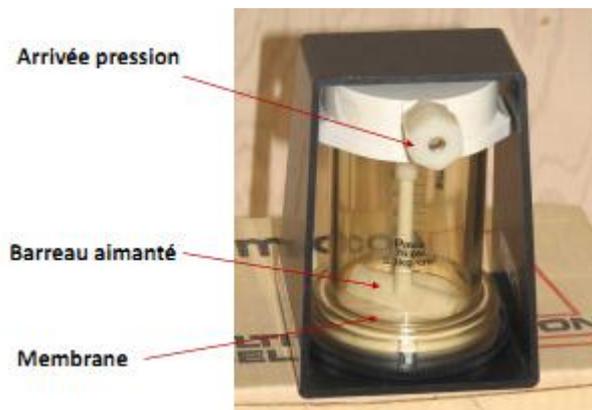


Figure 14

Dans le processus de filtration membranaire, différentes forces règlent le passage à travers la membrane. Les modèles proposés permettent d'évaluer le flux du solvant passant par la membrane et le taux de rétention de différents composés. La loi de Darcy permet d'évaluer le flux volumétrique d'un solvant qui passe à travers une membrane poreuse :

$$J = L_p \Delta P / \mu_p$$

J , le flux ($\text{m}^3/\text{m}^2\text{s}$), est proportionnel à la différence de pression entre les deux côtés de la membrane (ΔP), et au coefficient de perméabilité de la membrane (L_p). Il est également inversement proportionnel à la viscosité du solvant (μ_p) et donc lié à la température, car la

viscosité diminue si la température augmente. Ce modèle présente quand même des limites et pour cette raison, différents modèles ont été réalisés en tenant compte de différents paramètres (compression de la membrane, colmatage de la membrane, effet des charges, etc.).

Parmi les méthodes de purifications des adduits liés au PEG, l'ultrafiltration a été utilisée, surtout au début de la chimie sur support soluble.⁴⁹ Puis elle a été remplacée par la méthode, aujourd'hui plus développée, de précipitation du polymère, puisque plus rapide.

L'ultrafiltration a été très utilisée pour isoler les catalyseurs supportés, afin de les réutiliser.⁸¹ Des systèmes en continu ont été réalisés dans ce but. Le catalyseur supporté est maintenu dans le réacteur puisque sa taille l'empêche de passer la membrane d'ultrafiltration alors que les petites molécules (substrat et produit) peuvent la traverser.⁸² (Figure 15).

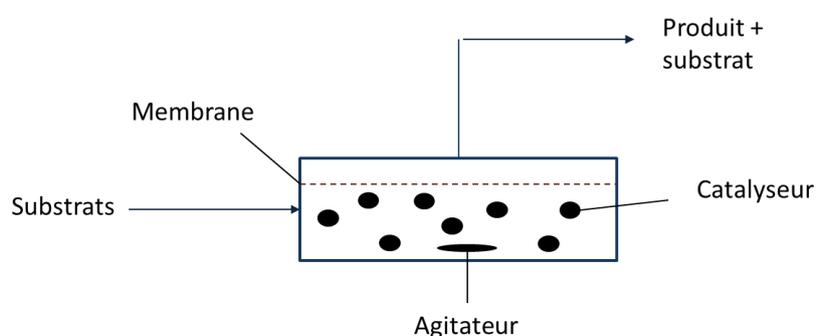


Figure 15

La filtration membranaire a été utilisée pour la synthèse supportée non seulement de peptides, mais aussi pour les oligosaccharides.^{83,62(b)} Cette méthode a aussi été employée pour la purification de polymères ayant une capacité de charge plus élevée.⁸⁴

Dans tous les cas cités, des solvants organiques ont été utilisés pendant la synthèse ou la purification. Nous avons donc décidé de réaliser des synthèses sans utiliser aucun solvant organique et nous nous sommes servis de l'ultrafiltration afin d'éviter leur utilisation pour la purification.

⁸¹ (a) U. Kragl, T. Dwars, *Trends Biotechnol.* **2001**, *10*, 442 ; (b) H. P. Dijkstra, G. P. M. Van Klink, G. Van Koten, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 798.

⁸² N. J. Ronde, *Catalysts for Continuous Homogeneous Catalysis*, CIP-Data Library Technische Universiteit Eindhoven, **2004**.

⁸³ (a) S. Manabe, A. Ueki, T. Ito, *Chem. Commun.* **2007**, 3673 ; (b) N. Brinkmann, M. Malissard, M. Ramuz, U. Römer, T. Schumacher, E. G. Berger, L. Elling, C. Wandrey, A. Liese *Bioorg Med Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2503.

⁸⁴ R. Haag, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 327.

1.5 Microréacteurs et flux continu

Dans ces dernières années l'utilisation des microsystèmes appliquée à la chimie a été beaucoup développée, et a fait l'objet de différentes revues scientifiques.⁸⁵ Les microréacteurs, sont des canaux, en métal, verre ou silicone, ayant une dimension interne comprise entre 10 μm et 1 mm. Leur caractéristique principale est un rapport surface/volume très élevé par rapport aux réacteurs utilisés pour la synthèse par lot ("batch"). (Figure 16). Ces systèmes sont utilisés en flux continu de manière à ne pas limiter la quantité de produit synthétisé.

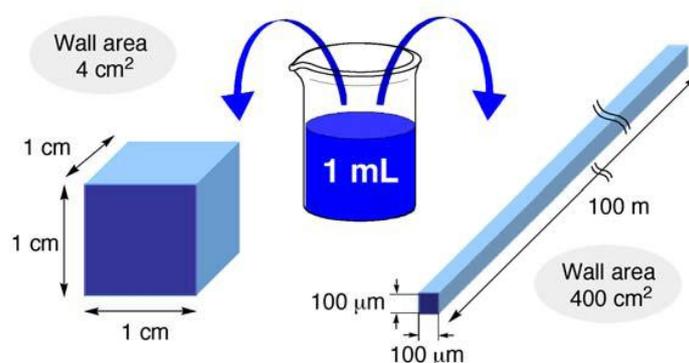


Figure 16 (Extrait de la ref. 85e)

Le coefficient de transfert de la chaleur est inversement proportionnel à la surface, donc, dans les microréacteurs, comme le rapport surface/volume est élevé le transfert de la chaleur est rapide. L'efficacité de ce transfert de chaleur permet le chauffage et le refroidissement rapide des solutions à l'intérieur du réacteur et l'absence de points chauds, ce qui défavorise les réactions secondaires et les fragmentations. Pour ces raisons l'emploi de microréacteurs permet d'avoir des réactions plus sélectives avec des rendements plus élevés, par rapport aux mêmes réactions réalisées par lots. Le transfert de masse est également augmenté par rapport aux réacteurs classiques.⁸⁶

Le mélange est fait dans des micro-mélangeurs, donc les temps de ce processus sont plus courts par rapport aux systèmes conventionnels. Grâce aux petites dimensions du mélangeur les temps de diffusion sont très courts aussi, et donc l'influence du transfert de masse sur la vitesse de la réaction est réduite.

⁸⁵ (a) K. Jähnisch, V. Hessel, H. Löwe, M. Baerns, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 406 ; (b) K. Geyer, T. Gustafson, P. H. Seeberger, *Synlett* **2009**, *15*, 2382 ; (c) B. P. Mason, K. E. Price, J. L. Steinbacher, A. R. Bogdan, D. T. McQuade, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2300 ; (d) G. Jas, A. Kirschning, *Chem Eur. J.* **2003**, *9*, 5708 ; (e) T. Fukuyama, Md. T. Rahman, M. Sato, I. Ryu, *Synlett* **2008**, *2*, 151.

⁸⁶ O. Wörtz, K. P. Jäckel, T. Richter, A. Wolf, *Chem. Eng. Technol.* **2001**, *24*, 138.

Le plus souvent les solutions de réactifs ou substrats sont pompées, mélangées dans le mélangeur avant d'attendre le réacteur qui est chauffé. Un régulateur de pression permet d'imposer une pression dans le réacteur, ce qui donne la possibilité d'utiliser des solvants au-delà de leur point d'ébullition tout en restant en phase liquide. Les produits sont collectés lorsque l'état stationnaire est atteint.

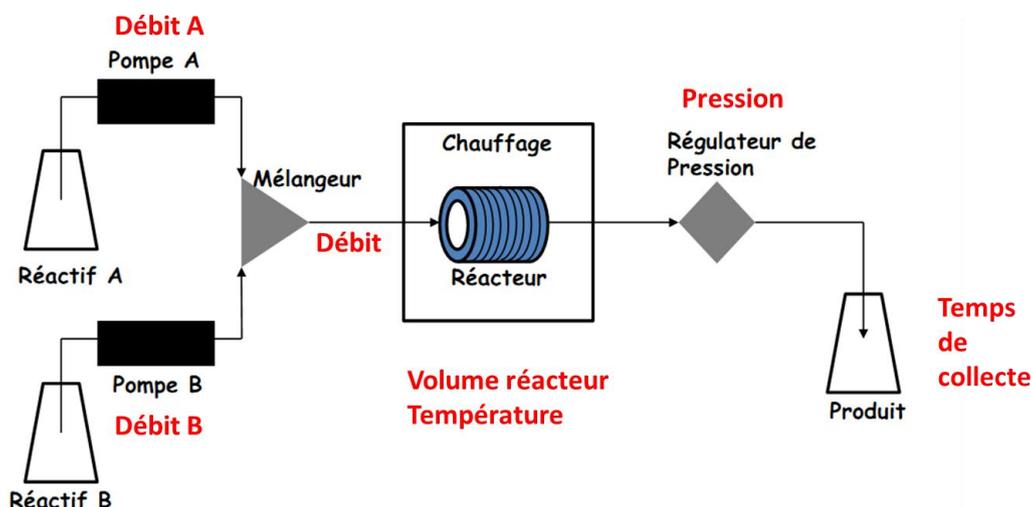


Figure 17

Les paramètres réglables par l'opérateur sont : la température, la pression, le débit et le volume du réacteur (qui fixent le temps de résidence). Le temps de résidence (t_r) ou temps de passage est le temps nécessaire pour faire passer dans le réacteur un volume de fluide égal au volume du réacteur (V_r).

$$t_r = V_r / D$$

D étant le débit. La quantité de produit récupérée est fixée par le temps de collecte.

Comme les réactions sont réalisées dans des petits volumes bien isolés, les dangers potentiels sont considérablement réduits.

Une autre caractéristique de l'utilisation des microréacteurs en flux continu est la facilité de réaliser les réactions à grand échelle sans besoin de ré-optimiser les conditions. Les méthodes utilisées pour réaliser le transfert d'échelle sont :

- L'augmentation du temps de collecte. (Figure 18a)
- L'augmentation du volume du réacteur en changeant les débits afin de conserver le temps de résidence identique. (Figure 18b)

- L'utilisation de plusieurs réacteurs en parallèle. (Figure 18c)

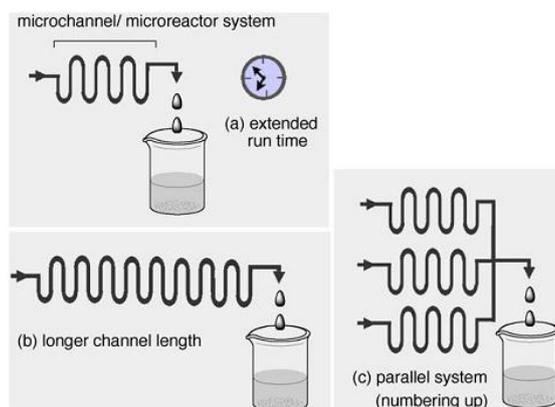


Figure 18 (extrait de la ref. 85e)

La facilité de réaliser les réactions à grandes échelles et l'automatisation de ces procédés rendent les microréacteurs très intéressants pour la production industrielle.^{85(d)}

Dans ces dernières années de nombreuses réactions ont été réalisées en flux continu (Wittig, Knoevenagel, Suzuki, Ugi, ...),⁸⁷ et souvent les résultats ont été meilleurs en termes de régiosélectivité et de temps de réaction par rapport aux réactions par lots. Wiles et al. ont montré, par exemple, que l'aldolisation entre un aldéhyde et un éther d'énol silylé en présence de TBAF se fait en 20 minutes en microréacteur, alors qu'il faut 24 heures afin d'avoir une conversion complète lorsque la réaction est menée de façon classique.⁸⁸ (Schéma 7)

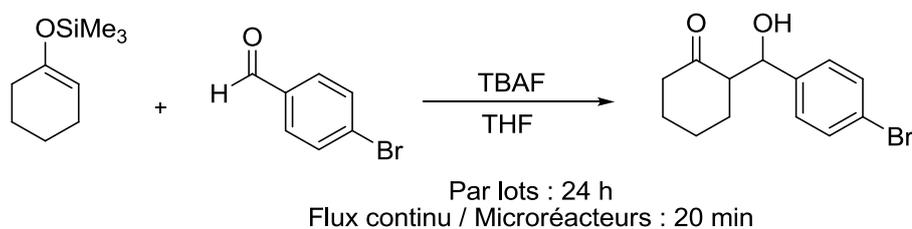


Schéma 7

Skelton et al. ont étudié l'effet des microréacteurs sur la sélectivité de la réaction de Wittig.⁸⁹ Ils ont montré que le rapport entre l'adduit *E* et l'adduit *Z* est dépendant de la concentration des réactifs utilisés. En particulier si l'aldéhyde est en excès, le produit *Z* est obtenu majoritairement, par contre le composé *E* est prédominant si le sel de phosphonium est en

⁸⁷ P. D. I. Fletcher, S. J. Haswell, E. Pombo-Villar, B. H. Warrington, P. Watts, S. Y. F. Wong, X. Zhang, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 4735.

⁸⁸ C. Wiles, P. Watts, S. J. Haswell, E. Pombo-Villar, *Lab Chip* **2001**, *1*, 100.

⁸⁹ V. Skelton, G. M. Greenway, S. J. Haswell, P. Styring, D. O. Morgan, B. H. Warrington, S. Y. F. Wong, *Analyst* **2001**, *126*, 11.

excès. Si la réaction est réalisée par lots, avec les conditions utilisées pour les microréacteurs, un rapport de *Z/E* de 3 est obtenu dans tous les cas.

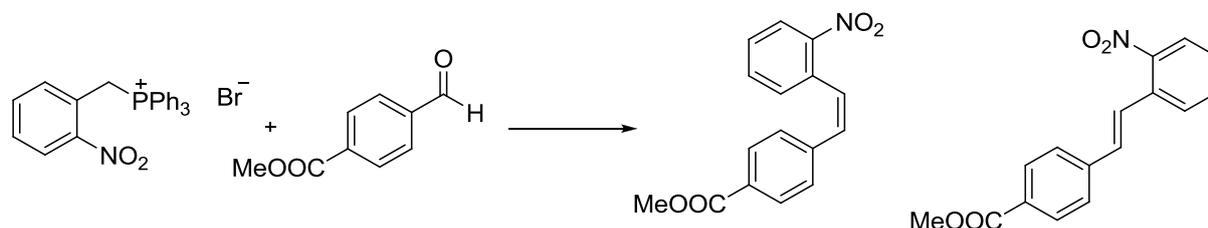


Schéma 8

Les microréacteurs ont été utilisés pour réaliser la synthèse de différents types d'hétérocycles, pour une des étapes ou bien pour toute la synthèse.⁹⁰ L'équipe de Seeberger a décrit la synthèse du rimonabant, un médicament anti-obésité, réalisée totalement en microréacteurs.⁹¹

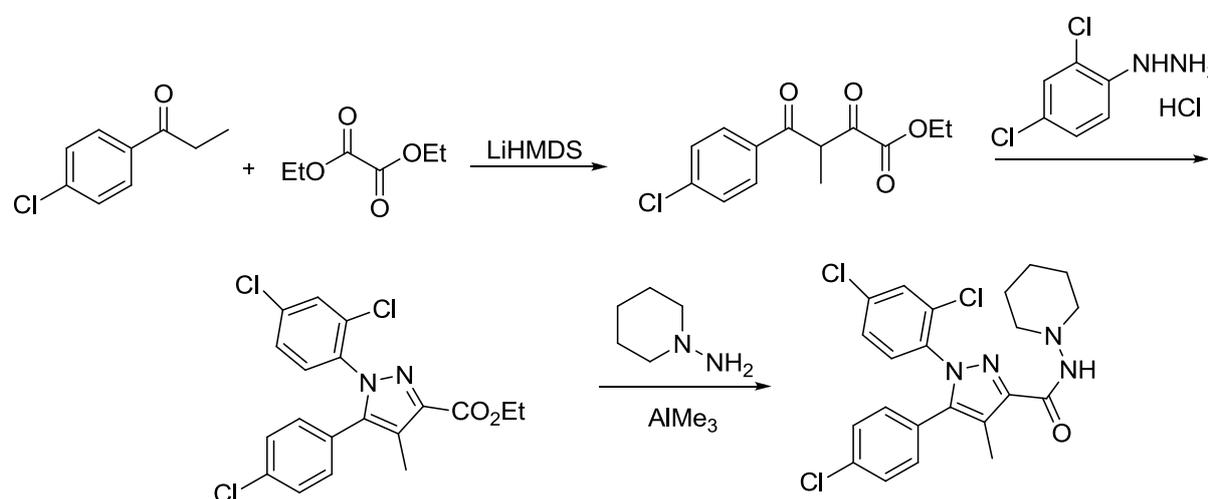


Schéma 9

La première étape a été réalisée par traitement de la cétone avec LiHMDS et puis par addition de l'oxalate de diéthyle dans un deuxième réacteur (11 minutes). Après traitement et purification, l'adduit obtenu a été fait réagir avec l'hydrazine, pendant 16 minutes à 125 °C, pour donner le composé pyrazolique, qui par réaction d'amidation avec l'amino-pipérazine, permet d'aboutir au rimonabant en 2 minutes. Le rendement total de cette synthèse en flux continu a été de 49 %. (Schéma 9)

Les microréacteurs ont souvent été utilisés pour obtenir une gamme de produits similaires en grosse quantité, par exemple une série de quinoxalines a été obtenue en flux continu par

⁹⁰ T. N. Glasnov, C. O. Kappe, *J. Heterocyclic Chem.* **2011**, 48, 11.

⁹¹ T. Gustafsson, F. Pontén, P. H. Seeberger, *Chem. Commun.* **2008**, 1100.

Martin et al. en 2011 à partir de diazocétone par réaction avec des benzènes diamine substituées.⁹²

En catalyse les réacteurs en flux ont été utilisés pour différentes réactions, les méthodes employées pour introduire le catalyseur sont :

- Supporter le catalyseur sur un support solide et le fixer à l'intérieur du réacteur,⁹³
- Solubiliser le catalyseur homogène dans le milieu réactionnel.

Grâce à ces méthodes, des réactions d'oxydation, réduction, alkylation, etc. ont été réalisées en flux, avec de bons résultats et souvent avec des sélectivités meilleures par rapport aux mêmes réactions par lots.^{85(c)} Pour l'hydroformylation une solution alternative a été proposée par Fang et al. en 2011.⁹⁴ Ils ont utilisé comme catalyseur des complexes de rhodium qui ont été bloqués à l'intérieur du réacteur grâce à une membrane de nanofiltration (Figure 19). Par passage de la solution de 1-octène à travers le réacteur en présence de H₂ et CO₂, une conversion de 50 % a été obtenue à régime constant avec un rapport de normal/iso de 3,5, et ces valeurs restent constantes pendant 22 heures.

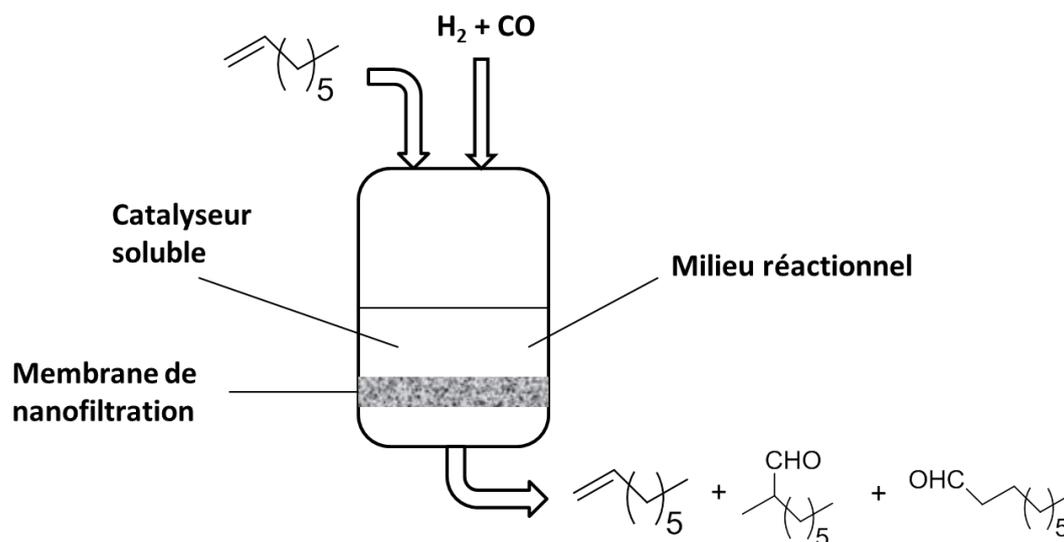


Figure 19

La chimie en flux continu a été beaucoup développée dans ces dernières années, mais, à notre connaissance, peu d'exemples existent de réactions réalisées dans l'eau et un flux continu. En

⁹² L. J. Martin, A. L. Marzinzik, S. V. Ley, I. R. Baxendale, *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 320.

⁹³ C. F. Frost, L. Mutton, *Green Chem.* **2010**, *12*, 1687.

⁹⁴ J. Fang, R. Jana, J. A. Tunge, B. Subramaniam, *Applied Catalysis A: General* **2011**, *393*, 294.

2009, Tuercke et al. ont décrit la synthèse du 5-hydroxyméthylfurfural (5-HMF) par déshydratation du fructose dans l'eau en milieu acide.⁹⁵ (Schéma 10)

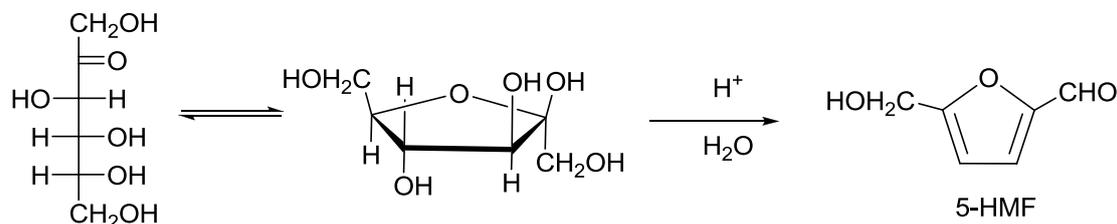


Schéma 10

La réaction a été réalisée dans l'eau, et après une minute à 185 °C la conversion est de 71 %, avec un rendement de 54 %, soit 20 % en plus par rapport à la réaction par lots.

En 2010 l'équipe de Reiser a décrit la synthèse de 4-hydroxy-2-cyclopentanones à partir de l'alcool furfurilique dans l'eau, en microréacteur.⁹⁶

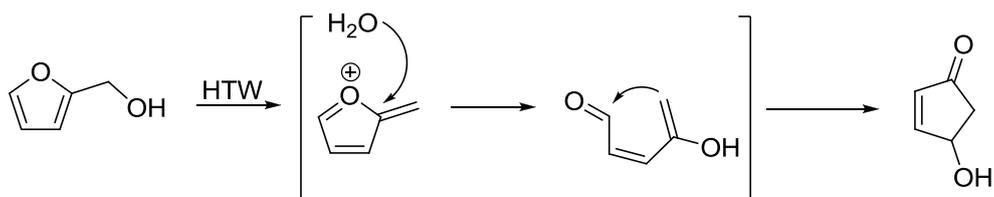


Schéma 11

La réaction a été réalisée dans l'eau à 240 °C (HTW : High Temperature Water) pendant une minute à pH 4 et un rendement de 74 % a été obtenu. Dans ce cas, les auteurs ont utilisé du toluène, comme cosolvant, afin d'éviter la précipitation des sous-produits et le blocage de l'appareil. Dans ces conditions un rendement considérablement plus élevé par rapport à la réaction par lots a été obtenu et dans des temps beaucoup plus courts.

La formation de ϵ -caprolactame à partir du 6-aminocapronitrile, a été décrite par l'équipe de Poliakov dans l'eau HTW et en flux continu.⁹⁷ (Schéma 12)

⁹⁵ T. Tuercke, S. Panic, S. Loebbeche, *Chem. Eng. Technol.* **2009**, 32, 1815.

⁹⁶ K. Ulbrich, P. Kreitmeier, O. Reiser, *Synlett* **2010**, 13, 2037.

⁹⁷ C. Yan, J. Fraga-Dubreuil, E. Garci-Verdugo, P. A. Hamley, M. Poliakov, I. Pearson, A. S. Coote, *Green Chem.* **2008**, 10, 98.

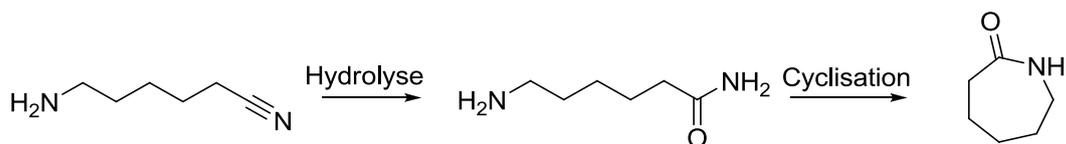


Schéma 12

Dans des conditions non conventionnelles (eau à haute température 400 °C et 400 bars) la réaction dure 96 secondes et conduit au caprolactame avec un rendement de 90 %. Ce processus a permis, pour la première fois, d'aboutir au 6-aminocapronitrile avec un rendement élevé sans l'ajout de catalyseurs ou de solvants organiques et dans des temps courts.

Malgré les nombreuses réactions réalisées en microréacteur et les différentes applications, à notre connaissance aucune synthèse supportée sur PEG n'a jamais été réalisée en flux. Nous avons donc décidé de développer ce type de synthèse en flux continu et de purifier les adduits obtenus par ultrafiltration.

Pour réaliser nos réactions, nous avons utilisé le "Vapourtec R4, R2+ reactor". (Figure 20)

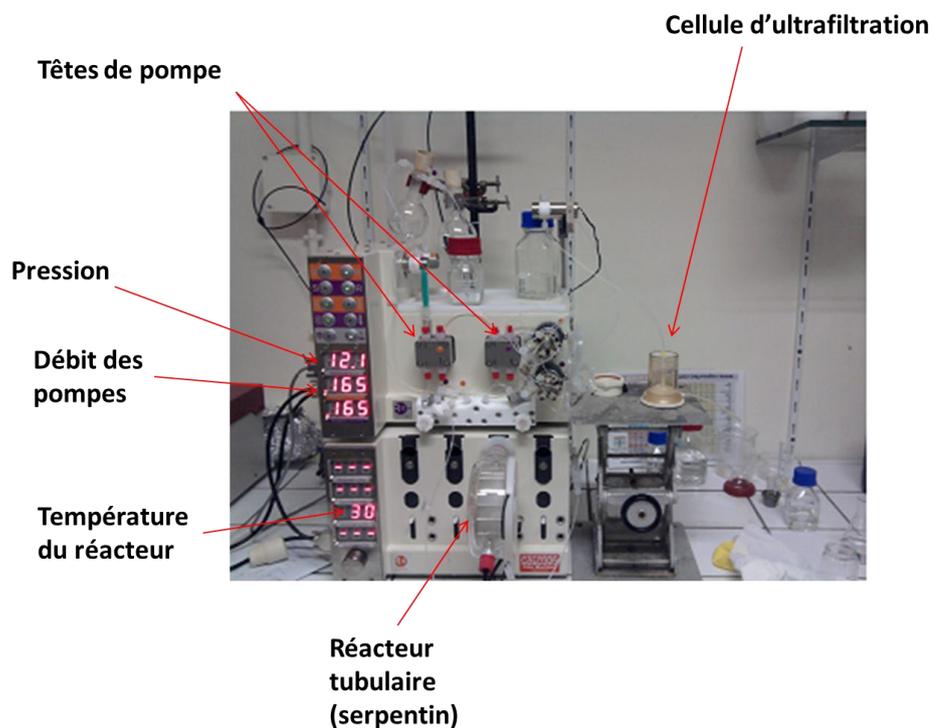


Figure 20

Ce système est constitué de deux pompes pouvant fournir des débits compris entre 0,001 mL/min et 9,99 mL/min. Les liquides pompés sont mélangés dans un mélangeur en T avant

d'entrer dans le réacteur, qui peuvent être chauffés jusqu'à 150 °C. Nous disposons de deux types de réacteurs :

- un réacteur de type colonne (volume max : 2,74 mL) qui peut être rempli de catalyseur ou de substrat supporté
- trois réacteurs de type tubulaire de volumes différents (2 mL, 5 mL ou 10 mL), en PFA, qui peuvent être chauffés jusqu'à 150 °C.

2 Résultats et discussion

2.1 Le lien et l'estérification du PEG

Pour pouvoir développer la synthèse supportée, le lien est fondamental. Il a été décrit comme un groupe protecteur bifonctionnel lié à la molécule à synthétiser et au support. Le lien doit rester intact pendant toute la synthèse et il doit être lié à la molécule via une liaison labile dans les conditions de coupure et doit aussi être lié au support via une liaison stable. Le lien idéal doit donc répondre aux mêmes exigences que les groupements protecteurs :

- Il ne doit pas être onéreux et être facilement obtenu.
- La fixation du produit de départ doit être obtenue avec de hauts rendements.
- Il doit être stable dans les conditions de synthèse.
- Il doit permettre une coupure efficace dans des conditions qui n'endommagent pas le produit final.

Le choix du lien dépend donc de la voie de synthèse envisagée, du type de support polymérique utilisé et du type de molécule finale désirée.

L'étude des liens fait l'objet d'une intense recherche et plusieurs revues ont été dédiées à leur étude.⁹⁸

On peut classer les liens en fonction du type de coupure :

- Coupure acide (ex : silyloxy éthers, acétals, lien de Wang, lien de Merrifield).
- Coupure basique (ex : esters, carbonates).
- Photo-labiles.
- Coupure réductive.
- Coupure oxydative.
- Coupure enzymatique.

Pour la synthèse supportée sur le PEG, différents liens ont été utilisés et développés. L'équipe de Lamaty⁹⁹ a, par exemple, développé des liens dénommés PEG-SES, des sulfonamides, qui sont directement liés aux molécules par l'azote (Figure 21) et les synthèses de β -aminoesters et de α -aminoacides cycliques ont été optimisés avec ces liens.

⁹⁸ (a) I. W. James, *Tetrahedron*, **1999**, 55, 4855 ; (b) F. Guillier, D. Orain, M. Brandley, *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 2091.

⁹⁹ (a) S. Varray, R. Lazaro, J. Martinez, F. Lamaty, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2308 ; (b) P. Ribière, C. Enjalbal, J. L. Aubagnac, N. Yadav-Bhatnagar, J. Martinez, F. Lamaty, *J. Comb. Chem.* **2004**, 6, 464.

Les conditions de coupure des molécules finales prévoient l'utilisation de CsF, de Bu₄NF ou de HCl 6 N à 100 °C pendant 24 h.

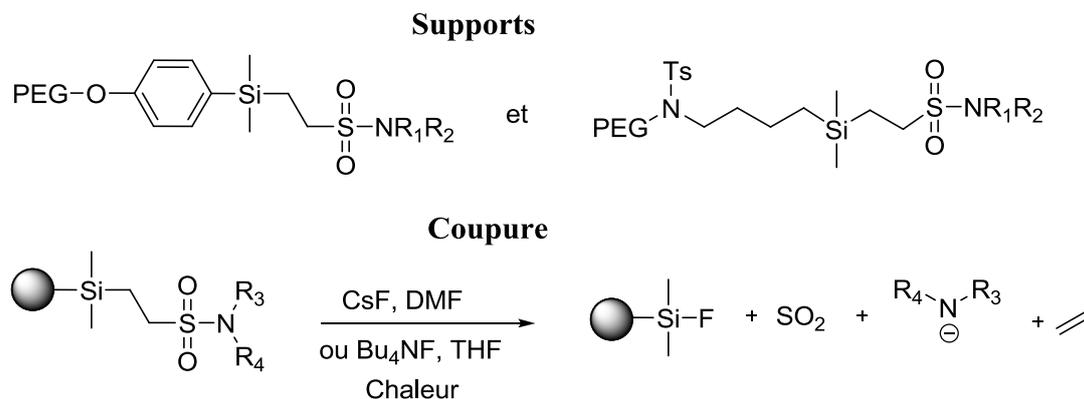


Figure 21

Pour le greffage au PEG, beaucoup de liens clivables en milieu basique ont aussi été développés, en particulier les liaisons esters qui ont été utilisées pour la synthèse de différents types de molécules : benzimidazolyl benzimidazoles,¹⁰⁰ trans β -lactames,¹⁰¹ dérivés d'acide aminés,¹⁰² La liaison ester est fréquemment formée entre un acide et les hydroxyles du PEG, et la méthode la plus utilisée prévoit que la réaction soit faite dans le dichlorométhane en présence de DCC et d'une quantité catalytique de DMAP. Par contre, différents types de coupure ont été réalisés, afin d'avoir des molécules finales différemment fonctionnalisées: Et₃N/MeOH, KCN/MeOH ou MeONa/MeOH pour obtenir des esters méthyliques et NaOH/H₂O pour obtenir des acides.¹⁰³

Nous avons choisi d'utiliser un lien clivable en milieu basique et nous avons décidé d'utiliser la liaison ester pour le greffage au PEG. Dans un premier temps, les conditions classiques d'estérification ont été utilisées¹⁰⁴ (Schéma 13, *Conditions A*).

¹⁰⁰ H. Y. Chen, M. V. Kulkarni, C. H. Chen, C. M. Sun, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6387.

¹⁰¹ S. Z. Jian, Q. Yuan, Y. G. Wang, *Synthesis* **2006**, *11*, 1829.

¹⁰² B. Sauvagnat, F. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6371.

¹⁰³ Y. Shang, J. Jin, Y. Wang, *Reactive & Funct. Polymers* **2006**, *66*, 447.

¹⁰⁴ X. F. Lin, J. Zhang, S. L. Cui, Y. G. Wang, *Synthesis*, **2003**, *10*, 1569.

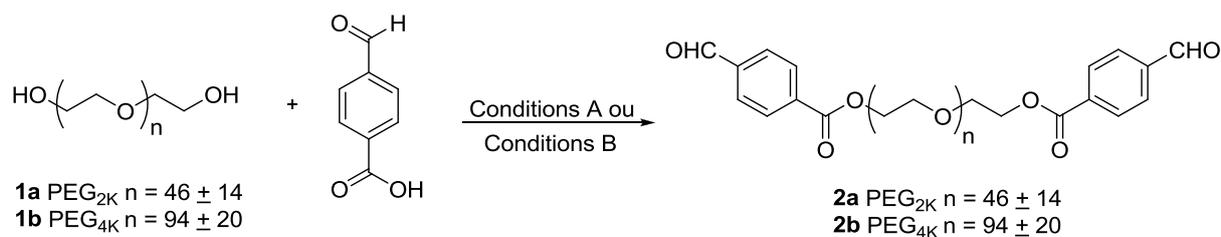


Schéma 13

(Conditions A : DCC 2 eq., DMAP 0,5 eq., CH₂Cl₂, Température ambiante, nuit ;

Conditions B : DIC 6 eq, sans solvant 70 °C, 3,5 heures)

Même si cette réaction donne un excellent résultat (~90 % de rendement), l'utilisation du dichlorométhane ne nous convenait pas. De plus, la purification implique, suite à une filtration sur CELITE, l'utilisation d'une grosse quantité de dichlorométhane, isopropanol et éther éthylique afin d'éliminer l'excès d'acide et la DCC. Nous avons alors développé une nouvelle méthode d'estérification permettant de s'affranchir de l'utilisation de solvants. (Schéma 13, conditions B). La réaction a été réalisée à 70°C afin d'être à l'état fondu du PEG. La diisopropylcarbodiimide (DIC) a été choisie comme activateur car elle est plus économe en atomes que la DCC et aussi parce que le DIC, étant un liquide, donne une solution plus homogène avec le PEG fondu. La conversion est totale lorsque 6 équivalents de DIC et 4 équivalents de 4-carboxybenzaldehyde par rapport à l'alcool sont utilisés. Le temps de réaction est ici fortement diminué puisque 3.5 heures suffisent comparées aux 24 heures nécessaires dans le dichlorométhane. Le traitement de **2a** et **2b** a été fait par ultrafiltration et par extraction / précipitation, afin de comparer les rendements. Les résultats sont présentés dans le Tableau 3.

Polymère	Produit	Conversion	Rdt par Extraction / précipitation	Rdt par ultrafiltration
PEG _{2K}	2a	100 %	90 %	65 %
PEG _{4K}	2b	100 %	88 %	75 %

Tableau 3

La méthode de purification classique par précipitation permet d'avoir des rendements plus élevés pour les deux PEG par rapport à l'ultrafiltration, et la différence est moins importante pour le PEG_{4K} que pour le PEG_{2K}. En effet, la molécule est plus grosse et elle passe donc moins facilement à travers la membrane d'ultrafiltration, qui a un seuil de coupure de 1000

Dalton. L'ultrafiltration nous a permis cependant d'éliminer l'utilisation de tous les solvants organiques, aussi bien pendant la réaction que pendant la purification : le produit, après la réaction, est dilué avec H₂O, filtré sur CELITE et ultrafiltré en utilisant seulement l'eau comme solvant. Cette nouvelle méthode nous a donc permis de greffer de manière plus eco-compatible le lien au PEG dans des temps plus courts. Comme les rendements par ultrafiltration du PEG_{4K} sont plus élevés par rapport aux rendements du PEG_{2K} on pourrait penser le choisir comme support entre les deux, mais il faut aussi tenir compte de la capacité de charge des deux supports, c'est-à-dire la quantité de molécules qu'on peut greffer par gramme de produit. Cette capacité de charge pour le PEG_{2K} est de 1 mmol/g tandis que pour le PEG_{4K}, elle est de 0.5 mmol/g. En conséquence si on part avec la même quantité de supports on obtiendra beaucoup plus de produit greffé avec le PEG_{2K} malgré un rendement plus faible par rapport au PEG_{4K}. (Figure 22).

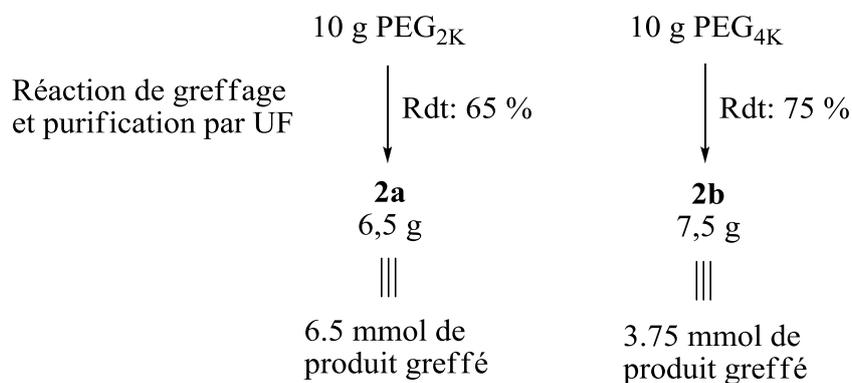


Figure 22

L'analyse des produits **2a** et **2b** a été faite par ¹H RMN, ¹³C NMR, et par MALDI-TOF, et nous avons cherché à déterminer leur pureté. Nous avons retrouvé des pics dans la RMN du proton et dans la RMN du carbone qui correspondaient aux CH₃ de la diisopropyl carbodiimide. Dans un premier temps, nous avons cru qu'ils étaient dus à la présence de DIC dans le produit, et que nous n'avions pas réussi à tout enlever ni par extraction / précipitation, ni par ultrafiltration. Mais progressivement, grâce à une analyse attentive du spectre de masse (Figure 23), nous nous sommes aperçus de la présence de sous-produits, probablement dus à la réaction entre les hydroxyles du PEG et la DIC. (Schéma 14)

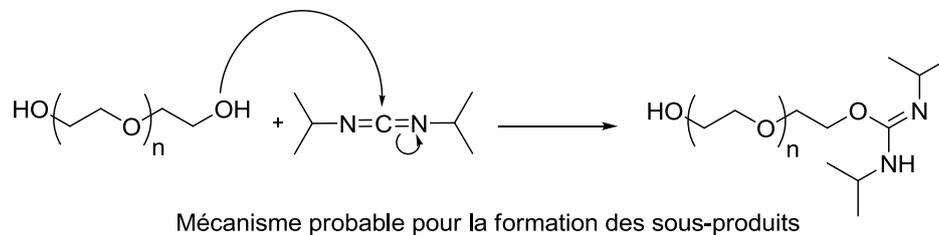
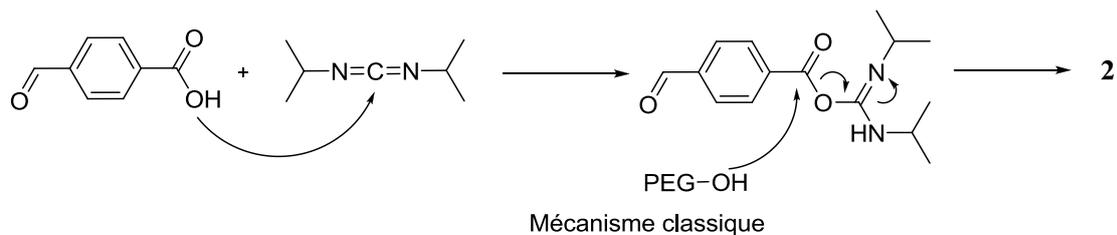


Schéma 14

On a alors analysé aussi les sous-produits obtenus en utilisant la méthode classique de synthèse (DCC, DMAP, CH_2Cl_2), et on a aussi retrouvés des composés similaires ; issus de la réaction du PEG avec la DCC. (Tableau 4).

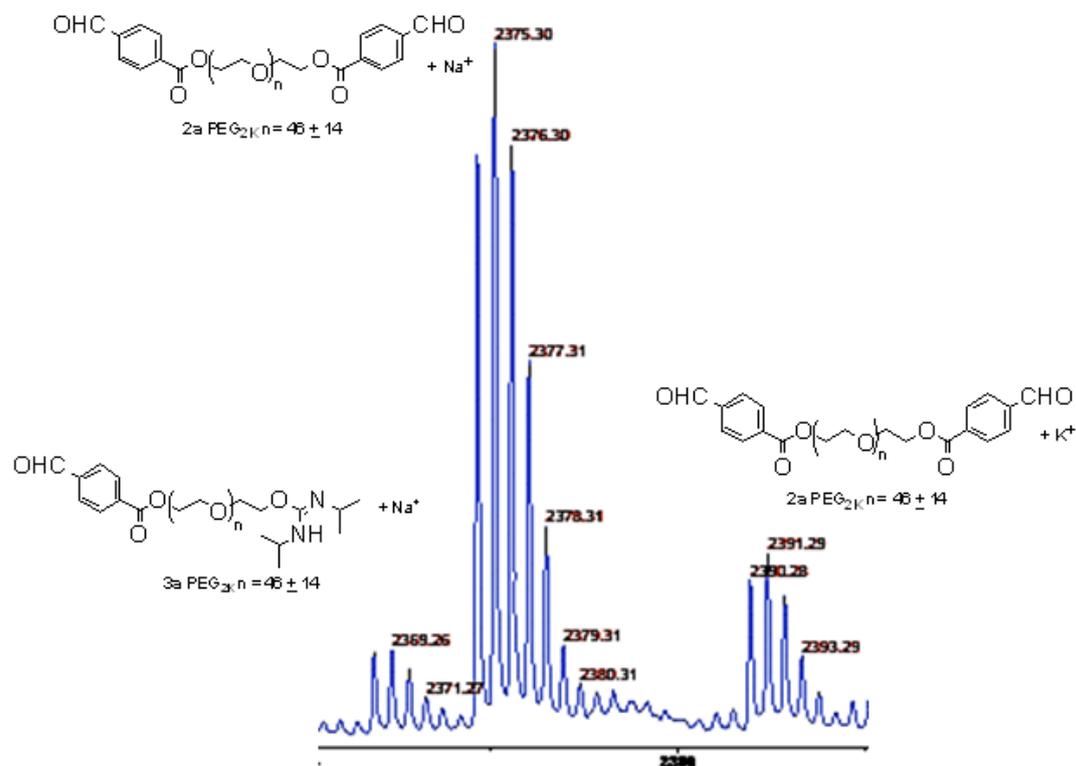


Figure 23

La quantification des sous-produits a été faite par intégration sur le spectre ^1H RMN des isopropyl (dans le cas de la réaction avec DIC) ou des cyclohexyls (dans le cas de la réaction avec DCC) et ils intègrent pour ~5% par rapport au PEG, (PEG_{2K} ou PEG_{4K}) quelque soit la méthode de synthèse. (Tableau 4). On a quand même remarqué qu'avec la méthode sans solvant que nous avons mis au point, le sous-produit di-substitué est présent seulement sur le PEG_{4K} (**4b**). Par contre, en utilisant la méthode classique le sous-produit di-substitué est présent aussi bien sur le PEG_{2K}, que sur le PEG_{4K} (**6a** et **6b**).

En conclusion, nous avons mis au point une nouvelle voie d'accroche de la 4-carboxy-benzaldehyde sur le PEG (2000 et 4000), et nous avons montré que l'on pouvait purifier ces produits par ultrafiltration. Notre méthode est donc beaucoup plus éco-compatible par rapport à la méthode classique, même si elle reste un peu moins efficace, les rendements étant plus faibles. On a aussi montré la présence de ~5% de sous-produits sur les produits **2a** et **2b**, ce qui, à notre connaissance, n'avait jamais été remarqué avant.

Nous avons alors décidé d'utiliser ces produits dans une synthèse à une étape pour pouvoir développer ensuite des synthèses plus élaborées en milieux aqueux.

$\text{RO} \left(\text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{O} \right)_n \text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{OR}'$	R	R'	Méthode ^a	% Observé ^b
3a n= 46+/- 14			B	5
3b n= 94+/- 20			B	5
4b n= 94+/- 20			B	5
5a n= 46+/- 14			A	5
5b n= 94+/- 20			A	5
6a n= 46+/- 14			A	5
6b n= 94+/- 20			A	5

^a A : DCC, DMAP, CH₂Cl₂ ; B : DIC, sans solvant.

^b quantifié par RMN ¹H.

Tableau 4

2.2 Réaction de Biginelli

Comme nous l'avons déjà vu auparavant, le but de notre projet est d'appliquer le concept de synthèse supportée sur PEG à la synthèse de produits hétérocycliques, dans l'eau ou sans solvant, en utilisant l'ultrafiltration comme méthode de purification. Nous envisageons ensuite de développer ces synthèses en flux continu. Dans le but de valider la stratégie que nous avons choisi de développer, nous avons tout d'abord choisi de la mettre en œuvre dans une synthèse à 1 étape.

Nous avons décidé de synthétiser des dihydropyrimidones via la réaction de Biginelli.¹⁰⁵ Cette réaction a été décrite pour la première fois par Biginelli en 1893. C'est une réaction multi-composante entre une β -dicétone ou un β -cétoster, l'urée (ou la thio-urée) et un aldéhyde, souvent aromatique. (Schéma 15) Elle a beaucoup été étudiée soit pour son mécanisme soit pour l'importance biologique des produits obtenus.¹⁰⁶ Ces produits ont, en effet, des activités anticancéreuses, anti-hypertensives,¹⁰⁷ et antifongiques.¹⁰⁸

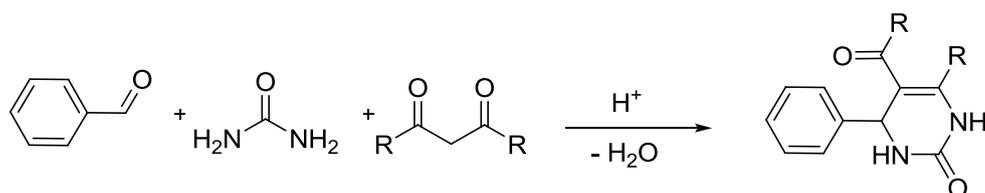


Schéma 15

Trois mécanismes différents ont été proposés pour cette réaction :

- Un mécanisme qui fait intervenir la réaction de Knoevenagel comme une des étapes nécessaire pour la formation du produit final¹⁰⁹ (Schéma 16).

¹⁰⁵ P. Biginelli, *Gazz. Chim. Ital.* **1893**, 23, 360.

¹⁰⁶ C. O. Kappe, *Tetrahedron* **1993**, 49, 6937.

¹⁰⁷ C.O. Kappe, *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 1043.

¹⁰⁸ M. Minu, A. Thangadurai, S. R. Wakode, S. S. Agrawal, B. Narasimhan *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2008**, 341, 231.

¹⁰⁹ F. S. Sweet, J. D. Fissekis, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 8741.

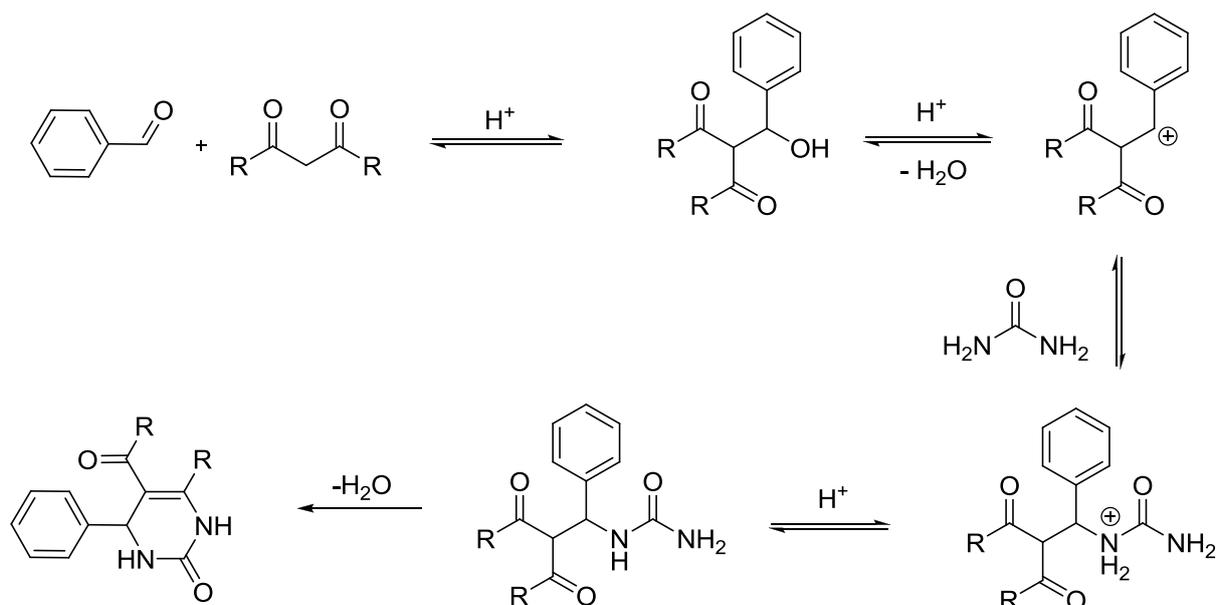


Schéma 16

➤ Un mécanisme qui prévoit la formation d'une énamine intermédiaire.¹¹⁰ (Schéma 17)

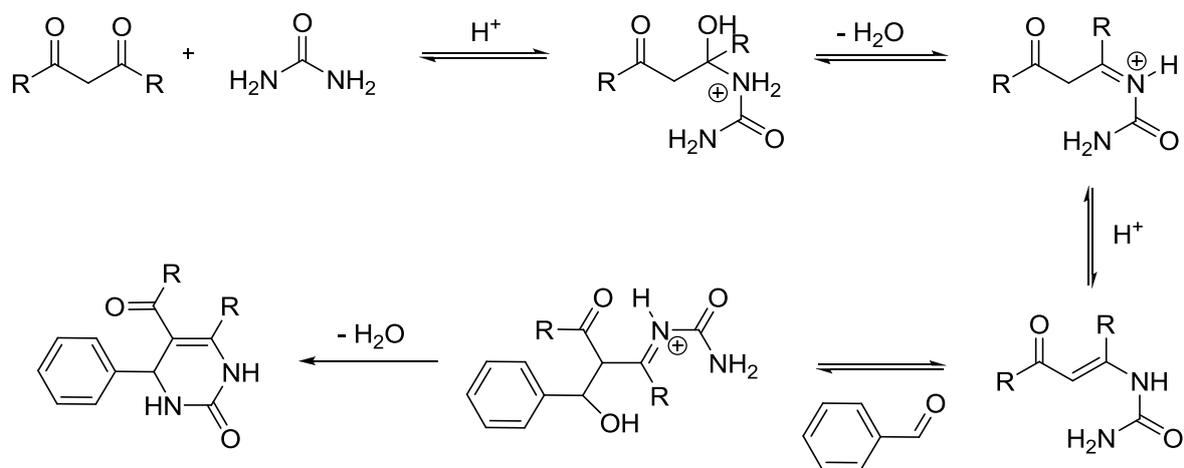


Schéma 17

➤ Un mécanisme qui nécessite la formation d'un iminium comme intermédiaire de réaction.¹¹⁰ (Schéma 18)

¹¹⁰ F K. Folkers, T. B. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1933**, 55, 3784.

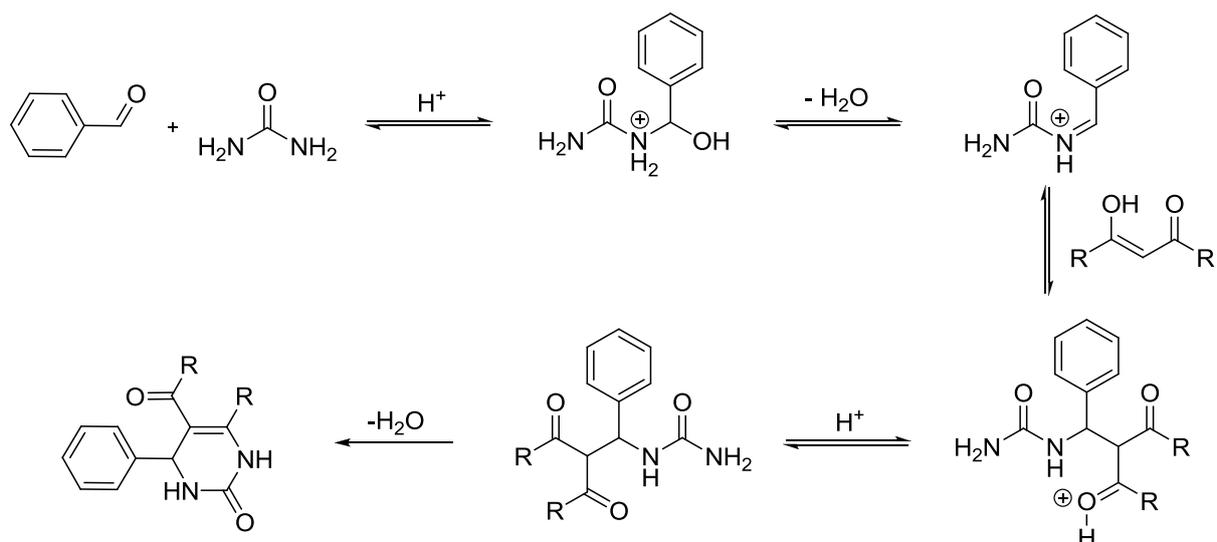


Schéma 18

Kappe¹¹¹ en 1997 et de De Souza¹¹² en 2009 ont montré, grâce à des analyses RMN, ESI(+)-MS et à des calculs DFT, que le mécanisme passant par la réaction de Knoevenagel ne contribuait pas de manière significative à la formation du produit final ; ils ont montré que le mécanisme le plus probable est celui qui prévoit un intermédiaire iminium (Schéma 18) cinétiquement et thermodynamiquement favorisé.

La réaction de Biginelli supportée sur PEG avait déjà été décrite par l'équipe de Wang.¹¹³ La stratégie utilisée était l'accrochage de la β-dicétonone au PEG par une réaction réalisée dans le toluène, et la purification prévoyait l'utilisation de solvants organiques (Schéma 19).

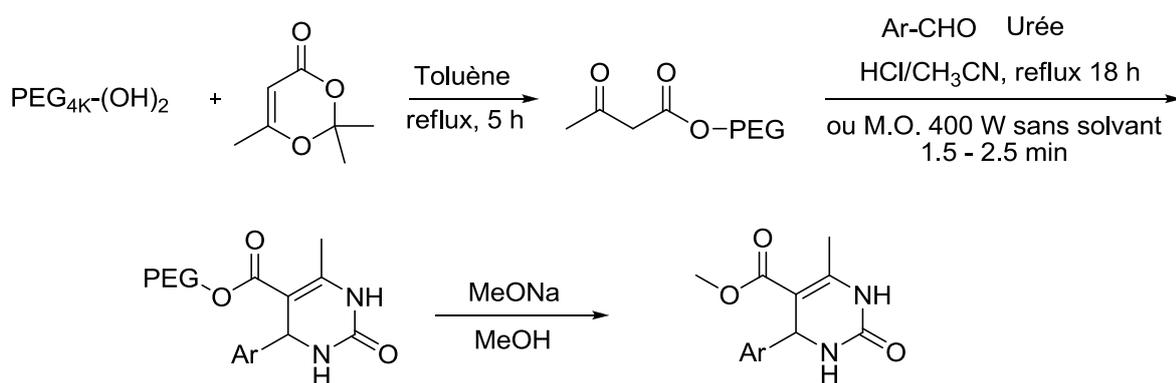


Schéma 19

¹¹¹ C. O. Kappe, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7201.

¹¹² R. O. M. A. De Souza, E. T. da Penha, H. M. S. Milagre, S. J. Garden, P. M. Esteves, M. N. Eberlin, O. A. C. Antunes, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9799.

¹¹³ M. Xia, Y. G. Wang, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7703.

Nous avons développé une synthèse similaire dans laquelle l'aldéhyde est lié au PEG. La réaction de Biginelli avait été décrite dans le PEG sans catalyseur,¹¹⁴ nous avons d'abord testé ces conditions en réalisant la réaction entre **2a**, la pentanedione **7**, et l'urée à 100 °C. Dans ce cas, le PEG sert à la fois de support et de solvant de réaction. Ce protocole original avait déjà été mis en œuvre par les équipes de Wang¹¹³ et Lamaty.¹¹⁵ Malgré les différents essais faisant varier les quantités de β -dicétone et d'urée nous n'avons jamais pu obtenir une conversion totale, et souvent, nous avons retrouvé des sous-produits et des produits de dégradation. Cette réaction multicomposante étant généralement décrite en présence d'un acide comme catalyseur, nous avons testé la réaction avec une quantité catalytique de triflate d'ytterbium. Une conversion totale a été obtenue, (vérifiée par RMN ¹H), en utilisant 4 équivalents de dicétone **7**, 4 équivalents d'urée et 10 mol% de catalyseur par rapport à l'aldéhyde (**2a** et **2b**), sans solvant, à 100 °C pendant trois heures. Avec le β -cétoestér **8** dans les mêmes conditions, nous avons obtenu la conversion totale en trois heures, mais, dans le cas de la β -dicétone **9** le temps de réaction a été augmenté à 12 heures, vraisemblablement parce que ce composé est plus encombré par rapport aux substrats **7** et **8**. Les mêmes réactions ont également été réalisées à partir de l'aldéhyde **2b**. (Schéma 20).

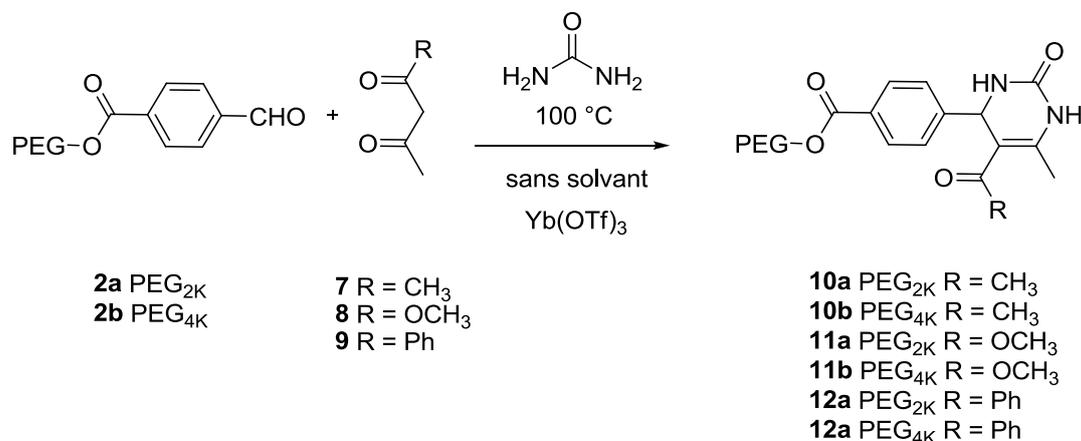


Schéma 20

La purification des produits a été réalisée par extraction/précipitation et par ultrafiltration pour pouvoir comparer les rendements de ces deux méthodes. (Tableau 5).

¹¹⁴ S. L. Jain, S. Singhal, B. Sain, *Green Chem.* **2007**, *9*, 740.

¹¹⁵ (a) B. Sauvagnant, F. Lamaty, R. Lazaro, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6371. (b) P. Ribière, N. Yadav-Bhatnagar, J. Martinez, F. Lamaty, *QSAR Comb. Sci.* **2004**, *23*, 911.

Produit	Rdt isolé par Ultrafiltration	Rdt isolé par extraction/précipitation
10a	72 %	91 %
10b	79 %	86 %
11a	65 %	82 %
11b	80 %	88 %
12a	65 %	81 %
12b	80 %	76 %

Tableau 5

Grace à ces données, nous avons pu analyser la différence d'efficacité entre les deux types de purification, comme nous l'avons déjà fait pour la synthèse de **2a** et **2b**. Pour le PEG_{4K}, nous constatons que les rendements sont comparables pour les deux méthodes, par contre pour le PEG_{2K} la différence de rendement est plus importante (~15 % plus faible par l'ultrafiltration), conformément à ce que nous avons déjà observé pour la réaction d'estérification. Mais, même si moins efficace, cette méthode nous a permis de faire une synthèse plus éco-compatible puisque le seul solvant utilisé était l'eau.

Nous avons enfin testé la coupure du produit final en milieux aqueux, et nous avons décidé de saponifier l'ester avec NaOHaq 0.5 M, afin d'obtenir des acides ; la réaction a été conduite à température ambiante et au bout d'une nuit la coupure était totale. (Schéma 21)

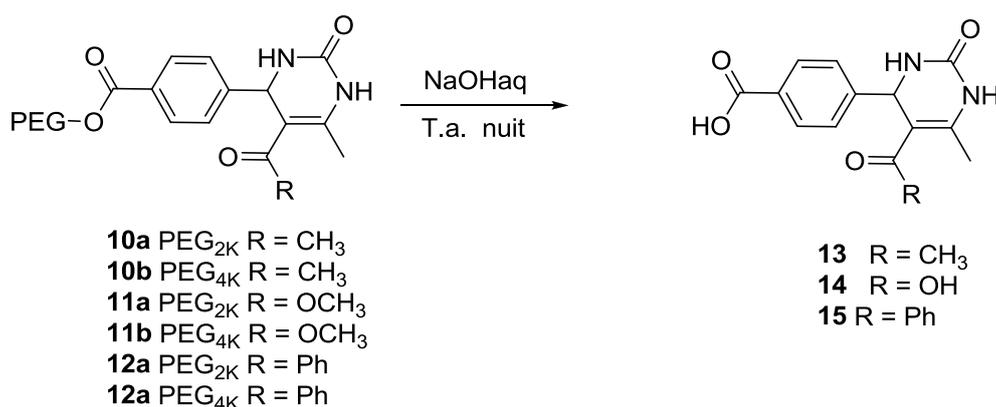


Schéma 21

Après acidification du milieu réactionnel les produits **13**, **14** et **15** ont été récupérés par filtration, cependant, après analyse RMN ¹H, ceux-ci étaient encore contaminés par ~15 % de

PEG. Ils ont donc été re-solubilisés dans l'eau à pH 13 et l'ultrafiltration de la solution aqueuse nous a permis d'obtenir les produits finaux, après acidification et filtration, avec une pureté d'environ 98% (déterminée par RMN ^1H). Il reste quelques traces de PEG que nous n'avons pas réussi à enlever totalement. Les rendements de cette étape sont de 60 % pour les composés ayant le PEG_{2K} comme support du produit de départ (**10a**, **11a**, **12a**) et de 70 % pour les composés issus de la synthèse supportée sur le PEG_{4K} (**10b**, **11b**, **12b**).

En conclusion, nous avons montré que la chimie supportée sur PEG associée à l'ultrafiltration comme méthode de purification est efficace. En effet, nous avons réussi à synthétiser trois nouvelles dihydropyrimidones, via la réaction de Biginelli, sans utiliser de solvant organique ni pour la synthèse ni pour la purification des produits.

Comme nous avons déjà fait pour le produit **2**, la comparaison de la quantité des produits obtenus avec les deux supports a été réalisée (Figure 24).

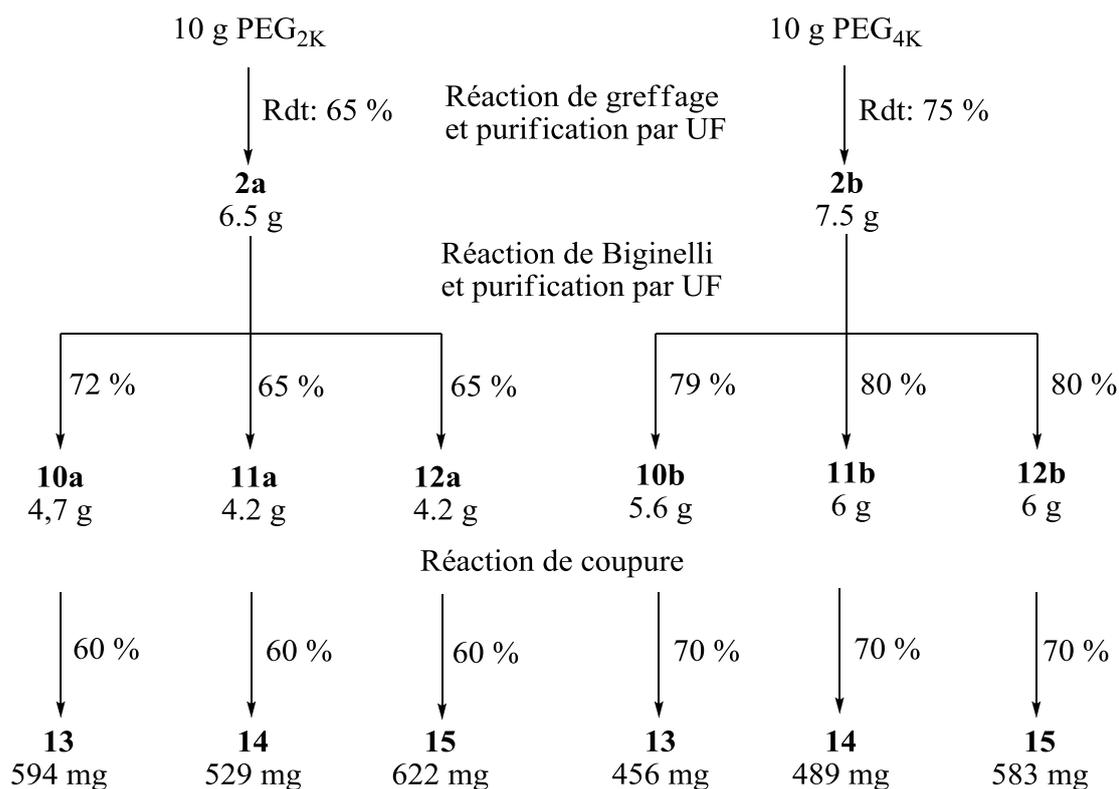


Figure 24

Nous pouvons remarquer qu'en utilisant le PEG_{2K} comme support de synthèse la quantité de produit final isolé, à partir de la même masse de support, est toujours plus élevée par rapport aux réactions dans lesquelles le PEG_{4K} a été utilisé comme support, malgré des rendements plus faibles. Nous avons alors choisi d'utiliser le PEG_{2K} comme support pour toutes les synthèses successives.

Dans le cadre de la chimie verte, il est également très important de considérer l'aspect énergétique et l'aspect sécurité du procédé mis en œuvre. L'utilisation des microréacteurs apporte une solution intéressante à ces deux points car ils permettent d'une part de travailler avec des quantités très faibles de mélanges réactionnels tout en assurant une productivité importante grâce au flux continu, et d'autre part, leurs faibles dimensions permettent des transferts de chaleur très efficaces et donc un gain en énergie dépensée pour réaliser une transformation. Nous avons donc voulu tester un tel procédé pour la réaction de Biginelli supportée sur le PEG, c'est pourquoi nous avons optimisé la réaction dans l'eau, car il est impossible de réaliser des réactions en microréacteur en utilisant des substrats solides.

2.2.1 La réaction de Biginelli dans l'eau

Différents exemples de réactions de Biginelli en milieux aqueux sont décrits dans la littérature. Le premier cas a été décrit en 2003 par l'équipe de Mereyala.¹¹⁶ Cette équipe a comparé l'efficacité du $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, en tant que catalyseur, dans l'eau à reflux, dans l'EtOH à reflux et sans solvant à 90 °C. Bien que de meilleurs résultats aient été obtenus dans l'éthanol à reflux, la réaction dans l'eau a conduit à de bons rendements variant de 73 à 90 % selon le substrat. Le cérium catalyserait la réaction en se liant à l'imine intermédiaire et à la dicétone. (Schéma 22).

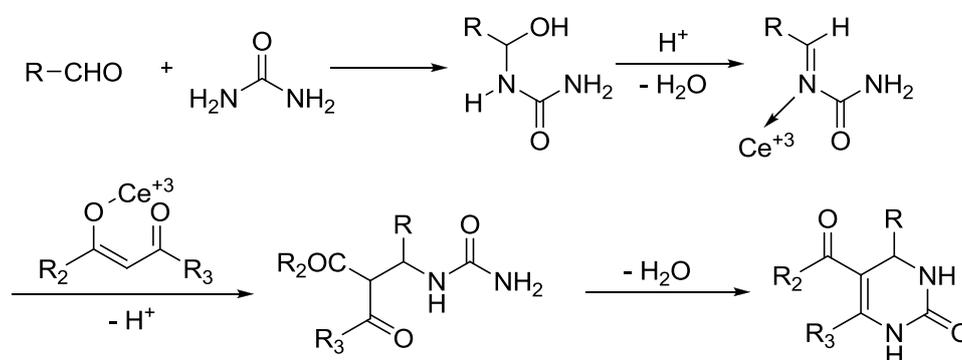


Schéma 22

Pour notre synthèse, nous avons, dans un premier temps, décidé d'utiliser le même catalyseur que pour la réaction sans solvant, le triflate d'ytterbium, et d'étudier la réaction entre l'aldéhyde **2a**, la pentanedione **7** et l'urée. Malgré plusieurs essais en modifiant la température, le nombre d'équivalents et les additifs, nous ne sommes jamais parvenus à dépasser 10 % de conversion par rapport à l'aldéhyde de départ. Nous avons donc décidé de changer de catalyseur et nous avons testé différents composés utilisés pour catalyser la réaction de Biginelli dans l'eau : le chlorure de cérium, le carbonate d'ammonium,¹¹⁷ l'acide sulfurique, le bis-triflimide d'or, le bis-triflimide d'argent et le bis-triflimide de nickel.¹¹⁸ Aucun de ces catalyseurs ne nous a permis d'obtenir une conversion supérieure à 35 %. Finalement, utilisant les conditions de Suzuki et al.,¹¹⁸ nous avons testé le bis-triflimide de cuivre en présence d'une quantité catalytique d'acide chlorhydrique et nous avons obtenu la dihydropyrimidinone **10a** avec une conversion totale par rapport à l'aldéhyde de départ en 12

¹¹⁶ D. S. Bose, L. Fatima, H. B. Mereyala, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 587.

¹¹⁷ F. Tamaddon, Z. Razmi, A. A. Jafari, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 1187.

¹¹⁸ I. Suzuki, Y. Suzumura, K. Takeda, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 7861.

heures à température ambiante. Malgré l'obtention du produit souhaité, nous avons décidé de changer les conditions car ce catalyseur n'est pas commercial, et est synthétisé à partir de la trifluoromethane-sulfonimide, dont le prix est de 111 € pour 5 g. Nous avons alors testé le carbonate de cuivre (29,30 € pour 25 g) en présence d'une quantité catalytique d'acide chlorhydrique, à température ambiante, dans l'eau, et la réaction était complète au bout d'une nuit. (Schéma 23).

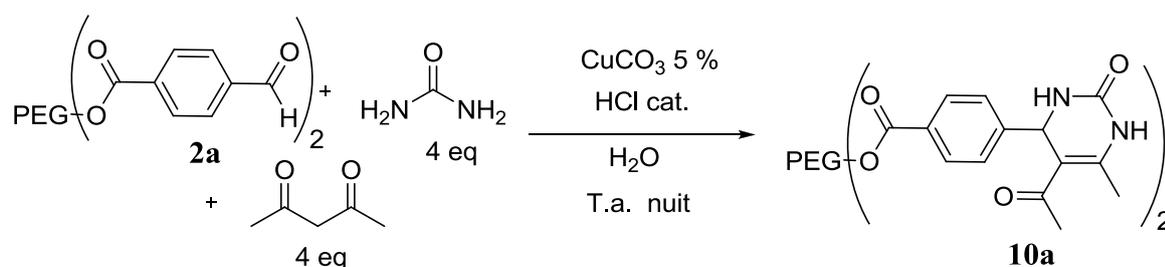


Schéma 23

Nous avons réalisé des expériences de contrôle sans acide chlorhydrique, en présence de carbonate de cuivre et sans carbonate de cuivre, en présence d'acide chlorhydrique. Dans les deux cas la conversion n'a pas dépassé 20 % au bout de la nuit, ce qui montre que les deux composés sont nécessaires pour aboutir au produit final avec une conversion totale.

Malheureusement ce système ne donne pas une solution homogène, car le carbonate de cuivre n'est pas bien soluble dans l'eau ($K_s = 2,5 \times 10^{-10}$ à 298.15 °K), et nous ne pouvons pas l'utiliser pour réaliser la réaction en flux continu. Il a été remplacé par le chlorure de cuivre qui est complètement soluble dans l'eau. Dans ce cas la solution était homogène et la conversion au bout de la nuit était complète. Nous avons donc montré que le chlorure de cuivre catalyse la réaction de Biginelli dans l'eau aussi bien que le carbonate de cuivre.

En conclusion, nous avons mis au point la réaction de Biginelli dans l'eau, en utilisant soit le carbonate de cuivre et l'acide chlorhydrique soit le chlorure de cuivre et l'acide chlorhydrique en tant que catalyseurs, et c'est, à notre connaissance, la première fois que ces systèmes sont utilisés pour catalyser cette réaction dans l'eau.

2.2.2 Réaction de Biginelli en flux continu

En 2006, l'équipe de Kappe¹¹⁹ décrit l'étude de la réaction de Biginelli en flux continu, sous microondes ; la réaction a été conduite dans l'éthanol et les rendements finaux étaient d'environ 50 %.

Nous avons alors décidé d'appliquer notre méthode de synthèse en milieu aqueux à la synthèse en microréacteur. Cette méthode ne permettant pas des temps de réaction trop longs, nous avons fait différents tests afin d'avoir une conversion totale dans des temps les plus courts possibles. Comme il est montré dans le Tableau 6, nous avons essayé différentes conditions et nous avons pu remarquer qu'une température trop élevée ne permet pas d'obtenir une conversion totale et conduit souvent à la formation de sous-produits (essais 1 et 3). La température optimale semble se situer entre 40 et 60 °C.

Essai	[Aldehyde] (M)	Dicétone et urée (eq.)	T (°C)	T _R ^a (min)	Conv. (%)
1	0,04	4	80	98	59
2	0,045	4	60	125	~70
3	0,045	4	70	125	~70
4	0,06	4	60	167	100
5	0,095	4	60	125	95
6	0,095	4	60	167	100
7	0,095	4	40	167	98
8	0.095	6	60	125	100

Tableau 6 (CuCl₂ 10 mol% ; HCl 12,5 mol%)

a : volume réacteur 10 mL ; les débits des deux pompes sont identiques

Nous avons choisi les conditions qui utilisaient le moins d'équivalents pour lesquelles l'aldéhyde était le plus concentré, et nous avons ainsi pris les conditions de l'essai 6 même si la réaction dure plus longtemps. (Figure 25).

¹¹⁹ T. M. Glasnov, D. J. Vugts, M. M. Koningstein, B. Desai, W. M. F. Fabian, R. V. A. Orru, C. O. Kappe, *QSAR Comb. Sci.* **2006**, 25, 509.

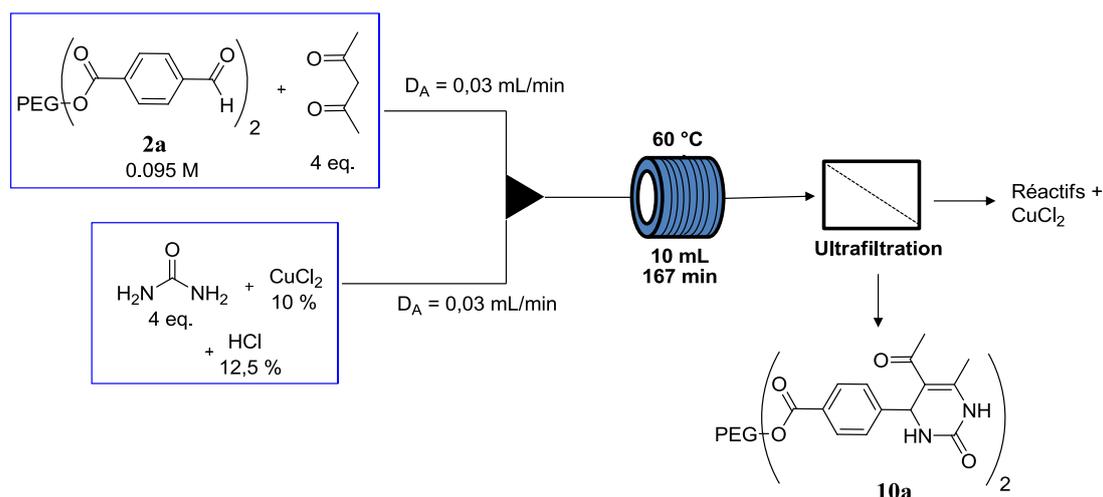


Figure 25

Pour la purification du produit, nous avons décidé d'utiliser l'ultrafiltration, et, à notre connaissance, c'est la première fois que ces deux méthodes sont associées pour la synthèse et la purification des produits supportés. Nous avons donc transféré, directement 11 mL de produit sortant du réacteur dans la cellule d'ultrafiltration, et la purification a été faite classiquement à 3,5 bar de pression, trois fois, en rajoutant, 40 mL d'eau chaque fois, pour finalement isoler le produit avec un rendement de 72 %.

L'application de cette méthode à d'autres substrats est actuellement en cours d'étude au laboratoire.

En conclusion, nous avons démontré que l'utilisation du PEG comme support soluble pour la synthèse en phase aqueuse en flux continu couplé à l'ultrafiltration est une technique efficace qui permet de ne pas utiliser de solvants organiques. Nous avons alors décidé de mettre en œuvre ce procédé pour des synthèses plus complexes.

2.3 Réaction de Baylis-Hillman et applications envisagées

Après avoir montré que notre concept, présenté précédemment, pouvait fonctionner, nous avons cherché à l'appliquer à une synthèse multi-étapes. En effet, cela pourrait nous permettre de synthétiser des produits possédant une activité biologique intéressante et qui sont chimiquement plus difficiles à obtenir. Nous avons choisi d'essayer tout d'abord avec une synthèse de deux étapes pour pouvoir, par la suite, augmenter successivement le nombre d'étapes.

Pour atteindre notre but, nous avons choisi la réaction de Morita-Baylis-Hillman¹²⁰ comme étape clef de notre synthèse, car elle permet d'obtenir, en une étape, des produits hautement fonctionnalisés dont les applications sont très variées.¹²¹ (Figure 26).

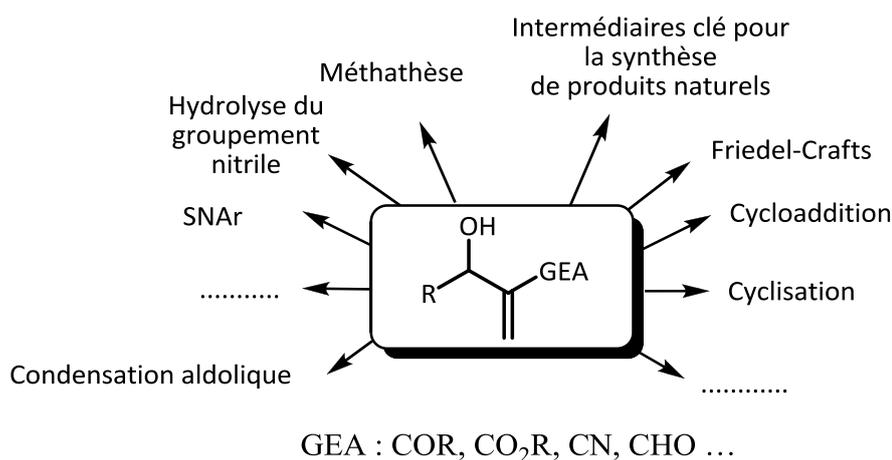


Figure 26

Les adduits de Baylis-Hillman (BH) sont obtenus par réaction entre un accepteur de Michael et un aldéhyde ou une imine, catalysée par une amine tertiaire (réaction de Baylis - Hillman) ou une phosphine (réaction de Morita). Le mécanisme de cette réaction a longtemps été objet de discussions, mais aujourd'hui une version, présentée dans le Schéma 24¹²², a globalement été acceptée.

¹²⁰ (a) K. Morita, Z. Suzuki, H. Hirose, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1968**, *41*, 2815. (b) B.A. Baylis, M. E. D. Hillman, German Patent 2155113, **1972**.

¹²¹ V. Singh, S. Batra, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4511.

¹²² J. S. Hill, N. S. Isaacs, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 5007.

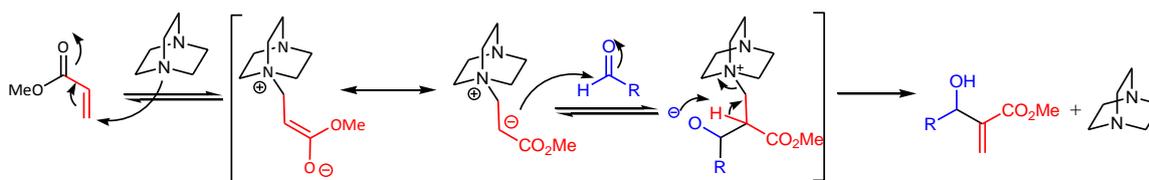


Schéma 24

Différentes études mécanistiques et cinétiques ont été effectuées sur cette réaction et en 2010, Cantillo et Kappe¹²³ ont montré que cette réaction était réversible. En effet, ils ont mis en réaction l'adduit de BH avec du DABCO à 120 °C dans le méthanol et ils ont observé la formation de 68% de l'aldéhyde correspondant au bout d'une heure. Ils ont ensuite laissé le mélange à température ambiante pendant 24 h et ils ont alors constaté une augmentation de la quantité de produit de BH, présent à 72 % (Schéma 25). Ces observations n'ont pas seulement montré la réversibilité de cette réaction, mais également la forte dépendance entre la constante d'équilibre et la température : la formation de l'adduit de BH est favorisée à basses températures, tandis que les réactifs sont les espèces plus abondantes à températures élevées.

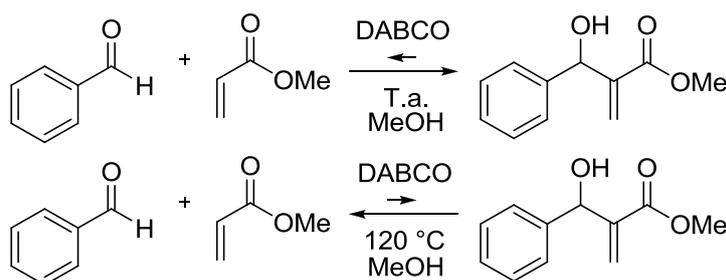


Schéma 25

Pour mieux comprendre la thermodynamique de cette réaction, les auteurs ont effectué des études théoriques pour calculer l'enthalpie et l'entropie de la réaction. Ils ont obtenu des valeurs de -15 Kcal/mol et -45 Kcal/mol/K respectivement, valeurs confirmées expérimentalement. Grâce à ces données, ils ont pu montrer la dépendance du ΔG par rapport à la température comme représentée sur la Figure 27.

¹²³ D. Cantillo, C. O. Kappe, *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 8615.

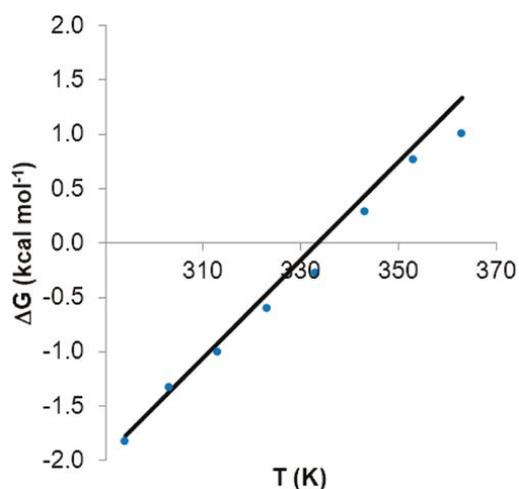


Figure 27 (extrait de la ref. 123)

ΔG en fonction de T dans la réaction entre le benzaldéhyde et l'acrylate de méthyle dans le méthanol

Dans le cas de la réaction de BH entre le benzaldéhyde et l'acrylate de méthyle dans le méthanol il a été prouvé qu'approximativement à 330 K (57 °C) la réaction devient endergonique, ce qui fournit une explication rationnelle au fait que l'adduit de BH se forme moins bien à température élevée. Des analyses supplémentaires ont montré que ces valeurs changent en fonction des produits de départ. Si l'aldéhyde aromatique est substitué avec des groupements électro-attracteurs, le processus devient endergonique à des températures plus élevées (ex. 107 °C pour le 4-nitrobenzaldéhyde), alors que si l'aldéhyde est substituée par des groupements électro-donneurs ce processus est observé à des températures plus basses (ex. 4-methoxybenzaldéhyde) (Figure 28).

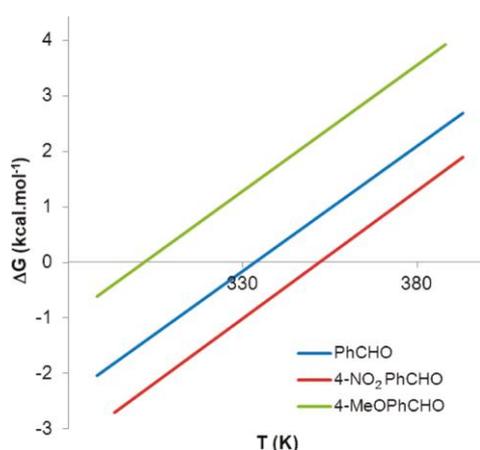


Figure 28 (extrait de la ref.123)

ΔG en fonction de la température théorique pour les trois différents aldéhydes

Nous avons pensé pouvoir réaliser cette réaction avec l'aldéhyde **2a**, précédemment utilisée dans la réaction de Biginelli. En effet, la présence d'un groupement électro-attracteur de type ester en para de l'aldéhyde rend le processus endergonique à des températures plus élevées, ainsi, la limite de température devrait être proche de celle du 4-nitrobenzaldéhyde.

La réaction de Morita-Baylis-Hillman a été utilisée pour la synthèse supportée sur PEG de différents hétérocycles : 1,4-oxazépin-7-ones,¹²⁴ 3,5-substituées-isoxazolines,¹²⁵ benzazépines¹²⁶ et des études de réactivité ont été effectués. Reiser et son équipe¹²⁴ ont montré que cette réaction est favorisée dans les solvants protiques par rapport aux solvants aprotiques et que l'addition d'un solvant protique dans le dichlorométhane permet d'augmenter les rendements. Ils ont aussi remarqué que la 3-hydroxyquinuclidine est un meilleur catalyseur que le DABCO ce qui a été confirmé par Lamaty^{115(b)} et son équipe dans la réaction d'aza-Baylis-Hillman.

Dans tous ces exemples l'aldéhyde n'a jamais été lié au PEG, mais ou le dérivé oléfine ou l'amine ont été liés au support.

Dans les exemples cités et pendant longtemps, cette réaction n'a pas été développée dans l'eau. Elle est le plus souvent réalisée en milieu organique ou, dans le cas de Lamaty, sans solvant. La première étude de cette réaction en milieu aqueux a été rapportée par Augé¹²⁷ et al. en 1994. Plus tard, d'autres groupes ont également étudié cette réaction dans l'eau comme seul solvant,¹²⁸ dans des milieux eaux/cosolvants,¹²⁹ ou encore "sur l'eau".¹³⁰

A notre connaissance, aucun exemple n'a été décrit dans la littérature concernant la réaction de Baylis-Hillman sur support en milieu aqueux.

Au laboratoire, Raphaël Turgis, au cours de sa thèse, a optimisé cette réaction¹³¹ et les conditions utilisées sont présentées dans le Schéma 26.

¹²⁴ R. Racker, K. Doring, O. Reiser, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6932.

¹²⁵ Y. Shang, Z. Feng, L. Yuan, S. Wang, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5779.

¹²⁶ P. Ribière, V. Declerck, Y. Nédellec, N. Yadav-Bhatnagar, J. Martinez, F. Lamaty, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 10456.

¹²⁷ J. Augé, N. Lubin, A. Lubineau, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 7947.

¹²⁸ (a) V.K. Aggarwal, D.K. Dean, A. Mereu, R. Williams, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 510 ; (b) P. Caumul, H. C. Hailes *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8125.

¹²⁹ (a) J. Cai, Z. Zhou, G. Zhao, C. Tang, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4723 ; (b) S. Luo, B. Zhang, J. He, A. Janczuk, P. G. Wang, J.-P. Cheng *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7369 ; (c) R. Gatri, M. M. El Gaïed, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7835 ; (d) H. J. Davies, A. M. Ruda, N. C. O. Tomkinson, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1461 ; (e) R. O. M. A. de Souza, V. L. P. Pereira, P. M. Esteves, M. L. A. A. Vasconcellos, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5902.

¹³⁰ (a) K. Asano, S. Matsubara, *Synlett* **2009**, *35* ; (b) K. Asano, S. Matsubara, *Synthesis* **2009**, 3219.

¹³¹ R. Turgis, *These de Doctorat de L'Université Paris-SUD XI 12/10/2009*.

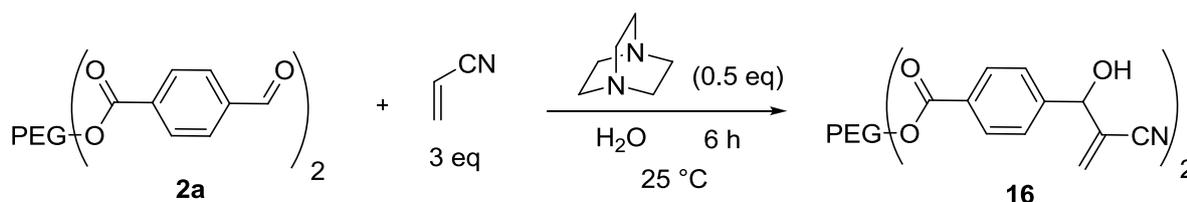


Schéma 26

Le traitement prévoyait l'évaporation du solvant, la dissolution dans le méthanol et la précipitation finale par du diéther pour aboutir au produit final avec un excellent rendement de 97 %.

Afin de limiter l'utilisation de solvants organiques lors du traitement, nous nous sommes intéressés à purifier le produit final par ultrafiltration. Ainsi après six heures de réaction, la solution a été directement transférée à l'intérieur de la cellule d'ultrafiltration et trois cycles ont été effectués. Le produit final a pu être récupéré avec un rendement de 84 %, rendement inférieur à celui obtenu par extraction / précipitation mais nous n'avons utilisé aucun solvant organique pendant la purification, ce qui était notre but.

Nous nous sommes ensuite intéressés à développer cette réaction en flux continu.

2.3.1 La réaction de Baylis-Hillman en flux continu

En 2006, Acke et Stevens¹³² avaient déjà travaillé sur l'optimisation de cette réaction en flux continu. Après une étude approfondie, ils ont pu trouver les meilleurs conditions pour son déroulement en flux, en utilisant 1 équivalent de DABCO, 3 équivalents de méthyl acrylate et un mélange 1:1 eau/dioxane à température ambiante. Ils ont aussi étudié l'influence de la concentration des réactifs et ont observé que les meilleurs taux de conversion étaient obtenus pour des concentrations élevées. Pour pouvoir obtenir une conversion totale, ils ont dû utiliser la méthode du « flux-arrêté », c'est-à-dire qu'ils ont arrêté le débit à intervalles constants pour pouvoir augmenter le temps de résidence à trois heures. Cette équipe a également mis en évidence une supériorité du procédé en flux continu puisque dans ces conditions, le temps de réaction était réduit d'environ 30%

Nous avons choisi de développer la réaction de Baylis-Hillman en utilisant l'aldéhyde **2a** et l'acrylonitrile comme produits de départ, et le DABCO en tant que catalyseur. Comme nous

¹³² D. R. J. Acke, C. V. Stevens, *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 417.

n'avons pas rencontré de problèmes de solubilité des substrats, nous avons pu utiliser l'eau comme seul solvant de la réaction.

Nous avons décidé de préparer deux solutions et nous avons partagé le produit **2a** en deux, afin d'éviter problèmes de débit liés à la viscosité des solutions. Dans une solution, il y avait **2a** et l'acrylonitrile (solution B) et dans l'autre **2a** et le DABCO (solution A). Les résultats sont présentés dans le Tableau 7.

Essai	[2a] mol/L sol A	[2a] mol/L sol B	DABCO (équiv.)	Acrylonitrile (équiv.)	Débit A (ml/min)	Débit B (ml/min)	T (°C)	T _R ^C (min)	Conv. (%)
1	0,08	0,08	0,25	3	0,167	0,167	50	30	19
2	0,08	0,08	0,25	3	0,1	0,1	65	50	47
3	0,21	0,21	0,25	3	0,1	0,1	65	50	50
4	0,085	0,085	0,25	3	0,1	0,1	100	50	50 ^a
5	0,043	0,13	0,5	3	0,15	0,15	100	33	80 ^a
6	0,043	0,13	0,5	3	0,15	0,15	80	33	90 ^b
7	0,043	0,13	0,5	3	0,137	0,163	80	33	95 ^b
8	0,043	0,13	0,5	4	0,137	0,163	60	33	98 ^b
9	0,032	0,097	0,5	4	0,15	0,15	60	33	98 ^b
10	0,032	0,097	0,5	5	0,15	0,15	60	33	100 ^b
11	0,032	0,097	0,5	5	0,2	0,2	60	25	98 ^b

^a présence de sous-produits et ~30% de coupure

^b ~10% de coupure

^c Volume du réacteur 10 mL

Tableau 7

Dans les essais 1 et 2, nous avons testé des concentrations en **2a** de 0,08 M et, afin de comprendre l'effet que la concentration avait sur la réaction, nous avons travaillé avec une concentration de 0,21 M dans l'essai 3. La conversion lors du troisième essai est comparable à celle de l'essai 2 : la concentration ne joue donc pas un rôle important dans la réaction.

Les premiers essais ont été effectués avec la même concentration de PEG dans les deux solutions, mais rapidement, on s'est aperçu que l'acrylonitrile rendait la solution moins visqueuse. Cela peut probablement s'expliquer parce qu'il a une interaction entre l'acrylonitrile et les chaînes du polymère ce qui entraîne une diminution des interactions intermoléculaires. Nous avons donc décidé de faire la solution B plus concentrée que la A.

Afin de pouvoir augmenter la conversion, nous avons tenté d'augmenter la température jusqu'à 100 °C (essais 4, 5), tout en supposant que cette température soit inférieure à la température à laquelle la réaction devient endergonique. Nous avons pu constater que, la température n'influence pas la conversion (essai 4).

Par contre, en travaillant toujours à 100 °C, on a essayé d'utiliser 0,5 équivalents de DABCO à la place de 0,25. La conversion augmente considérablement, mais on commence à avoir des sous-produits (essai 5) et surtout nous avons pu observer la coupure de la liaison ester du produit **16**.

Le taux de saponification a été calculé par ^1H -RMN, par intégration du CH_2 terminal du PEG par rapport au multiplet du PEG : si tout le PEG_{2K} est lié à la molécule il intègre pour ~200 protons alors que les deux CH_2 terminaux intègrent pour 4 (Figure 29). Si par contre une partie est saponifiée, il intègre pour plus de protons. (Figure 30).

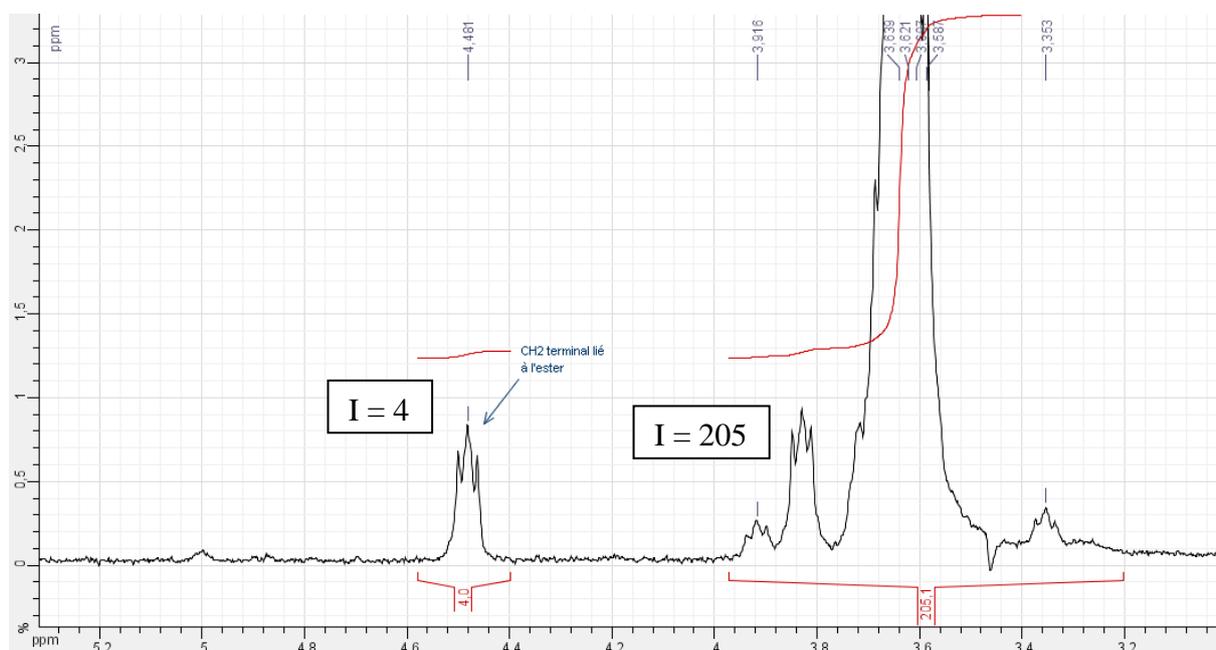


Figure 29

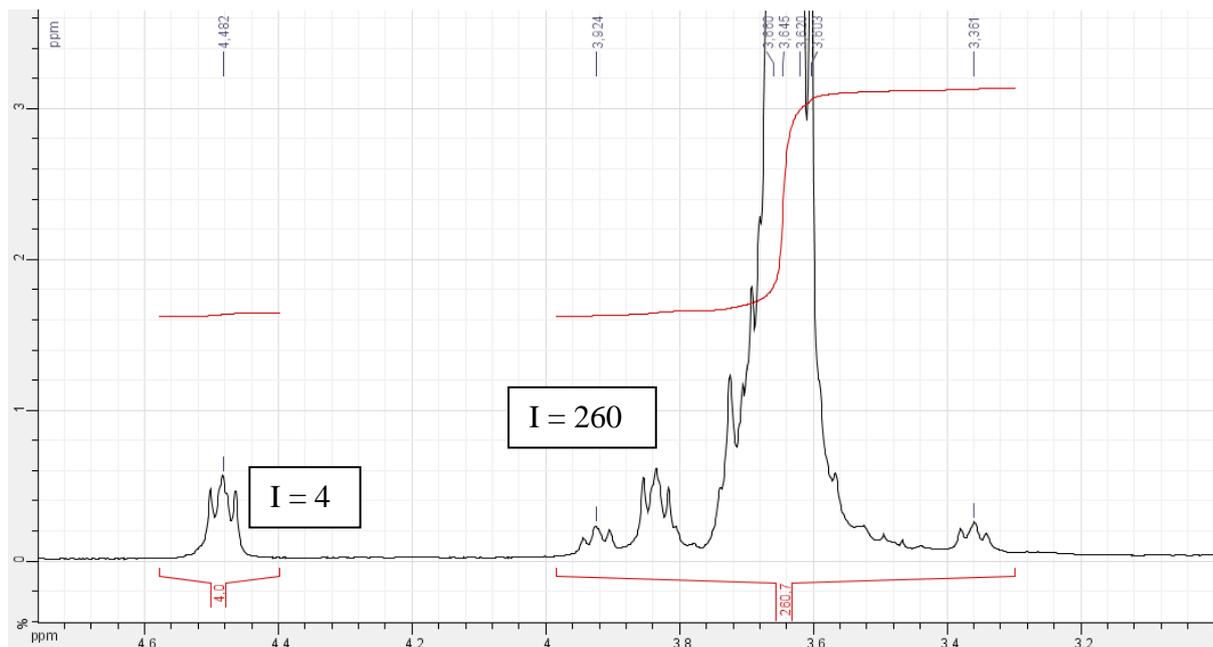


Figure 30

Dans la Figure 29, le PEG est totalement accroché à la molécule et il intègre pour 205 protons par rapport aux CH₂ terminaux qui intègrent pour 4 protons. Par contre dans le cas présenté en Figure 30, il y a un taux de coupure d'environ 21 %, le PEG intégrant pour 260 par rapport aux CH₂ terminaux dont l'intégration a été fixée à 4.

Dans l'essai 5, on pense avoir une coupure de la liaison car nous avons utilisé une plus grosse quantité de DABCO, et le pH de la solution aqueuse est alors 9,5. Comme nous travaillons à 100 °C dans l'eau, l'ester a été saponifié.

Pour essayer d'avoir une conversion totale et afin d'éviter la formation de sous-produits, nous avons baissé la température à 80 °C (essais 6, 7), mais la conversion n'était toujours pas totale. En conséquence, nous avons augmenté la quantité d'acrylonitrile à 4 équivalents mais la conversion n'était pas encore complète (essai 8). Nous avons alors essayé d'utiliser les mêmes quantités de deux solutions avec un débit de 0,15 mL/min par solution et le même résultat que dans l'essai 8 a été obtenu (essai 9).

Les conditions finales ont alors été trouvées en utilisant 5 équivalents d'acrylonitrile avec un débit de 0,3 mL/min (0,15 par solution), la conversion est totale mais avec 10 % de coupure de l'ester (essai 10). Nous avons aussi essayé de baisser le temps de réaction à 25 minutes, mais la conversion n'était plus complète (essai 11).

La purification du produit a été effectuée par ultrafiltration, et, après trois cycles nous avons obtenu le produit final pur avec un rendement de 84 %.

En conclusion la réaction de Baylis-Hillman supportée sur PEG_{2K} et dans l'eau a été mise au point en flux continu et la purification a été faite par ultrafiltration. Nous n'avons donc pas utilisé de solvants organiques ni pendant la réaction ni pendant la purification.

2.3.2 L'adduit de BH pour la synthèse d'hétérocycles

Après avoir optimisé la réaction de Baylis-Hillman dans l'eau et en flux continu, nous avons décidé d'utiliser cet adduit pour la synthèse de différents hétérocycles.

Nous avons alors envisagé de commencer avec une synthèse à deux étapes pour après pouvoir augmenter le nombre d'étapes afin d'aboutir à des produits intéressants d'un point de vue biologique.

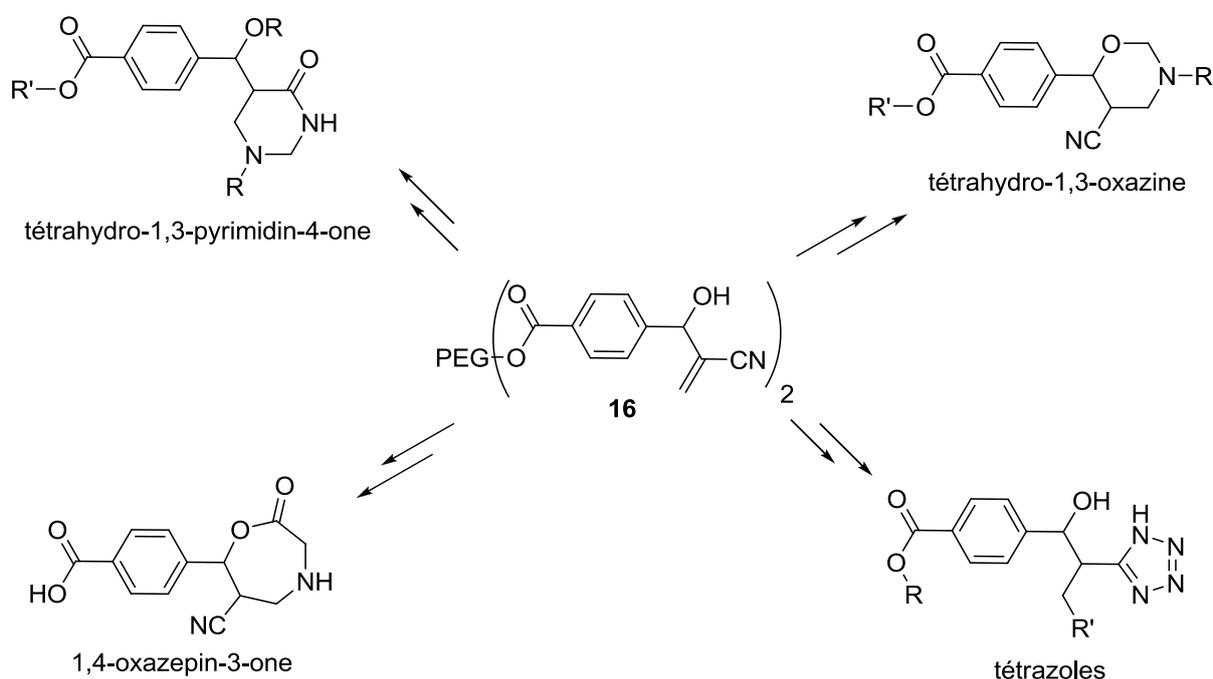


Schéma 27

Dans un premier temps, nous avons décidé d'utiliser le groupement nitrile de l'adduit de BH afin d'obtenir des tétrazoles.¹³³ Cet hétérocycle est un isostère du groupement carboxylique et il est présent dans différents composés possédant une activité biologique. Les adduits de BH étant des accepteurs de Michael, nous avons aussi envisagé d'obtenir différents composés en faisant le tétrazole après l'addition conjuguée.

Nous avons également envisagé la synthèse des 1,4-oxazepin-ones, produits connus pour leurs activités biologiques en tant que modulateurs du récepteur pour la progestérone,¹³⁴ et pour

¹³³ R. J. Herr, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3379 et ref. citées.

¹³⁴ J. C. Kern, E. A. Terefenko, A. Fensome, R. Unwalla, J. Wrobel, J. Cohen, Y. Zhu, T. J. Berrodin, M. R. Yudt, R. C. Winneker, Z. Zhang, P. Zhang, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *18*, 5015.

leurs activités psychoactives. En effet, les cycles avec deux hétéroatomes à distance 1,4 ont ces propriétés, comme l'Oxazepam par exemple, utilisé en tant que tranquillisant.¹³⁵

L'adduit **16** peut également être un précurseur des tetrahydro-1,3-pyrimidones, connus pour leurs activités antagonistes des récepteurs D₂ de la Dopamine et 5HT₂ de la Sérotonine,¹³⁶ et des tetrahydro-1,3-oxazines connus pour leurs activités anti-tumorales.¹³⁷

¹³⁵ I. Ninomya, T. Naito, O. Miyata, *Compr. Hetrocycl. Chem II* **1996**, 217.

¹³⁶ H. Clotet, R. Acin, B. Rovira, C. Bonet *Spanish Patent* **2000**, 2141671.

¹³⁷ T. Urbanski, D. Gurne, S. Slopek, H. Mordarska, M. Mordarski, *Nature* **1960**, 187, 426.

2.4 La synthèse des tétrazoles

Les tétrazoles sont des molécules cycliques à cinq atomes dont quatre atomes d'azote ; ces molécules ont été beaucoup étudiées pour leur intérêt pharmacologique,¹³³ car ce sont des bioisostères de l'acide carboxylique, c'est à dire qu'ils ont les mêmes propriétés physico-chimiques qu'un acide carboxylique et ils peuvent donc le remplacer pour donner les mêmes propriétés biologique à la molécule. Pour cette raison, des composés portant soit le carboxylate soit le tétrazole ont été préparés afin d'en comparer les efficacités relatives et l'un ou l'autre pour leur propriété pharmacocinétiques.

La réaction qui permet la formation des tétrazoles a beaucoup été étudiée et la méthode la plus directe est une cycloaddition [2 + 3] concertée entre un azoture organique et un nitrile organique.^{138,139} (Schéma 28).

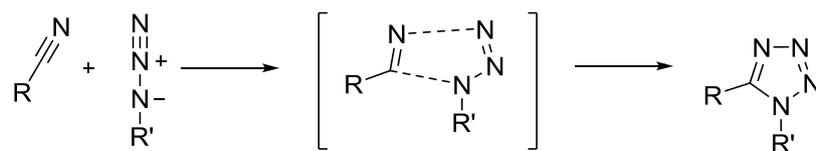


Schéma 28

La réaction entre un sel d'azoture et un nitrile organique a aussi été développée car elle permet d'aboutir à des 1H-tétrazoles, et on sait depuis longtemps¹⁴⁰ que cette réaction se fait par simple chauffage des réactifs. (Schéma 29).

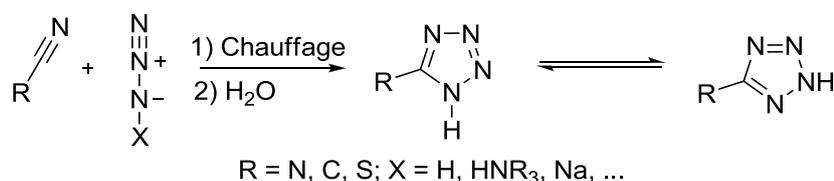


Schéma 29

Sharpless et ses collaborateurs ont beaucoup étudié cette réaction car le mécanisme n'était pas aussi clair que celui de la réaction avec l'azoture organique.¹⁴¹ Ils ont montré, grâce à des

¹³⁸ R. Huisgen, *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 2291.

¹³⁹ (a) W. R. Carpenter, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 2085. (b) D. H. Klaubert, J. H. Sellstedt, C. J. Guinosso, S. C. Bell, R. J. Capetola, *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 748. (c) Z. P. Demko, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *12*, 2110. (d) Z. P. Demko, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *12*, 2113.

¹⁴⁰ O. Dimroth, G. Fester, *Chem. Ber.* **1910**, *43*, 2219.

études computationnelles, que quand un donneur de proton est utilisé pour catalyser la réaction, elle passe par un intermédiaire, appelé intermédiaire P. Cette voie est favorisée au niveau énergétique par rapport à une cycloaddition [2 + 3] neutre ou anionique. (Schéma 30).

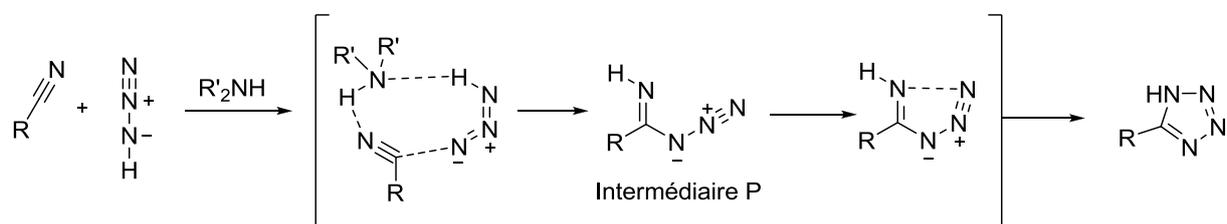


Schéma 30

Il y a donc une activation initiale du nitrile par protonation, qui facilite l'attaque de l'azote sur le carbone du nitrile, formation de l'intermédiaire P, et enfin une simple cyclisation 1-5 conduit au tétrazole final. Dans la Figure 31, sont présentées les barrières d'énergie étudiées pour les trois mécanismes et on peut remarquer que la voie passant par l'activation du CN a une barrière considérablement plus basse par rapport aux deux autres.

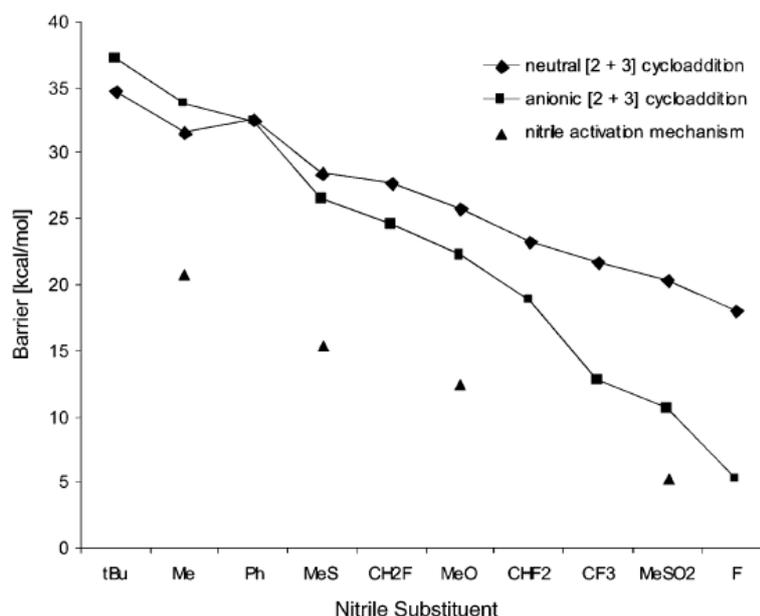


Figure 31 (Extrait de la ref. 141)

La même équipe a également étudié cette réaction catalysée par les sels de zinc.¹⁴² En effet, plusieurs groupes avaient montré que le Zn est un bon catalyseur pour la formation de 1H-

¹⁴¹ F. Himo, Z. P. Demko, L. Noodleman, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12210.

¹⁴² F. Himo, Z. P. Demko, L. Noodleman, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9983.

tétrazoles.¹⁴³ Ils ont fait des calculs en essayant de voir quel intermédiaire, parmi les trois possibles (Zn lié au nitrile, Zn lié à l'azoture, Zn lié aux deux), avait une barrière énergétique plus basse. Ils ont montré que la catalyse est possible parce que le zinc active le nitrile par coordination et que c'est seulement après cette activation que la cyclisation est envisageable. (Figure 32).

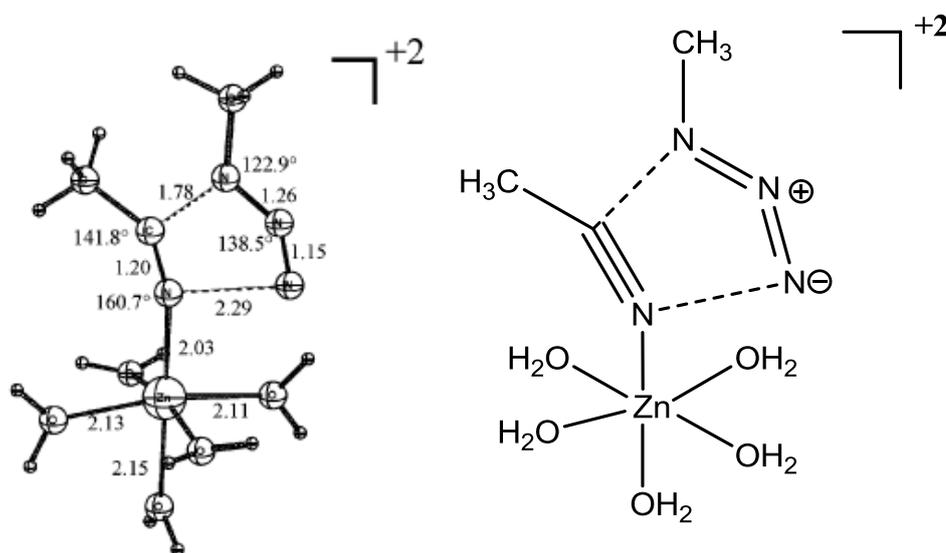


Figure 32 (Extrait de la Ref.142)

Nous nous sommes intéressés à développer la réaction de formation des tétrazoles dans l'eau à partir de l'adduit de Baylis-Hillmann (**16**). Nous avons décidé de commencer par l'étude de la réduction de l'adduit de BH pour pouvoir optimiser la réaction de formation du tétrazole, puis d'étudier la séquence addition de Michael-formation des tétrazoles.

2.4.1 La réduction de l'adduit de BH

La réduction du produit **16** a été optimisée dans l'eau en présence de Pd/C 10 mol% et sous H₂. (Schéma 31). La conversion était totale après 2 heures et un rendement de 89 % a été obtenu par extraction / précipitation ; le traitement a aussi été effectué par ultrafiltration, et, après trois cycles, le produit a été isolé avec un rendement de 90 %. La structure du produit a été confirmée par RMN et par Maldivi. Grâce à l'analyse par RMN ¹H nous avons pu remarquer qu'un mélange des deux diastéréisomères a été obtenu dans un rapport 60/40.

¹⁴³ (a) R. J. Gallante, U. S. Patent **1995**, 5502191. (b) G. Tokuhara, T. Yamagushi, T. Iwasaki, WO Patent, **1996**, 1996-37481.

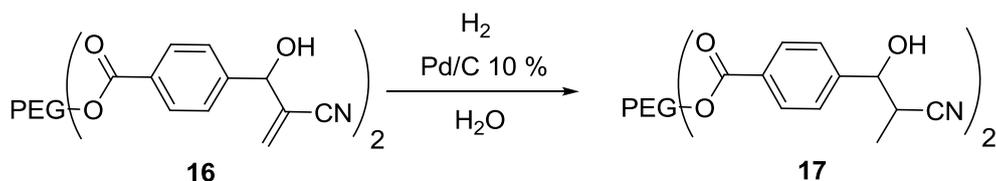


Schéma 31

La réaction de réduction a aussi été optimisée en flux continu, mais puisque le Pd/C est un solide et que nous n'avons pas un réacteur adapté pour réaliser la réaction sous atmosphère d'hydrogène, nous avons dû modifier les conditions expérimentales.

Nous avons alors changé de catalyseur car le Pd sous forme de Pd/C peut, en partie, se complexer avec le PEG pendant la réaction. Nous avons choisi d'utiliser le Pd EnCatTM, un catalyseur de palladium micro-encapsulé¹⁴⁴ dans un matrice de poly-urée, qui se solubilise beaucoup moins dans l'eau que le Pd/C et qui a déjà été utilisé pour catalyser des réactions en flux continu.¹⁴⁵ Nous avons placé le Pd EnCatTM à l'intérieur d'un réacteur à colonne et la solution de **16** a été passée à travers.

Pour remplacer l'hydrogène, nous avons utilisé un réactif qui pouvait libérer H₂ in situ ; nous avons alors choisi le formiate d'ammonium.¹⁴⁶ Le formiate d'ammonium a déjà été utilisé en tant que source d'hydrogène pour les réductions en flux par Popp et Schneider.¹⁴⁷ Nous avons alors préparé le réacteur avec le catalyseur et une solution aqueuse de **16** et de formiate d'ammonium ; dans un premier temps nous avons utilisé des temps de résidence longs, mais, suite à un travail d'optimisation nous avons trouvé de meilleures conditions : un large excès de formiate d'ammonium (27,5 équivalents) a dû être utilisé afin d'obtenir une conversion totale et, dans ces conditions, le temps de résidence à l'intérieur du réacteur est de seulement 3 minutes à 50 °C. (Schéma 32).

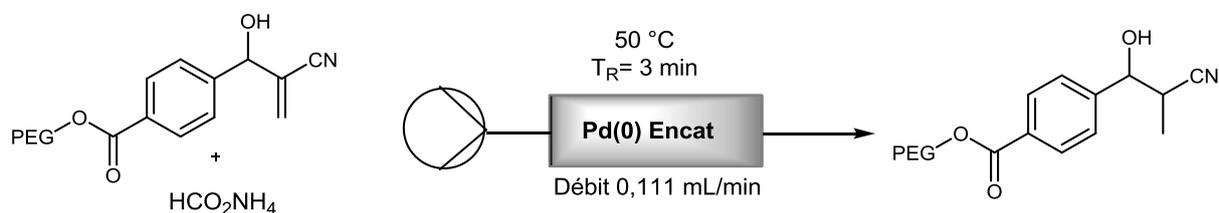


Schéma 32

¹⁴⁴ J. C. Barros, *Aust. J. Chem.* **2010**, *63*, 850.

¹⁴⁵ I. R. Baxendale, C. M. Griffiths-Jones, S. V. Ley, G. K. Tranmer, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 4407.

¹⁴⁶ S. Ram, R. E. EhrenKaufer, *Synthesis* **1988**, 91.

¹⁴⁷ A. Popp, J. J. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8958.

A la suite de la réaction, la purification a été faite par ultrafiltration et a permis d'isoler le produit propre avec une conversion totale et un rendement de 90 %.

Nous avons ensuite essayé de réutiliser le catalyseur pour pouvoir le recycler, mais malheureusement, cela ne semble pas être possible car au deuxième cycle la conversion n'est plus complète. La dégradation du catalyseur a également été observée en faisant passer une grosse quantité de produit à réduire (10 g) à partir d'un certain moment, la conversion n'est plus totale. Nous pensons que cela doit être dû à la lixiviation du Pd dans la solution aqueuse.

Les travaux d'optimisation de cette réaction avec un catalyseur différent afin d'éviter la lixiviation sont actuellement en cours au laboratoire.

En conclusion, nous avons réussi à réduire l'adduit de BH dans l'eau soit par lots soit en flux continu. Nous nous sommes alors intéressés à la réaction de formation du tétrazole.

2.4.2 La formation du tétrazole

La réaction de formation de tétrazoles a été beaucoup étudiée et différentes conditions ont été trouvées pour pouvoir obtenir ce type de produits. Nous nous sommes d'abord intéressés à l'obtention du produit pour pouvoir ensuite optimiser les conditions dans l'eau. La méthode que nous avons utilisée est celle largement décrite dans le DMF, avec un large excès de NaN_3 et de NH_4Cl à $140\text{ }^\circ\text{C}$, la réaction étant réalisée dans un tube scellé pendant une nuit. Dans ces conditions le composé **18** a été obtenu avec une conversion totale.

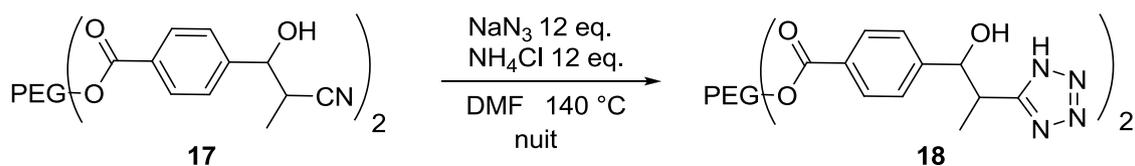


Schéma 33

Afin de confirmer la structure du produit obtenu, comme les spectres RMN ^1H du produit de départ et du produit final sont très similaires, nous avons réalisé des expériences RMN ^{13}C , car il y a une grosse différence entre le déplacement chimique du carbone du nitrile et ce du carbone du tétrazole. En effet nous avons pu remarquer que il y a eu disparition du pic du nitrile à ~ 120 ppm et apparition du nouveau pic à ~ 160 ppm, qui nous a confirmé la conversion complète.

Nous avons commencé à tester différentes conditions pour pouvoir aboutir au produit en utilisant l'eau comme solvant. Dans un premier temps, nous avons repris les mêmes conditions en échangeant seulement le DMF avec l'eau, mais la réaction n'a pas eu lieu et nous avons récupéré le produit de départ. Nous avons alors testé cette réaction sans solvant, ou avec différents mélanges de solvants ou différents catalyseurs.

Solvant	T (°C)	% conversion	% coupure	Catalyseur
H ₂ O	140	0	0	NH ₄ Cl
DMF	140	100	0	NH ₄ Cl
DMF	140	0	10	-
DMF	80	0	0	NH ₄ Cl
H ₂ O/DMF (1:1)	140	20	50	NH ₄ Cl
Sans solvant	140	0	0	NH ₄ Cl
Sans solvant	140	0	30	Me ₂ NH
H ₂ O/EtOH (1:4)	140	25	45	NH ₄ Cl
H ₂ O/EtOH (1:4)	140	25	100	ZnBr ₂
MeOH	140	Plusieurs produits	100	NH ₄ Cl
EtOH	140	20	0	NH ₄ Cl
H ₂ O (100°C)	100	15	26	ZnBr ₂
H ₂ O (140°C)	140	40	100	ZnBr ₂
H ₂ O (75°C)	75	0	15	ZnBr ₂
H ₂ O	140	0	50	NEt ₃ HCl
H ₂ O	140	0	35	NOct ₃ HCl
H ₂ O	140	0	60	NBu ₄ N ₃
isoPr-OH	140	0	0	NH ₄ Cl
tBu-OH	140	0	0	NH ₄ Cl
Glycérol	140	0	20	NH ₄ Cl
Glycérol	140	0	100	NMe ₂ H
H ₂ O	170	100	100	ZnBr₂

Tableau 8

Une partie des conditions testées est présentée dans le Tableau 8 ; mais malgré tous nos essais, nous n'avons pas réussi à obtenir le produit avec une bonne conversion. Finalement,

nous avons essayé d'utiliser une température plus élevée (170 °C) en présence de bromure de zinc et nous avons réussi à obtenir le produit désiré, coupé du PEG. Ces nouvelles conditions nous évitent une étape de réaction puisque la coupure du support à lieu *in situ*. (Schéma 34).

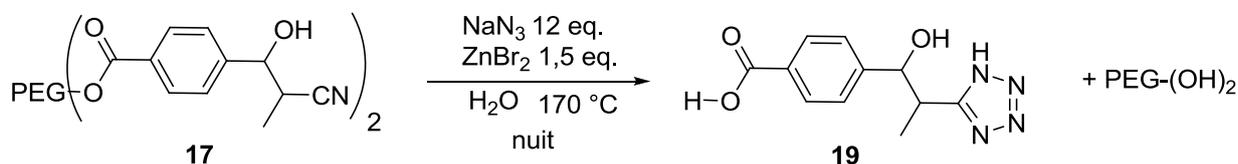


Schéma 34

Le traitement a été effectué par ultrafiltration du brut réactionnel, acidification du filtrat (pH 1) afin d'avoir **19** sous forme d'acide, puis extraction par de l'acétate d'éthyle car dans ce cas le composé **19** ne précipite pas. Cette méthode nous a permis d'obtenir le tétrazole **19** pur avec un rendement de 62 %.

Avant de poursuivre avec la fonctionnalisation de **17** afin d'obtenir des analogues de **19**, nous avons optimisé cette réaction en flux continu.

2.4.3 La formation du tétrazole en flux continu

La synthèse de tétrazoles en flux continu avait déjà été étudiée par Kappe et ses collaborateurs,¹⁴⁸ ils ont montré que la synthèse de ces molécules peut être faite en flux continu sans l'utilisation d'additif en travaillant à température élevée (220 °C) pendant des temps de réaction courts dans un mélange de solvants NMP/AcOH/H₂O. L'appareillage que nous avons à disposition ne nous permettait pas de réaliser les réactions à une température supérieure à 150 °C, donc nous avons dû optimiser la réaction à cette température maximale, alors que nous avons montré que la réaction nécessitait une température de 170 °C quand nous l'avons réalisée par lots. Mais, puisque les échanges de chaleur en flux sont plus rapides,^{85(c)} nous avons essayé la réaction à 150 °C en utilisant une seule pompe pour pousser la solution dans le réacteur ; dans un premier temps nous avons utilisé des temps de résidence de 60 minutes, et nous avons eu une conversion de 45 %, nous avons donc augmenté le temps de résidence à 90 minutes et la conversion est montée à 70 %. Finalement nous avons réussi à avoir une conversion totale en utilisant un temps de résidence de 166 minutes et 2,5 équivalents de catalyseur à la place de 1,5. (Figure 33).

¹⁴⁸ B. Gutmann, J.-P. Roduit, D. Roberge, C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7101.

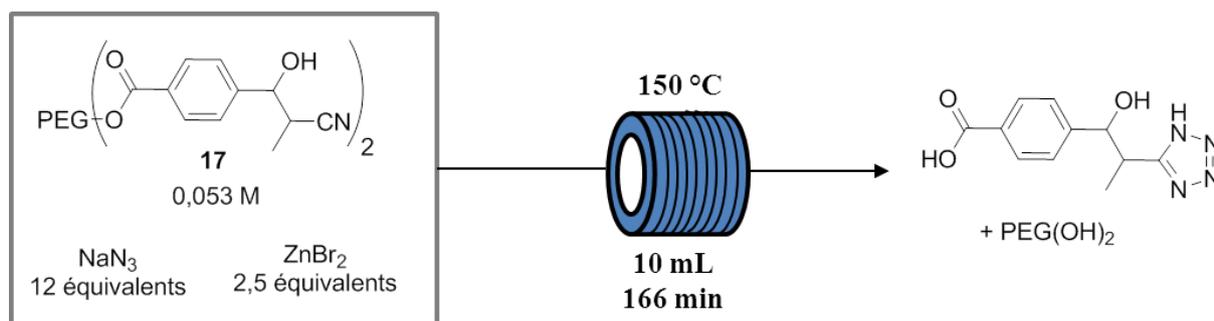


Figure 33

La purification du produit a été faite par ultrafiltration en utilisant la méthode qui avait été mis au point pour la synthèse par lots, et un rendement de 56 % a été obtenu.

L'utilisation des microréacteurs utilisés en flux continu dans ce procédé permet de travailler dans des conditions de sécurité accrues parce que, l'azoture de sodium en solution acide peut former l'acide hydrazoïque, qui est très toxique et puisque le mélange réactionnel est limité en volume, les risques pour l'opérateur sont faibles.

En conclusion nous avons optimisé la synthèse de **19** par lots et en flux continu dans l'eau et supportée sur PEG, à une température considérablement inférieure par rapport aux exemples décrits en littérature ; aucun solvant organique a été utilisé pendant la réaction, et seul l'AcOEt a été utilisé pendant le traitement car on ne pouvait pas isoler le produit final autrement. Nous nous sommes ensuite intéressés à la synthèse d'analogues du tétrazole par une séquence addition de Michael-cycloaddition.

2.4.4 La fonctionnalisation de **16**

Afin d'obtenir des analogues du produit **19** nous avons décidé d'introduire une diversité moléculaire sur **16**, via une réaction de Michael, avec différents nucléophiles.

Nous avons réalisé un premier essai en utilisant la benzylamine en tant que nucléophile. Nous avons essayé cette réaction, (Schéma 35), en mélangeant simplement les deux réactifs dans l'eau à température ambiante. Après traitement de la réaction nous avons pu constater que la conversion était complète après 1 heure.

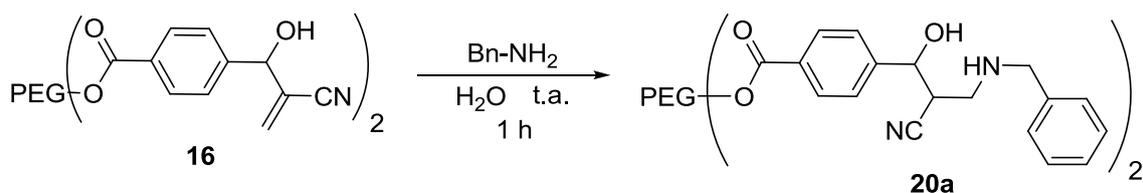


Schéma 35

Pour bien caractériser le produit **20a**, dont l'analyse par RMN est difficile car beaucoup de signaux sont occultés par le signal important du PEG, nous avons fait une étude RMN un peu plus approfondie grâce à une collaboration avec l'équipe de RMN de l'Institut.¹⁴⁹

2.4.5 Etude RMN de l'adduit **20a**

Le spectre RMN ¹H du produit **20a** est présenté en Figure 34. Les intégrales ont été calibrées à partir du signal des 4 protons des méthylènes terminaux du PEG à 4.4 ppm.

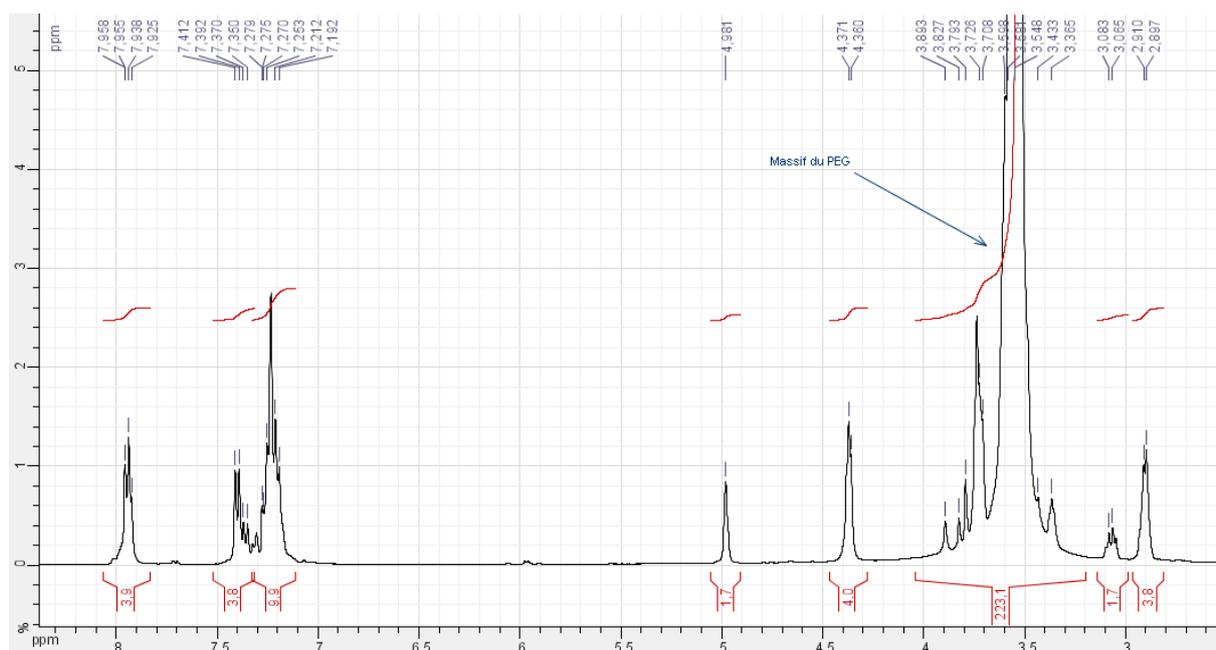


Figure 34

Il faut remarquer que la molécule possède deux centres asymétriques, nous voyons donc les deux couples de diastéréoisomères par RMN (les deux doublets à 7,35 ppm en confirment la présence). Notons que le dosage des diastéréoisomères sera fait sur les produits finaux. Sur le spectre ¹H (Figure 34) nous pouvons remarquer que les protons du PEG résonnent à la même

¹⁴⁹ Les expériences ont été conçues et réalisées par le docteur Jonathan FARJON

fréquence que des protons de la molécule branchée (3,83 ppm). Afin d'augmenter la résolution spectrale de la molécule branchée nous avons envisagé :

- D'éliminer les signaux des CH₂ du polymère (3,5 ppm).
- D'augmenter la sensibilité de la molécule branchée.

Dans un premier temps afin d'éliminer les signaux des méthylènes du cœur flexible du polymère nous avons essayé la méthode de pré-saturation. Cette technique a été souvent utilisée pour enlever le pic du solvant en envoyant une onde continue à la fréquence du signal à éliminer. La pré-saturation a été déjà employée afin d'éliminer le signal intense des méthylènes du PEG.^{103,150} Nous avons d'abord optimisé la puissance de l'onde continue afin d'éliminer au mieux le signal indésirable. Cependant une distorsion de la phase des signaux de **20a** a été observée (H-10a et H-10b), même si le signal du PEG a été considérablement réduit. Afin de remédier à cette limitation, nous avons alors essayé la séquence W5,¹⁵¹ qui est la version améliorée de la technique WATERGATE¹⁵² bien connue pour éliminer le signal de l'eau dans le spectre réalisé dans le D₂O. Cette méthode utilise un "train de pulse" incorporant un délai Δ à optimiser afin d'éliminer le signal sur lequel il est appliqué. Afin de calibrer la bande du signal entre deux annulations nous avons optimisé Δ . La valeur optimale trouvée est $\Delta = 500 \mu\text{s}$ permettant d'obtenir une largeur où le signal apparaît de ± 2000 Hz autour de la fréquence du signal à annuler. Le spectre ¹H obtenu utilisant cette méthode est représenté en bleu en Figure 35. Le spectre en rouge est le spectre ¹H RMN réalisé de manière classique.

¹⁵⁰ M. Benaglia, S. Guizzetti, C. Rigamonti, A. Puglisi, *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 12100.

¹⁵¹ M. Miu, X.-A. Mao, C. Ye, H. Huang, J. K. Nicholson, J. C. Lindon, *J. Magn. Reson.* **1998**, *132*, 125.

¹⁵² M. Piotto, V. Saudek, V. Sklenar, *J. Biomol. NMR* **1992**, *2*, 661.

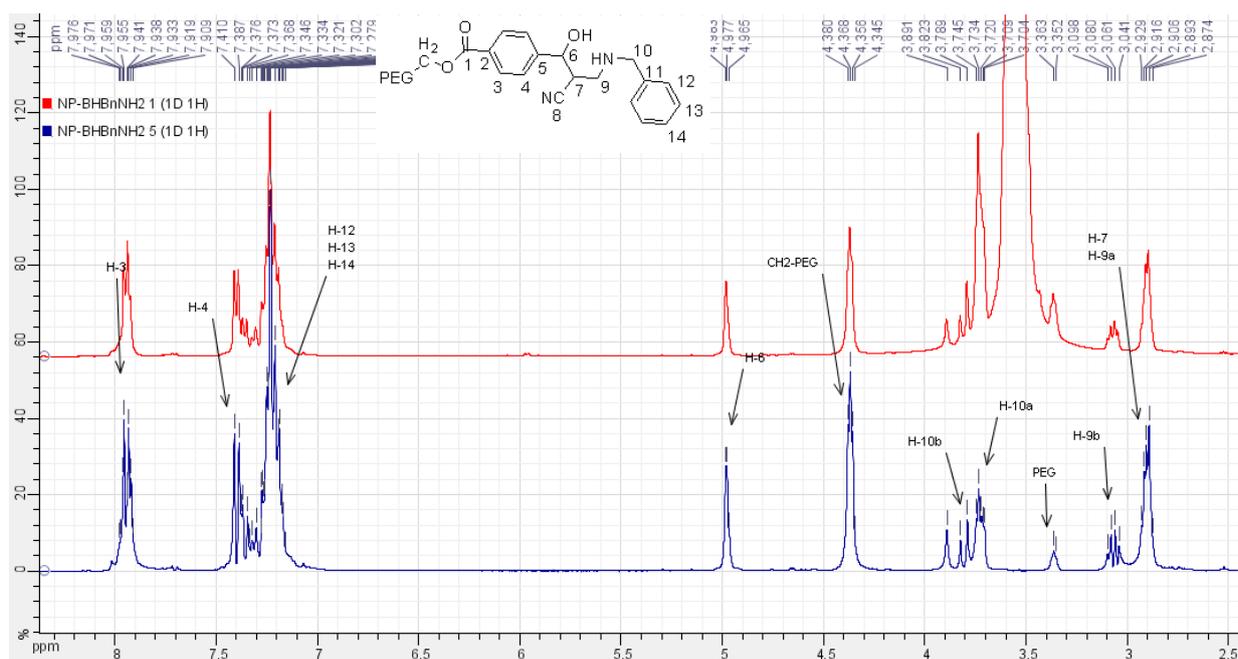


Figure 35

Nous voyons que le pic des méthylènes du PEG à 3,5 ppm a disparu et que les pics de la molécule branchée proches de ce dernier sont mieux résolus. Cette méthode est donc très performante pour éliminer les signaux intenses du support polymérique. Nous avons pu ainsi attribuer tous les signaux, même les H-10 qui étaient partiellement couverts par ceux du PEG.

Afin d'aller plus loin nous avons aussi réalisé une expérience DQF (*double quantum filtered*)-COSY (COrrrelation SpectroscopY)-W5, méthode qui permet d'éliminer les ^1H non couplés, afin de voir sur la carte 2D, les corrélations résultantes de l'évolution des J_{HH} . Cette séquence utilise le bloc W5 appliquée sur le signal du PEG à 3,5 ppm, introduit précédemment. Le spectre 2D associé est présenté en Figure 36, et il ne présente plus le signal intense du PEG, gênant pour l'analyse du produit **20a**.

Grâce à cette méthode nous avons pu confirmer l'attribution des signaux ^1H de **20a**.

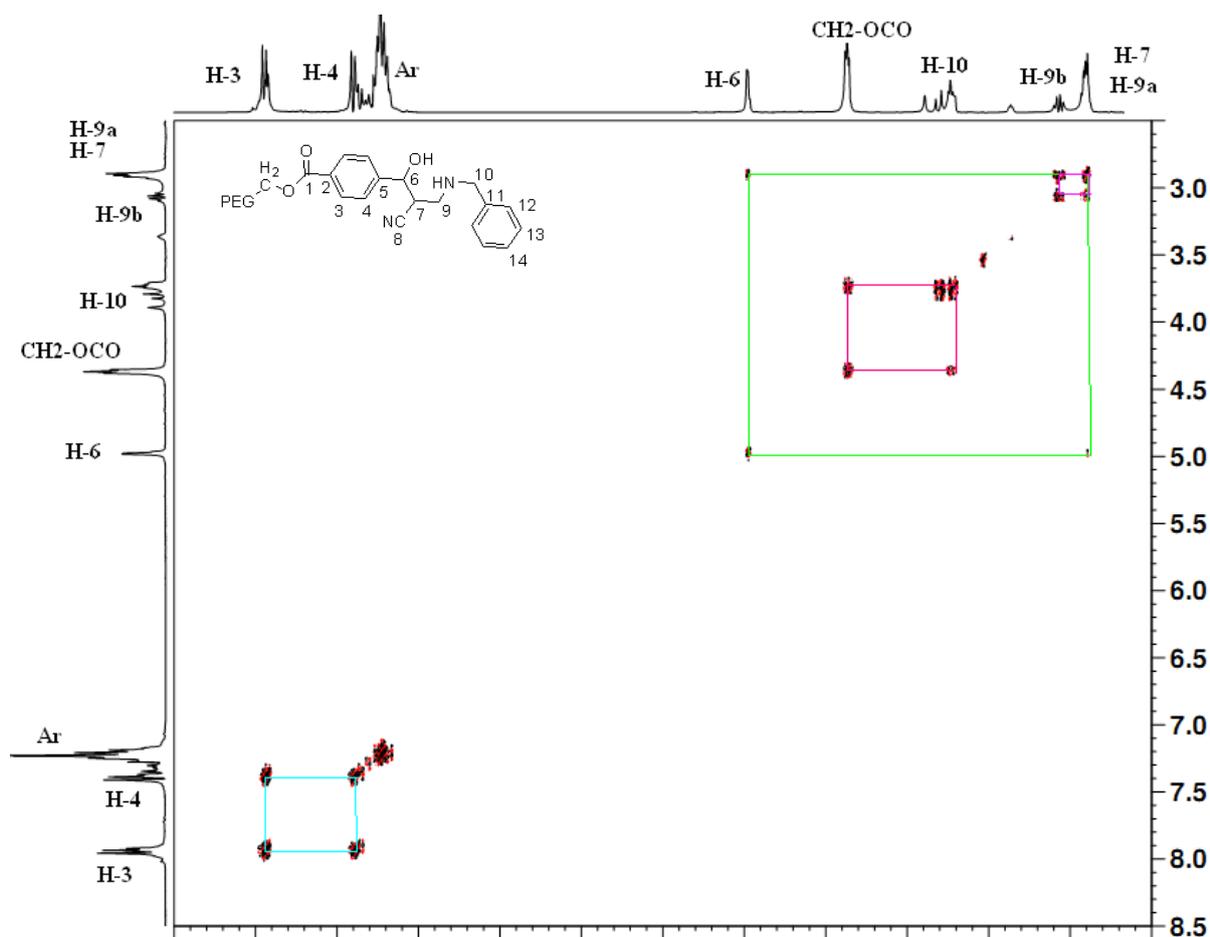


Figure 36

Enfin pour accéder aux corrélations ^1H - ^{13}C longues distances et augmenter la sensibilité de la molécule branchée nous avons utilisé une version de HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) récemment publiée, appelée IMPACT-HMBC.¹⁵³ Cette version utilise un angle d'excitation qui peut être différent de 90° . Cet angle est appelé angle de Ernst, la valeur optimale a été déterminée à 100° . Dans ces conditions, il a été possible d'augmenter de 10 % le rapport Signal/Bruit. De plus cette expérience utilise un filtre qui élimine les corrélations intenses dues aux $^1J_{\text{CH}}$ pouvant recouvrir des corrélations longue distance $^nJ_{\text{CH}}$, ce qui augmente ainsi la résolution spectrale en dimension ^{13}C . D'autre part cette version de la HMBC présente une période dite "temps constant" pour éliminer les couplages J_{HH} pendant le temps (incrémentable : t_1 de la 2D). Cette modification permet encore de gagner en résolution et donc aussi en sensibilité. Le résultat a été très satisfaisant car nous avons augmenté l'intensité des signaux (gain en rapport Signal/Bruit) ainsi que la résolution spectrale en dimension indirecte de la carte 2D HMBC de la molécule branchée. D'autre part, nous avons retrouvé grâce à cette expérience l'ensemble des corrélations longue distance. (Figure 37).

¹⁵³ J. Furrer, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 3396.

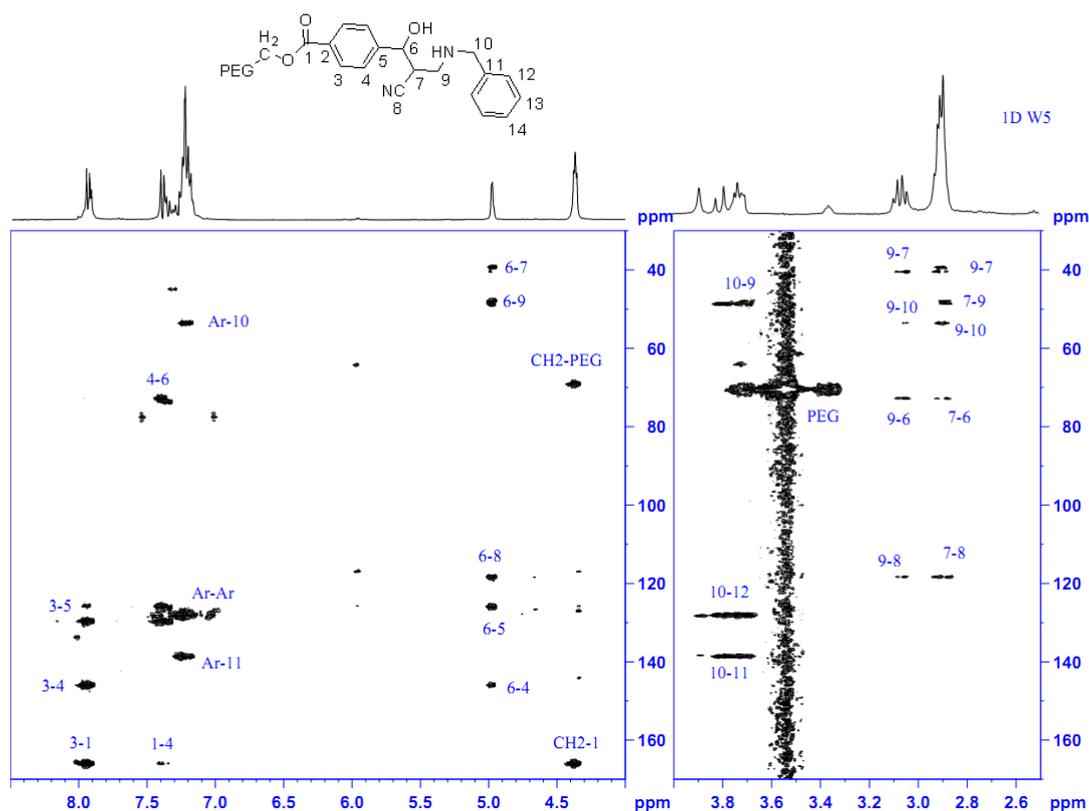


Figure 37

En conclusion, grâce aux méthodes RMN employés nous avons réussi à éliminer le pic intense et gênant du polymère, et gagner en résolution et en sensibilité afin d'analyser complètement notre produit branché.

2.4.6 La synthèse des analogues

Après avoir confirmé la formation de l'adduit **20a** nous nous sommes intéressés à la synthèse d'analogues du tétrazole. Nous avons donc testé la réaction dans les conditions précédemment utilisées pour l'adduit **19**.

Après avoir essayé plusieurs fois cette réaction nous nous sommes aperçus que la réaction ne fonctionnait pas et que, parmi les différents sous-produits, on retrouvait une importante quantité de 4-carboxybenzaldehyde. (Schéma 36).

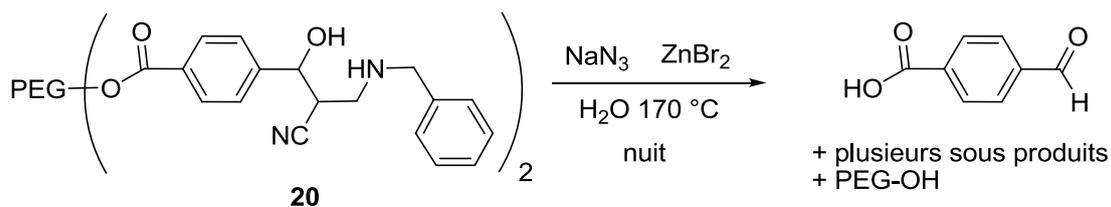


Schéma 36

La formation de la 4-carboxybenzaldehyde pourrait s'expliquer par une réaction de retro-Michael suivie d'une réaction de retro-Baylis-Hillman (Schéma 37). En effet les conditions de température élevée utilisées pourraient être au-dessus de la température à laquelle la réaction de Baylis-Hillman devient endergonique (Paragraphe 2.3).

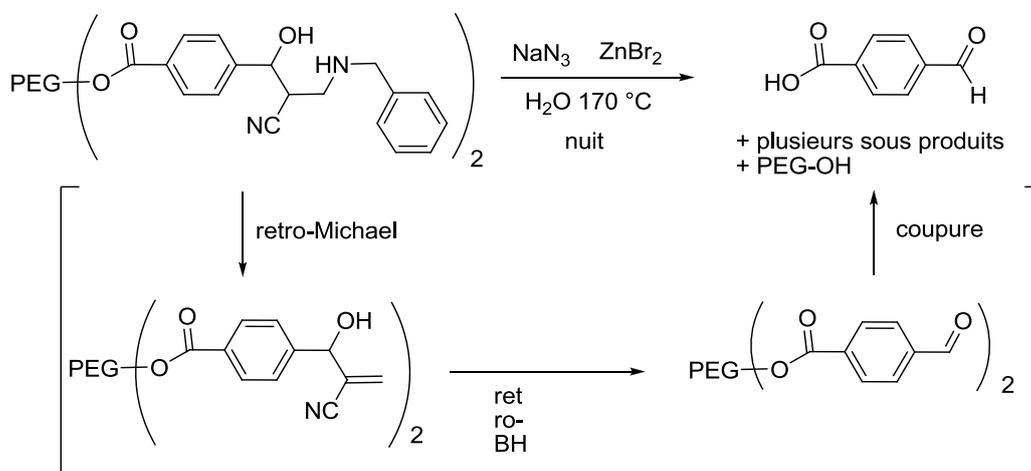


Schéma 37

2.5 La synthèse de 1,4 oxazepin-3-ones

La synthèse d'oxazepinones à partir de l'adduit de Baylis-Hillman a déjà été décrite par différentes équipes. L'équipe de Reiser a travaillé sur cette synthèse et l'a aussi développée supportée sur PEG.^{124,154} Leur stratégie prévoit l'acétylation de l'adduit de BH suivie d'une S_N2' avec un amino-alcool et d'une trans-estérification finale pour aboutir au produit souhaité. (Schéma 38). En utilisant le PEG comme support, ils ont obtenu les produits finaux avec des rendements compris entre 14 et 41 %.

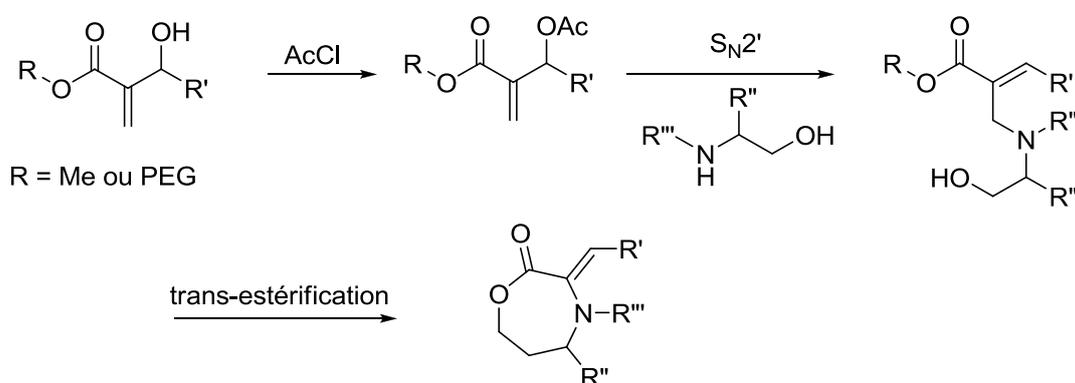


Schéma 38

En 2009, une nouvelle synthèse de ces produits via la réaction de Baylis-Hillman a été décrite dans la littérature.¹⁵⁵ Dans ce cas, après l'acétylation de l'adduit de BH une réaction de S_N2 a été réalisée, suivie d'une addition de Michael afin d'aboutir à l'oxazepinone. (Schéma 39). Les auteurs ont également réalisé une étude pour déterminer la base la plus adaptée pour la réaction de saponification/cyclisation, et c'est l'hydroxyde de potassium qui a donné le meilleur résultat (84 % de rendement).

¹⁵⁴ D. Nilov, R. Racker, O. Reiser, *Synthesis* **2002**, 15, 2232.

¹⁵⁵ L. D. S. Yadav, V. P. Srivastava, R. Patel, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 1423.

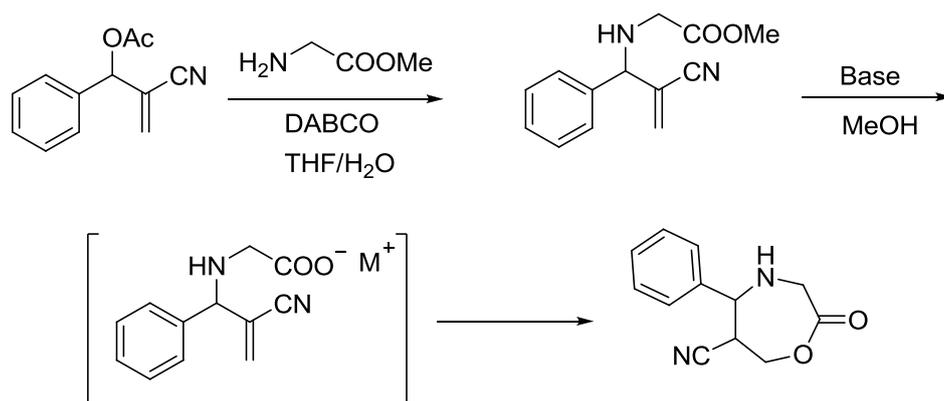


Schéma 39

Dans le cadre d'un développement plus éco-compatible, nous avons envisagé une synthèse dans l'eau et supportée sur PEG comme décrite dans le Schéma 40. Elle prévoit une addition de Michael sur la double liaison de l'ester de la glycine suivie d'une cyclisation via une transestérification de l'hydroxyle sur l'ester.

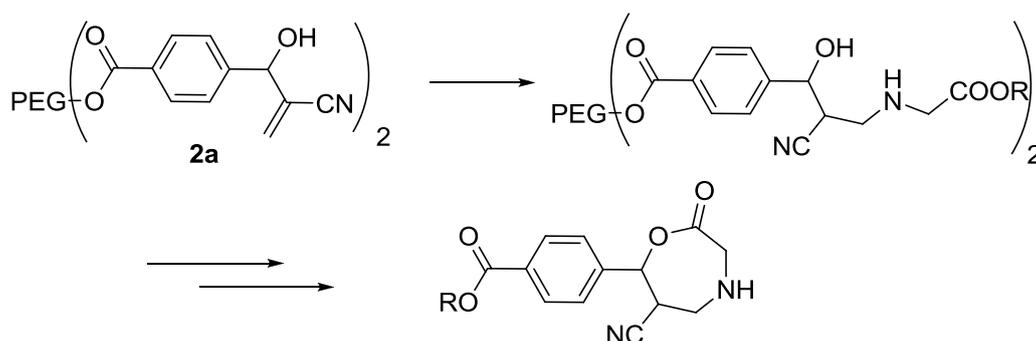


Schéma 40

Comme la réaction d'addition de la benzylamine sur l'adduit **16** pour aboutir au composé **20a** avait donnée de bons résultats, nous avons testé l'addition de l'ester éthylique de la glycine sur l'adduit de BH dans les mêmes conditions, mais malheureusement cette réaction n'a pas eu lieu. Nous avons supposé que la réaction ne se faisait pas car nous avons utilisé l'amine commerciale, vendue sous forme de chlorure. (Figure 38).

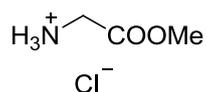


Figure 38

Nous avons alors testé la réaction à différents pH (par addition d'une solution de KOH), afin de travailler avec l'amine sous sa forme NH_2 . Elle retrouve ainsi son caractère nucléophile et devrait être capable de s'additionner sur la double liaison.

Quand la réaction a été réalisée à pH 7, la conversion, après 2 heures à 50 °C, était de 50 %. Nous avons donc augmenté le pH à 8,13 et obtenu une conversion de 70 % dans les mêmes conditions. Différents autres tests d'optimisation ont été effectués, mais si le pH, la température ou le temps réactionnel sont trop élevés, le taux de coupure de la liaison du PEG à l'adduit de BH est trop important pour pouvoir continuer la synthèse. Nous avons alors envisagé d'ajouter de la triéthylamine afin de neutraliser l'HCl et conserver l'amine sous forme NH₂. Cette réaction a été effectuée dans différentes conditions de température, solvants et en variant le nombre d'équivalents de NEt₃ mais nous n'avons jamais réussi à avoir une conversion totale.

La synthèse envisagée ne peut donc pas fonctionner. En effet, l'addition de l'ester de la glycine n'étant pas totale, une grosse quantité de produit de départ demeure dans le milieu réactionnel et nous empêche de continuer la synthèse supportée sur PEG. Une autre stratégie a donc été conçue et prévoit une acétylation initiale de **16** suivie d'une S_N2' sur le produit obtenu et d'une cyclisation finale. (Schéma 41).

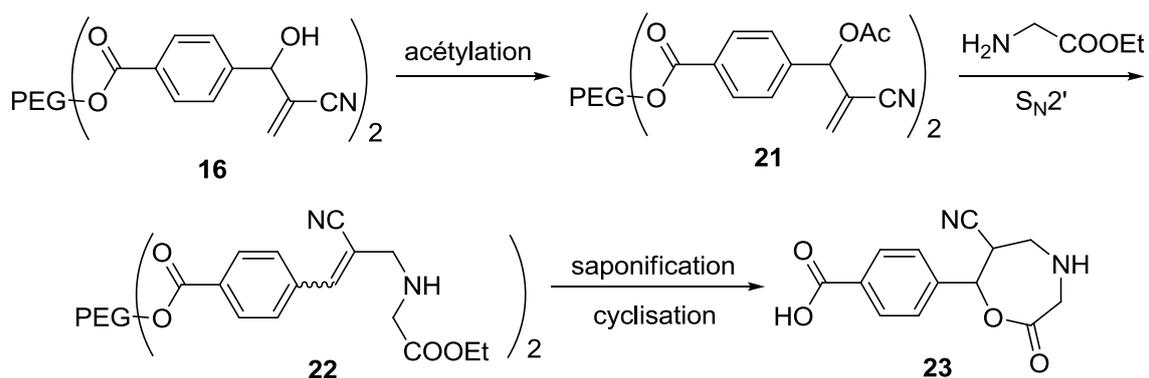


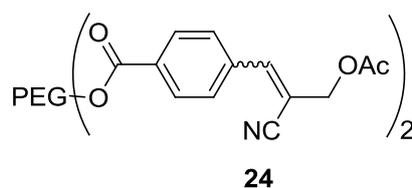
Schéma 41

2.5.1 L'acétylation de l'adduit de BH

L'acétylation de l'adduit de Baylis-Hillman est généralement décrite comme une réaction simple entre l'OH et le chlorure d'acétyle en milieu anhydre.¹²¹ La réaction de Baylis-Hillman supportée sur PEG avait déjà été étudiée (Paragraphe 2.3) et dans les cas cités les adduits avaient été acétylés par le chlorure d'acétyle dans la pyridine.¹²⁴ En utilisant les mêmes conditions pour l'acétylation de l'adduit **16** nous avons eu beaucoup de problèmes pour obtenir le produit **21**. Les premiers tests ont été faits dans des solvants organiques afin d'obtenir le produit et pour pouvoir ensuite essayer de réaliser la réaction en milieu aqueux ou en milieu moins polluants. Nous avons donc essayé dans un premier temps les conditions classiques de

réaction, AcCl, DMAP, trioctylamine, dans le dichlorométhane à température ambiante, mais un mélange de produits a été obtenu. En supposant que ce mélange était dû à une température trop élevée, la réaction a été réalisée à -10 °C. Après 3 heures de réaction, le rapport entre le produit de départ et le produit final était de 1:1. Nous l'avons alors laissé réagir pendant la nuit mais la conversion n'augmentait plus et un sous-produit se formait. D'autres tests ont été effectués en utilisant la Et₃N à la place de la Oct₃N, la pyridine à la place du dichlorométhane, l'Ac₂O à la place de l'AcCl. Malgré tous les essais nous n'avons jamais obtenu le produit final avec une conversion totale ou sans sous-produits. A ce moment les meilleures conditions de réactions étaient AcCl (5 équivalents), Et₃N (6 équivalents), dans le dichlorométhane à température ambiante pendant la nuit, mais le produit obtenu n'est pas pur.

La réaction réalisée sans solvant en présence de AcOH (4 équivalents), DIC (6 équivalents), à 80 °C pendant 3 heures, donne le produit transposé **24** sous la forme d'un seul isomère dont la stéréochimie de la double liaison n'a pas été attribuée.



Cette structure a été confirmée grâce à l'analyse RMN, car nous voyons un signal à ~8 ppm, qui correspond au proton de l'oléfine, et un autre signal à ~5 ppm qui correspond au CH₂-OAc, et ces valeurs correspondent à celles reportées en littérature pour des adduits similaires.¹⁵⁶

Finalement, nous avons effectué un test en utilisant uniquement l'adduit **16** et l'anhydride acétique (5 équivalents), sans solvant à 70 °C. Au bout d'une heure et demie de réaction, la conversion semble totale. En effet, le produit de départ a complètement réagi mais nous obtenons deux produits : le produit **21** attendu et son isomère **24**, dans des rapports toujours différents selon les tests. Cette isomérisation a été étudiée par Foucaud en 1989,¹⁵⁷ et ils avaient montré que cette réaction est possible en milieu basique, mais aussi en présence de DABCO. Nous avons alors purifié l'adduit **16** plusieurs fois afin de s'assurer de l'élimination totale du DABCO et la réaction a été testée à nouveau dans les mêmes conditions. Encore une fois, nous avons trouvé du produit transposé **24** dans le milieu réactionnel.

La réaction a aussi été testée en présence de 0,25 équivalents de DABCO afin d'analyser son effet sur la réaction et un mélange des deux produits, **21** et **24**, a été obtenu. La formation des

¹⁵⁶ D. Basavaiah, K. Muthukumar, B. Sreenivasulu, *Synthesis* **2000**, 4, 545.

¹⁵⁷ A. Foucaud, F. El Guemmout, *Bull. Soc. Chim. Fr* **1989**, 403

deux produits en fonction du temps de réaction a été analysée, et nous avons remarqué que la formation de **21** précède celle de **24**. Il est probable que l'acétate qui reste dans le milieu réactionnel, suite à la formation de **21**, attaque la double liaison via une réaction de Michael et donne le produit transposé. (Schéma 42).

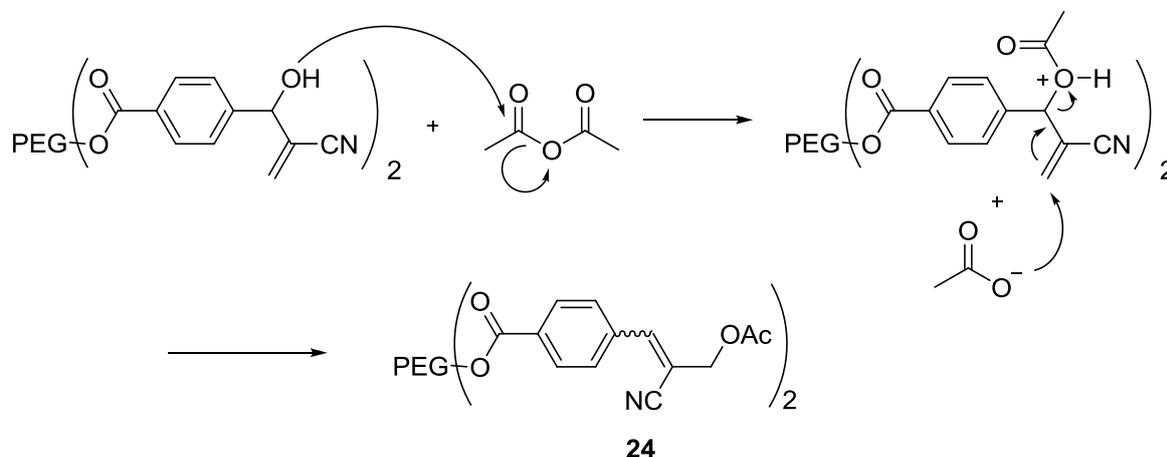


Schéma 42

Afin de confirmer cette théorie, nous avons effectué le traitement après 1h 30 de réaction, mais une petite quantité de **24** était déjà formée. Nous avons alors essayé de baisser la température de réaction mais le produit de départ ne réagit plus complètement et une augmentation de la température n'est pas envisageable car elle entraîne la formation de sous-produits.

Ce problème d'acétylation peut également nous gêner pour la réaction suivante car nous avons envisagé une réaction S_N2' , mais à partir d'un mélange de **21** et **24** la formation sélective du produit **22** peut être difficile. Cela a été confirmé après avoir testé la réaction : nous avons obtenu le mélange de deux produits (Schéma 43), mais également des sous-produits. La présence des deux adduits a été confirmée par RMN car le spectre présente à la fois les signaux de l'oléfine **25** (signaux à ~6 ppm et à ~6,2 ppm) et de l'oléfine **22** (signal à ~7,5), et dans les deux cas les signaux de l'éthyle sont présents. L'analyse Maldi ne nous a pas aidés dans ce cas car les deux masses sont identiques.

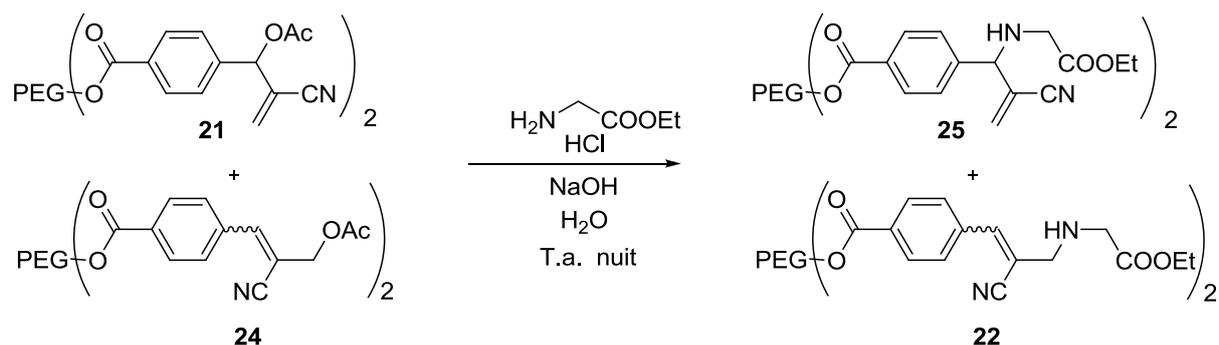


Schéma 43

Nous avons alors essayé d'ajouter du DABCO dans le milieu réactionnel afin d'obtenir un seul des deux produits, mais sa présence n'a pas influencé la sélectivité de la réaction. Lorsque nous avons tenté de modifier les conditions de température et le temps de réaction, des résultats similaires ont été obtenus. Il nous fallait donc trouver une réaction qui, en partant des deux substrats **21** et **24**, pouvait aboutir au produit unique **22** souhaité. La réaction de Tsuji-Trost nous a semblé être une bonne solution à notre problème.

2.5.2 La réaction de Tsuji-Trost

La réaction de Tsuji-Trost a beaucoup été étudiée et utilisée¹⁵⁸ depuis sa découverte.¹⁵⁹ Cette réaction passe par un intermédiaire π -allyl palladium qui réagit ensuite avec le nucléophile. (Schéma 44).

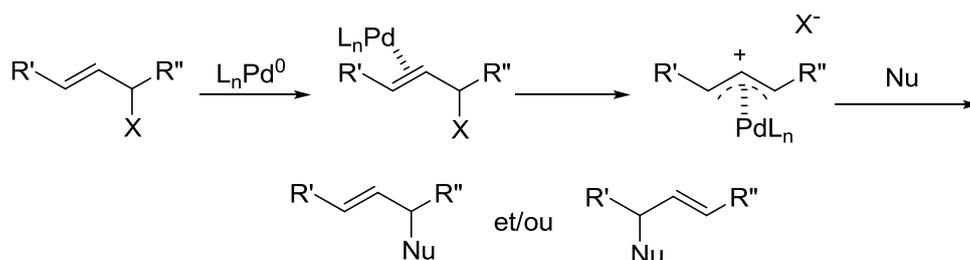


Schéma 44

Dans notre cas, cette réaction aurait pu être utile car les deux produits **21** et **24** devraient avoir le même intermédiaire π -allyl palladium et donc un seul produit final pourrait être obtenu. Dans la littérature initialement la réaction de Tsuji-Trost a été développée en milieu anhydre en utilisant des complexes de Pd(0) comme le tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) en tant

¹⁵⁸ K. C. Nicolaou, P. G. Bulger, D. Sarlah, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442.

¹⁵⁹ J. Tsuji, H. Takahashi, M. Morikawa, *Tetrahedron Lett.* **1965**, *6*, 4387.

que catalyseur,¹⁶⁰ mais cette réaction a également été réalisée dans l'eau¹⁶¹ en présence d'une phosphine sulfonagée (tppts) et avec du Pd(II), souvent sous forme de Pd(OAc)₂. (Figure 39).

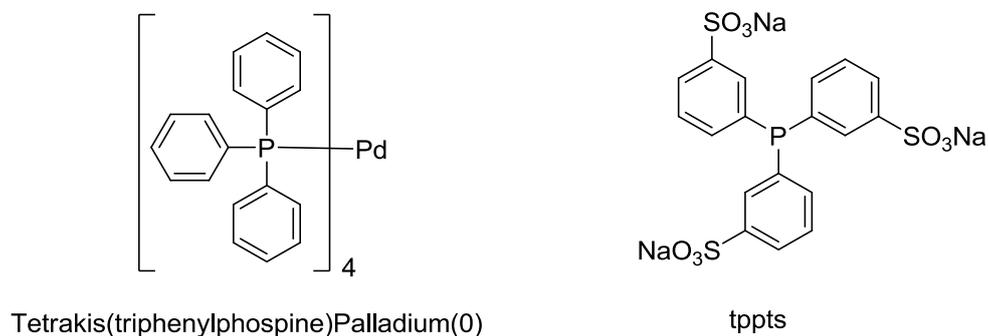


Figure 39

Les premiers exemples de cette réaction en milieu aqueux ont été reportés par Safi et Sinou¹⁶² et Genêt et al.¹⁶³ en utilisant un catalyseur de Pd(0) généré in situ à partir de Pd(OAc)₂ ou Pd(dba)₃ et tppts.

Des catalyseurs recyclables ont aussi réalisés en utilisant des nitriles insolubles dans l'eau (butyronitrile ou benzonitrile) pour la substitution nucléophile,¹⁶⁴ ou en utilisant des phosphines supportées.¹⁶⁵ Dans le cas où la réaction est réalisée dans un système biphasique, une simple séparation du catalyseur des substrats est possible.^{166,19}

Nous avons testé la réaction sur le mélange de **21** et **24** en présence de tppts et Pd(OAc)₂, dans l'eau, avec une quantité de NaOH équimolaire par rapport à la quantité de glycine éthylester afin de neutraliser l'acide chlorhydrique et d'avoir l'amine sous forme NH₂. (Schéma 45).

¹⁶⁰ (a) B. M. Trost, T. J. Fullerton *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 292 ; (b) B. M. Trost, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1989**, *28*, 1173

¹⁶¹ E. Blart, J. P. Genêt, M. Safi, M. Savignac, D. Sinou, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *50*, 505.

¹⁶² M. Safi, D. Sinou, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2025.

¹⁶³ J. P. Genêt, E. Blart, M. Savignac, *Synlett* **1992**, 715.

¹⁶⁴ E. Blart, J. P. Genêt, M. Safi, M. Savignac, D. Sinou, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 505.

¹⁶⁵ M. Lamblin, L. Nassar-Hardy, J.-C. Hierso, E. Fouquet, F. X. Felpin, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 33

¹⁶⁶ V. Michelet, M. Savignac, J. P. Genêt, *Electronic Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* **2004** (eds. L. Paquette, P. Fuchs, D. Crich, P. Wipf), John Wiley & Sons, LTD, Chichester.

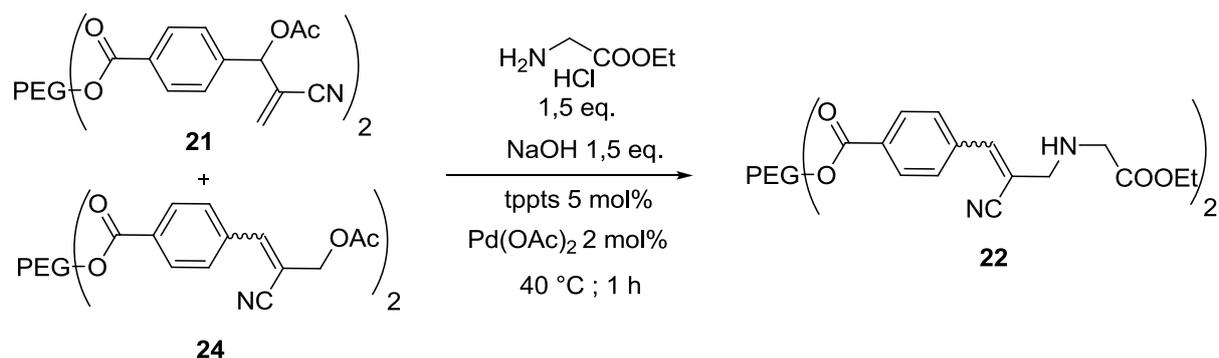


Schéma 45

Après optimisation, nous avons montré que la réaction a lieu et le produit désiré a été isolé avec une conversion totale au bout d'une heure à 40 °C. De bons rendements ont été obtenus, 85 % par extraction/précipitation et 92 % par ultrafiltration.

L'analyse du composé obtenu a été réalisée par RMN ^1H et ^{13}C et par MALDI-Tof. Les spectres RMN montrent clairement que seul le régioisomère **22** est formé. Le spectre MALDI-Tof montre une gaussienne homogène mais nous observons la présence des pics $[\text{M}+\text{Pd}^{2+}]$ qui compliquent beaucoup l'interprétation.

Une étude de cette réaction en fonction de la température a été effectuée et nous avons vu que, si la réaction est réalisée à 3 °C, elle n'est pas sélective car un mélange de deux produits a été obtenu. D'après l'analyse RMN du mélange nous avons observé que le produit **22** a été formé, mais également 15 % de son régioisomère **25**. Afin d'éviter la formation de **25** la température optimale trouvée pour cette réaction est de 40 °C. Nous n'avons pas pu rationaliser les résultats observés.

Suite à ces résultats, nous avons décidé de tester la réaction de Tsuji-Trost en utilisant d'autres réactifs sur le même mélange de produits de départ (**21**, **24**). Nous avons d'abord testé la réaction avec la 2,4-pentanedione en présence d'une base, afin de déprotoner le carbone 3 du réactif et le rendre nucléophile. La réaction a été testée à 40 °C et à température ambiante mais, bien que la conversion par rapport au produit de départ était complète, la réaction n'était pas sélective. En effet, les deux régioisomères ont été observés à chaque fois. (Schéma 46). La présence des deux isomères a été prouvée grâce à l'analyse RMN ^1H qui nous a montré les protons des deux oléfines.

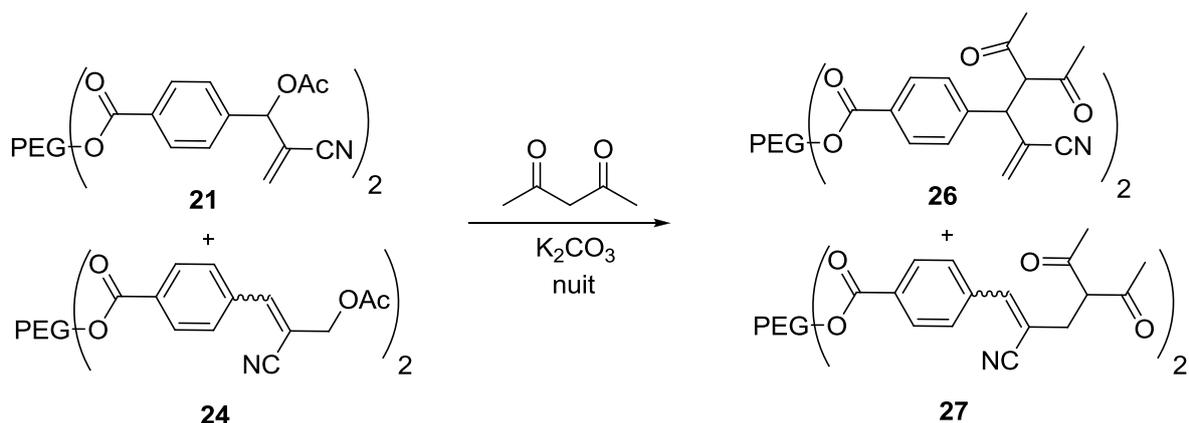


Schéma 46

La réaction a aussi été testée avec le NaN_3 et un seul isomère a été obtenu. (Schéma 47). La conversion a été prouvée parce que, dans le spectre RMN ^1H , nous ne voyons plus les méthyles de l'acétate, et de plus le $\text{CH}_2\text{-N}_3$ est plus blindé par rapport au $\text{CH}_2\text{-OAc}$.

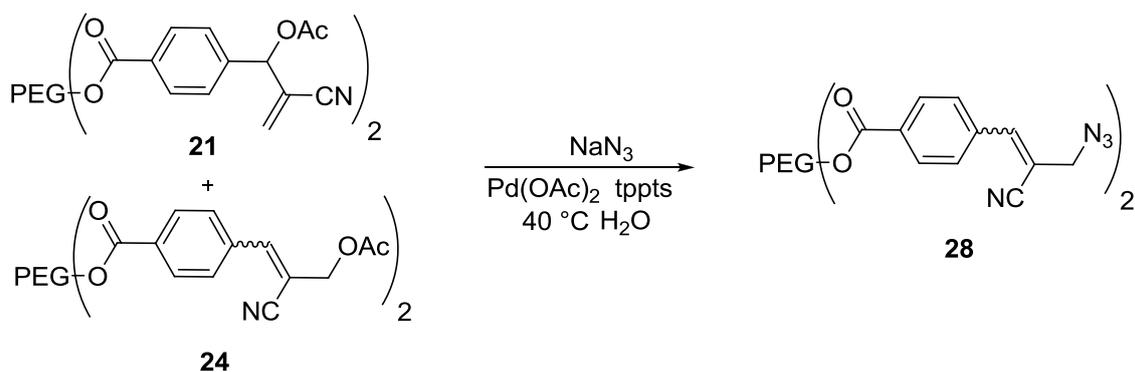


Schéma 47

En conclusion, nous avons obtenu le produit **22** via une réaction de Tsuji-Trost en phase aqueuse. Nous avons pu montrer que la régiosélectivité dépend de la température et que l'optimum se situe à 40 °C . Dans le cas d'un nucléophile carboné, nous n'avons pas obtenu de régiosélectivité dans les mêmes conditions.

2.5.3 La cyclisation de l'adduit **22**

Une fois le produit **22** isolé, seule l'étape de cyclisation restait à réaliser pour pouvoir aboutir au produit final **23**. Yadav et al.¹⁵⁵ ont montré, sur un substrat similaire, que cette réaction fonctionne bien en utilisant de l'hydroxyde de potassium. En effet, lors de la saponification de l'ester, la présence d'un contre ion potassium permet de rendre le carboxylate assez nucléophile pour attaquer la double liaison et ainsi permettre la cyclisation. Nous avons tenté

cette réaction à plusieurs reprises mais seul le produit de coupure **29** a pu être isolé et non le produit de cyclisation **23**. (Schéma 48).

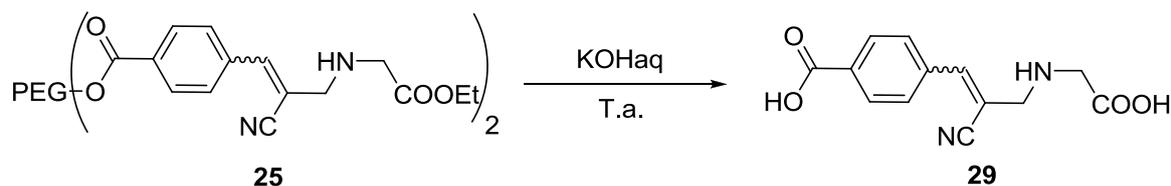


Schéma 48

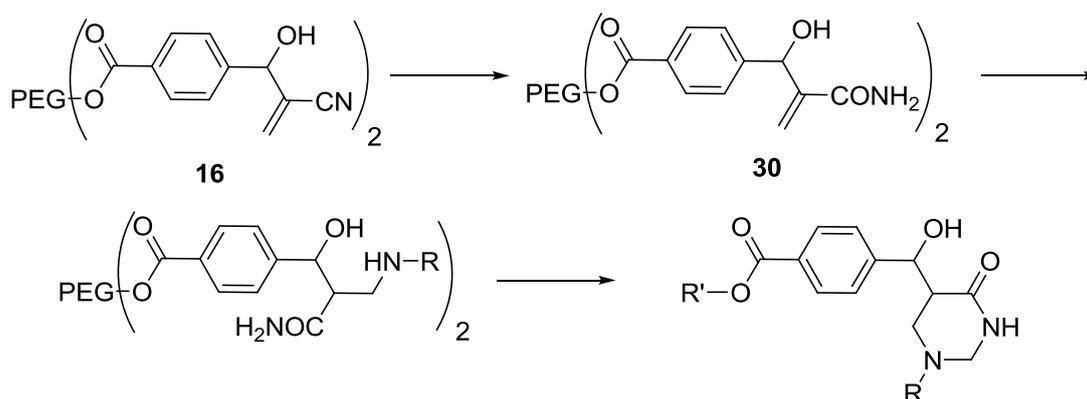
Le produit **29** est difficile à manipuler car c'est un diacide-aminé, très soluble dans l'eau. Il est probable que l'adduit **23**, un acide-aminé, ait des caractéristiques similaires. Nous avons alors choisi de protéger l'amine sur le produit **25** pour ensuite essayer la cyclisation. La protection a été testée avec le Boc_2O , mais cette réaction, malgré de nombreux essais dans différentes conditions, n'a jamais conduit au produit souhaité.

Nous avons alors décidé d'effectuer d'abord une transestérification de l'adduit **25** afin de l'isoler du support pour, par la suite, essayer la cyclisation. Cette réaction a d'abord été testée avec EtONa dans l'éthanol mais un mélange de nombreux produits que nous n'avons pas isolés, a été obtenu. D'autres tests ont été effectués, HCl anhydre dans l' EtOH , EtOH à reflux ou aux micro-ondes, mais nous n'avons jamais pu observer la transestérification du produit. La réaction a aussi été essayée en présence de différents carbonates, dans l'éthanol. La réaction a fonctionné avec CsCO_3 et K_2CO_3 à température ambiante, et en présence de Na_2CO_3 à $50\text{ }^\circ\text{C}$ mais, dans les trois cas, un mélange de produits, inséparables par chromatographie, a été obtenu.

En conclusion, malgré les différentes stratégies envisagées, la synthèse d'oxazepinones à partir de l'adduit de Baylis-Hillman n'a pas abouti.

2.6 La synthèse de tétrahydropyrimidones

Nous avons envisagé la synthèse d'un dérivé pyrimidonique à partir de l'adduit de BH. La stratégie pour aboutir à ce produit prévoit la formation de l'amide à partir du nitrile suivie d'une succession d'additions avec différentes amines et enfin une cyclisation. (Schéma 49).



2.6.1 La formation de l'amide

Afin d'obtenir l'amide **30** à partir du nitrile nous avons utilisé une réaction d'hydratation catalysée au palladium. Cette réaction est connue depuis longtemps,¹⁶⁷ mais nous avons utilisé une version récemment publiée¹⁶⁸ qui prévoit l'utilisation de l'acétaldoxime, du Pd(OAc)₂ et de la triphényl phosphine. Le cycle catalytique proposé pour cette réaction d'hydratation du nitrile est représenté en Figure 40.

¹⁶⁷ G. Villain, P. Kalck, A. Gaset, *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 2901.

¹⁶⁸ E. S. Kim, H. S. Kim, J. N. Kim, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2973.

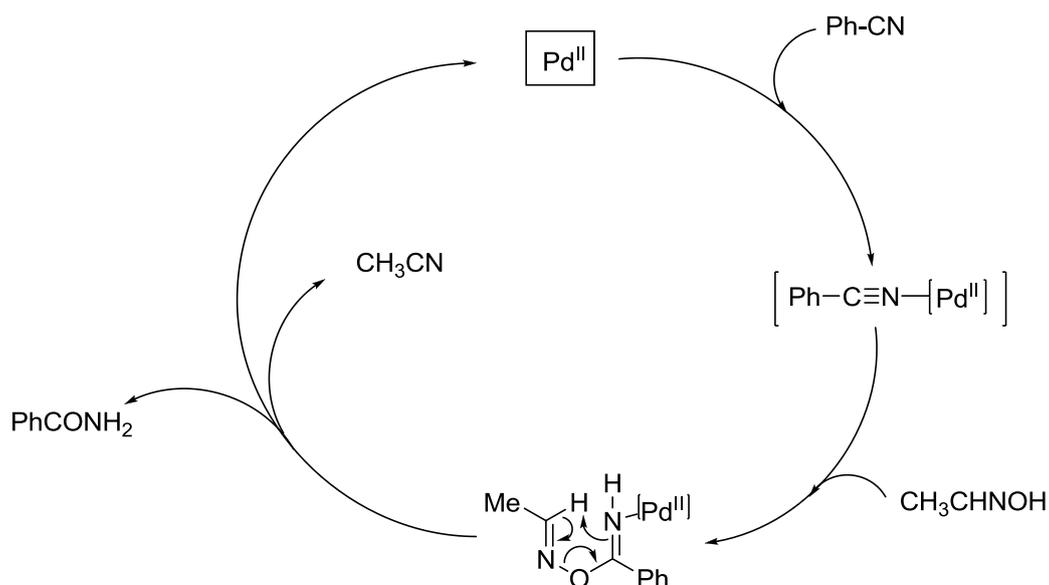


Figure 40

L'équipe qui a découvert cette réaction l'a également appliquée aux adduits de Baylis-Hillman.¹⁶⁹ Cette réaction avait été menée dans l'éthanol à reflux, nous avons conservé des conditions similaires, mais réalisé la réaction en milieu aqueux.

Nous avons choisi d'utiliser la tppts pour cette réaction car ce ligand est hydrosoluble. Après optimisation des conditions expérimentales nous avons pu montrer que la réaction était complète au bout de 4 heures à 50 °C, en utilisant 2 équivalents d'acétaldoxime, 2 mol% de Pd(OAc)₂ et 5 mol% de tppts, dans l'eau. (Schéma 50).

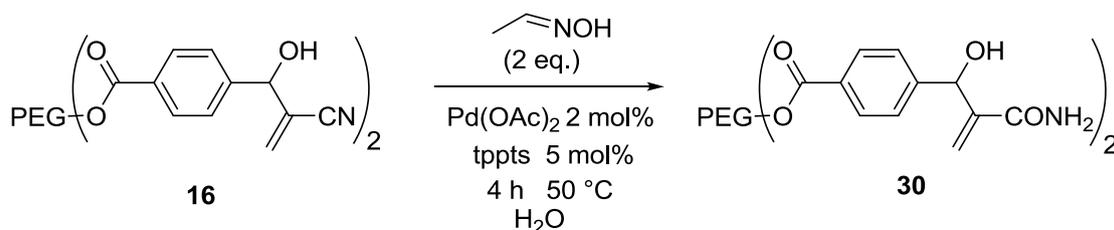


Schéma 50

Le rendement de cette réaction par extraction/précipitation est de 90 %. Nous avons d'abord décidé de terminer de la synthèse et d'optimiser successivement la réaction en flux continu et la purification par ultrafiltration. Pour poursuivre la synthèse il fallait additionner l'amine sur l'adduit **30**.

¹⁶⁹ E. S. Kim, H. S. Lee, J. N. Kim, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 6286.

2.6.2 Les réactions sur l'adduit **30** et la cyclisation

Dans un premier temps, nous avons testé l'addition de Michael sur le produit **30** avec l'ester éthylique de la glycine et la benzylamine, mais cette réaction, malgré différents essais, n'a jamais abouti. Nous avons alors décidé de réaliser d'abord l'addition de Michael, et de réaliser ensuite l'hydratation de l'amine. Nous avons utilisé l'adduit **20a** comme substrat. Après optimisation de la réaction, nous avons montré que la réaction était complète au bout d'une nuit à 50 °C en utilisant 2,5 équivalents d'acetaldoxime, 2,5 mmol% de Pd(OAc)₂ et 5 mol % de tppts dans l'eau. Le produit a été obtenu avec un rendement par extraction/précipitation de 88 %. (Schéma 51).

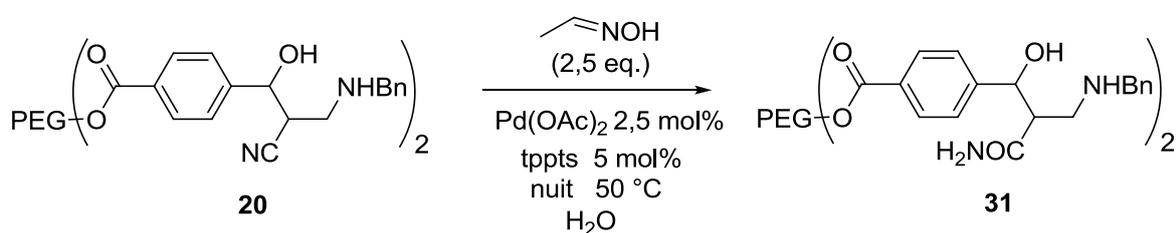


Schéma 51

Comme l'acétylation de l'hydroxyle de l'adduit de BH (**16**) avait été difficile (Paragraphe 2.5.1), nous avons pensé que l'hydroxyle n'était pas très réactif. Il ne devrait donc probablement pas nous gêner pour la cyclisation du produit **31**.

Dans un premier temps cette cyclisation a été testée en utilisant le formaldéhyde, sous forme de paraformaldéhyde, à 100 °C dans le MeOH, dans un tube scellé. Malheureusement, la réaction s'est révélée non sélective. En effet, par RMN ¹H nous voyons deux produits principaux. Dans ces conditions, il y a probablement une compétition des différents groupements nucléophiles sur l'aldéhyde, car les trois différentes cyclisations, présentées en Figure 41, peuvent être envisagées.

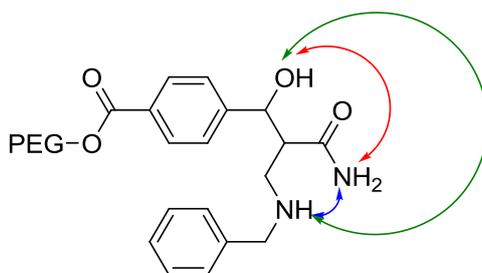


Figure 41

Nous avons alors testé la cyclisation avec le paraformaldéhyde sur le produit **30**, afin de comprendre si une cyclisation entre l'amide et l'hydroxyle est possible, mais la réaction n'a pas eu lieu.

Les deux produits précédemment observés par RMN ^1H sont probablement:

- le produit de cyclisation entre l'hydroxyle et l'amine (flèche verte)
- le produit de cyclisation entre l'amide et l'amine (flèche bleu)

Nous avons alors envisagé de protéger l'hydroxyle afin d'interdire son attaque sur l'aldéhyde, et permettre ainsi la cyclisation entre l'amide et l'amine.

Nous avons donc envisagé de protéger l'hydroxyle du composé **30** puis d'introduire l'amine par une réaction de $\text{S}_{\text{N}}2'$ ou une réaction de Tsuji-Trost.

L'acétylation de l'adduit **30** a été réalisée en utilisant les conditions précédemment optimisée pour l'adduit **21**, c'est-à-dire 5 équivalents d'anhydride acétique, sans solvant, à 70 °C. Au bout de 3 heures le produit attendu a été obtenu avec un rendement par extraction/précipitation de 84 %. (Schéma 52). Dans ce cas, le produit transposé n'a pas été retrouvé, en opposition à l'acétylation réalisée sur l'adduit **16**.

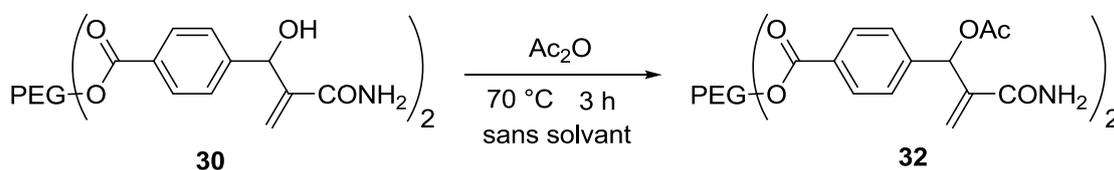


Schéma 52

Le réaction de $\text{S}_{\text{N}}2'$ a été testée sur le composé **32**, mais un mélange de plusieurs produits a été obtenu. Nous avons donc, en utilisant les conditions utilisées pour aboutir au produit **22**, effectué la réaction de Tsuji-Trost sur le produit **32**. Bien que plusieurs tests, avec différentes conditions de température, aient été effectués, la réaction n'a pas été sélective. En effet, un mélange des deux isomères (**33** et **34**) a été isolé (Figure 42) et le spectre était similaire à ce obtenu dans le cas de l'addition de Michael sur le mélange de **21** et **24** (Schéma 43).

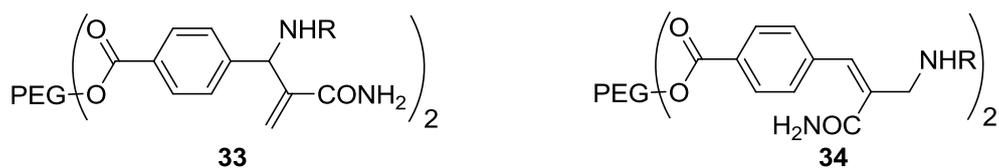


Figure 42

Nous avons alors envisagé pouvoir réaliser la réaction d'hydratation du nitrile directement sur l'adduit de Tsuji-Trost **22**, mais, dans ce cas également, un mélange de produits a été obtenu.

En conclusion, nous n'avons pas réussi à synthétiser les tétrahydropyrimidones souhaitées car la présence de l'hydroxyle sur la molécule était gênante pour la cyclisation finale, et malgré différentes tentatives, nous ne sommes pas parvenus à contourner ce problème.

2.7 La synthèse des tétrahydro-1,3-oxazines

La dernière synthèse envisagée était la synthèse de tétrahydro-1,3-oxazines. Les molécules contenant ce type de cycle sont connues pour leur activité anti-tumorale.¹³⁷ Elles peuvent également être utilisées comme stabilisants des carburants contre la lumière, la chaleur et les acides,¹⁷⁰ ou comme partie hydrophile de surfactants utilisés dans des savons,¹⁷¹ ...

La stratégie envisagée afin d'obtenir ces composés prévoit une addition de Michael sur l'adduit de BH **16**, suivie d'une cyclisation entre l'azote et l'oxygène puis la coupure finale du support. Ce type de synthèse avait été utilisé par Perlmutter et Tabone¹⁷² en 1988 pour permettre l'analyse, par RMN, de la diastéroselectivité de l'addition de Michael sur l'adduit de BH.

Nous avons alors effectué des additions de Michael sur l'adduit de BH **16** en utilisant différentes amines comme nucléophiles, (Schéma 53).

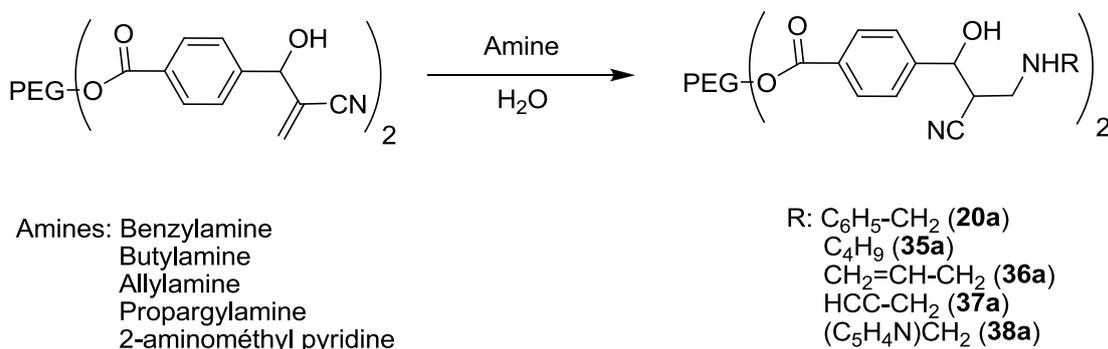


Schéma 53

La conversion a été complète au bout de deux heures, à température ambiante, en utilisant deux équivalents d'amine dans la plupart des cas. En effet, dans le cas de la propargylamine et de la 2-aminométhyl pyridine 3 équivalents d'amine ont été nécessaires à 45 °C pendant 2 heures pour avoir une conversion totale.

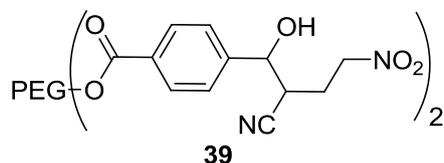
Afin de vérifier si cette addition fonctionne également en présence de nucléophiles non azotés, la réaction a été testée en utilisant le nitrométhane (2 équivalents) comme réactif associé à une base (K₂CO₃). La réaction a été réalisée dans l'eau, à température ambiante

¹⁷⁰ A. Lange, H. Mac, H. P. Rath, D. Posselt, *German Patent* **2007**, WO2007/012580 A1.

¹⁷¹ M. A. Rahman, S.-R. Wu, A. Hung, *European Patent* **2006**, EP0743310 A1.

¹⁷² P. Perlmutter, M. Tabone, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 949.

pendant une nuit et le produit désiré a été obtenu. Les analyses RMN et ESI ont été effectuées sur le produit après coupure par saponification (**39**) et la structure a été confirmée par RMN et HRMS, et les deux diastéréoisomères ont été obtenus.



L'optimisation des conditions de cyclisation a été effectuée sur l'adduit **20a**. Dans un premier temps, le paraformaldéhyde a été utilisé comme réactif, et la réaction a été réalisée dans le MeOH à 100 °C pendant une nuit et le produit attendu a été obtenu. Dans la littérature, cette réaction est le plus souvent décrite dans des solvants organiques, même en présence de formaldéhyde aqueux.¹⁷³ Nous avons tout de même décidé d'utiliser l'eau comme seul solvant de réaction et les conditions de Folop et al.¹⁷⁴ ont été reprises et modifiées. Nous avons alors utilisé 4 équivalents de formaldéhyde en solution aqueuse à température ambiante et au bout de deux heures, la conversion était totale. Les mêmes conditions ont été utilisées pour cycliser les composés **35a**, **36a**, **37a** et **38a** et les produits souhaités ont été obtenus avec une conversion totale après deux heures de réaction. (Schéma 54).

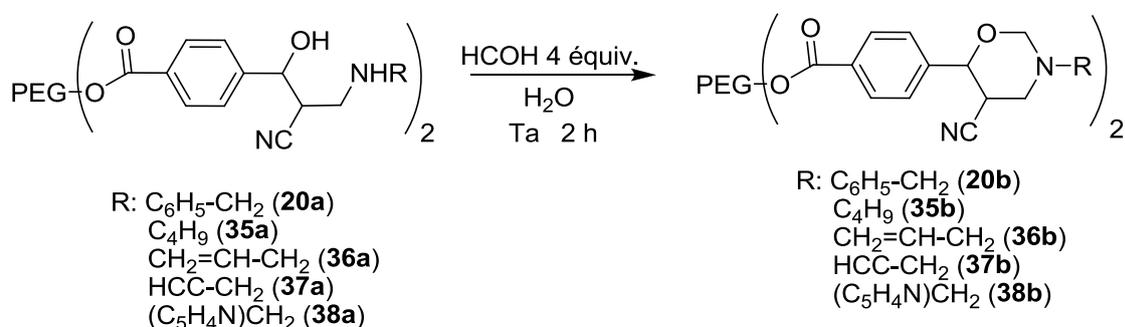


Schéma 54

La coupure du support a été réalisée avec hydroxyde de sodium, dans l'eau, à température ambiante pendant une nuit. La réaction a bien fonctionné, mais nous avons retrouvé un mélange de deux diastéréoisomères, difficiles à séparer. Nous avons alors choisi d'effectuer la coupure différemment afin d'obtenir des produits séparables par chromatographie sur colonne. Ainsi, la réaction a été réalisée avec du méthanoate de sodium dans le méthanol

¹⁷³ C. Cimarelli, S. Giuli, G. Palmieri, *Tetraheron : Asimmetry* **2006**, *17*, 1308.

¹⁷⁴ F. Folop, G. Bernath, G. Argay, A. Kalman, P. Sohar, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2053.

pendant trois heures à température ambiante afin d'obtenir des esters méthyliques. (Schéma 55).

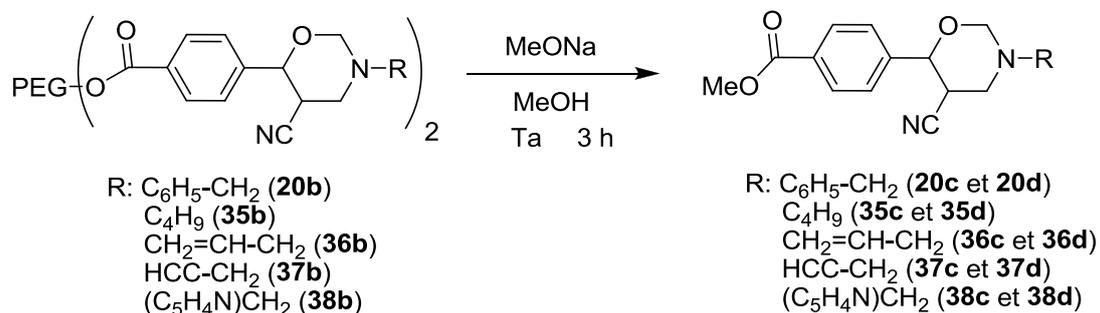


Schéma 55

Les produits souhaités ont été obtenus avec des rendements compris entre 54 et 66 %.

Après avoir isolé les produits, nous avons analysé le rapport entre les deux diastéréoisomères et nous avons remarqué que le produit qui présente les substituants en *cis* est toujours plus abondant que le produit qui les présente en *trans*, le rapport entre les deux étant d'environ 1:2.

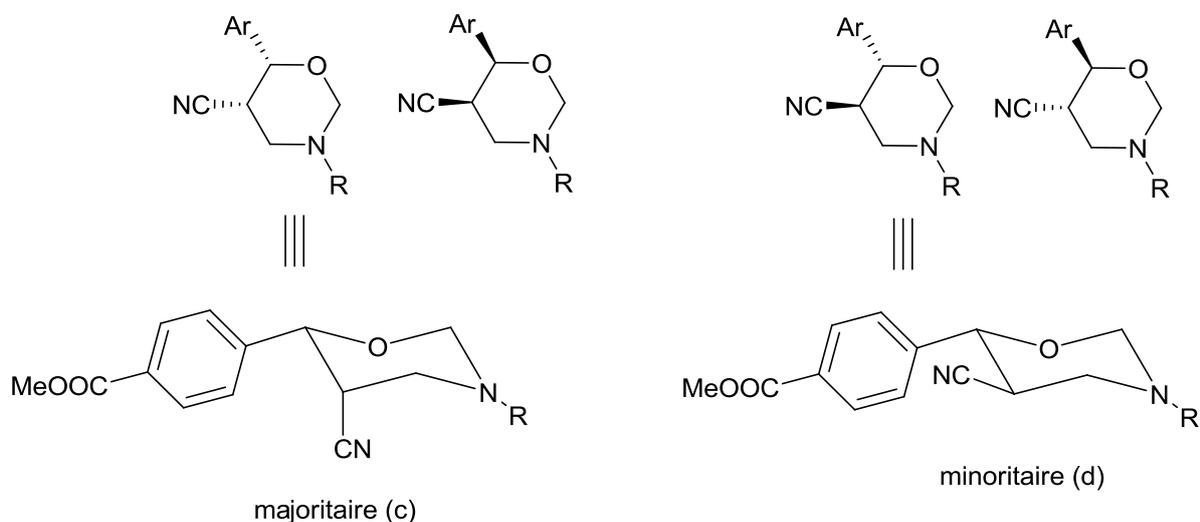


Schéma 56

(un seul des énantiomères est représenté pour chaque couple de diastéréoisomères)

Les rendements des adduits isolés après coupure du support sont détaillés dans le Tableau 9.

Produit de départ	Rdt produit c	Rdt produit d
20	35 %	26 %
35	39 %	15 %
36	44 %	22 %
37	37 %	20 %
38	40 %	20 %

Tableau 9

Une analyse RMN a été effectuée sur les produits finaux, mais aussi sur les adduit liés au support polymérique et sera présentée dans le paragraphe suivant.

2.7.1 Etude RMN ^1H des tétrahydro-1,3-oxazines

La RMN de ce type de composés est connue depuis longtemps¹⁷⁵ et a beaucoup été étudiée. Cette analyse est aujourd'hui souvent utilisée afin de comprendre la stéréochimie des amino-alcools après les avoir cyclisés.¹⁷⁶

L'analyse sur les produits finaux a été simple car nous avons facilement retrouvé les constantes de couplage des différents signaux ainsi que leur attribution. Par contre, l'analyse sur les adduits liés au support a été plus compliquée à cause de la présence du PEG et des deux diastéréoisomères.

La numérotation que nous avons choisi d'utiliser est celle utilisée par Vary et son équipe.¹⁶¹ (Figure 43).

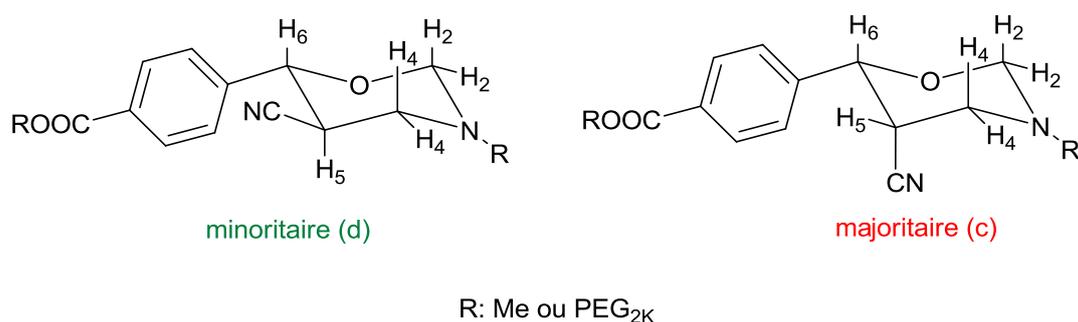


Figure 43

Les constantes de couplage montrent que les composés adoptent des conformations chaise. Afin de confirmer cette conformation des expériences RMN-n.O.e. (nuclear Overhauser

¹⁷⁵ Y. Allingham, R. C. Cookson, T. A. Crabb, S. Vary, *Tetrahedron* **1968**, 24, 4625.

¹⁷⁶ M. I. N. C. Harris, A. C. H. Braga, *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, 15, 971.

effect) ont été effectués ; ces analyses nous ont permis de voir les corrélations, dans l'espace, entre les protons H-2 axial, H-4 axial et H-6 axial. Cette conformation a été prouvée aussi par une constante de couplage en W entre le proton H-4 équatorial et le proton H-2 équatorial. Suite à ces données nous avons pu analyser les différences entre les deux adduits (**c** et **d**). La différence principale, qu'il est possible de remarquer par RMN ^1H , se trouve au niveau du proton H-5 car il se présente en position axiale dans le produit majoritaire et équatoriale dans le minoritaire. Par conséquent, les constantes de couplage avec H-2, H-4 et H-6 sont très différentes dans les deux produits. Le spectre RMN ^1H de l'adduit **20b** est représenté en Figure 44.

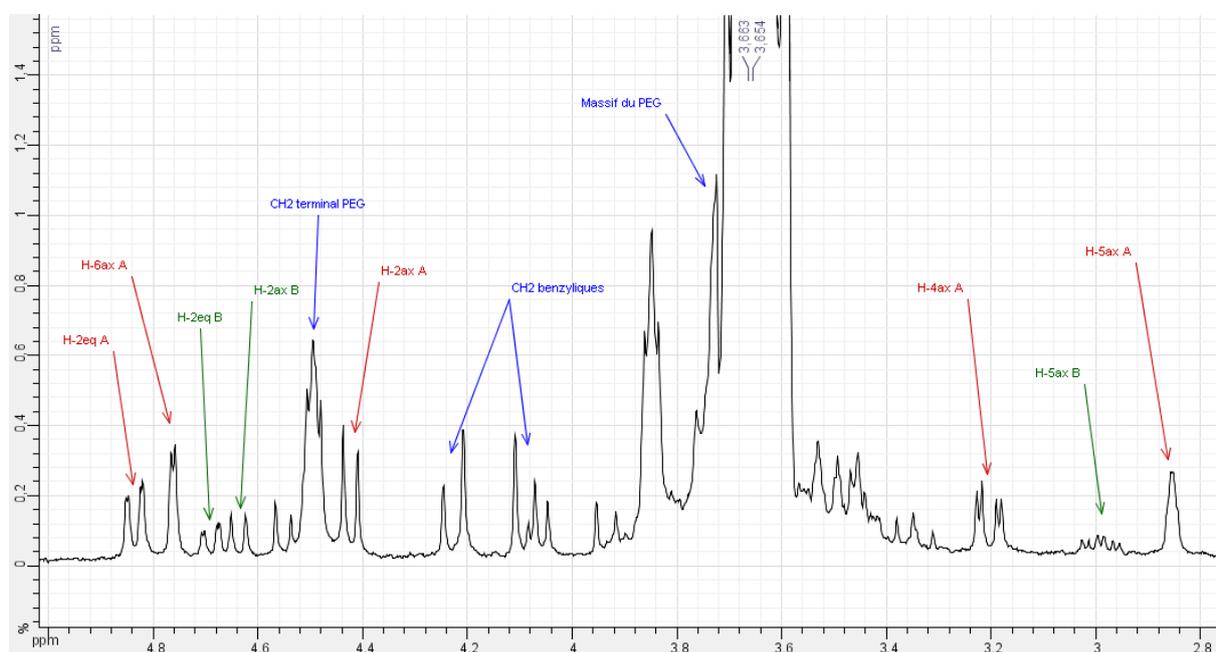
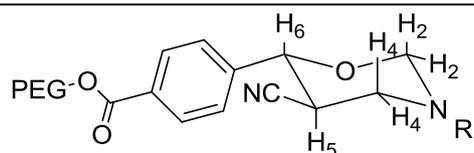


Figure 44 (vert : minoritaire ; rouge : majoritaire)

Nous pouvons remarquer que le H-5 des deux molécules est effectivement différent. Le H-5 du produit majoritaire couple, avec de petites constantes, avec H-6 et H-4 et dans le spectre apparaît comme un multiplet. Par contre, le H-5 du composé minoritaire couple avec H-6 et H-4 avec de grandes constantes de couplage (comme il se trouve en position axiale, les constantes sont $J_{5-4ax} = 10.0$ Hz, $J_{5-6} = 10.0$ Hz et $J_{5-4eq} = 3.5$ Hz), il apparaît donc sous la forme d'un *ddd* bien résolu. La différence entre les deux molécules est remarquable aussi sur d'autres protons présentés en Figure 44 (tels que H-2 par exemple), même si certains signaux sont dissimulés par le signal du PEG. Nous pouvons aussi remarquer, sur les signaux des H-2 équatoriaux, les petites constantes en W d'environ 1.5 Hz.

Les constantes de couplage des diastereoisomères sont reportées dans les tableaux suivants.

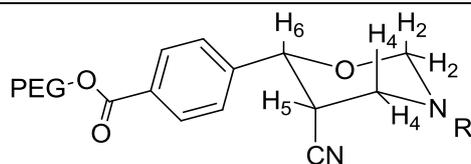


minoritaire (d)

R	$J_{5ax-6ax}$ (Hz)	$J_{5ax-4ax}$ (Hz)	$J_{2eq-4eq(W)}$ (Hz)
C ₆ H ₅ -CH ₂	11.0	11.0	1.0
C ₄ H ₉	n.d.	n.d.	n.d.
CH ₂ =CH-CH ₂	10.0	10.0	1.5
HCC-CH ₂	10.5	11.5	2.0
(C ₅ H ₄ N)CH ₂	10.0	10.0	1.0

n.d. : constant de couplage non déterminable

Tableau 10



majoritaire (c)

R	$J_{5eq-6ax}$ (Hz)	$J_{5eq-4ax}$ (Hz)	$J_{2eq-4eq(W)}$ (Hz)
C ₆ H ₅ -CH ₂	2.5	3.0	1.5
C ₄ H ₉	2.0	3.5	n.d.
CH ₂ =CH-CH ₂	2.5	3.5	n.d.
HCC-CH ₂	2.5	3.5	1.5
(C ₅ H ₄ N)CH ₂	3.0	3.0	1.5

n.d. : constant de couplage non déterminable

Tableau 11

Nous pouvons remarquer que les valeurs sont similaires pour les différents produits et nous avons donc pu bien analyser les deux diastéréoisomères et leur rapport, qui est d'environ 1:2 pour tous les adduits, aussi bien sur les molécules supportées que sur les adduit coupés.

En conclusion, nous avons réussi à synthétiser une gamme de tétrahydro-1,3-oxazine à partir de l'adduit de BH, et nous avons isolé et analysé tous les intermédiaires et les produits finaux. Toutes les étapes, sauf la coupure, ont été réalisées dans l'eau. A la suite de ce résultat encourageant, nous nous sommes intéressés au développement de ces réactions en flux continu et à la purification par ultrafiltration.

2.7.2 L'optimisation en flux continu

D'abord, nous avons cherché à optimiser l'addition de Michael de la benzylamine sur l'adduit de BH **16** en flux continu. Nous avons préparé une solution de **16** dans l'eau et une autre avec l'amine (1,3 équivalents) dans l'eau puis les deux solutions ont été pompées dans le réacteur avec un débit de 0,33 mL/min, afin d'avoir un temps de résidence de 30 minutes, à 30 °C. La conversion de cette réaction étant complète et nous l'avons alors réalisée avec les autres amines. Les conditions optimisées sont présentées dans le Tableau 12.

Addition de l'amine sur **16**

Amine	Equivalents	T (°C)	Temps de résidence (min)
Benzylamine	1,3	30	30
Butylamine	1,3	30	30
Allylamine	1,5	30	30
Propargylamine	4	45	45
2aminométhyl pyridine	3	45	45

Tableau 12

Des conversions totales ont été obtenues. Pour la propargylamine et la 2-aminométhyl pyridine nous avons été obligé de varier le nombre d'équivalents d'amine, la température et le temps réactionnel afin d'obtenir une conversion complète.

Pour la cyclisation, le test a été effectué sur le composé **20a**, qui a été solubilisé dans l'eau et mis en réaction avec une solution de formaldéhyde. Les deux solutions ont été pompées dans le réacteur avec un débit de 0,33 mL/min, afin d'avoir un temps de résidence de 30 minutes, à 30 °C. La conversion de cette réaction étant complète, nous l'avons alors testée sur les autres adduits. Les conditions optimisées sont présentées dans le Tableau 13.

Cyclisation

Adduit	Equivalents HCOH	T (°C)	Temps de résidence (min)
20a	3	30	30
35a	3	30	30
36a	3	30	30
37a	4	30	45
38a	4	30	45

Tableau 13

Quand nous avons réalisé ces réactions traitant chaque brut réactionnel à la sortie du réacteur des rendements d'environ 70 % pour chacune des étapes (addition de Michael et cyclisation) ont été obtenus. Afin d'augmenter les rendements et de réaliser un processus plus éco-compatible, évitant un traitement, nous avons décidé de réaliser la cyclisation directement à partir de la phase aqueuse issue de l'étape d'addition de Michael. Cette procédure a été testée sur tous les adduits et les produits désirés ont été obtenus. (Figure 45).

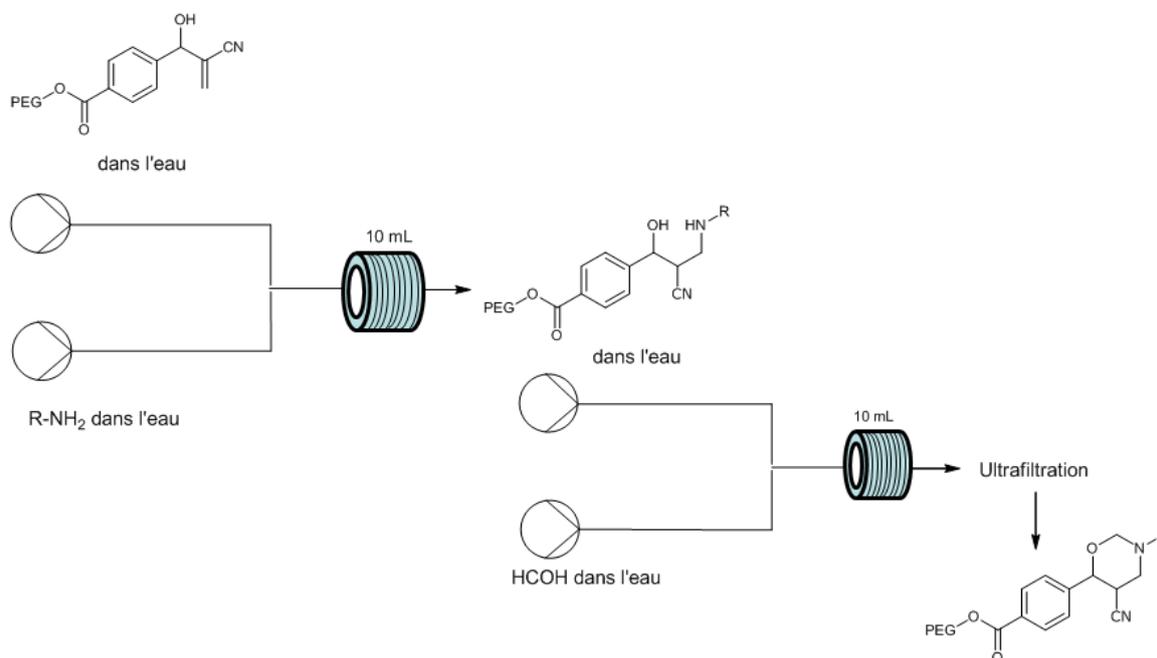


Figure 45

Chaque produit a été purifié par ultrafiltration directe après la sortie du réacteur et des bons rendements isolés ont été obtenus. (Tableau 14).

Adduit	Rdt par ultrafiltration
20b	80 %
35b	76 %
36b	64 %
37b	75 %
38b	85 %

Tableau 14

Sur cette séquence de 5 réactions à partir de la 4-carboxybenzaldehyde, 4 ont été réalisées sans solvants ou dans l'eau. Les purifications ont été effectuées par ultrafiltration des milieux aqueux. La dernière étape, permettant de couper le produit synthétisé du support (PEG), a été réalisée dans le méthanol afin d'obtenir des esters méthyliques dont la séparation a nécessité une chromatographie, la seule de la séquence réactionnelle.

3 Conclusion générale

Le but de ce travail était de pouvoir montrer que la synthèse supportée sur PEG couplée à l'ultrafiltration pouvait permettre de limiter l'utilisation de solvants organique.

Nous sommes arrivés à notre but car la synthèse de différents types de molécules a été réalisée, supportée sur poly(éthylène glycol), dans l'eau, et les purifications ont été effectués par ultrafiltration.

Les synthèses de tétrazoles, dihydropyrimidinones et tétrahydrooxazines ont été réalisées dans l'eau et supportée sur PEG, par contre nous ne sommes pas arrivés à synthétiser les oxazepinones et les pyrimidinones souhaités car la dernière étape, de cyclisation, de chaque synthèse n'a pas eu lieu malgré les différentes conditions utilisées.

Ensuite toutes les synthèses réalisées par lots ont été optimisées en flux continu dans l'eau, et cette méthode a été couplée à l'ultrafiltration, et donc aucun solvant organique a été utilisé, ni pendant la synthèse ni pendant la purification.

Nous avons également montré que l'utilisation d'un PEG de masse moléculaire de 2000, même s'il conduit à de rendements plus faibles, permet d'isoler une quantité de produit final plus importante par rapport à un PEG de masse moléculaire supérieure.

Le problème que nous avons rencontré était dû au type de lien utilisé, car nous avons accroché aux hydroxyles du PEG la 4-carboxybenzaldéhyde via une réaction d'estérification. Cette liaison est instable dans l'eau si le pH est trop acide ou trop basique, ou même à des températures élevées, donc il faudra étudier un nouveau lien que soit stable aux conditions de synthèse dans l'eau et facilement clivable à la fin de la synthèse.

Nous avons aussi mis au point des méthodes d'analyse RMN afin de supprimer les signaux du PEG en RMN ^1H et en 2D et faciliter l'analyse des molécules branchées au polymère.

Aujourd'hui, les réactions optimisées pendant cette thèse peuvent être utilisées afin d'aboutir à des produits plus compliqués dans l'eau et en flux continu.

Les mêmes synthèses pouvaient aussi être réalisées dans l'eau et supportées sur PEG mais de façon énantiosélective. Pour la réaction de Biginelli pourrait être envisageable l'utilisation d'un complexe de cuivre chiral afin d'obtenir un seul des deux énantiomères. La réaction de Baylis-Hillman a déjà été réalisée dans l'eau énantiosélectivement et les conditions pourraient

être reprises pour être appliquées à notre adduit, utilisant par exemple N-méthylprolinol comme catalyseur.¹⁷⁷

Une autre perspective pourrait être le développement de ces synthèses sur un PEG modifié ayant une capacité de charge plus élevée. Des PEG modifiés ont déjà été décrits en littérature, mais, au sein de notre laboratoire, un PEG ayant une capacité de charge plus élevée a été synthétisé, de façon éco-compatible, par Raphaël Turgis au cours de sa thèse. Nous pouvons donc penser réaliser nos synthèses sur ce type de support.

L'utilisation de l'eau comme solvant de la chimie verte a quelque fois été remis en discussion. Il est juste de considérer que le seul fait d'utiliser un solvant éco-compatible ne rends pas un procédé vert ; il faudrait en effet que l'ensemble des 12 principes énoncés par Anastas et Warner² soient respectés et dans nombreux cas, des réactions menées dans l'eau sont traités par extraction et nécessite des chromatographies. Si l'eau constitue un déchet qu'il convient de traiter comme les autres, il faut néanmoins considérer que son traitement, notamment par des techniques membranaires, est un procédé aujourd'hui bien maîtrisé. L'utilisation de solvants alternatifs non volatils, comme l'eau, pour la synthèse associée à des procédés évitant au maximum l'emploi de solvants organiques permet en outre d'éviter le stockage de ces composés dont l'évaporation peut être source de pollution.

¹⁷⁷ P. R. Krishna, R. Sachwani, P. S. Reddy, *Synlett* **2008**, 19, 2897.

4 PARTIE EXPERIMENTALE

General information: ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded at room temperature with Bruker spectrometers (250, 300, 360 and 400 MHz). Chemical shifts are reported in part per million (ppm) vs Me_4Si for ^1H NMR.

Acquisition parameters: D1 = 3.5 s; AQ = 1.1 s, PULSE 30 °.

Mass spectra were recorded in positive or negative mode on a Finnigan MAT 95 S spectrometer using electrospray ionisation except for MALDI-TOF which were performed at the Service de Spectrométrie de Masse IMAGIF/ICSN – CNRS (Gif-sur-Yvette, France) using 2,5 dihydroxybenzoic acid as the matrix. Spectra of the compounds were compared to commercial PEG₂₀₀₀ (m/z calcd for $\text{C}_{94}\text{H}_{190}\text{NaO}_{48}$ (M+Na)⁺, n=46: 2110.23, found 2110.31) or commercial PEG₄₀₀₀ (m/z calcd for $\text{C}_{190}\text{H}_{382}\text{NaO}_{96}$ (M+Na)⁺, n=94: 4223.49, found 4223.53).

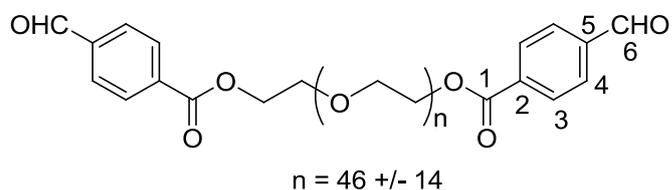
General procedure for ultrafiltration:

Ultrafiltration of the filtered (short pad of Celite) aqueous solutions were performed in Amicon 8050 stirred cell fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cutoff 1000, under 3.8 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (40 mL), and the solution was ultrafiltered again. The operation was repeated until the dry residue obtained upon evaporation of filtrate was lower than 100 mg (usually 3 times). The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford the compound.

General procedure for Extraction/Precipitation

The product was extracted by CH_2Cl_2 , dried of Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. After precipitation with Et_2O at 0 °C, filtrating and washing with cold Et_2O a white solid was obtained.

Compound 2a



A mixture of PEG (1.9 mmol), 4-carboxybenzaldehyde (2.3 g, 15.3 mmol) and *N,N'*-diisopropylcarbodiimide (3.6 mL, 23 mmol) was heated at 70 °C for 3.5 h and cooled at r.t.. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 90 %

Isolated yield by ultrafiltration: 65 %

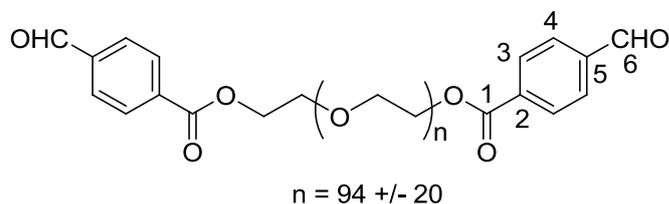
¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ 3.45-3.90 (m, ~ 180 H, PEG backbone), 4.53 (t, $J = 5.0$ Hz, 4 H, PEG-CH₂OCO), 7.98 (d, $J = 8.0$ Hz, 4 H, H-4), 8.24 (d, $J = 8.0$ Hz, 4 H, H-3), 10.13 (s, 2 H, CHO).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 64.1 (CH₂-OCO), 68.5 (CH₂-CH₂-OCO), 70.0 (PEG), 128.9 (C-4), 129.7 (C-3), 134.5 (C-2), 138.6 (C-5), 164.9 (COO-PEG), 191.1 (CHO).

IR: (KBr) $\nu = 1112$ (C-O), 1650 (C=C Ar), 1698 (C=O), 2628 (CO-H) 1967 (Ar), 2880 (C-H), cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₁₀H₁₉₈NaO₅₂ (M+Na)⁺, n=46: 2374.27, found 2374.39.

Compound 2b



A mixture of PEG (1.9 mmol), 4-carboxybenzaldehyde (2.3 g, 15.3 mmol) and *N,N'*-diisopropylcarbodiimide (3.6 mL, 23 mmol) was heated at 70 °C for 3.5 h and cooled at r.t.. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 88 %

Isolated yield by ultrafiltration: 75 %

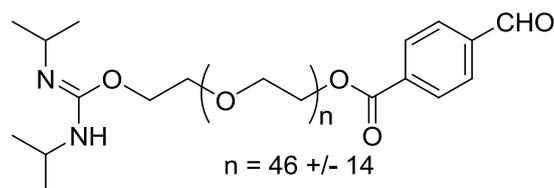
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 3.45-3.88 (m, 380 H, PEG backbone), 4.53 (t, $J = 5.0$ Hz, 4 H, PEG-CH₂OCO), 7.97 (d, $J = 8.0$ Hz, 4 H, H-4), 8.23 (d, $J = 8.0$ Hz, 4 H, H-3) 10.12 (s, 2 H, CHO).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 64.5 (CH₂-OCO), 68.8 (CH₂-CH₂- OCO), 70.4 (PEG), 129.3 (C-4), 130.1 (C-3), 134.8 (C-2), 139.1 (C-5), 165.2 (C-1), 191.5 (CHO).

IR: (KBr) $\nu = 1112$ (C-O), 1650 (C=C Ar), 1698 (C=O), 2628 (CO-H) 1967 (Ar), 2880 (C-H), cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₂₀₆H₃₉₀NaO₁₀₀ (M+Na)⁺, n=94: 4487.53, found 4487,52.

Compound 3a



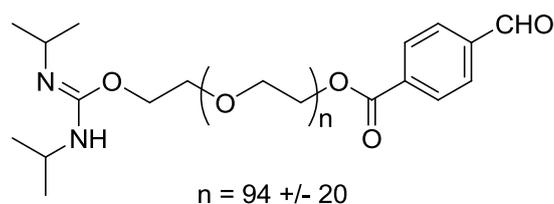
(Selected data):

$^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 1.04 (d, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.44 (d, $J = 7.0$ Hz, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 20.8 (CH_3), 22.3 (CH_3).

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{109}\text{H}_{208}\text{N}_2\text{NaO}_{50}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, $n=46$: 2368.36, found 2368.24.

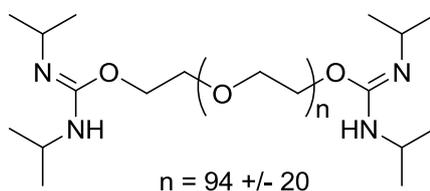
Compound 3b



(Selected data):

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{205}\text{H}_{400}\text{N}_2\text{NaO}_{98}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, $n=94$: 4481.62, found 4481.44.

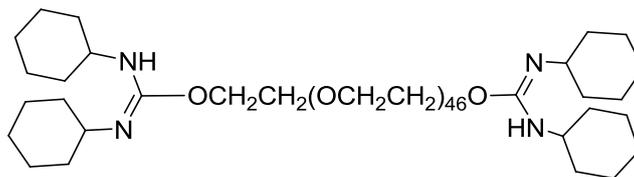
Compound 4b



(Selected data):

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{204}\text{H}_{410}\text{N}_4\text{NaO}_{96}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, $n=94$: 4475.72, found 4475.50.

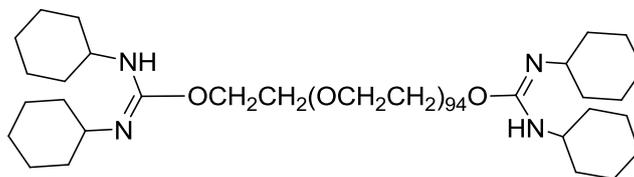
Compound 6a



(Selected data)

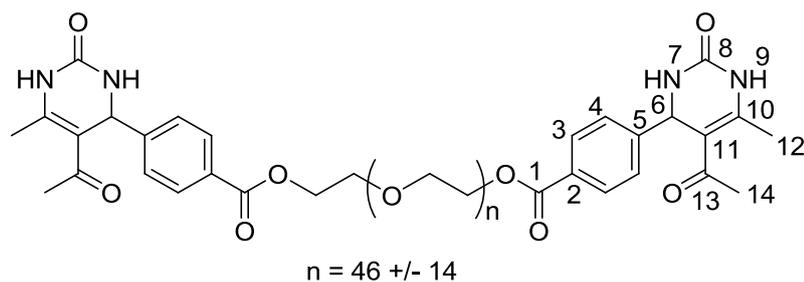
MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{120}\text{H}_{234}\text{N}_4\text{NaO}_{48}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, $n=46$: 2522.58, found 2522.35.

Compound 6b



MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{216}\text{H}_{426}\text{N}_4\text{NaO}_{96}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, $n=94$: 4635.84, found 4635.36

Compound 10a



In batch procedure:

A mixture of PEG-aldehyde **2a** (0.6 mmol), ytterbium triflate (74.4 mg, 0.012 mmol), urea (0.302 mg, 5 mmol) and pentane-2,4-dione (0.49 mL, 5 mmol) was heated to 100 °C for 3 h. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 91 %

Isolated yield by ultrafiltration: 72 %

Procedure using the Vapourtec R4, R2+ Reactor

8.4 mL of an aqueous solution of **2a** (0.095 M) containing 660 μ L (6.4 mmol) of 2,4-pentandione, and 8.4 mL of an aqueous solution of urea (0.76 M) containing 27 mg (0.16 mmol) of CuCl_2 and 0.2 mL of aqueous HCl 1 M, were filtered with a syringe filter of 20 μ m before flow processing. Streams were mixed together at a flow rate of 0.03 mL min^{-1} respectively in a T-mixer at room temperature and the resulting stream (0.06 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 167 min residence time) at 60 °C. Two 8 bar back pressure regulators were employed. Leading (~1.0 mL) and trailing ends of the plug were rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for purification. The product was collected for 185 min (11.1 mL, ~0.53 mmol of **10a**), in Amicon 8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (40 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford 1.0 g (0.38 mmol) of **10a**. (Yields in percent were calculated from the collected volume and the flow rate under the assumption that the volume is not changing after mixing of the two streams and during the reaction).

Isolated yield: 72 %.

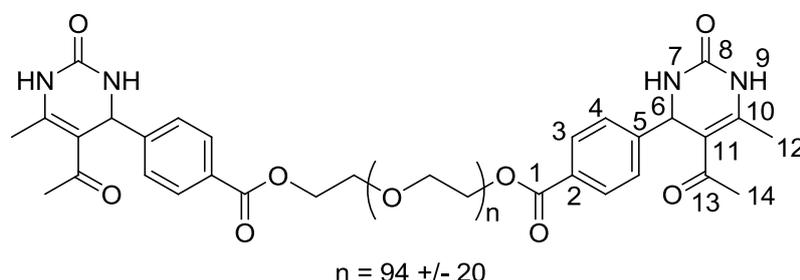
¹H NMR (250 MHz, MeOD): δ (ppm) 2.23 (s, 4.8 H, H-12), 2.41 (s, 4.6 H, H-14), 3.48-3.95 (m, 200 H, PEG backbone), 4.47 (t, $J = 4.0$ Hz, 4 H, CH₂-OCO), 5.52 (s, 1.6 H, H-6), 7.47 (d, $J = 8$ Hz, 3.2 H, H-4), 8.04 (d, $J = 8$ Hz, 3.3 H, H-3).

¹³C NMR (75.47 MHz, DMSO): δ (ppm) 19.2 (C-12), 30.6 (C-14), 53.7 (C-6), 64.2 (CH₂-OCO), 68.6 (CH₂-CH₂-OCO), 70.0 (PEG), 109.6 (C-11), 126.9 (C-4), 128.9 (C-5), 129.5 (C-3), 148.8 (C-10), 149.7 (C-2), 152.2 (C-8), 165.6 (C-1), 194.2 (C-13).

IR: (KBr) $\nu = 1107$ (C-O), 1654 (C=C Ar), 1717 (C=O), 1967 (Ar), 2879 (C-H), 3567 (N-H) cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₂₂H₂₁₄N₄NaO₅₄ (M+Na)⁺, n=46: 2622.40 found 2622,41.

Compound 10b



A mixture of PEG-aldehyde **2b** (0.6 mmol), ytterbium triflate (74.4 mg, 0.012 mmol), urea (0.302 mg, 5 mmol) and pentane-2,4-dione (0.49 mL, 5 mmol) was heated to 100 °C for 3 h. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 86 %

Isolated yield by ultrafiltration: 79 %

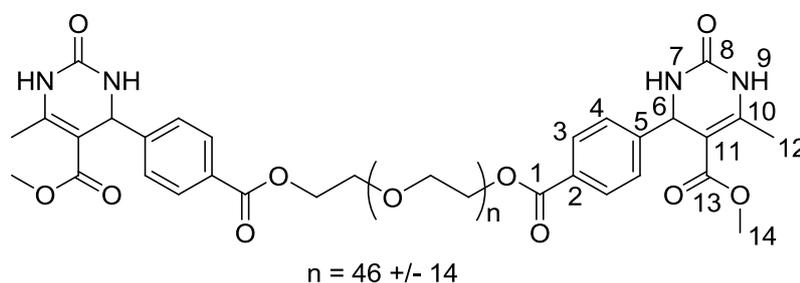
¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ (ppm) 2.13 (s, 4.2 H, H-12), 2.29 (s, 4.2 H, -14), 3.41-3.73 (m, 380 H, PEG backbone), 4.37 (t, $J = 4.0$ Hz, 4 H, CH_2 -OCO), 5.32 (d, $J = 3.0$ Hz, 1.4 H, H-6), 7.38 (d, $J = 8.0$ Hz, 2.8 H, H-4), 7.91 (d, $J = 8.0$ Hz, 4.5 H, H-3, H-7), 9.25 (s, 1.4 H, H-9).

¹³C NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 19.3 (C-12), 30.2 (C-14), 54.7 (C-6), 63.7 (CH_2 -OCO), 68.7 (CH_2 - CH_2 -OCO), 70.1 (PEG), 110.3 (C-11), 126.2 (C-4), 129.3 (C-5), 129.9 (C-3), 146.3 (C-10), 147.7 (C-2), 152.7 (C-8), 165.6 (C-1), 194.2 (C-13).

IR: (KBr) $\nu = 1107$ (C-O), 1654 (C=C Ar), 1717 (C=O), 1967 (Ar), 2879 (C-H), 3567 (N-H) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₂₁₈H₄₀₆N₄NaO₁₀₂ (M+Na)⁺, n=94: 4735.66, found 4735.43.

Compound 11a



A mixture of PEG-aldehyde **2a** (0.6 mmol), ytterbium triflate (74.4 mg, 0.012 mmol), urea (0.302 mg, 5 mmol) and **8** (0.54 mL, 5 mmol) was heated to 100 °C for 3 h. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 82 %

Isolated yield by ultrafiltration: 65 %

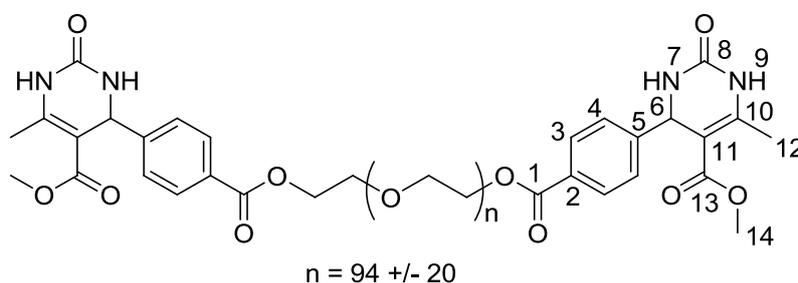
¹H NMR (250 MHz, DMSO): δ (ppm) 2.26 (s, 5.6 H, H-12), 3.46-3.80 (m, 201 H, PEG backbone, H-14), 4.37 (t, $J = 4.0$ Hz, 4 H, CH_2 -OCO), 5.22 (d, $J = 3.0$ Hz, 1.6 H, H-6), 7.38 (d, $J = 8.0$ Hz, 3.2 H, H-4), 7.85 (s, 1.6 H, H-7), 7.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 3.2 H, H-3), 9.31 (s, 1.6 H, H-9).

¹³C NMR (90.56 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 18.5 (C-12), 51.0 (C-6), 54.9 (C-14), 64.0 (CH_2 -OCO), 69.1 (CH_2 - CH_2 -OCO), 70.5 (PEG), 100.2 (C-11), 126.5 (C-4), 129.46 (C-5), 130.0 (C-3), 147.7 (C-10), 148.8 (C-2), 153.4 (C-8), 165.9 (C-1), 165.9 (C-13).

IR: (KBr) $\nu = 1105$ (C-O), 1653 (C=C Ar), 1701 (C=O), 1967 (Ar), 2877 (C-H), 3567 (N-H) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $C_{122}H_{214}N_4NaO_{56}$ ($M+Na$)⁺, $n=46$: 2654.39, found 2654.38.

Compound 11b



A mixture of PEGaldehyde **2b** (0.6 mmol), ytterbium triflate (74.4 mg, 0.012 mmol), urea (0.302 mg, 5 mmol) **8** (0.54 mL, 5 mmol) was heated to 100 °C for 3 h. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 88 %

Isolated yield by ultrafiltration: 80 %

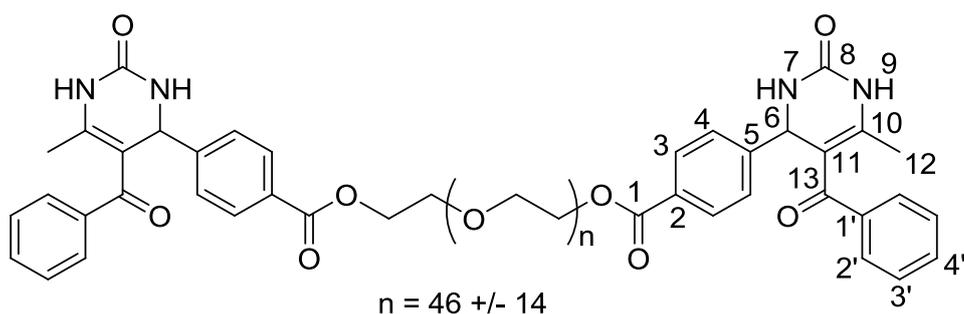
¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ (ppm) 2.25 (s, 3.9 H, H-12), 3.41-3.73 (m, 380 H, PEG backbone, H-14), 4.37 (t, $J = 4.0$ Hz, 4 H, CH_2 -OCO), 5.21 (d, $J = 3.0$ Hz, 1.3 H, H-6), 7.38 (d, $J = 8.0$ Hz, 2.6 H, H-4), 7.82 (s, 1.3 H, H-7), 7.92 (d, $J = 8.0$ Hz, 2.6 H, H-3), 9.29 (s, 1.3 H, H-9).

¹³C NMR (75.47 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 17.9 (C-12), 50.2 (C-6), 54.3 (C-14), 63.3 (CH_2 -OCO), 68.3 (CH_2 - CH_2 -OCO), 69.7 (PEG), 99.4 (C-11), 125.7 (C-4), 128.7 (C-5), 129.3 (C-3), 146.8 (C-10), 148.1 (C-2), 151.8 (C-8), 165.1 (C-1, C-13).

IR: (KBr) $\nu = 1105$ (C-O), 1653 (C=C Ar), 1701 (C=O), 1967 (Ar), 2877 (C-H), 3567 (N-H) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $C_{218}H_{406}N_4NaO_{104}$ ($M+Na$)⁺, $n=94$: 4767.65, found 4767.51.

Compound 12a



A mixture of PEGaldehyde **2a** (0.6 mmol), ytterbium triflate (74.4 mg, 0.012 mmol), urea (0.302 mg, 5 mmol) and **9** (0.8 g, 5 mmol) was heated to 100 °C for 24 h. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 81 %

Isolated yield by ultrafiltration: 65 %

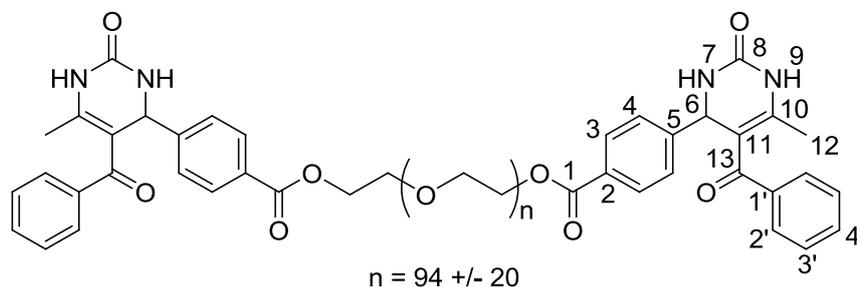
¹H NMR (360 MHz, DMSO): δ (ppm) 1.65 (s, 5.1 H, H-12), 3.44-3.75 (m, 223 H, PEG backbone), 4.36 (t, $J = 4.0$ Hz, 4 H, CH₂-OCO), 5.39 (s, 1.7 H, H-6), 7.36 (d, $J = 8.0$ Hz, H-4), 7.42-7.54 (m, 8.4 H, H-2', H-3', H-4'), 7.85 (s, 1.7 H, H-7), 7.91 (d, $J = 8.0$ Hz, 3.4 H, H-3), 9.21 (s, 1.7 H, H-9).

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 18.9 (C-12), 56.4 (C-6), 64.1 (CH₂-OCO), 69.1 (CH₂-CH₂-OCO), 70.5 (PEG), 110.1 (C-11), 126.4 (C-3'), 128.1 (C-2'), 128.6 (C-4), 129.6 (C-5), 130.3 (C-3), 132.1 (C-4'), 140.5 (C-1'), 142.7 (C-10), 148.0 (C-2), 153.6 (C-8), 166.1 (C-1), 195.1 (C-13).

IR: (KBr) $\nu = 1108$ (C-O), 1650 (C=C Ar), 1715 (C=O), 1968 (Ar), 2877 (C-H), 3451 (N-H) cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₃₂H₂₁₈N₄NaO₅₄ (M+Na)⁺, n=46: 2746.43 found 2746,48.

Compound 12b



A mixture of PEGaldehyde **2b** (0.6 mmol), ytterbium triflate (74.4 mg, 0.012 mmol), urea (0.302 mg, 5 mmol) and **9** (0.8 g, 5 mmol) was heated to 100 °C for 24 h. The product was diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction precipitation: 76 %

Isolated yield by ultrafiltration: 80 %

¹H NMR (360 MHz, MeOD): δ (ppm) 1.77 (s, 5.2 H, H-12), 3.44-3.85 (m, 442 H, PEG backbone), 4.45 (t, $J = 4.0$ Hz, 4 H, CH_2 -OCO), 5.60 (s, 1.8 H, H-6), 7.42-7.60 (m, 14 H, H-4, H-2', H-3', H-4'), 8.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 3.6 H, H-3).

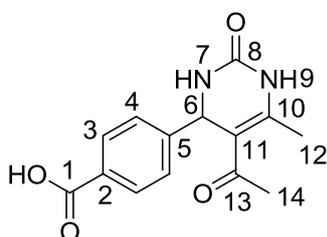
¹³C NMR (75.47 MHz, DMSO): δ (ppm) 19.0 (C-12), 55.5 (C-6), 64.5 (CH_2 -OCO), 68.8 (CH_2 - CH_2 -OCO), 70.2 (PEG), 109.4 (C-11), 127.0 (C-3'), 128.1 (C-2'), 129.1 (C-4), 129.1 (C-5), 130.0 (C-3), 131.9 (C-4'), 141.5 (C-1'), 146.5 (C-10), 149.9 (C-2), 152.4 (C-8), 165.9 (C-1), 194.6 (C-13).

IR: (KBr) $\nu = 1108$ (C-O), 1650 (C=C Ar), 1715 (C=O), 1968 (Ar), 2877 (C-H), 3451 (N-H) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $C_{228}H_{410}N_4NaO_{102}$ (M+Na)⁺, n=94: 4859.69, found 4859.55.

General procedure for hydrolysis: A solution of **10a,b**, **11a,b**, or **12a,b** (0,22 mmol) in 1 M NaOH (5 mL) was stirred at room temperature for 24 h. HCl 0.5 M was added until pH 2, the resulting suspension was stirred for 1 h at 0 °C, and the precipitate was filtered. The solid (**13**, **14**, or **15** contaminated by ~ 5% PEG) was suspended in water (40 mL) and pH was adjusted at 8 with NaOH 1 M, the resulting solution was ultrafiltrated. The filtrate was concentrated to 10 mL and HCl 0.5 M was then added until pH 2, the resulting suspension was stirred for 1 h at 0 °C. The precipitate was filtered and washed with 20 mL of water to afford the DHMPs **13**, **14**, or **15**, as solids. Concentration of the retentate afforded PEGs.

Compound 13



Contaminated by less than 2% PEG (60% from **10a**, 70% from **10b**).

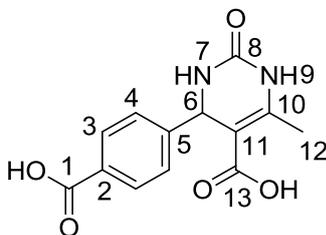
¹H NMR (360 MHz, DMSO): δ (ppm) 2.12 (s, 3 H, H-12), 2.29 (s, 3 H, H-14), 5.30 (d, J = 3.0 Hz, 1 H, H-6) 7.29 (d, J = 8.0 Hz, 2 H, H-4), 7.85 (m, 3 H, H-4, H-7), 9.18 (s, 1 H, H-9).

¹³C NMR (75.47 MHz, DMSO): δ (ppm) 19.4 (C-12), 30.9 (C-14), 54.1 (C-6), 110.0 (C-11), 126.6 (C-4), 129.9 (C-3), 133.4 (C-5), 148.0 (C-10), 148.8 (C-2), 152.5 (C-8), 168.2 (C-1), 194.6 (C-13).

IR: (KBr) ν = 1578-1609 (C=C Ar), 1627 (C=C), 1681-1715 (C=O), 1953 (Ar), 2623 (OH), 2928-3082 (C-H), 3286 (N-H) cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4$ (M-H)⁻ 273.0875, found 273.0883.

Compound 14



Contaminated by less than 2% PEG (60% from **11a**, 70% from **11b**).

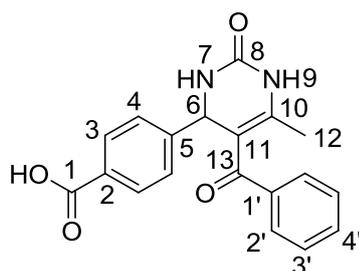
¹H NMR (360 MHz, DMSO): δ (ppm). 2.26 (s, 3 H, H-12), 5.21 (d, $J = 3.0$ Hz, 1 H, H-6), 7.38 (d, $J = 8.0$ Hz, 2 H, H-4), 7.72 (s, 1 H, H-7), 7.91 (d, 2 H, H-3), 9.12 (s, 1 H, H-9).

¹³C NMR (75.47 MHz, DMSO): δ (ppm) 17.8 (C-12), 53.9 (C-6), 69.8 (PEG), 99.3 (C-11), 126.4 (C-4), 129.5 (C-3), 129.7 (C-5), 148.2 (C-10), 149.5 (C-2), 152.2 (C-8), 167.0 (C-13, C-1).

IR: (KBr) $\nu = 1577$ (C=C Ar), 1645 (C=C), 1686 (C=O), 1923 (Ar), 2602 (OH), 2953-3106 (C-H), 3314 (N-H) cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5$ (M-H)⁻ 275.0668, found 275.0679.

Compound 15



Contaminated by less than 2% PEG (60% from **11a**, 70% from **11b**)

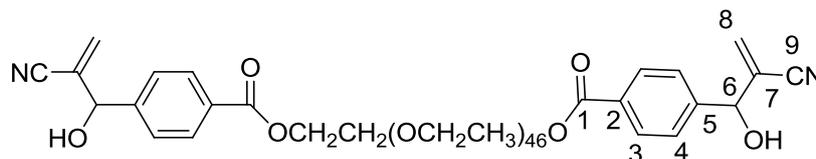
¹H NMR (250 MHz, DMSO): δ (ppm) 1.66 (s, 3 H, H-12), 5.37 (d, $J = 3.0$ Hz, 1 H, H-6) 7.34 (d, $J = 8.0$ Hz, 2 H, H-4), 7.43–7.55 (m, 5 H, H-2', H-3', H-4'), 7.89 (m, 3 H, H-3, H-7), 9.27 (s, 1 H, H-9), 12.94 (s, 1 H, COOH).

¹³C NMR (62.90 MHz, DMSO): δ (ppm) 18.6 (C-12), 55.0 (C-6), 108.9 (C-11), 126.3 (C-3'), 127.7 (C-2'), 128.6 (C-4), 129.6 (C-3), 130.0 (C-5), 131.5 (C-4'), 141.0 (C-1'), 146.0 (C-10), 148.8 (C-2), 152.0 (C-8), 167.1 (C-1), 194.2 (C-13).

IR: (KBr) $\nu = 1577$ (C=C Ar), 1622 (C=C), 1653-1700 (C=O), 1953 (Ar), 2628 (OH), 2918-3106 (C-H), 3243 (N-H) cm^{-1} .

HRMS (ESITOF) m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4$ (M-H)⁻ 335.1032, found 335.1018.

Compound 16



In batch procedure:

To a solution of **2a**, 10 g (4.3 mmol) in water (20 mL), 1.7 mL (25.8 mmol) of acrylonitrile and 241 mg (2.15 mmol) of DABCO were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 6 hours, evaporated and diluted with MeOH. Et₂O (~150 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 °C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et₂O and dried under vacuum to obtain 10.2 g of **16**.

Isolated yield: 97 %

Procedure using the Vapourtec R4, R2+ Reactor

13.1 mL of an aqueous solution of **2a** (0.097 M) and acrylonitrile (1.1 mL, 17 mmol), and 13.1 mL of an aqueous solution of **2a** (0.032 M) and DABCO (190 mg, 1.7 mmol), were filtered with a syringe filter of 20 μm before flow processing. Streams were mixed together at a flow rate of 0.150 mL min⁻¹ respectively in a T-mixer at room temperature and the resulting stream (0.300 mL min⁻¹) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 33 min residence time) at 60 °C. Two 8 bar back pressure regulators were employed. Leading (~6.6 mL) and trailing ends of the plug were rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for establishing product yield and purity. The product was collected for 40 min (12 mL, ~0.77 mmol of **16**).

The product was collected in Amicon 8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (35 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford 1.59 g (0.65 mmol) of **16**. (Yields in percent were calculated from the collected volume and the flow rate under the assumption that the volume is not changing after mixing of the two streams and during the reaction).

Isolated yield of **16**: 84 %

¹H NMR (360MHz, CDCl₃): δ(ppm) 3.40–3.71 (m, 180 H, PEG backbone), 4.48 (t, *J* = 4.5 Hz, 4 H, CH₂-OCO), 5.40 (s, 2 H, H-6), 6.04 (s, 2 H, H-8a), 6.15 (s, 2 H, H-8b), 7.50 (d, *J*₃₋₄ = 8.0 Hz, 4 H, H-4), 8.07 (d, 4H, H-3).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 64.2 (CH₂-OCO), 69.2 (CH₂-CH₂-OCO) 70.6 (PEG), 73.2 (C-6), 117.0 (C-9), 126.6 (C-4), 126.7 (C-8), 129.9 (C-7), 130.1 (C-3), 130.1 (C-5), 145.2 (C-2), 166.1 (C-1).

IR: (KBr) ν = 1108 (C-O), 1637 (C=C Ar), 1717 (C=O), 1968 (Ar), 2224 (CN), 2874 (C-H), 3433 (O-H) cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: *m/z* calcd for C₁₁₆H₂₀₄N₂O₅₂ (M+Na)⁺, n=46: 2480,22, found 2480.30.

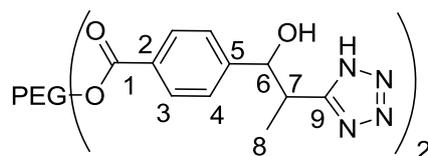
¹H NMR (250MHz, CDCl₃): δ(ppm) 1.28 (d, $J_{8-7} = 7.5$ Hz, 6 H, H-8), 2.95 (dq, $J_{7-6} = 5.5$ Hz, 3 H, H-7), 3.54 – 3.91 (m, 230 H, PEG backbone), 4.49 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, CH₂-OCO), 4.80 (d, 0.8 H, H-6 minor), 4.88 (d, 1 H, H-6 major), 7.46 (d, $J_{3-4} = 8.5$ Hz, 1.5 H, H-4 minor), 7.48 (d, $J_{3-4} = 8.5$ Hz, 2.5 H, H-4 major), 8.07 (d, 4H, H-3).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 13.4 (C-8 minor), 14.5 (C-8 major), 33.9 (C-7 major), 34.4 (C-7 minor), 61.6 (CH₂-OH), 64.2 (CH₂-OCO), 69.1 (CH₂-CH₂-OCO), 70.6 (PEG), 72.5 (C-6 major), 73.5 (C-6 minor), 120.7 (C-9 minor), 120.9 (C-9 major), 126.4 (C-4 minor), 128.5 (C-4 major), 129.7 (C-3 major), 129.8 (C-3 minor), 130.1 (C-5), 145.7 (C-2 major), 146.0 (C-2 minor), 166.1 (C-1).

IR: (KBr) $\nu = 1108$ (C-O), 1637 (C=C Ar), 1717 (C=O), 1967 (Ar), 2241 (CN), 2872 (C-H), 3466 (O-H) cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₁₆H₂₀₈N₂O₅₂ (M+Na)⁺, n=46: 2484.37, found 2484.31.

Compound 18



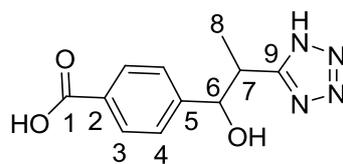
To a solution of **17** (1 g, 0.4 mmol) in DMF (10 mL), 624 mg (9.6 mmol) of NaN₃ and 513 mg (9.6 mmol) of NH₄Cl were added. The reaction mixture was stirred at 140 °C in a screw-locked tube overnight, diluted with H₂O and extracted with CH₂Cl₂; the organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated to ~2 mL under reduced pressure. Et₂O (~20 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 °C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et₂O and dried under vacuum to give 727 mg of **18**.

Isolated yield: 72 %

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 1.21 (d, *J*₈₋₇ = 7.5 Hz, 1.7 H, H-8 major), 1.25 (d, *J*₈₋₇ = 7.5 Hz, 1.4 H, H-8 minor), 3.31-3.91 (m, 237 H, PEG, H-7), 4.44 (t, *J* = 4.0 Hz, 4 H, CH₂-OCO), 4.81 (d, *J*₆₋₇ = 7.0 Hz, 0.7 H, H-6 minor), 5.20 (m, H-6 major), 7.41 (d, *J*₄₋₃ = 8.0 Hz, 2.5 H, H-4), 7.94 (d, 2.6 H, H-3).

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 12.3 (C-8 major), 16.3 (C-8 minor), 37.4 (C-7 major), 38.0 (C-7 minor), 61.6 (PEG-CH₂OH), 64.15 (CH₂OCO), 70.6 (PEG), 73.7 (C-6), 126.2 (C-4 major), 126.8 (C-4 minor), 129.1 (C-3 minor), 129.6 (C-3 major), 129.8 (C-5), 147.3 (C-2), 159.4 (C-9), 166.4 (C-1).

Compound 19



In batch procedure:

To a solution of **17** (500 mg, 0.2 mmol) in water (3 mL), 312 mg (4.8 mmol) of NaN_3 and 135 mg (0.6 mmol) of ZnBr_2 were added. The reaction mixture was stirred at 170 °C in a screw-locked tube for 12 h, filtered through a short pad of CELITE collected in Amicon 8050 stirred cell, fitted with Amicon Ultracell PL Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (35 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure, acidified to pH 2 by HCl 1 M and extracted with AcOEt; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to afford compound **19**.

Isolated yield: 62 %

Procedure using the Vapourtec R4, R2+ Reactor

7 mL of an aqueous solution of **17** (0.0529 M), NaN_3 (577 mg, 8.88 mmol), and ZnBr_2 (417, mg, 1.85 mmol), was filtered with a syringe filter of 20 μm before flow processing. Stream (0.06 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 166 min residence time) at 150 °C. Two 8 bar back pressure regulators were employed. Leading (~0.5 mL) of the plug was rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for establishing product yield and purity. The product was collected for 108 min (6,5 mL, ~0.343 mmol of **19**) in Amicon 8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (35 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure, acidified to pH 2 by HCl 1 M and extracted with AcOEt; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to afford 95 mg (0.383 mmol) of **19**.

Isolated yield: 56 %

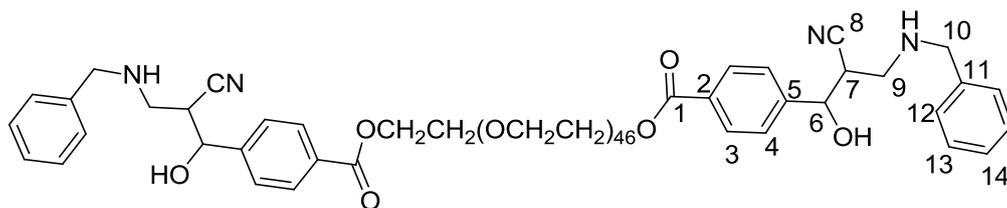
¹H NMR (360MHz, MeOD): δ (ppm) 1.30 (d, $J_{8-7} = 7.5$ Hz, 1.3 H, H-8 minor), 1.36 (d, $J_{8-7} = 7.5$ Hz, 1.7 H, H-8 major), 3.52-3.63 (m, 1 H, H-7), 4.88 (d, $J_{6-7} = 7.0$ Hz, 0.4 H, H-6 minor), 5.03 (d, $J_{6-7} = 5.5$ Hz, 0.6 H, H-6 major), 7.33 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 1.2 H, H-4 major), 7.38 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 0.8 H, H-4 minor), 7.94 (d, 1.2 H, H-3 major), 7.97 (d, 0.8 H, H-3 minor).

¹³C NMR (90.56 MHz, MeOD): δ (ppm) 13.7 (C-8 major), 16.5 (C-8 minor), 38.9 (C-7 major), 39.3 (C-7 minor), 76.2 (C-6 major), 76.9 (C-6 minor), 127.5 (C-4 major), 127.7 (C-4 minor), 130.7 (C-3 major), 130.9 (C-3 minor), 131.2 (C-5 major), 131.5 (C-5 minor), 148.7 (C-2 major), 149.2 (C-2 minor), 159.2 (C-9 minor), 159.5 (C-9 major), 169.7 (C-1).

IR: (KBr) $\nu = 1611$ (C=C Ar), 1685 (C=O), 1943 (Ar), 2924 (C-H), 3446 (N-H, O-H) cm^{-1} .

HRMS (ESI) : m/z calcd for $[\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3 - \text{H}]^+$: 247.0837. Found = 247.0855.

Compound 20a



In batch procedure:

To a solution of **16** (1.5 g, 0.61 mmol) in water (2.5 mL), 0.27 mL (2.44 mmol) of benzylamine were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hours and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to ~3 mL under reduced pressure. Et_2O (~25 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 °C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 1.45 g of **20a**.

Yield: 89 %

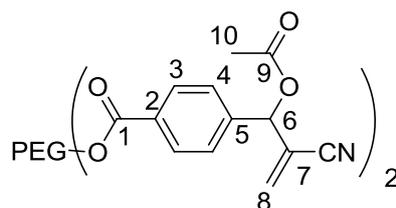
^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2.85-2.92 (m, 2 H, H-7), 2.95 (dd, $J_{9a-9b} = 12.5$ Hz, $J_{9b-7} = 4.5$ Hz, 2 H, H-9b), 3.13 (dd, $J_{9a-7} = 4.5$ Hz, 2 H, H-9a), 3.35-3.77 (m, 240 H, PEG backbone), 3.77 (d, $J_{10a-10b} = 13.0$ Hz, H-10a), 3.84 (d, 2 H, H-10b), 4.40 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, $\text{CH}_2\text{-OCO}$), 5.00-5.02 (m, 1.5 H, H-6), 7.16-7.32 (m, 10 H, H-11, H-12, H-13, H-14), 7.37 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 1.3 H, H-4 minor), 7.42 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 2.3 H, H-4 major), 7.96 (d, H-3 minor), 7.98 (d, 4 H, H-3 major).

^{13}C NMR (90.56 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 39.1 (C-7 minor), 40.5 (C-7 major), 48.2 (C-9 minor), 49.2 (C-9 major), 53.7 (C-10 minor), 53.8 (C-10 major), 61.8 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 64.3 ($\text{CH}_2\text{-OCO}$), 69.3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCO}$), 70.7 (PEG), 73.7 (C-6 major), 74.4 (C-6 minor), 118.3 (C-8 major), 118.9 (C-8 minor), 126.0 (C-4 major), 126.4 (C-4 minor), 127.7 (C-14), 128.3 (C-13 major), 128.4 (C-13 minor), 128.6 (C-12 minor), 128.8 (C-12 major), 130.0 (C-3), 130.2 (C-5), 138.5 (C-11 minor), 138.6 (C-11 major), 145.8 (C-2), 166.2 (C-1).

IR: (KBr) $\nu = 1108$ (C-O), 1653 (C=C Ar), 1717 (C=O), 1968 (Ar), 2240 (CN), 2873 (C-H), 3434 (O-H) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{130}\text{H}_{223}\text{N}_4\text{O}_{52}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺, $n=46$: 2672.48, found 2672.47.

Compound 21



3.17 g of **16** (1.34 mmol) were heated to 70 °C for 10 minutes, then 1.27 mL of Ac₂O (13,4 mmol) were added drop by drop and the mixture was heated at 70 °C for 1.5 h. The product was cooled to room temperature, diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction/precipitation: 90 %

Isolated yield by ultrafiltration: 93 %

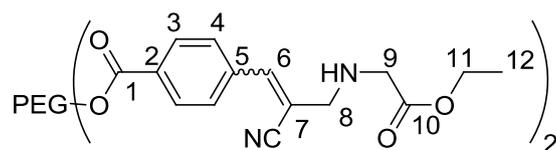
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.05 (s, 4 H, H-10 minor), 2.21 (s, 6 H, H-10 major), 3.28-3.90 (m, 227 H, PEG), 4.40 (t, *J* = 4.5 Hz, 4 H, CH₂OCO), 6.06 (s, 1.5 H, H-8a), 6.13 (s, 1.5 H, H-8b), 6.37 (s, 1.5 H, H-6), 7.48 (d, *J*₃₋₄ = 8.0 Hz, 3 H, H-4), 8.10 (d, 3 H, H-3).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 20.8 (C-10), 64.3 (CH₂OCO), 69.1 (CH₂-CH₂OCO), 70.5 (PEG), 74.1 (C-6), 115.8 (CN), 122.7 (C-7), 126.8 (C-4), 130.1 (C-3), 130.3 (C-5), 132.5 (C-8), 140.4 (C-2), 165.7 (C-1), 169.0 (C-9).

IR: (KBr) ν = 1110 (C-O), 1652 (C=C Ar), 1717 (C=O), 2219 (CN), 2875 (C-H), cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: *m/z* calcd for C₁₂₀H₂₀₈N₂O₅₄ (M+Na)⁺, n=46: 2564.36, found 2564.26.

Compound 22



To a solution of **21** and/or **24** (743 mg, 0.29 mmol) in 2 mL of water, 162 mg of glycine ethyl ester (1.16 mmol), 46 mg of NaOH (1.16 mmol), 2.6 mg of Pd(OAc)₂ (0.011 mmol), 16 mg of tppts (0.029 mmol) were added. The reaction mixture was stirred at 40 °C for 1 hour cooled to room temperature, diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction/precipitation: 85 %

Isolated yield by ultrafiltration: 92 %

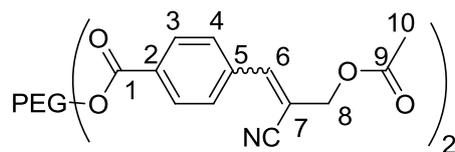
¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 1.28 (t, *J*₁₂₋₁₁ = 6.5 Hz, 4 H, H-12), 3.36-3.94 (m, 209 H, PEG, H-8, H-9), 4.24 (q, 2.7 H, H-11), 4.51 (t, *J* = 4.5 Hz, 4 H, CH₂OCO), 7.21 (s, 1.4 H, H-6), 7.84 (d, *J*_{3,4} = 8.0 Hz, 2.7 H, H-4), 8.14 (d, 3 H, H-3).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 14.2 (C-12), 49.6 (C-9), 53.1 (C-8), 61.1 (C-11), 63.6 (CH₂OCO), 69.1 (CH₂-CH₂OCO), 70.6 (PEG), 112.6 (C-7), 117.8 (CN), 128.7 (C-4), 130.4 (C-3), 131.4 (C-5), 137.4 (C-2), 142.7 (C-6), 165.7 (C-1), 172.0 (C-10).

IR: (KBr) ν = 1112 (C-O), 1653 (C=C Ar), 1718 (C=O), 1977 (Ar), 2215 (CN), 2885 (C-H), cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: *m/z* calcd for C₁₂₄H₂₁₈N₄O₅₄ (M+Na)⁺, n=46: 2650.44, found 2650.34.

Compound 24



1 g of **16** (0.4 mmol) were heated to 80 °C for 10 minutes, then 0.18 mL of AcOH (3.2 mmol) and 0.74 mL of DIC (4.8 mmol) were added and the mixture was heated at 80 °C for 3 h. The product was cooled to room temperature, diluted with water and purified by extraction/precipitation or by ultrafiltration.

Isolated yield by extraction/precipitation: 69 %

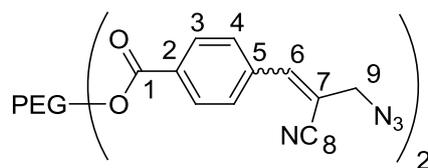
Isolated yield by ultrafiltration: 60 %

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.19 (s, 6 H, H-10), 3.38-3.99 (m, 212 H, PEG), 4.51 (t, *J* = 4.5 Hz, 4 H, CH₂OCO), 4.86 (s, 3 H, H-8), 7.29 (s, H-6), 7.86 (d, *J*₃₋₄ = 8.0 Hz, 3 H, H-4), 8.14 (d, 3 H, H-3).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 20.9 (C-10), 64.7 (C-8), 65.1 (CH₂OCO), 69.3 (CH₂-CH₂OCO), 70.7 (PEG), 108.7 (C-7), 116.8 (CN), 129.2 (C-4), 130.4 (C-3), 132.3 (C-5), 136.8 (C-2), 145.8 (C-6), 165.7 (C-1), 170.3 (C-9).

MALDI-TOF MS: *m/z* calcd for C₁₂₀H₂₀₈N₂O₅₄ (M+Na)⁺, n=46: 2564.36, found 2564.26.

Compound 28



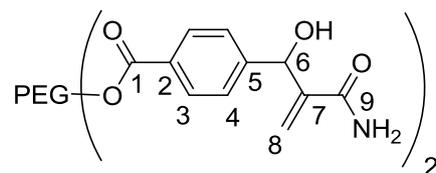
To a solution of **21** and/or **24** (700 mg, 0.28 mmol) in 1.5 mL of water, 218 mg of sodium azide (3.36 mmol), 2.5 mg of Pd(OAc)₂ (0.011 mmol), 16 mg of tppts (0.029 mmol) were added. The reaction mixture was stirred at 40 °C overnight, cooled to room temperature, diluted with water and purified by extraction/precipitation.

Isolated yield by extraction/precipitation: 89 %

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 3.36-3.98 (m, 206 H, PEG backbone), 4.19 (s, 3.3 H, H-9), 4.51 (t, *J* = 4.5 Hz, 4 H, CH₂-OCO), 7.26 (s, 1.6 H, H-6), 7.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 3.5 H, H-4), 8.15 (d, H-3).

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃): δ(ppm) 54.2 (C-9), 64.5 (CH₂-OCO), 69.1 (CH₂-CH₂-OCO) 70.6 (PEG), 108.4 (C-7), 116.7 (C-8), 128.9 (C-4), 130.1 (C-3), 132.0 (C-5), 136.6 (C-2), 144.7 (C-6), 165.5 (C-1).

Compound 30



To a solution of **16** (2 g, 0.8 mmol) in 2 mL of water, 0.2 mL of acetaldoxime (3.2 mmol), 7 mg of Pd(OAc)₂ (0.032 mmol), 45 mg of tppts (0.08 mmol) were added. The reaction mixture was stirred at 50 °C for 4 hour cooled to room temperature, diluted with water and purified by extraction/precipitation.

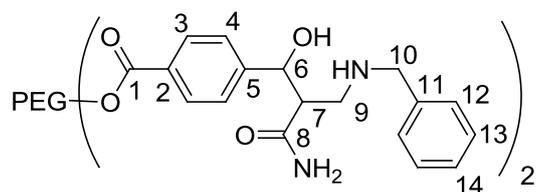
Isolated yield 90 %.

¹H NMR (250 MHz, MeOD): δ(ppm) 3.58 – 3.94 (m, 224 H, PEG backbone), 4.48 (t, *J* = 4.5 Hz, 4 H, CH₂-OCO), 5.68 (s, 1.4 H, H-6), 5.75 (s, 1.5 H, H-8a), 5.99 (s, 1.4 H, H-8b), 7.54 (d, *J*₃₋₄ = 8.0 Hz, 3.5 H, H-4), 8.03 (d, 3.5 H, H-3).

¹³C NMR (90.56 MHz, MeOD): δ(ppm) 65.4 (CH₂-OCO), 70.3 (CH₂-CH₂-OCO) 71.4 (PEG), 73.6 (C-6), 121.1 (C-8), 128.0 (C-4), 130.6 (C-5), 130.7 (C-3), 147.5 (C-2), 149.2 (C-7), 167.8 (C-1), 171.8 (C-9).

MALDI-TOF MS: *m/z* calcd for C₁₁₆H₂₀₈N₂O₅₄ (M+Na)⁺, n=46: 2516,36, found 2516.10

Compound 31



To a solution of **20a** (790 mg, 0.29 mmol) in 4 mL of water, 91 μ L of acetaldoxime (1.5 mmol), 3.34 mg of Pd(OAc)₂ (0.015 mmol) and 16 mg of tppts (0.029 mmol) were added. The reaction mixture was stirred at 50 °C overnight, cooled to room temperature, diluted with water and purified by extraction/precipitation.

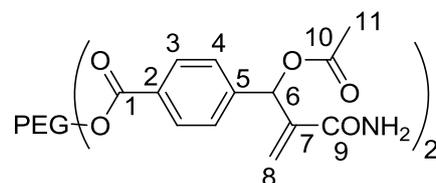
Isolated yield 88 %

¹H NMR (250 MHz, DMSO) : δ (ppm) 2.59-2.82 (m, 2.5 H, H-7, H-9a), 3.13-3.26 (m, 1.3 H, H-9b), 3.40-3.70 (m, 240 H, PEG backbone), 3.73 (m, 8 H, H-10), 4.47 (m, 4 H, CH₂-OCO), 4.80-4.94 (m, 1.5 H, H-6), 7.16-7.39 (m, 8 H, H-11, H-12, H-13, H-14), 7.43 (d, J_{4-3} = 8.0 Hz, 1.3 H, H-4 minor), 7.52 (d, J_{4-3} = 8.0 Hz, 2.01H, H-4 major), 7.86-7.95 (m, 4 H, H-3).

¹³C NMR (100.62 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 49.2 (C-7), 51.4 (C-9), 53.8 (C-10), 61.5 (CH₂-OH), 64.1 (CH₂-OCO), 69.1 (CH₂-CH₂-OCO), 70.5 (PEG), 72.5 (C-6 major), 73.5 (C-6 minor), 125.8 (C-4 minor), 126.1 (C-4 major), 127.1 (C-14), 128.1 (C-13 major), 128.2 (C-13 minor), 128.4 (C-12 major), 128.5 (C-12 minor), 128.6 (C-5), 129.7 (C-3), 139.2 (C-11), 147.8 (C-2), 166.2 (C-1), 175.8 (C-8).

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₃₀H₂₂₆N₄O₅₄ (M+Na)⁺, n=46: 2730.51, found 2730.47.

Compound 32



410 mg of **30** (0.16 mmol) were heated to 70 °C for 10 minutes, then 0.15 mL of Ac₂O (1.6 mmol) were added drop by drop and the mixture was heated at 70 °C for 3 h. The product was cooled to room temperature, diluted with water and purified by extraction/precipitation.

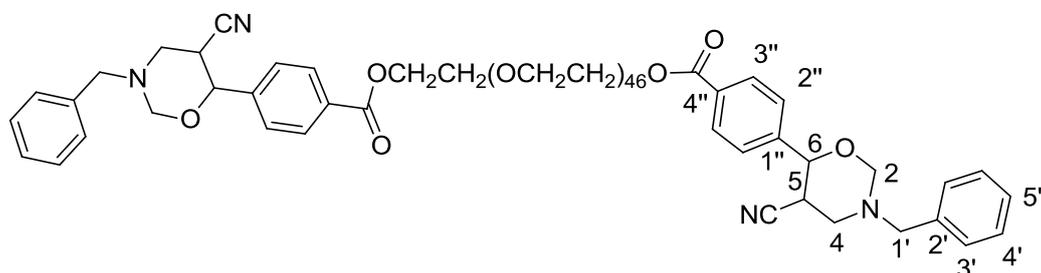
Isolated yield by extraction/precipitation: 84 %

¹H NMR (250 MHz, MeOD): δ(ppm) 2.12 (s, 4 H, H-11), 3.55-3.93 (m, 223 H, PEG), 4.46 (t, *J* = 4.5 Hz, 4 H, CH₂OCO), 5.63 (s, 1.5 H, H-8a), 5.98 (s, 1.5 H, H-8b), 6.74 (s, 1.5 H, H-6), 7.50 (d, *J*₃₋₄ = 8.0 Hz, 4 H, H-4), 8.03 (d, 4 H, H-3).

¹³C NMR (62.90 MHz, MeOD) : δ(ppm) 21.1 (C-11), 65.5 (CH₂OCO), 70.3 (CH₂-CH₂OCO), 71.5 (PEG), 74.4 (C-6), 121.1 (C-8), 128.1 (C-4), 130.8 (C-3), 131.3 (C-5), 144.6 (C-5), 145.0 (C-7), 167.5 (C-1), 170.9 (C-10), 171.1 (C-9).

MALDI-TOF MS: *m/z* calcd for C₁₂₀H₂₁₂N₂O₅₆ (M+Na)⁺, n=46: 2600.38, found 2600.33.

Compound 20b



In batch procedure:

To a solution of **20a** (0.5 g, 0.19 mmol) in water (1.8 mL), 0.12 mL (1.52 mmol) of formaldehyde, 37% in water, were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hours and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to ~1 mL under reduced pressure. Et_2O (~10 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 °C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 427 mg of **20b**.

Isolated yield: 82 %

Procedure using the Vapourtec R4, R2+ Reactor

3.5 mL of an aqueous solution of **16** (0.1 M), and 3.5 mL of an aqueous solution of benzylamine (0.26 M), were filtered with a syringe filter of 20 μm before flow processing. Streams were mixed together at a flow rate of 0.165 mL min^{-1} respectively in a T-mixer at room temperature and the resulting stream (0.33 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 30 min residence time) at 30 °C. Two 8 bar back pressure regulators were employed. Leading (~1.1 mL) and trailing ends of the plug were rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for the subsequent reaction. The product was collected for 15 min (5 mL, ~0.25 mmol of **20a**), diluted to 6 mL with water and mixed with 6 mL of aqueous formaldehyde (0.25 M) in a T-mixer at room temperature using a flow rate of 0.165 mL min^{-1} respectively, and the resulting stream (0.33 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 30 min residence time) at 30 °C. Two 8 bar back pressure regulator were employed.

The product was collected in Amicon 8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 30 mL and ultrafiltration was performed under

3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (20 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford 535 mg (0.199 mmol) **20b**. (Yields in percent were calculated from the collected volume and the flow rate under the assumption that the volume is not changing after mixing of the two streams and during the reaction).

Isolated yield of **20b**: 80 %.

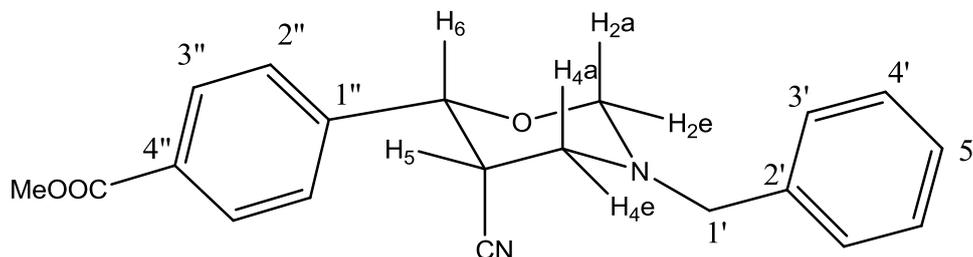
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.83 (m, 1.5 H, H-5-eq major), 2.95 (ddd, $J_{5ax-4ax} = 11.0$ Hz, $J_{5ax-6ax} = 11.0$ Hz, $J_{5ax-4eq} = 5.0$ Hz, 0.5 H, H-5-ax minor), 3.16 (dd, $J_{4ax-4eq} = 13.5$ Hz, $J_{4ax-5eq} = 3.0$ Hz, 1.5 H, H-4ax major), 3.25-3.91 (m, 270 H, PEG backbone, H-4eq minor, H-4ax minor, H-4eq major, H-1'a minor), 4.03 (d, $J_{1'a-1'b} = 13.5$ Hz, 0.5 H, H-1'b minor), 4.04 (d, $J_{1'a-1'b} = 13.5$ Hz, 1.5 H, H-1'a major), 4.18 (d, 1.5 H, H-1'b major), 4.38 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.0$ Hz, 1.5 H, H-2ax major), 4.45 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, CH₂-OCO), 4.51 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.5$ Hz, 0.5 H, H-2ax minor), 4.60 (d, 0.5 H, H-2eq minor), 4.64 (d, 0.5 H, H-6ax minor), 4.73 (d, $J_{6ax-5eq} = 2.5$ Hz, 1.5 H, H-6ax major), 4.79 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1.5$ Hz, 1.5 H, H-2eq major), 7.23-7.40 (m, 10 H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 7.49 (d, $J_{2''-3''} = 8.0$ Hz, 3 H, H-2'' major), 7.52 (d, $J_{2''-3''} = 8.0$ Hz, 1 H, H-2'' minor), 8.08 (d, 4 H, H-3'' minor, H-3'' major).

¹³C NMR (75.47 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 30.2 (C-5 minor), 32.0 (C-5 major), 51.1 (C-4 major), 51.8 (C-4 minor), 55.5 (C1' minor), 56.5 (C1' major), 61.7 (CH₂-OH), 64.3 (CH₂-OCO), 69.3 (CH₂-CH₂-OCO), 70.6 (PEG), 78.2 (C-6 major), 80.2 (C-6 minor), 84.0 (C-2 minor), 85.1 (C-2 major), 117.8 (CN minor), 119.1 (CN major), 125.6 (C-2'' major), 126.5 (C-5' major), 127.8 (C-5' minor), 128.6 (C-4' major), 128.7 (C-4' minor), 128.9 (C-3'' major), 130.2 (C-3'' minor), 130.2 (C-1''), 137.1 (C-2' minor), 137.5 (C-2' major), 143.1 (C-4'' minor), 143.3 (C-4'' major), 166.1 (COO minor), 166.2 (COO major).

IR: (KBr) $\nu = 1112$ (C-O), 1647 (C=C Ar), 1718 (C=O), 1968 (Ar), 2240 (CN), 2882 (C-H), cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₃₂H₂₂₂N₄O₅₂ (M+Na)⁺, n=46: 2718.48, found 2718.52.

Compound 20c



To 1 mL solution of MeONa in MeOH (0.1 M), compound **20b** (514 mg, 0.19 mmol), was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours, 1 mL of CH₃COOH in MeOH (0.1 M) was added and the mixture was stirred at room temperature for 10 min. Et₂O (~15 mL) was added, under vigorous stirring, at room temperature to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et₂O and the solution was dried under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography under silica gel eluting with AcOEt-Petroleum Ether (2:8) to give **20c** (48 mg, 35 %) as white foam (m.p. 144-147 °C), and **20d** (36 mg, 26 %) as colorless oil.

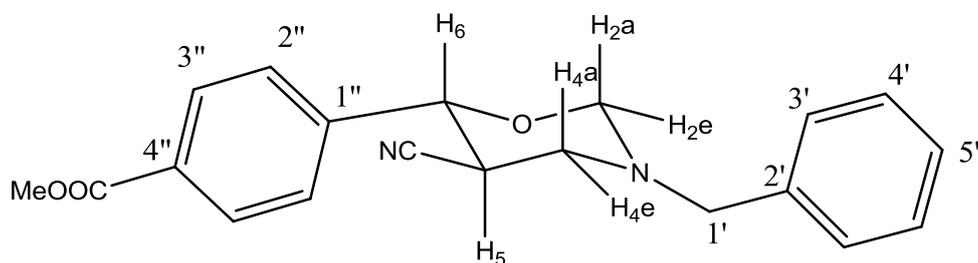
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.84 (m, 1 H, H-5), 3.21 (dd, $J_{4ax-4eq} = 12$ Hz, $J_{4ax-5eq} = 3.0$ Hz, 1 H, H-4ax), 3.52 (dm, 1 H, H-4eq), 3.94 (s, 3 H, CH₃), 4.10 (d, $J_{1'a-1'b} = 13.0$ Hz, 1 H, H-1'a), 4.23 (d, 1 H, H-1'b), 4.43 (d, $J_{2ax-2eq} = 9.0$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.75 (d, $J_{6ax-5eq} = 2.5$ Hz, 1 H, H-6ax), 4.84 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1.5$ Hz, 1 H, H-2eq), 7.29-7.45 (m, 5 H, Ar'), 7.54 (d, $J_{2''-3''} = 8.5$ Hz, 2 H, H-2''), 8.12 (d, 2 H, H-3'').

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 32.9 (C-5), 51.1 (C4), 52.1 (CH₃), 56.4 (C-1'), 78.2 (C6), 85.1 (C-2), 119.0 (CN), 125.5 (C-2''), 127.5 (C-5'), 128.5 (C-4'), 128.8 (C-3'), 130.0 (C-3''), 130.3 (C-1''), 137.5 (C-2'), 143.1 (C-4''), 166.7 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1614$ (C=C Ar), 1719 (C=O), 2076 (Ar), 2234 (CN), 2864 (C-H), cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₂₀H₂₀N₂O₃+Na]⁺: 359.1372. Found = 359.1352.

Compound 20d



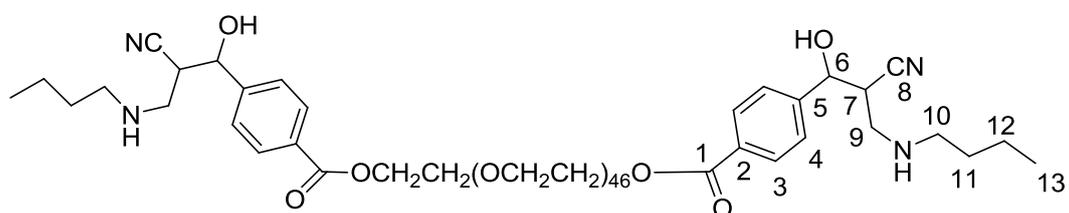
^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 2.97 (ddd, $J_{5\text{ax}-4\text{ax}} = 11.0$ Hz, $J_{5\text{ax}-6\text{ax}} = 11.0$ Hz, $J_{5\text{ax}-4\text{eq}} = 5.5$ Hz, 1 H, H-5ax), 3.31 (dd, $J_{4\text{ax}-4\text{eq}} = 14.0$ Hz, 1 H, H-4ax), 3.41 (ddd, $J_{4\text{eq}-2\text{eq}} = 1.5$ Hz, 1 H, H-4eq), 3.90 (d, $J_{1'\text{a}-1'\text{b}} = 13.5$ Hz, 1 H, H-1'a), 3.92 (s, 3 H, CH_3), 4.04 (d, 1 H, H-1'b), 4.52 (d, $J_{2\text{ax}-2\text{eq}} = 10.5$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.61 (d, 1 H, H-6ax), 4.66 (dd, 1 H, H-2eq), 7.27-7.39 (m, 5 H, Ar'), 7.53 (d, $J_{2''-3''} = 8.5$ Hz, 2 H, H-2''), 8.08 (d, 2 H, H-3'').

^{13}C NMR (90.56 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 30.3 (C-5), 52.1 (C4), 52.4 (CH_3), 55.7 (C-1'), 80.4 (C-6), 84.3 (C-2), 117.9 (CN), 126.7 (C-2''), 128.0 (C-5'), 128.9 (C-4'), 129.0 (C-3'), 130.3 (C-3''), 131.0 (C-1''), 137.3 (C-2'), 143.2 (C-4''), 166.7 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1614$ (C=C Ar), 1719 (C=O), 2076 (Ar), 2234 (CN), 2864 (C-H), cm^{-1} .

HRMS (ESI) : m/z calcd for $[\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3+\text{H}]^+$: 337.1547. Found = 337.1541.

Compound 35a



In batch procedure:

To a solution of **16** (0.4 g, 0.16 mmol) in water (1 mL), 64 μ L (0.65 mmol) of butylamine were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hours and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to \sim 1 mL under reduced pressure. Et_2O (\sim 10 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 $^\circ\text{C}$ to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 300 mg of **35a**.

Isolated yield: 72 %.

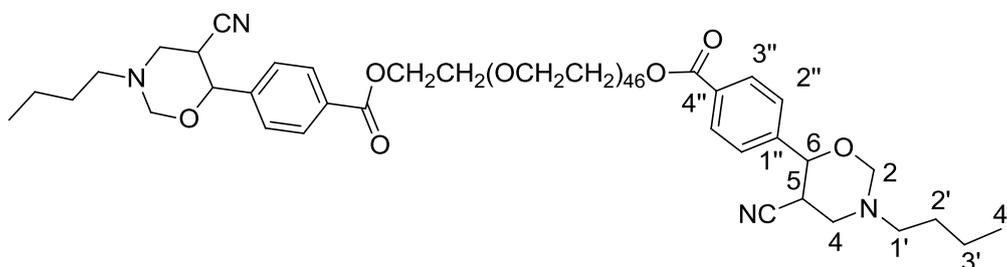
^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 0.96 (t, $J_{13-12} = 7.5$ Hz, 6 H, H-13), 1.34-1.46 (m, 4 H, H-12), 1.49-1.56 (m, 4 H, H-11), 2.66-2.73 (m, 2.5 H, H-10 major), 2.77-2.84 (m, 1.5 H, H-10 minor), 2.88-2.93 (m, 0.6 H, H-7 minor), 2.99-3.02 (m, 1.4 H, H-7 major), 3.04-3.09 (m, 2 H, 9b major, 9b minor), 3.16 (dd, $J_{9a-9b} = 12.5$ Hz, $J_{9a-7} = 8.0$ Hz, 0.7 H, H-9a minor), 3.33 (dd, $J_{9a-9b} = 12.5$ Hz, $J_{9a-7} = 4.5$ Hz, 1.4 H, H-9a major), 3.44-3.86 (m, 249 H, PEG backbone), 4.49 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, $\text{CH}_2\text{-OCO}$), 5.14-5.16 (m, 1.8 H, H-6), 7.52 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 1.5 H, H-4 minor), 7.55 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 2.5 H, H-4 major), 8.09 (d, 4 H, H-3).

^{13}C NMR (62.90 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 13.7 (C-13), 20.1 (C-12), 31.7 (C-11 major), 31.9 (C-11 minor), 38.5 (C-7 minor), 39.9 (C-7 major), 49.1 (C-10), 49.3 (C-9 major), 49.7 (C-9 minor), 61.4 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 64.0 ($\text{CH}_2\text{-OCO}$), 69.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCO}$), 70.4 (PEG), 73.5 (C-6 major), 74.3 (C-6 minor), 118.1 (C-8 major), 118.7 (C-8 minor), 125.8 (C-4 major), 126.2 (C-4 minor), 129.7 (C-3), 129.9 (C-5), 145.8 (C-2 major), 145.9 (C-2 minor), 165.9 (C-1).

IR: (KBr) $\nu = 1094$ (C-O), 1611 (C=C Ar), 1716 (C=O), 1957 (Ar), 2242 (CN), 2868 (C-H), 3253 (O-H) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{124}\text{H}_{226}\text{N}_4\text{O}_{52}$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺, $n=46$: 2604.52, found 2604.50.

Compound 35b



In batch procedure:

To a solution of **35a** (287 mg, 0.11 mmol) in water (1 mL), 66 μL (0.88 mmol) of formaldehyde, 37% in water, were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hours and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to ~ 1 mL under reduced pressure. Et_2O (~ 10 mL) was added, under vigorous stirring, at 0°C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 200 mg of **35b**.

Isolated yield: 69 %

Procedure using the Vapourtec R4, R2+ Reactor

8.4 mL of an aqueous solution of **16** (0.096 M), and 8.4 mL of an aqueous solution of butylamine (0.25 M), were filtered with a syringe filter of 20 μm before flow processing. Streams were mixed together at a flow rate of 0.165 mL min^{-1} respectively in a T-mixer at room temperature and the resulting stream (0.33 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 30 min residence time) at 30°C . Two 8 bar back pressure regulators were employed. Leading (~ 1.5 mL) and trailing ends of the plug were rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for the subsequent reaction. The product was collected for 42 min (13.9 mL, ~ 0.67 mmol of **35a**) and mixed with 13.9 mL of aqueous formaldehyde (0.29 M) in a T-mixer at room temperature using a flow rate of 0.165 mL min^{-1} respectively, and the resulting stream (0.33 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 30 min residence time) at 30°C . Two 8 bar

back pressure regulator were employed. Leading (~2.5 mL) and trailing ends of the plug were rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for purification.

The product was collected for 66 min (21.8 mL, ~0.525 mmol) in Amicon 8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (40 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford 1.04g (0.4 mmol) **35b**. (Yields in percent were calculated from the collected volume and the flow rate under the assumption that the volume is not changing after mixing of the two streams and during the reaction).

Isolated yield of **35b**: 76 %.

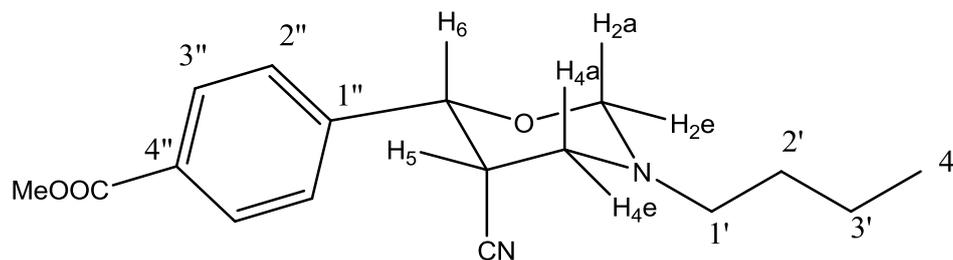
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 0.88 (t, $J_{4'-3'}$ = 7.0 Hz, 6 H, H-4'), 1.29-1.39 (m, 4 H, H-3'), 1.40-1.51 (m, 4 H, H-2'), 2.79 (m, 2 H, H-5), 2.82-2.94 (m, 4 H, H-1'), 3.12 (dd, $J_{4ax-4eq}$ = 13.5 Hz, $J_{4ax-5eq}$ = 3.5 Hz, 1.4 H, H-4ax major), 3.22-3.85 (m, 256 H, PEG backbone, H-4eq minor, H-4ax minor, H-4eq major), 4.26 (d, $J_{2ax-2eq}$ = 9.5 Hz, 1.3 H, H-2ax major), 4.42 (t, J = 4.5 Hz, 4 H, CH₂-OCO), 4.53 (d, $J_{2ax-2eq}$ = 10.5 Hz, 0.6 H, H-2ax minor), 4.62 (d, 0.6 H, H-2eq minor), 4.66 (d, $J_{6ax-5eq}$ = 2.0 Hz, 1.3 H, H-6ax major), 4.75 (d, 1.3 H, H-2eq major), 7.43 (d, $J_{2''-3''}$ = 8.0 Hz, 3 H, H-2'' major), 7.46 (d, $J_{2''-3''}$ = 8.0 Hz, 1 H, H-2'' minor), 8.04 (d, 4 H, H-3'' minor, H-3'' major).

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 13.9 (C-4'), 20.2 (C-3'), 30.1 (C-2'), 33.0 (C-5), 50.7 (C-4 minor), 51.9 (C-4 major), 52.0 (C-1' major), 52.6 (C-1' minor), 61.7 (CH₂-OH), 64.2 (CH₂-OCO), 69.2 (CH₂-CH₂-OCO), 70.6 (PEG), 78.1 (C-6 major), 80.1 (C-6 minor), 84.1 (C-2 minor), 85.0 (C-2 major), 117.8 (CN minor), 118.9 (CN major), 125.5 (C-2'' major), 126.4 (C-2'' minor), 130.0 (C-3''), 130.1 (C-1'' major), 130.7 (C-1'' minor), 143.2 (C-4'' minor), 143.4 (C-4'' major), 166.0 (COO minor), 166.1 (COO major).

IR: (KBr) ν = 1114 (C-O), 1653 (C=C Ar), 1718 (C=O), 1967 (Ar), 2240 (CN), 2885 (C-H), cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₂₆H₂₂₆N₄O₅₂ (M+Na)⁺, n=46: 2650.52, found 2650.43.

Compound 35c



To 2 mL solution of MeONa in MeOH (0.1 M), compound **35b** (1.8 g, 0.68 mmol), was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours, 2 mL of CH₃COOH in MeOH (0.1 M) was added and the mixture was stirred at room temperature for 10 min. Et₂O (~25 mL) was added, under vigorous stirring, at room temperature to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et₂O and the solution was dried under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography under silica gel eluting with Et₂O-Petroleum Ether (4:6 then 7:3) to give **35c** (162 mg, 39 %) as white foam (m.p. 105-107 °C), and **35d** (63 mg, 15 %) as colorless oil.

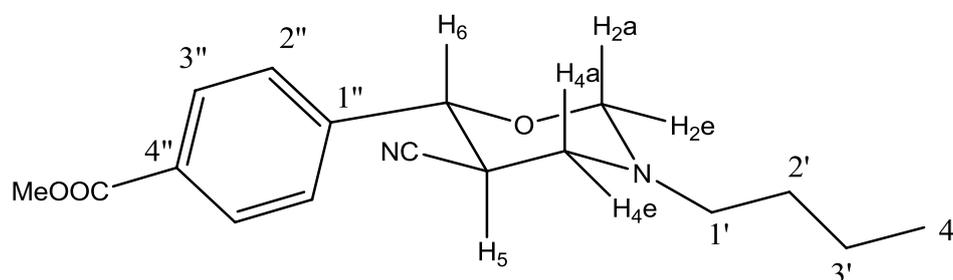
¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 0.94 (t, $J_{4'-3'}$ = 7.0 Hz, 3 H, H-4'), 1.34-1.45 (m, 2 H, H-3'), 1.46-1.58 (m, 2 H, H-2'), 2.83 (m, 1 H, H-5), 2.86-3.02 (m, 2 H, H-1'), 3.18 (dd, $J_{4ax-4eq}$ = 13.0 Hz, $J_{4ax-5eq}$ = 3.5 Hz, 1 H, H-4ax), 3.53 (dm, 1 H, H-4eq), 3.92 (s, 3 H, CH₃), 4.31 (d, $J_{2ax-2eq}$ = 10.0 Hz, 1 H, H-2ax), 4.71 (d, $J_{6ax-5eq}$ = 3.0 Hz, 1 H, H-6ax), 4.82 (dd, $J_{2eq-4eq(W)}$ = 1.5 Hz, 1 H, H-2eq), 7.50 (d, $J_{2''-3''}$ = 8.5 Hz, 2 H, H-2''), 8.09 (d, 2 H, H-3'').

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 13.9 (C-4'), 20.2 (C-3'), 30.1 (C-2'), 33.1 (C-5), 52.0 (C-4, C-1', CH₃), 78.2 (C-6), 85.0 (C-2), 118.8 (CN), 125.5 (C-2''), 129.9 (C-3''), 130.2 (C-1''), 143.2 (C-4''), 166.7 (COOMe).

IR: (KBr) ν = 1613 (C=C Ar), 1716 (C=O), 1967 (Ar), 2244 (CN), 2868 (C-H), cm⁻¹.

HRMS (ESI): m/z calcd for [C₁₇H₂₂N₂O₃+H]⁺: 303.1709. Found = 303.1703.

Compound 35d



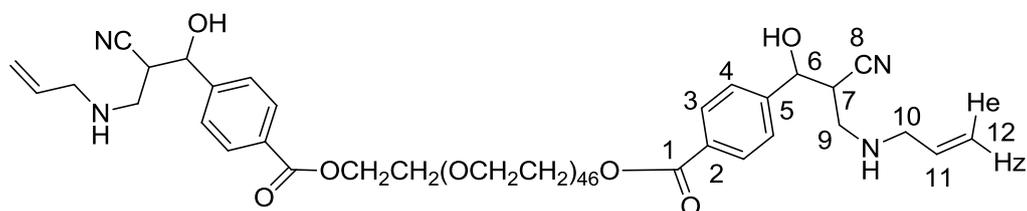
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 0.97 (t, $J_{4'-3'} = 7.5$ Hz, 3 H, H-4'), 1.34-1.44 (m, 2 H, H-3'), 1.48-1.56 (m, 2 H, H-2'), 2.67-2.74 (m, 1 H, H-1'a), 2.87-2.97 (m, 2 H, H-5, H-1'b), 3.33 (dd, $J_{4ax-4eq} = 13.5$ Hz, $J_{4ax-5} = 11.5$ Hz, 1 H, H-4ax), 3.47 (ddd, $J_{4eq-5} = 4.0$ Hz, $J_{4eq-2eq(W)} = 1.5$ Hz, 1 H, H-4eq), 3.94 (s, 3 H, CH₃), 4.48 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.5$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.60 (d, $J_{6ax-5} = 10.0$ Hz, 1 H, H-6ax), 4.69 (dd, 1 H, H-2eq), 7.53 (d, $J_{2''-3''} = 8.0$ Hz, 2 H, H-2''), 8.09 (d, 2 H, H-3'').

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 14.1 (C-4'), 20.4 (C-3'), 30.3 (C-2', C-5), 50.9 (C-1'), 52.4 (CH₃), 52.8 (C-4), 80.3 (C-6), 84.3 (C-2), 118.0 (CN), 126.7 (C-2''), 130.2 (C-3''), 130.9 (C-1''), 143.3 (C-4''), 166.8 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1613$ (C=C Ar), 1716 (C=O), 1967 (Ar), 2244 (CN), 2868 (C-H), cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₁₇H₂₂N₂O₃+H]⁺: 303.1703. Found = 303.1697.

Compound 36a



In batch procedure:

To a solution of **16** (0.4 g 0.16 mmol) in water (1 mL), 49 μ L (0.65 mmol) of allylamine were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hours and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to \sim 1 mL under reduced pressure. Et_2O (\sim 10 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 $^\circ\text{C}$ to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 280 mg of **36a**.

Isolated yield: 68 %.

^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2.91-3.09 (m, 4 H, H-7, H-9a), 3.23 (dd, $J_{9b-9a} = 12.5$ Hz, $J_{9b-7} = 4.5$ Hz, 2 H, H-9b), 3.30 (dd, $J_{10a-10b} = 14.0$ Hz, $J_{10a-11} = 6.5$ Hz, 2 H, H-10a), 3.38 (dd, $J_{10b-11} = 6.5$ Hz, 2 H, H-10b), 3.42-3.85 (m, 235 H, PEG backbone), 4.45 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, $\text{CH}_2\text{-OCO}$), 5.08-5.12 (m, 1.7 H, H-6), 5.14-5.24 (m, 4 H, H-12), 5.80-5.91 (m, 2 H, H-11), 7.49 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 1 H, H-4 minor), 7.51 (d, $J_{4-3} = 8.5$ Hz, 3 H, H-4 major), 8.06 (d, H-3).

^{13}C NMR (62.90 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 39.0 (C-7 minor), 40.3 (C-7 major), 48.0 (C-9 minor), 48.8 (C-9 major), 51.7 (C-10 minor), 51.9 (C-10 major), 61.5 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 64.2 ($\text{CH}_2\text{-OCO}$), 69.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCO}$), 70.5 (PEG), 72.5 (C-6 major), 73.3 (C-6 minor), 117.3 (C-12), 118.3 (C-8 major), 118.8 (C-8 minor), 125.9 (C-4 major), 126.3 (C-4 minor), 129.8 (C-3, C-5), 135.3 (C-11), 145.9 (C-2), 166.1 (C-1).

IR: (KBr) $\nu = 1109$ (C-O), 1647-1654 (C=C Ar), 1718 (C=O), 1957 (Ar), 2242 (CN), 2877 (C-H), 3447 (O-H) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{122}\text{H}_{218}\text{N}_4\text{O}_{52}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, $n=46$: 2572.45, found 2572.46.

8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (50 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford 545 mg (0.21 mmol) of **36b**. (Yields in percent were calculated from the collected volume and the flow rate under the assumption that the volume is not changing after mixing of the two streams and during the reaction).

Isolated yield of **36b**: 64 %.

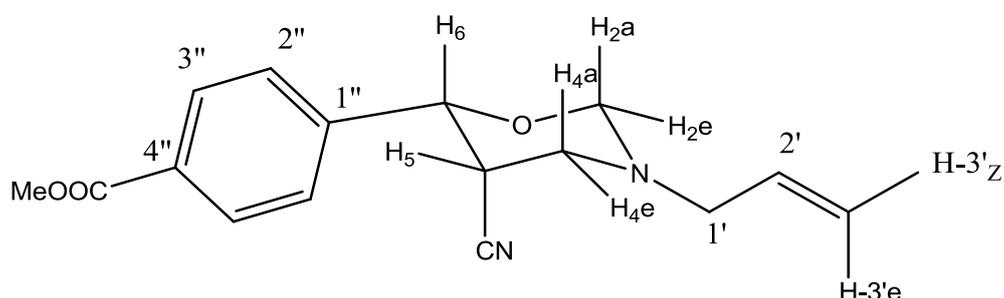
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.84 (m, 1.2 H, H-5eq major), 2.91 (ddd, $J_{5ax-4ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-6ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-4eq} = 3.5$ Hz, 0.8 H, H-5ax minor), 3.19 (dd, $J_{4ax-4eq} = 13.5$ Hz, $J_{4ax-5eq} = 3.5$ Hz, 1.5 H, H-4ax major), 3.35-3.89 (m, 256 H, PEG backbone, H-4eq minor, H-4ax minor, H-4eq major, H-1'), 4.36 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.0$ Hz, 1.3 H, H-2ax major), 4.48 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, CH₂-OCO), 4.60 (d, $J_{2ax-2eq} = 9.5$ Hz, 0.7 H, H-2ax minor), 4.69 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1.5$ Hz, 0.7 H, H-2eq minor), 4.73 (d, $J_{6ax-5eq} = 2.5$ Hz, 1.3 H, H-6ax major), 4.82 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1.5$ Hz, 1.3 H, H-2eq major), 5.25 (dd, $J_{3'e-2'} = 9.5$ Hz, $J_{3'e-3'z} = 1.0$ Hz, 2 H, H-3'e), 5.35 (dd, $J_{3'z-2'} = 15$ Hz, 2 H, H-3'z), 5.77-5.90 (m, 2 H, H-2'), 7.49 (d, $J_{2''-3''} = 8.0$ Hz, 2.5 H, H-2'' major), 7.52 (d, $J_{2''-3''} = 8.0$ Hz, 1.5 H, H-2'' minor), 8.09 (d, 4 H, H-3'' minor, H-3'' major).

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 30.2 (C-5 minor), 32.9 (C-5 major), 51.3 (C-4 major), 51.8 (C-4 minor), 54.4 (C-1' minor), 55.4 (C-1' major), 61.7 (CH₂-OH), 64.3 (CH₂-OCO), 69.2 (CH₂-CH₂-OCO), 70.6 (PEG), 78.1 (C-6 major), 80.0 (C-6 minor), 83.9 (C-2 minor), 84.7 (C-2 major), 118.8 (CN), 119.0 (C-3'), 125.6 (C-2" major), 126.5 (C-2'' minor), 130.1 (C-3"), 130.2 (C-1"), 134.5 (C-2), 143.1 (C-4" minor), 143.3 (C-4'' major), 166.1 (COO).

IR: (KBr) $\nu = 1113$ (C-O), 1614 (C=C Ar), 1718 (C=O), 1969 (Ar), 2233 (CN), 2881 (C-H) cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₂₄H₂₁₈N₄O₅₂ (M+Na)⁺, n=46: 2618.45, found 2618.38.

Compound 36c



To 1 mL solution of MeONa in MeOH (0.1 M), compound **22-b** (545 mg, 0.21 mmol), was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours, 1 mL of CH₃COOH in MeOH (0.1 M) was added and the mixture was stirred at room temperature for 10 min. Et₂O (~15 mL) was added, under vigorous stirring, at room temperature to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et₂O and the solution was dried under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography under silica gel eluting with Et₂O-Petroleum Ether (3:7 then 7:3) to give **22-c** (53 mg, 44 %) as white foam (m.p. 121-123 °C), and **22-d** (26 mg, 22 %) as colorless oil.

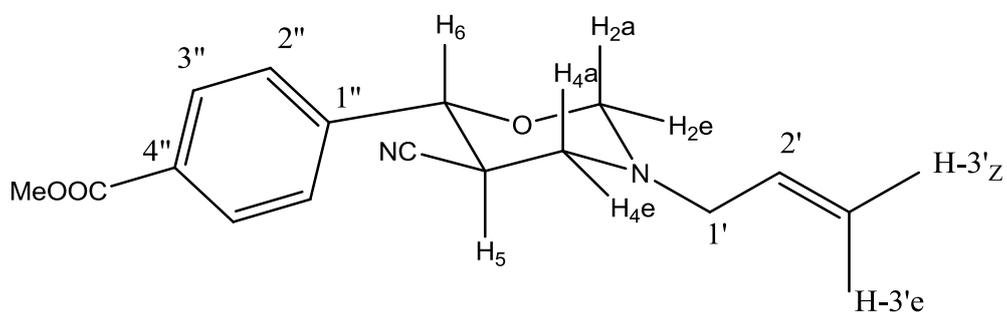
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.84 (m, 1 H, H-5), 3.21 (dd, $J_{4ax-4eq} = 14.0$ Hz, $J_{4ax-5eq} = 3.5$ Hz, 1 H, H-4ax), 3.58 (dm, 1 H, H-4eq), 3.61 (dd, $J_{1'a-1'b} = 13.5$ Hz, $J_{1'a-2'} = 6.5$ Hz, 1 H, H-1'a), 3.65 (dd, $J_{1'b-2'} = 6.5$ Hz, 1 H, H-1'b), 3.94 (s, 3 H, CH₃), 4.37 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.0$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.73 (d, $J_{6ax-5eq} = 3.0$ Hz, 1 H, H-6ax), 4.84 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 2.0$ Hz, 1 H, H-2eq), 5.25 (dd, $J_{3'e-2'} = 10.5$ Hz, $J_{3'e-3'z} = 1.0$ Hz, 1 H, H-3'e), 5.36 (dd, $J_{3'z-2'} = 17.0$ Hz, 1 H, H-3'z), 5.85 (dddd, 1 H, H-2'), 7.51 (d, $J_{2''-3''} = 8.0$ Hz, 2 H, H-2''), 8.10 (d, 2 H, H-3'').

¹³C NMR (75.47 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 33.1 (C-5), 51.5 (C-4), 52.3 (CH₃), 55.6 (C-1'), 78.4 (C-6), 84.9 (C-2), 119.0 (C-3'), 119.1 (CN), 125.7 (C-2''), 130.2 (C-3''), 130.5 (C-1''), 134.6 (C-2'), 143.3 (C-4''), 166.9 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1645$ (C=C Ar), 1715 (C=O), 1955 (Ar), 2236 (CN), 2852 (C-H) cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₁₆H₁₈N₂O₃+H]⁺: 287.1396. Found = 287.1389.

Compound 36d



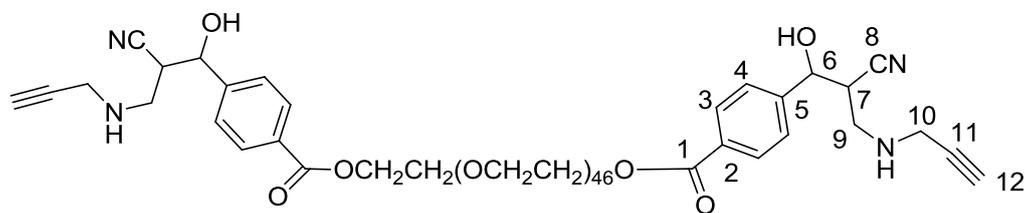
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.93 (ddd, $J_{5ax-4ax} = 11.5$ Hz, $J_{5ax-6ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-4eq} = 4.0$ Hz, 1 H, H-5ax), 3.32 (dd, $J_{4ax-4eq} = 13.5$ Hz, 1 H, H-4ax), 3.41 (dd, $J_{1'a-1'b} = 13.5$ Hz, $J_{1'a-2'} = 6.5$ Hz, 1 H, H-1'a), 3.50 (ddd, $J_{4eq-2eq(W)} = 1.5$ Hz, 1 H, H-4eq), 3.53 (dd, $J_{1'b-2'} = 6.5$ Hz, 1 H, H-1'b), 3.95 (s, 3 H, CH₃), 4.51 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.5$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.62 (d, 1 H, H-6ax), 4.71 (dd, 1 H, H-2eq), 5.27 (dd, $J_{3'e-2'} = 10.0$ Hz, $J_{3'e-3'z} = 1.0$ Hz, 1 H, H-3'e), 5.32 (dd, $J_{3'z-2'} = 17.0$ Hz, 1 H, H-3'z), 5.85 (dddd, 1 H, H-2'), 7.54 (d, $J_{2''-3''} = 8.5$ Hz, 2 H, H-2''), 8.10 (d, 2 H, H-3'').

¹³C NMR (75.47 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 30.3 (C-5), 51.9 (C-4), 52.4 (CH₃), 54.5 (C-1'), 80.2 (C-6), 84.0 (C-2), 117.9 (CN), 119.1 (C-3'), 126.7 (C-2''), 130.2 (C-3''), 130.9 (C-1''), 134.5 (C-2'), 143.2 (C-4''), 166.9 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1645$ (C=C Ar), 1715 (C=O), 1955 (Ar), 2236 (CN), 2852 (C-H) cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₁₆H₁₈N₂O₃+H]⁺: 287.1390. Found = 287.1392.

Compound 37a



In batch procedure:

To a solution of **16** (0.25 g, 0.1 mmol) in water (1 mL), 40 μ L (0.6 mmol) of propargylamine were added. The reaction mixture was stirred at 45 $^{\circ}$ C for 2 hours and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to \sim 1 mL under reduced pressure. Et_2O (\sim 10 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 $^{\circ}$ C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 161 mg of **37a**.

Isolated yield: 61 %.

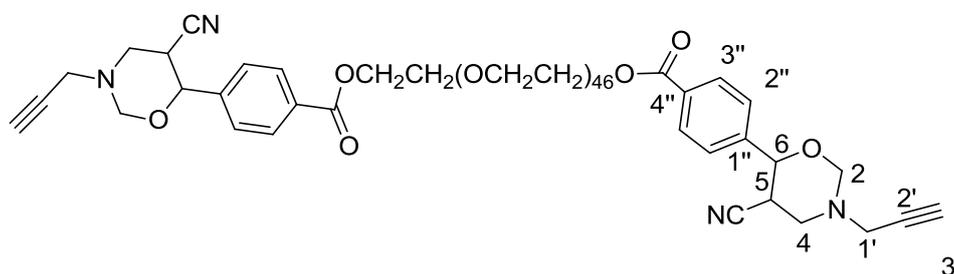
^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 2.31 (t, $J_{12-10} = 2.0$ Hz, 0.5 H, H-12 minor), 2.32 (t, $J_{12-10} = 2$ Hz, 1.1 H, H-12 major), 3.00-3.06 (m, 1.6 H, H-7), 3.08 (dd, $J_{9a-9b} = 12.0$ Hz, $J_{9a-7} = 4.5$ Hz, 1.6 H, H-9a), 3.37 (dd, $J_{9b-7} = 4.5$ Hz, 1.6 H, H-9b), 3.44-3.86 (m, 249 H, PEG backbone, H-10), 4.49 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, $\text{CH}_2\text{-OCO}$), 5.13-5.16 (m, 1.6 H, H-6), 7.53 (d, $J_{4-3} = 8.0$ Hz, 1.3 H, H-4 minor), 7.55 (d, $J_{4-3} = 8.0$ Hz, 2.4 H, H-4 major), 8.10 (d, 4 H, H-3).

^{13}C NMR (75.47 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 37.9 (C-10 minor), 38.1 (C-10 major), 39.4 (C-7 minor), 40.5 (C-7 major), 47.3 (C-9 minor), 48.2 (C-9 major), 61.6 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 64.2 ($\text{CH}_2\text{-OCO}$), 69.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCO}$), 70.6 (PEG), 72.5 (C-12), 72.8 (C-6 major), 73.4 (C-6 minor), 80.7 (C-11), 118.3 (C-8 major), 118.9 (C-8 minor), 126.0 (C-4 major), 126.4 (C-4 minor), 129.9 (C-3), 130.2 (C-5), 145.9 (C-2), 166.1 (C-1).

IR: (KBr) $\nu = 1111$ (C-O), 1638 (C=C Ar), 1716 (C=O), 1952 (Ar), 2242 (CN), 2880 (C-H), 3449 (OH, $\text{C}\equiv\text{C-H}$) cm^{-1} .

MALDI-TOF MS: m/z calcd for $\text{C}_{122}\text{H}_{214}\text{N}_4\text{O}_{52}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, $n=46$: 2568.42, found 2568.38.

Compound 37b



In batch procedure:

To a solution of **37a** (0.66 g, 0.25 mmol) in water (5 mL), 150 μ L (1.98 mmol) of formaldehyde, 37% in water, were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hours and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to ~ 3 mL under reduced pressure. Et_2O (~ 25 mL) was added, under vigorous stirring, at 0°C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 562 mg of **37b**.

Isolated yield: 87 %

Procedure using the Vapourtec R4, R2+ Reactor

8.8 mL of an aqueous solution of **16** (0.092 M), and 8.8 mL of an aqueous solution of propargylamine (0.736 M), were filtered with a syringe filter of 20 μm before flow processing. Streams were mixed together at a flow rate of 0.111 mL min^{-1} respectively in a T-mixer at room temperature and the resulting stream (0.222 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 45 min residence time) at 45°C . Two 8 bar back pressure regulators were employed. Leading (~ 1.9 mL) and trailing ends of the plug were rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for the subsequent reaction. The product was collected for 67 min (14.9 mL, ~ 0.685 mmol of **37a**) and mixed with 14.9 mL of aqueous formaldehyde (0.57 M) in a T-mixer at room temperature using a flow rate of 0.111 mL min^{-1} respectively, and the resulting stream (0.222 mL min^{-1}) was passed through the Vapourtec R4[®] reactor (10 mL heated volume, 45 min residence time) at 30°C . Two 8 bar back pressure regulator were employed. Leading (~ 1.8 mL) and trailing ends of the plug were rejected, so that only the steady state reaction product was kept and used for purification. The product was collected for 115 min (25.5 mL, ~ 0.586 mmol of **37b**)

in Amicon 8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (50 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford 1.14 g (0.44 mmol) **37b**. (Yields in percent were calculated from the collected volume and the flow rate under the assumption that the volume is not changing after mixing of the two streams and during the reaction).

Isolated yield of **37b**: 75 %.

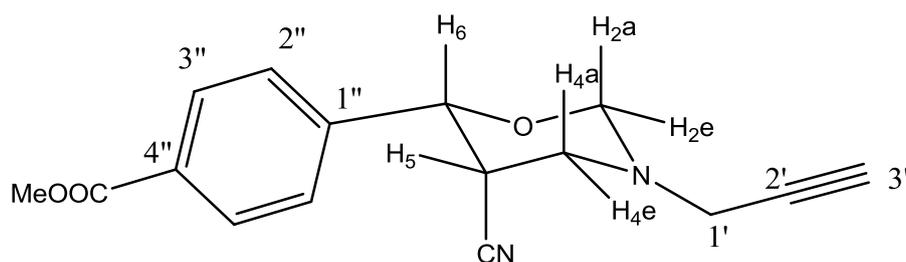
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.35 (t, $J_{3'-1'}$ = 2.5 Hz, 1 H, H-3' major), 2.39 (t, $J_{3'-1'}$ = 2.5 Hz, 0.5 H, H-3' minor), 2.95 (m, 1.3 H, H-5eq major), 3.04 (ddd, $J_{5ax-4ax}$ = 11.5 Hz, $J_{5ax-6ax}$ = 10.5 Hz, $J_{5ax-4eq}$ = 4.5 Hz, 0.7 H, H-5ax minor), 3.31 (dd, $J_{4ax-4eq}$ = 13.0 Hz, $J_{4ax-5eq}$ = 3.5 Hz, 1.6 H, H-4ax major), 3.37-3.88 (m, 261 H, PEG backbone, H-4eq minor, H-4ax minor, H-4eq major, H-1'), 4.40 (d, $J_{2ax-2eq}$ = 10.0 Hz, 1.3 H, H-2ax major), 4.49 (t, J = 4.5 Hz, 4 H, CH₂-OCO), 4.53 (d, $J_{2ax-2eq}$ = 10.5 Hz, 0.7 H, H-2ax minor), 4.61 (d, 0.5 H, H-6ax minor), 4.71 (d, $J_{6ax-5eq}$ = 2.5 Hz, 1.3 H, H-6ax major), 4.77 (dd, $J_{2eq-4eq(W)}$ = 2.0 Hz, 0.6 H, H-2eq minor), 4.87 (dd, $J_{2eq-4eq(W)}$ = 1.5 Hz, 1.3 H, H-2eq major), 7.50 (d, $J_{2''-3''}$ = 8.5 Hz, 2.5 H, H-2'' major), 7.53 (d, $J_{2''-3''}$ = 8.5 Hz, 1.5 H, H-2'' minor), 8.11 (d, 4 H, H-3'' minor, H-3'' major).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 30.6 (C-5 minor), 33.5 (C-5 major), 40.9 (C-1' minor), 41.8 (C-1' major), 51.1 (C-4 major), 51.4 (C-4 minor), 61.6 (CH₂-OH), 64.2 (CH₂-OCO), 69.1 (CH₂-CH₂-OCO), 70.5 (PEG), 73.9 (C-3' major), 74.0 (C-3' minor), 77.7 (C-2'), 78.0 (C-6 major), 79.8 (C-6 minor), 83.7 (C-2 minor), 84.2 (C-2 major), 117.3 (CN minor), 118.5 (CN major), 125.5 (C-2'' major), 126.4 (C-2'' minor), 129.9 (C-3'' major), 130.0 (C-3'' minor), 130.2 (C-1''), 142.7 (C-4'' minor), 142.8 (C-4'' major), 165.9 (COO).

IR: (KBr) ν = 1108 (C-O), 1613 (C=C Ar), 1719 (C=O), 1957 (Ar), 2242 (CN), 2870 (C-H), 3511 (C≡C-H) cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₂₄H₂₁₄N₄O₅₂ (M+H)⁺, n=46: 2592.42, found 2592.39.

Compound 37c



To 1 mL solution of MeONa in MeOH (0.1 M), compound **37b** (550 mg, 0.21 mmol), was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours, 1 mL of CH₃COOH in MeOH (0.1 M) was added and the mixture was stirred at room temperature for 10 min. Et₂O (~15 mL) was added, under vigorous stirring, at room temperature to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et₂O and the solution was dried under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography under silica gel eluting with AcOEt-Petroleum Ether (7:3) to give **37c** (45 mg, 37 %) as white foam (m.p. 138-140 °C), and **37d** (24 mg, 20 %) as colorless oil.

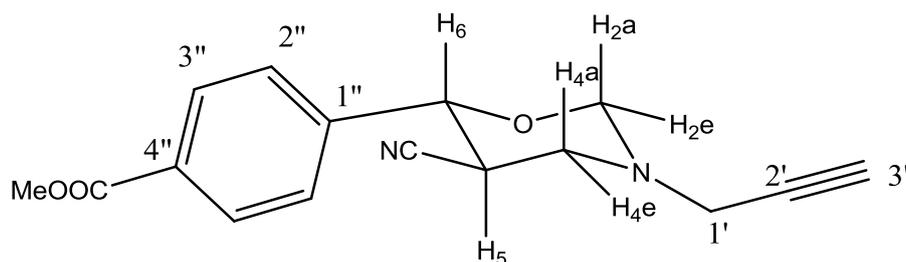
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.31 (t, $J_{3'-1'}$ = 2.5 Hz, 1 H, H-3'), 2.91 (m, 1 H, H-5), 3.26 (dd, $J_{4ax-4eq}$ = 13.0 Hz, $J_{4ax-5eq}$ = 3.5 Hz, 1 H, H-4ax), 3.49 (dm, 1 H, H-4eq), 3.71 (dd, $J_{1'a-1'b}$ = 13.5 Hz, 1 H, H-1'a), 3.80 (dd, 1 H, H-1'b), 3.89 (s, 3 H, CH₃), 4.35 (d, $J_{2ax-2eq}$ = 9.5 Hz, 1 H, H-2ax), 4.66 (d, $J_{6ax-5eq}$ = 2.5 Hz, 1 H, H-6ax), 4.83 (dd, $J_{2eq-4eq(W)}$ = 1.5 Hz, 1 H, H-2eq), 7.46 (d, $J_{2''-3''}$ = 8.5 Hz, 2 H, H-2''), 8.05 (d, 2 H, H-3'').

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 33.8 (C-5), 42.1 (C-1'), 51.4 (C-4), 52.3 (CH₃), 73.9 (C-3'), 77.9 (C-6), 78.2 (C-2'), 84.5 (C-2), 118.7 (CN), 125.7 (C-2''), 130.1 (C-3''), 130.5 (C-1''), 142.9 (C-4''), 166.7 (COOMe).

IR: (KBr) ν = 1613 (C=C Ar), 1710 (C=O), 1949 (Ar), 2240 (CN), 2836 (C-H), 3408 (C≡C-H) cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₁₆H₁₆N₂O₃+Na]⁺: 307.1053. Found = 307.1053.

Compound 37d



¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.39 (t, $J_{3'-1'} = 2.5$ Hz, 1 H, H-3'), 3.02 (ddd, $J_{5ax-4ax} = 11.5$ Hz, $J_{5ax-6ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-4eq} = 4.5$ Hz, 1 H, H-5ax), 3.34 (dd, $J_{4ax-4eq} = 13.5$ Hz, 1 H, H-4ax), 3.64 (ddd, $J_{4eq-2eq(W)} = 2.0$ Hz, 1 H, H-4eq), 3.65 (dd, $J_{1'a-1'b} = 17.0$ Hz, 1 H, H-1'a), 3.70 (dd, 1 H, H-1'b), 3.94 (s, 3 H, CH₃), 4.50 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.5$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.57 (d, 1 H, H-6ax), 4.74 (dd, 1 H, H-2eq), 7.50 (d, $J_{2''-3''} = 8.5$ Hz, 2 H, H-2''), 8.06 (d, 2 H, H-3'').

¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 30.9 (C-5), 41.3 (C-1'), 51.7 (C-4), 52.4 (CH₃), 74.1 (C-3'), 79.1 (C-2'), 80.2 (C-6), 84.0 (C-2), 117.6 (CN), 126.7 (C-2''), 130.2 (C-3''), 131.0 (C-1''), 142.8 (C-4''), 166.7 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1613$ (C=C Ar), 1710 (C=O), 1949 (Ar), 2240 (CN), 2836 (C-H), 3408 (C≡C-H) cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₁₆H₁₆N₂O₃+Na]⁺: 307.1053. Found = 307.1048.

Amicon 8050 stirred cell, fitted with MILLIPORE Membrane Disk, molecular weight cut-off 1000, diluted to 50 mL and ultrafiltration was performed under 3.5 bar pressure. After the first ultrafiltration, the retentate (10 mL) was diluted with water (50 mL), and the solution was ultrafiltrated again. The operation was repeated three times. The ultrafiltration retentate was concentrated under reduced pressure to afford 1.35 g (0.50 mmol) of **38b**. (Yields in percent were calculated from the collected volume and the flow rate under the assumption that the volume is not changing after mixing of the two streams and during the reaction).

Isolated yield of **38b** : 85 %.

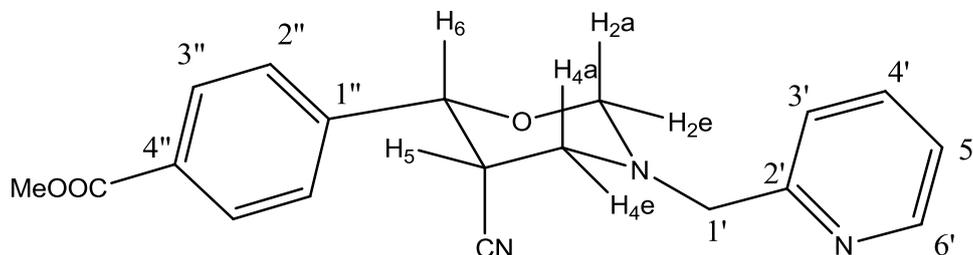
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.90 (m, 1.5 H, H-5-eq major), 3.07 (ddd, $J_{5ax-4ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-6ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-4eq} = 5.5$ Hz, 0.5 H, H-5-ax minor), 3.27 (dd, $J_{4ax-4eq} = 13.5$ Hz, $J_{4ax-5eq} = 3.5$ Hz, 1.5 H, H-4ax major), 3.37-3.44 (m, 2 H, H-4ax minor, H-4eq minor), 3.49 (dm, 1.5 H, H-4eq major), 3.53-3.87 (m, 237 H, PEG backbone), 4.08 (d, $J_{1'a-1'b} = 14.0$ Hz, 0.5 H, H-1'a minor), 4.19 (d, 0.5 H, H-1'b minor), 4.20 (d, $J_{1'a-1'b} = 14.0$ Hz, 1.5 H, H-1'a major), 4.26 (d, 1.5 H, H-1'b major), 4.43 (d, $J_{2ax-2eq} = 9.5$ Hz, 1.5 H, H-2ax major), 4.45 (t, $J = 4.5$ Hz, 4 H, CH₂-OCO), 4.60 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.5$ Hz, 0.5 H, H-2ax minor), 4.62 (d, 0.5 H, H-6ax minor), 4.71 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1.0$ Hz, 0.5 H, H-2eq minor), 4.74 (d, 1.5 H, $J_{6ax-5eq} = 3.0$ Hz, H-6ax major), 4.86 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1.5$ Hz 1.5 H, H-2eq major), 7.18-7.23 (m, 2 H, H-5' major, H-5' minor), 7.40 (d, $J_{3'.4'} = 8.0$ Hz, 0.5 H, H-3' minor), 7.50 (d, $J_{2''.3''} = 8.5$ Hz, 3 H, H-2'' major), 7.52 (d, $J_{2''.3''} = 8.5$ Hz, 1 H, H-2'' minor), 7.52 (d, $J_{3'.4'} = 7.5$ Hz, 1.5 H, H-3' major), 7.67-7.72 (m, 2 H, H-4' major, H-4' minor), 8.09 (d, 1 H, H-3'' minor), 8.10 (d, 3 H, H-3'' major), 8.57-8.59 (m, 2 H, H-6' minor, H-6' major).

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 29.8 (C-5 minor), 31.1 (C-5 major), 51.6 (C-4 minor), 51.7 (C-4 major), 57.0 (C1' minor), 57.8 (C1' major), 61.3 (CH₂-OH), 64.0 (CH₂-OCO), 68.9 (CH₂-CH₂-OCO), 70.3 (PEG), 77.7 (C-6 major), 79.8 (C-6 minor), 84.3 (C-2 minor), 84.9 (C-2 major), 117.4 (CN minor), 118.7 (CN major), 122.3 (C-5' major), 122.5 (C-5' minor), 122.8 (C-3' minor), 122.9 (C-3' major), 125.4 (C-2'' major), 126.3 (C-2'' minor), 129.8 (C-3'' major), 129.9 (C-3'' minor), 129.9 (C-1'' major), 130.5 (C-1'' minor), 136.6 (C-4' major), 136.7 (C-4' minor), 142.8 (C-4'' minor), 143.0 (C-4'' major), 149.3 (C-6'), 157.3 (C-2'), 165.7 (COO).

IR: (KBr) $\nu = 1108$ (C-O), 1653 (C=C Ar), 1717 (C=O), 2240 (CN), 2876 (C-H) cm⁻¹.

MALDI-TOF MS: m/z calcd for C₁₃₀H₂₂₀N₆O₅₂ (M+H)⁺, n=46: 2698.47, found 2698.41.

Compound 38c



To 2 mL solution of MeONa in MeOH (0.1 M), compound **38b** (1.36 g, 0.5 mmol), was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours, 2 mL of CH₃COOH in MeOH (0.1 M) was added and the mixture was stirred at room temperature for 10 min. Et₂O (~25 mL) was added, under vigorous stirring, at room temperature to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et₂O and the solution was dried under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography under silica gel eluting with AcOEt to give **38c** (135 mg, 40 %) as white foam (m.p. 149-151 °C), and **38d** (69 mg, 20 %) as colorless oil.

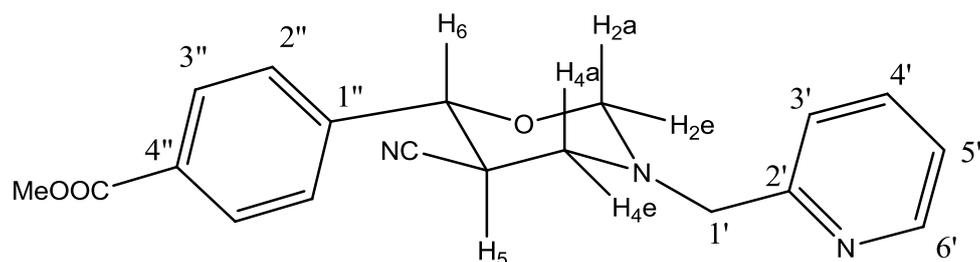
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 2.86 (m, 1 H, H-5), 3.24 (dd, $J_{4ax-4eq} = 13.5$ Hz, $J_{4ax-5eq} = 3.5$ Hz, 1 H, H-4ax), 3.48 (dm, 1 H, H-4eq), 3.89 (s, 3 H, CH₃), 4.18 (d, 1 H, $J_{1'a-1'b} = 14.5$ Hz, H-1'a), 4.24 (d, 1 H, H-1'b), 4.41 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.0$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.72 (d, $J_{6ax-5eq} = 2.5$ Hz, 1 H, H-6ax), 4.81 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1.5$ Hz, 1 H, H-2eq), 7.18 (dd, $J_{5'-4'} = 7.5$ Hz, $J_{5'-6'} = 5.0$ Hz, 1 H, H-5'), 7.49 (d, $J_{2''-3''} = 8.5$ Hz, 2 H, H-2''), 7.52 (d, $J_{3'-4'} = 7.5$ Hz, 1 H, H-3'), 7.68 (ddd, $J_{4'-6'} = 1.5$ Hz, 1 H, H-4'), 8.07 (d, 2 H, H-3''), 8.57 (dd, 1 H, H-6').

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 33.6 (C-5), 52.1 (C-4), 52.3 (CH₃), 58.2 (C-1'), 78.3 (C-6), 85.3 (C-2), 119.0 (CN), 122.7 (C-5'), 123.4 (C-3'), 125.7 (C-2''), 130.2 (C-3''), 130.5 (C-1''), 137.0 (C-4'), 143.2 (C-4''), 149.8 (C-6'), 157.6 (C-2'), 166.8 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1614$ (C=C Ar), 1720 (C=O), 1936 (Ar), 2236 (CN), 2884 (C-H) cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₁₉H₂₀N₃O₃+H]⁺: 338.1499. Found = 338.1495.

Compound 38d



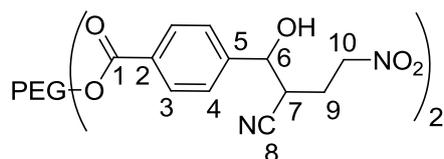
¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 3.05 (ddd, $J_{5ax-4ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-6ax} = 10.0$ Hz, $J_{5ax-4eq} = 5.5$ Hz, 1 H, H-5ax), 3.34-3.44 (m, 2 H, H-4ax, H-4eq), 3.91 (s, 3 H, CH₃), 4.08 (d, 1 H, $J_{1'a-1'b} = 14.0$ Hz, H-1'a), 4.19 (d, 1 H, H-1'b), 4.60 (d, $J_{2ax-2eq} = 10.5$ Hz, 1 H, H-2ax), 4.62 (d, 1 H, H-6ax), 4.71 (dd, $J_{2eq-4eq(W)} = 1$ Hz, 1 H, H-2eq), 7.21 (dd, $J_{5'-4'} = 8.0$ Hz, $J_{5'-6'} = 5.5$ Hz, 1 H, H-5'), 7.40 (d, $J_{3'-4'} = 7.5$ Hz, 1 H, H-3'), 7.52 (d, $J_{2''-3''} = 8.0$ Hz, 2 H, H-2''), 7.69 (ddd, $J_{4'-6'} = 1.5$ Hz, 1 H, H-4'), 8.07 (d, 2 H, H-3''), 8.57 (dd, 1 H, H-6').

¹³C NMR (90.56 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 30.2 (C-5), 52.0 (C-4), 52.4 (CH₃), 57.5 (C-1'), 80.3 (C-6), 84.7 (C-2), 117.8 (CN), 122.9 (C-5'), 123.1 (C-3'), 126.7 (C-2''), 130.2 (C-3''), 130.9 (C-1''), 137.1 (C-4'), 143.1 (C-4''), 149.8 (C-6'), 157.6 (C-2'), 166.8 (COOMe).

IR: (KBr) $\nu = 1614$ (C=C Ar), 1720 (C=O), 1936 (Ar), 2236 (CN), 2884 (C-H) cm⁻¹.

HRMS (ESI) : m/z calcd for [C₁₉H₂₀N₃O₃+H]⁺: 338.1499. Found = 338.1498.

Compound 39



To a solution of **16** (696 mg, 0.283 mmol) in water (3 mL), 71 mg (0.57 mmol) of K_2CO_3 and 61 μ L (1.13 mmol) of nitromethane were added. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight and extracted with CH_2Cl_2 ; the organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated to \sim 1 mL under reduced pressure. Et_2O (\sim 8 mL) was added, under vigorous stirring, at 0 $^\circ$ C to precipitate the solid, which was filtered, washed with Et_2O and dried under vacuum to obtain 632 mg of **39**.

Isolated yield: 86 %

1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 2.36-2.51 (m, 2.8 H, H-9), 2.94-3.19 (m, 1.6 H, H-7), 3.44-3.89 (m, 214 H, PEG backbone), 4.49 (t, J = 4.5 Hz, 4 H, CH_2 -OCO), 4.57-4.73 (m, 2.7 H, H-10), 4.96-5.07 (m, 1.6 H, H-6), 7.53 (d, J = 8.0 Hz, 2 H, H-4major), 7.56 (d, J = 8.0 Hz, 1.4 H, H-4minor), 8.04 (d, 2 H, H-3major), 8.10 (d, 1.8 H, H-3 minor).

^{13}C NMR (90.56 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 25.3 (C-9 minor), 26.6 (C-9 major), 37.3 (C-7 minor), 37.9 (C-7 major), 61.4 (CH_2 -OH), 64.2 (CH_2 -OCO), 69.1 (CH_2 - CH_2 -OCO), 70.3 (PEG), 71.5 (C-6), 72.4 (C-10), 118.2 (C-8), 126.1 (C-4 major), 126.5 (C-4 minor), 129.7 (C-3), 130.0 (C-5), 145.4 (C-2 minor), 145.9 (C-2 major), 166.1 (C-1).

NMR analysis sequence W5

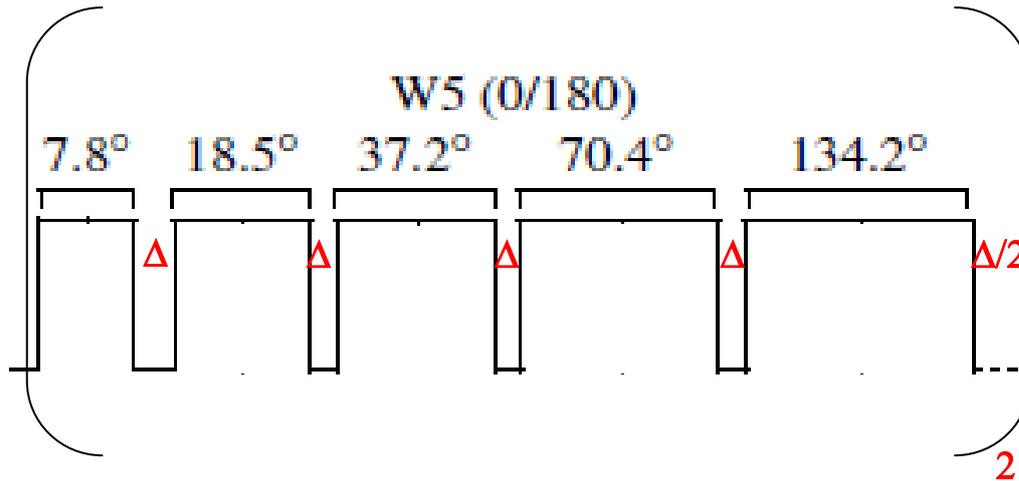
La séquence W5 a le train de pulse suivant :

Avec $\phi = x$ $\theta = -x$

Entre chaque impulsion il y a le délai Delta

W5 7.8, 18.5, 37.2, 70, 134.2, 134.2, 70, 37.2, 18.5, 7.8 $(\phi)_5 - (\theta)_5$

Autre présentation :



Ou encore la séquence en langage bruker :

Ph3=x

Ph4=-x

P27=durée de l'impulsion 90°

2 x d19 = Delta = 500us (dans ta thèse)

```

p27*0.087 ph3
d19*2
p27*0.206 ph3
d19*2
p27*0.413 ph3
d19*2
p27*0.778 ph3
d19*2
p27*1.491 ph3
d19*2
p27*1.491 ph4
d19*2
p27*0.778 ph4
d19*2
p27*0.413 ph4
d19*2
p27*0.206 ph4
d19*2
p27*0.087 ph4
    
```

Organic solvent-free processes for the synthesis and purification of heterocyclic compounds supported on polyethylene glycol, in batch and in continuous flow reactor

Aiming to avoid the use of volatile organic solvents in both the reaction and the separation steps, we envisioned to couple the use of PEGs as support to continuous flow chemistry and ultrafiltration in water as separation technique. First, we synthesized 3,4-dihydropyrimidin-2-(1H)-ones (DHPMs) exploiting the Biginelli multicomponent reaction starting from PEG-supported aldehyde. For this purpose, we found that the linkage of 4-carboxybenzaldehyde to PEG4000, described in the literature to occur in CH₂Cl₂, takes place in melted PEGs (70 °C) in the absence of solvent. We developed a novel organic solvent free synthesis of DHPMs via the Biginelli reaction of PEG-supported aldehyde, and we isolate the final products via saponification. Then, the same Biginelli reaction was carried out in continuous flow micro-reactor using water as the solvent and the supported products were isolated by ultrafiltration. The above mentioned strategy was also applied to multistep syntheses, the Baylis-Hillman reaction being the key-step for the preparation of tetrahydro-1,3-oxazine, tetrazoles, 1,4-oxazepin-3-ones, and tetrahydro-1,3-pyrimidin-4-ones, compounds endowed with potential biological activity. The preparations of tetrahydro-1,3-oxazines and tetrazole were first optimized in batch with the purifications performed by ultrafiltration in water, then adapted to the continuous flow micro-reactor synthesis.

All PEG-supported compounds were characterized by NMR and MALDI-TOF MS spectrometry. Moreover, in order to facilitate the analysis of PEG-supported product, we developed new NMR methods that help to reduce the intensity of PEG signals.

In conclusion, we performed the PEG-supported organic solvent-free synthesis of DHPMs, tetrahydro-1,3-oxazines, and a tetrazole derivative, in batch as well as in continuous flow microreactor, using Biginelli and Baylis-Hillman reactions as key steps. All purifications were carried out by ultrafiltration in water, to avoid the use of organic solvents.

Keywords:

- Green chemistry
- PEG-supported chemistry
- Reactions in water
- Heterocycles
- Continuous flow
- Ultrafiltration

Synthèse supportée d'hétérocycles en milieux éco-compatibles : Etude des conditions par lots et en flux continu. Purification par ultrafiltration en phase aqueuse

Dans le but de réduire l'utilisation des solvants organiques dans les réactions et dans la purification, nous avons envisagé de coupler la synthèse supportée sur PEGs dans l'eau aux microréacteurs en flux continu et à l'ultrafiltration comme technique de purification. Dans un premier temps nous avons synthétisé des 3,4-dihydropyrimidin-2-ones (DHPMs) en utilisant comme étape clef la réaction multicomposant de Biginelli avec un aldéhyde supporté sur PEG. Dans ce but, nous avons trouvé que la liaison du PEG au 4-carboxybenzaldehyde, décrite dans le CH₂Cl₂, a lieu dans le PEG fondu (70 °C) en absence de solvant. La synthèse des DMPMs a ensuite été réalisée dans l'eau et dans le PEG fondu, à partir de l'aldéhyde supporté, et les produits finaux ont été isolés après saponification. Cette synthèse a ensuite été optimisée en microréacteurs en flux continu dans l'eau et la purification des adduits supportés a été réalisée par ultrafiltration dans l'eau.

La stratégie décrite ci-dessus a été appliquée à des synthèses multi-étapes, la réaction de Baylis-Hillmann étant l'étape clef pour la préparation de tétrahydro-1,3-oxazine, tétrazoles, 1,4-oxazepin-3-ones et tétrahydro-1,3-pyrimidin-4-ones, composés dotés d'une activité biologique potentielle. Les synthèses de tétrahydro-1,3-oxazines et d'un tétrazole ont d'abord été optimisées par lots avec les purifications réalisées par ultrafiltration dans l'eau, puis adaptées en microréacteurs en flux continu.

Tous les adduits supportés sur PEG ont été caractérisés par RMN et MALDI-Tof, et des nouvelles méthodes d'analyse RMN ont été mises au point afin de réduire l'intensité des signaux dus au PEG et de faciliter l'étude des molécules supportées.

En conclusion nous avons développé la synthèse supportée, en milieux éco-compatibles de DHPMs, tétrahydro-1,3-oxazines et d'un tétrazole, par lots et en microréacteurs en flux continu, en utilisant les réactions de Biginelli et Baylis-Hillmann comme étapes clefs. Toutes les purifications ont été réalisées par ultrafiltration dans l'eau, afin de réduire l'utilisation de solvants organiques.

Mots clefs :

- Chimie verte
- PEG support
- Chimie dans l'eau
- Hétérocycles
- Flux continu
- Ultrafiltration